









UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului



CONTRIBUȚII PRIVIND EXTRACȚIA DIRECTĂ A UNOR COMPUȘI DE BIOSINTEZĂ DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE

- REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT -

Doctorand:

Ing. Alexandra CÂRLESCU

Conducător de doctorat:

Prof. univ. dr. ing. Dan CAŞCAVAL



Teza de doctorat a fost realizată cu sprijinul financiar al proiectului **"STUDII DOCTORALE PENTRU PERFORMANŢE EUROPENE ÎN CERCETARE ȘI INOVARE (CUANTUMDOC)"** POSDRU/107/1.5/S/79407.

Proiectul "STUDII DOCTORALE PENTRU PERFORMANTE (CUANTUMDOC)" CERCETARE EUROPENE ÎN SI INOVARE POSDRU/107/1.5/S/79407, este un proiect strategic care are ca obiectiv general "Aplicarea de strategii manageriale, de cercetare si didactice destinate îmbunătățirii formării inițiale a viitorilor cercetători prin programul de studii universitare de doctorat, conform procesului de la Bologna, prin dezvoltarea unor competențe specifice cercetării științifice, dar și a unor competențe generale: managementul cercetării, competențe lingvistice și de comunicare, abilități de documentare, redactare, publicare si comunicare stiintifică, utilizarea mijloacelor moderne oferite de TIC, spiritul antreprenorial de transfer al rezultatelor cercetării. Dezvoltarea capitalului uman pentru cercetare și inovare va contribui pe termen lung la formarea doctoranzilor la nivel european cu preocupări interdisciplinare. Sprijinul financiar oferit doctoranzilor va asigura participarea la programe doctorale în țara și la stagii de cercetare în centre de cercetare sau universități din UE. Misiunea proiectului este formarea unui tânăr cercetator adaptat economiei de piată și noilor tehnologii, având cunoștințe teoretice, practice, economice si manageriale la nivel international, ce va promova principiile dezvoltării durabile și de protecție a mediului înconjurător."

Proiect finanțat în perioada 2010 - 2013

Finanțare proiect: 16.810.100,00 RON

Beneficiar: Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași

Partener: Universitatea "Babeş Bolyai" din Cluj-Napoca

Director proiect: Prof. univ. dr. ing. Mihai BUDESCU

Responsabil proiect partener: Prof. univ. dr. ing. Alexandru OZUNU

RECTORATUL

Către

.....

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

"CONTRIBUȚII PRIVIND EXTRACȚIA DIRECTĂ A UNOR COMPUȘI DE BIOSINTEZĂ DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE"

elaborată de d-ra ing. Alexandra CÂRLESCU în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat este alcătuită din:

Prof.dr.ing. Nicolae Hurduc,	Președinte
Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași	
Prof.dr.ing. Dan Caşcaval,	Conducător de doctorat
Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași	
Prof.dr.ing. Anca-Irina Galaction,	Referent oficial
Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" din I	ași
Prof.dr.ing. Vasile Lavric,	Referent oficial
Universitatea Politehnică din București	
Prof.dr.ing. Gabriel Lucian Radu,	Referent oficial
Universitatea Politehnică din București	

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.



SECRETAR UNIVERSITATE

Ing. Cristina Nagîţ

Mulţumiri domnului Profesor dr. ing. Dan Caşcaval pentru îndrumarea, răbdarea, sprijinul și contribuția deosebită în elaborarea lucrării și formarea mea științifică.

Mulţumiri doamnei Profesor dr. ing. Anca-Irina Galaction pentru permanentele încurajări și pentru sprijinul acordat pe întreaga perioadă de desfășurare a doctoratului.

> Cu respect, Ing. Alexandra Cârlescu

CUPRINS

	STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR ÎN DOMENIUL
	EXTRACȚIEI DIRECTE A UNOR COMPUȘI DE BIOSINTEZĂ DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE
	I.1. SISTEME DE SEPARARE DIRECTĂ PRIN EXTRACȚIE REACTIVĂ.CLASIFICARE
	I.2. MECANISMELE GENERALE ALE EXTRACȚIEI REACTIVE ȘI PERTRACȚIEI
	I.3. APLICAȚII ALE EXTRACȚIEI REACTIVE ȘI PERTRACȚIEI PENTRU SEPARAREA DIRECTĂ A PRODUSELOR DE BIOSINTEZĂ DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE
[.	CONTRIBUȚII ORIGINALE LA STUDIUL EXTRACȚIEI DIRECTE A UNOR COMPUȘI DE BIOSINTEZĂ DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE
	II.1. OBIECTIVELE CERCETĂRILOR
	II.2. TEHNICA EXPERIMENTALĂ
	II.2.1. Echipamente
	II.2.2. Materiale și reactivi
	II.2.3. Mărimi utilizate pentru descrierea și analiza proceselor studiate
	II.3. STUDIUL SEPARĂRII DIRECTE PRIN EXTRACȚIE REACTIVĂ A ACIDULUI PROPIONIC DIN LICHIDELE DE FERMENTATIE
	II.3.1. Studiul extracției reactive a acidului propionic din
	II.3.2. Studiul extracției reactive a acidului propionic din lichidele de fermentație ale <i>Propionibacterium</i>
	acidipropionici

	II.4. STUDIUL SEPARĂRII DIRECTE PRIN EXTRACȚIE REACTIVĂ A ACIDULUI SUCCINIC DIN LICHIDELE DE	
	FERMENTAȚIE	86
	II.4.1. Studiul extracției reactive a acidului succinic din lichidele de fermentație simulate	87
	II.4.2. Studiul extracției reactive a acidului succinic din suspensii de <i>Actinobacillus succinogenes</i>	94
	II.5. SEPARAREA PRIN PERTRACȚIE DIRECTĂ A ACIDULUI p-AMINOBENZOIC DIN LICHIDE DE FERMENTAȚIE	105
	II.5.1. Studiul pertracției directe a acidului p-aminobenzoic din lichide de fermentație simulate	106
	II.5.2. Studiul pertracției directe a acidului p-aminobenzoic din lichide de fermentație ale <i>Escherichia coli</i>	118
ш	CONCLUZII GENERALE	135
АСТ	TIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ DIN CADRUL TEZEI	
DE I	DOCTORAT	141
BIBI	LIOGRAFIE	144

Rezumatul lucrării prezintă, într-o formă succintă, rezultatele originale obținute și concluziile generale. La redactarea rezumatului s-au păstrat aceleași notații pentru capitole, figuri și tabele utilizate în cadrul tezei.

INTRODUCERE

Posibilitatea utilizării tehnologice a organismelor vii cu scopul obținerii de produse naturale s-a datorat aplicării integrate a științelor biologice și inginerești. Produsele de biosinteză dețin o largă răspândire la nivel mondial și sunt valorificate sub diferite forme în industria cosmetică, alimentară și farmaceutică. Eficiența unui proces de biosinteză depinde în mare măsură de operațiile de separare, care asigură puritatea și calitatea substanțelor organice naturale.

Proiectarea și optimizarea tehnicilor de separare integrate în cadrul proceselor fermentative urmăresc dispunerea operațiilor individuale într-un mod serial, care să permită atât transformarea substratului, cât și recuperarea și purificarea produselor pe parcursul formării lor.

Interesul acordat separării compușilor elaborați de microorganisme direct din mediul de cultură se datorează faptului că numeroase procese de biosinteză sunt inhibate de acumularea produsului în mediul de fermentație (inhibiție de produs). Acest fenomen este întâlnit în special în cadrul sistemelor discontinue, la care concentrația finală a produsului atinge valori relativ ridicate, conducând astfel la scăderea productivității proceselor fermentative. O alternativă eficientă pentru eliminarea acestui inconvenient o constituie tehnica fermentației extractive, care constă în recuperarea prin extracție a produsului util din mediul de fermentație pe parcursul formării acestuia.

Pentru separarea directă a produselor de biosinteză din lichidele de fermentație au fost propuse și utilizate următoarele tehnici: extracție fizică, extracție prin membrane, adsorbția, pervaporizare, osmoză inversă, dializă, precipitare, cristalizare, schimb ionic, stripare cu gaze. Un procedeu nou cu aplicații deosebite în separarea directă a produselor de biosinteză îl reprezintă extracția reactivă.

Prin tematica abordată, teza de doctorat își propune să aducă **contribuții originale** semnificative referitoare la: (i) cunoașterea mecanismului separării unor compuși de biosinteză cu caracter acid cu utilizări cosmetice, farmaceutice și alimentare (acizii carboxilici: propionic, succinic și p-aminobenzoic) prin procedee moderne de extracție (extracție reactivă și transportul facilitat prin membrane lichide), (ii) cuantificarea influenței factorilor asupra eficienței separării, (iii) modelarea, optimizarea și transpunerea acestor procese la un nivel superior de operare, în scopul îmbunătățirii tehnologiilor sau biotehnologiilor de obținere a acestor compuși.

Teza de doctorat este extinsă pe 155 de pagini, conține un număr de 119 figuri, 5 tabele, 20 de ecuații matematice și 182 referințe bibliografice.

Lucrarea de doctorat este structurată în două părți principale. Prima parte a tezei cuprinde trei capitole și reprezintă o sinteză de literatură de specialitate referitoare la sistemele și mecanismele de separare directă prin extracție reactivă și pertracție a unor produse de biosinteză, precum și la posibilitatea integrării acestora în procesele de fermentație. În această parte sunt, de asemenea, redate dezavantajele utilizării metodelor convenționale în cadrul proceselor de biosinteză,

cât și avantajele oferite de aplicarea integrată a metodelor neconvenționale (extracție reactivă și pertracție) pentru separarea eficientă a unor compuși direct din mediul de fermentație.

Cea de-a doua parte a tezei de doctorat are o pondere de peste 70% din volumul total al lucrării și include contribuțiile originale referitoare la separarea directă a unor produse de biosinteză care manifestă inhibiție de produs, precum acizii carboxilici, folosind tehnicile extracției reactive și pertracției. Această parte este structurată în 5 capitole. În capitolul II.1 sunt prezentate obiectivele principale ale studiilor desfășurate în cadrul programului de doctorat.

Capitolul II.2 cuprinde tehnica de lucru, echipamentele, precum și materialele și metodele experimentale utilizate.

Capitolul II.3 este dedicat studiului separării directe prin extracție reactivă a **acidului propionic** din lichidele de fermentație. În cadrul acestui capitol sunt analizate influențele viscozității lichidelor de fermentație simulate și reale și ale prezenței biomasei asupra transferului de masă al acidului, precum și eficiența extracției acidului propionic în prezența 1-octanolului, modificator de fază, în corelație cu polaritatea diferiților solvenți considerați în experimente. Pe baza datelor experimentale obținute, au fost propuse modele matematice care descriu influența parametrilor urmăriți asupra eficienței separării acestui acid.

Capitolul II.4 cuprinde rezultatele experimentale referitoare la separarea directă prin extracție reactivă a **acidului succinic** din lichidele de fermentație, analiza procesului fiind realizată prin intermediul fluxului masic, a forței motrice globale și a coeficientului global de transfer de masă, în relație directă cu caracteristicile reologice ale lichidelor de fermentație (viscozitate aparentă) și concentrația biomasei. Pentru evidențierea influențelor principalilor factori asupra performanței separării acidului succinic au fost propuse diferite modele matematice.

În capitolul II.5 este abordat studiul separării directe a **acidului p-aminobenzoic** din lichidele de fermentație prin tehnica pertracției, analizându-se comparativ sistemele de pertracție liberă și facilitată a acidului din lichidele de fermentație simulate, fără biomasă, și din cele reale, culturi de *E. coli*.

Rezultatele cercetărilor proprii din cadrul tezei de doctorat s-au concretizat în elaborarea a 6 lucrări științifice publicate în reviste de specialitate (4 lucrări în reviste cotate ISI cu factor de impact important și 2 articole publicate în reviste cotate BDI), precum și 15 participări la manifestări științifice naționale și internaționale.

II. CONTRIBUȚII ORIGINALE LA STUDIUL EXTRACȚIEI DIRECTE A UNOR COMPUȘI DE BIOSINTEZĂ DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE

II.1. OBIECTIVELE CERCETĂRILOR

Prin tema abordată, teza de cercetare se înscrie în principalele direcții de cercetare și dezvoltare ale procedeelor de separare care vizează domeniul biotehnologiilor.

Studiile propuse au drept scop separarea prin extracție reactivă și pertracție a unor acizi carboxilici (propionic, succinic și p-aminobenzoic) direct din lichidele de fermentație, fără îndepărtarea biomasei.

În cadrul tezei de cercetare se vor aborda urmatoarele obiective principale:

- Studiul separării directe a unor acizi carboxilici (acizii propionic și succinic) din lichidele de fermentație simulate și reale (fără îndepărtarea biomasei) prin extracție reactivă, folosind diferiți *solvenți organici* (n-heptan, acetat de butil, diclormetan) și *agenți de extracție* (tri-n-octilamina (TOA), precum și un modificator de fază (1-octanol).
- Studiul separării directe a unor acizi carboxilici (acidul p-aminobenzoic) din lichidele de fermentație simulate și reale (fără îndepărtarea biomasei) prin pertracție facilitată, folosind *agentul purtător* acid di-(2-etilhexil)fosforic (D2EHPA) și un modificator de fază (1-octanol).

Pentru realizarea acestor obiective s-a studiat mecanismul și cinetica proceselor de separare menționate, influența caracteristicilor reologice, ale caracteristicilor mediului, precum și ale condițiilor de operare asupra mecanismului interfacial, vitezei transferul de masă și asupra eficienței separării prin extracție reactivă sau pertracție facilitată.

II.2. TEHNICA EXPERIMENTALĂ

II.2.1. ECHIPAMENTE

Echipamentele experimentale utilizate au asigurat obținerea unor rezultate reproductibile și au susținut valoarea științifică a acestora. Cele mai importante echipamente destinate studiilor experimentale cu scopul de a soluționa obiectivele propuse sunt:

• Coloana de extracție cu agitare vibratorie

Experimentele privind analiza influenței condițiilor de operare asupra eficienței extracției reactive a acizilor studiați s-au realizat într-o coloană de extracție cu agitare vibratorie (figura 37), care oferă avantajul unei arii interfaciale de contact dintre faze foarte mari și atingerii rapide a echilibrului.



Figura 37. Coloana de extracție cu agitare vibratorie (1 - coloană de sticlă; 2 - manta de termostatare; 3 - agitator; 4 - pH-metru digital; 5 – termostat).

• Instalația de extracție Lewis

Acest tip de echipament este adecvat studiului mecanismului și a cineticii extracției fizice și reactive și oferă posibilitatea funcționării în regim discontinuu sau continuu, cu debite precis reglate. Elementul central al instalației experimentale, celula de extracție (figura 38.b), este alcătuit din două compartimente cilindrice de sticlă, având fiecare capacitatea de 750 ml, prevăzute cu câte un agitator perforat cu diamentrul de 15 mm și lățimea paletei de 5 mm, care realizează amestecarea independentă a fazelor, cu o turație variabilă între 0 și 1300 rpm.



Figura 38.b. Celula de extracție Lewis modificată.

• Instalația de pertracție (extracție și transport prin membrane lichide)

Acest echipament de separare permite obținerea și menținerea cu ușurință a stratului de solvent organic între cele două faze apoase (membrană lichidă liberă) (figura 39). Elementul central al instalației îl reprezintă celula de pertracție, dispozitiv brevetat de colectivul de cercetare [163].



Figura 39. Celula de pertracție.

- Bioreactor B. Braun Biotech. International
- pH-metru digital (CONSORT C 836)
- Separator centrifugal MLW T23D
- Viscozimetrul rotativ de tipul Viscotester 6 plus (HAAKE)
- Spectrofotometru UV-VIS Camspec M550
- Cromatograf tip HPLC (UltiMate 3000 Dionex)

II.2.2. MATERIALE ȘI REACTIVI

1. <u>Acizi carboxilici studiați</u>: acid propionic, acid succinic, acid paraaminobenzoic.

2. <u>Solvenți organici</u>: n-heptan, diclormetan, acetat de butil.

3. <u>Extractanți (agenți purtători) utilizați</u>: (a) agenți de extracție (extractanți) de tip aminic, trioctilamina (TOA), (b) agenți de extracție (extractanți) de tip organofosforic, acid di-2(etilhexil)fosforic (D2EHPA).

4. Modificator de fază: 1-octanol

5. <u>Medii supuse extracției sau pertracției</u>: lichide de fermentație simulate, suspensii de *Propionibacterium acidipropionici*, *Actinobacillus succinogenes* și *Escherichia coli*.

6. <u>Diferiți reactivi</u>: soluții pentru corectarea pH-ului.

7. <u>Componența mediilor de cultură pentru fermentațiile studiate</u>: glicerol, glucoză, extract de drojdie, peptonă, fosfat de potasiu, fosfat acid de potasiu, fosfat monosodic, fosfat disodic, sulfat de magneziu, clorură de sodiu, clorură de magneziu, clorură de calciu, acetat de sodiu.

II.2.3. MĂRIMI UTILIZATE PENTRU DESCRIEREA ȘI ANALIZA PROCESELOR STUDIATE

Rezultatele obținute au fost analizate prin intermediul: *randamentului* separării, coeficientului de distribuție, constantei de extracție, fluxului masic specific, coeficientului global de transfer de masă, forței motrice globale a transferului de masă, fluxurilor masice, factorului de permeabilitate.

II.3. STUDIUL SEPARĂRII DIRECTE PRIN EXTRACȚIE REACTIVĂ A ACIDULUI PROPIONIC DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE

Acidul propionic este un acid monocarboxilic cu numeroase aplicații în industria chimică, farmaceutică, alimentară, precum și în obținerea parfumurilor [77,165]. Acidul propionic este obținut prin sinteză chimică *via* aldehidă propionică, materia primă fiind propanul [85]. Însă, în ultimii ani, a crescut interesul față de obținerea acidului propionic prin procesele fermentative, datorită dificultăților asociate cu sinteza chimică și a cerințelor pentru extinderea unor noi tehnologii nepoluante. Dintre potențialii producători microbieni, specii care aparțin genurilor *Propionibacterium (P. acidipropionici, P. acnes, P. arabinosum, P. shermanii), Clostridium (C. propionicum), Veillonella și Selenomonas*, doar *P. acidipropionici* s-a dovedit eficient în aplicații la nivel industrial [77-79,166,167].

Separarea acidului propionic din lichidele de fermentație se realizează în prezent prin precipitare cu săruri de calciu sau prin reținere pe schimbători de ioni, urmată de eluție și cristalizare, însă toate aceste metode necesită consumuri ridicate de materiale și energie. Acidul propionic și acizii carboxilici secundari biosintetizați (în special acidul acetic și acidul succinic) manifestă un efect puternic de inhibiție de produs, fenomen care poate fi evitat doar prin separarea directă a acizilor organici pe parcursul formării lor.

În cazul lichidelor de fermentație simulate (care nu conțin biomasă), cât și ale suspensiilor de microorganisme care aparțin genului *Propionibacterium acidipropionici*, eficiența extracției reactive poate fi afectată semnificativ de caracteristicile reologice specifice și de prezența și concentrația biomasei.

Din aceste considerente, studiile anterioare, referitoare la extracția reactivă a acidului propionic din soluții apoase pure, au fost continuate prin investigarea performanței separării acidului propionic prin extracție reactivă atât din lichidele de fermentație simulate (fără biomasă), cât și din lichidele reale (*P. acidipropionici*).

II.3.1. STUDIUL EXTRACȚIEI REACTIVE A ACIDULUI PROPIONIC DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE SIMULATE

Studiile experimentele privind extracția reactivă a acidului propionic din lichidele de fermentație simulate au fost efectuate în coloana de extracție cu agitare vibratorie, prezentată în figura 37. Acidul propionic a fost extras din lichidele de fermentație simulate a căror concentrație inițială în acid a fost de 5 g/l (0,047 M). Lichidele de fermentație simulate au avut următoarele viscozități aparente: 5, 9, 12, 16 și 20 cP. Analiza procesului de extracție reactivă a acidului propionic s-a realizat prin intermediul randamentului separării, al coeficientului de distribuție, al factorului de amplificare și constantei de extracție. Acești parametri s-au calculat prin dozarea acidului propionic din soluția inițială și din rafinat și efectuarea

bilanțului de masă al acidului în sistemul de extracție.

În cazul extracției acidului propionic din soluții apoase pure, experimentele anterioare au subliniat influențele majore ale valorii pH-ului fazei apoase, concentrației extractantului în faza organică și a polarității solventului asupra eficienței separării [172].

După cum se poate observa din figura 56, în cazul în care separarea este realizată din lichidele de fermentație simulate, gradul de extracție se reduce semnificativ odată cu creșterea viscozității aparente.



Figura 56. Influența viscozității aparente asupra gradului de extracție al acidului propionic, pentru faza organică fără 1-octanol (conc. TOA = 40 g/l, pH = 2).

Astfel, pentru toți solvenții considerați, viscozitățile ridicate ale lichidelor de fermentație simulate manifestă o influență negativă, datorită accentuării rezistențelor la difuzia solutului dinspre faza apoasă spre faza organică.

Pentru a verifica dacă modificarea viscozității aparente controlează mecanismul reacției interfaciale dintre acidul propionic și extractant, a fost aplicat algoritmul folosit în cazul extracției reactive din soluții apoase pure [172].

Deoarece polaritățile solvenților sunt diferite, iar concentrația inițială a acidului propionic este relativ scăzută, extracția reactivă cu TOA decurge conform următoarelor mecanisme ale reacției interfaciale dintre solut și extractant (numărul de molecule de acid care participă la formarea complexului interfacial depinde de polaritatea solventului și de raportul molar dintre acid și extractant):

• diclormetan, acetat de butil

$$\text{RCOOH}_{(aq)} + p Q_{(o)} \longleftarrow \text{RCOOH.} Q_{p(o)}$$

n-heptan

 $2 \operatorname{RCOOH}_{(aq)} + p Q_{(o)} \iff (\operatorname{RCOOH}_2Q_{p(o)})$

Aceste mecanisme au fost analizate distinct în funcție de polaritatea fiecărui solvent, pentru sisteme de extracție cu și fără 1-octanol. Astfel, în absența alcoolului, la pH = 2 al fazei apoase, pentru solvenții cu polaritatea ridicată, coeficientul de distribuție, D, este calculat cu relația:

$$D = \frac{\left[RCOOH.Q_{p(o)}\right]}{\left[RCOOH_{(aq)}\right]}$$
(10)

în care $\left[\overline{\text{RCOOH}_{(aq)}}\right]$ și $[\text{RCOOH.Q}_{p(o)}]$ simbolizează concentrațiile totale la echilibru ale acidului propionic și compusului extras.

Conform echilibrului interfacial, constanta de extracție, K_E , se calculează cu expresia următoare:

$$K_{E} = \frac{[RCOOH.Q_{p(o)}]}{[RCOOH_{(aq)}] \cdot [Q_{(o)}]^{p}}$$
(11)

Concentrația acidului nedisociat din faza apoasă, $[\text{RCOOH}_{(aq)}]$, poate fi calculat prin intermediul concentrației acidului disociat și a constantei de disociere, k_a . Astfel, concentrația acidului propionic nedisociat din faza apoasă este:

$$[\text{RCOOH}_{(aq)}] = \frac{\left[\overline{\text{RCOOH}_{(aq)}}\right]}{1 + \left[\frac{k_a}{[H^+]}\right]}$$
(12)

Expresia de calcul a coeficientului de distribuție, D, se obține prin combinarea ecuațiilor (10) și (12), valabilă pentru extracția în diclormetan sau acetat de butil:

$$D = \frac{K_{E} \cdot \left[Q_{(o)}\right]^{b}}{1 + \left[H^{+}\right]}$$
(13)

Prin logaritmarea expresiei (13) se obține ecuația unei drepte:

$$\ln D + \ln \left(1 + \frac{k_a}{[H^+]} \right) = \ln K_E + p \cdot \ln [Q_{(0)}]$$
(14)

În condițiile în care concentrația inițială a TOA este mult mai mare decât cea a acidului propionic, $[Q_{(0)}]$ se poate considera ca fiind concentrația inițială a extractantului.

Astfel, din pantele dreptelor descrise de ecuația (14) pentru diclormetan și acetatul de butil, se poate determina numărul de molecule de extractant aminic, p, care participă la formarea compusului interfacial, iar din intersecțiile cu ordonata se obțin valorile constantelor de extracție corespunzătoare, K_E .

Pentru extracția în n-heptan, folosindu-se echilibrul interfacial corespunzător, coeficientul de distribuție și constanta de extracție se calculează cu relațiile următoare:

$$D = \frac{2 \cdot \left[(\text{RCOOH})_2 Q_{p(o)} \right]}{\left[\text{RCOOH}_{(aq)} \right]}$$
(15)

$$K_{E} = \frac{\left[(\text{RCOOH})_{2} Q_{p(o)} \right]}{\left[\text{RCOOH}_{(aq)} \right]^{2} \cdot \left[Q_{(o)} \right]^{p}}$$
(16)

Folosindu-se un algoritm de calcul similar cu cel utilizat anterior, se obține expresia specifică de calcul a coeficientului de distribuție:

$$\ln \frac{D}{2[\overline{\text{RCOOH}_{(aq)}}]} + 2 \cdot \ln \left(1 + \frac{k_a}{[H^+]}\right) = \ln K_E + p \cdot \ln [Q_{(o)}]$$
(17)

care poate fi folosită pentru calcularea numărului de molecule de extractant, p, și a constantei de extracție.

Dreptele descrise de ecuațiile (14) și (17) sunt reprezentate grafic în figura 57.



Figura 57. Reprezentarea grafică a dreptelor redate de ecuațiile (14) și (17), pentru faza organică fără 1-octanol (conc. TOA = 40 g/l, pH = 2).

În conformitate cu figura 57, în absența 1-octanolului din faza organică, numărul de molecule de TOA incluse în structura complexului interfacial acid propionic-TOA variază în faza organică astfel:

• diclormetan

apă p = 2,13

lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 5 cP p = 1,93lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 9 cP p = 2,07lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 12 cP p = 1,91lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 16 cP p = 1,97lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 20 cP p = 2,05

• acetat de butil

apă p = 1,90

lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 5 cP p = 2,05lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 9 cP p = 2,06lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 12 cP p = 1,92lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 16 cP p = 2,11 lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 20 cP p = 1,91

n-heptan

apă p = 3,88

lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 5 cP p = 3,87lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 9 cP p = 3,86lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 12 cP p = 3,91lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 16 cP p = 4,08lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă de 20 cP p = 3,97

Valorile calculate pentru p sugerează faptul că structurile compusului interfacial rămân aceleași ca în cazul extracției din soluții apoase pure, respectiv RCOOH.Q₂ pentru extracția în diclormetan sau acetat de butil, $(RCOOH)_2.Q_4$ pentru n-heptan.

După cum s-a concluzionat în experimentele anterioare, eficiența extracției reactive a acidului propionic poate fi îmbunătățită prin adăugarea 1-octanolului în faza organică [172]. Deși se menține alura generală a dependenței eficienței extracției de pH-ul fazei apoase, în cazul extracției reactive a acidului propionic din lichidele de fermentație simulate magnitudinea efectului produs de prezența alcoolului este mai mare decât în cazul extracției acidului din soluții apoase pure (figura 59).

Astfel, la viscozități ridicate, efectul pozitiv al adăugării 1-octanolului poate fi amplificat de mărirea rezistenței la difuzia solutului prin stratul organic limită de la interfața de separare.



Figura 59. Influența valorii pH-ului asupra gradului de extracție al acidului propionic, pentru faza organică cu 1-octanol (conc. 1-octanol = 20% vol., conc. TOA = 40 g/l).

Pentru întreg domeniul de viscozități aparente ale lichidelor de fermentație simulate și în prezența a 20% vol. 1-octanol în faza organică, au fost calculate valorile pantelor dreptelor reprezentate în figura 61.



Figura 61. Reprezentarea grafică a dreptelor calculate cu ecuația (14), pentru faza organică cu 1-octanol (conc. TOA = 40 g/l, pH = 2).

Valorile calculate ale coeficientului stoechiometric p sunt următoarele:

diclormetan

apă p = 1,12

lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 5 cP p = 1,08lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 9 cP p = 0,92lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 12 cP p = 1,11lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 16 cP p = 1,03lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 20 cP p = 1,03

acetat de butil

apă p = 0,92

lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 5 cP p = 0.88lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 9 cP p = 0.92lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 12 cP p = 1.06lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 16 cP p = 1.08lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 20 cP p = 1.11

• n-heptan

apă p = 2,11

lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 5 cP p = 2,13lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 9 cP p = 2,14 lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 12 cP p = 1,94lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 16 cP p = 2,14lichide de fermentație simulate cu viscozitatea aparentă de 20 cP p = 2,11

Aceste rezultate, cât și cele obținute cu viscozitateu aparenta de 20 cr p = 2,11Aceste rezultate, cât și cele obținute pentru extracția reactivă a acidului din lichidele de fermentație simulate, pentru faza organică fără modificator de fază, sunt similare cu cele înregistrate anterior pentru extracția reactivă a acidului propionic din soluții apoase pure, fiind observată blocarea formării aducților aminici în solvenții cu polaritate ridicată [172]. Prin urmare, se poate afirma faptul că odată cu creșterea viscozității fazei apoase nu se modifică mecanismul reacției interfaciale dintre acid și extractant, structurile generale ale compușilor extrași fiind de forma RCOOH.Q pentru extracția în diclormetan și acetat de butil, respectiv RCOOH.Q₂ pentru extracția în n-heptan.

Performanța extracției reactive a acidului propionic cu TOA este puternic afectată de viscozitatea fazei apoase. Cu toate că mecanismul interfacial se modifică în comparație cu extracția din soluții apoase pure, randamentul și constanta de extracție au fost semnificativ reduse de creșterea viscozității aparente a fazei apoase de la 5 la 20 cP. Influențele cele mai importante au fost înregistrate pentru solvenții cu polaritate scăzută, cum ar fi acetatul de butil și n-heptan. Adăugarea 1-octanolului în faza organică atenuează influența negativă a viscozității, magnitudinea relativă a acestui efect fiind amplificată odată cu scăderea constantei dielectrice a fazei organice.

*

II.3.2. STUDIUL EXTRACȚIEI REACTIVE A ACIDULUI PROPIONIC DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE ALE Propionibacterium acidipropionici

Studiul extracției reactive a acidului propionic din lichidele de fermentație simulate a fost continuat prin realizarea extracției acidului din lichidele de fermentație reale, cu viscozități aparente similare cu ale lichidelor de fermentație simulate, deoarece, prezența biomasei poate afecta suplimentar performanța procesului de extracție. În cadrul acestui studiu, experimentele au fost realizate cu ajutorul celulei de extracție Lewis (figura 38.b). Faza apoasă a fost alcătuită din suspensii de *P. acidipropionici* (figura 52) cu o concentrație a biomasei variind între 5 și 30 g/l s.u.

Procesul de extracție a fost analizat prin intermediul fluxului masic al solutului, n, dinspre faza apoasă către solvent.

Studiile experimentale, realizate în condiții similare cu cele din cadrul extracției reactive a acidului propionic din soluții apoase pure și din lichidele de fermentație simulate, au vizat cuantificarea efectului datorat prezenței celulelor de *P. acidipropionici* în faza apoasă asupra vitezei transferului de masă al acidului,

influențe incluse în corelații matematice între fluxul masic specific al acidului propionic și concentrația biomasei.

Pentru a stabili natura limitativă a rezistenței difuzionale sau cinetice asupra transferului acidului propionic dinspre faza apoasă spre faza organică, a fost reprezentată grafic dependența dintre fluxul masic interfacial al acidului și turația agitatoarelor, pentru sistemul de extracție fără 1-octanol (figura 63 obținută pentru extracția din soluții apoase pure).



Figura 63. Influența intensității amestecării asupra fluxului masic specific al acidului propionic, pentru faza organică fără 1-octanol (conc. TOA = 40 g/l, $C_x = 0$ g/l).

Cele mai ridicate valori ale fluxului masic au fost obținute pentru diclormetan, diminuându-se pentru acetatul de butil și, suplimentar, pentru n-heptan.

Din figura 63 se poate observa faptul că domeniul de turații corespunzător regimului difuzional este mai extins pentru solvenții cu polarități scăzute, precum acetatul de butil (pentru diclormetan, difuzia controlează procesul de extracție pentru turații sub 700 rpm, pe când pentru acetatul de butil până la 1000 rpm). Extinderea domeniului de turații conduce la modificarea naturii etapei limitative (valoarea turației corespunzătoare tranziției naturii etapei limitative din difuzională în cinetică este denumită *turație critică*) [176].

Diferența dintre cele două domenii de turații este datorată capacității scăzute a acetatului de butil de a solubiliza compusul interfacial și, implicit, a rezistenței ridicate la difuzia interfacială în comparație cu diclormetanul. În acord cu cele discutate anterior, rezistența difuzională și valoarea turației critice ar trebui să fie mai mari în cazul extracției în n-heptan, datorită polarității și mai reduse a solventului. Însă, după cum se poate observa din figura 63, domeniul intensității amestecării corespunzător regimului difuzional este cuprins între 0 și 600 rpm, datorită mecanismului diferit al extracției reactive în sistemele care conțin n-heptan ca fază organică.

Indiferent de solventul folosit, prezența celulelor de *P. acidipropionici* reduce viteza de transfer de masă a solutului, efect care devine mai accentuat pentru solvenții cu polaritate scăzută (figura 64).



Figura 64. Influența intensității amestecării și a concentrației biomasei asupra fluxului masic specific al acidului propionic, pentru faza organică fără 1-octanol (conc. TOA = 40 g/l).

Pentru diclormetan, în figura 64 se constată o creștere a turației critice de la 700 rpm, pentru faza apoasă care nu conține celule bacteriene, la peste 1200 rpm, pentru suspensii de celule cu o concentrație a biomasei de 30 g/l s.u. Această variație sugerează amplificarea rezistenței la difuzia solutului dinspre faza apoasă către faza organică odată cu acumularea biomasei în lichidele de fermentație.

O variație similară a fost observată în cazul utilizării acetatului de butil, valoarea turației critice variind de la 1000 rpm, la o concentrație a biomasei în jur de 12 g/l s.u., la peste 1200 rpm, pentru concentrații mai ridicate ale suspensiei de *P. acidipropionici*.

Dependența directă dintre turația critică și concentrația biomasei nu este valabilă pentru extracția în n-heptan. În conformitate cu figura 64, pentru acest solvent a fost înregistrată cea mai pronunțată creștere a valorii turației critice pentru concentrații ale biomasei mai mari de 18 g/l s.u. (pentru variații ale concentrației biomasei cuprinse 0 și 18 g/l, turația critică a crescut de la 600 rpm la peste 1200 rpm). În plus, fluxurile masice înregistrate la cele mai ridicate concentrații ale suspensiilor de *P. acidipropionici* (23 și 30 g/l s.u.) sunt superioare celor obținute la concentrații de 18 g/l s.u., datorită accelerării vitezei de transfer de masă odată cu creșterea turației peste 300 rpm. Această comportare poate fi explicată prin afinitatea diferită a celulelor bacteriene pentru faza organică, în funcție de etapa de dezvoltare a acestora [177].

Apariția unei rezistențe suplimentare la transferul solutului dinspre faza apoasă către faza organică prin crearea unei bariere fizice datorate prezenței fazei solide (biomasă) generează diminuarea fluxurilor masice ale acidului propionic. Conform datelor din literatură [176], adsorbția celulelor *P. acidipropionici* la interfața de separare dintre lichidul de fermentație și compușii organici hidrofobi, în principal n-alcani, are loc doar la concentrații scăzute ale biomasei, la începutul creșterii celulare, iar odată cu înmulțirea bacteriană se produce desorbția și dispersia celulelor în mediul apos.

Fenomenul desorbției, care conduce la accelerarea fluxului masic dinspre faza apoasă spre faza organică, este amplificat prin intensificarea amestecării, justificând, astfel, valorile ridicate ale vitezei de transfer de masă obținute pentru n-heptan la concentrații superioare ale biomasei și la turații de peste 300 rpm.

După cum se poate observa din figura 66 trasată pentru extracția din soluții apoase pure, adăugarea 1-octanolului în faza organică determină creșterea fluxului masic al acidului propionic și modifică domeniul turației corelat cu etapa limitativă de natură difuzională sau cinetică.

Ca rezultat al îmbunătățirii capacității solventului de a dizolva compusul interfacial, valoarea turației critice este redusă la 600 rpm pentru diclormetan, respectiv 800 rpm pentru acetatul de butil.



Figura 66. Influența intensității amestecării asupra fluxului masic specific al acidului propionic, pentru faza organică cu 1-octanol (conc. 1-octanol = 20% vol., conc. TOA = 40g/l, C_x = 0 g/l).

Contrar, pentru n-heptan, adăugarea alcoolului induce creșterea turației critice la 1000 rpm. Polaritatea scăzută a n-heptanului și, prin urmare, capacitatea scăzută de solubilizare a acidului explică domeniul extins al intensității amestecării corespunzător etapei limitative de natură difuzională. În același timp, mecanismul interfacial se modifică în prezența 1-octanolului, structura compusului interfacial devenind RCOOH.Q pentru diclormetan și acetat de butil, respectiv RCOOH.Q₂ pentru n-heptan [172]. Astfel, prin reducerea considerabilă a numărului de molecule de acid propionic și TOA participante la formarea aducților aminici, este accelerată viteza reacției chimice interfaciale și, în consecință, este diminuată rezistența cinetică. Influențele principalilor factori, și anume turația (N, s⁻¹), concentrația celulelor bacteriene (C_x, g/l s.u.) și constanta dielectrică a solvenților organici (ϵ), au fost incluse în următoarea expresie matematică (18) pentru calculul fluxului masic interfacial (n, mol/m²·h), corespunzător regimului difuzional (turații mai mici de 600 rpm):

$$n = \frac{e^{0.146 \cdot \varepsilon} \cdot N^{6.185 \cdot 10^{-2} \cdot \varepsilon}}{C_X^{1.812}} , \text{ mol/m}^2 \cdot h$$
(18)

Analiza transferului de masă interfacial în procesul de separare directă a acidului propionic din lichidele de fermentație ale *P. acidipropionici* prin tehnica extracției reactive cu TOA în solvenți cu polarități diferite (diclormetan, acetat de butil, n-heptan) a indicat diferențe semnificative comparativ cu extracția reactivă din soluții apoase sau lichide de fermentație simulate, fără biomasă.

În toate sistemele de extracție, prezența biomasei determină scăderea semnificativă a fluxului masic interfacial. Adăugarea 1-octanolului în faza organică manifestă un efect pozitiv asupra vitezei de transfer de masă, însă magnitudinea acestui efect este diminuată în comparație cu extracția din soluții apoase pure sau lichide de fermentație simulate. De asemenea, influența 1-octanolului este suplimentar afectată în cazul n-heptanului, datorită afinității ridicate a celulelor bacteriene pentru acest solvent la concentrații ale biomasei mai mici de 18 g/l s.u. Peste această valoare a concentrației biomasei, are loc desorbția celulelor bacteriene de la interfață și creșterea semnificativă a fluxului masic.

II.4. STUDIUL SEPARĂRII DIRECTE PRIN EXTRACȚIE REACTIVĂ A ACIDULUI SUCCINIC DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE

Acidul succinic poate fi utilizat ca intermediar pentru obținerea unei game largi de substanțe chimice, rășini sintetice, polimeri biodegradabili, ierbicide, fungicide, cerneluri, detergenți, regulatori de creștere a plantelor [116,117,119].

Comercial, acidul succinic poate fi obținut prin sinteză chimică din butan, însă cercetările recente au arătat faptul că obținerea acidului succinic prin procese fermentative reduce costurile de producție. În acest scop, dintre numeroasele microorganisme cu potențial producător de acid succinic, aplicații promițătoare șiau găsit doar tulpinile de *Actinobacillus succinogenes* și *Actinobacillus succiniproducens*.

Separarea selectivă a acidului succinic din amestecuri de biosinteză se realizează, în general, prin precipitare, cristalizare și schimb ionic, însă cu eficiență destul de scăzută și cu consumuri ridicate de materiale și energie [127-131]. Acidul succinic, ca și ceilalți acizi carboxilici, manifestă un efect puternic de inhibiție de produs, din acest motiv, s-a urmărit separarea directă a acestuia direct din mediul de fermentație.

În cadrul acestui capitol, studiile au urmărit influența caracteristicilor reologice ale lichidelor de fermentație (viscozitatea aparentă) și prezenței biomasei asupra vitezei transferului de masă al acidului succinic. În acest scop, experimentele au fost realizate în două etape: (1) studiul extracției reactive directe a acidului succinic din lichidele de fermentație simulate și (2) studiul extracției reactive directe a acidului din lichidele de fermentație reale (suspensii de celule ale *Actinobacillus succinogenes*).

Determinările experimentale au fost realizate cu ajutorul celulei de extracție Lewis (figura 38.b). Inițial, acidul succinic a fost extras din lichidele de fermentație simulate a căror concentrație inițială în acest acid a fost de 10 g/l (0,085 M). Lichidele simulate au avut următoarele viscozități aparente: 5, 9, 12, 16 și 20 cP. În cadrul celui de-al doilea studiu, privind extracția acidului succinic din lichidele de fermentație reale, faza apoasă a fost alcătuită din suspensii de *Actinobacillus succinogenes* (figura 53) cu o concentrație a biomasei variind între 6 și 27 g/l s.u.

Analiza procesului de extracție reactivă a acidului succinic din lichidele de fermentație simulate și reale s-a realizat prin intermediul fluxului masic, n, transferat dinspre faza apoasă către solvent, a forței motrice globale și coeficientului global de transfer de masă, determinați prin dozarea acidului succinic din soluția inițială și din rafinat și efectuarea bilanțului de masă al solutului în sistemul de extracție.

II.4.1. STUDIUL EXTRACȚIEI REACTIVE A ACIDULUI SUCCINIC DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE SIMULATE

Experimentele anterioare asupra extracției reactive a acidului succinic din soluții apoase pure cu TOA au evidențiat influența semnificativă a valorii pH-ului, a polarității solventului și a concentrației extractantului asupra eficienței separării [179]. Similar extracției altor compuși de biosinteză din lichidele de fermentație simulate, viscozitatea ridicată a fazei apoase poate manifesta o influență negativă semnificativă, prin amplificarea rezistenței la transferul de masă al solutului din faza apoasă către faza organică [176].

După cum a fost menționat anterior, eficiența extracției reactive poate fi îmbunătățită prin adăugarea în faza organică a unui modificator de fază [56,65,179].

Pentru a sublinia influența pozitivă a alcoolului asupra extracției reactive a acidului succinic, a fost introdus factorul de amplificare, A, definit, în acest caz, ca raportul dintre fluxul masic al acidului succinic în prezența 1-octanolului și cel obținut în condiții indentice fără alcool. Pentru toate sistemele de extracție, figura 71 confirmă influența pozitivă a 1-octanolului, deoarece valorile factorului A sunt mai mari decât 1. Însă, dependența factorului A de turația agitatoarelor este diferită și trebuie corelată cu viscozitatea aparentă a fazei apoase și cu mecanismul de extracție.

La pH = 1, prin intensificarea amestecării soluției apoase cu viscozitatea aparentă de până la 9 cP, în figura 71 se poate observa o creștere inițială a factorului A până la o valoare maximă, urmată de scăderea acestuia. Această variație este rezultatul modificării contribuției relative a 1-octanolului și a turației asupra difuziei și solubilizării compusului interfacial.



Figura 71. Influența intensității amestecării și a viscozității aparente asupra factorului de amplificare (conc. 1-octanol = 20% vol., conc. TOA = 70 g/l).

Astfel, la turații scăzute, creșterea polarității solventului și, în consecință, a capacității de a solubiliza acidul, constituie principalul factor care controlează transferul solutului din faza apoasă către faza organică. La turații superioare, intensitatea amestecării constituie principalul factor care influențează viteza de difuzie și de solubilizare și determină diminuarea diferențelor dintre sistemele de extracție cu și fără 1-octanol. Prin urmare, datorită limitării difuzionale determinată de viscozitatea ridicată a fazei apoase, valoarea turației corespunzătoare maximului factorului de amplificare crește de la 400 rpm pentru 1 cP la 1000 rpm pentru 9 cP.

În aceste condiții, în cazul extracției acidului succinic din soluții apoase pure, modificarea factorului A este mult mai evidentă, deoarece valorile acestuia obținute la turații ridicate devin inferioare celor corespunzătoare turațiilor scăzute, datorită efectului mai puțin pronunțat al alcoolului asupra solubilizării și difuziei acidului în lichidele cu viscozități scăzute.

Creșterea viscozității aparente a fazei apoase schimbă complet alura dependențelor dintre factorul de amplificare și intensitatea amestecării. Astfel, la pH = 1, factorul de amplificare crește continuu cu turația agitatoarelor, însă este redus de creșterea viscozității aparente. Acest fenomen poate fi atribuit efectului pozitiv al adăugării 1-octanolului cumulat cu intensificarea amestecării, ambele fiind importante, în egală măsură, în cazul soluțiilor apoase viscoase.

După cum a fost menționat anterior, la pH = 5, datorită disocierii parțiale a acidului succinic, solubilitatea acestuia în faza organică este diminuată. În plus, prezența alcoolului modifică mecanismul extracției, facilitând reacția interfacială dintre acid și TOA. În aceste circumstanțe, magnitudinea efectului pozitiv al adăugării modificatorului de fază este mai pronunțată la pH = 5 comparativ cu pH = 1.

Datorită efectelor generate de prezența 1-octanolului, variația factorului de amplificare pentru soluții apoase cu viscozități de 1 și 5 cP devine mai puțin evidentă, în timp ce în cazul celorlaltor viscozități aceasta este complet schimbată. Valorile factorului A înregistrate la turații de peste 700 - 800 rpm scad de la cea mai ridicată viscozitate a fazei apoase până la cea a soluțiilor apoase pure, subliniind, astfel, influența semnificativă a modificatorului de fază și a intensității agitării asupra vitezei de difuzie din faza apoasă cu viscozitate aparentă superioară.

În figura 73 este reprezentată variația coeficientului global de transfer de masă al acidului succinic, K, în funcție de viscozitatea aparentă, în regim difuzional (turația de 500 rpm). Indicând un comportament similar fluxurilor masice, pentru ambele valori de pH, se observă reducerea coeficientului de transfer de masă odată cu creșterea viscozității aparente, însă, amplitudinea acestui efect devine mai importantă la viscozități aparente de peste 12 cP. De asemenea, adăugarea modificatorului de fază determină creșterea coeficientului K, efect care devine mai pronunțat la viscozități ridicate ale fazei apoase.



Figura 73. Influența viscozității aparente asupra coeficientului global de transfer de masă al acidului succinic, pentru faza organică fără și cu 1-octanol (conc. 1-octanol = 20% vol., conc. TOA = 70 g/l, turația = 500 rpm).

Valorile coeficientului de transfer de masă obținute la pH = 5, în absența 1-octanolului, sunt inferioare celor corespunzătoare la pH = 1, ca rezultat al disocierii parțiale a acidului succinic la pH = 5, ceea ce afectează solubilizarea acestuia, și, implicit, viteza de difuzie spre faza organică.

Prin adăugarea alcoolului în solvent, coeficienții de transfer de masă înregistrați la pH = 5 îi depășesc pe cei obținuți la pH = 1. După cum a fost menționat anterior, simplificarea mecanismului reacției interfaciale dintre acidul succinic și TOA, la pH = 5 și în prezența 1-octanolului, facilitează transportul acidului către faza organică prin creșterea vitezei de difuzie și, implicit, a coeficientului de transfer de masă.

Deoarece dependența dintre coeficientul de transfer de masă și parametrii extracției este similară cu cea înregistrată pentru fluxurile masice și contrară variației forței motrice a transferului de masă, se poate concluziona că viteza de transport a acidului succinic către faza organică depinde în mod direct doar de coeficienții de transfer de masă.

Pentru cuantificarea influenței mecanismului interfacial asupra coeficientului de transfer de masă al acidului succinic a fost introdusă constanta de extracție, K_E . Acest parametru este corelat direct cu mecanismul extracției prin intermediul valorii pH-ului fazei apoase și a polarității solventului [28]. Influențele cumulate ale viscozității aparente și ale constantei de extracție asupra vitezei de transfer de masă a acidului succinic sunt reprezentate în figura 74.



Figura 74. Influențele cumulate ale viscozității aparente și constantei de extracție (K_E) asupra coeficientului de transfer de masă al acidului succinic (turație = 500 rpm).

Influențele cumulate ale turației (N, s⁻¹), constantei de extracție (K_E) și viscozității aparente a soluției apoase (η_a , Pa.s) au fost incluse într-o expresie matematică de calcul al coeficientului global de transfer de masă, valabilă pentru regimul difuzional (turația = 500 rpm):

$$K = e^{2.56 \times 10^{3} \times K_{E}} \times \frac{N^{3.82 \times 10^{3} \times K_{E}}}{\eta_{a}^{9.94 \times 10^{2}}}, m/s$$
(19)

Folosind domeniul de variații corespunzător factorilor considerați, valoarea coeficientului de transfer de masă al acidului succinic a fost calculat pentru fiecare combinație de parametri ai extracției. După cum se poate observa din figura 75, valorile calculate ale coeficientului de transfer de masă, K, sunt apropiate de valorile experimentale obținute, abaterea maximă fiind de 8,52% și abaterea medie \pm 3,63%.



*

Figura 75. Reprezentarea grafică a erorii ecuației (19) obținute pentru fiecare combinație de parametri ai extracție.

*

Analiza transferului de masă în extracția reactivă a acidului succinic din lichidele de fermentație simulate, care posedă viscozitate aparentă și comportare reologică similare cu cele ale suspensiilor de bacterii de *Actinobacillus succinogenes*, a evidențiat influența puternică a viscozității aparente, a prezenței 1-octanolului și, implicit, a mecanismului reacțiilor interfaciale asupra vitezei de transfer a acidului dinspre faza apoasă către faza organică.

Valoarea turației critice crește odată cu creșterea viscozității fazei apoase, acest efect sugerând rolul major al difuziei asupra vitezei transferului de masă în procesul de extracție reactivă. Influența procesului difuzional este amplificată de creșterea valorii pH-ului fazei apoase, însă, este diminuată prin adăugarea 1-octanolului în faza organică.

Efectul pozitiv al 1-octanolului a fost evidențiat prin intermediul factorului de amplificare, care atinge valoarea maximă la pH = 5 și la viscozități ridicate, datorită simplificării mecanismului reacției interfaciale dintre acidul succinic și TOA și a îmbunătățirii solubilității acidului în acetat de butil în prezența alcoolului.

II.4.2. STUDIUL EXTRACȚIEI REACTIVE A ACIDULUI SUCCINIC DIN SUSPENSII DE Actinobacillus succinogenes

Studiul anterior, care a utilizat lichidele de fermentație simulate, a evidențiat rolul major al viscozității aparente a fazei apoase asupra vitezei de extracție a acidului succinic [180,181]. Astfel, pe baza informațiilor oferite de extracția reactivă a acidului succinic din soluții apoase pure și din soluții viscoase, a fost abordată analiza performanței separării acidului succinic prin extracție reactivă din lichidele de fermentație ale *A. succinogenes* [181]. Deoarece prezența biomasei va crea o rezistență suplimentară la transferul de masă al acidului, au fost folosite viscozități aparente identice cu cele ale lichidelor de fermentație simulate care nu conțin biomasă.

Pentru cuantificarea influenței celulelor bacteriene asupra fluxului masic interfacial, a fost introdus factorul de reducere, R, definit ca raportul dintre fluxurile masice obținute pentru extracția reactivă a acidului succinic din lichidele de fermentație produse de *A. succinogenes* și fluxurile corespunzătoare extracției reactive a acidului din medii simulate cu viscozități aparente similare celor reale.

Indiferent de valoarea pH-ului fazei apoase și de prezența sau absența 1-octanolului, figura 78 indică faptul că factorul R înregistrează valori subunitare, subliniind, astfel, efectul negativ al prezenței celulelor bacteriene, datorită blocării transportului solutului de către adsorbția celulelor la interfața de separare dintre cele două faze.

Creșterea concentrației biomasei conduce la reducerea factorului R la o valoare minimă, corespunzătoare concentrației de 18 g/l s.u., urmată de creșterea acestuia. Evoluția factorului R sugerează faptul că pentru concentrații ale celulelor de *A. succinogenes* mai mari de 18 g/l s.u., valorile fluxurilor masice ale acidului succinic pentru aceste sisteme devin mai apropiate celor obținute pentru extracția reactivă din lichidele de fermentație simulate fără biomasă.



Figura 78. Influența concentrației celulelor de *A. succinogenes* asupra factorului de reducere (turația = 500 rpm).

Pentru ambele pH-uri ale fazei apoase, valorile factorului R sunt mai ridicate pentru faza organică care conține 1-octanol, datorită creșterii solubilității acidului succinic în acetatul de butil, efect care compensează parțial fenomenul blocajului interfacial datorat adsorbției celulelor. Dependența dintre factorul R și concentrația biomasei este mult mai pronunțată la pH = 5. În acest caz, transferul solutului dinspre faza apoasă spre faza organică este blocat suplimentar de disocierea parțială a acidului succinic, magnitudinea relativă a efectului pozitiv al desorbției celulelor devenind mai importantă. Din acest motiv, valorile factorului de reducere obținute la pH = 5 pentru o concentrație a biomasei de 27 g/l s.u. le depășesc pe cele înregistrate la pH = 1.

Similar extracției reactive a acidului succinic din lichidele simulate [180], dependența forței motrice globale de transfer a acidului dinspre faza apoasă către faza organică de intensitatea amestecării a indicat influența negativă a turațiilor

ridicate. Acest efect este diminuat de acumularea biomasei și de creșterea valorii pH-ului fazei apoase.

După cum se poate observa în figura 80, prezența biomasei induce creșterea gradientului de concentrație al acidului succinic dintre faza apoasă și faza organică, datorită obstrucționării transportului acidului prin adsorbția celulelor la interfață. Accelerarea turației conduce la diminuarea diferențelor dintre forțele motrice corespunzătoare extracției acidului succinic din soluții apoase cu biomasă (ΔC_C) și din lichidele de fermentație simulate fără biomasă (ΔC_0).



Figura 80. Influența intensității amestecării și a concentrației celulelor de *A. succinogenes* asupra forței motrice de transfer de masă a acidului succinic, pentru faza organică fără și cu 1-octanol (conc. 1-octanol = 20 % vol., conc. TOA = 70 g/l).

Pentru concentrații ale biomasei de peste 18 g/l s.u., diminuarea diferenței dintre ΔC_C și ΔC_0 devine semnificativă peste o anumită valoare a turației, valoare care scade de la 500 rpm pentru 18 g/l s.u. la 200 rpm pentru 27 g/l s.u. Reducerea valorii raportului dintre forțele motrice ale transferului de masă pentru extracția din suspensii bacteriene, respectiv, din lichide simulate constituie rezultatul afinității scăzute a microorganismelor pentru faza organică la concentrații ridicate ale biomasei. Fenomenul desorbției celulelor de la interfață permite reducerea diferențelor dintre ΔC_C și ΔC_0 , acest fenomen fiind amplificat de creșterea turației. Prin urmare, cea mai mare diferență dintre ΔC_C și ΔC_0 este obținută la concentrații ale biomasei de 18 g/l s.u., iar cea mai scăzută este înregistrată pentru cele mai ridicate concentrații ale suspensiilor de *A. succinogenes* la turații superioare.

Studiul transferului de masă interfacial al acidului succinic în extracția reactivă directă a acestui acid din lichidele de fermentație ale *A. succinogenes* cu TOA dizolvată în acetat de butil a indicat comportări diferite în comparație cu extracția din soluții apoase pure sau medii simulate, fără biomasă.

În toate sistemele de extracție studiate, prezența biomasei conduce la reducerea semnificativă a vitezei transferului de masă, acest efect fiind analizat prin intermediul fluxului masic și al coeficientului de transfer de masă.

Rezultatele obținute sugerează faptul că celulele bacteriene sunt adsorbite la interfața de separare dintre suspensia apoasă și solvent și acționează similar unei bariere fizice, generând apariția unei rezistențe suplimentare la transferul de masă dinspre faza apoasă spre faza organică. Acest efect depinde de afinitatea celulelor microbiene pentru faza organică, care este mai importantă pentru concentrația biomasei inferioară valorii de 18 g/l s.u.

Prezența masei celulare manifestă un efect pozitiv doar asupra forței motrice a transferului de masă. Adăugarea 1-octanolului în faza organică determină accelerarea vitezei transferului de masă, însă, magnitudinea acestui efect este diminuată în comparație cu extracția din soluții apoase pure sau lichide simulate cu viscozități similare celor reale.

II.5. SEPARAREA PRIN PERTRACȚIE DIRECTĂ A ACIDULUI p-AMINOBENZOIC DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE

Acidul p-aminobenzoic, denumit și vitamina B_{10} , component al pteroilglutamatului, are rol de provitamină pentru unele bacterii, factor de creștere pentru unele specii superioare de animale, corpul omenesc având capacitatea de a sintetiza folați utilizând acest acid ca precursor [3].

Cele mai recente metode de obținere a acidului p-aminobenzoic constau în sinteza chimică plecând de la metil-4-formilbenzoat [136] și biosinteza de către tulpini mutante de *E. coli* [137]. În ambele cazuri etapele de separare sunt laborioase și necesită consumuri ridicate de materiale și energie.

Având ca premise rezultatele anterioare privind mecanismul separării și influența factorilor determinanți asupra extracției reactive a acidului p-aminobenzoic, studiile experimentale au abordat posibilitatea pertracției directe a acestui acid din lichidele de fermentație nefiltrate. În acest scop, au fost analizate comparativ sistemele de pertracție din lichide de fermentație simulate, fără biomasă, și din cele reale, culturi de *E. coli*.

Atât pentru pertracția acidului p-aminobenzoic din lichidele de fermentație simulate, cât și din lichidele reale, cercetările experimentale s-au efectuat folosindu-se instalația de pertracție prezentată în figura 39. În prima serie de experimente, faza apoasă inițială a constat din apă și lichide de fermentație simulate cu viscozitate aparentă în domeniul 3 - 30 cP. Pentru al doilea studiu, faza apoasă inițială a fost alcătuită din suspensii de *E. coli* având concentrația biomasei în domeniul 5 - 20 g/l s.u. Evoluția procesului s-a urmărit prin intermediul fluxurilor masice inițiale și finale ale acidului p-aminobenzoic și al factorului de permeabilitate prin membrana lichidă.

II.5.1. STUDIUL PERTRACȚIEI DIRECTE A ACIDULUI p-AMINOBENZOIC DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE SIMULATE

În cazul pertracției acidului p-aminobenzoic, studiile anterioare au evidențiat influența majoră pe care o manifestă asupra eficienței separării gradientul de pH dintre fazele apoase, concentrația agentului purtător în membrana lichidă, și mai puțin intensitatea amestecării fazelor apoase [27]. Apariția unui factor suplimentar, respectiv viscozitatea aparentă a fazei apoase inițiale, poate exercita un efect negativ semnificativ, similar cazului extracției altor compuși de biosinteză din lichidele simulate sau reale de fermentație [157,158].

Studiul pertracției libere a acidului p-aminobenzoic din soluții apoase pure a indicat faptul că până la un pH al fazei apoase inițiale, pH_i, egal cu 1 pertracția liberă nu este posibilă, datorită ionizării accentuate a acidului la gruparea aminică ($pk_{a1} = 4,65$; $pk_{a2} = 9,35$ [52]), peste această valoare ambele fluxuri masice, inițial și final, crescând puternic cu pH_i, ca rezultat al creșterii eficienței extracției fizice [144,145].

Creșterea viscozității fazei apoase inițiale induce reducerea accentuată a fluxului masic inițial, n_i , al acidului, datorită amplificării rezistenței de natură difuzională. În acest sens, în figura 84 se observă o reducere de circa 2 - 2,6 ori a ambelor fluxuri masice, reducerea fiind mai pronunțată în domeniul mai acid al pH_i .



Figura 84. Influența valorii pH-ului fazei apoase inițiale asupra fluxurilor masice ale acidului p-aminobenzoic pentru pertracția liberă ($pH_f = 4$, turația = 500 rpm).

Fluxul masic final, n_f, crește, de asemenea, datorită creșterii concentrației acidului p-aminobenzoic în membrana lichidă. Menținerea fluxului masic final la o valoare relativ constantă pentru valori ale pH-ului fazei apoase inițiale mai mari decât 6, după cum a fost constatat și în experimentele anterioare [144,145], este valabilă numai pentru viscozități aparente ale soluției inițiale mai mici de 15 cP. Pentru aceste viscozități, valoarea constantă a fluxului masic indică atingerea vitezei maxime de reextracție în condițiile experimentale considerate, datorită unor concentrații ridicate ale acidului transferat în membrana lichidă dinspre faza apoasă inițială. În cazul unor faze inițiale mai viscoase, viteza de transfer a acidului fiind

mult diminuată, concentrația sa în membrană este mai redusă, iar viteza de reextracție se menține direct proporțională cu cea de extracție.

Similar sistemelor în care acidul se separă din soluții cu viscozitatea de 1 cP, creșterea valorii pH-ului fazei apoase finale, pH_f , determină reducerea semnificativă a fluxurilor masice ale acestuia, efectul fiind mai pronunțat odată cu creșterea viscozității fazei apoase inițiale (figura 86).



Figura 86. Influența valorii pH-ului fazei apoase finale asupra fluxurilor masice ale acidului p-aminobenzoic pentru pertracția liberă ($pH_i = 7$, turația = 500 rpm).

În acest caz, influența negativă a viscozității aparente se accentuează puternic pe măsura creșterii valorii pH_f, ca rezultat al cumulării cu efectul negativ al deplasării pH_f către domeniul neutru (in intervalul de viscozități 1 – 30 cP, fluxul masic inițial al acidului p-aminobenzoic a scăzut de 2,1 ori pentru pH_f = 2, respectiv de 42,5 ori pentru pH_f = 7).

Creșterea viscozității aparente a fazei apoase inițiale determină reducerea suplimentară a fluxului masic final. Astfel, comparativ cu pertracția acidului din soluții cu viscozitate similară apei, la o viscozitate de 30 cP fluxul masic final se reduce de circa 2, 1 - 6 ori, efectul amplificându-se odată cu creșterea pH_f.

Adăugarea agentului purtător, D2EHPA, în membrana lichidă oferă posibilitatea realizării pertracției și la valori ale pH-ului fazei apose inițiale sub 4, datorită modificării mecanismului interfacial de realizare a extracției acidului p-aminobenzoic în stratul de diclormetan (figura 88).

Din figura 88 se poate constata că prin mărirea viscozității aparente în intervalul considerat, fluxurile masice inițial și final au scăzut de circa 1,2 - 1,6 ori, efectul fiind mai pronunțat la valori mai mici ale pH_i . Însă, datorită prezenței agentului purtător și, implicit, al transferului acidului din faza apoasă inițială în faza membranei și prin intermediul extracției reactive, influența rezistenței difuzionale induse de viscozitate este atenuată, astfel că reducerea fluxurilor masice cu creșterea viscozității a fost mai puțin accentuată decât în cazul pertracției libere.



Figura 88. Influența valorii pH-ului fazei apoase inițiale asupra fluxurilor masice ale acidului p-aminobenzoic pentru pertracția facilitată ($pH_f = 2$, $C_{D2EHPA} = 40 g/l$, turația = 500 rpm).

Indiferent de valoarea viscozității aparente a fazei apoase inițiale, influența pH-ului fazei apoase finale asupra fluxurilor masice ale acidului p-aminobenzoic este similară cu cea înregistrată pentru pertracția liberă a acidului (figura 90).



Figura 90. Influența valorii pH-ului fazei apoase finale asupra fluxurilor masice ale acidului p-aminobenzoic pentru pertracția facilitată (pH_i = 4, C_{D2EHPA} = 40 g/l, turația = 500 rpm)

Însă, influența sa asupra fluxului masic inițial este mult mai redusă, datorită reacției interfaciale care deplasează echilibrul spre formarea derivatului de tip di-(2-etilhexil)fosfat al acidului p-aminobenzoic în faza organică. În acest caz, reducerea concentrației agentului purtător liber din membrana lichidă, ca rezultat al cuplării cu acidul p-aminobenzoic, controlează fluxul masic inițial, influență mult mai redusă având-o valoarea pH_f.

Creșterea viscozității aparente a soluției inițiale de la 1 la 30 cP a determinat reducerea fluxului masic inițial de 1,6 ori la pH_f = 2, respectiv de 3,2 ori la pH_f = 7, efect mult diminuat comparativ cu pertracția facilitată, datorită prezenței D2EHPA.

În schimb, influența pH-ului fazei apoase finale asupra fluxului masic final este mult mai accentuată, în special pentru $pH_f > 4$, ca rezultat al reducerii semnificative a gradientului de pH dintre fazele apoase. Influența negativă a viscozității asupra fluxului masic final este atenuată, și în acest caz, de prezența agentului purtător în membrana lichidă, reducerea vitezei de transfer a acidului p-aminobenzoic către faza apoasă finală diminuându-se doar de 1,6 ori la cea mai mare viscozitate considerată.

*

*

*

Studiul separării acidului p-aminobenzoic prin pertracție liberă și facilitată din lichide de fermentație simulate, având viscozitatea aparentă cuprinsă între 3 și 30 cP, a evidențiat rolul decisiv al viscozității, prin limitarea vitezei de difuzie, în realizarea eficientă a separării. Astfel, atât în cazul pertracției libere, cât și în cazul pertracției facilitate cu D2EHPA, creșterea viscozității aparente a fazei apose inițiale în intervalul 1 – 30 cP a condus la reducerea semnificativă a fluxurilor masice inițial și final ale acidului. Această influență este atenuată, însă, prin adăugarea agentului purtător în membrana lichidă. De exemplu, în anumite condiții experimentale, reducerea maximă a fluxurilor masice a fost de 42,5 de ori pentru pertracția liberă, pe când pentru pertracția facilitată de 7,5 ori.

Viscozitatea manifestă un efect pozitiv doar asupra capacității de transport a membranei, efect care este, însă, datorat reducerii fluxului masic inițial și al eficientizării reale a separării.

II.5.2. STUDIUL PERTRACȚIEI DIRECTE A ACIDULUI p-AMINOBENZOIC DIN LICHIDELE DE FERMENTAȚIE ALE *Escherichia coli*

Având ca premise rezultatele anterioare privind mecanismul separării și influența factorilor determinanți asupra pertracției libere și facilitate a acidului p-aminobenzoic din soluții cu viscozitate aparentă similară cu a lichidelor de fermentație ale *E. coli*, studiile experimentale au abordat în continuare pertracția directă a acidului din lichidele reale de fermentație nefiltrate, în scopul cuantificării influenței biomasei asupra eficienței separării.

Pentru cuantificarea acestui efect negativ al prezenței biomasei, s-a introdus *factorul de reducere*, F, definit ca raportul dintre fluxurile masice inițiale corespunzătoare pertracției din suspensii de *E. coli* și din lichide de fermentație simulate, F_i , respectiv ca raportul dintre fluxurile masice finale înregistrate în cele două cazuri, F_f .

Influența prezenței fazei solide ca atare, care induce creșterea suplimentară a viscozității, este evident indicată în figura 102, din care se constată reducerea de peste 3 ori a factorilor F_i și F_f odată cu creșterea concentrației biomasei de la 0 la 20 g/l s.u. Reducerea este mai puternică pentru concentrații ale *E. coli* de până la 5

g/l s.u., ceea ce confirmă că, la aceleași viscozități aparente, prezența fazei solide reprezintă un factor perturbator important.

Identificarea efectului prezenței fazei solide asupra permeabilității prin membrana lichidă s-a realizat prin utilizarea *factorului* F_P , calculat ca raportul dintre factorii de permeabilitate obținuți în condiții experimentale similare pentru fazele inițiale care conțin biomasă și cele care conțin lichide de fermentație simulate cu aceeași viscozitate (figura 102).



Figura 102. Influența concentrației biomasei asupra raportului F pentru pertracția liberă din suspensii de *E. coli* (pH_i = 7, pH_f = 4, turația = 500 rpm).

Dependența dintre factorul F_P și concentrația biomasei este opusă celor analizate anterior. Deoarece concentrația acidului p-aminobenzoic la interfața de contact dintre faza apoasă inițială și membrana lichidă este redusă într-o proporție mai însemnată prin creșterea concentrației biomasei comparativ cu creșterea viscozității aparente, fluxurile masice finale se apropie din ce în ce mai mult de cele inițiale la concentrații mai mari ale biomasei. În consecință, factorii de permeabilitate sunt mai mari în sistemele de pertracție liberă directă din suspensii de *E. coli*, iar factorul F_P crește în intervalul de concentrații ale biomasei considerat experimental.

Atât în cazul pertracției libere, cât și facilitate, accelerarea fluxurilor masice ale acidului este determinată de mărirea gradientului de pH dintre fazele apoase inițială și finală, iar capacitatea maximă de transport a membranei este atinsă în domeniul acid de pH al celor două faze apoase.

Și în cazul pertracției facilitate, influența prezenței fazei solide se poate analiza prin intermediul factorilor de reducere. Din figura 107 se constată reducerea de circa 1,8 ori a factorilor F_i și F_f odată cu creșterea concentrației biomasei de la 0 la 20 g/l s.u.

Comparativ cu pertracția liberă, intensitatea acestui efect este diminuată de adăugarea D2EHPA în membrana lichidă, care determină accelerarea fluxurilor masice inițiale ale solutului. Similar pertracției libere, dependența dintre factorul F_P și concentrația biomasei este opusă celor corelate cu fluxurile masice.



Figura 107. Influența concentrației biomasei asupra raportului F pentru pertracția facilitată din suspensii de *E. coli* ($pH_i = 4$, $pH_f = 2$, $C_{D2EHPA} = 40$ g/l, turația = 500 rpm).

Conform celor menționate în cazul pertracției libere, creșterea concentrației biomasei induce apropierea fluxurilor masice finale de cele inițiale. Din acest motiv, factorii de permeabilitate sunt mai mari și în cazul pertracției facilitate din suspensii de *E. coli*, ceea ce conduce la creșterea factorului F_P odată cu acumularea biomasei. Însă, tot datorită prezenței agentului purtător, creșterea este mult mai redusă, de circa 10 ori, comparativ cu sistemele care nu conțin D2EHPA.

Indiferent de concentrația agentului purtător, prezența fazei solide determină reducerea fluxurilor masice inițial și final, comparativ cu pertracția din lichide de fermentație simulate cu viscozități identice. În acest context, factorii F_i și F_f se reduc de circa 1,5 - 2,2 ori în intervalul de concentrații ale *E. coli* variind de la 5 la 20 g/l s.u., reducerea fiind atenuată de creșterea concentrației D2EHPA în membrana lichidă (figura 110).



Figura 110. Influența concentrației biomasei și a concentrației D2EHPA asupra raportului F pentru pertracția facilitată din suspensii de *E. coli* $(pH_i = 4, pH_f = 2, turația = 500 rpm).$

Factorii de permeabilitate în sistemul de pertracție care conține biomasă în faza inițială sunt superiori celor înregistrați pentru pertracția facilitată din lichidele de fermentație simulate, după cum se observă din figura 111.



Figura 111. Influența concentrației biomasei și a concentrației D2EHPA asupra raportului F_P pentru pertracția facilitată din suspensii de *E. coli* (pH_i = 4, pH_f = 2, turația = 500 rpm).

Explicația constă în reducerea suplimentară a fluxului masic inițial al acidului p-aminobenzoic prin crearea unei rezistențe difuzionale datorate și biomasei, nu doar viscozității fazei inițiale. Valoarea factorului F_P se reduce odată cu creșterea concentrației D2EHPA, datorită amplificării vitezei de extracție în membrana lichidă și, implicit, a reducerii permeabilității prin membrană.

*

*

Studiul separării acidului p-aminobenzoic prin pertracție liberă și facilitată din lichide de fermentație reale, având concentrația celulelor de *E. coli* cuprinsă între 5 și 20 g/l s.u., a evidențiat faptul că prezența fazei solide poate afecta suplimentar performanța separării acidului. Efectul negativ al acesteia se manifestă, în special, asupra vitezei de difuzie a solutului, datorită blocării interfeței de separare dintre faza apoasă inițială și membrana lichidă.

Astfel, atât în cazul pertracției libere, cât și în cazul pertracției facilitate cu D2EHPA, fluxurile masice inițial și final ale acidului sunt reduse puternic de creșterea concentrației biomasei din faza apoasă inițială. Însă, acest efect este atenuat de adăugarea agentului purtător în membrana lichidă.

Prezența fazei solide manifestă un efect pozitiv doar asupra capacității de transport a membranei, efect care este, însă, datorat reducerii fluxului masic inițial și nu eficientizării reale a separării.

III. CONCLUZII GENERALE

Studiile efectuate în cadrul tezei de doctorat se înscriu în problematica actuală de vârf privind separarea produselor de biosinteză prin tehnici moderne (extracția reactivă și pertracția), tehnici care să elimine dezavantajele procedeelor clasice de separare, să fie adecvate caracteristicilor fizico-chimice ale produselor biosintetizate, oferind, astfel, performanțe superioare acestei etape importante a procesului tehnologic. În acest context, studiile întreprinse au urmărit separarea directă a unor compuși de biosinteză, precum acizii carboxilici (acizii propionic, succinic și p-aminobenzoic) din lichidele de fermentație simulate și reale prin extracție reactivă și pertracție.

Lucrarea este structurată pe două părți principale. Prima parte reprezintă o sinteză de literatură de specialitate referitoare la separarea directă a produselor de biosinteză prin extracție reactivă și, respectiv, pertracție facilitată. Cea de-a doua parte, extinsă pe circa 70% din conținutul tezei de doctorat, cuprinde studiile experimentale originale realizate în cadrul programului de doctorat.

Pe baza studiului de literatură și a studiilor experimentale originale se pot formula următoarele concluzii:

- 1. Fermentația extractivă, care constă în integrarea unei tehnici de separare în cadrul procesului de fermentație, constituie o metodă viabilă pentru obținerea produselor naturale.
- 2. Pe baza unui studiu al informațiilor existente în literatura de specialitate, a fost analizată posibilitatea de integrare a tehnicilor neconvenționale, precum extracția reactivă și pertracția, în cadrul proceselor fermentative, în scopul realizării separării eficiente a compușilor de biosinteză (acizi carboxilici, antibiotice, vitamine, aminoacizi, alcooli), produși care manifestă efectul inhibiției de produs.
- 3. Alegerea agenților de extracție (extractant, agent purtător) pentru separarea compuşilor de biosinteză se realizează în funcție de structura compusului care se separă. Astfel, derivații aminici sunt utilizați pentru separarea acizilor carboxilici, antibioticelor şi aminoacizilor, derivații organofosforici au aplicații, în special, pentru separarea acizilor carboxilici, aminoacizilor şi compuşilor fenolici; derivații macrociclici sunt utilizați, în principal, pentru separarea aminoacizilor.
- 4. În cadrul experimentelor s-a studiat separarea unor acizi carboxilici prin procedeele neconvenționale de extracție reactivă și extracție și transport prin membrane lichide.
- 5. Tehnica experimentală utilizată a constat din trei tipuri de echipamente de concepție originală și care constituie subiectul unor brevete ale colectivului (coloana de extracție cu agitare vibratorie, celula de extracție de tip Lewis și celula de extracție și transport prin membrane lichide), iar

metodele analitice utilizate cuprind spectrofotometria UV - VIS și cromatografia HPLC.

- Compuşii a căror separare a fost studiată fac parte din categoria acizilor carboxilici de biosinteză, precum acizi monocarboxilici (acidul propionic) dicarboxilici (acidul succinic) şi aminoacizi aromatici (acidul p-aminobenzoic).
- 7. În funcție de sistemul de separare utilizat, procesele de extracție reactivă și pertracție facilitată s-au realizat cu tri-n-octilamina (TOA), dizolvată în trei solvenți organici cu constante dielectrice diferite (diclormetan, acetat de butil, n-heptan), și cu acid di-(2-etil-hexil)fosforic (D2EHPA), dizolvat în diclormetan. În scopul evidențierii avantajelor acestor tehnici, s-a experimentat comparativ separarea acizilor menționați prin extracție fizică și pertracție liberă, în condiții similare.
- 8. Pentru descrierea performanțelor proceselor de separare respective, s-au determinat mărimile: gradul de extracție, coeficientul de distribuție, constanta de extracție, fluxul masic al solutului, fluxurile masice extrase (inițiale) și reextrase (finale), coeficientul de transfer de masă, factorul de permeabilitate, factorul de amplificare.
- 9. În capitolul II.3. s-a realizat studiul extracției reactive directe a *acidului propionic* din lichidele de fermentație cu TOA dizolvată în trei solvenți organici diferiți (diclormetan, acetat de butil, n-heptan). În prima parte, s-a analizat extracția reactivă a acidului propionic din lichidele de fermentație simulate, fiind evidențiată influența puternică a viscozității fazei apoase asupra transferului de masă și randamentului extracției reactive. Astfel, utilizând coloana de extracție, s-a constatat că randamentul și

constanta de extracție au fost semnificativ reduse de creșterea viscozității aparente a fazei apoase de la 5 la 20 cP.

- 10. Determinările experimentale au fost continuate prin investigarea mecanismului și al factorilor care controlează extracția reactivă în prezența 1-octanolului, modificator de fază, în corelație cu polaritatea diferiților solvenți considerați în experimente. Pe baza datelor obținute, a fost stabilit faptul că adăugarea 1-octanolului în faza organică atenuează influența negativă a viscozității, magnitudinea relativă a acestui efect fiind amplificată odată cu scăderea constantei dielectrice a fazei organice.
- 11. Pentru a sublinia efectul pozitiv al prezenței 1-octanolului, a fost introdus factorul de amplificare. Valoarea maximă a acestui parametru a crescut de la diclormetan la n-heptan de circa 3,4 până la 6,3 ori.
- 12. Cea mai semnificativă scădere relativă a constantei de extracție cu creșterea viscozității aparente a fost înregistrată pentru solvenții cu constantă dielectrică redusă (acetat de butil și n-heptan).
- 13. Deoarece prezența fazei solide (biomasa) poate afecta suplimentar performanța procesului de separare, a fost abordată extracția reactivă directă a acidului propionic din suspensii de *Propionibacterium*

acidipropionici, la valori similare ale viscozității aparente cu cele ale lichidelor de fermentație simulate. Utilizând celula de extracție Lewis, a fost stabilită importanța relativă a rezistenței difuzionale sau cinetice asupra transferului acidului propionic din faza apoasă spre faza organică. Astfel, domeniul turațiilor corespunzător regimului difuzional este mai extins pentru solvenții cu polarități scăzute, precum acetatul de butil.

- 14. Indiferent de solventul folosit, acumularea biomasei determină scăderea semnificativă a fluxului masic interfacial al acidului propionic. Însă, adăugarea 1-octanolului în faza organică favorizează creșterea fluxului masic al acidului propionic și modifică domeniul de turații corelat cu etapa limitativă de natură difuzională sau cinetică. Însă, magnitudinea acestui efect este diminuată în comparație cu extracția din soluții apoase pure sau lichide de fermentație simulate, fără biomasă.
- 15. Influențele factorilor principali, respectiv, turația (N, s⁻¹), concentrația celulelor bacteriene (C_x, g/l s.u.) și constanta dielectrică a solvenților organici (ϵ), au fost incluse într-o expresie matematică pentru calculul fluxului masic interfacial (n, mol/m²·h), corespunzător regimului difuzional (turații sub 600 rpm):

$$n = \frac{e^{0,146 \cdot \epsilon} \cdot N^{6,185 \cdot 10^{-2} \cdot \epsilon}}{C_X^{1,812}}, \text{ mol/m}^2 \cdot h$$

Modelul matematic propus prezintă o abatere medie de \pm 5,17%, comparativ cu datele experimentale.

- 16. În subcapitolul II.4. a fost abordată separarea directă a *acidului succinic* din lichidele de fermentație prin extracție reactivă cu TOA în acetat de butil. Cercetările experimentale au fost realizate cu ajutorul celulei de extracție Lewis. În prima etapă a determinărilor s-a realizat extracția acidului din lichidele simulate. Rezultatele obținute au sugerat faptul că viscozitatea ridicată a fazei apoase poate manifesta o influență negativă semnificativă asupra transferului de masă al acidului, prin amplificarea rezistenței la difuzia solutului dinspre faza apoasă către faza organică. Astfel, la 1000 rpm, fluxurile masice obținute pentru faza apoasă cu viscozitatea pentru faza apoasă cu viscozitatea de 20 cP.
- 17. Influența negativă a viscozității este, de asemenea, evidențiată de extinderea domeniului de turații corespunzător modificării naturii etapei limitative care controlează procesul de separare prin extracție reactivă. Prin urmare, creşterea viscozității aparente a soluției apoase determină extinderea domeniului turațiilor corespunzător regimului difuzional (de la 500 pentru 1 cP la 1200 rpm pentru 20 cP).
- 18. Prezența 1-octanolului în faza organică determină creşterea fluxurilor masice ale acidului succinic şi modifică domeniul de turații corelat cu etapa limitativă de natură difuzională sau cinetică. Efectul adăugării

alcoolului a fost analizat în corelație cu valoarea pH-ului fazei apoase, implicit cu mecanismul de extracție. Astfel, la pH = 1 valoarea turației critice este redusă, ca rezultat al îmbunătățirii capacității solventului de a solubiliza complexul interfacial, și, în consecință, al creșterii vitezei de difuzie a acidului către faza organică. Însă, la pH = 5, datorită disocierii parțiale a acidului succinic, care afectează suplimentar solubilizarea acestuia în faza organică, influența adăugării 1-octanolului asupra difuziei este diminuată.

- 19. Pentru a sublinia influența pozitivă a alcoolului asupra extracției reactive a acidului succinic, a fost introdus factorul de amplificare. Pentru toate sistemele de extracție, valorile factorului de amplificare sunt supraunitare, fiind confirmată influența pozitivă a 1-octanolului. Datorită limitării difuzionale determinată de viscozitatea ridicată a fazei apoase, valoarea turației corespunzătoare maximului factorului de amplificare creşte de la 400 rpm pentru 1 cP la 1000 rpm pentru 9 cP.
- 20. Influența viscozității fazei apoase asupra transferului de masă al acidului succinic în procesul de extracție reactivă din lichidele simulate poate fi redată și prin intermediul coeficienților globali de transfer de masă ai acidului. În acest sens, creșterea viscozității aparente manifestă un efect negativ asupra coeficientului de transfer de masă, însă, amplitudinea acestuia devine mai importantă la viscozității aparente de peste 12 cP. Adăugarea modificatorului de fază determină creșterea coeficientului, efect care devine mai pronunțat la viscozității ridicate ale fazei apoase.
- 21. Principalii parametri (viscozitatea, η_a , turația, N, și constanta de extracție, K_E) care influențează extracția reactivă din lichidele de fermentație simulate au fost incluși într-o expresie matematică de calcul al coeficientului de transfer de masă, valabilă pentru regimul difuzional (turația = 500 rpm):

$$K=e^{2,56\times10^{-3}\times K_{E}}\times \frac{N^{3,82\times10^{-4}\times K_{E}}}{\eta_{a}^{9,94\times10^{-2}}}, m/s$$

Această ecuație oferă o bună concordanță cu datele experimentale, abaterea medie fiind de \pm 3,63%.

- 22. Studiul anterior a fost continuat, în condiții experimentale identice, prin realizarea extracției reactive directe a acidului succinic din suspensii de *Actinobacillus succinogenes*, cu viscozități similare, analizându-se influențele principalilor factori asupra vitezei interfaciale de transfer de masă în relație directă cu concentrația biomasei din faza apoasă.
- 23. Influența concentrației fazei solide asupra fluxului masic al acidului succinic a fost redată prin intermediul factorului de reducere, care înregistrează valori subunitare, datorită blocării transportului solutului ca rezultat al adsorbției celulelor la interfața de separare dintre cele două faze.

- 24. Rezultatele au indicat faptul că prezența masei celulare manifestă un efect pozitiv doar asupra forței motrice a transferului de masă. Cea mai mare diferență dintre forțele motrice corespunzătoare extracției acidului succinic din soluții apoase cu biomasă și din lichidele de fermentație simulate fără biomasă este obținută la concentrații ale biomasei de 18 g/l s.u., iar cea mai scăzută este înregistrată la cele mai ridicate concentrații ale suspensiilor de *A. succinogenes* și la turații superioare.
- 25. Influențele factorilor principali, turația, concentrația biomasei și constanta de extracție au fost incluse într-o expresie matematică pentru calculul fluxului masic interfacial:

$$n = e^{3,42 \cdot 10^{-3} \cdot K_{E}} \cdot \frac{N^{4,53 \cdot 10^{-3} \cdot K_{E}}}{C_{C}^{2,95}}, \text{ mol/m}^{2}h$$

- 26. Extracția cu ajutorul membranelor lichide reprezintă una dintre cele mai recente tehnici de separare, cu aplicații deosebite la separarea produselor de biosinteză. În acest context, a fost studiată separarea directă a *acidului p-aminobenzoic* prin extracție şi transport prin membrane lichide consituite din diclormetan şi D2EHPA ca agent purtător. Pentru determinările experimentale s-a utilizat o instalație de pertracție, de concepție originală, brevetată în cadrul colectivului de cercetare.
- 27. Inițial, a fost studiată pertracția acidului p-aminobenzoic din lichidele de fermentație simulate. Rezultatele experimentale obținute au evidențiat influența majoră a diferenței de pH dintre fazele apoase, a concentrației agentului purtător în membrana lichidă și a intensității amestecării fazelor apoase în corelație cu viscozitatea aparentă a fazei apoase inițiale. Creșterea viscozității aparente a fazei apose inițiale în intervalul 1 30 cP a condus la reducerea semnificativă a fluxurilor masice inițial și final ale acidului, de 42,5 de ori pentru pertracția liberă și de 7,5 ori pentru pertracția facilitată.
- 28. Mărirea gradientului de pH dintre cele două faze apoase, respectiv deplasarea pH_i către domeniul neutru şi bazic, iar a pH_f către domeniul acid, determină accelerarea fluxurilor masice ale acidului p-aminobenzoic, atât pentru pertracția liberă, cât și pentru pertracția facilitată a acestui acid, evoluție care nu este afectată calitativ de creșterea viscozității aparente a fazei apoase inițiale.
- 29. Pentru pertracția facilitată, atingerea vitezei maxime de reextracție la o valoarea mai redusă a pH_i generează reducerea mai puternică a factorului de permeabilitate pentru pH_i < 4 comparativ cu cazul pertracției libere. Amplitudinea acestui efect este diminuată de creșterea viscozității aparente a soluției inițiale, factorul de permeabilitate înregistrând o creștere odată cu mărirea viscozității de circa 1,03 1,3 ori, efect mai pronunțat în domeniul de pH corespunzător unui aport dominant al pertracției libere (pH_i = 7)

- 30. Studiile anterioare au fost continuate, în condiții experimentale identice, prin investigarea separării directe a acidului p-aminobenzoic din suspensii de *E. coli*, cu viscozități aparente identice cu cele ale lichidelor de fermentație simulate.
- 31. Fluxurile masice sunt reduse considerabil odată cu creșterea concentrației *E. coli* din faza inițială. Astfel, prin acumularea biomasei de la 5 la 20 g/l s.u., fluxul masic inițial se reduce de circa 2,1 6,3 ori, iar cel final de 2,3 7 ori, influența fiind atenuată de creșterea turației. Însă, prezența agentului purtător în membrana lichidă diminuează efectul creșterii concentrației biomasei.
- 32. Influența prezenței fazei solide se poate analiza şi prin intermediul factorilor de reducere (F_i şi F_f), care se diminuează, în cazul pertracției libere de 3 ori odată cu creşterea concentrației biomasei de la 0 la 20 cP, însă magnitudinea acestui efect este atenuată de adăugarea agentului purtător în membrana lichidă (pertracția facilitată); în acest caz, fluxurile masice înregistrează o reducere de doar 1,8 ori.
- 33. Rezultatele cercetărilor originale din cadrul tezei de doctorat s-au concretizat prin elaborarea a 6 lucrări publicate în reviste de specialitate, din care 4 publicate în reviste ştiințifice cotate ISI, 2 lucrări publicate în reviste cotate BDI, prin numeroase participări la sesiuni ştiințifice naționale şi internaționale, precum şi prin contribuții la derularea a patru granturi de cercetare.

ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ DIN CADRUL TEZEI DE DOCTORAT

I. ARTICOLE PUBLICATE: 6

- I.1. Articole publicate sau în curs de publicare în reviste cotate ISI: 4
- <u>Alexandra Cârlescu</u>, Alexandra Cristina Blaga, Anca-Irina Galaction, Marius Turnea, Dan Caşcaval, *Interfacial mass transfer in reactive extraction process of succinic acid from viscous aqueous solutions*, Separation Science and Technology, 2013, in press (Factor de impact = 1,164).
- Dan Caşcaval, <u>Alexandra Cârlescu</u>, Anca-Irina Galaction, Marius Turnea, *Study on biomass impact on the reactive extraction of succinic acid from Actinobacillus succinogenes suspensions*, Industrial & Engineering Chemistry Research, 2013, 52(30), 10261–10268 (Factor de impact = 2,206).
- <u>Alexandra Cârlescu</u>, Mădălina Poştaru, Anca-Irina Galaction, Dan Caşcaval, *Direct separation of propionic acid from Propionibacterium acidipropionici broths by reactive extraction 2.Extraction from simulated broths*, Environmental Engineering and Management Journal, 2012, 11(5), 1029-1036 (Factor de impact = 1,114).
- 4. Anca-Irina Galaction, <u>Alexandra Cârlescu</u>, Marius Turnea, Dan Caşcaval, *Direct extraction of propionic acid from Propionibacterium acidipropionici broths with tri-n-octylamine*, Chemical Engineering and Technology, 2012, 35(9), 1657–1663 (Factor de impact = **1,366**).

I.2. Articole publicate în reviste cotate BDI: 2

- 1. <u>Alexandra Cârlescu</u>, Lenuța Kloetzer, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *Extracția butanolului din lichidele de fermentație*, Buletinul Institutului Politehnic din Iași, 2012, 48(4), 19-35.
- 2. <u>Alexandra Cârlescu</u>, Anca-Irina Galaction, Dan Caşcaval, *Direct extraction of some biosynthetic products from fermentation broths*, Buletinul Institutului Politehnic din Iaşi, 2011, 47(3), 77-87.

II. COMUNICĂRI ȘTIINȚIFICE: 15

II.1. Conferințe naționale: 5

- 1. Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, Alexandra Cristina Blaga, Lenuța Kloetzer, <u>Alexandra Cârlescu</u>, *Procedeu de creștere a eficienței antimicrobiene a gentamicinei*, Salonul Național de Inventică CHIM INVENT, Iași, România, 3-5 iulie 2013.
- 2. <u>Alexandra Cârlescu</u>, Lenuța Kloetzer, Dan Cașcaval, *Extracția reactivă a acidului succinic direct din lichidele de fermentațtie*, Sesiunea Științifică Studențească a Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, Iași, România, 25-27 aprilie 2013.

- <u>Alexandra Cârlescu</u>, Lenuța Kloetzer, Anca-Irina Galaction, Dan Caşcaval, *Extracția reactivă a acidului propionic din lichidele de fermentație simulate* (locul I), Conferința Națională de Bioinginerie pentru Studenți şi Tineri Cercetători, Ediția a XV-a, Iaşi, România, 17-20 mai 2012.
- 4. <u>Alexandra Cârlescu</u>, Lenuța Kloetzer, Alexandra-Cristina Blaga, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *Extracția directă a butanolului din lichide de fermentație simulate*, Conferința Națională Zilele Facultății de Chimie și Protecția Mediului, Iași, România, 17-18 noiembrie 2011.
- 5. <u>Alexandra Cârlescu</u>, Nicoleta Nicuță, Dan Cașcaval, *Separarea eritromicinei prin pertracție directă din lichidele de fermentație ale Streptomyces erythreus*, Conferința Națională de Bioinginerie pentru studenți și tineri cercetători, Ediția a XIV-a, Iași, România, 19-22 mai 2011.

II.2. Conferințe internaționale: 10

- <u>Alexandra Cârlescu</u>, Alexandra Blaga, Dan Caşcaval, Lenuţa Kloetzer, Anca Irina Galaction, *Free and facilitated pertraction of erythromycin* from Streptomyces erythreus broths, The 6th Membrane Conference of Vysegrad Countries – PERMEA, Varşovia, Polonia, 15-19 septembrie 2013.
- <u>Alexandra Cârlescu</u>, Alexandra Cristina Blaga, Dan Caşcaval, Anca Irina Galaction, *Direct extraction of propionic acid from P. acidipropionici cells suspensions*, 18th Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering – RICCE 18, Sinaia, România, 4-7 septembrie 2013.
- 3. Dan Caşcaval, Anca-Irina Galaction, Lenuța Kloetzer, <u>Alexandra</u> <u>Cârlescu</u>, *Method for selective separation of citric acid from fermentation broths*, Inventica, Iași, România, 19-21 iunie 2013.
- 4. <u>Alexandra Cârlescu</u>, Dan Caşcaval, Alexandra Cristina Blaga, Lenuţa Kloetzer, Marius Turnea, Anca-Irina Galaction, *Extracţia reactivă directă a acidului propionic din suspensii de Propionibacterium acidipropionici*, 11th Romanian International Symposium on Cosmetic and Flavour Products, Iaşi, România, 4-7 iunie 2013.
- Dan Caşcaval, Anca-Irina Galaction, Alexandra Cristina Blaga, <u>Alexandra Cârlescu</u>, <u>Selective separation of aminoacids mixture by reactive extraction and pertraction</u>, 4th International Conference on Food Engineering and Biotechnology, Copenhaga, Danemarca, 19-20 mai 2013.
- <u>Alexandra Cârlescu</u>, Alexandra Cristina Blaga, Marius Turnea, Anca-Irina Galaction, Dan Caşcaval, *Interfacial mass transfer in direct extraction of propionic acid from Propionibacterium acidipropionici broth with trinoctylamine*, Centenary of Education in Chemical Engineering - CECE, Iaşi, România, 28-30 noiembrie 2012.

- <u>Alexandra Cârlescu</u>, Mădălina Poştaru, Alexandra Cristina Blaga, Anca-Irina Galaction, Dan Caşcaval, *Direct reactive extraction of propionic* acid from Propionibacterium acidipropionici simulated broth, 15th European Congress on Biotechnology of the European Federation of Biotechnology - ECB15, Istanbul, Turcia, 23-26 septembrie 2012.
- <u>Alexandra Cârlescu</u>, Lenuţa Kloetzer, Anca-Irina Galaction, Dan Caşcaval, *Direct pertraction of acetic acid from unfiltered fermentation broth*, 20th International Congress of Chemical and Process Engineering -CHISA, Praga, Cehia, 25-29 august 2012.
- 9. <u>Alexandra Cârlescu</u>, Alexandra Cristina Blaga, Mădălina Poştaru, Marius Turnea, Lenuța Kloetzer, Anca Irina Galaction, Dan Caşcaval, Le transfert de masse interfaciale dans l'extraction réactive directe de l'acide propionique en suspension de Propionibacterium acidipropionici, Le 7^{éme} Colloque Franco-Roumain De Chimie Appliquée -CoFrRoCa, Bacău, România, 27-29 iunie 2012.
- <u>Alexandra Cârlescu</u>, Alexandra Cristina Blaga, Anca-Irina Galaction, Marius Turnea, Dan Caşcaval, *Direct separation of propionic acid from fermentation broths by reactive extraction*, 39th International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering of Bratislava - SSCHE, Tatranské Matliare, Slovacia, 21-25 mai 2012.

III. ALTE ACTIVITĂȚI Participarea în programe de cercetare-dezvoltare naționale

1. "Burse doctorale pentru performanța în cercetare la nivel european" (*CUANTUMDOC*) - contract POSDRU/107/1.5/S/79407 ID 79407, 2010-2013.

2. Advanced separation of biosynthetic compounds by facilitated and synergetic pertraction - grant PCE - IDEI PN-II-ID-PCE-2011-3-0088, contract nr. 207/5.10.2011 - membru în colectiv.

3. Dezvoltarea unor biocatalizatori noi pentru obtinerea economica a unor sintoni chirali (SYNBIOCAT) - grant Parteneriate PN-II-PT-PCCA-2011-3.1-1268 - membru în colectiv.

4. Microscale downstream processing toolbox for screening and process development (MICROTOOLS) (Microinstrumente pentru analiza si dezvoltarea proceselor de bioseparare) - grant ERA-IB, contract nr. 6-062/29.05.2013 - membru în colectiv.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- 3. D. Caşcaval, A.I. Galaction (Editori), *Biotehnologia între Știință și Artă*, Venus, Iași, 2007.
- 27. D. Caşcaval, A.I. Galaction, M. Turnea, Study of the influence of solute and carrier characteristics on facilitated pertraction mechanism in pseudosteady-state conditions, Journal of Membrane Science, 2009, 328(1-2), 228-237.
- 52. R.C. Weast (Ed.), *Handbook of Chemistry and Physiscs*, 54th Edition, CRC Press, Cleveland, 1974.
- 77. A.T. Johns, *The mechanism of propionic acid formation by Clostridium propionicum*, Journal of General Microbiology, 1952, 6(1-2), 123-127.
- 78. M. Moo-Young, M. Butler, C. Webb, A. Moreira, B. Grodzinski, Z F Cui, S. Agathos (Editori), *Comprehensive Biotechnology*, vol. 3, Pergamon Press, New York, 1985, în care M.J. Playne, *Propionic and Butyric Acids*, 731-75.
- P. Boyaval, C. Corre, M.N. Madec, *Propionic acid production in a membrane bioreactor*, Enzyme and Microbial Technology, 1994, 16(10), 883-886.
- 85. H. Uslu, I. Inci., (*Liquid* + *liquid*) equilibria of the (water + propionic acid + Aliquat 336 + organic solvents) at T = 298.15 K, The Journal of Chemical Thermodynamics, 2007, 39, 804–809.
- 127. R. Datta, D.A. Glassner, M.K. Jain, J.R. Vicky, *Fermentation and purification process for succinic acid*, Patent US 5168055/1992.
- 128. Q. Li, J. Xing, W. Li, Q. Liu, Z. Su, Separation of succinic acid from fermentation broth using weak alkaline anion exchange adsorbents, Industrial & Engineering Chemistry Research, 2009, 48(7), 3595–3599.
- 129. Y.S. Jun, Y.S. Huh, H.S. Park, A. Thomas, S.J. Jeon, E.Z. Lee, H.J. Won, W.H. Hong, S.Y. Lee, Y.K. Hong, Adsorption of pyruvic and succinic acid by amine-functionalized SBA-15 for the purification of succinic acid from fermentation broth, Journal of Physical Chemistry, 2007, 111(35), 13076–13086.
- 130. R.A. Pai, M.F. Doherty, M.F. Malone, *Design of reactive extraction* systems for bioproduct recovery, American Institute of Chemical Engineers, 2002, 48(3), 514–526.
- 131. Q. Li, D. Wang, Y. Wu, W. Li, Y. Zhang, *One step recovery of succinic acid from fermentation broths by crystallization*, Separation and Purification Technology, 2010, 72(3), 294-300.
- 136. T. Kurzrock, W.B. Dirk, New reactive extraction systems for separation of bio-succinic acid, Bioprocess and Biosystems Engineering, 2011, 34(7), 779-87.

- S.C. Lee, Extraction of succinic acid from simulated media by emulsion liquid membranes, Journal of Membrane Science, 2011, 381(1-2), 237-243.
- 144. L. Kloetzer, A.I. Galaction, D. Caşcaval, *Improvement of the efficiency* of sinergic facilitated pertraction of p-aminobenzoic acid by increasing the reextraction rate from the liquid membrane, Revista Medico-Chirurgicală, 2010, 114 (1), 293-308.
- 145. L. Kloetzer, A.I. Galaction, D. Caşcaval, *Facilitated pertraction of p-aminobenzoic acid with Amberlite LA-2 in presence of 1-octanol*, Separation Science and Technology, 2010, 45(10), 1440–1447.
- 157. C. Oniscu, C. Caşcaval, D. Caşcaval, Reactive extraction of penicilin G directly from fermentation broth. II.a. Extraction from Penicillium chrysogenum suspensions, Romanian Biotechnological Letters, 1998, 3(1), 31-42.
- 158. D. Caşcaval, C. Oniscu, C. Caşcaval, *Reactive extraction of penicilin G* directly from fermentation broth. II.b Extraction from Penicillium chrysogenum suspensions, Revue Roumain de Chimie, 1999, 44(4), 403-411.
- 163. D. Caşcaval, C. Oniscu, A.I. Galaction, *Echipament pentru extracție și transport prin membrane lichide (pertracție)*, Brevet RO119690 B1/2005.
- 165. A. Keshav, S. Chand, K.L. Wasewar, Recovery of propionic acid from aqueous phase by reactive extraction using quaternary amine (Aliquat 336) in various diluents, Chemical Engineering Journal, 2009, 152(1), 95-102.
- 166. K.L. Wasewar, V.G. Pangakar, *Intensification of propionic acid production by reactive extraction: effects of diluents on equilibrium*, Chemical and Biochemical Engineering Quarterly, 2006, 20(3), 325-33.
- 167. F. Barbirato, D. Chedaille, A. Bories, Propionic acid fermentation from glycerol: comparison with conventional substrates, Applied Microbiology and Biotechnology, 1997, 47(4), 441-446.
- 172. M. Poştaru, A. Cârlescu, A.I. Galaction, D. Caşcaval, Direct separation of propionic acid from propionibacterium acidipropionici broths by reactive extraction 1.Interfacial mechanism and influencing factors, Environmental Engineering and Management Journal, 2012, 11(4), 709-716.
- 176. A.I. Galaction, <u>A. Cârlescu</u>, M. Turnea, D. Caşcaval, *Direct extraction of propionic acid from Propionibacterium acidipropionici broths with tri-n-octylamine*, Chemical Engineering and Technology, 2012, 35(9), 1657–1663.
- 177. D. Caşcaval, A.I. Galaction, E. Folescu, M. Turnea, Comparative study on the effects of n-dodecane addition on oxygen transfer in stirred

bioreactors for simulated, bacterial and yeasts broths, Biochemical Engineering Journal, 2006, 31, 56-66.

- 180. <u>A. Cârlescu</u>, A.C. Blaga, A.I. Galaction, M. Turnea, D. Caşcaval, *Interfacial mass transfer in reactive extraction process of succinic acid from viscous aqueous solutions*, Separation Science and Technology, 2013, in press.
- 181. D. Caşcaval, <u>A. Cârlescu</u>, A.I. Galaction, M. Turnea, *The study on biomass impact on the reactive extraction of succinic acid from Actinobacillus succinogenes suspensions*, Industrial & Engineering Chemistry Research, 2013, 52(30), 10261–10268.