



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPOSORU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



UNIVERSITATEA TEHNICĂ
"GHEORGHE ASACHI" DIN
IAȘI



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



STUDIUL SEPARĂRII UNOR ACIZI CARBOXILICI DE BIOSINTEZĂ PRIN EXTRAȚIE REACTIVĂ

- REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT -

Doctorand:

Bioing. Mădălina Poștaru

Conducător de doctorat:

Prof. univ. dr. ing. Anca-Irina Galaction

IAȘI – 2013



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE

OIPOSDRU



UNIVERSITATEA TEHNICĂ
"GHEORGHE ASACHI" DIN
IAȘI

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

Proiectul **“STUDII DOCTORALE PENTRU PERFORMANȚE EUROPENE ÎN CERCETARE ȘI INOVARE (CUANTUMDOC)”** POSDRU/107/1.5/S/79407, este un proiect strategic care are ca obiectiv general *„Aplicarea de strategii manageriale, de cercetare și 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 și comunicare științifică, 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 cercetător adaptat economiei de piață și noilor tehnologii, având cunoștințe teoretice, practice, economice și manageriale la nivel internațional, 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 „Babeș 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:

„STUDIUL SEPARĂRII UNOR ACIZI CARBOXILICI DE BIOSINTEZĂ PRIN EXTRACȚIE REACTIVĂ”

elaborată de d-ra bioing. **Mădălina POȘTARU** în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat este alcătuită din:

Prof.dr.ing. Nicolae Hurduc, Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași	Președinte
Prof.dr.ing. Anca-Irina Galațion, Universitatea de Medicină și Farmacie “Gr. T. Popa” din Iași	Conducător de doctorat
Prof.dr.ing. Dan Cașcaval, Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași	Referent oficial
Prof.dr.ing. Vasile Lavric, Universitatea Politehnică din București	Referent oficial
Prof.dr.ing. Gabriel Lucian Radu, Universitatea Politehnică din București	Referent oficial

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

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

Rector

Prof.dr.ing. IOAN GIURMĂ



SECRETAR UNIVERSITATE

Ing. Cristina Nagiț

Motto

„Învățătura trebuie să fie uneori un drum, totdeauna un orizont”

N. Iorga

Mulțumiri Doamnei Profesor dr. ing. Anca-Irina Galaction pentru permanenta sa îndrumare, sprijinire și încurajare pe parcursul elaborării tezei de doctorat și pentru contribuțiile aduse, încă din anii studenției, formării mele ca cercetător.

Mulțumiri Domnului Profesor dr. ing. Dan Cașcaval pentru atenta grijă, supraveghere și îndrumare cu care a contribuit la realizarea acestui demers științific.

Cu respect,

Bioing. Mădălina Poștaru

CUPRINS

INTRODUCERE.....	7
I. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR ÎN DOMENIUL SEPARĂRII ACIZILOR CARBOXILICI PRIN EXTRACȚIE REACTIVĂ ȘI PERTRACTĂȚIE	
I.1. Sisteme de extracție reactivă și pertractăție.....	10
I.2. Aplicații ale extracției reactive și pertractăției în separarea unor acizi carboxilici.....	20
II. CONTRIBUȚII ORIGINALE ÎN STUDIUL SEPARĂRII ACIZILOR CARBOXILICI PRIN EXTRACȚIE REACTIVĂ ȘI PERTRACTĂȚIE	
II.1. OBIECTIVELE CERCETĂRILOR.....	50
II.2. TEHNICA EXPERIMENTALĂ.....	51
II.2.1. Echipamente.....	51
II.2.2. Materiale și reactivi.....	56
II.2.3. Mărimi utilizate pentru descrierea și analiza proceselor studiate.....	59
II.3. STUDIUL SEPARĂRII ACIDULUI PROPIONIC PRIN EXTRACȚIE REACTIVĂ ȘI PERTRACTĂȚIE.....	61
II.3.1. Studiul mecanismului și al factorilor care influențează separarea acidului propionic prin extracție reactivă.....	62
II.3.2. Studiul cinetic al extracției reactive a acidului propionic cu tri-n-octilamină.....	70
II.3.3. Studiul separării acidului propionic din amestecul obținut din fermentația <i>P. acidipropionici</i> prin pertractăție.....	78
II.4. STUDIUL SEPARĂRII INDIVIDUALE ȘI SELECTIVE DIN AMESTEC A ACIDULUI SUCCINIC PRIN PERTRACTĂȚIE FACILITATĂ.....	92
II.4.1. Studiul comparativ asupra pertractăției facilitate a acidului succinic utilizând tri-n-octilamină în prezența și absența modificatorului de fază.....	93
II.4.2. Separarea selectivă a acizilor carboxilici obținuți din fermentația <i>Actinobacillus succinogenes</i> prin pertractăție facilitată.....	104
II.4.3. Modelarea pertractăției selective a acizilor obținuți prin fermentația <i>Actinobacillus succinogenes</i>.....	115
II.5. STUDIUL SEPARĂRII ACIDULUI ROZMARINIC PRIN EXTRACȚIE REACTIVĂ ȘI PERTRACTĂȚIE.....	120
II.5.1. Studiul separării acidului rozmarinic prin extracție reactivă....	121

II.5.2. Cinetica reacțiilor interfaciale ale separării acidului rozmarinic prin extractive reactivă.....	136
II.5.3. Studiul separării acidului rozmarinic prin pertracție facilitată.....	151
CONCLUZII GENERALE.....	162
ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ DIN CADRUL TEZEI DE DOCTORAT.....	166
Anexa 1.....	170
BIBLIOGRAFIE.....	186

Rezumatul lucrării prezintă, într-o formă foarte 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

Complexitatea procesului de obținere a unor compuși biosintetizați constituie una dintre particularitățile biotehnologiilor industriale. Comparativ cu sinteza chimică, biosinteza reprezintă o alternativă avantajoasă de obținere a numeroși produși cu activitate biologică.

Datorită multitudinii de utilizări în industriile alimentară, chimică, farmaceutică și cosmetică, obținerea și separarea acizilor carboxilici prin procese biotehnologice a devenit o preocupare constantă pentru cercetătorii din domeniu.

În urma procesului de biosinteză, pe lângă produsul dorit, este inerentă formarea de metaboliți secundari. Îndepărtarea acestora din lichidele de fermentație necesită etape numeroase de separare și costuri ridicate de energie și materiale. Astfel, în ultimii ani, atenția oamenilor de știință s-a îndreptat către metode noi de separare, cu avantaje net superioare tehnicilor convenționale, cum ar fi extracția reactivă și pertracția.

În acest context, teza de doctorat își propune să aducă contribuții originale semnificative la stabilirea mecanismului de separare a unor acizi carboxilici de biosinteză (acid propionic, acid succinic, acid rozmarinic) prin extracție reactivă și transport prin membrane lichide, la cuantificarea influenței principalilor factori ce influențează procesul de separare și la modelarea și optimizarea acestor procese.

Teza de doctorat este structurată pe două părți principale, este extinsă pe 197 de pagini, conține un număr de 134 figuri și 13 tabele, 89 de ecuații matematice, 164 de referințe bibliografice, dintre care 10 aparțin autorului și 1 anexă.

Prima parte a tezei este structurată în două capitole și cuprinde date de literatură referitoare la extracția reactivă și pertracția unor acizi carboxilici. Cea de a doua parte cuprinde contribuțiile originale, fiind structurată pe 5 capitole.

Capitolul II.1 prezintă obiectivele principale ale studiilor efectuate.

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

Capitolul II.3 prezintă studiul separării **acidului propionic** prin extracție reactivă și pertracție facilitată, redând mecanismele ce stau la baza separării și influențele principalilor factori ce guvernează aceste procese.

Capitolul II.4 cuprinde studiul asupra pertracției **acidului succinic**, atât a pertracției individuale, cât și a pertracției selective din amestecul similar celui obținut în urma fermentației succinice. Pe baza datelor experimentale obținute a fost propus, de asemenea, un model matematic în vederea optimizării procesului de separare.

Capitolul II.5 redă studiul separării **acidului rozmarinic** prin extracție reactivă și pertracție facilitată, în prezența a doi agenți purtători (acidul di-(2-etilhexil) fosforic și Amberlite LA-2) în faza organică.

Rezultatele cercetărilor proprii din cadrul tezei de doctorat s-au concretizat în elaborarea a **10 lucrări științifice** publicate în reviste de specialitate (**9 lucrări în reviste cotate ISI și 1 articol publicat în revistă cotate BDI**) și **17 participări la manifestări științifice naționale și internaționale**.

II. CONTRIBUȚII ORIGINALE ÎN STUDIUL SEPARĂRII ACIZILOR CARBOXILICI PRIN EXTRAȚIE REACTIVĂ ȘI PERTRACTĂȚIE

II.1. OBIECTIVELE CERCETĂRILOR

Tema de cercetare propusă se înscrie în topul cercetărilor efectuate pe plan mondial în domeniul separării produselor naturale cu valoroase aplicații în medicină, industria alimentară și cosmetică, cercetări din domeniul ingineriei biochimice și biotehnologiilor. Studiile efectuate urmăresc separarea prin extracție reactivă și pertracție a unor acizi carboxilici.

Principalele obiective propuse și contribuțiile originale aduse la dezvoltarea cunoașterii științifice în domeniu sunt următoarele:

1. stabilirea condițiilor optime de separare ale acizilor propionic, succinic și rozmarinic prin extracție reactivă și pertracție facilitată cu Amberlite LA-2, acid di-(2-etilhexil) fosforic (D2EHPA) sau tri-n-octilamină (TOA) în prezența/absența modificatorului de fază.
2. stabilirea condițiilor optime de separare selectivă ale acizilor obținuți din fermentația propionică a *Propionibacterium acidipropionici* (acid propionic, acid acetic și acid succinic) și din fermentația succinică a *Actinobacillus succinogenes* (acid succinic, acid formic, acid acetic) prin pertracție cu tri-n-octilamină (TOA).

Pentru sistemele studiate s-au analizat mecanismul separării, cinetica procesului, factorii determinanți, pe baza datelor obținute propunându-se modele matematice care descriu procesul.

II.2. TEHNICA EXPERIMENTALĂ

II.2.1. Echipamente

În vederea realizării determinărilor experimentale, s-au utilizat următoarele echipamente:

- **Coloana de extracție cu agitare vibratorie**

Experimentele privind analiza influenței condițiilor de operare asupra extracției reactive a acizilor studiați s-au realizat într-o coloană de extracție cu agitare vibratorie (figura 33), care oferă avantajul unei arii interfaciale de contact dintre faze foarte mari și atingerii rapide a echilibrului.

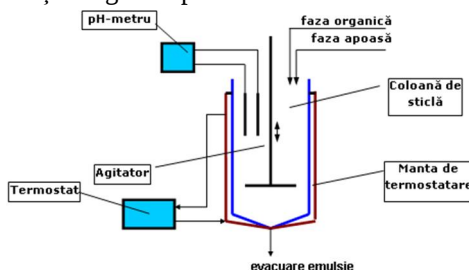


Figura 33. Coloana de separare cu agitare vibratorie

- **Instalația de extracție Lewis**

Acest tip de echipament (figura 34.a) este adecvat studiului mecanismului și a cineticii extracției fizice și reactive și oferă posibilitatea funcționării în regim discontinuu sau continuu, cu debite precis reglate.

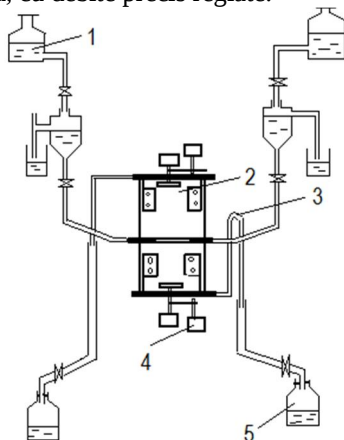


Figura 34.a. Schema instalației experimentale pentru studiul mecanismului și cineticii extracției lichid-lichid (1 - vas de alimentare, 2 - celula de extracție Lewis, 3 - buclă de reglare a nivelului interfeței, 4 - tahometru, 5 - vas de colectare)

- **Instalația de pertracție**

Echipamentul de separare permite obținerea și menținerea cu ușurință a stratului de solvent organic între cele două faze apoase (membrană lichidă liberă). Elementul central al instalației îl reprezintă celula de pertracție (figura 35).

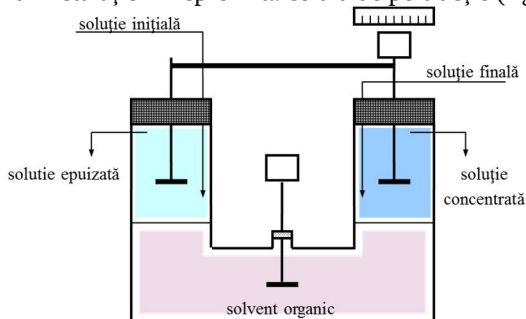


Figura 35. Celula de pertracție

- pH-metru digital (CONSORT C 836)
- Separator centrifugal MLW T23D
- Spectrofotometru UV-VIS Camspec M550
- Cromatograf HPLC de tipul UltiMate 3000 Dionex

II.2.2. Materiale și reactivi

Pentru realizarea experimentelor s-au utilizat:

1. **Acizi carboxilici studiați:** acid formic, acid acetic, acid propionic, acid succinic, acid rozmarinic.
2. **Solvenți organici:** n-heptan, acetat de butil, diclormetan.
3. **Extractanți/agenți purtători utilizați:** (a) extractanți de tip aminic: tri-n-octilamină (TOA), lauril-tri-alkilmetilamină (Amberlite LA-2), (b) extractanți de tip organofosforic: acid di-2(etilhexil)fosforic (D2EHPA).
4. **Modificator de fază:** 1-octanol.
5. **Alți reactivi:** soluții pentru corectarea pH-ului.

II.2.3. Mărimi utilizate pentru descrierea și analiza proceselor studiate

Rezultatele obținute au fost analizate prin intermediul următorilor factori: *randamentul separării, coeficientul de distribuție, fluxurile masice extrase și reextrase, coeficientul de permeabilitate, factorul de selectivitate, factorii de amplificare.*

II.3. STUDIUL SEPARĂRII ACIDULUI PROPIONIC PRIN EXTRAȚIE REACTIVĂ ȘI PERTRAȚIE

Acidul propionic este un acid monocarboxilic cu numeroase aplicații în industria chimică, în agricultură, farmaceutică și industria alimentară și, de asemenea, în producția de parfumuri [105,106].

Acidul propionic este obținut prin sinteza chimică, *via* propionaldehidă, utilizând ca materie primă gaz petrolier lichefiat, în principal propan [48]. Costul acestei tehnologii a crescut în ultimii ani datorită scumpirii gazului petrolier și a purității finale a acidului. În afara dificultăților tehnologice, sinteza chimică ridică probleme importante de protecție a mediului. În prezent, la scară industrială separarea acidului propionic necesită consumuri mari de hidroxid de calciu și acid sulfuric, producând cantități importante de ape reziduale acide și deșeuri solide de sulfat de calciu [107].

Noul concept de „biotehnologie albă” susține prioritatea utilizării de surse regenerabile pentru obținerea de substanțe chimice prin biotehnologii ieftine și nepoluante [48]. În acest context, în ultimii ani a crescut interesul pentru obținerea acidului propionic prin procese fermentative cu prețuri scăzute. Din acest motiv, au fost testate diferite specii anaerobe de *Propionibacterium* (*P. acidipropionici*, *P. acnes*, *P. arabinosum*, *P. shermanii*), *Clostridium* (*C. propionicum*), *Veillonella* și *Selenomonas*, însă doar tipul *P. acidipropionici* a fost considerat a fi cel mai productiv [105,108,109].

Pentru multe tehnologii, extracția lichid-lichid reprezintă o soluție viabilă datorită accesibilității tehnice și eficienței mărite. Eficiența extracției poate fi îmbunătățită prin adăugarea unui extractant în faza organică, acest proces purtând denumirea de extracție reactivă. Lucrările anterioare care au avut drept scop extracția reactivă a acidului propionic au utilizat extractanți aminici sau

organofosforici dizolvați în diferiți solvenți [83,111,112,113], însă nu au fost raportate rezultate privind influența polarității solventului sau a adăugării unui modificador de fază asupra mecanismului interfacial al extracției reactive a acidului propionic.

II.3.1. Studiul mecanismului și al factorilor care influențează separarea acidului propionic prin extracție reactivă

Studiile anterioare au indicat faptul că extractantul reacționează doar cu moleculele nedisociate de acid. În plus, dacă se utilizează solvenți cu polaritate redusă sau acizi cu concentrații ridicate, se pot forma dimeri sau trimeri ai acidului propionic în faza organică, prin intermediul legăturilor intermoleculare de hidrogen [113]. De asemenea, a fost indicată o dependență puternică între polaritatea solventului și adăugarea modificadorului de fază asupra eficienței separării [56]. Astfel, polaritatea solventului și prezența 1-octanolului controlează structura compuşilor interfaciali formați prin reacția dintre acidul propionic, RCOOH , și extractant (TOA), Q, fiind posibile următoarele mecanisme de extracție:

- extracția în diclormetan sau acetat de butil, fără 1-octanol

$$\text{RCOOH}_{(\text{aq})} + 2 \text{Q}_{(\text{o})} \rightleftharpoons \text{RCOOH}.\text{Q}_2_{(\text{o})}$$
- extracția în diclormetan sau acetat de butil, cu 1-octanol

$$\text{RCOOH}_{(\text{aq})} + \text{Q}_{(\text{o})} \rightleftharpoons \text{RCOOH}.\text{Q}_{(\text{o})}$$
- extracția în n-heptan fără 1-octanol

$$2 \text{RCOOH}_{(\text{aq})} + 4 \text{Q}_{(\text{o})} \rightleftharpoons (\text{RCOOH})_2\text{Q}_4_{(\text{o})}$$
- extracția în n-heptan cu 1-octanol

$$\text{RCOOH}_{(\text{aq})} + 2 \text{Q}_{(\text{o})} \rightleftharpoons \text{RCOOH}.\text{Q}_2_{(\text{o})}$$

Indiferent de mecanismul de extracție și de tipul solventului utilizat, valoarea pH-ului soluției apoase controlează eficiența separării. Din figura 49, pentru sistemele fără 1-octanol, se poate observa faptul că gradul de extracție se reduce o dată cu creșterea pH-ului, datorită disocierii acidului propionic, acest efect devenind mai pronunțat pentru valori ale pH-ului de peste 3. Pentru pH mai mare de 7 extracția reactivă a acidului propionic nu mai poate avea loc.

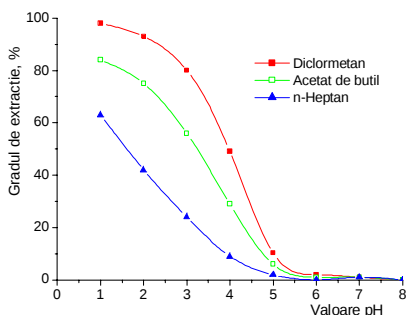


Figura 49. Influența pH-ului fazei apoase asupra gradului de extracție al acidului propionic pentru cei trei solvenți în absența 1-octanolului (concentrația inițială TOA = 40g/l)

Cea mai ridicată eficiență a extracției este atinsă utilizând diclormetan ca solvent, ca o consecință a constantei dielectrice superioare. Astfel, la o valoare a $\text{pH} = 1$, în absența 1-octanolului, randamentul de extracție a acidului propionic cu TOA descrește de la 98% pentru diclormetan, 84% pentru acetat de butil și 63% pentru n-heptan.

Creșterea concentrației extractantului în faza organică produce un efect favorabil asupra extracției acidului propionic, datorită creșterii concentrației unuia dintre reactanți la interfață. Figura 51 indică faptul că influența variației concentrației TOA este importantă doar până la valori ale acesteia de 80 g/l, după acest nivel gradul de extracție fiind constant. În funcție de polaritatea solventului, pentru concentrații de 30-40 g/l TOA, pentru diclormetan s-au înregistrat valori ale gradului de extracție de 88-93%, iar pentru acetat de butil de 68-75%. În cazul n-heptanului, pentru concentrații ale aminei de 80 g/l s-a obținut un randament de extracție de 62%. Variația se datorează modificării mecanismului interfacial, respectiv modificării numărului de molecule de TOA care participă la formarea sau la solvatarea complexului extras.

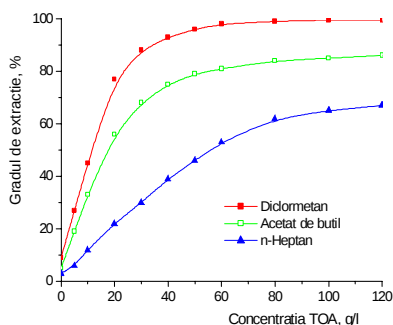


Figura 51. Influența concentrației TOA asupra gradului de extracție al acidului propionic în absența 1-octanolului ($\text{pH} = 2$)

Eficiența extracției reactive poate fi îmbunătățită prin adăugarea unui solvent cu polaritate ridicată în faza organică. Acest solvent mărește polaritatea fazei organice și, implicit, determină un efect favorabil asupra solubilizării moleculelor polare. În plus, acesta prezintă abilitatea de a induce distrugerea emulsiei stabile numite „a treia fază”.

Adăugarea de 1-octanol în faza organică nu schimbă alura generală a dependenței dintre eficiența extracției și pH -ul fazei apoase. Dar, așa cum se poate observa din figura 52, adăugarea conduce la creșterea gradului de extracție a acidului propionic, acest efect fiind amplificat pentru solvenții mai puțin polari.

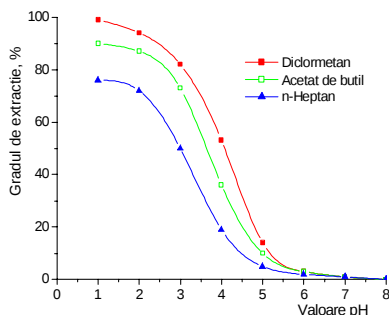


Figura 52. Influența valorii pH-ului fazei apoase asupra gradului de extracție reactivă al acidului propionic pentru solvenți cu 1-octanol (concentrație TOA = 40g/l, fracție volumică 1-octanol = 0,10)

Totodată, în intervalul de pH puternic acid, mici variații ale randamentului de extracție devin mai evidente pentru acetat de butil și n-heptan cu 1-octanol față de solvenții fără 1-octanol, datorită solubilizării parțiale a moleculelor disociate a acidului propionic prin creșterea polarității solventului în prezența alcoolului.

Comparativ cu sistemele de extracție fără 1-octanol, pentru o fracție volumică a alcoolului de 0,20, creșterea maximă a randamentului de extracție a acidului propionic este de 1,7 ori pentru diclorometan, 2,3 ori pentru acetat de butil și 3,1 ori pentru n-heptan (figura 53).

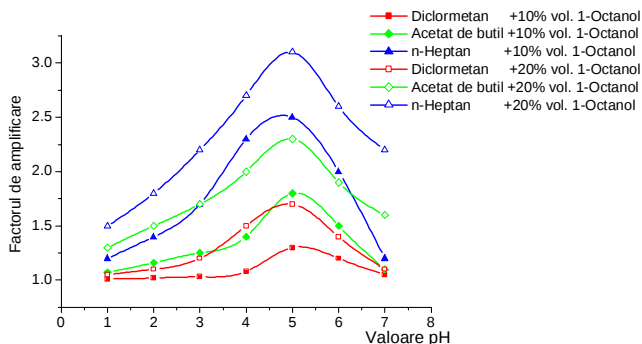


Figura 53. Influența valorii pH-ului fazei apoase asupra factorului de amplificare (concentrația TOA = 40 g/l)

Comparativ cu rezultatele obținute pentru extracția reactivă a acidului propionic fără 1-octanol, adăugarea alcoolului reduce numărul de molecule de extractant incluse în structurile chimice ale compuşilor extrași. Acest efect se datorează împiedicării formării de aducți aminici în solvenții cu polaritate crescută. Astfel, stucturile complexelor interfaciali devin RCOOH.Q pentru diclorometan și acetat de butil, respectiv RCOOH.Q_2 pentru n-heptan.

Fiind în corelație directă cu mecanismul de extracție, valoarea constantei de extracție pentru un anumit solvent se modifică în prezența 1-octanolului (tabel 10).

Tabel 10. Expresiile și valorile constantelor de extracție pentru sistemele studiate

Faza organică	Expresia pentru constanta de extracție	Valoare
Diclorometan	$K_E = \frac{[RCOOH \cdot Q_{p(o)}]}{[RCOOH_{(aq)}] \cdot [Q_{(o)}]^2}$	$1,0 \times 10^3 (l^2/mol^2)$
Diclorometan + 20% vol. 1-Octanol	$K_E = \frac{[RCOOH \cdot Q_{p(o)}]}{[RCOOH_{(aq)}] \cdot [Q_{(o)}]}$	$1,30 \times 10^2 (l/mol)$
Acetat de butil	$K_E = \frac{[RCOOH \cdot Q_{p(o)}]}{[RCOOH_{(aq)}] \cdot [Q_{(o)}]^2}$	$8,46 \times 10^2 (l^2/mol^2)$
Acetat de butil + 20% vol. 1-Octanol	$K_E = \frac{[RCOOH \cdot Q_{p(o)}]}{[RCOOH_{(aq)}] \cdot [Q_{(o)}]}$	$79 (l/mol)$
n-Heptan	$K_E = \frac{[(RCOOH)_2 Q_{p(o)}]}{[RCOOH_{(aq)}]^2 \cdot [Q_{(o)}]^4}$	$1,94 \times 10^6 (l^5/mol^5)$
n-Heptan + 20% vol. 1-Octanol	$K_E = \frac{[RCOOH \cdot Q_{p(o)}]}{[RCOOH_{(aq)}] \cdot [Q_{(o)}]^2}$	$1,40 \times 10^2 (l^2/mol^2)$

După cum se poate observa din tabelul 10, cele mai mari valori ale constantei de extracție corespund formării complexului $(RCOOH)_2Q_4$, pentru extracția în n-heptan în absența alcoolului. Pentru extracția cu 1-octanol, numărul moleculelor de TOA incluse în structura complexului interfacial se reduce, acest fapt conducând la scăderea semnificativă a constantei de extracție pentru toți solvenții. Cea mai importantă reducere s-a observat pentru extracția cu n-heptan și este rezultatul celei mai mari scăderi a numărului de molecule de extractant ce participă la formarea compusului interfacial. În concluzie, creșterea polarității solventului determină un efect negativ asupra echilibrului interfacial prin împiedicarea solvării solutului.

*
* *

Studiul separării acidului propionic prin extracție reactivă a indicat faptul că polaritatea solvenților controlează structura compuşilor interfaciali formați în urma reacției dintre acidul propionic și TOA, prin formarea aducților acizi sau aminici. Astfel, prin schimbarea solventului de la diclorometan și acetat de butil la n-heptan, se formează compuși de tipul $RCOOH \cdot Q_2$ și $(RCOOH)_2Q_4$ la interfața dintre faza organică și faza apoasă.

Pentru toate sistemele studiate, adăugarea de 1-octanol în faza organică a condus la creșterea eficienței extracției și la modificarea mecanismului de extracție. Cea mai importantă influență a fost înregistrată în cazul n-heptanului. Astfel, cel mai mare factor de amplificare obținut pentru o fracție volumică de 0,20 alcool în n-heptan a fost de circa 1,8 ori mai mare decât cel corespunzător pentru diclorometan și de 1,3 ori mai mare decât cel înregistrat pentru acetat de butil. În

plus, în prezența 1-octanolului numărul de molecule de TOA incluse în structura compusului interfacial se reduce la una pentru diclormetan și acetat de butil și două pentru n-heptan. Astfel, adăugarea 1-octanolului determină un efect negativ asupra constantelor de extracție, în special pentru solvenții cu polaritate scăzută, ca n-heptan.

II.3.2. Studiul cinetic al extracției reactive a acidului propionic cu tri-n-octilamină

Analiza comparativă a eficienței separării acidului propionic cu tri-n-octilamină în sisteme de extracție cu și fără 1-octanol a fost continuată cu stabilirea etapelor limitative ce controlează extracția acidului [117].

Procesul de extracție a fost analizat prin intermediul fluxului masic al acidului propionic dinspre faza apoasă spre solvent și a concentrației.

Pentru a stabili etapele limitative ale procesului de extracție, s-a analizat influența intensității amestecării asupra fluxurilor masice ale solutului din faza apoasă către faza organică. Variațiile fluxurilor masice ale solutului cu viteza de rotație sunt reprezentate grafic în figura 55, pentru fiecare solvent considerat, fără 1-octanol.

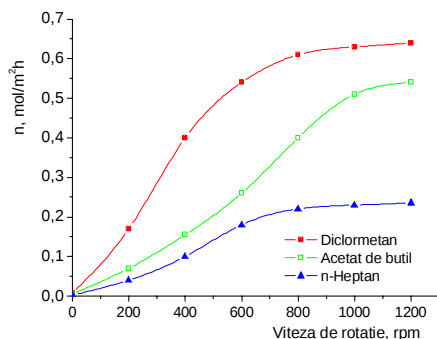


Figura 55. Influența vitezei de rotație asupra fluxului masic al acidului propionic spre faza organică în absența 1-octanolului

Cele mai ridicate valori ale fluxului masic sunt atinse pentru diclormetan datorită constantei dielectrice superioare și, în consecință a capacității superioare de a solubiliza compusul interfacial, descrescând către acetat de butil și n-heptan. Variațiile prezentate în figura 55 trebuie analizate în corelație cu mecanismul interfacial de formare a compusului extras. De aceea, în absența 1-octanolului, pentru diclormetan și acetat de butil, rezultatele anterioare indică faptul că structura chimică a compusului interfacial este $\text{RCOOH}\cdot\text{Q}_2$ (RCOOH simbolizează acidul propionic, Q extractantul) [114]. Deși mecanismul de extracție este același pentru acești doi solvenți, din figura 55 se poate observa că domeniul de viteză de rotație corespunzător regimului difuzional este mai extins pentru solvenții cu polaritatea mai redusă, în special pentru acetat de butil (pentru diclormetan difuzia controlează procesul de extracție pentru viteze de rotație de până la 700 rpm, în timp ce pentru acetat de butil, de până la 1000 rpm). Această diferență se datorează abilității

reduse a acetatului de butil de a solvata compusul interfacial, și implicit rezistenței ridicate la difuzia interfacială, comparativ cu diclormetanul.

Valorile experimentale ale vitezei reacției interfaciale pentru toți cei trei solvenți au fost calculate prin intermediul curbelor ce descriu evoluția în timp a concentrației produsului interfacial, aceste variații fiind redată în figura 56.

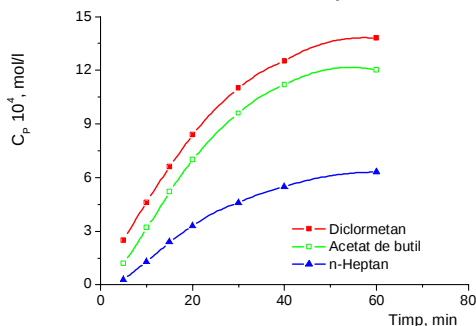


Figura 56. Variația concentrației produsului interfacial cu timpul de extracție pentru solvenți fără 1-octanol

Dependența dintre fluxul masic al solutului și viteza de rotație este prezentată în figura 58. Adăugarea 1-octanolului în solventul organic determină o creștere a fluxului masic al solutului și modifică domeniul de turații corelat cu tipul etapei limitative (difuzional sau cinetic).

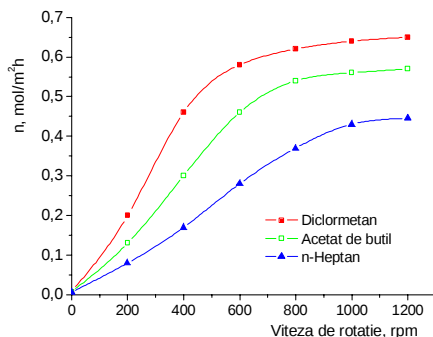


Figura 58. Influența vitezei de rotație asupra fluxului masic al acidului propionic spre faza organică cu 1-octanol

Ca rezultat al îmbunătățirii capacității solventului de a solubiliza compusul interfacial, valoarea vitezei de rotație critice (valoarea turației pentru care extracția se deplasează din domeniul difuzional în cel cinetic) se reduce la 600 rpm pentru diclormetan, respectiv 800 rpm pentru acetat de butil. În mod contrar, pentru n-heptan adăugarea alcoolului conduce la o creștere a turației critice la 1000 rpm. Această variație sugerează diminuarea importanței rezistenței cinetice comparativ cu cea indusă de procesul difuzional. Polaritatea redusă a n-heptanului, și deci capacitatea sa redusă de a solvata solutul, explică domeniul larg de viteze de rotație ce corespunde 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.Q_2 pentru n-heptan [114].

Variația concentrației produsului interfacial în timpul extracției este redată în figura 59.

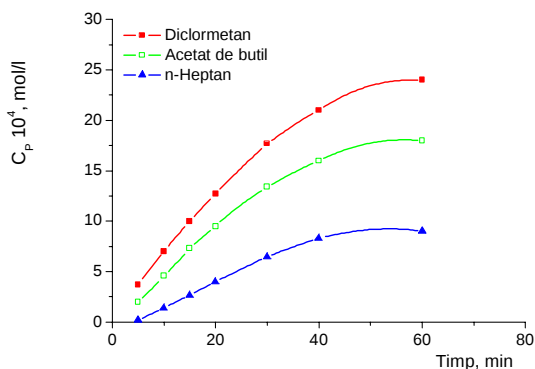


Figura 59. Variația concentrației produsului interfacial cu timpul de extracție pentru solvenți cu 1-octanol

Valorile obținute subliniază influența pozitivă a adăugării de alcool, datorată reducerii numărului de molecule ce participă la formarea compusului interfacial și creșterii concentrației interfaciale de acid propionic și TOA, ambele efecte conducând la creșterea vitezei reacției interfaciale.

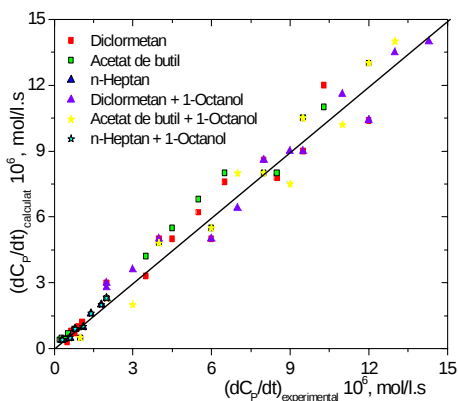


Figura 61. Comparare între valorile experimentale și cele calculate ale vitezei reacției interfaciale

Acuratețea experimentelor și calculelor pentru constantele vitezelor au fost verificate prin compararea valorilor experimentale și calculate, pentru solvenții cu și fără 1-octanol. După cum se poate observa din figura 61, există o bună concordanță între datele experimentale și cele calculate, abaterile medii fiind de $\pm 7,26\%$ pentru solvenții fără 1-octanol și $\pm 9,18\%$ pentru solvenții cu 1-octanol.

Mecanismele reacției interfaciale implicate în procesul extracției reactive a acidului propionic cu TOA sunt controlate de polaritatea solventului și de prezența modificatorului de fază, 1-octanol. De aceea, pentru sistemele de extracție cu sau fără 1-octanol, creșterea polarității solventului induce un efect pozitiv asupra vitezei reacției interfaciale, atât datorită creșterii cantității de reactanți la interfață, cât și diminuării numărului de molecule de reactanți ce participă la această reacție chimică.

Prin compararea valorilor obținute experimental și cele calculate, pentru solvenți cu și fără 1-octanol, s-a observat buna concordanță dintre rezultatele experimentale și cele obținute prin ecuațiile cinetice propuse. Abaterile medii au fost de $\pm 7,26\%$ pentru faza organică fără 1-octanol și $\pm 9,18\%$ pentru faza organică ce conține 1-octanol.

II.3.3. Studiul separării acidului propionic din amestecul obținut din fermentația *P. acidipropionici* prin pertracție

Pertracția facilitată, respectiv extracția și transportul prin membrane lichide cu ajutorul unui agent purtător reprezintă o dezvoltare a extracției reactive, utilizarea acestora la separarea acizilor carboxilici putând oferi posibilitatea obținerii unor randamente ridicate ale separării [4].

Procesul de pertracție a fost analizat prin intermediul fluxurilor masice inițial și final ale acizilor și prin intermediul factorului de permeabilitate. Fluxul masic inițial reprezintă fluxul masic al solutului din faza apoasă inițială spre membrană, în timp ce fluxul masic final (total) reprezintă fluxul masic al acidului din membrana lichidă către faza apoasă finală. Factorul de permeabilitate exprimă capacitatea transferului solutului prin membrana lichidă și a fost definit ca fiind raportul dintre fluxul masic final și fluxul masic inițial al solutului.

După cum se poate observa în figura 62, creșterea valorii pH-ului fazei apoase inițiale, pH_i , determină scăderea fluxurilor masice inițiale ale acizilor, fenomen datorat reducerii eficienței extracției reactive cu TOA la interfața de separare dintre faza apoasă inițială și membrana lichidă [120]. Descrășterea eficienței extracției o dată cu creșterea pH_i este consecința disocierii grupărilor carboxilice, proces care este încetinit pentru valori ale pH_i mai mici de 3. Aceste variații ale eficienței extracției și, implicit, ale fluxurilor masice inițiale sunt rezultatul disocierii acizilor propionic și acetic la singura grupare carboxilică și a disocierii parțiale a acidului succinic la o singură grupare carboxilică.

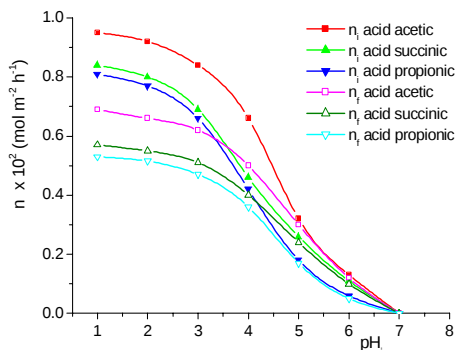
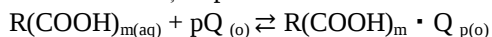


Figura 62. Influența valorii pH-ului fazei apoase inițiale asupra fluxurilor masice ale acizilor propionic, acetic și succinic (concentrație TOA = 200 g/l, $pH_i = 10$)

Deși dependența dintre fluxurile masice inițiale și pH_i este similară tuturor celor trei acizi, valorile vitezei transferului masic interfacial sunt corelate cu aciditatea solutului, deoarece aciditatea controlează viteza reacției interfaciale dintre solut și agentul purtător. Cu toate acestea, eficiența extracției reactive este, de asemenea, controlată de structura compusului interfacial format între solut și agentul purtător, respectiv de numărul stoichiometric necesar de molecule de agent purtător. Potrivit rezultatelor obținute anterior în cazul extracției reactive cu diclormetan [114,118], interacțiunile interfaciale dintre acid și agentul purtător pot fi de tipul legăturilor de hidrogen cu grupările carboxilice nedisociate sau de tip ionic dacă acidul disociază în soluția apoasă:



unde $m = 1$ pentru acizii acetic și propionic și $m = 2$ pentru acidul succinic.

Astfel, la o valoare a $pH_i < 4$, studiile asupra extracției acestor acizi cu TOA în diclormetan, în absența 1-octanolului, au indicat faptul că structurile compușilor interfaciali sunt $RCOOH \cdot Q_2$ pentru acid propionic, $RCOOH \cdot Q$ pentru acid acetic și $R(COOH)_2 \cdot Q_2$ pentru acid succinic (Q simbolizează agentul purtător) [114,118]. Cele mai mari viteze de transfer masic dinspre faza apoasă inițială spre membrana lichidă au fost înregistrate pentru acidul acetic, fluxurile masice inițiale descrescând apoi în cazul acizilor propionic și succinic.

Variațiile fluxurilor masice finale ale acizilor sunt similare celor inițiale, fenomen datorat dependenței directe a acestora cu concentrația de acizi în stratul organic.

Contrar influenței asupra fluxului masic inițial, creșterea pH_i determină un efect pozitiv asupra factorului de permeabilitate pentru toți cei trei acizi, randamentele de extracție și reextracție devenind apropiate pentru valori neutre ale pH_i , datorită cantității reduse de acid transferat în faza organică (figura 63).

Figura 63 sugerează două domenii de variație a factorilor de permeabilitate. Astfel, pentru pH_i sub 4, dependența indică un efect pozitiv asupra capacității de transport a membranei lichide, fenomen influențat de aciditatea solutului transferat, însă afectat de structura complexului extras.

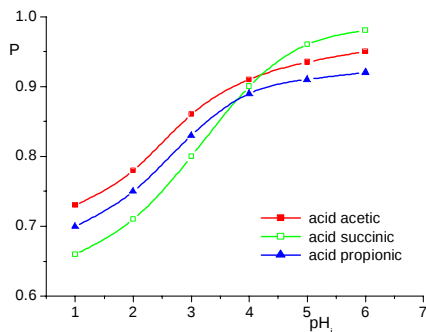


Figura 63. Influența valorii pH_i asupra factorilor de permeabilitate a acizilor propionic, succinic și acetic (concentrație TOA = 200 g/l, $pH_f = 10$)

Ambele variații ale factorilor de permeabilitate sunt controlate de viteza de reacție dintre compusul acid – agent purtător și hidroxidul de sodiu la interfața de separare dintre membrană și faza apoasă finală. Creșterea acidității solutului și complexitatea compusului extras conduc la apariția rezistenței de tip cinetic în procesul de reextracție. La $pH_i < 4$, în absența 1-octanolului în membrana lichidă, cea mai simplă structură a compusului extras corespunde acidului acetic, $RCOOH.Q$ [118]. Pentru $pH_i > 4$, datorită disocierii parțiale a acidului succinic, structura compusului extras este modificată și devine $R(COOH)_2.Q$, similară produsului format prin reacția interfacială dintre acidul acetic și TOA. Astfel, amplificarea fluxurilor masice finale devine mai relevantă pentru acidul succinic, valoarea factorului acestuia de permeabilitate depășindu-i pe cei ai acizilor acetic și propionic.

Pentru a cuantifica efectul adăugării de 1-octanol în membrana lichidă asupra fluxurilor masice inițiale și finale ale acizilor, cât și asupra permeabilității membranei lichide, au fost definiți factorii F_N și F_P . Factorul F_N este definit ca raportul fluxurilor masice ale solutului în prezența și absența 1-octanolului. Factorul F_P este definit ca raportul dintre factorii de permeabilitate ai membranei lichide cu și fără 1-octanol [121].

Dependența factorului F_N cu pH -ul fazei apoase inițiale, prezentată în figura 64, sugerează faptul că adăugarea de 1-octanol determină un efect pozitiv asupra fluxurilor masice ale acizilor. Deși pentru toți acizii studiați F_N , calculat fie pentru fluxurile masice inițiale, fie pentru cele finale, este supraunitar și crește pe tot domeniul de pH considerat, magnitudinea influenței pH_i este diferită, cea mai mare valoare a F_N fiind atinsă în cazul acidului propionic. De aceea, pentru variații ale pH_i cuprinse între 1 și 7, factorul F_N calculat pentru fluxul masic inițial crește de 1,6 ori pentru acidul acetic, de 1,9 ori pentru acidul succinic și de peste 2,6 ori pentru acidul propionic.

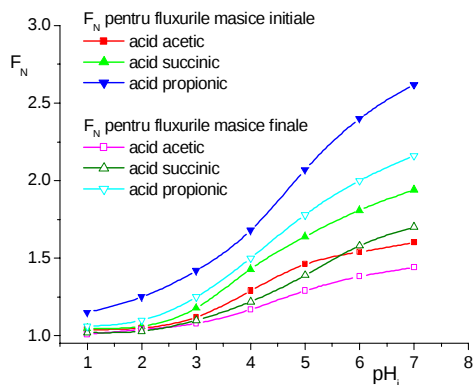


Figura 64. Influența pH-ului fazei apoase inițiale asupra factorului F_N (concentrație TOA = 200 g/l, $pH_f = 10$)

Valorile factorului F_P sunt subunitare pe întreg domeniul de pH al fazei apoase inițiale, creșterea acestui pH determinând reducerea F_P (figura 65).

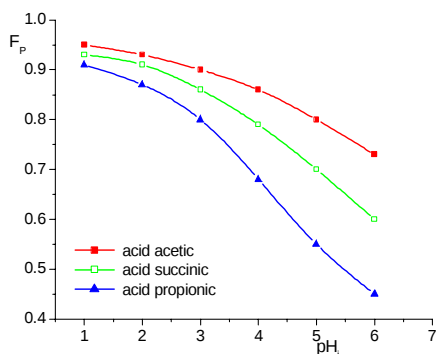


Figura 65. Influența valorii pH-ului fazei apoase inițiale asupra F_P (concentrație TOA = 200 g/l, $pH_f = 10$)

În toate cazurile, creșterea fluxurilor masice inițiale datorate adăugării de 1-octanol în solventul organic depășește capacitatea membranei lichide de a transporta acizii și de a îi elibera în faza apoasă finală. Datorită motivelor prezentate, acest efect este mai important pentru acidul propionic. La $pH_i = 6$, factorul acestuia de permeabilitate în prezența alcoolului este de 2,3 ori mai mică decât cea corespunzătoare pertracției fără 1-octanol.

Pentru sistemul de pertracție fără alcool, creșterea pH-ului fazei apoase finale, pH_f , conduce la o creștere a vitezei de formare a sărurilor de sodiu și, implicit, a reextracției acizilor din faza organică. De aceea, fluxurile masice finale ale celor trei acizi sunt accelerate (figura 66). Datorită amplificării gradientului de concentrație a acizilor dintre faza apoasă inițială și faza apoasă finală, fluxurile masice inițiale sunt, de asemenea, intensificate.

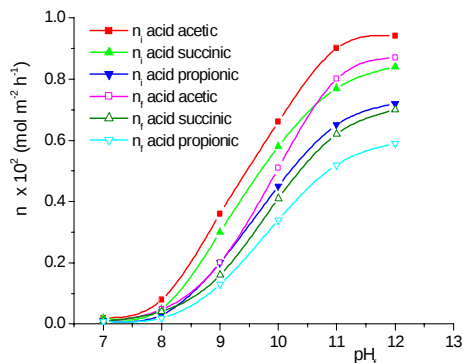


Figura 66. Influența valorii pH-ului fazei apoase finale asupra fluxurilor masice ale acizilor propionic, acetic și succinic (concentrație TOA = 200 g/l, pH_f = 2)

Creșterea pH_f conduce, în cazul celor trei acizi, la o creștere continuă a factorilor de permeabilitate (figura 67). În funcție de domeniul de variație a pH_f, figura 67 indică faptul că magnitudinea acestui efect pozitiv diferă pentru fiecare acid în parte, cel mai ridicat factor de permeabilitate fiind înregistrat în cazul acidului propionic.

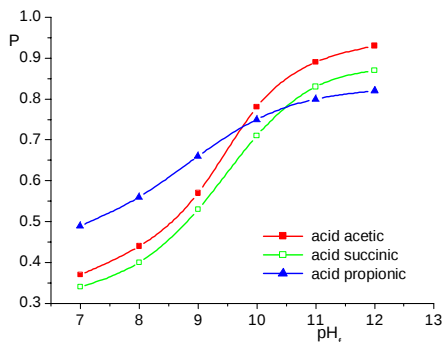


Figura 67. Influența valorii pH-ului fazei apoase finale asupra factorilor de permeabilitate ai acizilor acetic, succinic și propionic (concentrație TOA = 200 g/l, pH_i = 2)

În prezența 1-octanolului, figura 68 indică influența pH_f asupra factorului F_N . Acești factori sunt supraunitari pe tot domeniul de pH al fazei apoase finale studiat, cele mai mari valori fiind înregistrate pentru acidul propionic. Factorul F_N calculat pentru fluxurile masice inițiale crește de până la 1,4 ori pentru acidul acetic, 1,5 ori pentru acidul succinic și 1,7 ori pentru acidul propionic. Valorile F_N corespunzătoare fluxurilor masice finale sunt îmbunătățite de până la 1,5 ori pentru acidul acetic, 1,6 ori pentru acidul succinic și 1,8 ori pentru acidul propionic.

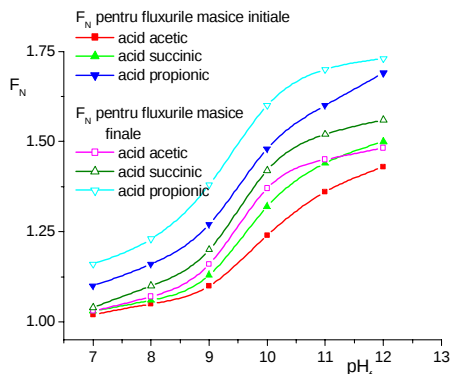


Figura 68. Influența valorii pH-ului fazei apoase finale asupra factorilor F_N (concentrație TOA = 200 g/l, $pH_i = 2$)

Deși valorile sunt supraunitare pe întreg domeniul de pH al fazei apoase finale, variația F_p , prezentată în figura 69, sugerează influența pozitivă a creșterii pH_f .

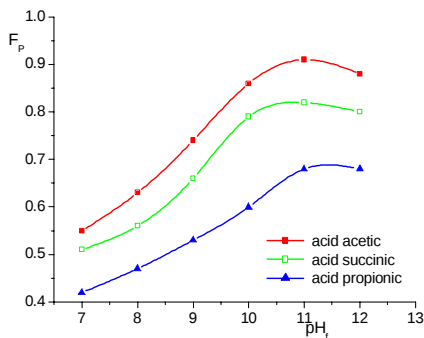


Figura 69. Influența valorii pH-ului fazei apoase finale asupra factorului F_p (concentrație TOA = 200 g/l, $pH_i = 2$)

Acest efect este mai pronunțat pentru solutul cu aciditatea mai ridicată, acizii acetic și succinic. În plus, datorită capacității limitate de transport a membranei, pentru toți cei trei acizi, F_p atinge un maxim la $pH_f = 11$, ca apoi să descrească cu creșterea pH_f . Valoarea maximă a F_p este mai evidentă în cazul acizilor acetic și succinic.

Selectivitatea pertracției a fost descrisă prin intermediul factorului de selectivitate, S , definit ca raportul dintre fluxurile masice finale cumulate ale acizilor acetic și succinic și fluxul masic final al acidului propionic.

Influența decisivă a concentrației agentului purtător asupra selectivității pertracției este subliniată de dependența dintre factorii de selectivitate (figura 75). Astfel, în absența 1-octanolului, rezultatele experimentale au arătat faptul că valoarea maximă a factorului de selectivitate ($S = 25$) este atins la o concentrație de 70 g/l TOA în membrana lichidă. Această valoare a concentrației corespunde stoechiometriei reacției dintre acid succinic - TOA și acid acetic - TOA.

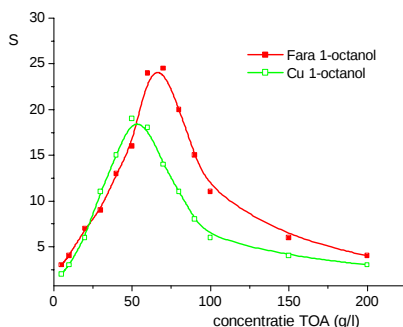


Figura 75. Influența concentrației agentului purtător asupra factorului de selectivitate ($\text{pH}_i = 2$, $\text{pH}_f = 10$)

*
* *

Studiul pertracției facilitate cu TOA a acizilor acetic, succinic și propionic din biomasa obținută prin fermentația *P. acidipropionici* a indicat posibilitatea separării selective a acestora din amestecul de biosinteză. Astfel, acizii acetic și succinic pot fi transferați din faza apoasă inițială prin membrana lichidă spre faza apoasă finală, în timp ce acidul propionic rămâne în faza apoasă inițială.

Adăugarea alcoolului a condus la îmbunătățirea vitezei de transfer de masă dinspre faza apoasă inițială spre cea finală pentru toți acizii studiați. Datorită faptului că acest efect este mai pronunțat în cazul acidului propionic, factorul de selectivitate a fost redus comparativ cu pertracția fără 1-octanol. În acest caz, factorii de selectivitate cei mai ridicați au fost atinși la valori reduse ale pH_i și pH_f . De asemenea, valoarea maximă a selectivității a corespuns unei concentrații a TOA în membrana lichidă de 50 g/l ($S = 19$).

II.4. STUDIUL SEPARĂRII INDIVIDUALE ȘI SELECTIVE DIN AMESTEC A ACIDULUI SUCCINIC PRIN PERTRACȚIE FACILITATĂ

Acidul succinic este un acid dicarboxilic cu numeroase aplicații în industria chimică (reactivi, rășini sintetice, polimeri biodegradabili, electroplacare, solvenți, cerneluri), în agricultură (pesticide, stimulatori și reglatori de creștere), în industriile farmaceutică și alimentară (aminoacizi, antibiotice, vitamine, surfactanți, aditivi) [122,123,124]. Acidul succinic se obține industrial prin sinteză chimică, folosind ca materie primă gazul petrolier lichefiat, de exemplu butan, cu etapă intermediară obținerea anhidridei maleice [122], însă, datorită dificultăților sintezei chimice și necesității extinderii tehnologiilor ecologice, în ultimii ani a crescut interesul producerii acidului succinic prin fermentație cu costuri reduse. De aceea, au fost testate un număr mare de bacterii, drojdii și fungi cu potențial de producere a acidului succinic, însă doar tulpinile *Actinobacillus succinogenes* și *Actinobacillus succiniproducens* au fost considerate ca producători importanți [125,126,127,128].

Comparativ cu extracția fizică sau cu cea lichid-lichid, utilizarea pertracției reduce pierderile de solvent din timpul ciclului de separare, necesită o mai mică cantitate de solvent și agent purtător și oferă posibilitatea transportului solutului împotriva gradientului său de concentrație, atât timp cât gradientul de pH dintre cele două faze apoase este constant [132]. În acest context, a fost investigată posibilitatea separării individuale a acidului succinic și a separării selective a acizilor succinic, formic și acetic din amestecul obținut prin fermentația *Actinobacillus succinogenes* utilizând pertracția facilitată cu tri-n-octilamină (TOA).

II.4.1. Studiul comparativ asupra pertracției facilitate a acidului succinic utilizând tri-n-octilamină în prezența și absența modificatorului de fază

Pe baza cercetărilor anterioare ale echipei asupra extracției reactive a acidului succinic cu tri-n-octilamină (TOA) [133], scopul acestui studiu este pertracția facilitată a acidului succinic utilizând același agent purtător (TOA) și diclormetan cu și fără 1-octanol ca membrană lichidă. În acest sens, s-au analizat influența gradientului de pH dintre cele două faze apoase și a concentrației agentului purtător asupra separării prin pertracție facilitată a acidului succinic prin membrana lichidă cu și fără 1-octanol.

În cazul pertracției acidului succinic, influența gradientului de pH dintre faze este amplificată de ionizarea-protonarea acestor acizi în fazele apoase, aceste procese controlând atât eficiența extracției și a reextracției, cât și viteza transportului prin membrana lichidă [134].

Pentru a cuantifica efectul adăugării de 1-octanol în membrană asupra fluxurilor masice inițial și final, s-a considerat factorul F_N ca fiind raportul dintre fluxurile masice înregistrate în prezența și în absența alcoolului. În mod similar, factorul F_P reprezintă raportul dintre factorii de permeabilitate în membrana lichidă cu și fără 1-octanol.

În figura 77 este prezentată dependența valorilor factorilor F_N și F_P de pH-ul fazei apoase inițiale.

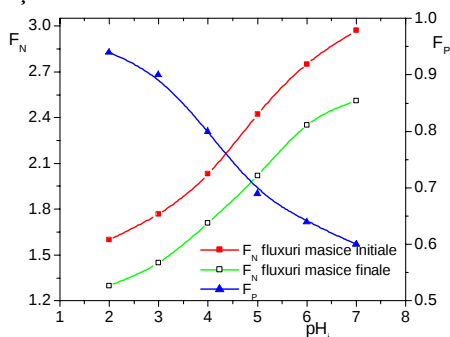


Figura 77. Influența pH-ului fazei apoase inițiale asupra F_N și F_P ($pH_f = 10$, concentrație TOA = 40 g/l)

Aceasta sugerează faptul că adăugarea de 1-octanol determină două efecte diferite asupra factorilor. Factorul F_N , calculat fie pentru fluxurile masice inițial sau final, este supraunitar pe întreg domeniul de pH considerat și crește o dată cu creșterea pH_i . De aceea, pentru variații ale pH_f cuprinse între 2 și 7, F_N crește de la 1,6 la 3,0 pentru fluxurile masice inițiale, respectiv de la 1,3 la 2,5 pentru fluxurile masice finale. Aceste rezultate sunt consecința efectului favorabil al adăugării 1-octanolului asupra solubilizării în membrana lichidă a moleculelor de acid succinic, libere sau legate de agentul purtător. Creșterea pH_i induce disocierea acidului succinic în faza apoasă inițială, prezența 1-octanolului favorizând, de asemenea, și extracția moleculelor disociate de acid. Magnitudinea efectului pozitiv al adăugării de alcool este superioară în cazul fluxului masic inițial, datorită rezistenței cinetice suplimentare ce apare în cazul procesului de reextracție a acidului din membrana lichidă spre faza apoasă finală.

Valorile F_P sunt subunitare pentru întreg domeniul de pH al fazei apoase inițiale investigat, creșterea pH_i conducând la reducerea acestui factor (figura 77). În acest caz, creșterea semnificativă a fluxului masic inițial al acidului succinic, datorat adăugării de 1-octanol în membrana lichidă, depășește capacitatea membranei de a transporta acidul și de a îl elibera în faza apoasă finală.

Similar influenței pH_i , în prezența 1-octanolului în membrana lichidă, factorii F_N sunt supraunitari pe întreg domeniul de pH considerat, însă influența pH_f a fost analizată distinct pentru rapoartele fluxurilor masice inițial și final (figura 79). Astfel, factorul F_N , calculat ca fiind raportul dintre fluxurile masice inițiale, crește ușor o dată cu creșterea pH-ului fazei apoase finale, de la 1,7 la 2. Variația factorului F_N corelată cu pH_f indică o creștere semnificativă corespunzătoare unei valori a $pH_f = 10$, urmată de o ușoară descreștere. Valorile F_N le depășesc pe cele obținute pentru fluxurile masice inițiale la valori de pH peste 8, fenomenul fiind datorat influenței crescute a pH_f asupra reextracției acidului succinic din membrana lichidă. Capacitatea maximă a membranei lichide de a transporta acidul din faza apoasă inițială spre faza apoasă finală este atinsă la o valoare a pH_f de 10. Pentru valori mai mari decât aceasta, accelerarea vitezei de reextracție nu poate compensa valoarea ridicată a vitezei de extracție atinsă în cazul utilizării de 1-octanol.

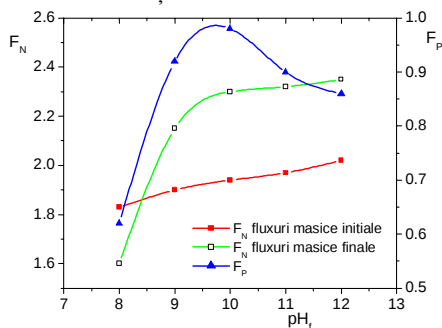


Figura 79. Influența pH-ului fazei apoase finale asupra factorilor F_N și F_P ($pH_i = 2$, concentrație TOA = 40 g/l)

Variația factorului F_p este controlată de dependența dintre F_N pentru fluxurile masice finale și pH_f , cei doi factori fiind în directă corelație. Astfel, F_p atinge un maxim la $pH_f = 10$ ($F_p = 0,98$), după care descrește. Această variație este rezultatul modificărilor menționate anterior ale vitezelor proceselor de extracție și reextracție în prezența 1-octanolului. Din acest motiv, pentru întreg domeniul de pH al fazei apoase finale, valoarea F_p a fost subunitară.

Creșterea concentrației agentului purtător în membrana lichidă determină un efect negativ asupra acestor factori. Astfel, figura 81 indică faptul că în intervalul de concentrații ale TOA cuprins între 0 și 120 g/l, F_N se reduce de la 3 la 1,7 pentru fluxurile masice inițiale, respectiv de la 2,8 la 1,4 pentru fluxurile masice finale. Această variație a factorului F_N poate fi explicată prin diminuarea influenței concentrației agentului purtător în prezența 1-octanolului.

Factorul F_p este supraunitar doar în cazul pertracției libere a acidului succinic, în absența agentului purtător. Acest rezultat subliniază efectul pozitiv al adității de alcool asupra pertracției libere a acidului succinic, respectiv asupra solubilizării sale în membrana lichidă și, implicit, asupra concentrației reextrase în faza apoasă finală. Însă, prin adăugarea de TOA și creșterea concentrației aminei, F_p descrește și devine subunitar.

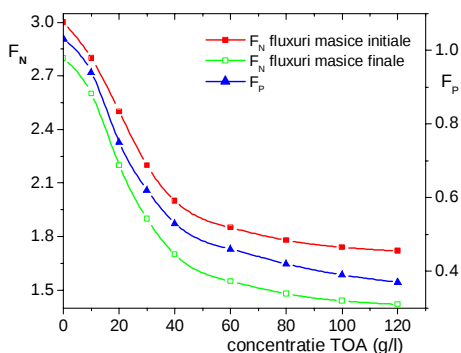


Figura 81. Influența concentrației agentului purtător asupra factorilor F_N și F_p ($pH_i = 2$, $pH_f = 10$)

Aceste influențe au fost incluse într-un model matematic ce descrie cinetica acumulării acidului succinic în interiorul membranei lichide în timpul pertracției facilitate în regim pseudostaționar, pentru sisteme cu și fără 1-octanol. Acest model indică reducerea permeabilității prin membrana lichidă și, în consecință, acumularea solutului în interiorul fazei organice în timpul pertracției.

$$P = \left(\frac{1}{1 + \frac{K_{al}}{C_{H^+}}} \cdot \left(1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w \cdot C_i} \right) - 1 \right)^2 \cdot \left[\frac{n_M \cdot \frac{A}{V} \cdot \left(\frac{1}{1 + \frac{K_{al}}{C_{H^+}}} \cdot \left(1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w \cdot C_i} \right) - 1 \right)}{\frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w} + C_i \cdot \left[D_i \cdot \left(1 + \frac{Q}{k_w \cdot A} \right) + \frac{Q}{k_w \cdot A} \right] \cdot \left[\frac{1}{1 + \frac{K_{al}}{C_{H^+}}} \cdot \left(1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w \cdot C_i} \right) - 1 \right]} \cdot t + \frac{1 + \frac{K_{al}}{C_{H^+}}}{1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w}} \right]^{-1} - \frac{\frac{1}{1 + \frac{K_{al}}{C_{H^+}}} \cdot \left(1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w \cdot C_i} \right) - 2}{\left(\frac{1}{1 + \frac{K_{al}}{C_{H^+}}} \cdot \left(1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w \cdot C_i} \right) - 1 \right)^2}$$

*
* *

Studiile pertracției facilitate a acidului succinic cu TOA au indicat creșterea semnificativă a fluxurilor masice inițiale și finale în prezența 1-octanolului în membrana lichidă. Comparativ cu pertracția facilitată fără adaos de alcool, fluxurile masice ale acidului au fost amplificate de până la 2,8 – 3 ori, însă magnitudinea acestui efect trebuie corelată cu gradientul de pH dintre faza apoasă inițială și faza apoasă finală și concentrația agentului purtător din membrana lichidă.

Contrar acestui efect pozitiv, adăugarea de 1-octanol induce diminuarea factorului de permeabilitate datorită faptului că viteza de extracție a acidului succinic în membrana lichidă o depășește pe cea a reextracției din această fază, capacitatea de transport a sistemului de pertracție fiind limitată.

Modelul propus oferă o bună concordanță cu datele experimentale, cea mai importantă abatere fiind înregistrată la valori scăzute ale pH-ului fazei apoase inițiale, valori ridicate ale pH-ului fazei apoase finale și în prezența alcoolului în membrana lichidă.

II.4.2. Separarea selectivă a acizilor carboxilici obținuți din fermentația *Actinobacillus succinogenes* prin pertracție facilitată

Studiul prezentat a fost continuat cu pertracția facilitată a acizilor carboxilici obținuți din fermentația *A. succinogenes*, și anume acizii formic, acetic și succinic.

Fluxurilor masice inițiale (figura 84) descresc o dată cu creșterea valorii pH-ului fazei inițiale, pH_i , datorită reducerii eficienței extracției reactive cu TOA [136]. Scăderea eficienței extracției cu creșterea pH_i este consecința disocierii grupării carboxilice, fenomen ce decurge cu viteză redusă pentru valori ale pH_i sub 2 pentru acid formic și acetic sau 3 pentru acid succinic. Această diferențiere este rezultatul disocierii acidului formic și acidului acetic la gruparea carboxilică și disocierii parțiale a acidului succinic la o singură grupare carboxilică.

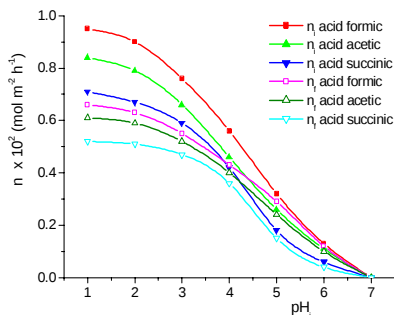


Figura 84. Influența pH-ului fazei inițiale asupra fluxurilor masice ale acidului formic, acidului acetic și acidului succinic
(concentrație agent purtător = 200 g/l, pH fază finală = 10, turația = 500 rpm)

Deși dependența dintre fluxul masic inițial și pH_i este similară pentru toți acizii studiați, valorile transferului interfacial de masă trebuie corelate cu aciditatea solutului, deoarece aciditatea controlează reacția interfacială dintre solut și agent purtător. Astfel, cei mai mari coeficienți de transfer de masă din faza inițială spre membrană au fost înregistrați pentru acidul formic, fluxul masic inițial descrescând pentru acidul acetic și succinic. Pertracția acizilor devine imposibilă peste valori ale pH-ului de 6, ca rezultat al disocierii totale a acizilor și a formării sării de sodiu în faza inițială.

Variațiile fluxurilor masice finale ale acizilor sunt similare cu cele ale fluxurilor masice inițiale, datorită dependenței directe cu cantitatea de acid extrasă în stratul organic.

Aceste rezultate conduc la următoarea ordine a coeficienților de transfer de masă din faza inițială spre membrana lichidă și, în final, spre faza finală:
acid succinic < acid acetic < acid formic

Potrivit figurii 85, creșterea pH_i determină un efect pozitiv asupra factorului de permeabilitate pentru toți cei trei acizi carboxilici studiați, randamentele extracției și reextracției devenind apropiate pentru valori neutre ale pH-ului, datorită cantităților mici de acid transferat prin membrană.

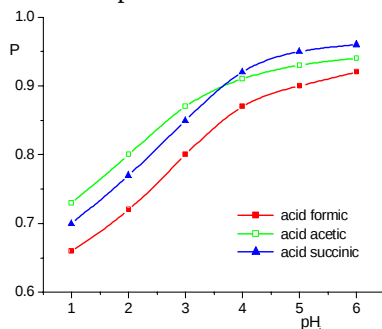


Figura 85. Influența pH-ului fazei inițiale asupra factorilor de permeabilitate ai acizilor formic, acetic și succinic
(concentrație agent purtător = 200 g/l, pH fază finală = 10, turație = 500 rpm)

Însă, figura 85 sugerează două domenii de variație a factorilor de permeabilitate. Astfel, pentru valori ale pH_i sub 4, dependențele indică inversa proporționalitate dintre capacitatea de transport a membranei lichide și aciditatea solutului transferat, factorii de permeabilitate descrescând după cum urmează:

acid acetic > acid succinic > acid formic

Pentru valori mai mari ale pH-ului fazei inițiale, ordinea de mai sus se schimbă pentru primii doi acizi, devenind:

acid succinic > acid acetic > acid formic

Creșterea pH-ului fazei finale, pH_f , determină creșterea formării sării de sodiu și, implicit, reextracția acizilor din membrana lichidă. Prin urmare, fluxurile masice finale a celor trei acizi carboxilici sunt accelerate (figura 86).

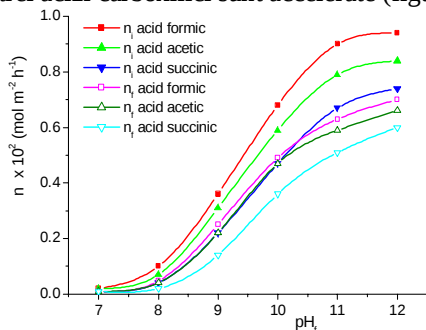


Figura 86. Influența pH-ului fazei finale asupra fluxurilor masice ale acizilor formic, acetic și succinic (concentrație agent purtător = 200 g/l, pH fază finală = 10, turație = 500 rpm)

Pentru toți acizii studiați, creșterea pH_f conduce la o creștere continuă a factorilor de permeabilitate (figura 87). Această variație sugerează faptul că accelerarea fluxului masic final devine mai pronunțată comparativ cu cea a fluxului masic inițial, datorită unei mai importante creșteri a coeficientului de reextracție la valori mai ridicate a pH-ului fazei finale.

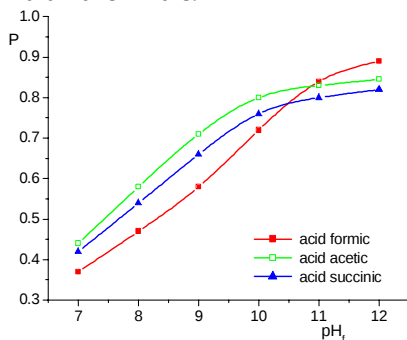


Figura 87. Influența pH-ului fazei finale asupra factorilor de permeabilitate ai acizilor formic, acetic și succinic (concentrație agent purtător = 200 g/l, pH fază finală = 10, turație = 500 rpm)

Concentrația TOA în interiorul membranei lichide induce diferite influențe asupra eficienței pertracției acestor trei acizi carboxilici. Pentru extracția reactivă a acizilor formic, acetic și succinic cu TOA, influența diferită a agentului purtător se datorează atât mecanismelor diferite de extracție a acizilor cât și diferenței acidității solutului și a hidrofobicității compușilor extrași [118,138]. Din aceste motive, acizii formic, acetic și succinic pot fi separați prin pertracție succesiv, prin creșterea concentrației agentului purtător (figura 88).

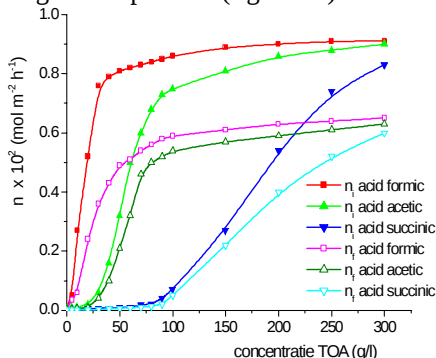


Figura 88. Influența concentrației agentului purtător asupra fluxurilor masice ale acizilor formic, acetic și succinic (pH fază inițială = 2, pH fază finală = 10, turajie = 500 rpm)

În toate cazurile, creșterea concentrației TOA determină un efect favorabil asupra transferului de masă ai acizilor, datorită creșterii cantității unui reactant la interfața dintre faza inițială și membrana lichidă. Însă, prin creșterea concentrației TOA în membrana lichidă, se poate observa faptul că acizii carboxilici sunt extrași din faza inițială în ordinea: acid formic, acid acetic și acid succinic. Așadar, pentru concentrații TOA sub 30 g/l doar acidul formic este transferat din faza inițială spre membrană, datorită faptului că agentul purtător reacționează întâi cu solutul cu aciditatea cea mai mare. Acest nivel de concentrație a TOA corespunde nevoii stoechiometrice pentru formarea compusului interfacial $(RCOOH)_2.Q_2$ cu acidul formic [118], influența creșterii suplimentare a concentrației agentului asupra fluxului masic inițial al acidului formic devenind semnificativă.

Pertracția acidului acetic devine posibilă pentru concentrații ale TOA de peste 30 g/l, fluxul masic inițial al acestui acid crescând puternic pentru concentrații ale agentului purtător de la 30 la 90 g/l. Deoarece structura compusul format în urma reacției interfaciale dintre acidul acetic și TOA este $RCOOH.Q$ [138], limita superioară a acestui domeniu de concentrație a agentului purtător reprezintă cantitatea necesară stoechiometric pentru a reacționa cu acidul acetic din faza inițială. Ca și în cazul pertracției acidului formic, valori mai ridicate ale concentrației TOA nu induc efecte importante asupra fluxului masic al acidului acetic din faza inițială spre membrana lichidă. În aceste circumstanțe, acidul succinic este extras din faza inițială doar după de concentrația TOA depășește suma moleculelor necesare stoechiometric pentru reacția cu primii doi acizi.

La valori ale concentrației agentului purtător mai mici decât cele care permit transferul acidului acetic și succinic din faza inițială spre membrană, pertracția acestor acizi este posibilă doar prin solubilizarea fizică în diclormetan, dar fluxurile masice ale acizilor sunt foarte scăzute. Aceste rezultate sugerează influența majoră a concentrației TOA în interiorul membranei lichide asupra selectivității pertracției.

Fiind în directă corelație cu cantitatea de acid extrasă în membrană, fluxul masic final variază similar celor inițiale cu creșterea concentrației agentului purtător.

Factorii de permeabilitate ai acizilor prezintă evoluții diferite. Acești parametri descresc inițial de la valoarea corespunzătoare absenței TOA în solventul organic la o valoare minimă, atinsă la o concentrație a TOA de 10 g/l pentru acidul succinic și 20 g/l pentru acizii formic și acetic, ca apoi să crească concomitent cu concentrația agentului purtător (Figura 89).

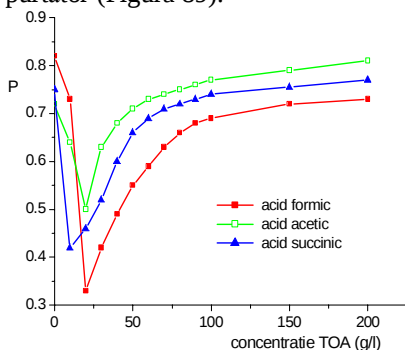


Figura 89. Influența concentrației agentului purtător asupra factorilor de permeabilitate ai acizilor formic, acetic și succinic (pH fază inițială = 2, pH fază finală = 10, turație = 500 rpm)

Datorită faptului că randamentele extracției fizice ale acizilor formic și acetic sunt mai mari decât al acidului succinic, cantitatea de acid liber extrasă în membrană este superioară pentru cei doi acizi monocarboxilici. Din acest motiv, valoarea TOA corespunzătoare factorilor de permeabilitate minimi pentru acizii formic și acetic este mai mare decât cea obținută pentru acidul succinic.

*
* *

Studiul pertracției facilitate a acizilor formic, acetic și succinic cu TOA din biomasa obținută prin fermentația *A. succinogenes* indică faptul că este posibilă separarea selectivă a acestora din lichidul de biosinteză. Acizii formic și acetic pot fi transferați din faza apoasă inițială prin membrana lichidă spre faza finală, în timp ce acidul succinic rămâne în faza inițială.

Creșterea gradientului de pH dintre cele două faze apoase și reducerea intensificării amestecării acestor faze induce efecte favorabile asupra selectivității amestecării. Concentrația agentului purtător din interiorul membranei lichide

determină cea mai importantă influență asupra selectivității pertracției, factorul de selectivitate maxim fiind atins pentru 70 g/l TOA ($S = 133$, la $pH_i = 2$, $pH_f = 10$ și turația de 500 rpm). Prin cumularea efectelor gradientului de pH dintre fazele apoase, concentrația agentului purtător și intensitatea amestecării asupra pertracției acizilor carboxilici obținuți prin fermentația succinică se pot obține valori superioare ale factorilor de selectivitate.

II.4.3. Modelarea pertracției selective a acizilor obținuți prin fermentația *Actinobacillus succinogenes*

Analiza mecanismului de separare selectivă a acizilor obținuți prin fermentația succinică este continuată cu modelarea matematică a procesului [139].

În cazul transferului de masă din faza apoasă inițială spre cea membranară, prin creșterea valorii pH-ului se reduce eficiența extracției reactive a acizilor cu TOA datorită disocierii grupărilor carboxilice, fenomen încetinit pentru valori ale pH_i sub 2 pentru acizii formic și acetic sau sub 3 pentru acidul succinic. Această diferențiere este rezultatul disocierii acizilor formic și acetic la singura lor grupare carboxilică și disocierii parțiale a acidului succinic la una din grupările carboxilice (figura 95).

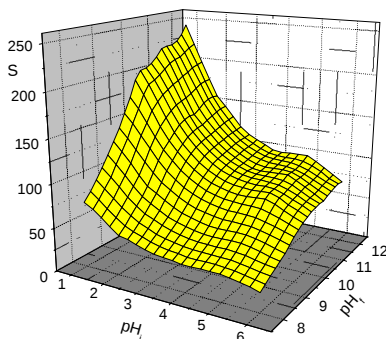


Figura 95. Influențele cumulate ale pH-ului fazelor apoase inițială și finală asupra factorului de selectivitate (concentrație TOA = 40 g/l, turație = 500 rpm)

Deși efectul creșterii pH_i este similar pentru toți acizii carboxilici studiați, valorile vitezei transferului de masă interfacial trebuie corelate cu aciditatea solutului deoarece aciditatea controlează viteza reacției interfaciale dintre solut și agentul purtător. Astfel, cele mai ridicate viteze de transfer de masă din faza apoasă inițială spre membrana lichidă au fost înregistrate pentru acidul formic, fluxurile masice inițiale descrescând către acidul acetic și acidul succinic. La valori ale pH_i peste 6, disocierea totală a acizilor și, implicit, formarea sărurilor în faza apoasă inițială împiedică pertracția acizilor.

Variațiile fluxurilor masice finale sunt similare celor inițiale datorită dependenței directe de concentrația acizilor extrași în stratul organic. Creșterea pH-ului fazei apoase finale conduce la o intensificare a vitezei de formare a sărurilor de sodiu și, implicit, la reextracția acizilor din membrana lichidă. În consecință, fluxurile masice ale celor trei acizi sunt accelerate, însă în funcție de

variația domeniului de pH_i , magnitudinea acestui efect pozitiv diferă de la un acid la altul, ca rezultat al diminuării rezistenței cinetice la reextracție de la acidul formic spre acidul succinic, diferențe ce devin mai pronunțate la concentrații mai reduse de hidroxid de sodiu în faza apoasă finală. La valori ridicate ale pH_i , respectiv la concentrații ridicate ale agentului de reextracție, magnitudinea efectelor acidității scăzute este redusă semnificativ. Din acest motiv, valorile fluxurilor masice finale ale acizilor formic și acetic le depășesc pe cele ale acidului succinic. Acest fenomen este în principal rezultatul concentrațiilor crescute ale compușilor acid formic - TOA și acid acetic - TOA extrase în membrana lichidă.

Pe baza acestor efecte se poate concluziona faptul că influența gradientului de pH asupra selectivității pertracției este rezultatul influenței accentuate a valorilor reduse ale pH_i asupra vitezei de extracție și a valorilor ridicate ale pH_i asupra vitezei de reextracție a acizilor formic și acetic.

Concentrația TOA în membrana lichidă, C_A , determină efecte diferite asupra eficienței pertracției acestor acizi carboxilici și, prin urmare, asupra selectivității pertracției (figurile 96 și 97). În cazul extracției reactive a acizilor formic, acetic și succinic, influența diferită a concentrației agentului purtător se datorează mecanismelor diferite de extracție ale acizilor, cât și acidității diferite ale solutului și hidrofobicității compușilor extrași [117,137].

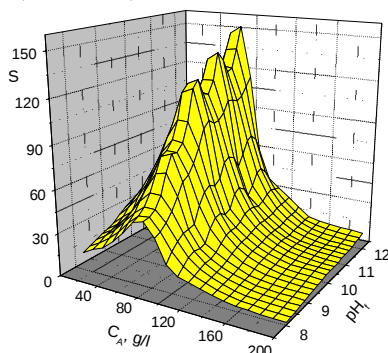


Figura 96. Influențele cumulate ale concentrației agentului purtător și a valorii pH -ului fazei apoase finale asupra factorului de selectivitate ($pH_i = 2$, turație = 500 rpm)

Deși creșterea concentrației TOA induce un efect pozitiv asupra transferului de masă ai acizilor, datorită creșterii concentrației unui reactant la interfața de separare dintre faza apoasă inițială și membrana lichidă, acizii carboxilici sunt extrași din faza apoasă inițială în ordinea descreșterii acidității: acid formic, acid acetic și acid succinic. Pentru concentrații ale TOA sub cele stoechiometrice necesare pentru formarea compusului interfacial $(RCOOH)_2Q_2$ cu acidul formic [138], doar acidul formic este transferat din faza apoasă inițială în cea organică, deoarece agentul purtător reacționează inițial cu solutul cu cea mai mare aciditate. Pertracția acidului acetic devine posibilă pentru concentrații ale TOA mai ridicate. Deoarece structura compusului format în urma reacției interfaciale dintre acidul acetic și TOA este $RCOOH.Q$ [118], limita superioară a concentrației agentului

purtător este concentrația corespunzătoare pentru a reacționa cu acidul acetic din faza apoasă inițială.

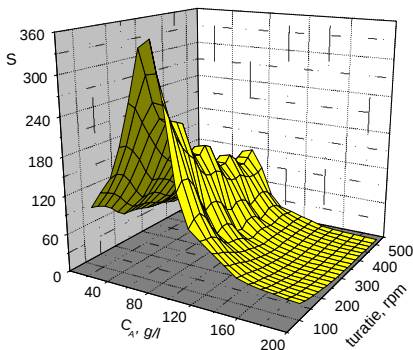


Figura 97. Influențele cumulate ale concentrației agentului purtător și intensificării amestecării celor două faze apoase asupra factorului de selectivitate ($\text{pH}_i = 2$, $\text{pH}_f = 10$)

Rezultatele experimentale, prezentate în figurile 96 și 97, au indicat faptul că valoarea maximă a selectivității este atinsă pentru o concentrație a TOA de 70 g/l în membrana lichidă, indiferent de valorile de pH sau de intensitatea amestecării celor două faze apoase. Deoarece selectivitatea pertracției este controlată în principal de concentrația TOA în stratul organic, cea mai importantă îmbunătățire a factorului de selectivitate poate fi atinsă prin optimizarea concentrației agentului purtător.

Prin analiza influențelor factorilor considerați asupra selectivității pertracției au fost propuse următoarele două ecuații pentru calcularea factorului de selectivitate (S):

- pentru soluțiile apoase în absența amestecării

$$S = 0.265 \cdot \frac{X^{3.234} \cdot Z^{1.98 \cdot 10^{-2}}}{e^{0.326 \cdot Y}} \quad (58)$$

- pentru soluțiile apoase cu amestecare

$$S = 0.772 \cdot \frac{X^{3.114} \cdot Z^{9.74 \cdot 10^{-2}}}{e^{0.618 \cdot Y} \cdot W^{0.872}} \quad (59)$$

unde:

X – valoarea pH-ului fazei apoase finale, $X \in [7,12]$

Y – valoarea pH-ului fazei apoase inițiale, $Y \in [1,7]$

Z – concentrația TOA, $Z \in [5,300] \text{ g/l}$

W – viteza de rotație, $W = 0 \text{ s}^{-1}$ pentru ecuația (58), $W \in (0,13 - 0,33) \text{ s}^{-1}$ pentru ecuația (59)

Creșterea gradientului de pH dintre cele două faze apoase și reducerea intensității amestecării acestor faze induc efecte favorabile asupra selectivității separării. Însă, cel mai important efect îl prezintă concentrația agentului purtător în membrana lichidă, valoarea maximă a factorului de selectivitate fiind atinsă la o concentrație de 70 g/l TOA, indiferent de valorile celorlalți parametri.

Prin luarea în considerare a efectelor cumulate ale gradientului de pH dintre cele două faze apoase, concentrației agentului purtător și a intensității amestecării, procesul de pertracție a fost descris matematic prin intermediul factorului de selectivitate. Valorile calculate cu modelul propus sunt în concordanță cu cele experimentale, abaterea medie fiind de $\pm 5.22\%$.

II.5. STUDIUL SEPARĂRII ACIDULUI ROZMARINIC PRIN EXTRAȚIE REACTIVĂ ȘI PERTRACTIE

Acidul rozmarinic este inclus în categoria derivaților fenolici, conține o grupare carboxilică, fiind un ester al acidului cafeic și acidului 3-(3,4-dihidroxifenil)-lactic [140].

Interesul acordat acidului rozmarinic este justificat de activitatea sa biologică, care se manifestă prin efectele antioxidante, astringente, antiinflamatorii, antimutagene, anticancerigene, antialergice, antibacteriene și antivirale (anti-HIV) [140,141,142,143].

Biosinteza acidului rozmarinic se realizează cu culturi de celule de *Coleus blumei*, *Salvia miltiorrhiza*, *Anchusa officinalis*, *Lavandula vera* [142,149-153], a căror potențial productiv a fost amplificat prin utilizarea unor microorganisme gen *Pseudomonas*, *Agrobacterium rhizogenes*, *Phytium aphanidermatum* [140,143,152]. Substratul utilizat este, în majoritatea cazurilor, zahărul.

Până în prezent, separarea și purificarea acidului rozmarinic din extractele vegetale sau din mediile de cultură sau cele enzimatică s-a realizat prin reținere pe schimbători de ioni, electroodializă, electroforeză, extracție fizică, extracție cu fluide supercritice, pertracție fizică [145,151,153,34,158].

II.5.1. Studiul separării acidului rozmarinic prin extracție reactivă

Aplicarea extracției reactive pentru separarea acidului rozmarinic este posibilă deoarece acest compus este solubil în solvenți nemiscibili cu apa, cum ar fi esteri, eteri, hidrocarburi parafinice, cloroform, alcoolii cu catenă lungă [144,34]. Însă, ceficientul de distribuție între faza apoasă și cea organică este relativ redus (valori supraunitare fiind obținute pentru acetatul de etil și diizopropileter [34]).

Din aceste considerente, s-a experimentat separarea acidului rozmarinic prin extracție reactivă [159]. Deoarece acidul rozmarinic conține atât grupări cu caracter acid, cât și cu caracter bazic, au fost utilizate două tipuri de extractanți: un extractant din categoria aminelor cu masă moleculară ridicată, lauril-tri-alchilmetilamina (Amberlite LA-2), și unul din clasa derivaților organofosforici,

acidul di-(2-etilhexil)fosforic (D2EHPA). În aceste studii s-a urmărit influența caracteristicilor sistemului de extracție (tipul extractantului, polaritatea solventului, prezența 1-octanolului) și a condițiilor de operare (valoarea pH-ului fazei apoase inițiale, concentrația extractantului, intensitatea amestecării) asupra mecanismului și cineticii reacției interfaciale, precum și asupra eficienței extracției reactive.

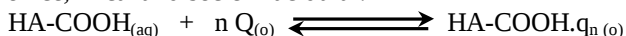
Din punct de vedere al extracției reactive, acidul rozmarinic posedă o structură complexă, cu mulți posibili centri de reacție cu extractanții considerați. Deoarece caracterul acid sau bazic al unei grupări, precum și mărimea acestuia, controlează eficiența separării prin extracție reactivă, inițial s-au identificat posibilele grupări care ar putea reacționa cu Amberlite LA-2 și, respectiv, cu D2EHPA.

Tabel 11. Valorile pK_a calculate cu programul ACD/Labs, pentru 25°C (numotarea grupărilor este indicată în figura 100)

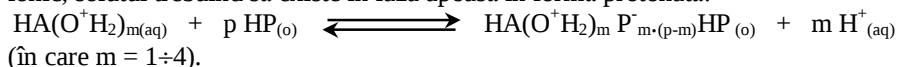
Grupare ionizabilă	-COOH	-OH (7)	-OH (8)	-OH (24)	-OH (25)
Valoare pK_a	$2,78 \pm 0,10$	$9,33 \pm 0,10$	$12,33 \pm 0,31$	$9,77 \pm 0,10$	$12,65 \pm 0,20$

• **Extracția reactivă fără adaos de 1-octanol în faza organică**

Similar extracției altor acizi carboxilici, în extracția reactivă cu Amberlite LA-2, Q, este implicată gruparea $-\text{COOH}$ a solutului, procesul decurgând prin intermediul interacțiunilor interfaciale dintre cei doi componenți, interacțiuni de tipul legăturilor de hidrogen, dacă acidul rozmarinic (HA) este nedisociat în faza apoasă, sau ionice, în cazul disocierii acidului:



Deoarece acidul rozmarinic conține în structură grupări fenolice cu caracter bazic pronunțat, poate reacționa cu extractanți cu caracter acid, cum este D2EHPA, HP. În acest caz, extracția reactivă decurge printr-o reacție interfacială de schimb ionic, solutul trebuind să existe în faza apoasă în formă protonată:



Un rol deosebit în realizarea extracției reactive îl deține pH-ul fazei apoase. Din figura 101 se poate constata că, indiferent de extractantul utilizat sau de polaritatea solventului, eficiența extracției reactive crește inițial cu creșterea pH-ului soluției apoase, atinge un maxim, după care se reduce.

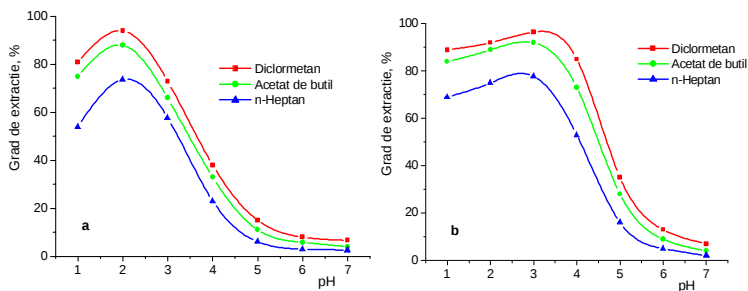
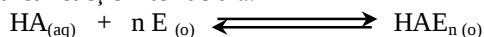


Figura 101. Influența pH-ului fazei apoase inițiale asupra eficienței extracției reactive a acidului rozmarinic cu Amberlite LA-2 (a) și D2EHPA (b) (concentrația extractanți: 40 g/l)

În cazul utilizării Amberlite LA-2, existența maximumului gradului de extracție este rezultatul ionizării grupărilor fenolice în domeniul puternic acid, ceea ce limitează eficiența extracției. În același timp, creșterea valorii pH-ului induce disocierea din ce în ce mai pronunțată a grupării $-\text{COOH}$ și, implicit, reducerea gradului de extracție. Astfel, prin efectele contrare pe care le creează creșterea valorii pH-ului, se atinge randamentul maxim al extracției reactive cu Amberlite LA-2 la $\text{pH} = 2$, indiferent de solventul utilizat. Însă, datorită capacității de solubilizare superioare a moleculelor ionizate de către solvenții cu polaritate mai ridicată, gradul maxim de extracție al acidului rozmarinic corespunzător diclormetanului a fost de 1,07 ori mai mare decât cel înregistrat pentru acetatul de butil și, respectiv, de 1,27 ori mai mare decât cel obținut pentru extracția în n-heptan.

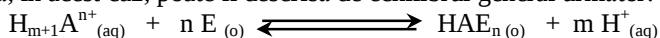
Extracția reactivă cu D2EHPA decurge în condițiile în care grupările $-\text{OH}$ fenolice se găsesc în faza apoasă sub formă protonată, respectiv în domeniul acid. Însă, în domeniul puternic acid, se produce protonarea agentului de extracție, fenomen care îl face incapabil să mai reacționeze cu acidul rozmarinic [162]. Din aceste influențe contrare ale valorii pH-ului fazei apoase, randamentul maxim al extracției reactive cu extractantul organofosforic se atinge la $\text{pH} = 3$. Astfel, existența unei valori optime a pH-ului se datorează unor motive diferite de cazul extracției cu Amberlite LA-2. Maximul gradului de extracție al acidului rozmarinic cu D2EHPA este mai puțin evident comparativ cu utilizarea Amberlite LA-2, deoarece în domeniul puternic acid gruparea carboxilică nu este ionizată, existând un proces de co-extracție fizică cu efect pozitiv asupra transferului solutului în faza organică.

Pentru a verifica mecanismul extracției reactive a acidului rozmarinic (HA), în ambele cazuri s-a considerat formarea la interfață a unor complecși la care participă n molecule de extractant, E , prin intermediu legăturilor de hidrogen, după cum a fost menționat anterior. Astfel, extracția reactivă cu Amberlite LA-2 poate fi descrisă de următoarea reacție interfațială:



Studiul mecanismului extracției reactive a acidului rozmarinic cu D2EHPA s-a realizat, de asemenea, la pH-ul optim al fazei apoase, $\text{pH} = 3$. În acest caz, gruparea sau grupările active ale solutului sunt cele fenolice, eficiența extracției

fiind controlată de capacitatea acestora de a se cupla cu extractantul. Reacția interfacială, în acest caz, poate fi descrisă de echilibrul general următor:



(în care $m = 1 \div 4$, iar $n \geq m$).

- **Extracția reactivă cu adaos de 1-octanol în faza organică**

Indiferent de extractantului folosit, adăugarea 1-octanolului în solventul organic nu modifică alura dependențelor dintre eficiența extracției reactive și pH-ul fazei apoase, însă mărește gradul de extracție, efect cu atât mai pronunțat cu cât polaritatea solventului este mai redusă (figura 106).

În acest sens, comparativ cu extracția în absența 1-octanolului în solvent, prin reducerea polarității de la diclormetan la n-heptan, la valorile optime ale pH-ului corespunzătoare extracției reactive cu Amberlite LA-2 și D2EHPA, gradele de extracție au crescut cu între 1 și 14% în cazul folosirii Amberlite LA-2, respectiv cu între 1 și 12% pentru D2EHPA. Aceste diferențe se amplifică odată cu creșterea valorii pH-ului soluției apoase.

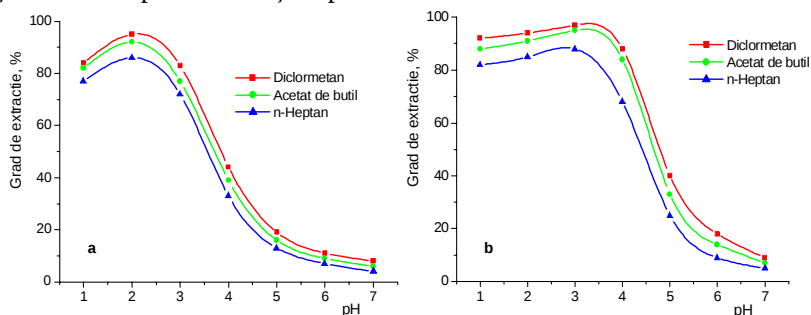


Figura 106. Influența pH-ului fazei apoase inițiale asupra eficienței extracției reactive a acidului rozmarinic cu Amberlite LA-2 (a) și D2EHPA (b) în prezența 1-octanolului (concentrația extractanți: 40 g/l, fracție volumică 1-octanol 0,1)

Pentru evidențierea efectului pozitiv al adăugării de 1-octanol, s-a reprezentat grafic variația factorului de amplificare cu pH-ul fazei apoase, pentru ambii extractanți (factorul de amplificare s-a calculat ca raportul dintre gradul de extracție al acidului rozmarinic în prezența 1-octanolului și cel obținut în condiții identice însă fără alcool). Figura 107 confirmă amplificarea acestui efect odată cu reducerea polarității solventului. Astfel, comparativ cu sistemele de extracție reactivă care nu conțin 1-octanol, pentru o fracție volumică a 1-octanolului în faza organică de 0,2 gradul de extracție al acidului rozmarinic cu Amberlite LA-2 a crescut de până la 1,4 ori în cazul utilizării diclormetanului, de 1,64 ori pentru acetatul de butil și, respectiv, de 2,48 ori pentru n-heptan. Similar, eficiența extracției reactive cu D2EHPA a crescut de până la 1,37 ori în cazul utilizării diclormetanului, de 1,87 ori pentru acetatul de butil și 2,19 ori pentru n-heptan.

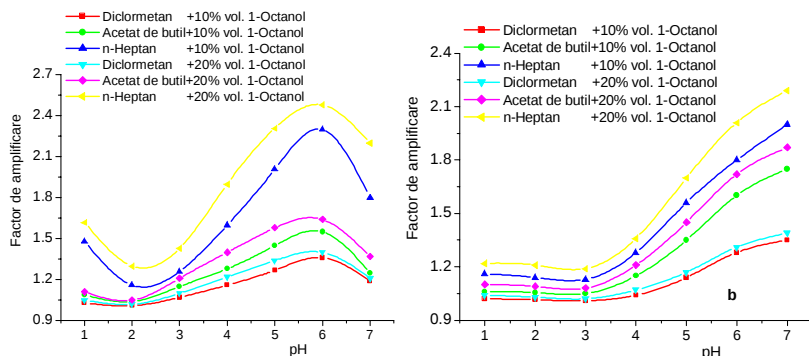


Figura 107. Influența pH-ului fazei apoase inițiale asupra factorului de amplificare pentru extracția reactivă a acidului rozmarinic cu Amberlite LA-2 (a) și D2EHPA (b) (concentrația extractanți: 40 g/l)

*
* *

Studiul separării acidului rozmarinic prin extracție reactivă cu Amberlite LA-2 și D2EHPA în trei solvenți cu polarități diferite (n-heptan, acetat de butil și diclorometan), care conțin sau nu 1-octanol, a indicat faptul că procesul decurge prin intermediul unei reacții interfaciale între solut și extractant, al cărei mecanism este controlat de natura extractantului și de polaritatea solventului.

Indiferent de solventul utilizat, randamentul maxim al extracției cu Amberlite LA-2 se atinge la pH = 2, iar al extracției cu D2EHPA la pH = 3. Eficiența celor doi extractanți este similară la valorile optime ale pH-ului, randamentele extracției cu D2EHPA fiind cu circa 4-7% superioare. Însă, mecanismele reacțiilor interfaciale prin intermediul cărora se realizează extracția reactivă diferă în funcție de tipul extractantului și de polaritatea solventului. Astfel, în cazul extracției cu Amberlite LA-2 în absența 1-octanolului, reducerea constantei dielectrice a fazei organice induce formarea aducțiilor aminici și modificarea expresiei echilibrului interfacial. Din acest motiv, structura compușilor hidrofobi interfaciali formați între acidul rozmarinic și extractantul aminic este HAE pentru diclorometan, HAE₂ pentru acetatul de butil și HAE₄ pentru n-heptan. Dacă în sistemul de extracție se adaugă 1-octanol, datorită măririi polarității fazei organice, formarea aducțiilor aminici este limitată, structura compușilor interfaciali devenind HAE pentru diclorometan și acetatul de butil, respectiv HAE₂ pentru n-heptan.

Indiferent de polaritatea solventului sau de adăugarea de 1-octanol, extracția acidului rozmarinic cu D2EHPA decurge cu formarea la interfață a unui compus interfacial de tipul HAE₂.

II.5.2. Cinetica reacțiilor interfaciale ale separării acidului rozmarinic prin extracție reactivă

Pe baza mecanismelor stabilite, studiile anterioare sunt continuate și dezvoltate prin stabilirea etapelor limitative care controlează procesul de extracție reactivă a acidului rozmarinic, a ecuațiilor cinetice care descriu viteza reacțiilor interfaciale, precum și prin determinarea valorii constantelor de viteză ale acestor reacții, în corelație cu tipul extractantului utilizat și cu polaritatea solventului.

• *Extracția reactivă cu Amberlite LA-2*

Pentru stabilirea naturii etapelor care controlează procesul global de separare prin extracție reactivă cu Amberlite LA-2 a acidului rozmarinic, s-a studiat influența turației asupra fluxurilor masice ale acidului dinspre faza apoasă către solventul organic, pentru cele două valori de pH. Rezultatele obținute pentru absența 1-octanolului în faza organică sunt reprezentate grafic în figura 110.

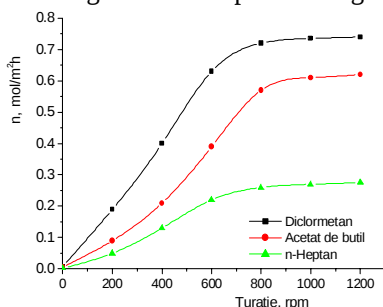


Figura 110. Influența turației asupra fluxurilor masice ale acidului rozmarinic în procesul de extracție reactivă cu Amberlite LA-2 fără 1-octanol

Pentru sistemele de extracție reactivă a acidului rozmarinic cu Amberlite LA-2, în absența 1-octanolului din faza organică, au fost calculate următoarele valori ale constantelor aparente și, respectiv, ale constantelor de viteză pentru reacțiile interfaciale:

• diclorometan

$$k_2' = 2,14 \cdot 10^{-5} \quad \text{s}^{-1} \qquad k_2 = 1,34 \cdot 10^{-4} \quad \text{l/mol.s}$$

• acetat de butil

$$k_3' = 1,22 \cdot 10^{-5} \quad \text{s}^{-1} \qquad k_3 = 4,76 \cdot 10^{-4} \quad \text{l}^2/\text{mol}^2.\text{s}$$

• n-heptan

$$k_5' = 6,11 \cdot 10^{-6} \quad \text{s}^{-1} \qquad k_5 = 9,32 \cdot 10^{-3} \quad \text{l}^4/\text{mol}^4.\text{s}$$

După cum a fost concluzionat în studiile anterioare, adăugarea 1-octanolului în solventul organic mărește eficiența extracției reactive a acidului rozmarinic cu Amberlite LA-2, efect amplificat de scăderea polarității solventului, simultan cu modificarea mecanismului reacțiilor interfaciale. În aceste circumstanțe, adăugarea 1-octanolului determină modificarea importanței relative a

rezistentelor de natură difuzională și cinetică comparativ cu sistemele de extracție fără alcool, după cum se constată din figura 113.

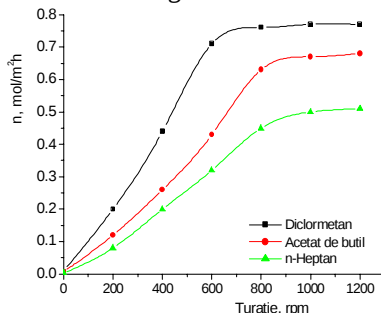


Figura 113. Influența turației asupra fluxurilor masice ale acidului rozmarinic în procesul de extracție reactivă cu Amberlite LA-2 cu 1-octanol

Pentru sistemele de extracție reactivă a acidului rozmarinic cu Amberlite LA-2, în prezența 1-octanolului din faza organică, au fost calculate următoarele valori ale constantelor aparente și, respectiv, ale constantelor de viteză pentru reacțiile interfaciale:

- diclorometan
 $k_2' = 2,17 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ $k_2 = 1,36 \cdot 10^{-4} \text{ l/mol.s}$
- acetat de butil
 $k_2' = 1,91 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ $k_2 = 1,19 \cdot 10^{-4} \text{ l}^2/\text{mol}^2.\text{s}$
- n-heptan
 $k_3' = 1,21 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ $k_3 = 4,72 \cdot 10^{-4} \text{ l}^4/\text{mol}^4.\text{s}$

• **Extracția reactivă cu D2EHPA**

După cum a fost constatat anterior, mecanismul extracției reactive a acidului rozmarinic cu D2EHPA nu este influențat de polaritatea solventului sau de prezența 1-octanolului. Similar extracției cu Amberlite LA-2, prin analiza dependenței dintre fluxurile masice ale acidului dinspre faza apoasă către solventul organic și intensitatea amestecării se poate stabili magnitudinea relativă a celor două etape limitative. Pentru sistemele de extracție fără 1-octanol, în figura 118 este prezentată corelația grafică dintre fluxurile masice și turație, pentru valoarea optimă a pH-ului, pH = 3.

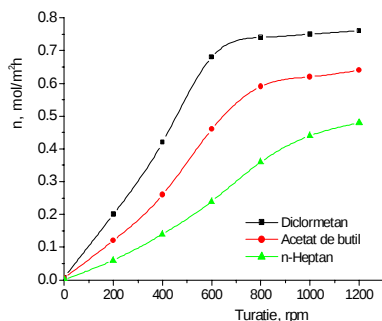


Figura 118. Influența turației asupra fluxurilor masice ale acidului rozmarinic în procesul de extracție reactivă cu D2EHPA fără 1-octanol

Adăugarea 1-octanolului în solvent nu modifică mecanismul reacției interfaciale dintre acidul rozmarinic și extractantul organofosforic, însă poate modifica importantanța relativă a rezistențelor de natură difuzională și cinetică. În acest sens, conform figurii 121, pentru solvenții cu polaritate mai redusă, se poate observa restrângerea domeniului de turații corespunzător regimului difuzional, ca rezultat al măririi solubilității compusului interfacial în faza organică. Efectul pozitiv al prezenței alcoolului nu se manifestă în cazul diclorometanului, datorită constantei dielectrice mari a acestui, comparabile cu a 1-octanolului.

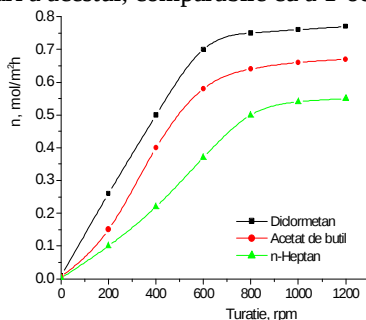


Figura 121. Influența turației asupra fluxurilor masice ale acidului rozmarinic în procesul de extracție reactivă cu D2EHPA cu 1-octanol

Figura 124 indică faptul că viteza reacțiilor interfaciale nu se modifică prin adăugarea 1-octanolului, datorită menținerii mecanismului de realizare a extracției reactive a acidului rozmarinic cu D2EHPA.

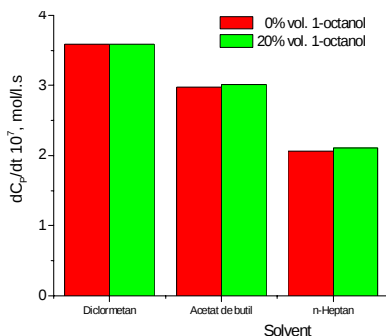


Figura 124. Valorile medii ale vitezelor reacțiilor interfaciale din sistemele de extracție cu D2EHPA fără și cu 1-octanol

*
* *

Mecanismul extracției reactive a acidului rozmarinic depinde de tipul extractantului și de polaritatea fazei organice. În cazul extracției reactive cu Amberlite LA-2, reducerea polarității solventului favorizează formarea aducțiilor aminici, fenomen mai pronunțat în cazul utilizării n-heptanului. Formarea acestor aducții mărește complexitatea reacției interfaciale dintre acid și extractant, cu efect negativ asupra vitezei acesteia. În prezența 1-octanolului, viteza reacției dintre acidul rozmarinic și Amberlite LA-2 a rămas aceeași pentru diclorometan, însă a crescut de 1,55 ori pentru acetatul de butil și s-a dublat pentru n-heptan.

Extracția cu D2EHPA decurge după același mecanism indiferent de tipul solventului sau de prezența 1-octanolului. Din acest motiv, adăugarea alcoolului nu a modificat viteza reacției interfaciale pentru un anumit solvent, aceasta fiind influențată pozitiv doar de creșterea constantei dielectrice a solventului (datorită prezenței la interfață a unor concentrații mai ridicate de reactanți, viteza de difuzie a acestora fiind mai ridicată).

Prin compararea valorilor calculate și experimentale ale vitezelor reacțiilor interfaciale dintre acidul rozmarinic și cei doi extractanți s-a observat o bună corelație între acestea, abaterile medii fiind de $\pm 5,76\%$ pentru extracția cu Amberlite LA-2, respectiv $\pm 5,03\%$ pentru extracția reactivă cu D2EHPA.

II.5.3. Studiul separării acidului rozmarinic prin pertracție facilitată

În cazul separării acidului rozmarinic, influența gradientului de pH este amplificată de ionizarea-protonarea acestui compus în cele două faze apoase și controlează eficiența extracției și reextracției, precum și viteza de transport prin membrana lichidă [163].

În absența 1-octanolului, din figura 126.a se observă că fluxul masic inițial al acidului rozmarinic crește odată cu creșterea pH-ului atinge un maxim, situat la $\text{pH}_i = 3$, după care scade. Această variație este rezultatul mecanismului de extracție reactivă a acidului rozmarinic cu D2EHPA, HP, extracție care devine posibilă în

condițiile în care grupările –OH fenolice se găsesc în faza apoasă sub formă protonată, respectiv în domeniul acid. Variațiile fluxurilor masice finale ale acidului rozmarinic cu pH-ul fazei apoase inițiale urmăresc pe cele ale fluxurilor masice inițiale, deoarece acestea sunt direct dependente de concentrația soluției extras în membrana lichidă și, implicit, reextras în faza apoasă finală (figura 126.a). Prezența modificatorului de fază, prin mărirea polarității fazei organice, extinde domeniul în care valoarea pH-ului fazei apoase inițiale manifestă un efect pozitiv asupra fluxului masic inițial până la $\text{pH}_i = 4$ (figura 126.b). Efectul se datorează solubilizării parțiale și a moleculelor disociate ale acidului rozmarinic, ceea ce determină și valori ale fluxului masic inițial mai mari comparativ cu cele obținute în sistemele de pertracție fără 1-octanol. Influența favorabilă a adăugării alcoolului în membrana lichidă se manifestă și asupra fluxurilor masice finale, însă magnitudinea acestui efect este inferioară celei înregistrate pentru fluxurile masice inițiale.

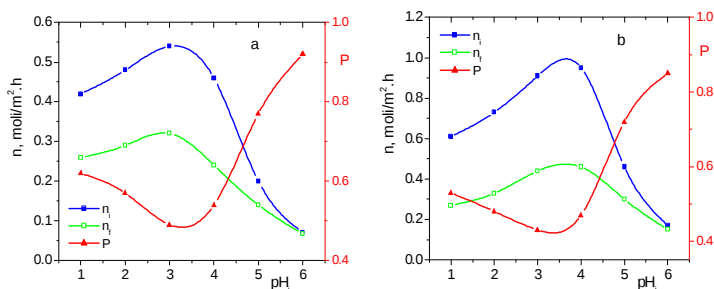


Figura 126. Influența pH-ului fazei apoase inițiale, pH_i , asupra fluxurilor masice ale acidului rozmarinic (n_i , n_f) și asupra factorului de permeabilitate (P), în absența (a) și în prezența 1-octanolului (b) ($\text{pH}_f = 2$, concentrația D2EHPA = 40 g/l, turația = 500 rpm; fracția volumică 1-octanol = 0,1)

După cum se poate observa din figura 128, creșterea valorii pH-ului fazei apoase finale determină reducerea semnificativă a fluxurilor masice inițiale și finale ale acidului rozmarinic, indiferent dacă în membrana lichidă este sau nu adăugat 1-octanolul.

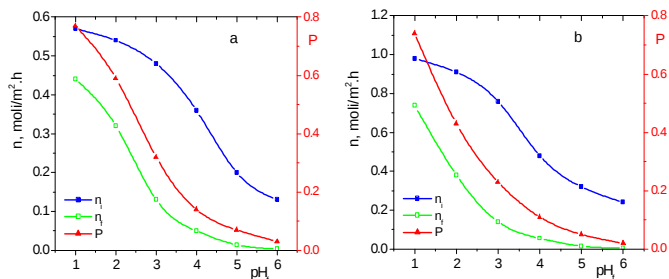


Figura 128. Influența pH-ului fazei apoase finale, pH_f , asupra fluxurilor masice ale acidului rozmarinic și asupra factorului de permeabilitate ($\text{pH}_i = 3$, concentrația D2EHPA = 40 g/l, turația = 500 rpm; fracția volumică 1-octanol = 0,1)

Această dependență dintre fluxurile masice ale acidului și valoarea pH_f se datorează reducerii capacității de reextracție în faza apoasă finală pe măsura apropierii pH -ului acestei faze de domeniul neutru. O evoluție similară o înregistrează și factorii de permeabilitate (figura 128). Valori maxime ale factorilor de permeabilitate se ating pentru domeniul puternic acid al pH -ului fazei apoase finale, pentru ambele sisteme de pertracție. Variația factorilor de permeabilitate, cumulată cu variația fluxurilor masice, prezentate în figura 128, indică faptul că pe măsura creșterii valorii pH -ului soluției apoase finale, sensul de transport al acidului rozmarinic se inversează, iar cantitatea de solut acumulată în membrana lichidă crește semnificativ.

Creșterea concentrației agentului de extracție în membrana lichidă induce o creștere atât a fluxului masic inițial, cât și a celui final (figura 130). Acest efect este rezultatul, pe de o parte, al creșterii concentrației unuia din reactanți (D2EHPA) la interfața de separare dintre faza apoasă inițială și membrana lichidă, iar pe de altă parte, a compusului extras în membrana lichidă la interfața de separare dintre faza membranei și faza apoasă finală.

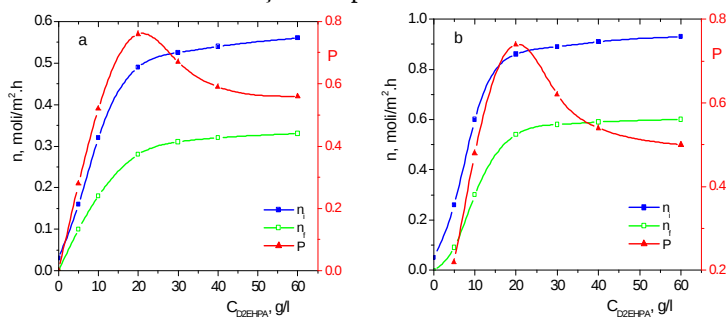


Figura 130. Influența concentrației D2EHPA asupra fluxurilor masice ale acidului rozmarinic și asupra factorului de permeabilitate ($\text{pH}_i = 3$, $\text{pH}_f = 2$, turația = 500 rpm; fracția volumică 1-octanol = 0,1)

*
* *

Studiile privind pertracția facilitată a acidului rozmarinic cu D2EHPA au evidențiat creșterea semnificativă a fluxurilor masice inițiale și finale ale acidului în prezența 1-octanolului în membrana lichidă. Comparativ cu pertracția facilitată fără adaos de 1-octanol, fluxurile masice ale acidului au fost amplificate peste 2 ori, însă magnitudinea acestui efect trebuie corelată cu valorile de pH ale celor două faze apoase, concentrația agentului purtător, intensitatea amestecării fazelor apoase și concentrația modificatorului de fază în membrana lichidă.

Însă, adăugarea 1-octanolului generează scăderea factorului de permeabilitate, deoarece viteza de extracție a acidului rozmarinic în faza membranară este mai mare decât viteza de reextracție a acidului din această fază, capacitatea de transport a sistemului de pertracție studiat fiind, astfel, limitată.

CONCLUZII GENERALE

Teza de doctorat este structurată pe două părți principale. Prima parte reprezintă e sinteză de literatură de specialitate referitoare la separarea unor acizi carboxilici prin extracție reactivă și pertracție. Cea de-a doua parte, extinsă pe circa 75% din conținutul tezei de doctorat, cuprinde studiile experimentale originale.

Pe baza studiului de literatură și a contribuțiilor originale s-au conturat următoarele concluzii:

1. Extracția reactivă prezintă avantaje superioare comparativ cu procesele alternative de extracție simultană a produșilor, constituind o etapă de separare eficientă pentru recuperarea acizilor carboxilici obținuți în urma procesului de fermentație.
2. Studiile efectuate până în prezent au indicat faptul că aminele secundare, terțiare, cuaternare și compușii organofosforici sunt cei mai folosiți agenți pentru extracția acizilor carboxilici. Dintre aceștia, aminele terțiare cu catenă lungă sunt cele mai eficiente.
3. Pertracția reprezintă o dezvoltare a extracției reactive care permite depășirea limitărilor impuse de aceasta. Astfel, pertracția oferă avantaje semnificative comparativ cu metodele convenționale de separare: reducerea timpului total necesar separării unui anumit produs, prin reunirea extracției cu reextracția, folosirea unor cantități reduse de solvenți, aceștia fiind continui regenerați, selectivități înalte, consum de energie redus și costuri de investiții scăzute,.
4. Cercetările întreprinse în domeniul pertracției au demonstrat avantajele utilizării membranelor lichide în vederea separării, individuale sau din amestecuri obținute în urma proceselor fermentative, a acizilor carboxilici.
5. Studiile experimentale au fost efectuate utilizând echipamente de concepție originală: coloana de extracție cu agitare vibratorie, celula de extracție tip Lewis, instalația de pertracție.
6. Principalele mărimi utilizate pentru descrierea cantitativă a procesului de separare sunt: randamentul separării, coeficientul de distribuție, fluxurile masice extrase (inițiale) și reextrase (finale), coeficientul de permeabilitate, factorul de selectivitate, factorul de amplificare, constanta de extracție.
7. Separarea **acidului propionic** prin extracție reactivă cu tri-n-octilamină în trei solvenți cu polarități diferite (n-heptan, diclormetan și acetat de butil), în prezența unui modificador de fază (1-octanol), a reprezentat subiectul de studiu al capitolului II.3. S-a constatat faptul că procesul decurge prin intermediul unei reacții interfaciale între solut și extractant, proces al cărui mecanism este controlat de concentrația extractantului și de polaritatea fazei organice.
8. Pe baza datelor experimentale s-au calculat valorile vitezelor reacțiilor chimice dintre acid și extractant corespunzătoare mecanismelor interfaciale propuse, observându-se buna concordanță a valorilor calculate față de cele experimentale. Abaterile medii au fost de $\pm 7,26\%$ pentru faza

- organică fără 1-octanol și $\pm 9,18\%$ pentru faza organică ce conține 1-octanol.
9. Cercetările anterioare au fost continuate cu separarea selectivă acidului propionic prin pertracție facilitată cu TOA dizolvat în diclormetan, în sisteme cu și fără 1-octanol. Studiul a indicat faptul că mecanismul și, implicit, performanța separării sunt controlate, în principal, de gradientul de pH dintre fazele apoase.
 10. Acizii acetic și succinic pot fi transferați din faza apoasă inițială prin membrana lichidă spre faza apoasă finală, în timp ce acidul propionic rămâne în faza apoasă inițială.
 11. Cea mai importantă influență asupra selectivității pertracției este manifestată de concentrația agentului purtător din interiorul membranei lichide, valoarea maximă a factorului de selectivitate fiind atinsă pentru 70 g/l TOA ($S = 25$, în condiții de $pH_i = 2$, $pH_f = 10$).
 12. Prin însumarea influențelor gradientului de pH dintre fazele apoase, a concentrațiilor agentului purtător și ale 1-octanolului asupra pertracției acizilor carboxilici obținuți prin fermentația propionică se pot înregistra factori de selectivitate cu valori mai ridicate ($S = 25$, pentru $pH_i = 2$, $pH_f = 10$).
 13. În capitolul II.4 a fost abordată separarea **acidului succinic**, individuală și din amestecul de acizi de concentrații similare celor obținute în urma fermentației *Actinobacillus succinogenes*, prin pertracție facilitată.
 14. Analiza pertracției facilitate a acidului succinic cu TOA a indicat creșterea semnificativă a fluxurilor masice inițiale și finale în prezența 1-octanolului în membrana lichidă. Comparativ cu pertracția facilitată fără adaos de alcool, fluxurile masice ale acidului au fost amplificate de până la 2,8 – 3 ori, însă magnitudinea acestui efect trebuie corelată cu gradientul de pH dintre faza apoasă inițială și faza apoasă finală, precum și cu concentrația agentului purtător din membrana lichidă.
 15. Adăugarea de 1-octanol a indus diminuarea factorului de permeabilitate datorită faptului că viteza de extracție a acidului succinic în membrana lichidă o depășește pe cea a reextracției din această fază, capacitatea de transport a sistemului de pertracție fiind limitată.
 16. Influențele au fost incluse într-un model matematic ce descrie cinetica acumulării acidului succinic în interiorul membranei lichide în timpul pertracției facilitate în regim pseudostaționar, pentru sisteme cu și fără 1-octanol. Modelul propus oferă o bună concordanță cu datele experimentale, cea mai importantă abatere fiind înregistrată la valori scăzute ale pH-ului fazei apoase inițiale, valori ridicate ale pH-ului fazei apoase finale și în prezența alcoolului în membrana lichidă.

$$P = \left(\frac{1}{1 + \frac{K_{sl}}{C_{H^+}}} \cdot \left(1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w \cdot C_i} \right) - 1 \right)^2 \cdot \left[\frac{n_M \cdot \frac{A}{V} \cdot \left(\frac{1}{1 + \frac{K_{sl}}{C_{H^+}}} \cdot \left(1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w \cdot C_i} \right) - 1 \right)}{\frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w} + C_i \cdot \left[D_i \cdot \left(1 + \frac{Q}{k_w \cdot A} \right) + \frac{Q}{k_w \cdot A} \right] \cdot \left[\frac{1}{1 + \frac{K_{sl}}{C_{H^+}}} \cdot \left(1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w} \right) - 1 \right]} \cdot t + \frac{1 + \frac{K_{sl}}{C_{H^+}}}{1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w}} \right]^{-1} - \frac{\frac{1}{1 + \frac{K_{sl}}{C_{H^+}}} \cdot \left(1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w \cdot C_i} \right) - 2}{\left(\frac{1}{1 + \frac{K_{sl}}{C_{H^+}}} \cdot \left(1 - \frac{Q}{A} \cdot \frac{C_o - C_i}{k_w \cdot C_i} \right) - 1 \right)^2}$$

17. Studiul pertracției facilitate selective a acizilor formic, acetic și succinic cu TOA din amestec a indicat faptul că acizii formic și acetic pot fi transferați din faza apoasă inițială prin membrana lichidă spre faza finală, în timp ce acidul succinic rămâne în faza inițială.
18. Concentrația agentului purtător din interiorul membranei lichide determină cea mai importantă influență asupra selectivității pertracției, factorul de selectivitate maxim fiind atins pentru 70 g/l TOA ($S = 133$, pentru $pH_i = 2$, $pH_f = 10$ și turația de 500 rpm).
19. Prin luarea în considerare a efectelor cumulate ale gradientului de pH dintre cele două faze apoase, concentrației agentului purtător și intensității amestecării, procesul de pertracție a fost descris matematic prin intermediul factorului de selectivitate. Valorile calculate cu modelul propus sunt în concordanță cu cele experimentale, deviația medie fiind de $\pm 5,22\%$:

- pentru soluțiile apoase în absența amestecării

$$S = 0.265 \cdot \frac{X^{3.234} \cdot Z^{1.98 \cdot 10^{-2}}}{e^{0.326 \cdot Y}}$$

- pentru soluțiile apoase cu amestecare

$$S = 0.772 \cdot \frac{X^{3.114} \cdot Z^{9.74 \cdot 10^{-2}}}{e^{0.618 \cdot Y} \cdot W^{0.872}}$$

20. Studiul privind extracția reactivă a **acidului rozmarinic** este prezentat în capitolul II.5. Acesta cuprinde experimentele realizate în prezența a doi agenți de extracție de natură diferită, Amberlite LA-2 și D2EHPA, dizolvați în trei solvenți de polarități diferite (diclormetan, acetat de butil și n-heptan), cu și fără 1-octanol. Procesul decurge prin intermediul unei reacții interfaciale între solut și extractant al cărei mecanism este controlat de natura extractantului și de polaritatea solventului.
21. Randamentul maxim al extracției cu Amberlite LA-2 se atinge la $pH = 2$, iar al extracției cu D2EHPA la $pH = 3$. Eficiența celor doi extractanți este similară la valorile optime ale pH -ului, randamentele extracției cu D2EHPA fiind cu circa 4-7% superioare.

22. Indiferent de polaritatea solventului sau de adăugarea de 1-octanol, extracția acidului rozmarinic (HA) cu D2EHPA (E) decurge cu formarea la interfață a unui compus interfacial de tipul HAE₂.
23. Mecanismul reacțiilor interfaciale influențează și valoarea constantei de extracție. Pentru extracția cu Amberlite LA-2, cele mai mari valori ale constantei de extracție se obțin pentru situațiile în care se formează aducții aminici. În cazul utilizării D2EHPA, creșterea polarității fazei apoase manifestă un efect pozitiv asupra constantei de extracție.
24. În cazul extracției reactive cu Amberlite LA-2, reducerea polarității solventului favorizează formarea aducțiilor aminici, fenomen mai pronunțat în cazul utilizării n-heptanului. Formarea acestor complexe mărește complexitatea reacției interfaciale dintre acid și extractant, cu efect negativ asupra vitezei acesteia. Adăugarea 1-octanolului în solvent diminuează numărul de molecule de extractant aminic care participă la reacția interfacială cu solutul, măbind, prin aceasta, viteza reacției interfaciale. Practic, în prezența 1-octanolului, viteza reacției dintre acidul rozmarinic și Amberlite LA-2 a rămas aceeași pentru diclormetan, însă a crescut de 1,55 ori pentru acetatul de butil și s-a dublat pentru n-heptan.
25. Adăugarea alcoolului nu a modificat viteza reacției interfaciale pentru un anumit solvent în cazul extracției cu D2EHPA, aceasta fiind influențată pozitiv doar de creșterea constantei dielectrice a solventului.
26. Prin compararea valorilor calculate și experimentale ale vitezelor reacțiilor interfaciale dintre acidul rozmarinic și cei doi extractanți, s-a stabilit că valoarea abaterii medii este de $\pm 5,76\%$ pentru extracția cu Amberlite LA-2, respectiv $\pm 5,03\%$ pentru extracția reactivă cu D2EHPA.
27. Studiile privind pertracția facilitată a acidului rozmarinic cu D2EHPA au evidențiat creșterea semnificativă a fluxurilor masice inițiale și finale ale acidului în prezența 1-octanolului în membrana lichidă. Comparativ cu pertracția facilitată fără adăugare de 1-octanol, fluxurile masice ale acidului au fost amplificate peste 2 ori.
Adăugarea de 1-octanol în membrana lichidă a generat scăderea factorului de permeabilitate de la 0,59 la 0,46 în cazul fluxului masic inițial, deoarece viteza de extracție a acidului rozmarinic în faza membranară este mai mare decât viteza de reextracție a acidului din această fază, capacitatea de transport a sistemului de pertracție studiat fiind, astfel, limitată.

Rezultatele cercetărilor originale din cadrul tezei de doctorat s-au concretizat prin elaborarea a **10 lucrări publicate** în reviste de specialitate, din care **9 publicate în reviste științifice cotate ISI**, **1 lucrare publicată în revistă cotate BDI**, prin **17 participări la sesiuni științifice naționale și internaționale**, precum și prin contribuții la derularea a **3 granturi de cercetare**.

I. Articole publicate

I.1. Articole publicate sau în curs de publicare în reviste cotate ISI: 9

1. **Mădălina Poștaru**, Alexandra Cârlescu, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *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
2. Anca-Irina Galaction, **Mădălina Poștaru**, Dan Cașcaval, *Kinetic study on reactive extraction of propionic acid with tri-n-octylamine*, Romanian Biotechnological Letters 2012, 17(4), 7430-7440
3. **Mădălina Poștaru**, Marius Turnea, Anca-Irina Galaction, Lenuța Kloetzer, Alexandra Blaga, Anestis Vlysidis, Colin Webb, Alexandra Cârlescu, Dan Cașcaval, *Modeling of selective pertraction of carboxylic acids produced by Actinobacillus succinogenes fermentation*, Environmental Engineering and Management 2012, 11(11), 1901-1906
4. Dan Cașcaval, **Mădălina Poștaru**, Anca-Irina Galaction, Lenuța Kloetzer, *Comparative study on facilitated pertraction of succinic acid using tri-n-octylamine with and without 1-octanol*, The Canadian Journal of Chemical Engineering 2013, 91(5), 936-943
5. Anca-Irina Galaction, **Mădălina Poștaru**, Dan Cașcaval, Lenuța Kloetzer, *Selective separation of carboxylic acids obtained by Actinobacillus succinogenes fermentation using facilitated pertraction*, Solvent Extraction and Ion Exchange 2013, 31(2), 171-183
6. Dan Cașcaval, **Mădălina Poștaru**, Anca-Irina Galaction, Lenuța Kloetzer, Alexandra Blaga, *Fractionation of carboxylic acids mixture obtained by P. acidipropionici fermentation using pertraction with tri-n-octylamine and 1-octanol*, Industrial & Engineering Chemistry Research 2013, 52 (7), 2685-2692
7. Lenuța Kloetzer, **Mădălina Poștaru**, Anca-Irina Galaction, Alexandra Cristina Blaga, Dan Cașcaval, *Comparative study on rosmarinic acid separation by reactive extraction with Amberlite LA-2 and D2EHPA 1. Interfacial reactions mechanism and influencing factors*, Industrial & Engineering Chemistry Research 2013, DOI: 10.1021/ie4023513
8. **Mădălina Poștaru**, Lenuța Kloetzer, Anca-Irina Galaction, Alexandra Cristina Blaga, Dan Cașcaval, *Comparative study on rosmarinic acid separation by reactive extraction with Amberlite LA-2 and D2EHPA 2. Kinetics of the interfacial reactions*, Environmental Engineering and Management 2013, in press
9. Anca-Irina Galaction, **Mădălina Poștaru**, Lenuța Kloetzer, Dan Cașcaval, *Facilitated pertraction of rosmarinic acid with D2EHPA and 1-octanol*, Chemical Engineering & Technology 2013, in press

I.2. Articole publicate în reviste cotate BDI: 1

1. **Mădălina Poștaru**, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *Separation of carboxylic acids by reactive extraction*, Bulletin of the Polytechnic Institute of Iași 2011, 47(3), 9-19

II. Comunicări științifice

II.1. Conferințe naționale: 6

1. **Mădălina Poștaru**, Lenuța Kloetzer, Dan Cașcaval, *Separarea acidului acetic prin extracție reactivă cu tri-n-octilamină*, Conferința Națională de Bioinginerie pentru studenți și tineri cercetători ediția a XIV-a, 19-22 mai 2011, Iași, România
2. **Mădălina Poștaru**, Alexandra Cârlescu, Alexandra Cristina Blaga, Lenuța Kloetzer, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *Studiul mecanismului separării acidului propionic prin extracție reactivă*, Zilele Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului „Materiale și procese inovative”, Universitatea Tehnică „Gh. Asachi”, ediția a VIII-a, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, 17-18 noiembrie, Iași, România
3. **Mădălina Poștaru**, Alexandra Cristina Blaga, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *Cinetica reacțiilor interfaciale ale extracției reactive a acidului propionic*, Conferința Națională de Bioinginerie pentru studenți și tineri cercetători ediția a XV-a, 17-20 mai 2012, Iași, România
4. Ionela-Bianca Mihășan, **Mădălina Poștaru**, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *Utilizarea modificatorului de fază în extracția reactivă a acidului propionic cu extractanți de diferite polarități*, Conferința Națională de Bioinginerie pentru studenți și tineri cercetători ediția a XV-a, 17-20 mai 2012, Iași, România
5. **Mădălina Poștaru**, Lenuța Kloetzer, Anca-Irina Galaction, *Pertracția selectivă a acizilor carboxilici obținuți prin fermentație propionică*, Sesiunea Științifică Studențească a Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului, 25-27 aprilie 2013, Iași, România
6. Dan Cașcaval, Anca-Irina Galaction, Alexandra Cristina Blaga, Lenuța Kloetzer, **Mădălina Poștaru**, *Procedeu de fracționare a amestecurilor de aminoacizi*, Salonul Național de Inventică CHIM-INVENT, 3-5 iulie 2013, Iași, România

II.2. Conferințe internaționale: 11

1. Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, Alexandra Cristina Blaga, **Mădălina Poștaru**, *Method for increasing the antimicrobial activity of Gentamycin*, EuroInvent, 12-14 mai 2011, Iași, România
2. **Mădălina Poștaru**, Anca-Irina Galaction, Alexandra Cârlescu, Dan Cașcaval, *Facilitated pertraction of cinnamic acids*, Conference on E-health and Bioengineering, 24-26 noiembrie 2011, Iași, România
3. **Mădălina Poștaru**, Lenuța Kloetzer, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *Study on interfacial mechanism of reactive extraction of*

- propionic acid with tri-n-octylamine with and without phase modifier*, 39th International Conference of SSCHE, Slovak Society of Chemical Engineering, 21-25 mai 2012, Tatranske Matliare, Slovakia
4. **Mădălina Poștaru**, Lenuța Kloetzer, Alexandra Cârlescu, Alexandra Cristina Blaga, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *La séparation sélective des acides carboxyliques obtenus par la fermentation actinobacillus succinogenes à l'aide de la pertraction facilitée*, Le 7ème Colloque Franco-Roumain De Chimie Appliquée, 27-29 iunie 2012, Bacău, România
 5. **Mădălina Poștaru**, Anca-Irina Galaction, Alexandra Cristina Blaga, Dan Cașcaval, *Study on influence of organic phase polarity on propionic acid extraction with Amberlite LA-2*, 20th International Congress of Chemical and Process Engineering (CHISA), 25-29 august 2012, Praga, Cehia
 6. Alexandra Cristina Blaga, **Mădălina Poștaru**, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *Selective separation of vitamin C by reactive extraction*, 15th European Congress on Biotechnology of the European Federation of Biotechnology, 23-25 septembrie 2012, Istanbul, Turcia
 7. **Mădălina Poștaru**, Marius Turnea, Anca-Irina Galaction, Lenuța Kloetzer, Alexandra Blaga, Anestis Vlysidis, Colin Webb, Alexandra Cârlescu, Dan Cașcaval, *Modeling of selective pertraction of carboxylic acids produced by Actinobacillus succinogenes fermentation*, 100th Anniversary of Faculty of Chemical Engineering and Environmental Protection, 28-30 noiembrie 2012, Iași, România
 8. **Mădălina Poștaru**, Anca-Irina Galaction, Lenuța Kloetzer, Alexandra Cristina Blaga, Dan Cașcaval, *Separarea acidului rozmarinic prin procedee neconvenționale – pertracția facilitată*, Al 11-lea Simpozion Internațional de Produse Cosmetice și Aromatizante "Cunoaștere și Creativitate în Cosmetologie", 4-7 iunie 2013, Iași, România
 9. Dan Cașcaval, Anca-Irina Galaction, Alexandra Cristina Blaga, Lenuța Kloetzer, **Mădălina Poștaru**, *Equipment for extraction and transport through liquid membranes (pertraction)*, INVENTICA, 19-21 iunie 2013, Iași, România
 10. **Mădălina Poștaru**, Lenuța Kloetzer, Anca-Irina Galaction, Dan Cașcaval, *Selective pertraction of succinic acid from mixed acids fermentation broths*, 18th Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, 4-7 septembrie 2013, Sinaia, România
 11. **Mădălina Poștaru**, Lenuța Kloetzer, Anca-Irina Galaction, Alexandra Cristina Blaga, Dan Cașcaval, *Selective pertraction of carboxylic acids obtained by P. acidipropionici fermentation*, International Scientific Conference PERMEA, 15-19 septembrie 2013, Varșovia, Polonia

III. Alte activități

Participarea în programe de cercetare-dezvoltare:

„Studii doctorale pentru performanțe europene în cercetare și inovare (CUANTUMDOC)” ID 79407, 2010 – 2013

„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 colectivul de cercetare

„Microscale downstream processing toolbox for screening and process development (MICROTOOLS) (Microinstrumente pentru analiza și dezvoltarea proceselor de bioseparare)”– grant ERA-IB, contract nr. 7-078/29.05.2013 – membru în colectivul de cercetare

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

4. D. Cașcaval, C. Oniscu, A. I. Galaction, *Inginerie chimică și biotehnologie 3. Procese de separare*, Editura Performantica, Iași, 2004
34. L. Boyadzhiev, V. Dimitrova, *Extraction and liquid membrane preconcentration of rosmarinic acid from lemon balm (Melissa Officinalis L.)*, Separation Science and Technology 2006, 41 (5), 877-886
48. F. Ozadali, B. A. Glatz, C. E. Glatz, *Fed-batch fermentation with and without on-line extraction for propionic and acetic acid production by Propionibacterium acidipropionici*, Applied Microbiology and Biotechnology 1996, 44, 710-716
56. B. C. Roy, M. J. Alam, M. Goto, *Extraction equilibrium of monocarboxylic acids in aqueous solutions by using tributyl phosphate in dodecane*, Journal of Applied Sciences 2006, 6(1), 138-143
83. Y. K. Hong, W. H. Hong, D. H. Han, *Application of reactive extraction to recovery of carboxylic acids*, Biotechnology and Bioprocess Engineering 2001, 6, 386-394
105. F. Barbirato, D. Chedaille, A. Bories, *Propionic acid fermentation from glycerol: comparison with conventional substrates*, Applied Microbiology and Biotechnology 1997, 47, 441-446
106. 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, 95-102
107. 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, 325-331
108. P. Boyaval, C. Corre, *Production of propionic acid*, Lait 1995, 75, 453-461
109. V. Goswami, A. K. Srivastava, *Propionic acid production in situ cell retention bioreactor*, Applied Microbiology and Biotechnology 2001, 56,

111. V. Ragaini, C. Pirola, A. Elli, *Separation of some light monocarboxylic acids from water in binary solutions in a reverse osmosis pilot plant*, Desalination 2004, 171, 21–23
112. H. Uslu, I. Inci, *(Liquid+liquid) equilibria of the (water+propionic acid+Aliquat 336+organic solvents) at T = 298.15 K*, Journal of Chemical Thermodynamics 2007, 39, 804-809
113. K. Wang, Z. Chang, Y. Ma, C. Lei, S. Jin, Y. Wu, I. Mahmood, C. Hua, H. Liu, *Equilibrium study on reactive extraction of propionic acid with N1923 in different diluents*, Fluid Phase Equilibria 2009, 278, 103-108
114. M. Poștaru, A. Cârlescu, A.-I. Galaction, D. Cașcaval, *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
117. A.-I. Galaction, M. Poștaru, D. Cașcaval, *Kinetic study on reactive extraction of propionic acid with tri-n-octylamine*, Romanian Biotechnological Letters 2012, 17(4), 7430-7440
118. D. Cașcaval, L. Kloetzer, A.-I. Galaction, *Influence of organic phase polarity on interfacial mechanism and efficiency of reactive extraction of acetic acid with tri-n-octylamine*, Journal of Chemical & Engineering Data 2011, 56, 2521-2526
120. D. Cașcaval, M. Poștaru, A.-I. Galaction, L. Kloetzer, A. Blaga, *Fractionation of carboxylic acids mixture obtained by P. acidipropionici fermentation using pertraction with tri-n-octylamine and 1-octanol*, Industrial & Engineering Chemistry Research 2013, 52 (7), 2685-2692
121. A.-I. Galaction, L. Kloetzer, D. Cașcaval, *Separation of p-aminobenzoic acid by reactive extraction in the presence of 1-octanol as phase modifier*, Chemical and Biochemical Engineering Quarterly 2010, 24, 149
122. J. G. Zeikus, M.K. Jain, P. Elankovan, *Biotechnology of Succinic Acid Production and Markets for Derived Industrial Products*, Applied Microbiology and Biotechnology 1999, 51, 345-352
123. H. Song, S.Y. Lee, *Production of Succinic Acid by Bacterial Fermentation*, Enzyme and Microbial Technology 2006, 39, 352-361
124. Y. P. Liu, P. Zheng, Z. H. Sun, Y. Ni, J.J. Dong, L.L. Zhu, *Economical Succinic Acid Production from Cane Molasses by Actinobacillus succinogenes*, Bioresource Technology 2008, 99, 1736-1742
125. S. K. C. Lin, C. Du, A. Koutinatis, R. Wang, C. Webb, *Substrate and Product Inhibition Kinetics in Succinic Acid Production by Actinobacillus succinogenes*, Biochemical and Engineering Journal 2008, 41, 128-135
126. R. I. Corona-Gonzalez, A. Bories, V. Gonzalez-Alvarez, C. Pelayo-Ortiz, *Kinetic Study of Succinic Acid Production by Actinobacillus succinogenes ZT-130*, Process Biochemistry 2008, 43, 1047-1053
127. M. P. Dorado, S. K. C. Lin, A. Koutinatis, C. Du, R. Wang, C. Webb, *Cereal-Based Biorefinery Development: Utilisation of Wheat Milling By-Products for the Production of Succinic Acid*, Journal of Biotechnology 2009, 143, 51-59

128. J. Li, M. Jiang, K. Chen, L. Shang, P. Wei, H.Y.Q. Ye, P. Ouyang, H. Chang, *Enhanced Production of Succinic Acid by Actinobacillus succinogenes with Reductive Carbon Source*, Process Biochemistry 2010, 45, 980-985
130. Y. K. Hong, W. H. Hong, Y.C. Chang, *Effect of pH on extraction characteristics of succinic and formic acids with tri-n-octylamine dissolved in 1-octanol*, Biotechnology Bioprocess Engineering 2001, 6, 347-351
132. K. Belafi-Bako, L. Gubicza, M. Mulder, *Integration of Membrane Processes into Bioconversions*, Kluwer Academic, New York, 2000
133. L. Kloetzer, A.-I. Galaction, D. Cașcaval, *Influence of Solvent Polarity on Interfacial Mechanism and Efficiency of Succinic Acid Reactive Extraction with tri-n-Octylamine*, Chemical Engineering Communication 2013, 200(5), 701-717
134. D. Cașcaval, M. Postaru, A.-I. Galaction, L. Kloetzer, *Comparative study on facilitated pertraction of succinic acid using tri-n-octylamine with and without 1-octanol*, The Canadian Journal of Chemical Engineering 2013, 91(5), 936-943
135. L. Kloetzer, A.-I. Galaction, D. Cașcaval, *Facilitated pertraction of p-aminobenzoic acid with Amberlite LA-2 in presence of 1-octanol*, Separation Science and Technology 2010, 45, 1440-1447
136. L. Kloetzer, A.-I. Galaction, D. Cașcaval, *Influence of solvent polarity on interfacial mechanism and efficiency of succinic acid reactive extraction with tri-n-octylamine*, Chemical Engineering Communication 2013, 200, 701-717
138. A.-I. Galaction, L. Kloetzer, D. Cașcaval, *Influence of solvent polarity on the mechanism and efficiency of formic acid reactive extraction with tri-n-octylamine from aqueous solutions*, Chemical Engineering & Technology 2011, 34, 1341-1346
139. M. Postaru, M. Turnea, A.-I. Galaction, L. Kloetzer, A. Blaga, A. Vlysidis, C. Webb, A. Cârlescu, D. Cașcaval, *Modeling of selective pertraction of carboxylic acids produced by Actinobacillus succinogenes fermentation*, Environmental Engineering and Management 2012, 11(4), 709-716
140. M. Petersen, M.S.J. Simmonds, *Rosmarinic acid*, Phytochemistry 2003, 62, 121-125
141. S. S. Huang, R. L. Zheng, *Rosmarinic acid inhibits angiogenesis and its mechanism of action in vitro*, Cancer Letters 2006, 236, 271-280
142. M. Georgiev, A. Pavlov, M. Ilieva, *Selection of high rosmarinic acid producing Lavandula vera MM cell lines*, Process Biochemistry 2006, 41, 2068-2071
143. S. U. Park, R. Uddin, H. Xu, Y. K. Kim, S. Y. Lee, *Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant*, African Journal of Biotechnology 2008, 7, 4959-4965
144. M. L. Scarpati, G. Oriente, *Isolamento e costituzione dell'acido rosmarinico (dal Rosmarinus off)*, La Ricerca Scientifica 1958, 28, 2329
145. B. Zelic, M. Hadolin, D. Bauman, D. Vasic-Racki, *Recovery and purification of rosmarinic acid from rosemary using electrodialysis*, Acta

Chimica Slovenica 2005, 52, 126-130

149. N. Erkan, G. Ayranci, E. Ayranci, *Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol*, Food Chemistry 2008, 110, 76-82
150. M. Petersen, *Cytochrome P-450-Dependent hydroxylation in the biosynthesis of rosmarinic acid in Coleus*, Phytochemistry 1997, 45, 1165–1172
151. H. Chen, F. Chen, Y.-L. Zhang, J.-Y. Song, *Production of rosmarinic acid and lithospermic acid B in Ti transformed Salvia miltiorrhiza cell suspension cultures*, Process Biochemistry 1999, 34, 777–784
152. E. Szabo, A. Thelen, M. Petersen, *Fungal elicitor preparations and methyl jasmonate enhance rosmarinic acid accumulation in suspension cultures of Coleus blumei*, Plant Cell Reports 1999, 18, 485–489
153. M. Georgiev, E. Kovacheva, N. Marcheua, M. Ilieva, *Purification of rosmarinic acid extracts from Lavandula vera MM cell biomass*, Food Chemistry 2006, 94, 111-114
158. S. Baskan, N. Oztekin, F. B. Erim, *Determination of carnosic acid and rosmarinic acid in sage by capillary electrophoresis*, Food Chemistry 2007, 101, 1748–1752
159. Lenuța Kloetzer, Mădălina Poștaru, Anca-Irina Galaction, Alexandra Cristina Blaga, Dan Cașcaval, *Comparative study on rosmarinic acid separation by reactive extraction with Amberlite LA-2 and D2EHPA 1. Interfacial reactions mechanism and influencing factors*, Industrial & Engineering Chemistry Research 2013, DOI: 10.1021/ie4023513
163. Anca-Irina Galaction, Mădălina Poștaru, Lenuța Kloetzer, Dan Cașcaval, *Facilitated pertraction of rosmarinic acid with D2EHPA and 1-octanol*, Chemical Engineering & Technology 2013, in press