



**UNIVERSITATEA TEHNICĂ  
„GHEORGHE ASACHI” DIN IAȘI**  
**ȘCOALA DOCTORALĂ**  
**FACULTATEA DE INGINERIE CHIMICĂ**  
**ȘI PROTECȚIA MEDIULUI**  
**“Cristofor Simionescu”**



**(BIO)REMEDIEREA EFLUENȚILOR  
CONTAMINAȚI CU METALE GRELE  
ÎN SISTEME CU AGITARE MECANICĂ  
ȘI PNEUMATICĂ**

**- REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT -**

**Conducător de doctorat:**  
**Prof.univ.dr.ing. MARIA GAVRILESCU**

**Doctorand:**  
**Ing. MIHAELA ROȘCA**

**IAȘI 2021**

**UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI**  
**RECTORATUL**

Către

---

---

Vă facem cunoscut că, în ziua de **02.09.2021** la ora **10<sup>00</sup>**, la adresa de web **<https://meet.google.com/oct-ryve-oxy>**, va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat intitulată:

**"(BIO)REMEDIEREA EFLUENȚILOR CONTAMINAȚI CU METALE GRELE  
ÎN SISTEME CU AGITARE MECANICĂ ȘI PNEUMATICĂ"**

elaborate de doamna ing. **ROȘCA Mihaela** în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat este alcătuită din:

1. Prof.univ.dr.habil.ing. **VOLF Irina**,  
Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași președinte
2. Prof.univ.dr.ing. **GAVRILESCU Maria**,  
Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași conducător de doctorat
3. Prof.univ.dr.ing. **CÎMPEANU Carmen Laura**,  
Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară  
din București referent oficial
4. Prof.univ.dr.ing. **GEORGESCU Lucian Puiu**,  
Universitatea "Dunărea de Jos" din Galați referent oficial
5. Conf.univ.dr.biolog. **DIACONU Mariana**,  
Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași referent oficial

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

**RECTOR,**

Prof.univ.dr.ing. **Dan CASCĂVAL**



**Secretar universitate,**

*Cristina NAGIȚ*  
**Ing. Cristina NAGIȚ**

## **MULȚUMIRI,**

*O dată cu finalizarea acestei etape din viața mea, doresc să adresez câteva cuvinte de mulțumire celor care m-au îndrumat și mi-au acordat suportul pe parcursul perioadei de realizare a tezei de doctorat.*

*În primul rând doresc să adresez cele mai calde mulțumiri conducătorului de doctorat, doamnei Prof.univ.dr.ing. Maria Gavrilescu pentru permanenta sa îndrumare, sprijinire și încurajare de-a lungul perioadei de pregătire a doctoratului și de elaborare a tezei. Mulțumesc pentru sprijinul și oportunitatea de a activa în diferite proiecte, pentru criticile constructive și încurajările calde!*

*Doresc să mulțumesc în mod deosebit doamnei Prof.dr.ing. Teresa Tavares pentru oportunitatea oferită de a face parte din colectivul de cercetare a Laboratorului de Inginerie Chimică a Centrului de Inginerie Biologică din cadrul Universității Mihno și pentru sprijinul deosebit acordat pe parcursul celor două stagii de cercetare. Mulțumesc programului Erasmus+ pentru oportunitatea oferită și sprijinul acordat în realizarea a două stagii de internship.*

*Deosebită grațitudine datorez membrilor comisiei de îndrumare: Prof.univ.dr.habil.ing. Irina Volf, Prof.univ.dr.habil.chim. Laura Bulgariu, Conf.univ.dr.biol. Mariana Diaconu, Prof.univ.dr.ing. Ioan Mămăligă pentru sfaturile științifice valoroase, cât și pentru îndrumarea pe parcursul elaborării și realizării acestei teze de doctorat.*

*Mulțumesc distinșilor referenți din Comisia de evaluare și susținere a tezei de doctorat prezidate de doamna Prof.univ.dr.habil.ing. Irina Volf, doamnei Prof.univ.dr.ing. Carmen-Laura Cîmpeanu, Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară din București, domnului Prof.univ.dr.ing. Lucian-Puiu Georgescu, Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați și doamnei Conf.univ.dr.biolog Mariana Diaconu, Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi" din Iași pentru evaluarea tezei de doctorat.*

*Sincere mulțumiri adresez tuturor cadrelor didactice de la Departamentul Ingineria și Managementul Mediului din cadrul Facultății de Inginerie Chimică și Protecția Mediului „Cristofor Simionescu” care au contribuit în mod direct la formarea mea profesională.*

*Mulțumesc actualilor și foștilor colaboratori care au contribuit la inițierea și dezvoltarea cunoștințelor mele și în mod deosebit doamnei conf.dr.biolog Mariana Diaconu, domnișoarei șef lucrări dr.ing. Raluca-Maria Hlihor, doamnei asistent univ.dr.ing. Petronela Cozma și doamnei șef lucrări dr.biol. Camelia Smaranda. Adresez alese mulțumiri grupului de cercetare Ingineria Proceselor Chimice și Biologice din Departamentul Ingineria și Managementul Mediului și colectivului Laboratorului de Inginerie Chimică a Centrului de Inginerie Biologică din cadrul Universității Mihno pentru prietenia și sprijinul acordat.*

*Mulțumesc în mod deosebit părinților și surorii mele pentru sprijinul, înțelegerea și încurajările oferite de-a lungul întregii vieți.*

***Dedic această teză de doctorat părinților mei, cu toată dragostea și recunoștința!***

***Iași, Septembrie 2021***

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE.....</b>	<b>1</b>
<b>Capitolul 1.</b>	
<b>STADIUL CERCETĂRIILOR PRIVIND BIOREMEDIEREA EFLUENȚILOR LICHIZI POLUAȚI CU METALE GRELE .....</b>	<b>11</b>
<b>1.1. Prezența metalelor grele în mediu.....</b>	<b>11</b>
<b>1.2. Metale grele cu toxicitate ridicată.....</b>	<b>12</b>
1.2.1. Cadmiul.....	12
1.2.2. Cromul.....	13
<b>1.3. Poluarea apelor cu metale grele.....</b>	<b>15</b>
1.3.1. Prezența cadmiului în apă.....	16
1.3.2. Prezența cromului în apă.....	18
<b>1.4. Metode de eliminare a metalelor grele din soluții apoase.....</b>	<b>21</b>
1.4.1. Metode convenționale.....	21
1.4.2. Metode biologice de eliminare a metalelor grele din efluenții lichizi.....	23
<b>1.5. Mecanisme prin care microorganismele rețin metale grele.....</b>	<b>25</b>
<b>1.6. Potențialul microorganismelor de a reține metalele grele prin     procese de biosorbție și bioacumulare.....</b>	<b>29</b>
1.6.1. Bacteriile și potențialul acestora de a reține metalele grele din mediu.....	29
1.6.2. Potențialul fungilor de a reține metalele grele din mediu.....	32
<b>1.7. Factorii care afectează procesul de biosorbție a metalelor grele.....</b>	<b>34</b>
<b>1.8. Modelarea procesului de biosorbție.....</b>	<b>36</b>
1.8.1. Modele de izoterme de adsorbție aplicate pentru analiza procesului de biosorbție.....	36
1.8.2. Modelarea cinetică a procesului de biosorbție.....	40
<b>1.9. Modelarea empirică și optimizarea procesului de biosorbție/bioacumulare a metalelor grele.....</b>	<b>41</b>
<b>CONCLUZII.....</b>	<b>45</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>47</b>
<b>Capitolul 2.</b>	
<b>STADIUL CERCETĂRIILOR ÎN DOMENIUL APLICĂRII CONTACTOARELOR CU STRAT FIX, CU AGITARE MECANICĂ ȘI PNEUMATICĂ ÎN PROTECȚIA MEDIULUI .....</b>	<b>57</b>
<b>2.1. Bioreactoarele și utilizarea acestora în protecția mediului.....</b>	<b>57</b>

<b>2.2. Bioreactoare cu strat fix</b> .....	<b>60</b>
2.2.1. Particularități constructive și funcționale ale bioreactoarelor cu strat fix.....	<b>60</b>
2.2.2. Caracteristici hidrodinamice ale bioreactoarelor cu strat fix.....	<b>62</b>
2.2.3. Transferul de masă.....	<b>63</b>
2.2.4. Căderea de presiune în bioreactoarele cu strat fix.....	<b>64</b>
2.2.5. Utilizarea reactoarelor FXBs pentru depoluarea fluxurilor lichide.....	<b>65</b>
<b>2.3. Bioreactoare cu agitare mecanică</b> .....	<b>67</b>
2.3.1. Particularități constructive și funcționale ale bioreactoarelor cu agitare mecanică.....	<b>67</b>
2.3.2. Curgerea fluidului și amestecarea fazelor în STBR.....	<b>69</b>
2.3.3. Consumul specific de putere pentru amestecarea fazelor.....	<b>72</b>
2.3.4. Transferul de oxigen și consumul acestuia în mediile de cultură a microorganismelor.....	<b>73</b>
2.3.5. Transferul de căldură.....	<b>75</b>
2.3.6. Utilizarea reactoarelor STBR pentru decontaminarea fluxurilor lichide.....	<b>76</b>
<b>2.4. Bioreactoare cu agitare pneumatică</b> .....	<b>77</b>
2.4.1. Particularități constructive și funcționale ale reactoarelor gaz- lift (ALRs).....	<b>78</b>
2.4.2. Hidrodinamica și regimul de curgere a fluidului în ALRs.....	<b>80</b>
2.4.3. Transferul de masă în reactoarele gaz-lift.....	<b>85</b>
2.4.4. Utilizarea reactoarelor ALRs pentru decontaminarea fluxurilor lichide.....	<b>86</b>
<b>CONCLUZII</b> .....	<b>87</b>
<b>BIBLIOGRAFIE</b> .....	<b>88</b>
<b>Capitolul 3.</b>	
<b>METODOLOGIA UTILIZATĂ ÎN STUDIILE EXPERIMENTALE</b> .....	<b>97</b>
<b>3.1. Scopul și importanța studiului</b> .....	<b>97</b>
<b>3.2. Obținere biosorbenților și pregătirea materialelor</b> .....	<b>98</b>
3.2.1. Prepararea biosorbenților din biomasa neviabilă a microorganismelor.....	<b>98</b>
3.2.1. Prepararea biomasei neviabile pentru studiile de biosorbție a ionilor de Cd <sup>2+</sup> și Cr <sup>6+</sup> .....	<b>98</b>
3.2.3. Pregătirea microorganismelor pentru studiile de eliminare a ionilor de Cd <sup>2+</sup> și Cr <sup>6+</sup> de către biomasa viabilă.....	<b>99</b>
<b>3.3. Prepararea și analiza soluțiilor apoase ale ionilor metalici         studiați</b> .....	<b>99</b>
<b>3.4. Metodologia experimentală aplicată în studiile de reținere a         ionilor metalici în sistem discontinuu</b> .....	<b>102</b>

3.4.1. Metodologia experimentală utilizată pentru selecția biosorbenților.....	103
3.4.2. Biosorbția ionilor metalici de către biomasa neviabilă a bacteriei <i>B. megaterium</i> și drojdiei <i>Rhodotorula</i> sp.....	103
3.4.3. Reținerea ionilor metalici de către biomasa viabilă a bacteriei <i>B. megaterium</i> și drojdiei <i>Rhodotorula</i> sp.....	106
3.4.4. Cuantificarea performanțelor proceselor de biosorbție și bioacumulare.....	110
3.4.5. Modelarea termodinamică a proceselor de biosorbție și bioacumulare.....	110
3.4.6. Modelarea cinetică a procesului de biosorbție.....	112
<b>3.5. Metodologia aplicată pentru reținerea ionilor metalici de către biofilmul de microorganisme imobilizat pe suport de zeolit 13X.....</b>	<b>114</b>
<b>3.6. Metodologia experimentală aplicată pentru reținerea ionilor de cadmiu în bioreactorul cu agitare mecanică.....</b>	<b>116</b>
<b>3.7. Metodologia experimentală aplicată pentru reținerea ionilor de Cd<sup>2+</sup> în bioreactorul gaz-lift.....</b>	<b>118</b>
<b>3.8. Analiza statistică a rezultatelor și evaluarea procesului de biosorbție și bioacumulare a metalelor grele în bioreactoare.....</b>	<b>120</b>
<b>3.9. Metode utilizate pentru caracterizarea biosorbenților utilizați.....</b>	<b>121</b>
3.9.1. Caracterizarea biosorbenților prin spectroscopie IR.....	122
3.9.2. Determinarea punctului de sarcină zero (pHpzc).....	122
3.9.3. Analiza biosorbenților prin microscopie electronică cuplată cu spectrometria de dispersie cu raze X.....	123
<b>CONCLUZII.....</b>	<b>123</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>124</b>
<b>Capitolul 4.</b>	
<b>ELIMINAREA IONILOR DE CADMIU ȘI CROM HEXAVALENT DIN SOLUȚII APOASE PRIN UTILIZAREA UNOR SPECII DE MICROORGANISME ÎN SISTEM DISCONTINUU.....</b>	<b>127</b>
4.1. Scopul și importanța cercetării.....	127
4.2. Biosorbția cadmiului de către biomasa neviabilă a microorganismelor selectate.....	128
4.3. Biosorbția ionilor Cd <sup>2+</sup> și Cr <sup>6+</sup> din soluții apoase de către biomasa neviabilă a bacteriei <i>Bacillus megaterium</i> și drojdiei <i>Rhodotorula</i> sp.....	132
4.3.1. Influența pH-ului asupra reținerii Cd <sup>2+</sup> și Cr <sup>6+</sup> .....	132
4.3.2. Influența dozei de biosorbent asupra reținerii Cd <sup>2+</sup> și Cr <sup>6+</sup> .....	136
4.3.3. Influența timpului de contact asupra reținerii ionilor de Cd <sup>2+</sup> și Cr <sup>6+</sup> .....	137

4.3.4. Influența concentrației inițiale a ionului metalic asupra reținerii ionilor de $Cd^{2+}$ și $Cr^{6+}$ .....	140
4.3.5. Influența temperaturii asupra reținerii ionilor de $Cd^{2+}$ și $Cr^{6+}$ .....	142
<b>4.4. Echilibrul sorbției și modelarea izotermelor de adsorbție.....</b>	<b>144</b>
<b>4.5. Modelarea cinetică a proceselor de biosorbție.....</b>	<b>150</b>
<b>4.6. Reținerea ionilor de <math>Cd^{2+}</math> și <math>Cr^{6+}</math> din soluții apoase de către biomasa viabilă a bacteriei <i>Bacillus megaterium</i> și a drojdiei <i>Rhodotorula</i> sp.....</b>	<b>156</b>
4.6.1. Influența pH-ului asupra dezvoltării biomasei și a bioacumulării ionilor metalici.....	156
4.6.2. Influența concentrației inițiale asupra dezvoltării biomasei și a bioacumulării ionilor metalici.....	157
4.6.3. Influența timpului de contact asupra bioacumulării ionilor metalici.....	161
<b>4.7. Caracterizarea fizico-chimică a biosorbenților utilizați în biosorbție/bioacumulare.....</b>	<b>163</b>
4.7.1. Spectrele IR ale biosorbenților neviabili și viabili utilizați.....	163
4.7.2. Determinarea punctului izoelectric.....	168
4.7.3. Analiza SEM a biosorbenților.....	170
4.7.4. Analiza EDX a biosorbenților.....	173
<b>CONCLUZII.....</b>	<b>175</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>179</b>
 <b>Capitolul 5.</b>	
<b>STUDII PRIVIND ELIMINAREA IONILOR DE CADMIU ȘI CROM ÎN COLOANĂ CU STRAT FIX UTILIZÂND MICROORGANISMELE <i>Bacillus megaterium</i> ȘI <i>Rhodotorula</i> sp. IMOBILIZATE PE ZEOLIT 13X</b>	
<b>5.1. Scopul și importanța cercetării.....</b>	<b>183</b>
<b>5.2. Caracterizarea suportului folosit pentru imobilizarea microorganismelor.....</b>	<b>184</b>
<b>5.3. Reținerea ionilor de <math>Cd^{2+}</math> din medii apoase de către celulele microbiale imobilizate pe suportul de zeolit 13X.....</b>	<b>187</b>
5.3.1. Reținerea ionilor de $Cd^{2+}$ de către celulele bacteriei <i>B. megaterium</i> .....	187
5.3.2. Reținerea ionilor de $Cd^{2+}$ de către celulele drojdiei <i>Rhodotorula</i> sp.....	192
<b>5.4. Reținerea ionilor de <math>Cr^{6+}</math> de către celulele microorganismelor imobilizate pe suportul de zeolit 13X.....</b>	<b>193</b>
<b>5.5. Caracterizarea fizico-chimică a suportului de zeolit cu și fără biofilm după reținerea ionilor metalici.....</b>	<b>195</b>
5.5.1. Spectrele IR ale suportului de zeolit cu și fără biofilm după reținerea ionilor metalici.....	195

5.5.2. Analize SEM și EDX ale suportului de zeolit cu și fără biofilm după reținerea ionilor metalici.....	197
<b>CONCLUZII</b> .....	<b>200</b>
<b>BIBLIOGRAFIE</b> .....	<b>202</b>

## Capitolul 6.

<b>STUDII PRIVIND REȚINEREA IONILOR DE Cd<sup>2+</sup> ÎN BIOREACTOARE CU AGITARE MECANICĂ ȘI PNEUMATICĂ UTILIZÂND BACTERIA <i>Bacillus megaterium</i> ÎN SUSPENSIE</b> .....	<b>206</b>
6.1.Scopul și importanța cercetării.....	206
6.2.Analiza performanțele privind reținerea ionilor de Cd <sup>2+</sup> prin biosorbție și bioacumulare de către bacteria <i>B. megaterium</i> aflată în suspensie în bioreactorul cu agitare mecanică.....	209
6.2.1.Influența vitezei de rotație a agitatorului asupra eficienței procesului de biosorbție-bioacumulare a ionilor de Cd <sup>2+</sup> .....	210
6.2.2.Influența debitului de aer asupra eficienței procesului de bioacumulare a ionilor de Cd <sup>2+</sup> .....	212
6.2.3.Influența concentrației inițiale a ionilor în soluție asupra eficienței procesului de biosorbție-bioacumulare a ionilor de Cd <sup>2+</sup> .....	214
6.3.Performanțele bacteriei <i>B. megaterium</i> aflată în suspensie de a bioacumula ionii de Cd <sup>2+</sup> în bioreactorul gaz-lift.....	218
6.3.1.Influența debitului de aer asupra eficienței procesului de biosorbție-bioacumulare a ionilor de Cd <sup>2+</sup> în bioreactorul gaz-lift.....	220
6.3.2.Influența concentrației inițiale a ionilor în soluție asupra eficienței procesului de biosorbție-bioacumulare a ionilor de Cd <sup>2+</sup> în bioreactorul gaz-lift.....	222
6.3.3.Caracterizarea fizico-chimică a biomasei după reținerea ionilor metalici în bioreactorul ALR.....	224
<b>CONCLUZII</b> .....	<b>225</b>
<b>BIBLIOGRAFIE</b> .....	<b>227</b>

## CAPITOLUL 7.

<b>MODELAREA MATEMATICĂ EMPIRICĂ PENTRU DESCRIEREA ȘI OPTIMIZAREA POTENȚIALULUI DE ELIMINARE A IONILOR METALICI ÎN BIOREACTOARE</b> .....	<b>231</b>
7.1.Scopul și importanța cercetării.....	231
7.2.Evaluarea factorilor relaționați cu configurația și modul de funcționare a bioreactoarelor și modelarea matematică a rezultatelor prin analiză de regresie .....	234
7.2.1. Reținerea ionilor de Cd <sup>2+</sup> în coloanele cu strat fix.....	234



7.2.2. Reținerea ionilor de Cd <sup>2+</sup> în bioreactorul cu agitare mecanică...	246
7.2.3. Reținerea ionilor de Cd <sup>2+</sup> în bioreactorul gaz-lift.....	254
<b>7.3. Optimizarea proceselor de reținere a ionilor de Cd<sup>2+</sup> în bioreactoare.....</b>	<b>259</b>
7.3.1. Optimizare procesului de reținere a ionilor de Cd <sup>2+</sup> în coloana cu strat fix.....	261
7.3.2. Optimizare reținerii ionilor de Cd <sup>2+</sup> în bioreactorul cu agitare mecanică.....	264
7.3.3. Optimizare reținerii ionilor de Cd <sup>2+</sup> în bioreactorul de tip gaz-lift.....	266
<b>CONCLUZII.....</b>	<b>268</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>272</b>
<b>CAPITOLUL 8.</b>	
<b>ANALIZA COSTURILOR PROCESELOR DE REȚINERE A IONILOR METALICI ÎN BIOREACTOARE.....</b>	<b>275</b>
8.1. Scopul și importanța cercetării.....	275
8.2. Inventarul materialelor folosite și a consumurilor pentru reținerea ionilor de Cd <sup>2+</sup> .....	276
8.3. Costuri ale proceselor de reținere a ionilor de Cd <sup>2+</sup> prin biosorbție-bioacumulare în bioreactoare.....	281
<b>CONCLUZII.....</b>	<b>284</b>
<b>BIBLIOGRAFIE.....</b>	<b>286</b>
<b>CONCLUZII GENERALE.....</b>	<b>288</b>
<b>ANEXA 1. ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ.....</b>	<b>301</b>
<b>ANEXA 2. LISTA FIGURILOR.....</b>	<b>317</b>
<b>ANEXA 3. LISTA TABELELOR.....</b>	<b>325</b>

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

## INTRODUCERE

Metalele grele sunt considerate a fi printre cei mai importanți poluanți ai mediului acvatic din cauza abundenței, bioacumulării ușoare, persistenței și toxicității acestora. Deși există multe surse de contaminare a apei, industrializarea și urbanizarea sunt sursele care au contribuit cel mai mult la contaminarea resurselor de apă cu metale grele (Masindi și Muedi, 2018). La nivel European, conform bazei de date a Registrului European al Poluanților Emiși și Transferați (E-PRTR), activitățile industriale care eliberează în apă cele mai mari cantități de metale grele sunt: sectorul energetic, industria minieră, industria procesării și producției de metale, epurarea apelor uzate urbane, industria fabricării hârtiei și cartonului, industria chimică și altele. Aceste activități industriale au descărcat în 2017 în râurile Europei, 1895 tone de zinc, 911 tone de cupru, 834 tone de crom total, 260 tone de nichel, 86,4 tone de plumb, 70,1 tone de arsen, 13,9 tone de cadmiu și 3,78 tone de mercur (E-PRTR, 2020). Odată ajunse în apă, majoritatea acestor metale ajung să se acumuleze în sol și sedimentele corpurilor de apă, se propagă de-a lungul lanțului trofic, provocând efecte negative asupra tuturor formelor de viață (Namieśnik și Rabajczyk, 2010).

Îndepărtarea și recuperarea acestora din apele uzate industriale reprezintă cele mai importante alternative ce pot fi aplicate pentru a reduce poluarea apelor cu metale grele și implicit a riscurilor acestora asupra sănătății umane. Pentru îndepărtarea ionilor metalici din soluțiile apoase au fost elaborate și dezvoltate tehnologii care au la bază procese fizice, fizico-chimice, chimice sau biologice (Gavrilescu, 2004, Roșca și colab., 2019). S-a dovedit că biosorbția și bioacumularea pot fi aplicate eficient pentru îndepărtarea metalelor grele chiar și la concentrații mai mici de 100 mg/L (Gavrilescu, 2004, 2010).

Biosorbentii de origine biologică, precum bacteriile, ciupercile, alge și plante mari, sunt din ce în ce mai studiați pentru îndepărtarea compușilor toxici, inclusiv a metalelor grele (Bulgariu și Gavrilescu, 2015; Diaconu et al., 2013). Microorganismele reprezintă o resursă promițătoare, în mare măsură neexploatarea încă pentru noile biotehnologii. Cele mai utilizate microorganisme pentru reținerea metalelor grele sunt bacteriile și ciupercile, care pot fi utilizate atât în stare viabilă cât și neviabilă (Gavrilescu, 2004; 2010; Hlihor și colab., 2017). Pentru exploatarea acestor procese este important realizarea la nivel de laborator a unor studii pentru a înțelege mecanismul de reținere a ionilor de metal din soluții apoase de către

microorganisme în funcție de variația factorilor biotici și abiotici care ar putea afecta procesele (Hlihor, 2012).

Necesitatea utilizării pe scară largă a microorganismelor a condus la conceperea și dezvoltarea unor reactoare (bioreactoare) care să fie în măsură să asigure culturilor de microorganisme un mediu controlat și condițiile optime necesare pentru creșterea și dezvoltarea eficientă (condiții hidrodinamice, biologice și fizico-chimice), în vederea atingerii scopurilor propuse (Jossen și colab., 2017; Tekere, 2019). În acest context se poate realiza depoluarea fluxurilor gazoase și lichide, precum și a unor solide prin exploatarea eficientă a sistemelor biologice în bioreactoare selectate astfel încât să asigure condițiile ambientale pentru desfășurarea cu succes a bioprocесelor (Cozma și Gavrilăscu, 2010, 2012; Gavrilăscu, 2004; Gavrilăscu și Macoveanu, 1999, 2000). Utilizarea bioreactoarelor în bioremediere reprezintă o alternativă foarte atractivă întrucât în interiorul acestora pot fi controlați parametrii critici ai procesului, astfel încât bioremedierea să se desfășoare în condițiile optime (Gavrilăscu și Chisti, 2005; Tekere, 2019).

De asemenea, transpunerea tehnologiei de la scară de laborator la scară industrială implică modelarea matematică a datelor obținute în laborator sau la scară de micropilot (Narayani și Shetty, 2013). Aplicarea modelelor adecvate poate sprijini înțelegerea mecanismelor procesului, analizarea datelor experimentale, precizarea răspunsurilor în funcție de condițiile operaționale și optimizarea proceselor. Astfel, utilizarea modelelor matematice pentru predicția capacității de reținere poate fi utilă în compararea punctelor forte și în proiectarea proceselor de biosorbție (Abdi și Kazemi, 2015). Modelele matematice se bazează pe diferite concepte teoretice și atunci când sunt aplicate pe datele experimentale ar trebui ca acestea să fie în concordanță cu un model. Aceste modele oferă informații despre cinetica procesului, capacitatea maximă de biosorbție și termodinamică (Bulgariu și colab., 2015; Gavrilăscu, 2004)

Pe baza acestor considerente a fost formulat **obiectivul principal al prezentei teze de doctorat** și au fost stabilite **obiectivele specifice**.

Prezenta teză de doctorat intitulată “**(BIO)REMEDIEREA EFLUENȚILOR CONTAMINATE CU METALE GRELE ÎN SISTEME CU AGITARE MECANICĂ ȘI PNEUMATICĂ**” are ca obiectiv principal *studiul condițiilor de desfășurare a proceselor de biosorbție și bioacumulare a ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  din soluții apoase de către microorganisme, în trei tipuri de bioreactoare (cu strat fix, cu agitare mecanică și amestecare pneumatică), în conformitate cu nevoile de*

***remediere a fluxurilor lichide contaminate și de evaluare a performanțelor proceselor cu ajutorul modelelor statistice, în vederea optimizării acestora.***

Atingerea obiectivului principal al cercetării implică îndeplinirea următoarelor **obiective specifice**:

- analiza critică a stadiul cercetărilor privind bioremedierea efluenților lichizi poluați cu metale grele și identificarea unor lacune în cunoașterea actuală;

- selectarea și caracterizarea microorganismelor și a ionilor metalelor grele ce trebuie îndepărtate din efluenții poluați;

- selectarea unor sisteme de contactare a sistemelor eterogene (gaz)-lichid-solid pentru creșterea eficienței de reținere a ionilor metalici de către microorganisme prin biosorbție și bioacumulare;

- stabilirea metodologiilor și metodelor de investigare, analiză și prelucrare a datelor experimentale;

- studii experimentale pentru eliminarea ionilor de cadmiu și crom hexavalent din soluții apoase prin utilizarea unor specii de microorganisme în sistem discontinuu (factori de influență, echilibrul sorbției și modelarea izotermelor de adsorbție, modelare cinetică);

- studii privind eliminarea ionilor de cadmiu și crom în coloană cu strat fix utilizând microorganismele *Bacillus megaterium* și *Rhodotorula* sp. imobilizate pe zeolit **13X**

- studii privind reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$  în bioreactoare cu agitare mecanică și pneumatică utilizând bacteria *Bacillus megaterium* în suspensie;

- modelarea matematică empirică pentru descrierea și optimizarea potențialului de eliminare a ionilor metale grele în bioreactoare și stabilirea unor premise pentru simulare și transpunere la scară;

- analiza costurilor implicate în procesele de reținere a ionilor metalici în bioreactoare și implicații asupra transpunerii la scară mare;

- formularea de concluzii și recomandări în vederea dezvoltării și aplicării procesului de biosorbție-bioacumulare pentru eliminarea unor ioni ai metalelor grele din efluenți industriali utilizând în mod durabil, diverse microorganisme (bacterii, fungi) în diverse tipuri de contactoare, altele decât coloanele convenționale cu strat fix, cu potențial sporit de transpunere la scară.

Pentru îndeplinirea obiectivelor propuse, teza de doctorat a fost structurată în două părți principale formate din opt capitole, urmate de concluziile generale și anexe.

**Partea întâi** este constituită din primele trei capitole și cuprinde informații privind stadiul actual al cercetărilor științifice cu privire la

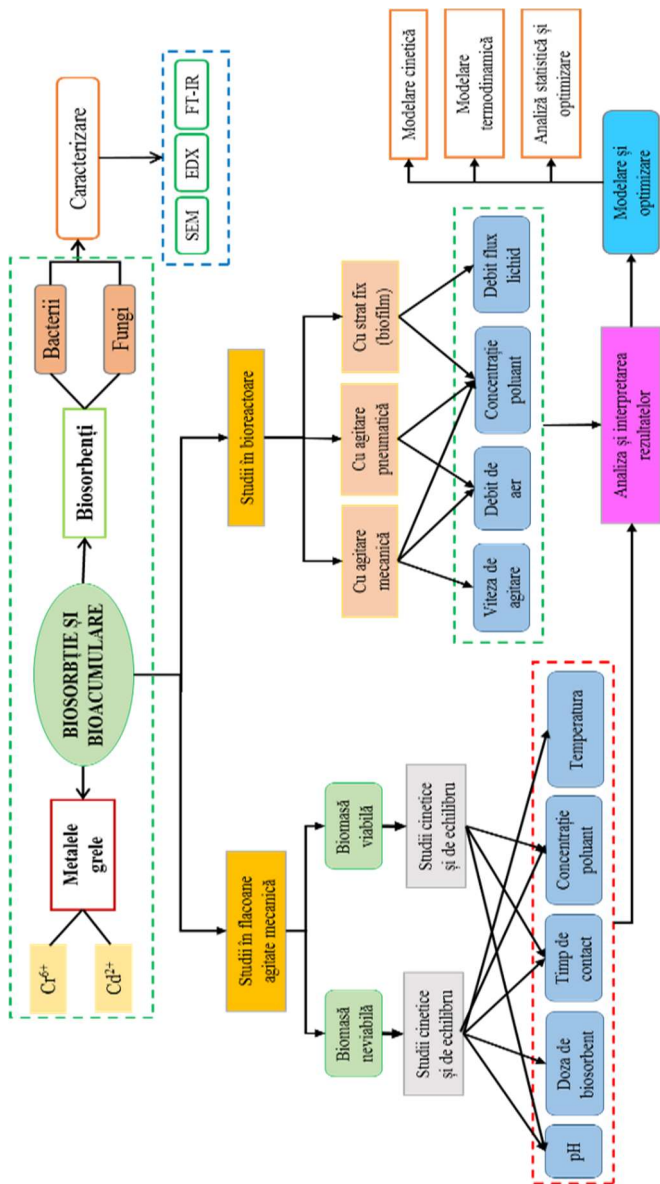
bioremedierea efluențelor lichide poluate cu metale grele de către microorganismele, aplicabilitatea acestor procese în bioreactoare cu diferite configurații, precum și materialele și metodele de cercetare aplicate pentru îndeplinirea obiectivelor propuse.

**A doua parte** a tezei de doctorat este structurată pe cinci capitole și cuprinde contribuțiile originale referitoare la biosorbția și bioacumularea ionilor de cadmiu și crom hexavalent de către speciile microbiene *Bacillus megaterium* și *Rhodotorula* sp. în flacoane cu agitare orbitală și trei tipuri de bioreactoare (cu agitare mecanică, cu agitare pneumatică și cu strat fix) în funcție de o serie de factori de influență.

**În fig. I este prezentată schematic metodologia experimentală utilizată pentru studiul biosorbției și bioacumulării ionilor metalici considerați din soluții apoase în bioreactoare cu diferite configurații.**

Activitatea de cercetare pentru elaborarea tezei de doctorat a început la data de 1 octombrie 2014 în cadrul Universității Tehnice "Gheorghe Asachi" din Iași, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului „Cristofor Simionescu”, Departamentul Ingineria și Managementul Mediului. Studiile prevăzute în cadrul programului experimental s-au realizat în cadrul Laboratorului de Ingineria Proceselor Chimice și Biologice din Departamentul Ingineria și Managementul Mediului - Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului „Cristofor Simionescu” și în cadrul Laboratorului de Inginerie Chimică al Centrului de Inginerie Biologică de la Universitatea Minho, Braga, Portugalia, pe parcursul a două stagii de plasament susținute de Programul ERASMUS+ (februarie – iunie 2016 și februarie – iunie 2017).

**Rezultatele obținute în prezenta teză de doctorat constituie baza științifică pentru evaluarea fezabilității tehnice, economice și în ceea ce privește protecția mediului a proceselor de biosorbție și bioacumularea a ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  aplicate în bioreactoare cu strat fix, cu agitare mecanică și de tip gaz-lift la scară pilot și/sau industrială.**



**Fig. 1.** Metodologia experimentală utilizată pentru studiul biosorbției și bioacumulării ionilor metalici considerați din soluții apoase în bioreactoare cu diferite configurații

## **Capitolul 1.**

### **STADIUL CERCETĂRILOR PRIVIND BIOREMEDIEREA EFLUENȚILOR LICHIZI POLUAȚI CU METALE GRELE**

#### *1.1. Prezența metalelor grele în mediu*

Metalele sunt elemente naturale ce se găsesc în scoarța terestră și sunt utilizate în numeroase domenii de activitate, iar extracția și utilizarea acestora au dus la contaminarea tuturor componentelor de mediu cu aceste elemente. Poluarea mediului cu metale grele provine preponderent din surse antropice și a devenit o problemă majoră, generată de funcționarea nesustenabilă a sistemelor de producție care produc sau utilizează metale grele și de monitorizarea insuficientă a sistemelor de epurare a efluențelor lichizi, a instalațiilor de tratare a efluențelor gazoase, de managementul deficitar al deșeurilor (Masindi și Muedi, 2018; Rajeswari și Sailaja, 2014)

#### *1.2. Metale grele cu toxicitate ridicată*

##### *1.2.1. Cadmiul*

Cadmiul este prezent în mod natural în scoarța terestră, fiind al 67-lea cel mai abundent element (Odobasic, 2012). Expunerea acută la cantități ridicate de cadmiu provoacă greață, vărsături, dureri abdominale, crampe musculare, tulburări senzoriale, leziuni hepatice, convulsii, șoc și insuficiență renală. În cazul expunerii cronice, cadmiul pătruns în organismul uman cauzează leziuni severe la multiple organe, precum plămânii, rinichii, creierul și chiar placenta, dar afectează și sistemul osos, sistemul cardio-vascular, sistemul nervos central, glandele endocrine și poate provoca cancer (Godt și colab., 2006; Järup și colab., 1998).

##### *1.2.2. Cromul*

Cromul se găsește în mod natural în scoarța terestră în minereul cromit, sub starea de oxidare 3+ ( $\text{Cr}^{3+}$ ). Acest metal greu poate avea mai multe stări de oxidare (între -2 și +6), dar în mediul înconjurător acesta este stabil doar sub formă elementală ( $\text{Cr}^0$ ), de crom trivalent ( $\text{Cr}^{3+}$ ) și hexavalent ( $\text{Cr}^{6+}$ ), care au comportamente diferite din punctul de vedere al toxicității și mobilității în mediu (Daulton și Little, 2006). Eliberarea acestuia în mediu din sursele antropice poate genera probleme severe atât pentru mediul înconjurător cât și pentru sănătatea umană, efectele toxice ale acestuia depinzând foarte mult de starea de oxidare sub care se găsește și concentrația acestuia. Dintre cele trei

forme stabile a cromului, forma hexavalentă este cea mai periculoasă, aceasta fiind considerată de 1000 de ori mai toxică decât forma trivalentă (Saha și colab., 2011).

#### *1.4.2. Metode biologice de eliminare a metalelor grele din efluenții lichizi*

Cele mai aplicate procese biologice pentru remedierea mediilor poluate sunt biosorbția și bioacumularea, care se bazează pe utilizarea materialelor naturale de origine biologică ca biosorbenți și bioacumulatori (de exemplu: plante, microorganisme, deșeuri de natură vegetală) (Gavrilescu, 2004).

#### *1.7. Factorii care afectează procesul de biosorbție a metalelor grele*

Microorganismele pot îndepărta ionii de metale printr-o serie de mecanisme care sunt influențate nu doar de tipul de biosorbent, ci și de alți factori, cum ar fi: doza de biosorbent, concentrația inițială a metalului în soluție, pH-ul soluției, temperatura la care se desfășoară procesul, timpul de contact dintre biosorbent și ionii de metale din soluție, viteza de agitare, dar și alți factori (Abdi și Kazemi, 2015; Bulgariu și colab., 2015; Shamim, 2018).

#### *1.8. Modelarea procesului de biosorbție*

Transpunerea tehnologiei de la scară de laborator la scară industrială implică modelarea matematică datelor obținute în laborator sau la scară de micropilot sau criterii de transpunere la scară. Aplicarea modelelor adecvate poate sprijini înțelegerea mecanismelor procesului, analizarea datelor experimentale, precizarea răspunsurilor în funcție de condițiile operaționale și optimizarea proceselor. Astfel, utilizarea modelelor matematice pentru predicția capacității de reținere poate fi utilă în compararea punctelor forte și în proiectarea proceselor de biosorbție (Abdi și Kazemi, 2015).

#### *1.9. Modelarea empirică și optimizarea procesului de biosorbție/bioacumulare a metalelor grele*

În funcție de scopul dorit, analiza de regresie poate fi utilizată fie pentru predicția unor condiții experimentale pe baza unui număr redus de date experimentale, fie pentru rafinarea și evaluarea unui număr mare de date (Palmer și colab., 2009). Modelele matematice ale metodologiei suprafeței de răspuns (RSM) pot fi aplicate pentru investigarea efectelor interactive ale variabilelor procesului și pentru construirea unui model matematic care descrie cu suficientă acuratețe procesul. Această metodologie este în general



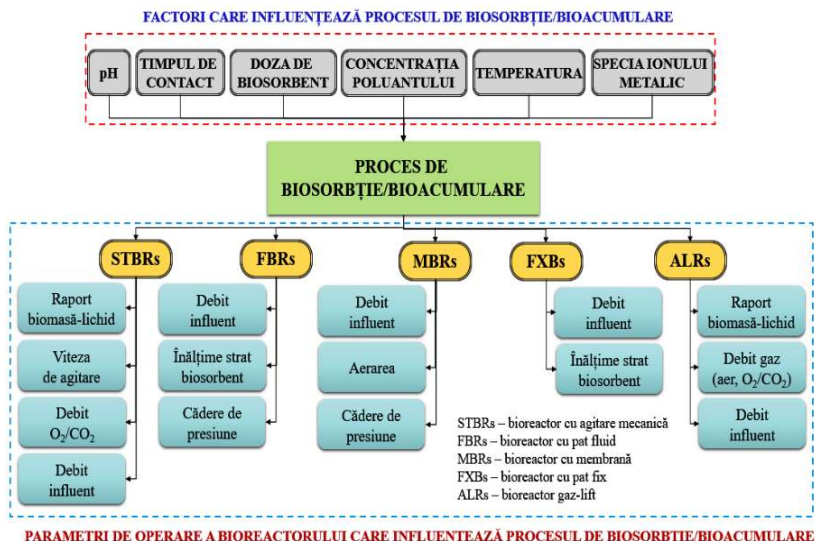
utilizată în proiectarea experimentală multivariată, modelarea statistică și optimizarea proceselor (Bayuo și colab., 2019; Mourabet și colab., 2017).

## Capitolul 2. STADIUL CERCETĂRILOR ÎN DOMENIUL APLICĂRII CONTACTOARELOR CU STRAT FIX, CU AGITARE MECANICĂ ȘI PNEUMATICĂ ÎN PROTECȚIA MEDIULUI

### 2.1. Bioreactoarele și utilizarea acestora în protecția mediului

Utilizarea bioreactoarelor în bioremediere reprezintă o alternativă foarte atractivă întrucât în interiorul acestora pot fi controlați parametrii critici ai procesului, astfel încât bioremedierea să se desfășoare în condițiile optime (Gavrilescu și Chisti, 2005; Tekere, 2019).

Funcționarea și performanțele acestor bioreactoare depind de mai mulți factori, care pot fi: biotici, abiotici sau factori asociați configurației și modului de operare a bioreactorului (**fig. 2.1**) (Chisti, 1989; Gavrilescu, 1997; Gavrilescu și Macoveanu, 2000).



**Fig. 2.1.** Tipuri de bioreactoare aplicate în procesele de biosorbție/bioacumulare și factorii care influențează procesul (adaptată după Cozma și colab., 2016)

Indiferent de tipul de bioreactor, pentru proiectarea, transpunerea la scară și optimizarea proceselor industriale este necesară cunoașterea caracteristicilor hidrodinamice, a parametrilor transferului de masă și căldură și a cineticii de reacție. Fenomenele de transfer, inclusiv amestecarea, eforturile de forfecare și transferul de oxigen sunt studiate îndeaproape pentru a defini criteriile de proiectare a bioreactorului și de transpunere la scară industrială (Jossen și colab., 2017; Kadic și Heindel, 2014a, 2014b).

Pentru aplicarea procesele de biosorbție/bioacumulare în scopul eliminării metalelor grele este necesară selectarea unui anumit tip de bioreactor, ținând cont de o serie de factori operaționali, cum ar fi (Gavrilescu și Macoveanu, 1999):

- cinetica reacției care guvernează procesul de bioremediere;
- asigurarea transferului de oxigen necesar;
- natura apelor uzate care trebuie epurate;
- condițiile locale de mediu;
- costurile de construcție, operare și întreținere în concordanță cu echipamentele de decantare secundare.

## *2.2. Bioreactoare cu strat fix*

### *2.2.1. Particularități constructive și funcționale ale bioreactoarelor cu strat fix*

Bioreactoarele cu strat fix (FXBs) au fost proiectate și dezvoltate folosind conceptele aplicate la proiectarea reactoarelor catalitice cu straturi compacte de catalizator, utilizate în ingineria chimică convențională (Sen și colab., 2017). Pentru imobilizarea celulelor microorganismelor se pot utiliza diferite tipuri de umplutură inertă, cum ar fi mărgelile ceramice poroase, mărgelile de sticlă poroasă, fibre de sticlă, discuri de poliester (Warnock și colab., 2005), zeoliți (Quintelas și colab., 2009a; Silva și colab., 2008, 2012), kaolin (Quintelas și colab., 2009b), dar și alte materiale. Aceste umpluturi au o suprafață specifică mare și permit atașarea celulelor microbiene și, de asemenea, protejează celulele împotriva forțelor de forfecare locale (Kadic și Heindel, 2014a; Warnock și colab., 2005).

### *2.2.5. Utilizarea reactoarelor FXBs pentru depoluarea fluxurilor lichide*

Studiile realizate până în prezent au arătat că FXBs pot fi aplicate pentru eliminarea din efluenții lichizi a unei game variate de poluanți organici, utilizând diverse microorganisme imobilizate pe diferite tipuri de materiale suport. De asemenea, aceste bioreactoare au fost aplicate pentru evaluarea performanțelor unor microorganisme și alge de a elimina din mediul lichid diverși poluanți anorganici, cum ar fi ionii de metale grele.

### *2.3. Bioreactoare cu agitare mecanică*

#### *2.3.1. Particularități constructive și funcționale ale bioreactoarelor cu agitare mecanică*

Bioreactoarele cu agitare mecanică (STBR) sunt utilizate în special pentru cultivarea unor celule, enzime sau anticorpi. Sunt contactoare în care amestecul între faze este obținut în principal prin agitare mecanică. Agitatorul trebuie să asigure o timp de amestecare suficient de mari astfel încât să se obțină un amestec omogen în interiorul bioreactorului (Garcia-Ochoa și colab., 2011).

#### *2.3.6. Utilizarea reactoarelor STBR pentru decontaminarea fluxurilor lichide*

Studii privind utilizarea bioreactoarelor cu agitare mecanică în procesele de decontaminare a unor fluxuri lichide încărcate cu metale grele de către microorganismele sunt relativ puține, neexistând suficiente date cu privire la condițiile de operare a acestora pentru atingerea scopului propus.

### *2.4. Bioreactoare cu agitare pneumatică*

Reactoarele pneumatice sunt dispozitive de contactare gaz-lichid sau gaz-lichid-solid, care sunt din ce în ce mai mult utilizate în industria chimică, în procesele de fermentație și în diverse alte procese biotehnologice (Cozma și Gavrilăscu, 2010, 2012; Gavrilăscu, 1997). Aceste reactoare au devenit atractive în special pentru industria biotehnologică deoarece au o construcție simplă fără mecanisme mobile, un consum relativ redus de energie pentru asigurarea omogenizării și a necesarului de oxigen (Chisti, 1989; Gavrilăscu, 1997), oferă viteze mari de transfer de masă și căldură, amestecarea fazelor este intensă menținând în suspensie solidele, stresul de forfecare pentru celule este scăzut, poate menține sterilitatea mediului și prezintă un risc mic de contaminare (Ceri și colab., 2010a; Cozma și Gavrilăscu, 2012; Gavrilăscu, 1997; Gourich și colab., 2005). Coloana cu barbotare și reactorul gaz-lift sunt printre cele mai cunoscute și studiate tipuri de reactoare pneumatice (Cozma și Gavrilăscu, 2012) și sunt formate în principal dintr-o coloană cu secțiune circulară sau rectangulară și un barbotor de gaz montat la partea inferioară a reactorului (Chisti, 1989; Ceri și colab., 2010a).

#### *2.4.4. Utilizarea reactoarelor ALRs pentru decontaminarea fluxurilor lichide*

Bioreactoarele pneumatice de tipul gaz-lift sunt privite ca alternative fezabile pentru sistemelor convenționale (coloane cu umplutură, coloane cu barbotare, reactoare cu agitare mecanică), în special datorită caracteristicilor hidrodinamice specifice, construcției și amestecării pneumatice cu particularități unice (Cozma și Gavrilăscu, 2012). Sunt atractive în cercetare

și industrie datorită caracteristicilor lor hidrodinamice particulare, care pot fi ușor modificate prin selectarea unui set de parametri geometrici și de funcționare. Reactoarele ALRs sunt aplicate în procesele biotehnologice și în ingineria mediului, deoarece asigură un transfer de masă și căldură ridicat, viteză bună de circulație a fluidelor, timpi de amestecare scurți și rate scăzute de forfecare. Bioreactoarele ALRs sunt utilizate în special în cultivarea celulelor vegetale și animale, precum și pentru epurarea apelor uzate (Gavrilescu și colab., 2008).

### **Capitolul 3.** **METODOLOGIA UTILIZATĂ ÎN STUDIILE** **EXPERIMENTALE**

#### *3.1. Scopul și importanța studiului*

În acest capitol sunt prezentate materialele și metodele de lucru și investigare aplicate în cercetarea desfășurată pentru îndeplinirea scopului și obiectivelor tezei de doctorat, cu referire la:

- obținerea biosorbenților și pregătirea materialelor;
- prepararea și analiza soluțiilor apoase ale ionilor metalici studiați;
- metodologia experimentală aplicată în studiile de reținere a ionilor metalici în sistem discontinuu;
- metodologia aplicată pentru reținerea ionilor metalici de către biofilmul de microorganisme imobilizat pe suport de zeolit 13X;
- metodologia aplicată pentru reținerea ionilor de cadmiu în bioreactorul cu agitare mecanică;
- metodologia utilizată pentru reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$  în bioreactorul gaz-lift;
- analiza statistică a rezultatelor și evaluarea procesului de biosorbție și bioacumulare a metalelor grele în bioreactoare;
- metode de caracterizare a biosorbenților utilizați.

#### *3.2. Obținere biosorbenților și pregătirea materialelor*

Studiile de eliminare a metalelor grele din soluții apoase, respectiv  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  s-au efectuat utilizând trei tipuri de microorganisme: o drojdie, *Rhodotorula* sp.; o bacterie: *Bacillus megaterium*; trei fungi: *Cladosporium* sp., *Trichosporon* sp., *Geotrichum* sp.

Izolarea și identificarea microorganismelor au fost efectuate în laboratorul de microbiologie al Departamentului de Inginerie și Management al Mediului, Facultatea de Inginerie Chimică și Protecția Mediului „Cristofor

Simionescu” de la Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași. Drojdia *Rhodotorula* sp. a fost izolată de pe mâna unui student, bacteria a fost izolată de pe produse comerciale alimentare, iar microorganismele *Cladosporium* sp., *Trichosporon* sp. și *Geotrichum* sp. din sol. Microorganismele au fost indentificate pe baza structurilor lor morfologice (culoare, diametru, miceliu) și observarea microscopică a formei celulare sau aspectul sporilor.

### 3.2.2. Prepararea biomasei neviabile pentru studiile de biosorbție a ionilor de $Cd^{2+}$ și $Cr^{6+}$

Pentru creșterea bacteriei *Bacillus megaterium* s-a utilizat mediul lichid de cultură Lysogeny broth (LB), preparat prin dizolvarea în 1000 mL apă distilată a 10 g triptonă, 5g extract de drojdie și 5 g clorură de sodiu. pH-ul mediului de creștere a fost ajustat la valoarea 7, utilizând o soluție de NaOH sau  $HNO_3$  de concentrație 0,1M, apoi sterilizat la  $121^{\circ}C$  timp de 20 minute în autoclavă. În cazul drojdiei *Rhodotorula* sp. s-a utilizat mediul steril Sabouraud cu pH-ul 6.

Ambele microorganisme au fost crescute în incubator timp de 72 de ore, agitarea la 130 rpm, temperatura de  $30^{\circ}C$  (*B. megaterium*), respectiv  $28^{\circ}C$  (*Rhodotorula* sp.). După creștere, biomasa ambelor microorganisme a fost separată din mediul lichid prin centrifugare la 7000 rpm timp de 10 minute, spălată cu apă distilată, apoi inactivată în autoclavă la  $121^{\circ}C$  timp de 15 minute și uscată la  $50^{\circ}C$  timp de 3 zile. După uscare biomasa a fost mărunțită cu ajutorul unei râșnițe până la obținerea unei pudre fine și păstrată în exsicator până la utilizare.

### 3.2.3. Pregătirea microorganismelor pentru studiile de eliminare a ionilor de $Cd^{2+}$ și $Cr^{6+}$ de către biomasa viabilă

Odată la 30 zile microorganismele au fost crescute pe mediu de creștere solid proaspăt (LB pentru *Bacillus megaterium* și Sabouraud pentru *Rhodotorula* sp.), în plăci Petri, timp de 5 zile la  $30^{\circ}C$ , respectiv  $28^{\circ}C$ , în condiții sterile. După creștere, plăcile Petri au fost păstrate la  $4^{\circ}C$  și utilizate la prepararea inoculului necesar realizării experimentelor. Pentru obținerea inoculului, celulele viabile ale microorganismelor au fost transferate din plăcile Petri în 100 mL mediu de creștere lichid steril (LB pentru *Bacillus megaterium* și Sabouraud pentru *Rhodotorula* sp.) și ținute în incubator timp de 24 de ore la 130 rpm și  $30^{\circ}C$ , respectiv  $28^{\circ}C$ .

### 3.3. Prepararea și analiza soluțiilor apoase ale ionilor metalici studiați

Pentru studiile experimentale au fost utilizate soluții apoase ale ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  de concentrație exact cunoscută. În cazul experimentelor ce

au vizat biosorbția ionilor metalici de către biomasa neviabilă a microorganismelor s-au preparat 500 mL de soluție stoc de  $\text{Cd}^{2+}$  și 500 mL de soluție stoc de  $\text{Cr}^{6+}$  de concentrație de aproximativ 1000 mg/L, prin dizolvarea în apă distilată a 1,3721 g de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  și, respectiv a 1,4144 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , cântărite la balanța analitică. Pentru studiile de eliminare a ionilor metalelor grele folosind biomasă viabilă au fost preparate soluții stoc cu concentrația de aproximativ 10 g/L, care au fost utilizate pentru prepararea soluțiilor de lucru, astfel încât volumul soluției de ion metallic adăugat să fie mai mic de 5% din volumul de lucru total per flacon. S-a adăuga un volum mic de soluție cu ioni metalici concentrată pentru a nu dilua mediul de creștere.

Concentrațiile soluțiilor apoase inițiale ale ionilor metalici, cât și a celor obținute după separarea biomasei de faza lichidă, au fost determinate prin metode spectrofotometrice de absorbție în UV-VIS adecvate fiecărui tip de ion metallic (spectrofotometru T60 UV-VIS de la PG Instruments, cuve de cuarț de 1 cm grosime), dar și prin metode de spectrometrie de emisie optică (spectrometru cu plasmă cuplată inductiv - model Optima 8000 ICP-OES). Separarea fazei lichide de faza solidă s-a realizat prin centrifugare la 7000 rpm timp de 10 minute.

Pentru determinarea concentrației ionilor  $\text{Cd}^{2+}$  în soluție conform metodei spectrofotometrice de absorbție în UV-VIS descrisă de Otomo (1964) s-a utilizat indicatorul de culoare xlenolorange de concentrație  $10^{-3}$  mol/L, precum și soluția tampon hexametilen tetraamină (HMEA) 20% titrată cu acid azotic 69% până la  $\text{pH}=6,3$ . În cazul ionilor de  $\text{Cr}^{6+}$  metoda presupune utilizarea 1,5-difenilcarbazei de concentrație 5 g/L ca indicator de culoare și a acidului sulfuric 10% ca soluție tampon.

Determinarea concentrației ionilor metalici cu ajutorul spectrometrului cu plasmă cuplată inductiv (model Optima 8000 ICP-OES) s-a realizat la lungimea de undă de 228,8 nm pentru  $\text{Cd}^{2+}$  și 283,56 nm pentru Cr total. După prelevare, probele au fost centrifugate, iar supernatantul a fost acidificat cu acid azotic (69%) (Fisher Scientific, Marea Britanie), astfel încât concentrația acidului în probă să fie de aproximativ 2%.

#### *3.4. Metodologia experimentală aplicată în studiile de reținere a ionilor metalici în sistem discontinuu*

Programul experimental dezvoltat în sistem discontinuu în flacoane plasate într-un incubator cu agitare orbitală a permis obținerea de informații relevante despre biosorbția și bioacumularea ionilor metalici selectați de către biomasa neviabilă, dar și viabilă a microorganismelor luate în studiu. Experimentele au urmărit descrierea potențialului biosorbțiv al biomasei

viabile și neviabile pentru ionii de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  și au avut următoarele obiective majore:

- *evaluarea capacității de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  a microorganismelor la aceleași valori ale pH-ului, dozei de biosorbent și concentrației inițiale, în vederea selectării a 2 biosorbenți;*

- *stabilirea condițiilor optime de biosorbție și bioacumulare a ionilor metalici considerați pentru fiecare biosorbent în parte;*

- *investigarea mecanismului care guvernează reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  de către biomasa viabilă și neviabilă a biosorbenților prin evaluări de echilibru și cinetice combinate cu analizele FTIR, pHpzc, SEM și EDX;*

#### *3.4.1. Metodologia experimentală utilizată pentru selecția biosorbenților*

Pentru selectare a doi biosorbenți în vederea examinării capacității acestora de a reține ionii de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$ , biomasa neviabilă a celor 5 microorganisme izolate și indentificate a fost utilizată pentru reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$ . Experimentele s-au realizat în flacoane Erlenmeyer de 100 mL, la 150 rpm și 25°C, considerând timpul de contact maxim de 48 ore. În cadrul acestor experimente s-a utilizat o doză de biosorbent de 5 g/L și un volum de lucru de 50 mL soluție de cadmiu cu pH-ul de aproximativ 5,4. Experimentele au fost efectuate în duplicat pentru 3 concentrații inițiale de  $Cd^{2+}$ : 25 mg/L, 50 mg/L și 65 mg/L. Pentru a stabili eficiența reținerii ionilor de  $Cd^{2+}$  de către biomasa neviabilă a microorganismelor, după un timp de contact de 24 și 48 de ore, au fost prelevate probe și centrifugate imediat pentru a separa faza lichidă de cea solidă.

#### *3.4.2. Biosorbția ionilor metalici de către biomasa neviabilă a bacteriei *B. megaterium* și drojdiei *Rhodotorula* sp.*

Procesul de biosorbție ionilor de metale grele din mediul lichid este influențat de diferiți factori, cum ar fi: pH-ul soluției, doza de biosorbent, concentrația inițială a metalului în soluție, temperatura la care se desfășoară procesul, timpul de contact dintre biosorbent și ionii de metale din soluție. Astfel, pentru stabilirea condițiilor optime de biosorbție au fost realizate o serie de experimente ce au avut ca scop studiul influenței pe care o exercită acești factori asupra procesului de biosorbție a ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  de către biomasa neviabilă a bacteriei *Bacillus megaterium* și a drojdiei *Rhodotorula* sp. Experimentele au fost realizate în flacoane Erlenmeyer de 200 mL, în duplicat, în incubator la o viteză de agitare de 150 rpm. Valorile factorilor de influență la care eficiența procesului de biosorbție este maximă au fost considerate ca fiind valorile optime pentru biosorbția ionilor metalici considerați. Pe parcursul acestor experimente valoarea optimă a unui

factor stabilită experimental a fost utilizată la studierea celorlalți factori de influență.

### 3.4.3. Reținerea ionilor metalici de către biomasa viabilă a bacteriei *B. megaterium* și drojdiei *Rhodotorula* sp.

Pentru reținerea ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  și  $\text{Cr}^{6+}$  din mediul lichid de către biomasa viabilă a microorganismelor *B. megaterium* și *Rhodotorula* sp. au fost analizați următorii factori de influență a procesului: pH-ul soluției, concentrația inițială a metalului în soluție și timpul de contact dintre biosorbent și ionii de metale din soluție. Experimentele au fost realizate în flacoane Erlenmeyer de 200-250 mL, în duplicat, în condiții sterile, în incubator la o viteză de agitare de 130 rpm și la temperatura de 30°C (temperatura optimă de creștere a bacteriei *B. megaterium*) (Todar, 2014), respectiv 28°C (pentru *Rhodotorula* sp.) (Zhao și colab., 2019). Ca și în cazul studiilor cu biomasă neviabilă, valorile factorilor de influență la care eficiența procesului de biosorbție este maximă au fost considerate ca fiind valorile optime pentru reținerea ionilor metalici considerați. Pe parcursul acestor experimente valoarea optimă a unui factor stabilită experimental a fost utilizată la studierea influenței celorlalți factori.

## I. Influența pH-ului inițial al soluției asupra procesului de bioacumulare a ionilor metalici

În cazul utilizării biomasei viabile în procesului de bioacumulare a ionilor metalici, pH-ul are influență atât asupra dezvoltării biomasei celulare, cât și asupra procesului de reținere a ionilor metalici. De exemplu, pH-ul optim de creștere a bacteriei *B. megaterium* este 7, dar acesta poate crește și la valori mai mici sau mai mari ale pH-ului din domeniul 2-11 (Todar, 2014). Conform datelor prezentate de Zhao și colab. (2019) pH-ul optim de creștere a drojdiei *Rhodotorula* sp. este 5, dar aceasta se poate dezvolta și la valori mai mici sau mai mari. Astfel pentru studiul privind influența pH-ului asupra procesului de bioacumulare a ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  domeniul de variație a fost de la 4 la 7 pentru bacteria *B. megaterium* și de la 3 la 7 pentru *Rhodotorula* sp.

În cazul ionilor de  $\text{Cr}^{6+}$  pH-ul a fost variat în domeniul 2-7 pentru ambele microorganisme. Volumul de lucru a fost format din 45 mL mediu de creștere lichid (LB pentru *B. megaterium* și Sabouraud pentru *Rhodotorula* sp.), 2,5 mL inocul și 2,5 mL soluție de  $\text{Cd}^{2+}$  sau  $\text{Cr}^{6+}$  de concentrație aproximativ 1000 mg/L. pH-ul a fost ajustat cu  $\text{HNO}_3$  și  $\text{NaOH}$  de concentrație 0,1 N. Experimentele s-au realizat în duplicat și la un timp de contact de 72 de ore. La finalul experimentelor au fost prelevate probe pentru determinarea performanței procesului de bioacumulare a ionilor metalici, precum și a influenței pe care o exercită pH-ul asupra dezvoltării biomasei



celulare, prin măsurarea densității optice la 600 nm la un spectrofotometru UV-VIS T60, folosind cuve de cuarț de 1 cm grosime.

## **II. Influența timpului de contact asupra procesului de bioacumulare a ionilor metalici**

Studiile privind influența timpului de contact s-au realizat în flacoane Erlenmeyer de 250 mL cu un volum de lucru de 100 mL. Volumul de lucru a fost format din 90 mL mediu de cultură adecvat, 5 mL de suspensie de microorganisme și 5 mL de soluție stoc de  $\text{Cd}^{2+}$  sau  $\text{Cr}^{6+}$ . Experimentele s-au realizat la pH-ul optim determinat din experimentele anterioare și la diferite valori ale concentrației inițiale ale ionilor metalici în soluție. Timpul de contact a variat între minim 2 ore și maxim 80 de ore, în funcție de specia de ion metalic și de microorganismul utilizat.

## **III. Influența concentrației inițiale a ionului metalic în soluție în procesul de bioacumulare a ionilor metalici**

Determinarea efectelor concentrației inițiale a ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  și  $\text{Cr}^{6+}$  asupra eficienței procesului de bioacumulare a acestora de către *B. megaterium* și *Rhodotorula* sp., precum și asupra dezvoltării biomasei s-a realizat la diferite valori ale concentrației inițiale a ionilor metalici în soluție și în funcție de microorganismul utilizat. Pentru procesele de bioacumulare a ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  concentrația inițială a variat între 5 și 100 mg/L pentru *B. megaterium* și între 5 și 50 mg/L pentru *Rhodotorula* sp., iar pentru ionii de  $\text{Cr}^{6+}$  concentrația minimă considerată a fost 25 mg/L, iar cea maximă 200 mg/L pentru experimentele cu *B. megaterium*. Pentru cele două microorganisme au fost alese intervalele diferite de variație a concentrației inițiale a ionilor metalici în mediul lichid, deoarece s-a dovedit că acestea au toleranță diferită la aceeași concentrație a metalului în soluție. La final de experiment s-a determinat concentrația ionilor în soluție utilizând metodele spectrofotometrice de absorbție în UV-VIS sau cele de spectrometrie de emisie optică, dar și concentrația biomasei rezultată în funcție de concentrația inițială a ionilor, prin măsurarea absorbției soluției la spectrofotometru UV-VIS T60 la lungimea de undă de 600 nm.

**Pentru fiecare set de experimente s-au efectuat experimente de control, luând în considerare aceeași procedură menționată mai sus, dar în absența ionilor metalici. Toate experimentele au fost realizate în duplicat, iar valorile medii au fost utilizate în evaluarea performanțelor proceselor biologice.**

#### 3.4.4. Cuantificarea performanțelor proceselor de biosorbție și bioacumulare

Rezultatele experimentale obținute în urma fiecărui set de experimente au fost prelucrate pentru analiza performanțelor proceselor biologice în reținerea ionilor metalici, prin utilizarea următorilor parametri cantitativi:

✓ *Capacitatea de reținere (uptake capacity,  $q$  mg/g)* este parametrul ce poate fi definit ca fiind cantitatea de ion metalic reținut pe unitatea de masă de biosorbent, în condiții experimentale date și se calculează cu ajutorul ecuației (3.1).

$$q = \frac{(C_0 - C) \cdot V}{m} \quad (3.1)$$

✓ *Eficiența de reținere (removal efficiency, R%)* reprezintă fracția de metal îndepărtată exprimată sub formă de procente (ecuația 3.2):

$$R\% = \frac{(C_0 - C)}{C_0} \cdot 100 \quad (3.2)$$

unde:  $C_0$ ,  $C$  – concentrația inițială și respectiv la echilibru a ionului metalic studiat (mg/L);  $m$  – masa de biosorbent (g);  $V$  – volumul soluției apoase utilizate în studiile de biosorbție (mL).

#### 3.5. Metodologia aplicată pentru reținerea ionilor metalici de către biofilmul de microorganisme imobilizat pe suport de zeolit 13X

Atașarea celulelor microbiene de suprafața suportului și dezvoltarea biofilmului sunt procese complexe care se realizează în mai multe etape. Astfel, pentru obținerea biofilmului pe suprafața suportului au fost parcurși următorii pași:

1. Primul pas a constat în creșterea microorganismelor în 500 mL de lichid de cultură adecvat (LB pentru *B. megaterium* și Sabraud pentru *Rhodotorula* sp.) timp de 24 de ore în incubator, la 150 rpm și 30°C, respectiv 28°C, în incubatorul cu agitare orbitală.

2. După creșterea microorganismelor în incubator, următorul pas a constat în pomparea mediului de creștere în coloane pentru a realiza atașarea celulelor microbiene pe suprafața suportului. Lichidul a fost pompat cu un debit de 25 mL/min timp de 24 ore, cu recirculare, cu ajutorul unei pompe peristaltice.

3. După fixarea celulelor microbiene pe suport a urmat maturarea biofilmului prin pomparea a 500 mL de mediu proaspăt de creștere steril, timp de 48 ore, cu recircularea acestuia. La finalul procesului de formare,

biofilmul a putut fi observat cu ochiul liber (fig. 3.4a – biofilmul bacteriei *B. megaterium* pe suportul de zeolit).

Experimentele privind reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$  de către biofilmul bacteriei *B. megaterium* s-au realizat la 4 concentrații inițiale diferite (25, 50, 75 și 100 mg/L) și 4 debite diferite (5, 10, 15 și 20 mL/min), fără recirculare, considerând timpul de funcționare de 26 de ore. Pentru reținerea ionilor de  $Cr^{6+}$  de către biofilmul bacteriei *B. megaterium* debitul de pompare a soluției a fost de 10 mL/min iar concentrația inițială a fost de 25, 50, 75 și 100 mg/L. În cazul studiilor privind reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$  de către biofilmul drojdiei *Rhodotorula* sp. soluțiile de ioni metalici, a căror concentrații au fost de 25, 50 și 75 mg  $Cd^{2+}$ /L și de 25 și 75 mg  $Cr^{6+}$ /L, au fost pompate în coloane cu un debit de 5 mL/min. Probele prelevate au fost analizate prin metoda de spectrometrie de emisie optică pentru a determina concentrațiile ionilor metalici în soluție.

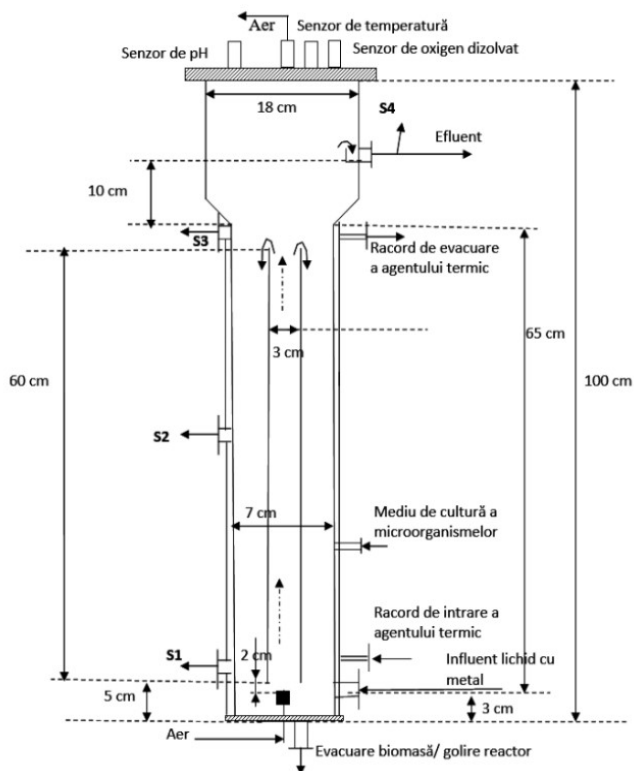
### 3.6. Metodologia experimentală aplicată pentru reținerea ionilor de cadmiu în bioreactorul cu agitare mecanică

Experimentele s-au realizat într-un bioreactor Sartorius compus dintr-un vas de sticlă borosilicată UniVessel 2L, cuplat la un panou de comandă BIOSTAT B plus (fig. 3.5). Bioreactorul este echipat cu senzori de pH, oxigen și de temperatură, iar specificațiile tehnice sunt cele prezentate în tabelul 3.12. Volum de lucru în reactor a fost de 1,5 L, format din 1,4 L de mediu de creștere LB steril, un volum de 0,1 L inocul și 1,5 – 7,5 mL de soluție de  $Cd^{2+}$  de concentrație 10 g/L. Pentru evita spumarea excesivă a lichidului de cultură, la partea superioară a reactorului s-au adăugat câteva picături de ulei de măsline steril ca agent de antispumare. De asemenea, pentru a evita contaminarea cu alte microorganisme, fluxul de aer barbotat în bioreactor a fost sterilizat, înainte de intrarea în bioreactor, cu filtre sterile de PTFE de 0,2  $\mu$ m. Experimentele s-au realizat la temperatura camerei de  $25 \pm 2^{\circ}C$ . Pe parcursul procesului de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium*, s-a monitorizat evoluția biomasei în bioreactor, a pH-ului precum și a consumului de oxigen de către microorganisme.

Planul experimental elaborat pentru studiul influenței vitezei de agitare, a debitului de aer precum și a concentrației inițiale a ionului metalic asupra creșterii microorganismelor și a procesului de biosorbție-bioacumulare s-a realizat conform matricei corespunzătoare unui program factorial (FFD)  $2^3$  generată cu ajutorul softului Minitab 17. Variabilele dependente au fost următoarele: concentrația inițială a ionului  $Cd^{2+}$ , care a variat între 10 și 50 mg/L; debitul de aer, care a variat între 0,2 și 0,8 L/min; iar viteza de agitare - între 50 și 150 rpm.

### 3.7. Metodologia experimentală aplicată pentru reținerea ionilor de $Cd^{2+}$ în bioreactorul gaz-lift

Studiul experimental al capacității microorganismului *Bacillus megaterium* de a reține ionii de  $Cd^{2+}$  din soluții apoase s-a realizat în cadrul **Laboratorului de Inginerie Chimică al Centrului de Inginerie Biologică al Universității Minho, Braga, Portugalia**. Experimentele s-au desfășurat într-un bioreactor gaz-lift, prezentat schematic în fig. 3.6.



**Fig. 3.6.** Reprezentarea schematică a bioreactorului gaz-lift cu tub concentric, cu recirculare internă utilizat pentru reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$  de către biomasa viabilă a bacteriei *B. megaterium*

Experimentele au fost efectuate în sistem discontinuu, la volumul de lucru de 3,25 L, considerând debitul de aer și concentrația inițială a ionilor de  $Cd^{2+}$  ca factori de influență a procesului de eliminare a ionului metallic din

soluție. Valorile debitului de aer au fost de 0,2; 0,4; 0,6 L/ min, iar cele ale concentrației inițiale a ionilor de  $Cd^{2+}$  în soluție de 8,99; 24,60; 97,90 mg/L. Volumul de lucru a fost format din 3 L de mediu de creștere LB lichid sterilizat la 121°C timp de 20 minute și 250 mL de inocul cu o concentrație de aproximativ 2 g de microorganism/L. La acesta s-au adăugat, în experimente succesive, volume de 1,63 mL; 4,06 mL; 16,25 mL respectiv, de soluție de ioni de  $Cd^{2+}$  de concentrație aproximativ 20 g/L. Inoculul a fost obținut în incubator la 30°C prin creșterea bacteriei timp de 24 de ore în flacoane agitate. După introducerea inoculului în bioreactor, microorganismul a fost lăsat timp de o oră sa se acomodeze cu mediul de creștere, după care a fost adăugată soluția de cadmiu pentru obținerea concentrației inițiale dorite. Experimentele s-au realizat la temperatura de  $26 \pm 1^{\circ}C$ . Pe parcursul experimentelor a fost monitorizată valoarea pH-ului, valoarea inițială a acestuia fiind de aproximativ  $6 \pm 0,1$ , dar a fost urmărită și evoluția biomasei în bioreactor prin măsurarea densității optice la lungimea de undă de 600 nm cu ajutorul unui spectrofotometru UV-VIS T60.

### *3.8. Analiza statistică a rezultatelor și evaluarea procesului de biosorbție și bioacumulare a metalelor grele în bioreactoare*

Eliminarea ionilor de metale grele din soluțiile apoase prin procesul de bioacumulare în bioreactoare cu diferite configurații este influențată de mai mulți factori (prezentați în fig. 2.1) care induc nu doar efecte individuale, ci și cumulative asupra procesului (Cozma și colab., 2016; Roșca și colab., 2018). Pentru evaluarea acestor efecte, precum și pentru a stabili condițiile optime de operare a procesului, datele experimentale sunt prelucrate prin utilizarea analizei de regresie și aplicarea unor modele statistice (Amini și colab., 2008). Pe baza acestor considerente rezultatele experimentale obținute din efectuarea programului experimental privind procesele de bioacumulare a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium* în coloana cu strat fix, în bioreactorul cu agitare mecanică și bioreactorul cu agitare pneumatică de tip gaz-lift au fost rafinate și modelate cu ajutorul metodei de analiză factorială și a metodologiei suprafeței de răspuns asistate de instrumentul software Minitab 17. Aceste metode au fost aplicate pentru a evalua influența pe care o exercită parametrii de operare a bioreactoarelor considerate asupra eficienței procesului.

Acuratețea și precizia experimentelor pe baza modelelor aplicate au fost evaluate prin analiza de varianță (ANOVA) pentru a avea asigurări că previziunile modelului urmează cu suficientă acuratețe datele experimentale și sunt semnificative din punct de vedere statistic.

### 3.9. Metode utilizate pentru caracterizarea biosorbenților utilizați

Caracterizarea biosorbenților este importantă pentru înțelegerea mecanismului de reținere a metalelor grele, prin analiza suprafeței biomasei selectate și pentru evaluarea calitativă a principalelor grupuri funcționale responsabile de legarea metalelor. În acest scop au fost aplicate următoarele metode:

- analiza punctului de sarcină zero (point of zero charge - pHpzc);
- spectroscopia IR (Fourier-transform infrared spectroscopy - FTIR);
- microscopia electronică cuplată cu spectrometria de dispersie cu raze X (scanning electroning microscopy - energy-dispersive X-ray spectroscopy SEM-EDS).

## **Capitolul 4.** **ELIMINAREA IONILOR DE CADMIU ȘI CROM** **HEXAVALENT DIN SOLUȚII APOASE PRIN UTILIZAREA** **UNOR SPECII DE MICROORGANISME ÎN SISTEM** **DISCONTINUU**

### 4.1. Scopul și importanța cercetării

Eliminarea ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  din soluții apoase se poate realiza prin biosorbție și bioacumulare, motiv pentru care au fost testate cu succes diverse materiale de origine biologică (biomasă) ca biosorbenți, cum ar fi: bacterii, drojdii, ciuperci, alge sau alte materiale, inclusiv deșeuri vegetale (Hlihor et al., 2014; Michalak et al., 2015; Muñoz et al., 2017; Wang și Chen, 2009). Reținerea ionilor metalici de către biomasa microorganismelor poate avea loc ca urmare a interacțiunilor fizico-chimice dintre ionii metalici și grupările funcționale prezente pe suprafața biosorbentului (biosorbție), putând fi urmată de transportul ionilor metalici în interiorul celulelor prin membrana citoplasmatică, dacă microorganismul este viabil (bioacumulare) (Michalak et al., 2015; Volesky, 2007).

Pe baza acestor considerente și a unor studii experimentale preliminare au fost selectate speciile de microorganisme *Bacillus megaterium*, *Cladosporium* sp., *Rhodotorula* sp., *Trichosporon* sp. și *Geotrichum* sp. pentru realizarea unor studii ce au ca scop eliminarea ionilor metalelor grele  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  din soluții apoase, prin biosorbție și bioacumulare, în cadrul unui program experimental amplu.

În acest context **obiectivul principal** al experimentelor realizate și prezentate în acest capitol al tezei de doctorat a constat în **evaluarea potențialului microorganismelor selectate de a reține ionii de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  din soluții apoase prin biosorbție și bioacumulare și de a stabili parametrii proceselor de biosorbție și bioacumulare adecvați pentru aplicarea ulterioară a acestor procese în bioreactoare cu diferite configurații.**

Programul experimental a fost structurat pe următoarele direcții principale:

- **eliminarea ionilor de  $Cd^{2+}$  din soluții apoase de către biomasa neviabilă** a microorganismelor *Bacillus megaterium*, *Cladosporium* sp., *Rhodotorula* sp., *Trichosporon* sp. și *Geotrichum* sp.;
- **eliminarea ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  din soluții apoase de către biomasa viabilă** a două dintre microorganismele selectate pentru elaborarea programului experimental.

**Obiectivele specifice** ale programului experimental asociat acestui capitol sunt următoarele:

- **evaluarea capacității microorganismelor de a reține ionii de  $Cd^{2+}$**  la diverse valori ale pH-ului, dozei de biosorbent și concentrației inițiale a ionului metalic în soluție, în vederea selectării a celor mai eficienți 2 biosorbenți utilizați în studii ulterioare;
- evaluarea **influenței unor factori** precum: pH, doză de biosorbent, concentrația inițială a ionilor metalici în soluție, timp de contact, temperatură) asupra eficienței și a capacității de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  de către biomasa neviabilă și viabilă a celor 2 biosorbenți selectați.
- investigarea **mecanismului care guvernează eliminarea ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$**  de către biomasa viabilă și neviabilă a biosorbenților prin studii de echilibru și cinetice combinate cu analizele FTIR, pHpzc, SEM și EDX.

#### 4.2. Biosorbția cadmiului de către biomasa neviabilă a microorganismelor selectate

Variația timpului de contact între 24 și 48 de ore și a concentrației inițiale a ionului metalic în soluție apoasă (24,5; 48,5 și 64,2, mg/L) și considerând 5 g/L ca doză de biosorbent, la pH inițial de aproximativ 5,4 și temperatura de 25°C, au arătat că cele cinci microorganisme selectate au o capacitate de reținere, adică de biosorbție diferită pentru ionii de  $Cd^{2+}$ . Rezultatele obținute au arătat că, odată cu creșterea valorilor factorilor de influență considerați, eficiența procesului de biosorbție se modifică. Creșterea timpului de contact produce o intensificare a capacității de biosorbție a microorganismelor și deci, a eficienței procesului, în timp ce

creșterea concentrației inițiale a ionului metallic în soluție duce la scăderea eficienței procesului de biosorbție a ionilor de  $Cd^{2+}$ . Valorile capacității și eficienței de biosorbție a fiecărui biosorbent în funcție de timpul de contact și concentrația inițială sunt prezentate în tabelul 4.2.

**Tabel 4.2.** Valorile medii experimentale ale eficienței și capacității de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către microorganisme selectate

Specia de microorganism	Timpul de contact (ore)	Capacitatea de reținere (mg/g)			Eficiența (%)		
		Concentrația inițială (mg/L)					
		24,5	48,5	64,2	24,5	48,5	64,2
<i>Bacillus megaterium</i>	24	3,92	7,74	7,90	80,38	79,79	61,54
	48	4,49	8,35	8,52	91,59	86,05	66,38
<i>Cladosporium</i> sp.	24	3,35	3,93	4,05	69,18	40,51	31,5
	48	4,87	4,91	4,93	99,22	50,55	38,46
<i>Rhodotorula</i> sp.	24	3,68	6,06	6,15	74,88	63,21	47,87
	48	4,73	6,86	7,03	96,36	70,73	54,79
<i>Trichosporon</i> sp.	24	1,71	2,50	3,34	36,88	27,79	26,04
	48	4,84	5,29	8,21	98,71	69,55	63,94
<i>Geotrichum</i> sp.	24	0,65	1,51	1,80	15,79	15,55	14,03
	48	0,73	1,64	1,92	17,37	16,92	14,97

Pe baza acestor rezultate s-a putut constata că doar patru din cele cinci microorganisme testate au o capacitate bună de a elimina ionii de  $Cd^{2+}$  din efluenții lichizi (*Bacillus megaterium* > *Trichosporon* sp. > *Rhodotorula* sp. > *Cladosporium* sp. la concentrația inițială a ionului metallic în soluție de 64,2 mg/L). De asemenea, rezultatele au arătat că timpul de contact are o influență semnificativă asupra capacității de biosorbție a ionilor de  $Cd^{2+}$ , mai ales pentru biosorbentul *Trichosporon* sp. a cărui capacitate de reținere crește de la 3,34 mg/g, la un timp de contact de 24 ore, la 8,21 mg/g după 48 de ore, la concentrația inițială de 64,2  $Cd^{2+}$  mg/L.

Din rezultatele obținute s-a putut constata că, atât timpul de contact cât și concentrația inițială a ionilor de  $Cd^{2+}$  în soluție influențează în mod semnificativ procesul de biosorbție. De aceea, pentru a determina amploarea și importanța timpului de contact și a efectelor concentrației inițiale asupra eficienței reținerii ionilor de  $Cd^{2+}$  din soluții apoase de către microorganismele selectate s-a utilizat analiza bazată pe distribuția de tip Pareto pentru a determina amploarea și importanța efectelor variabilelor independente asupra reținerii  $Cd^{2+}$  de către biomasa celor 5 microorganisme. Din reprezentările grafice se poate observa că timpul de contact are influență semnificativă pentru biosorbentii *Cladosporium* sp., *Rhodotorula* sp., *Trichosporon* sp. și *Geotrichum* sp., iar concentrația inițială pentru toți biosorbentii. De asemenea, aceste grafice evidențiază că efectele



standardizate cele mai mari pe care variația concentrației inițiale a ionilor de  $Cd^{2+}$  în soluție o exercită asupra răspunsului sunt în cazul utilizării speciei *Trichosporon* sp. (14,64), urmată de *Cladosporium* sp. (11,72), *Rhodotorula* sp. (6,80), *Geotrichum* sp. (4,82) și *B. megaterium* (3,50). În cazul timpului de contact cele mai mici efecte sunt observate la *B. megaterium* (1,70), *Rhodotorula* sp. (3,90), *Geotrichum* sp. (4,08), *Cladosporium* sp. (4,83) și *Trichosporon* sp. (5,90). Astfel pe baza rezultatelor oferite de diagramele Pareto, dar și a celor prezentate în tabelul 4.2 au fost selectate bacteriile *Bacillus megaterium* și drojdia *Rhodotorula* sp. pentru studiile privind biosorbția ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  din soluții apoase.

#### 4.6. Reținerea ionilor de $Cd^{2+}$ și $Cr^{6+}$ din soluții apoase de către biomasa viabilă a bacteriei *Bacillus megaterium* și a drojdiei *Rhodotorula* sp.

Reținerea ionilor metalici din soluții apoase de către celulele vii este un proces ce se desfășoară în două etape. În prima etapă, ionii de metal sunt adsorbiți pe suprafața celulelor prin interacțiuni între ionii de metale și grupurile funcționale aflate pe suprafața celulelor, după care sunt transportați prin membrană către citoplasma celulară unde sunt bioacumulați (Das și colab., 2008).

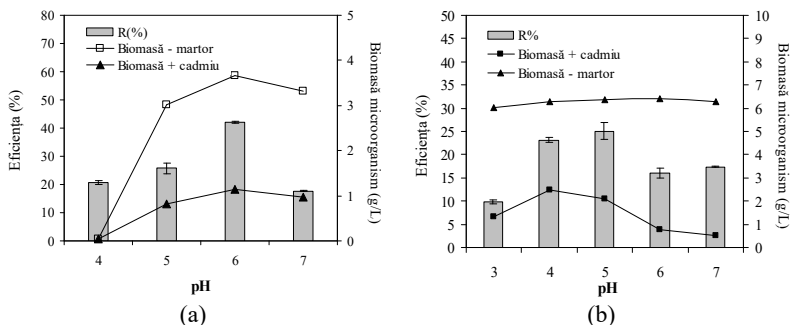
Având în vedere cele menționate anterior, obiectivul acestui program experimental este de a evalua capacitatea celulelor viabile ale bacteriei *B. megaterium* și ale drojdiei *Rhodotorula* sp. de a reține ionii de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  și de a se dezvolta în prezența acestora, la diferite valori ale pH-ului, timpului de contact și concentrației inițiale a ionilor metalici în soluție.

##### 4.6.1. Influența pH-ului asupra dezvoltării biomasei și a bioacumulării ionilor metalici

Variația pH-ului inițial al soluției afectează atât specierea metalelor în soluție, cât și dezvoltarea și viabilitatea microorganismelor. De aceea, pentru reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$  din soluții apoase de către celulele viabile ale bacteriei *B. megaterium* s-a ales ca domeniul de variație a pH-ului 4-7, iar pentru *Rhodotorula* sp. 3-7. Pentru aceste experimente concentrația ionilor în soluție a fost de aproximativ 50 mg/L și timpul de contact de 72 de ore. Rezultatele obținute sunt reprezentate grafic în **fig. 4.24** care arată că eficiențele maxime se obțin la pH 6 pentru *B. megaterium* (42,13 %) și pH 5 pentru *Rhodotorula* sp. (25,03%).

În condițiile experimentale considerate, dezvoltarea biomasei este semnificativ afectată, comparativ cu probele martor. În prezența a 50mg  $Cd^{2+}$ /L, cea mai mare cantitate de biomasă la final de proces a bacteriei *B. megaterium* se obține la pH-ul de 6 (1,15 g/L), iar a drojdiei *Rhodotorula* sp.

la pH-ul de 4 (2,46 g/L), valori care sunt mult mai mici decât cele obținute la probele martor la aceleași valori inițiale ale pH-ului (3,67 g/L și, respectiv, 6,27 g/L).



**Fig. 4.24.** Influența pH-ului asupra procesului de reținere a ionilor de Cd<sup>2+</sup> din soluție de către biomasa viabilă a microorganismelor: (a) *Bacillus megaterium* (temperatura - 30°C, concentrația inițială a Cd<sup>2+</sup> - 50 mg/L) și (b) *Rhodotorula sp.* (temperatura 28°C, concentrația inițială a Cd<sup>2+</sup> 50 mg/L)

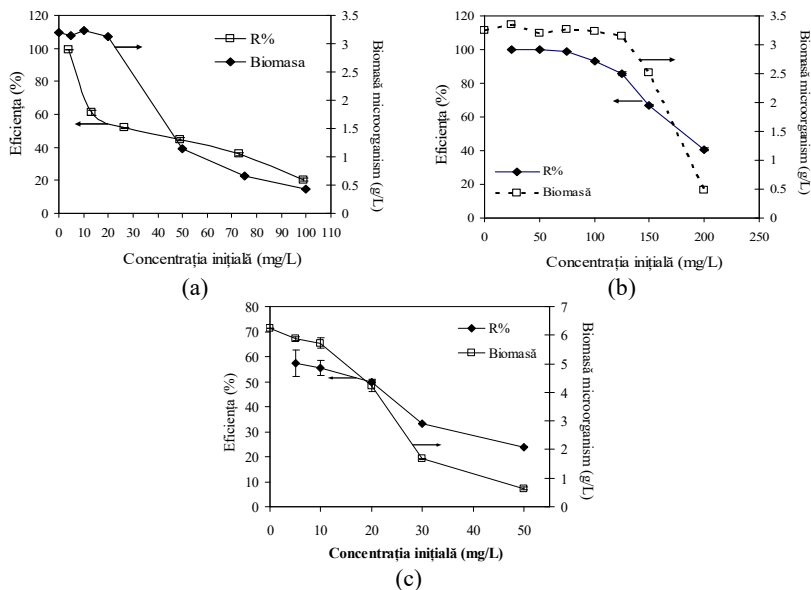
#### 4.6.2. Influența concentrației inițiale asupra dezvoltării biomasei și a bioacumulării ionilor metalici

O serie de experimente care vizează efectul concentrației inițiale a ionilor metalici în soluție asupra eficienței de eliminare a ionilor de Cd<sup>2+</sup> și Cr<sup>6+</sup> și a dezvoltării biomasei microorganismelor au fost efectuate la diferite valori ale concentrației inițiale. Pentru reținerea ionilor de Cd<sup>2+</sup> de către *B. megaterium* domeniul de variație a concentrația inițială a fost 5 - 100 mg Cd<sup>2+</sup>/L și rezultatele experimentale sunt prezentate în **fig. 4.26a**.

În intervalul 5-20 mg Cd<sup>2+</sup>/L eficiența procesului scade de la 99,19% la 51,82%, dar cantitatea de biomasă rezultată este aproximativ aceeași, observându-se o scădere a acesteia la concentrații mai mari de 20mg Cd<sup>2+</sup>/L. În cazul microorganismului *Rhodotorula sp.* variația concentrației inițiale a ionilor de Cd<sup>2+</sup> între 5 și 50 mg Cd<sup>2+</sup>/L afectează atât eficiența procesului, cât și dezvoltarea biomasei (**fig. 4.26c**). Odată cu creșterea concentrației inițiale, eficiența procesului și concentrația biomasei în soluție la final de proces scad de la 57,38% la 23,84% și, respectiv, de la 6,26 g/L (martor) la 0,64g/L.

Comportarea bacteriei viabile *B. megaterium* în prezența ionilor de Cr<sup>6+</sup> și potențialul acesteia de a-i elimina din soluție a fost evaluat la 7 concentrații inițiale diferite din domeniul 25-200 mg/L (**fig. 4.26b**). În intervalul 25-100 variația concentrației biomasei la final de proces comparativ cu proba martor este nesemnificativă (3,25 g/L – martor și, respectiv, 3,24 g/L - 100 mg/L),

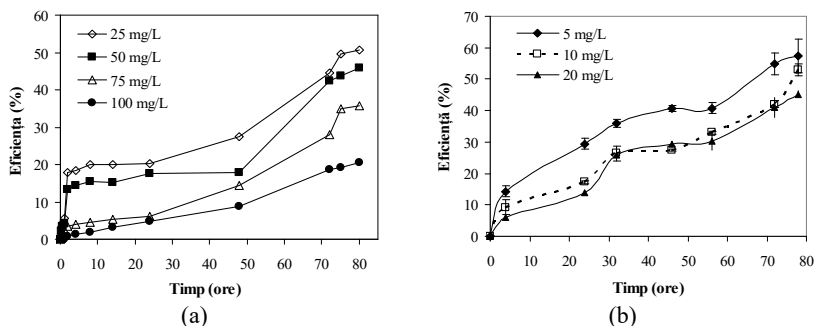
iar eficiența scade de la 99,97% la 92,94%. La concentrații mai mari de 125 mg Cr<sup>6+</sup>/L concentrația biomasei în soluție la final de proces scade de la 3,15 g/L la 0,49 g/L, iar eficiența de la 85,67% la 40,74%.



**Fig. 4.26.** Influența concentrației inițiale a ionilor de Cd<sup>2+</sup> și Cr<sup>6+</sup> asupra dezvoltării biomasei și a eficienței procesului de reținere a acestora din soluție de către biomasa viabilă a microorganismelor: *Bacillus megaterium* în prezența ionilor de (a) Cd<sup>2+</sup> și (b) Cr<sup>6+</sup> (T = 30°C, C<sub>i</sub> Cd<sup>2+</sup> și Cr<sup>6+</sup> = 50 mg/L, t = 72 ore) și (c) *Rhodotorula* sp. în prezența ionilor de Cd<sup>2+</sup> (T = 28°C, C<sub>i</sub> Cd<sup>2+</sup> = 50 mg/L, t = 72 ore)

#### 4.6.3. Influența timpului de contact asupra bioacumulării ionilor metalici

Dependența de timp a bioacumulării ionilor de Cd<sup>2+</sup> de către biomasa viabilă a microorganismelor *B. megaterium* este prezentată în **fig. 4.28**. Potențialul de bioacumulare a ionilor de Cd<sup>2+</sup> a fost evaluat pentru concentrațiile inițiale de 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L și 100 mg/L, la pH-ul de 6 (**fig. 4.28a**). În condițiile experimentale date eficiența maximă de reținere a ionilor de Cd<sup>2+</sup> de către celulele viabile pentru fiecare din cele 4 concentrații luate în lucru a fost obținută după 80 de ore de contact (50,77% pentru 25 mg Cd<sup>2+</sup>/L, 45,83% pentru 50 mg Cd<sup>2+</sup>/L, 35,85% pentru 75 mg Cd<sup>2+</sup>/L și 20,44% pentru 100 mg Cd<sup>2+</sup>/L).



**Fig. 4.28.** Influența timpului de contact asupra dezvoltării eficienței procesului de reținere a ionilor de Cd<sup>2+</sup> din soluție de către biomasa viabilă a microorganismelor: (a) *Bacillus megaterium* (pH = 6, T = 30°C) și (c) *Rhodotorula* sp. (pH = 5, T = 28°C) la diferite valori ale concentrației inițiale

Din reprezentarea grafică a eficienței în funcție de timp s-a observat ca procesul de **bioacumulare a ionilor de Cd<sup>2+</sup> de către celulele viabile ale microorganismului *B. megaterium* atinge echilibrul după 80 de ore de contact**, iar pentru *Rhodotorula* sp. timpul necesar este  $\geq 78$  ore.

Pentru stabilirea timpului necesar reducerii ionilor de Cr<sup>6+</sup> de către biomasa viabilă a bacteriei *B. megaterium* s-au realizat o serie de experimente la 3 concentrații inițiale ale Cr<sup>6+</sup> în soluție (10 mg/L; 25 mg/L; 50 mg/L) și pH-ul inițial 7 și s-a observat următorul comportament:

- la concentrația inițială de 10 mg Cr<sup>6+</sup>/L biomasa viabilă a bacteriei *B. megaterium* reduce complet ionii de Cr<sup>6+</sup> la Cr<sup>3+</sup> în doar 24 ore, în timp ce:
- la concentrația inițială de 25 mg Cr<sup>6+</sup>/L și 50 mg Cr<sup>6+</sup>/L reducerea completă a ionilor de Cr<sup>6+</sup> la Cr<sup>3+</sup> a necesitat un timp de contact de 72 de ore.

Pe baza acestor rezultate experimentale s-a constatat că **eliminarea Cr<sup>6+</sup> de către biomasa viabilă a microorganismului *B. megaterium* necesită un timp de contact de aproximativ 72 de ore.**

#### 4.7. Caracterizarea fizico-chimică a biosorbentilor utilizați în biosorbție/bioacumulare

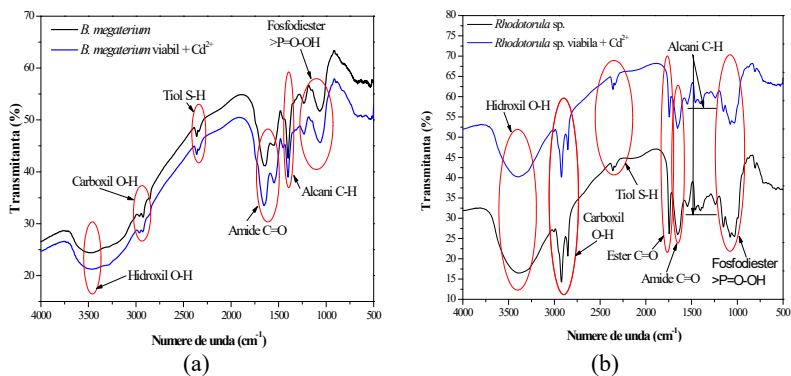
##### 4.7.1. Spectrele IR ale biosorbentilor neviabili și viabili utilizați

Spectroscopia în infraroșu s-a dovedit a fi un instrument valoros pentru studiul probelor biologice, deoarece acestea conțin în structura lor acizi nucleici, lipide și carbohidrați, care au grupări funcționale caracteristice cu moduri vibraționale moleculare unice (amprente vibraționale) corespunzătoare frecvențelor specifice în lumină infraroșie (Stuart, 2004).

Analizele FTIR au arătat prezența grupelor funcționale precum hidroxil, carboxil, fosfonat, fosfodiester, amino și altele pe suprafața microorganismelor utilizate ca biosorbenți, grupări funcționale care pot fi implicate în biosorbția ionilor  $Cd^{2+}$  (Barros și da Silva, 2018; Volesky, 2007).

Spectrele IR ale biomasei viabile rezultată în urma procesului de eliminare a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către bacteria *B. megaterium* și *Rhodotorula* sp. sunt prezentate în **fig. 4.31**.

Spectrele IR ale biomasei viabile a bacteriei *B. megaterium* după contactul cu ionii de  $Cd^{2+}$  arată că grupările funcționale cu maximele de absorbție la  $1064,00\text{ cm}^{-1}$ ,  $1557,20\text{ cm}^{-1}$ ,  $1649,68\text{ cm}^{-1}$ ,  $2921,20\text{ cm}^{-1}$  și  $3476,05\text{ cm}^{-1}$ , după contactul cu ionii de cadmiu își deplasează benzile de absorbție la  $1060,15\text{ cm}^{-1}$ ,  $1545,64\text{ cm}^{-1}$ ,  $1653,53\text{ cm}^{-1}$ ,  $2925,20\text{ cm}^{-1}$  și  $3464,48\text{ cm}^{-1}$ . Aceste valori corespund vibrației de întindere simetrică a legăturii P=O din grupările fosfodiester, legăturilor N-H și legăturilor C=O din amide, legăturilor C-H sau O-H din alcani sau acizi carboxilici și grupurilor hidroxil.

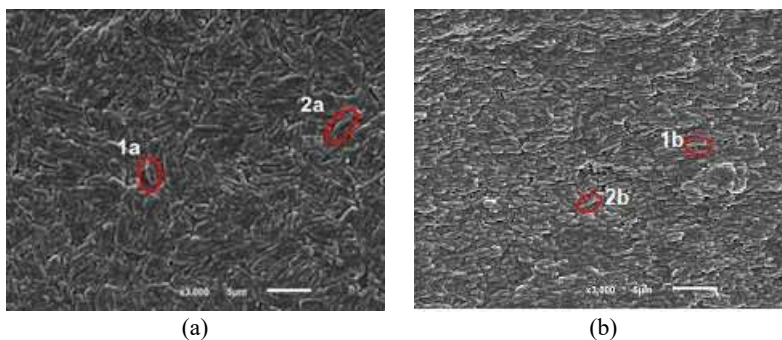


**Fig. 4.31.** Spectrele IR ale biosorbenților viabili utilizați pentru reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$  din soluție (a) *Bacillus megaterium* și (b) *Rhodotorula* sp.

#### 4.6.3. Analiza SEM a biosorbenților

Caracteristicile texturale ale bacteriei *B. megaterium* și drojdiei *Rhodotorula* sp. precum și posibilele modificări ale suprafeței biosorbenților după procesul de eliminare a ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  au fost analizate utilizând microscopia electronică. Biosorbenții au fost scanați și imaginile obținute după o mărire de 3000 de ori sunt prezentate în **fig. 4.34** și **fig. 4.35**. Imaginile SEM obținute evidențiază faptul că microorganismele utilizate pentru reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  își modifică aspectele structurale după contactul cu aceștia.

În cazul bacteriei *B. megaterium* s-a observat că, după contactul cu ioni de  $\text{Cd}^{2+}$  celulele neviabile au aproximativ aceeași formă, dar lungimea acestora se micșorează. Modificările indentificate pot fi observate cu ușurință comparând punctele 1a și 1b din **fig. 4.34a** cu punctele 1a și 1b din **fig 4.34b** și au fost cauzate probabil de ioni de cadmiu precipitați în jurul suprafeței celulare, legați de grupele funcționale și de procesul de schimb de ioni între biosorbent și ioni  $\text{Cd}^{2+}$  (Ghoneim și colab., 2014; Saravanan și colab., 2011).



**Fig. 4.34.** Analiza SEM a suprafeței bacteriei *Bacillus megaterium* (a) fără a avea contact cu ioni de  $\text{Cd}^{2+}$  și  $\text{Cr}^{6+}$ , (b) neviabilă după biosorbția ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$ , (c) viabilă după contactul cu ioni de  $\text{Cd}^{2+}$ , (d) neviabilă după biosorbția ionilor de  $\text{Cr}^{6+}$  și (e) viabilă după contactul cu ioni de  $\text{Cr}^{6+}$

## Capitolul 5.

### STUDII PRIVIND ELIMINAREA IONILOR DE CADMIU ȘI CROM ÎN COLOANĂ CU STRAT FIX UTILIZÂND MICROORGANISMELE *Bacillus megaterium* ȘI *Rhodotorula* sp. IMOBILIZATE PE ZEOLIT 13X

#### 5.1. Scopul și importanța cercetării

Biofilmele pot descompune sau transforma substanțele periculoase în metaboliți mai puțin toxici sau le pot degrada în produse netoxice. Prin urmare, biofilmele microbiene reprezintă alternative fezabile pentru bioremedierea, biotransformarea, bio-immobilizarea și degradarea compușilor toxici, inclusiv a metalelor grele prezente în mediu (van Hullebusch și colab., 2003; Mohapatra și colab., 2020; Sehar și Naz, 2016; Yadav, 2017).

**Scopul principal** al experimentelor realizate și prezentate în cadrul acestui capitol a fost de a **evalua potențialul celulelor microorganismele *Bacillus megaterium* și *Rhodotorula* sp. imobilizate pe zeolit de tip 13X de a reține prin adsorbție și bioacumulare ionii de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  din mediul lichid.**

Planul experimental a fost structurat pe următoarele direcții:

- **evaluarea capacității celulelor microbiene de a adera la suprafața suportului** prin analize specifice;
- **eliminarea ionilor  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  din soluții apoase de către microorganismelor *Bacillus megaterium* și *Rhodotorula* sp. imobilizate pe zeolit de tip 13X**, precum și de către suport;

## 5.2. *Caracterizarea suportului folosit pentru imobilizarea microorganismelor*

Zeoliții sunt utilizați datorită abundenței lor în natură, a costurilor reduse, a stabilității chimice ridicate și a proprietăților bune de adsorbție (Bacakova și colab., 2018; Li și colab., 2017; Margeta și colab., 2013).

Microorganismele imobilizate pe zeoliți au fost utilizate la producerea acidului lactic, a etanolului, biogazului, la reținerea azotaților, fosfaților, sau la reținerea din soluții apoase a metalelor grele (Moghaddam și colab., 2018).

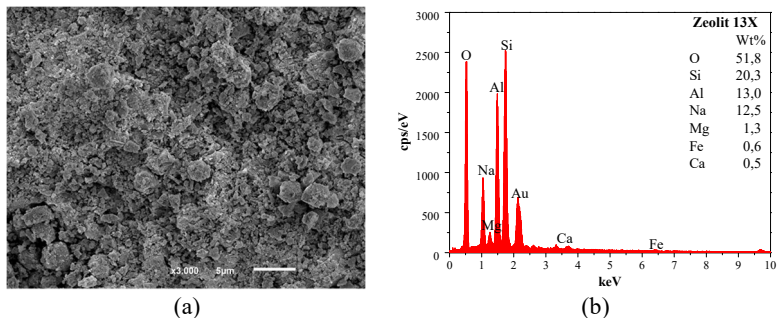
Zeolitul de tip 13X utilizat în cadrul acestei lucrări a fost achiziționat de la Xiamen Zhongzhao Imp.&Exp. Co., Ltd., China și, conform studiului realizat de Barros și colab. (2019), are următoarele caracteristici structurale:

- Aria suprafeței specifice determinată prin ecuația BET -  $S_{BET} = 576 \text{ m}^2/\text{g}$ ,
- Volumul total al porilor -  $V_{total} = 0,29 \text{ cm}^3/\text{g}$ ,
- Volumul microporilor -  $V_{micro} = 0,21 \text{ cm}^3/\text{g}$ ,
- Volumul mezoporilor -  $V_{meso} = 0,08 \text{ cm}^3/\text{g}$  și
- Dimensiunea medie a porilor =  $20 \text{ \AA}$ .

Pentru a obține mai multe informații despre caracteristicile fizico-chimice ale suportului de zeolit de tip 13X utilizat pentru imobilizarea celulelor microorganismelor selectate s-au utilizat: *spectroscopia IR*, *metoda aducerii la echilibru (drift method)* și *microscopia electronică cuplată cu spectrometria de dispersie cu raze X*. Toate aceste metode au oferit informații despre particularitățile structurale și morfologice ale suportului, care au fost utile în înțelegerea mecanismului procesului de reținere a metalelor grele de către celulele microbiene imobilizate pe zeolitul de tip 13X.

Microscopia electronică cuplată cu spectrometria de dispersie cu raze X a evidențiat că suprafața zeolitului de tip 13X este una rugoasă, neregulată (fig. 5.2a) și în compoziția acestuia se găsesc elementele precum: oxigen, siliciu, aluminiu, sodiu, magneziu, fier și calciu (fig. 5.2b).

Conform analizei EDX oxigenul se află în proporție masică de 51,8%, Si de 20,3%, Al de 13% și Na de 12,5%, iar restul de 2,4% corespunde celorlalte elemente (Mg, Fe și Ca). Na, Mg, Fe și Ca pot fi implicate în schimbul ionic dintre soluția cu ioni de metale grele și suportul de zeolit 13X.



**Fig. 5.2.** Caracterizarea zeolitului de tip 13X prin (a) microscopie electronică cuplată și (b) spectrometria de dispersie cu raze X

### 5.3. Reținerea ionilor de $Cd^{2+}$ din medii apoase de către celulele microbiale imobilizate pe suportul de zeolit 13X

#### 5.3.1. Reținerea a ionilor de $Cd^{2+}$ de către celulele bacteriei *Bacillus megaterium*

Întrucât, conform studiilor din literatură, zeoliții au capacitatea de a reține ionii de metale grele, s-au realizat în același timp experimente pentru stabilirea capacității zeolitului de tip 13X de a reține ionii de  $Cd^{2+}$  din soluții în aceleași condiții experimentale. Rezultatele studiilor privind influența concentrației inițiale asupra eficienței de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  sunt prezentate în fig. 5.3 pentru sistemul biofilm-zeolit 13X și în fig. 5.4 pentru zeolitul de tip 13X, iar în fig. 5.5 și fig. 5.6 cele privind influența fluxului lichid în coloană.

*B. megaterium* imobilizat pe suprafața zeolitului de tip 13X are o eficiență medie a reținerii de 42,87% la concentrația inițială a ionului metalului de 25 mg  $Cd^{2+}$ /L, de 55,58% la 50 mg  $Cd^{2+}$ /L și de 56,71% la 100 mg/L, constatându-se că eficiența sistemului biofilm-zeolit 13X crește odată cu creșterea concentrației. În intervalul 25-100 mg  $Cd^{2+}$ /L, sistemul biofilm-zeolit 13X a fost capabil să rețină în 25 de ore de funcționare 1,19 mg  $Cd^{2+}$ /g biofilm-zeolit 13X la concentrația de 25 mg/L, valoare care a crescut până la 6,26 mg  $Cd^{2+}$ /g biofilm-zeolit 13X, odată cu creșterea concentrației inițiale a  $Cd^{2+}$  la 100 mg/L. De asemenea, comparând rezultatele obținute de la sistemul



biofilm-zeolit 13X cu cele în care s-a utilizat doar zeolitul 13X, se constată că sistemul biofilm-zeolit 13X este mai eficient pentru reținerea ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  din soluții la concentrații cuprinse între 25 și 50 mg/L, dar mai puțin eficient la concentrații mai mari.

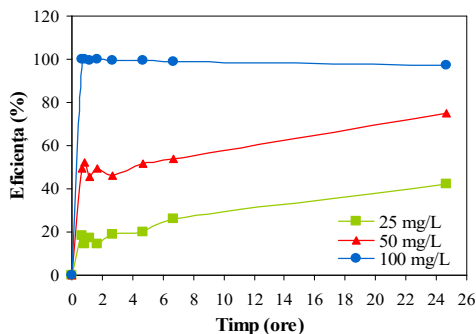


Fig. 5.4. Eficiența reținerii ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  de către zeolitul de tip 13X la diferite concentrații inițiale ale ionilor în soluție și debit constant de 10 mL/min

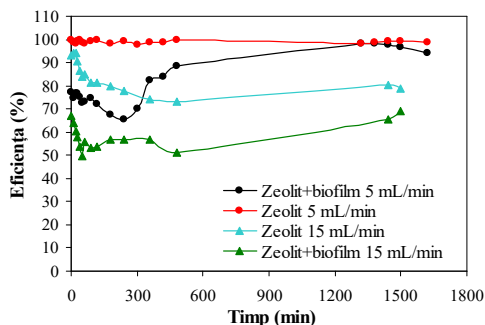


Fig. 5.5. Eficiența reținerii ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  de către celulele bacteriei *B. megaterium* imobilizate pe zeolitul de tip 13X și, respectiv, de către suportul zeolitic fără biofilm, la debitele soluției de 5 mL/min și 15 mL/min și concentrația inițială de 101,3 mg $\text{Cd}^{2+}$ /L

Eficiența medie de reținere a ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  este de 80,13 %, iar la debitul maxim considerat (20 mL/min) de doar 44,48%. Sistemul biofilm-zeolit 13X a fost capabil să rețină aproximativ 4,51 mg $\text{Cd}^{2+}$ /g de biofilm-zeolit 13X, în 1500 minute, din soluția apoasă la debitul de 5 mL/min, valoare care a crescut la 6,26 mg $\text{Cd}^{2+}$ /g de biofilm-zeolit 13X la un debit de 10 mL/min și, respectiv la 9,79 mg $\text{Cd}^{2+}$ /g de biofilm-zeolit 13X la 15 mL/min și 9,98 mg $\text{Cd}^{2+}$ /g de biofilm-zeolit 13X la 20 mL/min. Comparativ cu zeolitulul

de tip 13X, sistemul biofilm-zeolit 13X prezintă o capacitate de reținere mai mică a ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  și acesta pare să atingă capacitatea maximă la debitul de 20 mL/min (aproximativ 10 mg/g).

#### 5.4. Reținere ionilor de $\text{Cr}^{6+}$ de către celulele microorganismelor imobilizate pe suportul de zeolit 13X

Pe baza studiilor realizate în sistem discontinuu și prezentate în capitolul 4, pentru experimentele în coloană, pH-ul influentului a fost de aproximativ 7 pentru *B. megaterium* și 6 pentru *Rhodotorula* sp. Profilul concentrațiilor ionilor de  $\text{Cr}^{6+}$  în efluent în timp după contactul cu bacteria *B. megaterium* și cu drojdia *Rhodotorula* sp. imobilizate pe zeolitul de tip 13X sunt prezentate în fig. 5.8 și fig. 5.9.

Pentru sistemul *Bacillus megaterium* – zeolit 13X eficiența medie de reținere a ionilor de  $\text{Cr}^{6+}$  pe parcursul celor 480 minute de funcționare a fost de 8,19% pentru concentrația de 16 mg/L, 6,04% pentru 30 mg/L, 4,37% pentru 75 mg/L și 5,16% pentru 94 mg/L. La concentrația de 16 mg/L în primele 20 minute (faza I) biofilmul bacterial format reține din soluție aproximativ 27,06 % din cantitatea de  $\text{Cr}^{6+}$ , apoi eficiența scade treptat la 3,67% (după 30 minute) și în final la 0,82%. La concentrațiile de 30, 75 și 94 mg/L prima fază este cuprinsă în intervalul 0-30 minute, în care eficiențele maxime au fost de 15,58%, 7,16%, respectiv 11,61%. La concentrațiile de 75 mg/L și 94 mg/L s-a constatat că eficiențele de reținere a ionilor de  $\text{Cr}^{6+}$  au început să crească din minutul 300 de funcționare (10,02%, respectiv 12,32%).

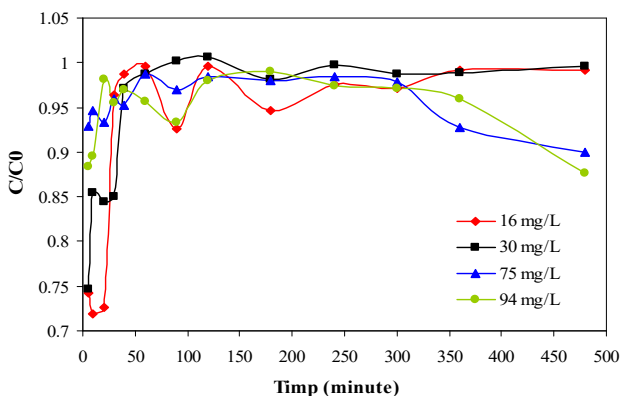


Fig. 5.8. Reținerea ionilor de  $\text{Cr}^{6+}$  de către celulele bacteriei *B. megaterium* imobilizate pe zeolit 13X

## 5.5. Caracterizarea fizico-chimică a suportului de zeolit cu și fără biofilm după reținerea ionilor metalici

### 5.5.1. Spectrele IR ale suportului de zeolit cu și fără biofilm după reținerea ionilor metalici

Benzile de absorbție care, de asemenea își modifică intensitatea după formarea biofilmului și reținerea ionilor metalici sunt cele indentificate la  $3481,5\text{ cm}^{-1}$ ,  $2367,3 - 2340,3\text{ cm}^{-1}$ ,  $1646,3\text{ cm}^{-1}$ ,  $755,7\text{ cm}^{-1}$  și  $674,7\text{ cm}^{-1}$ , care pot fi atribuite legăturii O-H, întinderii vibraționale O=C=O, legătura C=O din amide din materia organică și vibrației de întindere simetrică a legăturilor T-O din suportul de zeolit 13X. Schimbări asemănătoare au fost observate și de Quintelas și colab. (2013) la probele cu *Arthrobacter viscosus* imobilizat pe zeolit de tip 13X după reținerea ionilor de  $\text{Ni}^{2+}$ . Pentru restul probelor, spectrele IR, sunt indentice cu cel al zeolitului de tip 13X neutilizat după contactul cu ionii metalici, ceea ce indică faptul că reținerea ionilor metalici s-a realizat prin procese fizice și că pe suportul de zeolit nu există un strat semnificativ de biomasă.

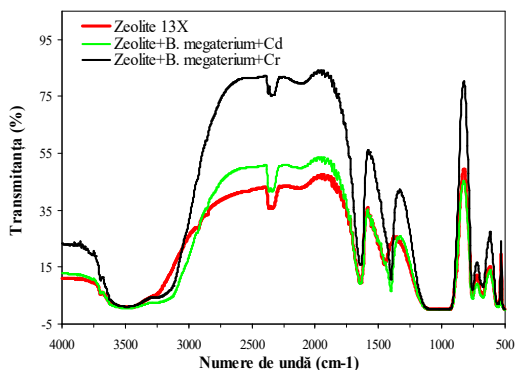
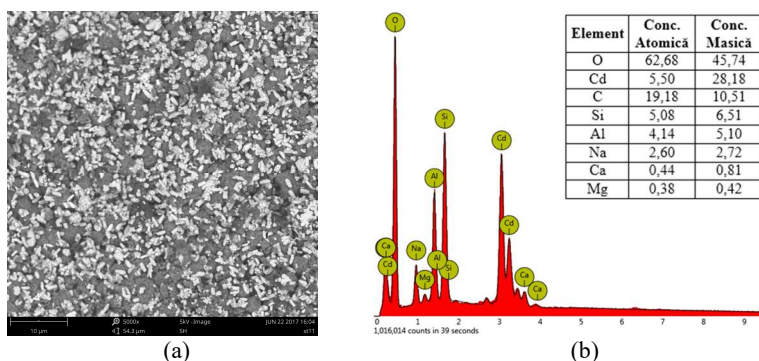


Fig. 5.11. Spectrele IR ale zeolitului 13X înainte și după reținerea ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$

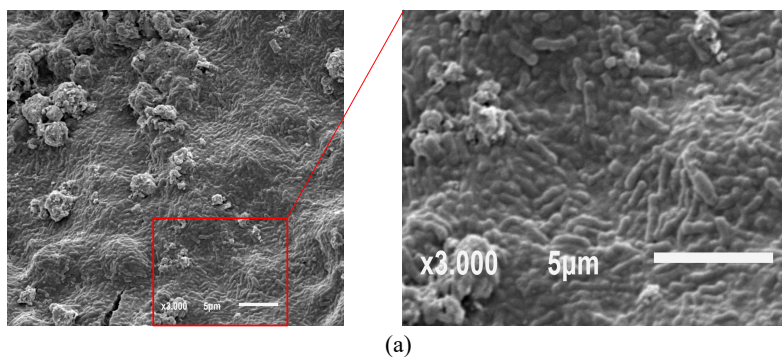
### 5.5.2. Analize SEM și EDX ale suportului de zeolit cu și fără biofilm după reținerea ionilor metalici

Microscopia electronică de baleiaj (SEM) a fost utilizată pentru a caracteriza probele colectate din coloane după ce au fost reținuți ionii de  $\text{Cd}^{2+}$  și  $\text{Cr}^{6+}$  din soluție. În fig. 5.13a este prezentat aspectul zeolitului 13X după contactul cu ionii de  $\text{Cd}^{2+}$ , iar în fig. 5.13b compoziția elementală a acestuia. Analiza SEM indică existența pe suprafața zeolitului a unor particule albe, ceea ce, conform lui Costa (2016) reprezintă ionii de  $\text{Cd}^{2+}$  reținuți de zeolitul de tip 13X.

Proble de biofilm au fost colectate din coloane după reținerea ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  și  $\text{Cr}^{6+}$  și scanate prin microscopie electronică pentru a confirma existența precum și buna aderență a biofilmului format pe suprafața suportului de zeolit 13X. Imaginile obținute sunt prezentate în fig. 5.14 și fig. 5.15. Analiza figurilor arată că biofilmul format de bacteria *B. megaterium* acoperă uniform suprafața zeolitului și după contactul cu ionii de  $\text{Cd}^{2+}$  celulele bacteriei își păstrează forma (fig. 5.14a), dar după contactul cu ionii de  $\text{Cr}^{6+}$  celulele își pierd forma și se unesc căpătând un aspect gelatinos (fig. 5.14b).



**Fig. 5.13.** Analiza (a) SEM și (b) EDX a zeolitului 13X după reținerea ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  în coloană



**Fig. 5.14.** Analizele SEM a biofilmului bacteriei *B. megaterium* după contactul cu (a) ionii de  $\text{Cd}^{2+}$  și (b) ionii de  $\text{Cr}^{6+}$

## Capitolul 6.

# STUDII PRIVIND REȚINEREA IONILOR DE $Cd^{2+}$ ÎN BIOREACTOARE CU AGITARE MECANICĂ ȘI PNEUMATICĂ UTILIZÂND BACTERIA *Bacillus megaterium* ÎN SUSPENSIE

### 6.1. Scopul și importanța cercetării

Bioacumularea ionilor metalici de către celulele microbiene se poate realiza în sisteme de contactare (bioreactoare) cu diferite configurații, în care biomasa se poate afla sub formă de biofilm pe suprafața unor straturi solide fixe, în stare de suspensie ca atare sau imobilizată pe particule solide (Shamim, 2018).

STBR este utilizat pe scară largă în multe aplicații industriale și unități de epurare a efluenților contaminați cu diferiți poluanți, având o configurație simplă și fiind relativ ușor de exploatat. Acest tip de bioreactor permite controlul temperaturii, pH-ului reacției și este ideal pentru aplicații în care microorganismele trebuie să fie menținute în stare viabilă sau metabolică activă. Avantajele STBR includ transferul eficient de oxigen către celulele în creștere, amestecarea bună a fazelor în bioreactor și condiții de funcționare flexibile (Jossen și colab., 2017).

În bioreactoarele de tip gaz lift (ALR) circulația și aerarea amestecului se efectuează prin injecție de gaz și, dacă este necesar, prin circulație suplimentară de lichid extern, pentru a obține modelul de amestecare adecvat (Gavrilescu, 1997; Roșca și colab., 2015). Caracteristicilor lor hidrodinamice particulare, care pot fi ușor modificate prin selectarea unui set de parametri geometrici și de funcționare, determină ca acestea să fie atractive în cercetare și industrie. Reactoarele ALRs sunt aplicate în diverse procese biotehnologice și cele de mediu, deoarece asigură un transfer de masă și căldură ridicat, viteză bună de circulație a fluidelor, timpi de amestecare scurți și rate scăzute de forfecare (Chisti and Jáuregui-Haza, 2002; Gavrilescu și colab., 2008; Valdivia-Rivera și colab., 2019).

**Scopul principal** al experimentelor realizate și prezentate în cadrul acestui capitol a fost de a **evalua potențialul bacteriei *Bacillus megaterium* în suspensie de a reține ionii de  $Cd^{2+}$  prin biosorbție și bioacumulare în bioreactoarele cu agitare mecanică și pneumatică la diferite concentrații ale ionilor în soluție și condiții de operare.**

## 6.2. Analiza performanțele privind reținerea ionilor de $Cd^{2+}$ prin biosorbție și bioacumulare de către bacteria *B. megaterium* aflată în suspensie în bioreactorul cu agitare mecanică

Experimentele ce au vizat determinarea capacității bacteriei *B. megaterium* de a reține prin biosorbție-bioacumulare ionii de  $Cd^{2+}$  s-au realizat la temperatura camerei, de  $25 \pm 2^{\circ}C$  și la pH-ul inițial 6, stabilit pe baza experimentelor realizate în sistem discontinuu în flacoane cu agitare orbitală (Capitolul 4). Evaluarea performanțelor de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către celulele viabile ale bacteriei *B. megaterium* în suspensie în bioreactorul cu agitare mecanică s-au realizat la diferite valori ale:

- vitezei de rotație a agitatorului
- debitului de aer introdus în bioreactor
- concentrației inițiale a ionilor în soluție
- timpului de contact a lichidului în bioreactor

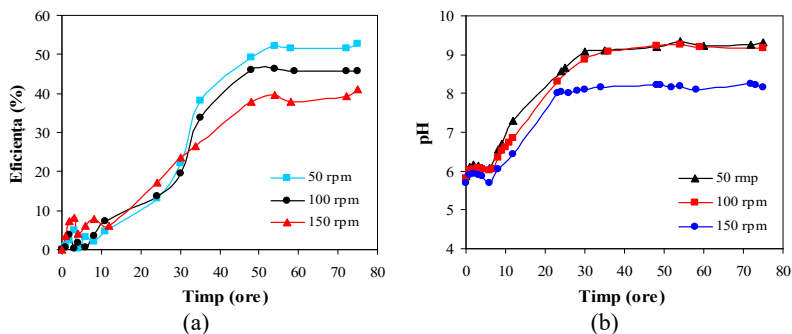
Pe parcursul fiecărui experiment realizat s-au monitorizat evoluția biomasei în bioreactor, a pH-ului, precum și a consumului de oxigen de către celulele microbiene.

### 6.2.1. Influența vitezei de rotație a agitatorului asupra eficienței procesului de biosorbție-bioacumulare a ionilor de $Cd^{2+}$

În STBR amestecarea fluidului este promovată în principal de rotația agitatorului, care favorizează circulația și distribuția fluidului în întreg volumul vasului, realizând astfel amestecarea tuturor componentelor, menținând particulele solide în suspensie (Jossen și colab., 2017). Pe lângă aceasta, agitatorul are rolul de a scinda bulele de gaz, asigurând astfel o arie mare a suprafeței interfaciale favorabilă transferului de masă gaz-lichid, de a dispersa bulele în masa de lichid, de a menține un timp suficient bulele de gaz în lichid asigurând astfel o reținere bună a gazului, de a maximiza coeficienții de transfer de căldură și masă (Scargiali, 2007; Wang și Zhong, 2007). Pentru procesele biologice puterea furnizată agitatorului trebuie să fie suficientă pentru a forma un amestec omogen, dar care să nu deterioreze celulele microbiene (Jossen și colab., 2017; Wang și Zhong, 2007).

La concentrația inițială a ionilor de  $Cd^{2+}$  de aproximativ 50 mg/L, debitul de aer de 0,2 L/min și vitezele de rotație ale agitatorului de 50, 100 și 150 rpm bacteria *B. megaterium* a fost capabilă să rețină cea mai mare cantitate de  $Cd^{2+}$  la valoarea de 50 rpm. Eficiențele procesului au fost 52,60% la 50 rpm, 45,86% la 100 rpm și 40,97% la 150 rpm și au fost obținute după un timp de contact a lichidului în bioreactor între 72 și 75 de ore. Aceste rezultate evidențiază faptul că la regimuri de curgere turbulente ( $Re_{ag} > 1000$ ) capacitatea de bioacumularea a ionilor de  $Cd^{2+}$  este afectată în mod negativ.

Conform celor prezentate de Kanamarlapudi și colab. (2018), aceste efecte ar putea fi consecința unei turbulențe excesive care reduce timpul de interacțiune dintre ionii de  $Cd^{2+}$  și suprafața celulelor bacteriei *B. megaterium*.



**Fig. 6.2.** (a) Eficiența de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium* la diferite viteze de rotație a agitatorului; (b) evoluția pH-ului în timp ( $C_i = 50$  mg/L și debitul de aer = 0,2 L/min)

Monitorizarea evoluției pH-ului pe parcursul desfășurării experimentelor a arătat că acesta crește odată cu dezvoltarea microbiană în bioreactor, astfel că, la final de proces valoarea acestuia ajunge la 9,33 la 50 rpm; 9,17 la 100 rpm; 8,15 la 150 rpm (fig. 6.2b). Aceste modificări ale pH-ului mediului se datorează activității metabolice a bacteriei (Ratzke și Gore, 2018). Conform rezultatelor prezentate de Wu și colab. (2019) bacteria *B. megaterium* face parte din categoria bacteriilor care secretă amoniac, explicându-se astfel creșterea pH-ului în timpul experimentelor. Diferența de peste o unitate între valorile pH-ului de la experimentele în care s-a considerat viteza de rotație a agitatorului de 50 rpm și cele la 150 rpm indică faptul că vitezele mai mari de rotație ale agitatorului determină reducerea secreției de amoniac a bacteria *B. megaterium*, dar nu și dezvoltarea biomasei.

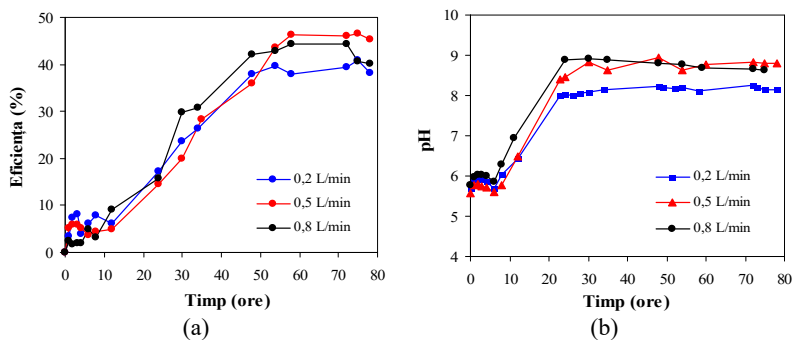
### 6.2.2. Influența debitului de aer asupra eficienței procesului de bioacumulare a ionilor de $Cd^{2+}$

Prezența oxigenului în mediile de cultură este vitală pentru dezvoltarea microorganismelor aerobe implicate în procesele de bioacumulare a metalelor grele (Gavrilescu, 2013).

Pentru stabilirea debitului de aer adecvat pentru obținerea unor eficiențe cât mai ridicate pentru bioacumularea ionilor de  $Cd^{2+}$  debitul de aer introdus a fost variat între 0,2 și 0,8 L/min. Conform matricei experimentale generată

de modelul *Full Factorial Design*, concentrația inițială a ionilor în soluție a fost de 50 mg/L și viteza de rotație a agitatorului de 150 rpm.

În condițiile experimentale stabilite, cele mai mari eficiențe au fost obținute la debitul de aer de 0,5 L/min, după 72 de ore de contact a lichidului în bioreactor. Bacteria *B. megaterium* a bioacumulat aproximativ 40,97% din cantitate de ioni de  $Cd^{2+}$  aflați în mediul lichid la debitul de aer de 0,2 L/min; 46,57 % la debitul de 0,5 L/min; 44,35% la 0,8 L/min (fig. 6.4a).



**Fig. 6.4.** (a) Eficiența reținerii ionilor de  $Cd^{2+}$  prin biosorbție-bioacumulare de către *B. megaterium* în timp și la diferite debite ale aerului; (b) evoluția pH-ului în timp la diferite debite ale aerului introdus în bioreactor ( $C_i = 50$  mg/L și viteza de rotație a agitatorului = 150 rpm)

Rezultatele experimentelor realizate la diferite valori ale debitului de aer introdus în bioreactor evidențiază că asigurarea cantității necesare de oxigen duce la creșterea performanțelor de biosorbție-bioacumulare a microorganismelor, dar injectarea unei cantități prea mari/mici provoacă efecte negative asupra procesului. Efectele observate pot fi cauza faptului că un debit prea mare de aer introdus în STBR duce la creșterea turbulenței în bioreactor și, implicit la scăderea timpului de contact dintre poluant și suprafața celulelor microbiene.

### 6.2.3. Influența concentrației inițiale a ionilor în soluție asupra eficienței procesului de biosorbție-bioacumulare a ionilor de $Cd^{2+}$

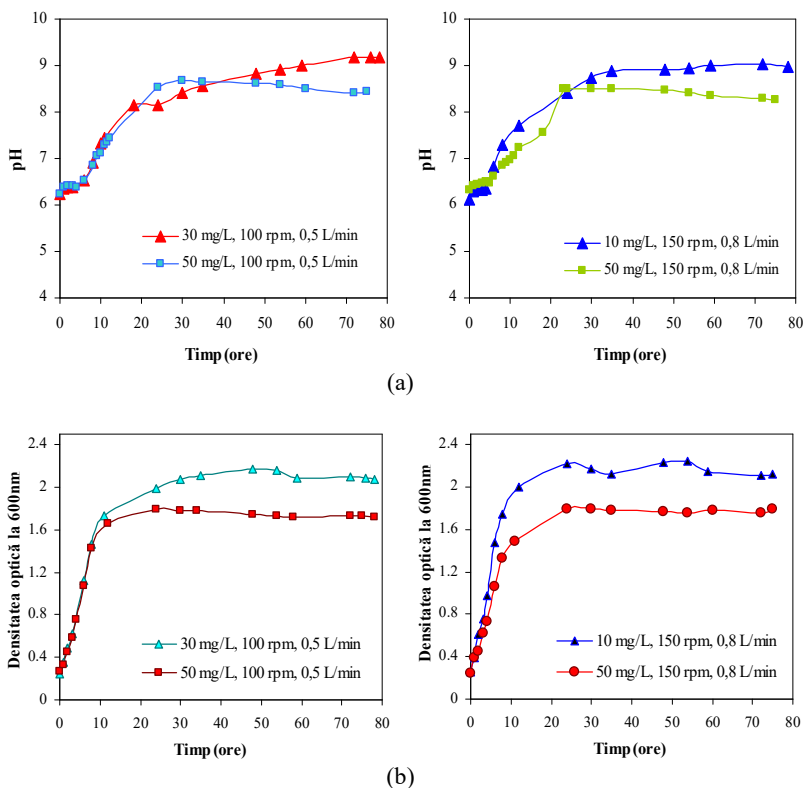
Performanțele bacteriei *B. megaterium* de a bioacumula ionii de  $Cd^{2+}$  în STBR au fost evaluate la concentrațiile inițiale de 10, 30 și 50 mg/L. Pentru evaluarea influenței concentrației inițiale asupra procesului, pe parcursul experimentelor s-a monitorizat pH-ul și consumul de oxigen și s-a măsurat densitatea optică a sistemului eterogen la 600 nm.



La debitul de aer de **0,5 L/min** și viteza de rotație a agitatorului de **100 rpm** eficiența maximă la concentrația inițială a soluției de metal de **30 mg Cd<sup>2+</sup>/L** a fost de 58,26% după 54 de ore de operare; 60,70 după 72 de ore; 60,97% după 76 de ore de operare. În aceleași condiții de operare, la concentrația inițială de aproximativ **50 mg Cd<sup>2+</sup>/L**, eficiența de biosorbție-bioacumulare a ionilor de Cd<sup>2+</sup> după 54 de ore de reținere a lichidului în bioreactor a fost de 49,87%; după 72 de ore de 55,52%, respectiv 57,21% după 76 de ore.

Pentru debitul de aer de **0,2 L/min**, viteza de rotație a agitatorului de **150 rpm** și concentrația inițială de **10 mg Cd<sup>2+</sup>/L**, după 48 de ore de operare în STBR bacteria *B. megaterium* a reținut ionii de Cd<sup>2+</sup> din soluție cu o eficiență de aproximativ 82,26%, iar după 76 de ore eficiența procesului a fost de 82,83%. La concentrația de **50 mg/L** și aceleași valori ale debitului de aer și vitezei de rotație a agitatorului, după 48 de ore bacteria *B. megaterium* a bioacumulat aproximativ 37,83% din ionii de Cd<sup>2+</sup>, iar după 76 de ore aproximativ 40,97%. Aceste rezultate evidențiază faptul că eficiența de biosorbție-bioacumulare a ionilor de Cd<sup>2+</sup> de către bacteria *B. megaterium* crește odată cu scăderea concentrației inițiale a ionilor în soluție, tendiță constatată și de către Gola și colab. (2020) la consorțiul de microorganisme utilizat pentru biosorbția-bioacumularea ionilor de Cd, Cu, Cr, Zn, Pb și Ni în STBR.

Modificarea concentrației inițiale a ionilor de Cd<sup>2+</sup> în soluție în intervalul 10-50 mg/L afectează nu doar capacitatea de biosorbție-bioacumulare a ionilor de Cd<sup>2+</sup>, cât și activitatea normală a microorganismului. Din fig. 6.7a se poate observa că, odată cu creșterea concentrației inițiale a ionilor în soluție, pH-ul la final de proces are valori mai mici, ceea ce înseamnă că bacteria *B. megaterium* eliberează în mediul lichid mai puțin amoniac. De asemenea, odată cu creșterea concentrației inițiale a ionilor în soluție, dezvoltarea biomasei este încetinită. Densitatea optică a amestecului *mediu de creștere-bacterie-cadmium* în faza de creștere staționară a avut valori mai mici la concentrația de 50 mg Cd<sup>2+</sup>/L comparativ cu situația la concentrația inițială de 10 mg/L și, respectiv 30 mg Cd<sup>2+</sup>/L (fig. 6.7b). Studiile privind influența debitului de aer și viteza de rotație a agitatorului au arătat că la debitul de 0,5 L/min și 0,8 L/min și viteza de rotație a agitatorului de 100 rpm și 150 rpm valorile pH-ului precum și ale absorbției amestecului *mediu de creștere-bacterie-cadmium* sunt similare, ceea ce înseamnă că ionii de Cd<sup>2+</sup> aflați în concentrații ≤ 30 mg/L nu afectează dezvoltarea biomasei și sinteza de amoniac de către celulele bacteriei *B. megaterium*.



**Fig. 6.7.** (a) Evoluția pH-ului, (b) dezvoltarea biomasei și (c) consumul de oxigen la diferite valori ale concentrației inițiale a ionilor în soluție, a debitului de aer și vitezei de rotație a agitatorului

### 6.3. Performanțele bacteriei *B. megaterium* aflată în suspensie de a bioacumula ionii de $Cd^{2+}$ în bioreactorul gaz-lift

Parametrii geometrici ai ALR determină în mare măsură caracteristicile hidrodinamice din bioreactor și, prin urmare, au o influență asupra fenomenelor de transfer de masă în timpul proceselor biologice (Gavrilescu și colab., 1997; Valdivia-Rivera și colab., 2019). Pentru studiul procesului de biosorbție-bioacumulare a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium* s-a utilizat un bioreactorul air-lift cu tub concentric din plexiglass cu următoarele caracteristici:

- raportul dintre înălțimea tubului concentric și înălțimea de funcționare de aproximativ 0,77;
- raportul dintre înălțimea de funcționare și diametrul reactorului de aproximativ 11,14;
- raportul dintre diametrul intern a tubului concentric și diametrul reactorului de aproximativ 0,43.

Pentru aplicarea proceselor biologice în bioreactoarele pneumatice de tip gaz lift este importantă studierea influenței debitului de aer introdus în reactor asupra procesului deoarece:

- aerul asigură omogenizarea amestecului gaz-solid-lichid;
- asigură oxigenul necesar dezvoltării biomasei microorganismului utilizat pentru bioacumularea ionilor de metale grele.

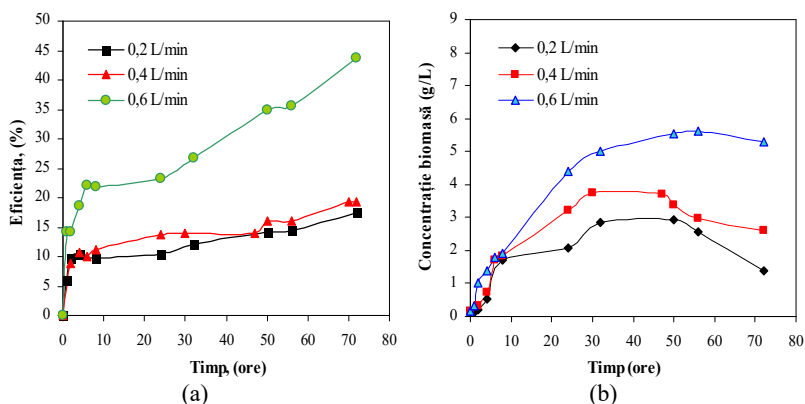
Un debit prea mare sau prea mic de aer introdus în bioreactor poate avea efecte negative atât asupra performanțelor procesului studiat, cât și asupra dezvoltării microorganismelor. Spre exemplu, Kang și colab. (2000) au observat că variația debitului de aer între 0.25 m<sup>3</sup>/h și 1 m<sup>3</sup>/h introdus în ALR afectează atât dezvoltarea biomasei microorganismului *Sclerotium glaucum*, cât și sinteza scleroglucan. Concentrațiile maxime ale biomasei precum și a scleroglucanului în mediu au fost obținute atunci când debitul de aer a variat între 0,5 și 0,75 m<sup>3</sup>/h.

În acest context, experimentele ce au vizat determinarea capacității bacteriei *B. megaterium* de a bioacumula ionii de Cd<sup>2+</sup> în bioreactorul de tip gaz-lift s-au realizat în regim discontinuu, la temperatura camerei de aproximativ 26 ± 2°C și la pH-ul inițial de 6 stabilit pe baza experimentelor realizate în sistem discontinuu în flacoane cu agitare orbitală (Capitolul 4). Evaluarea performanțelor de reținere a ionilor de Cd<sup>2+</sup> de către celulele viabile ale bacteriei *B. megaterium* în suspensie în bioreactorul gaz-lift s-au realizat la diferite valori ale debitului de aer introdus în bioreactor, concentrației inițiale a ionilor în soluție și timpului de contact a lichidului în bioreactor.

### 6.3.1. Influența debitului de aer asupra eficienței procesului de biosorbție-bioacumulare a ionilor de Cd<sup>2+</sup> în bioreactorul gaz-lift

Amestecul aflat în interiorul bioreactorului ALR este un sistem trifazic format dintr-o fază lichidă, una gazoasă și una solidă (biomasa), între care se formează interacțiuni complexe și au loc reacții biologice. Creșterea intensității amestecării prin intermediul fluxului de aer permite distribuția uniformă a nutrienților, a concentrației de oxigen, precum și a temperaturii, influențând astfel multiplicarea celulară a microorganismului, precum și activitatea metabolică a acestuia și capacitatea de bioacumulare a ionilor metalici (Znad și colab., 2010; Kang și colab., 2000; Pham și colab. (2017)

Studiile privind efectul debitului de aer asupra bioacumulării ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  de către *B. megaterium* în bioreactorul de tip gaz-lift cu tub concentric arată că, atât eficiența procesului de biosorbție-bioacumulare, cât și dezvoltarea biomasei sunt dependente de debitul de aer introdus în bioreactor, dar și de concentrația inițială a ionului metalic faza apoasă. Fig. 6.10 ilustrează efectul debitului de aer asupra eficienței biosorbției-bioacumulării ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  și a dezvoltării biomasei la concentrația inițială de 25 mg/L și temperatură ambientală (aproximativ  $25\pm 2^\circ\text{C}$ ). Din fig. 6.10a se observă clar faptul că o creștere a debitului de aer de la 0,2 la 0,6 L/min duce la creșterea eficienței procesului, precum și la dezvoltarea biomasei active.



**Fig. 6.10.** (a) Influența debitului de aer asupra eficienței de reținere a ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  în bioreactorul gaz-lift; (b) biomasa viabilă în timp la diferitele valori ale debitului de aer (concentrația inițială a soluției: 25 mg  $\text{Cd}^{2+}$ /L)

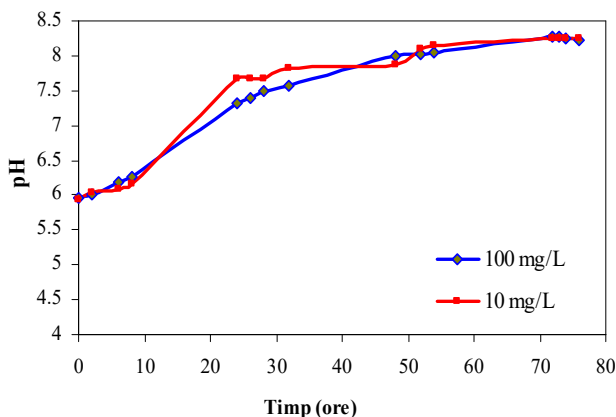
Monitorizarea pH-ului pe toată durata experimentelor arată că modificarea debitului de aer între 0,2 și 0,6 L/min are influență asupra valorii acestuia la final de proces. La debitul aerului de 0,2 L/min și concentrația inițială de aproximativ 25 mg/L, la final de proces, pH-ul fluidului din bioreactor a crescut de la 5,88 la 8,21, iar la debitul aerului de 0,6 L/min de la 5,96 la 8,45. Pe baza acestor valori se poate afirma faptul că mărirea debitului de aer de la 0,2 la 0,6 L/min influențează activitatea metabolică a bacteriei *B. megaterium* și stimulează secreția de amoniac, determinând astfel creșterea pH-ului la final de proces odată cu creșterea debitului de aer în domeniul studiat. Conform datelor prezentate de Torres-Aravena și colab. (2018) amoniacul eliberat de bacterie poate duce la precipitarea ionilor de

$Cd^{2+}$  în soluție, indicând astfel că unul dintre mecanismele implicate în bioacumularea ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium* este bio-precipitarea.

### 6.3.2. Influența concentrației inițiale a ionilor în soluție asupra eficienței procesului de biosorbție-bioacumulare a ionilor de $Cd^{2+}$ în bioreactorul gaz-lift

Studiile realizate la diferite valori ale concentrației inițiale a ionilor de  $Cd^{2+}$  în domeniul 10-100 mg/L au arătat că eficiența reținerii acestor ioni de către *B. megaterium* este dependentă de concentrația inițială a ionilor în soluție. Eficiența reținerii ionilor de  $Cd^{2+}$  a scăzut odată cu creșterea concentrației inițiale, tendință care se datorează, cel mai probabil, toxicității acestor ioni. La concentrația de 10 mg  $Cd^{2+}$ /L eficiența procesului a fost de aproximativ 90,37%; la concentrația de 25 mg  $Cd^{2+}$ /L de 43,67%; la concentrația de 100 mg  $Cd^{2+}$ /L eficiența procesului a scăzut la 27,65%. Această comportare este consecința faptului că valorile ridicate ale concentrației ionilor în soluție afectează multiplicarea celulară a bacteriei. La concentrația de 10 mg  $Cd^{2+}$ /L se obține cea mai mare cantitate de biomasă la final de proces, respectiv 6,02 g/L, cantitate ce scade la 5,63 g/L la concentrația de 25 mg  $Cd^{2+}$ /L și la 1,70 g/L la concentrația de 100 mg  $Cd^{2+}$ /L.

Din monitorizarea pH-ului pe parcursul experimentelor (fig. 6.13) se observă că pH-ul mediului la final nu este semnificativ afectat de creșterea concentrației inițiale a ionilor de  $Cd^{2+}$ , acesta fiind de 8,26 la concentrația de 10 mg/L și de 8,23 la concentrația de 100 mg/L.



**Fig. 6.13.** Evoluția pH-ului în timpul procesului de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  în bioreactorul gaz-lift la diferite valori ale concentrației inițiale a ionilor în soluție

## Capitolul 7.

### MODELAREA MATEMATICĂ EMPIRICĂ PENTRU DESCRIEREA ȘI OPTIMIZAREA POTENȚIALULUI DE ELIMINARE A IONILOR METALICI ÎN BIOREACTOARE

#### 7.1. Scopul și importanța cercetării

**Obiectivul principal** al acestui capitol este de a realiza **modelarea empirică a proceselor de biosorbție-bioacumulare a ionilor  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium***, în bioreactoare cu strat fix, în suspensie cu agitare mecanică și, respectiv pneumatice, de tipul gaz-lift, aplicând instrumente ale regresiei neliniare, în vederea evaluării factorilor de influență și a ponderii acestora, precum și pentru optimizarea procesului.

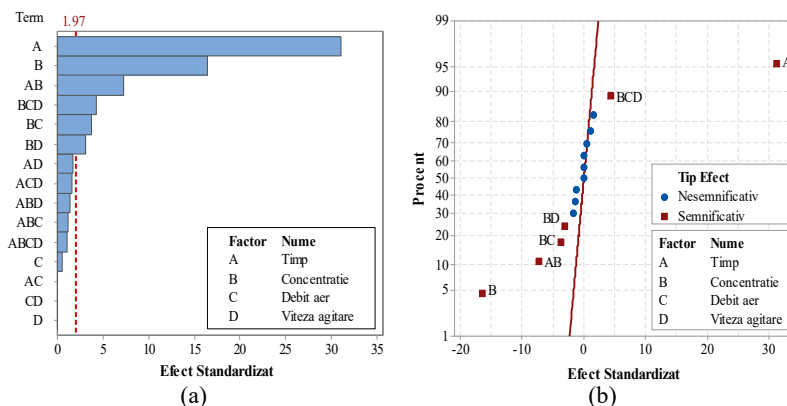
7.2. *Evaluarea factorilor relaționați cu configurația și modul de funcționare a bioreactoarelor și modelarea matematică a rezultatelor prin analiză de regresie*

##### 7.2.1. *Reținerea ionilor de $Cd^{2+}$ în coloanele cu strat fix*

Pentru evaluarea influenței acestor factori s-a utilizat **metoda analizei factoriale și metodologia suprafeței de răspuns**. Dintre variabilele testate, **conform metodei de analiză factorială, debitul fluidului în coloană, concentrația inițială a ionilor în soluție și interacțiunile timp de funcționare\*debit fluid și timp de funcționare\*concentrația inițială a ionilor în soluție** au efecte semnificative asupra procesului de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către sistemul *B. megaterium*-zeolit 13X. **Metodologia suprafeței de răspuns** aplicată datelor experimentale arată că și termenul  $B*B$  (pătratul timpului de funcționare) prezintă efect semnificativ asupra procesului,  $p = 0,022$ . În cazul procesului de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către zeolitul de tip 13X, conform *valorilor p* furnizate de ANOVA toți factorii considerați precum și interacțiunile dintre aceștia prezintă efecte semnificative asupra procesului. *Valorile p* obținute variază între 0 și 0,04.

##### 7.2.2. *Reținerea ionilor de $Cd^{2+}$ în bioreactorul cu agitare mecanică*

Diagrama Pareto și curba normală a efectelor standardizate (fig. 7.11) evidențiază amploarea, importanța și direcția efectelor factorilor și a interacțiunii dintre aceștia asupra bioacumulării ionilor de  $Cd^{2+}$  de către bacteria *B. megaterium*.

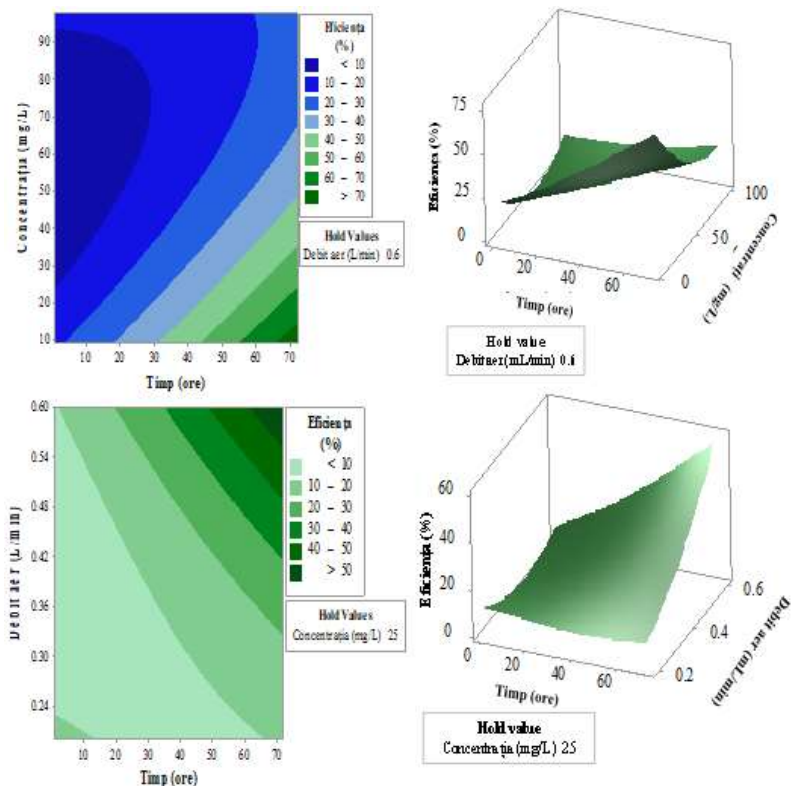


**Fig. 7.11.** (a) Diagrama Pareto și (b) curba normală a efectelor standardizate pentru factorii ce influențează procesul de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium* în bioreactorul cu agitare mecanică

Conform celor două reprezentări grafice, concentrația inițială a ionilor în soluție și interacțiunile acesteia cu debitul de aer sau cu viteza de rotație a agitatorului au efecte semnificative negative asupra bioacumulării ionilor de  $Cd^{2+}$ , iar timpul de contact a lichidului în bioreactor și interacțiunea dintre concentrație ionilor în soluție, debitul de aer și viteza de rotație a agitatorului au efecte semnificative pozitive.

### 7.2.3. Reținerea ionilor de $Cd^{2+}$ în bioreactorul gaz-lift

Reprezentarea prin linii de contur și suprafața de răspuns specifice ecuației de regresie prin metodologia suprafeței de răspuns aplicată datelor experimentale este utilă pentru a vizualiza relația dintre răspunsul și nivelurile experimentale ale fiecărui factor și pentru stabilirea valorilor de răspuns dorite și a condițiilor de funcționare. În fig. 7.17 sunt ilustrate reprezentările grafice prin linii de contur și 3D a influenței timpului de contact a lichidului în bioreactor, debitul aerului introdus și concentrația inițială a ionilor în soluție asupra eficienței de bioacumulare a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium* în suspensie. Reprezentările grafice prin linii de contur și 3D au evidențiat că valorile maxime ale eficienței de bioacumularea a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium* se obțin la debitul de 0,6 L/min, după un timp de reținere în bioreactor de aproximativ 72 de ore. De asemenea din aceste reprezentări grafice se observă că bacteria acumulează mai eficient ionii de  $Cd^{2+}$  atunci când aceștia se găsesc în concentrații mici (sub 10 mg/L).



**Fig. 7.17.** Reprezentarea grafică prin linii de contur și suprafața de răspuns a influenței timpului, concentrației ionilor în soluție și debitului de aer asupra eficienței procesului de bioacumulare a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium* în bioreactorul gaz-lift cu tub concentric

### 7.3. Optimizarea proceselor de reținere a ionilor de $Cd^{2+}$ în bioreactoare

În contextul prezentei lucrări, optimizarea presupune stabilirea celor mai bune soluții, prin maximizarea funcției obiectiv (a eficienței reținerii ionilor de  $Cd^{2+}$ ). Pentru determinarea soluției optime (a celei mai favorabile) s-a stabilit un nivel minim și maxim al fiecărei variabile independente și s-a asociat o pondere pentru a se ajusta forma funcției obiectiv (de dezirabilitate - D). Scopul lucrării este maximizarea funcțiilor obiectiv (a eficienței reținerii ionilor de  $Cd^{2+}$ ), prin parcurgerea pas cu pas a domeniului experimental până la atingerea valorii maxime. Întrucât metoda care se potrivește cel mai bine



cu rezultatele experimentale este metodologia suprafeței de răspuns, există posibilitatea existenței a mai multor variante ale soluțiilor favorabile. Acest lucru se poate întâmpla deoarece această metodă nu are o curbă constantă, ci aceasta variază în funcție de punctul de pornire și panta parcursă pas cu pas (Sadhukhan și colab., 2016).

În fiecare caz s-a inițiat optimizarea plecând de la 10 puncte de start alese în domeniul experimental rezultând în final câte 10 soluții pentru procesul de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  în fiecare tip de bioreactor.

*7.3.1. Optimizarea procesului de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  în coloana cu strat fix*

*7.3.2. Optimizare reținerii ionilor de  $Cd^{2+}$  în bioreactorul cu agitare mecanică*

În cazul reținerii ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *Bacillus megaterium* în bioreactorul STBR, optimizarea rezultatelor a arătat că **maximul eficienței este de 99,59 și se atinge după 72 de ore de contact, la concentrația inițială a  $Cd^{2+}$  în soluție de 10 mg/L, debitul de aer de 0,72 L/min și viteza de rotație a agitatorului de 107 rpm** (fig. 7.20) cu o probabilitate de atingere a funcției obiectiv de 1. Aceste valori au reprezentat punctul de start pentru indentificarea a altor variante cu soluții fezabile. Creșterea valorii debitului de aer peste valoarea de 0,72 L/min nu afectează semnificativ eficiența maximă a procesului, valoarea eficienței de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  fiind de 99,32% și probabilitatea de atingere a maximului este 1. La valori ale debitului mai mici de 0,4 L/min probabilitatea de atingere a maximului eficienței de reținere scade până la 0,91, adică la limita minimă considerată a variabilei independente.

Conform acestor date **debitul de aer nu are influență semnificativă asupra funcției obiectiv**. Din analiza probabilității atingerii funcției obiectiv ca urmare a variației vitezei agitatorului se constată că **probabilitatea de atingere a eficienței maxime variază între 0,97 și 1**, ceea ce înseamnă că nici variația acestui factor de influență **nu afectează semnificativ performanțele maxime de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$** . Datele rezultate din optimizarea procesului arată că bacteria *Bacillus megaterium* în stare viabilă este capabilă să rețină aproape 99% din ionii de  $Cd^{2+}$  din soluție dacă în STBR concentrația ionilor în soluție este mai mică de 10,3 mg/L și timpul minim contact a lichidului în bioreactor de 81 ore. Valorile maximelor eficienței de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *Bacillus megaterium* în suspensie în bioreactorul cu agitare mecanică în condițiile de operare din tabelul 7.10 au fost verificate experimental și sunt prezentate în tabelul 7.11.

**Tabelul 7.11.** Valorile experimentale al eficienței de reținere a ionilor de Cd<sup>2+</sup> de către *B. megaterium* în bioreactorul cu agitare mecanică pentru verificarea soluțiilor optime obținute

Nr. Crt.	Timpul de contact (ore)	Concentrația inițială a ionilor în soluție (mg/L)	Debitul de aer (L/min)	Viteza de rotație a agitatorului (rpm)	R <sub>calculat</sub> (%)	R <sub>experimental</sub> (%)
1	82	10	0,72	107	99,59	99,34
2	80	10	0,72	107	98,68	98,75
3	82	10,5	0,72	107	98,75	98,82
4	82	10	0,65	107	99,38	99,29
5	82	10	0,80	107	99,32	99,26
6	82	10	0,72	90	99,09	98,91
7	82	10	0,72	125	99,03	98,89
8	82	10	0,65	100	99,23	99,05

### 7.3.3. Optimizare reținerii ionilor de Cd<sup>2+</sup> în bioreactorul de tipul gaz-lift

În cazul bioreactorului de tipul gaz-lift, valorile optime ale variabilelor independente considerate se găsesc la limitele domeniului de variație considerat. Astfel, conform datelor din fig. 7.21, **maximul funcției obiectiv se atinge după un timp de contact a lichidului în bioreactor de 72 ore, concentrația de 8,99 mg/L și debitul de aer de 0,6 L/minut.** Pentru această variantă de operare, **obiectivul optimizării este atins cu o probabilitatea de 0,83.** Din cauza faptului că valoarea optimă a debitului de aer pentru obținerea unei eficiențe maxime în cazul ALR s-a indentificat la limita superioară a domeniului considerat, este posibil ca la valori mai mari de 0,6 ale debitului de aer eficiența de reținere a ionilor de Cd<sup>2+</sup> de către *B. megaterium* să crească, dar cu consumuri energetice suplimentare generate de necesitatea creșterii debitului de gaz. Prin urmare, realizarea acestor experimente la nivel laborator, care să aibă în vedere determinarea eficienței de reținere la valori mai mari ale debitului de aer este absolut necesară înainte de transpunerea procesului de la scară de laborator la scară pilot, pentru a evalua fezabilitatea procesului din punct de vedere tehnico-economic.

## Capitolul 8.

### ANALIZA COSTURILOR PROCESELOR DE REȚINERE A IONILOR METALICI ÎN BIOREACTOARE

#### 8.1. Scopul și importanța cercetării

Analiza economică a proceselor reprezintă un instrument foarte util pentru luarea deciziilor în protecția mediului. Lipsa analizei costurilor

proceselor de bioremediere face foarte dificilă selectarea celui mai fezabil proces implicat în reținerea ionilor metalici, atât din punct de vedere economic, cât și ecologic. Prin urmare, evaluarea costurilor oricărui proces sau metodă este un aspect foarte important mai ales în finalizarea cercetărilor, căreia cercetătorii nu i-au acordat însă întotdeauna importanța cuvenită în studiile realizate (Jardim Junior și colab., 2012; Sharma și Ayub, 2019).

În acest context, **obiectivul principal al acestui capitol constă în evaluarea, din punct de vedere economic, a proceselor de biosorbție/bioacumulare a ionilor de  $Cd^{2+}$  desfășurate în bioreactoarele selectate.**

Pentru atingerea obiectivului principal au fost propuse următoarele obiective specifice:

■ **stabilirea limitelor și parametrilor sistemului** pentru fiecare tip de contactor în vederea indentificării consumurilor de materii prime, materiale și utilități;

■ **determinarea consumurilor de materiale și utilități** pentru reținerea ionilor de  $Cd^{2+}$  în cele trei tipuri de bioreactoare;

■ **determinarea costurilor aferente reținerii ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *Bacillus megaterium* în bioreactoare**

**Toate calculele au fost realizate pe baza datelor aferente operării sistemelor de reținere a ionilor metalelor grele la nivel de laborator, conform programelor experimentale stabilite.**

### *8.2. Inventarul materialelor folosite și a consumurilor pentru reținerea ionilor de $Cd^{2+}$*

Costurile asociate implementării și funcționării proceselor în acest studiu se referă la:

- *costurile cu asigurarea mediului nutritiv necesar creșterii și dezvoltării microorganismelor;*

- *costurile asociate consumului de energie electrică;*

- *costurile cu utilitățile (apă, aer etc.);*

- *costurile privind utilizarea altor materiale (de exemplu, filtre pentru menținerea sterilității, suportul pentru formarea biofilmului etc.);*

### *8.3. Costuri ale proceselor de reținere a ionilor de $Cd^{2+}$ prin biosorbție-bioacumulare în bioreactoare*

Rezultatele analizei costurilor evidențiază faptul că **cele mai mari costuri per ciclu de funcționare** se obțin în cazul **bioreactorului cu agitare mecanică (aproximativ 308 lei)**, urmat de **bioreactorul gaz lift**

(aproximativ 280 lei), iar cele mai mici atunci când se utilizează coloana cu strat fix ce conține doar zeolitul de tip 13X în coloană (aproximativ 85 lei).

Conform rezultatelor obținute de la optimizarea proceselor de reținere a ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  în bioreactoare prezentate în Capitolul 7 după doar 1 ciclu de funcționare efluenții rezultați îndeplinesc condițiile de deversare doar în cazul utilizării:

- zeolitul 13X (99,83 %) considerând debitul de pompare a lichidului în bioreactor de 5 mL/min, timpul de funcționare = 1485 minute și concentrația inițială de peste 101 mg/L;

- *B. megaterium* în suspensie în bioreactorul cu agitare mecanică (99,59%) considerând concentrația inițială a ionilor în soluție < 10 mg/L, debitul de aer de 0,72 L/min, viteza de rotație a agitatorului de 107 rpm și timpul de contact de 82.

Costurile de utilizare a bioreactorului cu agitare mecanică și a celui cu amestecare pneumatică ar putea fi reduse prin utilizarea pentru creșterea bacteriei *B. megaterium* a unui alt mediu de cultura format din substanțe mai puțin costisitoare. Un astfel de exemplu este mediul de cultură care conține extract de cartof obținut din fierberea acestora. Haq și colab. (2018) arată că *Bacillus subtilis* se dezvoltă mai bine într-un mediu ce conține extract de cartofi față de mediul compus din 10 g/L de triptonă, 5 g/L de extract de drojdie și 5 g/L clorură de sodiu.

Reducerea costurilor de epurare a efluenților contaminați cu ioni de  $\text{Cd}^{2+}$  s-ar putea realiza, de exemplu, și prin:

- Reutilizarea unor materiale în următorul ciclu de epurare (de exemplu filtrele pentru aer);
  - cuplarea în serie a bioreactoarelor de același tip;
  - cuplarea în serie a coloanei cu zeolit 13X cu coloana ce conține biofilmul bacteriei *Bacillus megaterium* format pe zeolit de tip 13X;
  - cuplarea în serie a coloanei cu zeolit 13X cu bioreactorul cu agitare mecanică sau gaz-lift cu ajustarea debitului de pompare a fluidului în coloană în funcție de volumul bioreactorului cu agitare mecanică/gaz lift;
  - utilizarea bioreactorului cu agitare mecanică doar pentru epurarea efluenților cu concentrația ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  mai mică de 10 mg/L;
  - utilizarea zeolitului 13X doar pentru concentrații mai mari de 101 mg  $\text{Cd}^{2+}$ /L;
  - alte soluții tehnologice.

Aceste alternative presupun continuarea studiilor și experimentelor, al căror scop să fie indentificarea combinației fezabile din punct de vedere economic și ecologic. De asemenea, în studiile viitoare trebuie să se aibă în vedere efectuarea unei analize cost-beneficiu pentru fiecare tip de sistem de

epurare propus și a unei analize privind impacturile generate în mediu de procesele aplicate în cele trei tipuri de bioreactoare prin analiza ciclului de viață (LCA). Informațiile obținute vor completa suportul științific pentru luarea deciziilor în vederea alegerii celui mai fezabil tip de bioreactor pentru aplicarea proceselor de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către microorganismul *Bacillus megaterium*, precum și de către alte tipuri de microorganisme.

## CONCLUZII GENERALE

Aplicarea biotehnologiei în controlul și reducerea poluării mediului cu metale grele este o alternativă la procesele fizico-chimice convenționale, din ce în ce mai studiată, pentru că cercetările au confirmat fezabilitatea unor procese de bioremediere a mediului. Între cele mai aplicate procese biologice pentru remedierea mediilor poluate se numără biosorbția și bioacumularea, care se bazează pe utilizarea biomasei (microorganisme, plante superioare), în formă viabilă sau inactivă, ca biosorbenți și/sau bioacumulatori.

Pentru exploatarea și aplicarea acestor procese la nivel industrial este esențială realizarea de experimente la nivel de laborator în vederea colectării de date, modelării, optimizării, ca suport pentru simulare și transpunere la scară. De asemenea este importantă indentificarea biosorbenților cu capacități ridicate de reținere a ionilor metalici țintă, precum și stabilirea condițiilor optime de aplicare a proceselor în bioreactoare eterogene, cu diferite configurații.

Prezenta teză de doctorat intitulată “**(BIO)REMEDIEREA EFLUENȚILOR CONTAMINAȚI CU METALE GRELE ÎN SISTEME CU AGITARE MECANICĂ ȘI PNEUMATICĂ**” are ca obiectiv principal *studiul condițiile de desfășurare a proceselor de biosorbție și bioacumulare a ionilor de  $Cd^{2+}$  și  $Cr^{6+}$  de către microorganisme în trei tipuri de bioreactoare (cu strat fix, cu agitare mecanică și pneumatică), în conformitate cu nevoile de remediere a fluxurilor lichide contaminate și de evaluare a performanțelor proceselor cu ajutorul modelelor statistice în vederea optimizării acestora.*

**Cercetarea efectuată în teză aduce câteva informații noi și originale cu privire la:**

- reținerea din efluenții lichizi a două dintre cele mai toxice metale grele, crom hexavalent și cadmiu de către biomasa viabilă și neviabilă a două microorganisme ce sunt prezente în diverse medii (*Bacillus megaterium* și *Rhodotorula* sp.)
- aplicarea procesului de bioacumulare a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *Bacillus megaterium* în trei tipuri diferite de bioreactoare (cu strat fix, cu agitare

mecanică și cu agitare pneumatică). În literatura de specialitate doar într-o singură lucrare sunt prezentate rezultatele de la aplicarea procesului de reținere a ionilor de  $\text{Cr}^{6+}$  de către *Trichoderma viride* într-un bioreactor cu agitare mecanică și într-unul de tipul gaz-lift.

- modelarea empirică și optimizarea proceselor de bioacumulare a ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  în bioreactoare cu diferite configurații, prin utilizarea metodelor de analiză statistică.

Rezultatele prezentate în teză dovedesc faptul că microorganismele selectate (*Bacillus megaterium* și *Rhodotorula* sp.) au capacitatea de a reține ionii de  $\text{Cd}^{2+}$  și  $\text{Cr}^{6+}$  și pot fi utilizate pentru realizarea proceselor de biosorbție și bioacumulare a ionilor metalici studiați în bioreactoare cu diferite configurații, la scară de laborator și apoi la scară pilot și industrială.

Utilizarea microorganismelor sub formă de biofilm depus pe suprafața a diverse tipuri de materiale reprezintă alternative fezabile pentru bioremedierea componentelor de mediu poluate cu metale grele. Astfel, a fost evaluat potențialul celulelor microorganismele *Bacillus megaterium* și *Rhodotorula* sp. imobilizate pe zeolit de tip 13X de a reține prin adsorbție și bioacumulare ionii de  $\text{Cd}^{2+}$  și  $\text{Cr}^{6+}$  din mediul lichid. Rezultatele acestor studii au arătat că performanțele bacteriei *B. megaterium* imobilizată pe suprafața zeolitului de tip 13X de a reține ionii de  $\text{Cd}^{2+}$  au fost influențate, atât de concentrația inițială a ionilor în soluție, cât și de debitul de pompare a soluției în coloană.

Bioreactoarele cu agitare mecanică și, respectiv cu agitare pneumatică, de tipul gaz-lift sunt printre cele mai studiate și utilizate bioreactoare pentru decontaminarea efluenților lichizi, în care biomasa microbiană viabilă se găsește în stare de suspensie. Aceste tipuri de bioreactoare pot asigura condițiile de creștere și oxigenul necesar dezvoltării microorganismelor aerobe, sterilitatea culturii pe parcursul procesului, a temperaturii dorite și pot fi controlați și măsurați diferiți parametri precum pH-ul și nivelul de spumare etc.

Rezultatele experimentelor realizate în bioreactorul cu agitare mecanică au arătat că variația debitului de aer, a vitezei de rotație a agitatorului, precum și a concentrației inițiale a ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  în soluție influențează, nu doar capacitatea de bioacumulare a ionilor metalici, cât și multiplicarea celulară și secreția de amoniac a bacteriei. Cele mai mari eficiențe de bioacumulare a ionilor de  $\text{Cd}^{2+}$  au fost obținute la debitul de aer de 0,5 L/min, după 72 de ore de contact a lichidului în bioreactor. Bacteria *B. megaterium* a bioacumulat aproximativ 40,97% din cantitate de ioni de  $\text{Cd}^{2+}$  aflați în mediul lichid la debitul de aer de 0,2 L/min, 46,57 % la debitul de 0,5 L/min și 44,35% la 0,8 L/min, la concentrația inițială de 50 mg/L și viteza de rotație a agitatorului de 150 rpm.

În cazul bioreactorului ALR studiile realizate au demonstrat că variația debitului de aer între 0,2 L/min și 0,6 L/min afectează eficiența procesului, dezvoltarea biomasei, obținându-se o eficiență de reținere a ionilor de  $Cd^{2+}$  de 17,40%, la debitul de aer de 0,2 L/min și de 45,67% la debitul de 0,6 L/min. Creșterea valorii debitului de aer introdus în bioreactor duce la creșterea cantității de biomasă activă în faza staționară a dezvoltării microorganismului și anume de la 2,94 g/L (0,2 L/min), la 5,63 g/L (0,6 L/min).

În vederea utilizării durabile a microorganismelor pentru biosorbția și bioacumularea ionilor de metale grele din efluenții apoși datele obținute și prezentate în capitolele 5 și 6 au fost modelate matematic prin aplicarea metodei de analiză factorială și a metodologiei suprafeței de răspuns combinate cu ANOVA. Scopul modelării a constat în corelarea variabilelor independente care afectează performanțele de bioacumulare a ionilor de  $Cd^{2+}$  de către *B. megaterium* sub formă de biofilm în bioreactoare cu strat fix și, în suspensie, în bioreactoare cu amestecare mecanică și de tipul gaz-lift, precum și în indentificarea valorilor optime a variabilelor independente la care funcția obiectiv (eficiența de reținere) atinge valoarea maximă. Modelarea empirică proceselor de biosorbție-bioacumulare a ionilor  $Cd^{2+}$  în bioreactoare a evidențiat că metodologia suprafeței de răspuns este cea care descrie cel mai bine procesul în toate cele trei tipuri de bioreactoare printr-o ecuație polinomială de ordin II.

Selecția proceselor de bioremediere a efluenților lichizi contaminați și proiectarea echipamentelor pentru aplicarea acestor procese sunt printre cele mai importante problemele în protecția mediului. Pe lângă eficiența de reținere a poluanților, în decizia privind selectarea tipului de bioreactor pentru aplicarea procesului sunt importante costurile de implementare și operare a proceselor. Astfel, în Capitolul 8 sunt evaluate, pentru fiecare tip de reactor costurile relaționate cu aplicarea proceselor și funcționarea bioreactoarele. Rezultatele analizei costurilor evidențiază faptul că cele mai mari costuri per ciclu de funcționare se obțin în cazul bioreactorului cu agitare mecanică (aproximativ 308 lei), urmat de bioreactorul gaz lift (aproximativ 280 lei), iar cele mai mici atunci când se utilizează coloana cu strat fix ce conține doar zeolitul de tip 13X în coloană (aproximativ 85 lei).

În vederea transpunerii proceselor aplicate în cele trei bioreactoare de la nivel de laborator la scară pilot și apoi industrială se impune aplicarea analizei cost-beneficiu pentru evaluarea proceselor în bioreactoarele studiate. Pe baza acestei analize va fi posibilă indentificarea celui mai fezabil tip de bioreactor pentru reținerea ionilor de cadmiu în condiții de operare optime. De asemenea, trebuie luat în considerare și faptul că, din aplicarea proceselor de biosorbție și bioacumularea a ionilor metalici de către microorganisme rezultă la final

de proces biomasă contaminată cu metale grele care trebuie eliminată în siguranță. În acest context este necesar să se acorde o mare atenție acestui aspect, deoarece biomasă cu metale rezultată se descompune ușor și gestionarea acesteia în mod necorespunzător poate duce la eliberarea sau levigarea în mediu a metalelor reținute de către biomasă.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- Abdia O., Kazemia M., (2015), A review study of biosorption of heavy metals and comparison between different biosorbents, *Journal of Materials and Environmental Science*, **6**, 1386-1399.
- Bacakova L., Vandrovcova M., Kopova I., Jirka I., (2018), Applications of zeolites in biotechnology and medicine – a review, *Biomaterials Science*, **6**, 974-989.
- Barros A., da Silva S.K.M., (2018), Evaluation of copper and lead biosorption on modified *Azolla Pinnata* (R. Br.), *Environmental Engineering and Management Journal*, **17**, 83-94.
- Barros Ó., Costa L., Costa F., Lago A., Rocha V., Vipotnik Z., Silva B., Tavares T., (2019), Recovery of rare earth elements from wastewater towards a circular economy, *Molecules*, **24**, 1005, doi:10.3390/molecules24061005.
- Bayuo J., Pelig-Ba K.B., Abukari M.A., (2019), Optimization of adsorption parameters for effective removal of lead (II) from aqueous solution, *Physical Chemistry: An Indian Journal*, **14**, 123.
- Bulgariu L., Gavrilesco M., (2015), *Chapter 30 - Bioremediation of Heavy Metals by Microalgae*, In: *Handbook of Marine Microalgae*, Biotechnology Advances, pp. 457-469.
- Cerri M.O., Policarpo L.M., Badino A.C., (2010b), Gas hold-up and mass transfer in three geometrically similar internal loop airlift reactors using newtonian fluids, *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, **8**, doi:10.2202/1542-6580.1987
- Chisti Y., (1989), *Airlift Bioreactors*, Elsevier, Londra-New York.
- Chisti Y., Jauregui-Haza U.J., (2002), Oxygen transfer and mixing in mechanically agitated airlift bioreactors, *Biochemical Engineering Journal*, **10**, 143-153.
- Costa Pinto F.C., (2016), *Bioremoval and Biodegradation of Organic Solvents in Aqueous Solutions*, Teză de doctorat, Universidade do Minho Escola de Engenharia.
- Cozma P., Gavrilesco M., (2010), Airlift reactors: Hydrodynamics, mass transfer and applications in environmental remediation”, *Environmental Engineering and Management Journal*, **9**, 681-702.
- Cozma P., Gavrilesco M., (2012), Airlift reactors: application in wastewater treatment, *Environmental Engineering and Management Journal*, **11**, 1505-1515.
- Cozma P., Hlihor R.M., Apostol L.C., Gavrilesco M., (2016), *Biosystems and bioreactors for biosorption and bioaccumulation*, In: *Biosorption and Bioaccumulation: Principles and Applications in Environmental Bioremediation*, Gavrilesco M. (Ed.), Politehniun Publishing House, Iasi, pp. 245-272.
- Das N., Vimala R., Karthika P., (2008), Biosorption of heavy metals – An overview, *Indian Journal of Biotechnology*, **7**, 159-169.
- Daulton T.L., Little B.J., (2006), Determination of chromium valence over the range Cr(0)–Cr(VI) by electron energy loss spectroscopy, *Ultramicroscopy*, **106**, 561-573.
- Diaconu M., Smaranda C., Hlihor R.M., Gavrilesco M., (2013), Biomass in environmental remediation – A review, *Buletinul Institutului Politehnic din Iași*, **Tomul LIX (LXIII)**, Fasc.3, 97-113.
- E-PRTR, (2020), Pollutant Releases, European Pollutant Release and Transfer Register, European Environment Agency, On line la: <https://prtr.eea.europa.eu/#/pollutantreleases>.
- Garcia-Ochoa F., Santos V.E., Gomez E., (2011), *Stirred Tank Bioreactors*, In: *Comprehensive Biotechnology*, Moo-Young M. (Ed.), Elsevier, pp. 179-198.
- Gavrilesco M., (1997), *Bioreactoare pneumatice*, Editura Dosoftei, Iasi.
- Gavrilesco M., (2004), Removal of heavy metals from the environment by biosorption, *Engineering in Life Sciences*, **4**, 219-232.



- Gavrilescu M., (2010), *Biosorption in environmental remediation*, In: *Bioremediation Technology – Theory & Application*, Fulekar M.H. (Ed.), Springer Verlag - Capital Publishing, New Delhi, pp. 35-99.
- Gavrilescu M., (2013), *Static Mixing in Fermentation Processes*, In: *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology*, Flickinger M.C. (Ed.), John Wiley & Sons, pp. 1-23, doi:10.1002/9780470054581.eib552.pub2.
- Gavrilescu M., Macoveanu M., (1999), Process engineering in biological aerobic waste-water treatment, *Acta Biotechnologica*, **19**, 111-145.
- Gavrilescu M., Chisti Y., (2005), Biotechnology - a sustainable alternative for chemical industry, *Biotechnology Advances*, **23**, 471-499, doi:10.1016/j.biotechadv.2005.03.004.
- Gavrilescu M., Macoveanu M., (2000), Attached-growth process engineering in wastewater treatment, *Bioprocess Engineering*, **23**, 95-106.
- Gavrilescu M., Ungureanu F., Tudose R.Z., (2008), Triphasic external-loop airlift reactors. Hydrodynamic and dispersion studies, *Environmental Engineering and Management Journal*, **7**, 217-225.
- Ghoneim M.M., El-Desoky H.S., El-Moselhy K.M., Amer A., Abou El-Naga E.H., Mohamedein L.I., Al-Prol A.E., (2014), Removal of cadmium from aqueous solution using marine green algae, *Ulva lactuca*, *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, **40**, 235-242.
- Godt J., Scheidig F., Grosse-Siestrup C., Esche V., Brandenburg P., Reich A., Groneberg D.A., (2006), The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health, *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, **1**, doi:10.1186/1745-6673-1-22.
- Gola D., Chawla P., Malik A., Ahammad S.Z., (2020), Development and performance evaluation of native microbial consortium for multi metal removal in lab scale aerobic and anaerobic bioreactor, *Environmental Technology & Innovation*, **18**, 100714, doi:10.1016/j.eti.2020.100714.
- Gourich B., El Azher N., Soulami Bellhaj M., Delmas H., Bouzidi A., Ziyad M., (2005), Contribution to the study of hydrodynamics and gas-liquid mass transfer in a two- and three-phase split-rectangular airlift reactor, *Chemical Engineering and Processing*, **44**, 1047-1053.
- Haq I.-U., Maher A., Gill N.P., Fatima U., Qadir G., Ali K., (2018), Growth of *Bacillus subtilis* and production of acetic acid with rotten potato: used as substrate, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **9**, 4229-4235.
- Hlihor R.M., (2012), *Procese de sorbție aplicate pentru îndepărtarea metalelor grele din medii contaminate*, Teză de doctorat, Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi", Iași.
- Hlihor R.-M., Apostol L.C., Gavrilescu M., (2017), *Environmental Bioremediation by Biosorption and Bioaccumulation: Principles and Applications*, In: *Enhancing Cleanup of Environmental Pollutants, Volume 1: Biological Approaches*, Anjum N., Gill S., Tuteja N., (Ed.), Springer Science+Business Media, New York, 289-315.
- Hlihor R.M., Bulgariu L., Sobariu D.L., Diaconu M., Tavares T., Gavrilescu M., (2014), Recent advances in biosorption of heavy metals: support tools for biosorption equilibrium, kinetics and mechanism, *Revue Roumaine de Chimie*, **59**, 527-538.
- Jardim Junior A.M., Imbroisi D., Madeira Nogueira J., Zuchi da Conceição P.H., (2012), Economics of wastewater treatment: cost-effectiveness, social gains and environmental standards, *Environmental Economics*, **3**, 15-31.
- Järup L., Berglund M., Elinder C.G., Nordberg G., Vahter M., (1998), Health Effects of Cadmium Exposure--A Review of the Literature and a Risk Estimate, *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, **24**, 1-51.
- Jossen V., Eibl R., Pörtner R., Kraume M., Eibl D., (2017), *Stirred Bioreactors*, In: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, Elsevier, pp. 179-215, doi:10.1016/b978-0-444-63663-8.00007-0.
- Kadic E., Heindel T.J., (2014a), *Fixed Bed Bioreactors*, In: *An Introduction to Bioreactor Hydrodynamics and Gas-Liquid Mass Transfer, Stirred-Tank Bioreactors*, John Wiley & Sons, Inc., pp. 209-242.
- Kadic E., Heindel T.J., (2014b), *Stirred-Tank Bioreactors*, In: *An Introduction to Bioreactor Hydrodynamics and Gas-Liquid Mass Transfer, Stirred-Tank Bioreactors*, John Wiley & Sons, Inc., pp. 69-123.

- Kang X., Wang Y., Harvey L. M., McNeil B., (2000), Effect of air flow rate on scleroglucan synthesis by *Sclerotium glaucanicum* in an airlift bioreactor with an internal loop, *Bioprocess Engineering*, **23**, 69-74, doi:10.1007/s004499900125.
- Li Y., Li L., Yu J., (2017), Applications of zeolites in sustainable chemistry, *Chem*, **3**, 928-949.
- Margeta K., Zabukovec N., Siljeg M., Farkas A., (2013), *Natural Zeolites in Water Treatment – How Effective is Their Use*, In: *Water Treatment*, Elshorbagy W., Chowdhury R.K. (Eds.), IntechOpen, 81-112.
- Masindi V., Muedi K.L., (2018), *Environmental Contamination by Heavy Metals*, In: *Heavy Metals*, Saleh H.El-D.M., Aglan R.F., IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.76082.
- Michalak I., Chojnacka K., Witek-Krowiak A., (2013), State of the art for the biosorption process—a review, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **170**, 1389–1416.
- Moghaddam E.S. A., Harun R., Mokhtar M.N., Zakaria R., (2018), Potential of zeolite and algae in biomass immobilization, *BioMed Research International*, **2018**, 1–15, doi:10.1155/2018/6563196.
- Mohapatra R.K., Behera S.S., Patra J.K., Thatoi H., Parhi P.K., (2020), *Potential Application of Bacterial Biofilm for Bioremediation of Toxic Heavy Metals and Dye-contaminated Environments*, In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms*, Yadav M.K., Singh B.P., Elsevier, 267–281. doi:10.1016/b978-0-444-64279-0.00017-7.
- Mourabet M., El Rhilassi A., El Boujaady H., Bennani-Ziatni M., Taitai A., (2017), Use of response surface methodology for optimization of fluoride adsorption in an aqueous solution by Brushite, *Arabian Journal of Chemistry*, **10**, S3292-S3302.
- Muñoz A.J., Espinola F., Ruiz E., (2017), Biosorption of Ag(I) from aqueous solutions by *Klebsiella* sp. 3S1, *Journal of Hazardous Materials*, **329**, 166-177.
- Namiéšnik J., Rabajczyk A., (2010), The speciation and physicochemical forms of metals in surface waters and sediments, *Chemical Speciation & Bioavailability*, **22**, 1-24.
- Narayani M., Shetty K.V., (2013), Chromium-Resistant bacteria and their environmental condition for hexavalent chromium removal: A review, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **43**, 955–1009, doi:10.1080/10643389.2011.627022.
- Odobasic A., (2012), *Determination and Speciation of Trace Heavy Metals in Natural Water by DPASV*, In: *Water Quality Monitoring and Assessment*, Voudouris K., Voutsas D., IntechOpen, DOI: 10.5772/32339.
- Palmer P.B., O'Connell D.G., Endowed S.-L., (2009), Regression analysis for prediction: understanding the process, *Cardiopulmonary Physical Therapy Journal*, **20**, 23-26.
- Pham H.-M., Kwak H.S., Hong M.-E., Lee J., Chang W.S., Sim S.J., (2017), Development of an X-Shape airlift photobioreactor for increasing algal biomass and biodiesel production, *Bioresource Technology*, **239**, 211-218.
- Quintelas C., Pereira R., Kaplan E., Tavares T., (2013), Removal of Ni(II) from aqueous solutions by an *Arthrobacter viscosus* biofilm supported on zeolite: From laboratory to pilot scale, *Bioresource Technology*, **142**, 368-374.
- Quintelas C., Rocha Z., Silva B., Fonseca B., Figueiredo H., Tavares T., (2009a), Biosorptive performance of an *Escherichia coli* biofilm supported on zeolite NaY for the removal of Cr(VI), Cd(II), Fe(III) and Ni(II), *Chemical Engineering Journal*, **152**, 110-115.
- Quintelas C., Rocha Z., Silva B., Fonseca B., Figueiredo H., Tavares T., (2009b), Removal of Cd(II), Cr(VI), Fe(III) and Ni(II) from aqueous solutions by an *E. coli* biofilm supported on kaolin, *Chemical Engineering Journal*, **149**, 319-324.
- Rajeswari T.R., Sailaja N., (2014), Impact of heavy metals on environmental pollution, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, Special Issue, 175-181.
- Roșca M.**, Hlihor R.-M., Cozma P., Comăniță E.-D., Simion I.M., Gavrilescu M., (2015), *Potential of Biosorption and Bioaccumulation Processes for Heavy Metal Removal in Bioreactors*, IEEE Conference: E-Health and Bioengineering Conference (EHB), DOI: 10.1109/EHB.2015.7391487.
- Roșca M.**, Hlihor R.-M., Gavrilescu M., (2019), *Bioremediation of Persistent Toxic Substances: From Conventional to New Approaches in Using Microorganisms and Plants*, In: *Microbial Technology for the Welfare of Society*, Kumar A.P. (Ed.), Springer Singapore, pp. 289-312.
- Sadhukhan B., Mondal N.K., Chatteraj S., (2016), Optimization using central composite design (CCD) and the desirability function for sorption of methylene blue from aqueous solutions onto Lemma

- major, *Karbala International Journal of Modern Science*, **2**, 145-155, doi: 10.1016/j.kijoms.2016.03.005.
- Saha R., Nandi R., Saha B., (2011), Sources and toxicity of hexavalent chromium, *Journal of Coordination Chemistry*, **64**, 1782-1806, <https://doi.org/10.1080/00958972.2011.583646>.
- Saravanan V., Brindha, Krishnan S., (2011), Studies on the structural changes of the biomass *Sargassum* sp. on metal adsorption, *Journal of Advanced Bioinformatics Applications and Research*, **2**, 193-196.
- Scargiali F., (2007), *Gas-liquid dispersions in mechanically agitated contactors*, Teză de doctorat, Facultă de Ingineria - Dipartimento di Ingegneria Chimica dei Processi e dei Materiali, Università degli studi di Palermo.
- Shear S., Naz I., (2016), *Role of the Biofilms in Wastewater Treatment*, In: *Microbial Biofilms - Importance and Applications*, Dhanasekaran D., Thajuddin N. (Eds.), IntechOpen, DOI: 10.5772/63499.
- Sen P., Nath A., Bhattacharjee C., (2017), *Packed-Bed Bioreactor and Its Application in Dairy, Food, and Beverage Industry*, In: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Bioprocesses, Bioreactors and Controls*, Larroche C., Sanroman M.A., Du G., Pandey A. (Eds.), Elsevier, pp. 235-277.
- Shamim S., (2018), *Biosorption of Heavy Metals*, In: *Biosorption*, Derco J., Vrana B. (Eds.), IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.72099.
- Sharma P.K., Ayub S., (2019), The cost analysis and economic feasibility of agro wastes to adsorb chromium (VI) from wastewater, *International Journal of Civil Engineering and Technology*, **10**, 2387-2402.
- Silva B., Figueiredo H., Quintelas C., Neves I.C., Tavares T., (2008), Zeolites as supports for the biorecovery of hexavalent and trivalent chromium, *Microporous and Mesoporous Materials*, **116**, 555-560.
- Silva B., Figueiredo H., Quintelas C., Neves I.C., Tavares T., (2012), Improved biosorption for Cr(VI) reduction and removal by *Arthrobacter viscosus* using zeolite, *International Biodeterioration and Biodegradation*, **74**, 116-123.
- Stuart B.H., (2004), *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, Wiley.
- Tekere M., (2019), *Microbial Bioremediation and Different Bioreactors Designs Applied*, In: *Biotechnology and Bioengineering*, Jacob -Lopes E., Queiroz Zepka L. (Eds.), IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.83661.
- Todar K., (2014), Overview of Bacteriology, Todar's Online Textbook of Bacteriology, On line la: [http://textbookofbacteriology.net/bacteriology\\_6.html](http://textbookofbacteriology.net/bacteriology_6.html).
- Valdivia-Rivera S., Lizardi-Jimenez M.A., Medina-Moreno S.A., Sánchez-Vázquez V., (2019), *Multiphase partitioning airlift bioreactors: An alternative for hydrocarbon biodegradation in contaminated environments*, In: *Advances in Chemical Engineering*, Volume 54, Huerta-Ochoa S., Castillo-Araiza C., Quijano G. (Eds.), Elsevier Inc., pp. 275-297.
- van Hullebusch E.D., Zandvoort M., Lens P.N.L., (2003), Metal immobilisation by biofilms: Mechanisms and analytical tools, *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, **2**, 9-33
- Volesky B., (2007), Biosorption and me, *Water Resource*, **41**, 4017-4029.
- Wang J., Chen C., (2009), Biosorbents for heavy metals removal and their future, *Biotechnology Advances*, **27**, 195 - 226.
- Wang S.-J., Zhong J.-J., (2007), *Bioreactor Engineering*, În: *Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources*, Yang S.-T. (Ed.), Elsevier Science, pp. 131-161.
- Warnock J.N., Bratch K., Al-Rubeai M., (2005), Chapter 4. Packed Bed Bioreactors, In: *Bioreactors for Tissue Engineering*, Chaudhuri J.B., Al-Rubeai M. (Eds.), Springer, 87 - 113.
- Wu J., Kamal N., Hao H., Liu Z., Qian C., Shao Y., Zhong X., Xu B., (2019), Endophytic *Bacillus megaterium* BM18-2 mutated for cadmium accumulation and improving plant growth in Hybrid Pennisetum, *Biotechnology Reports*, e00374, doi:10.1016/j.btre.2019.e00374.
- Yadav M.K., (2017), *Role of Biofilms in Environment Pollution and Control*, In: *Microbial Biotechnology*, Patra J.K. et al. (Eds.), Springer Nature Singapore, 377-398, doi:10.1007/978-981-10-6847-8\_16.

Zhao Y., Guo L., Xia Y., Zhuang X., Chu W., (2019), Isolation, identification of carotenoid-producing *Rhodotorula* sp. from marine environment and optimization for carotenoid production, *Marine Drugs*, **17**, 161, doi:10.3390/md17030161.

Znad H., Ohata H., Tade M.O., (2010), A net draft tube slurry airlift bioreactor for 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) pesticide biodegradation, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, **88**, 565-573.

## ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ

Activitatea de cercetare științifică desfășurată pe parcursul doctoratului s-a concretizat în:

- publicarea a două capitole de carte și trei cărți;
- publicarea a 11 articole în reviste cotate ISI;
- publicarea a 8 articole în reviste incluse în baze de date internaționale;
- publicarea a 18 articole în ISI Proceedings;
- participarea la 9 conferințe naționale (cu 17 lucrări) și 36 internaționale (cu 98 lucrări);
- participarea la Școala de Vară China Sino – EU pentru Logistică, Informații, Management și Știință, Beijing, China (2015);
- efectuarea a două stagii de cercetare de câte cinci luni la Universitatea Minho din Braga, Portugalia (februarie – iunie 2016 și februarie – iunie 2017).

### Lista lucrărilor publicate (Selecție)

#### Cărți/capitole de carte

1. Maria Gavrilăscu (coordinator), Mariana Diaconu, Laura Bulgariu, Irina Volf, Cezar Catrinăscu, Camelia Smarandă, Petronela Cozma, Raluca-Maria Hlihor, Cristina Ghinea, Laura Carmen Apostol, Elena-Diana Comăniță, **Mihaela Roșca**, Sebastian Ionuț Vasiliță, (2019), *Explorarea și Exploatarea Abilităților Microorganismelor și plantelor și a Interacțiunilor Dintre Acestea Pentru Bioremedierea Mediului*, Editura Performantica, Iași, România, ISBN 978-606-685-690-4.
2. **Mihaela Roșca**, Raluca-Maria Hlihor, Maria Gavrilăscu, (2019), *Bioremediation of Persistent Toxic Substances: From Conventional to New Approaches in Using Microorganisms and Plants*, În: *Microbial Technology for the Welfare of Society*, Kumar A.P. (Ed.), Springer Singapore, pp. 289-312.
3. Elena Diana Comăniță, **Mihaela Roșca**, Maria Gavrilăscu, (2014), *Compușii Organici în Atmosferă din Diverse Surse de Emisie și Impactul Lor Asupra Sănătății*, În: *Metode de Evaluare a Efectelor Poluării Aerului cu Particule în Suspensie Asupra Sănătății Copiilor*, Iordache S., Dunăea D. (Editori), MatrixRom, București, România, ISBN 9786062501211, 221-266.

#### Articole în reviste ISI

1. Camelia Smarandă, Petronela Cozma, **Mihaela Roșca**, Elena-Diana Comănița-Ungureanu, Ioan Mămăligă, Maria Gavrilăscu, (2020), Surface diffusion mechanism for the sorption of congo red azo dye onto soils, *Processes*, **8**, 1639, <https://doi.org/10.3390/pr8121639> (**IF 2.753**) (zona galbenă).
2. Mariana Diaconu, Lucian Vasile Pavel, Raluca-Maria Hlihor, **Mihaela Roșca**, Daniela Ionela Fertu, Markus Lenz, Philippe Xavier Corvini, Maria Gavrilăscu, (2020), Characterization of heavy metal toxicity in some plants and microorganisms-A preliminary approach for environmental bioremediation, *New Biotechnology*, **56**, 130-139, doi:

10.1016/j.nbt.2020.01.003 (IF 4.674) (zona roșie).

3. Bruna Silva, Mariana Martins, **Mihaela Roșca**, Verónica Rocha, Ana Lago, Isabel C Neves, Teresa Tavares, (2020), Waste-based biosorbents as cost-effective alternatives to commercial adsorbents for the retention of fluoxetine from water, *Separation and Purification Technology*, **235**, 116-139 (IF 5.774) (zona roșie).
4. **Mihaela Roșca**, Raluca Maria Hlihor, Petronela Cozma, Elena Niculina Dragoi, Mariana Diaconu, Bruna Silva, Teresa Tavares, Maria Gavrilăscu, (2018), Comparison of *Rhodotorula* sp. and *Bacillus megaterium* in the removal of cadmium ions from liquid effluents, *Green Processing and Synthesis*, **7**, 74-88 (IF 1.056) (zona gri).
5. Raluca Maria Hlihor, **Mihaela Roșca**, Teresa Tavares, Maria Gavrilăscu, (2017), The role of *Arthrobacter viscosus* in the removal of Pb(II) from aqueous solutions, *Water Science & Technology*, **76**, 1726-1738 (IF 1.284) (zona gri).

#### **Reviste incluse în baze de date internaționale**

1. Cătălina Filote, **Mihaela Roșca**, Raluca-Maria Hlihor, (2020), Overview of using living and non-living microorganisms for the removal of heavy metals from wastewaters, *Research Journal of Agricultural Science*, **52**, 22-31.
2. **Mihaela Roșca**, Raluca-Maria Hlihor, Diana-Elena Comăniță, Petronela Cozma, Isabela-Maria Simion, Maria Gavrilăscu, (2017), The potential of some indigenous microorganisms and plants for the removal of heavy metals from soil, *Lucrări Științifice Seria Horticultură*, **60**, 65-72.

#### **Articole publicate în volume ale conferințelor sau simpoziunelor ISI Proceedings**

1. **Mihaela Roșca**, Mariana Diaconu, Raluca-Maria Hlihor, Petronela Cozma, Maria Gavrilăscu, (2020), *Prediction of equilibrium sorption isotherm for cadmium biosorption by microorganisms: Comparison of linear and nonlinear methods*, 2020 International Conference on e-Health and Bioengineering (EHB), IASI, doi: 10.1109/EHB50910.2020.9280180, WOS:000646194100055.
2. Mariana Diaconu, **Mihaela Roșca**, Petronela Cozma, Mariana Minuț, Camelia Smaranda, Raluca-Maria Hlihor, Maria Gavrilăscu, (2020), *Toxicity and microbial bioremediation of chromium contaminated effluents*, 2020 International Conference on e-Health and Bioengineering (EHB), IASI, doi: 10.1109/EHB50910.2020.9280160, WOS:000646194100035.
3. **Mihaela Roșca**, Raluca-Maria Hlihor, Petronela Cozma, Elena-Diana Comăniță, Isabela Maria Simion, Maria Gavrilăscu, (2015), *Potential of biosorption and bioaccumulation processes for heavy metals removal in bioreactors*, E-Health and Bioengineering Conference (EHB), DOI: 10.1109/EHB.2015.7391487, WOS:000380397900140.
4. Camelia Smaranda, Laura Bulgariu, **Mihaela Roșca**, Remus Turculeț, Cristina Ghinea, Maria Gavrilăscu, (2015), *Evaluation of pentachlorophenol leaching potential in natural soils*, E-Health and Bioengineering Conference (EHB), DOI: 10.1109/EHB.2015.7391488, WOS:000380397900141.
5. Gabriela Nacu, Lăcrămioara Negrilă, **Mihaela Roșca**, Camelia Smaranda, Laura Bulgariu, Maria Gavrilăscu, (2015), *Efficient removal of Pb(II) ions from accidental polluted waters by adsorption onto thermal activated lignin*, E-Health and Bioengineering Conference (EHB), DOI: 10.1109/EHB.2015.7391489, WOS:000380397900142.

#### **Conferințe Naționale sau Internaționale**

1. Raluca Maria Hlihor, Hugo Figueiredo, **Mihaela Roșca**, Teresa Tavares, Maria Gavrilăscu, (2016), *The ability of Arthrobacter viscosus in the removal of Pb(II) from aqueous solutions*, Proc. of the IWA 8<sup>th</sup> Eastern European Young Water Professionals Conference, Gdansk,

Polonia, 12-14 Mai, 2016, pp. 631-638, 2016.

## Prezentări orale și postere

### Conferințe și simpozioane naționale – 17 participări

1. *Bioremedierea efluenților lichizi prin exploatarea capacității microorganismelor de a reține ionii de metale grele*, **Mihaela Roșca**, Mariana Minuț, Petronela Cozma, Camelia Smaranda, Raluca-Maria Hlihor, Maria Gavrilescu, **Conferința Națională Științifică Academia Oamenilor de Știință din România**, 23 – 27 Noiembrie 2020, on-line, **Prezentare orală**.
2. *Optimization of biosorption process for hexavalent chromium removal by microorganisms*, **Mihaela Roșca**, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, **Conferința Școlii Doctorale – TUIASI**, 22-23 Mai, 2019, Iași, România, **Prezentare orală**.
3. *Functional groups on microorganisms wall surface involved in cadmium ions removal from aqueous solution*, **Mihaela Roșca**, Mariana Diaconu, Petronela Cozma, Elena-Diana Comăniță, Maria Gavrilescu, **Conferința Școlii Doctorale – TUIASI**, 23-24 Mai, 2018, Iași, România, **Prezentare orală**.
4. *(Bio)remediation of heavy metals contaminated effluents in mechanical and pneumatic mixed systems*, **Mihaela Rosca**, Raluca Maria Hlihor, Elena Diana Comanita, Petronela Cozma, Isabela Maria Simion, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, **“Alexandru Ioan Cuza” University Days, Faculty of Chemistry Conference**, 29 – 31 Octombrie 2015, Iași, România, **Poster**.

### Conferințe și simpozioane internaționale

1. *Screening  $Cr^{6+}$  biosorption by *Saccharomyces cerevisiae* using factorial design and response surface methodology*, **Mihaela Roșca**, Raluca-Maria Hlihor, Petronela Cozma, Cătălina Filote, Isabela-Maria Simion, Maria Apostol, Maria Gavrilescu, **The 3rd Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration (EMCEI-2021)**, 10-13 iunie 2021, **Prezentare orală**.
2. *Microbial bioremediation of liquid effluents contaminated with persistent pollutants: The techniques used for identification of mechanisms involved in the process*, **Mihaela Roșca**, Cătălina Filote, Raluca-Maria Hlihor, Maria Gavrilescu, **International Scientific Symposium Young People and Agriculture Research – 16<sup>th</sup> Edition on-line event**, November 27th, 2020 Timișoara, Romania, **Prezentare orală**.
3. *Bioremediation of aqueous solutions polluted with  $Cd^{2+}$  ions by *Bacillus megaterium* in a stirred tank bioreactor*, **Mihaela Roșca**, Mariana Diaconu, Petronela Cozma, Raluca-Maria Hlihor, Camelia Smaranda, Ioan Mămăligă, Irina Volf, Maria Gavrilescu, **5<sup>th</sup> International Conference on Chemical Engineering (ICCE 2020)**, 28-30 Octombrie, Iași, România, **Poster**.
4. *Evaluation of zeolite 13X performances for dynamic adsorption of cadmium ions in fixed bed column*, **Mihaela Roșca**, Raluca-Maria Hlihor, Teresa Tavares, Maria Gavrilescu, **USAMV Iasi Open Days**, 17-18 Octombrie 2019, Iași, România, **Poster**.
5. *Cadmium ions removal from aqueous solution using *Bacillus megaterium* biofilm layer on zeolite support*, **Mihaela Roșca**, Teresa Tavares, Maria Gavrilescu, **The 10th International Conference on Environmental Engineering and Management (ICEEM10)**, 18-21 Septembrie 2019, Iași, România, **Poster**.
6. *Behavior of *Bacillus megaterium* living biomass in a concentric-tube air-lift bioreactor in the presence of cadmium ions*, **Mihaela Roșca**, Teresa Tavares, Petronela Cozma, Maria Gavrilescu, **4th International Conference on Chemical Engineering (ICCE)**, 31 Octombrie - 2 Noiembrie 2018, Iași, România, **Poster**.
7. *Potential of living *Rhodotorula sp.* for cadmium ions removal from aqueous solutions*, **Mihaela Roșca**, Teresa Tavares, Petronela Cozma, Elena-Diana Comăniță, Maria

- Gavrilescu, *The 4<sup>th</sup> International Conference on Green Chemistry and Sustainable Engineering*, 23-25 Iulie, 2018, Madrid, Spania, **Poster**.
8. *Removal of toxic metal ions from aqueous effluents by biosorption and bioaccumulation in an airlift system*, **Mihaela Roșca**, Teresa Tavares, Maria Gavrilescu, *7<sup>th</sup> European Bioremediation Conference (EBC-VII) and the 11<sup>th</sup> International Society for Environmental Biotechnology conference (ISEB 2018)*, 25-28 Iunie, Chania, Grecia, **Poster**.
  9. *Efficiency of living Bacillus megaterium in cadmium removal from aqueous solutions*, **Mihaela Roșca**, Raluca Maria Hlihor, Mariana Diaconu, Teresa Tavares, Maria Gavrilescu, *The 9<sup>th</sup> International Conference on Environmental Engineering and Management – Circular Economy and Environmental Sustainability*, 6-9 Septembrie 2017, Bologna, Italia, **Prezentare orală**.
  10. *Performance of living Bacillus megaterium for chromium ions removal from liquid effluents*, **Mihaela Roșca**, Raluca Maria Hlihor, Mariana Diaconu, Teresa Tavares, Maria Gavrilescu, *3<sup>rd</sup> International Conference on Chemical Engineering*, 09 – 11 Noiembrie 2016, Iași, România, **Prezentare orală**.
  11. *Comparison of Rhodotorula sp. and Bacillus megaterium in the removal of cadmium ions from liquid effluents*, **Mihaela Roșca**, Raluca Maria Hlihor, Mariana Diaconu, Bruna Silva, Teresa Tavares, Maria Gavrilescu, *2<sup>nd</sup> International Conference on Green Chemistry and Sustainable Engineering*, 20-22 Iulie 2016, Roma, Italia, **Poster**.
  12. *Screening of microorganisms for cadmium(II) removal from liquid effluents*, **Mihaela Roșca**, Raluca Maria Hlihor, Petronela Cozma, Mariana Diaconu, Teresa Tavares, Maria Gavrilescu, *International Conference of Applied Sciences*, 02-04 Iunie 2016, Bacău, România, **Poster**.
  13. *Biosorbents effectiveness in the removal of heavy metals from aqueous solutions in bioreactors*, **Mihaela Roșca**, Raluca Maria Hlihor, Petronela Cozma, Mariana Diaconu, Maria Gavrilescu, *International Conference of Applied Sciences*, 02-04 Iunie 2016, Bacău, România, **Poster**.
  14. *Potential of microorganisms for the removal of heavy metals from the environment*, **Mihaela Roșca**, Raluca Maria Hlihor, Petronela Cozma, Mariana Diaconu, Elena Diana Comăniță, Maria Gavrilescu, *The Second CommScie International Conference: “Challenges for Sciences and Society in Digital Era”*, 4-5 Decembrie, 2015, Iași, România, **Poster**.

#### ***Membru în proiecte naționale***

1. **Proiect PN-III-P2-2.1-PED-2019-2430**, *Strategii și soluții sustenabile privind epurarea apelor uzate utilizând metode prietenoase cu mediul: o abordare integrată a evaluărilor de mediu și economice (SusTrEE)*, 2020-2022, Director proiect: Șef lucrări dr. ing. Raluca-Maria Hlihor.
2. **Proiect PN-III-P4-ID-PCE-2016-0683**, **Contract nr. 65/12.07.2017**, *Explorarea și exploatarea abilităților microorganismelor și plantelor și a interacțiunilor dintre acestea pentru bioremedierea mediului (BIOREMIP)*, 2017-2019, Director proiect: Prof.dr.ing. Maria Gavrilescu.

#### ***Cerere de brevet de invenție***

*Procedeu de obținere a unor materiale de tip biocompozit destinate realizării elementelor constructive și funcționale ale europaleților*

Autori: Gavrilescu Maria, Crețescu Igor, Maluțan Teodor, Smaranda Camelia, Puitel Catalin, Ghinea Cristina, Hlihor Raluca, Cozma Petronela, Simion Isabela, Comanita Elena-Diana, **Rosca Mihaela**

Cerere de brevet de invenție, Nr. 5192/21.05.2018; Nr. înregistrate la OSIM: **A 2018 00361**.