

## CONSIDERAȚII ASUPRA REMEDIERII SOLURILOR POLUATE CU METALE GRELE PRIN BIOLIXIVIERE

**Cosmina Simona Băbuț**,  
*Universitatea Tehnică din Cluj-  
Napoca, ROMÂNIA*  
**Valer Micle**, *Universitatea Tehnică  
din Cluj-Napoca, ROMÂNIA*  
**Adrian Florin Potra**, *Universitatea  
Tehnică din Cluj-Napoca, ROMÂNIA*

## REFLECTION ON REMEDIATION OF HEAVY METALS CONTAMINATED SOILS USING BIOLEACHING

**Cosmina Simona Băbuț**, *Technical  
University of Cluj-Napoca, ROMANIA*  
**Valer Micle**, *Technical University of  
Cluj-Napoca, ROMANIA*  
**Adrian Florin Potra**, *Technical  
University of Cluj-Napoca, ROMANIA*

**REZUMAT:** Lucrarea prezintă principiul biolixivierii în condiții aerobe și clasificarea principalelor tipuri de microorganisme utilizate în decontaminarea solurilor poluate cu metale grele în vederea stabilirii categoriei optime folosite în depoluare. De asemenea sunt evidențiate tehnicile principale de biolixiviere utilizate la nivel național și mondial și efectuarea unei analize de comparație între acestea pentru a se concretiza gradul de influență pe care acestea o au asupra mediului, și asupra sănătății umane.

**CUVINTE CHEIE:** microorganisme, metode de biolixiviere, sol poluat, metale grele.

### 1. INTRODUCERE

Poluarea solului cu metale grele este o amenințare majoră pentru mediu și sănătatea umană. Activitățile miniere și metalurgice, deosebit de intense din ultimele decenii, au dus la generarea unor cantități imense de deșeuri miniere. Gestionarea lor necorespunzătoare în trecut a avut ca efect acumularea metalelor grele în mediul înconjurător contribuind la contaminarea substraturilor de sol, distrugerea texturii acestuia, a peisajelor ecologice, poluarea apelor subterane și scăderea diversității biologice [5].

Conform estimărilor recente, contaminarea solului ce necesită depoluare se extinde pe aproximativ 250.000 de situri din

**ABSTRACT:** This paper presents the bioleaching principle under aerobic conditions and classification of the main types of microorganisms used in the decontamination of soils polluted with heavy metals in order to establish optimal category used in remediation. Also shown are the main bioleaching techniques that are used nationally and worldwide and an analysis of comparison between them to translate the degree of influence they have on the environment and human health.

**KEYWORDS:** microorganisms; bioleaching methods, polluted soil, heavy metals.

### 1. INTRODUCTION

Soil pollution by heavy metals is a major threat to the environment and human health. The mining and metallurgical activities that were particularly intensive during the last century resulted in the generation of huge amounts of mining wastes. Their improper management in the past resulted in the mobilization of heavy metals to the surrounding environment, contributing to soil substrates contamination, soil texture destruction, ecological landscape destruction, groundwater pollution, biological diversity decrease [5].

Soil contamination requiring clean-up exists at approximately 250.000 sites in the European Environment Agency member

țările membre ale Agenției Europene de Mediu [8]. După datele preliminare datorită poluării prin exploatarea minieră, la nivel de țară, sunt afectate 24.432 ha, dintre care 23.640 ha sunt excesiv afectate [12]. Soluționarea problemei poluării solului contaminat cu metale grele, se face în condiții optime prin biolixiviere, ce presupune utilizarea microorganismelor ce se găsesc în apele de mină.

Cadmiul, cromul, cuprul, mercurul, plumbul, nichelul și zincul sunt metalele ce reprezintă un efect de îngrijorare, deoarece spre deosebire de cei mai mulți dintre poluanții organici, acestea nu sunt mineralizate de către microorganisme, ci doar oxidate sau reduse și nu pot fi degradate chimic sau biologic, fiind indestructibile [9,10].

## 2. PRINCIPIUL BIOLIXIVIERII AEROBE

Biolixivierea, recunoscută și sub denumirea de bio-solubilizare sau bio-oxidare, a câștigat o atenție sporită, fiind inovatoare, ecologică și economică. Procesele biolixivante se bazează pe capacitatea microorganismelor de a transforma compușii solizi în elemente solubile și extractibile care pot fi recuperate [5,6].

În procesul de biolixiviere aerobă, microorganismele sau bacteriile folosite oxidează în mod direct sau indirect compușii anorganici (Figura 1)

Oxidarea și activitatea de producere a acidului de către bacteriile sulfo-oxidante sunt esențiale [5].

Aceste procedee se fac cu ajutorul microorganismelor chemolitotrofe ce aparțin unor grupuri cunoscute sub numele de extremofile, deoarece trăiesc în condiții extrem de acide (pH 1-3.0) și în prezența concentrațiilor foarte mari de metale grele toxice [4].

countries, according to recent estimates [8]. After preliminary data due to pollution from mining at country level there are 24.432 ha, of which 23.640 ha are excessively affected [12]. Solving the problem of contaminated soil with heavy metals is done in optimal conditions by using the bioleaching method, which involves the use of microorganisms that are found in mine waters.

Cadmium, chromium, copper, mercury, lead, nickel and zinc are metals that represent an effect of concern, because unlike most organic pollutants, they are not mineralized by microorganism, but oxidized or reduced and cannot be chemically or biologically degraded, they are indestructible [9,10].

## 2. AEROBIC BIOLEACHING PRINCIPLE

Bioleaching also known as bio-solubilisation or bio-oxidation has gained increased attention since it is innovative, environmentally friendly and economical. Bioleaching processes are based on the ability of microorganisms to transform solid compounds in soluble and extractable elements which can be recovered [5,6].

Microorganisms or bacteria used in aerobic bioleaching process oxidize directly or indirectly inorganic compounds. (Figure 1)

The oxidation and acid producing activity of sulfur-oxidizing bacteria are essential [5].

These procedures are done with chemolithotrophic microorganisms belonging to those groups known as extremophiles, since they live in extremely acidic conditions (pH 1-3.0) and in the presence of very high toxic heavy-metal concentrations [4].

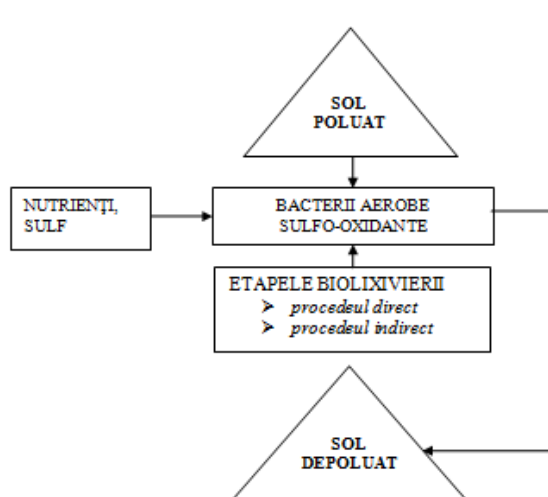


Fig. 1. Biolixivierea solului poluat utilizând bacterii aerobe sulfo-oxidante.

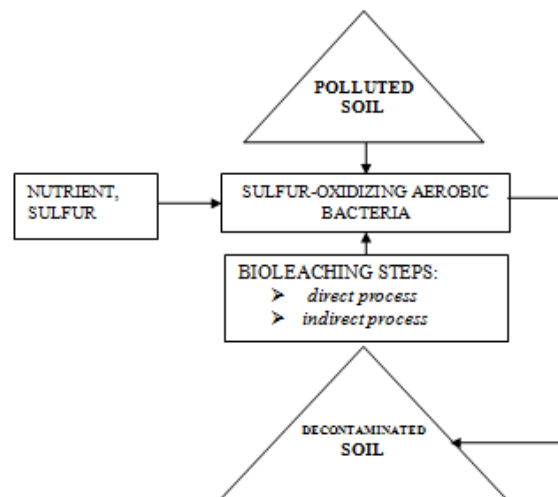
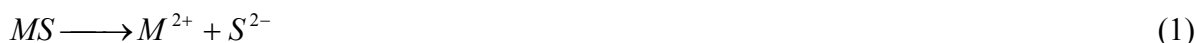


Fig1. Bioleaching of polluted soil using sulfur-oxidizing aerobic bacteria

➤ În procedeu direct, bacteriile pot oxida direct ionul de sulf din sulfura de metal, în sulfat având următoarele ecuații [1,3,5]:



În acest caz se folosește o reacție generală pentru a exprima oxidarea biologică a unei sulfuri metalice implicate în biolixiviere. Sulfurile metalice pot fi pe bază de fier (pirite) sau pe baza altor metale [5].



➤ În procedeu indirect, oxidarea sulfurilor metalice se face prin intermediul ionilor ferici generați pe cale microbiană.



Fierul feros care se formează este reoxidat de către bacterii. Când se formează sulfurul, prezența bacteriilor este indispensabilă pentru oxidarea lui în acid sulfuric și menținerea astfel a metalului solubilizat [7].



➤ In direct process, bacteria can directly oxidize sulfur ion in sulphate from metal sulphide, with the following equation [1,3,5]:

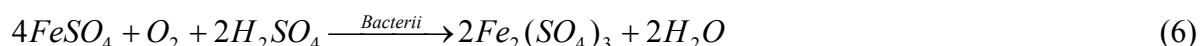
In this case a general reaction is used to express the biological oxidation of metal sulphide involved in bioleaching. Metal sulphides can be based on iron (pyrites) or based on other metals [5].

➤ Using the indirect process, oxidation of metal sulphides by ferric ions is generated by microbial way.

The ferrous iron that is formed is reoxidated by the help of bacteria. When sulfur is formed, the presence of bacteria is essential for oxidation of sulfuric acid and thus maintains solubilised metal [7].

Producerea de acid sulfuric menține aciditatea soluției la un pH favorabil, și conduce la dezvoltarea bacteriilor fero-oxidante și sulfo-oxidante și la solubilizarea metalelor. Aceste bacterii sunt capabile de a oxida formele reduse ale sulfurului (sulfura, sulfitul, thiosulfatul) [7].

Procedeul general de lixiviere indirectă este scris sub forma ecuației (6) și implică ciclul feros-feric, fiind o reacție importantă realizată prin intermediul bacteriei *Acidithiobacillus ferrooxidans* [3].



Mecanismele importante în procesul de biolixiviere sunt: oxidarea și activitatea de producere a acidului de către bacterii [2].

Concret microorganismele de tipul *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, *Sulpholobus spp.* și bacteriile termofile, incluzând *Sulpholobus hermosulphidoxidans* sunt cunoscute a fi implicate în procesul de biosolubilizare (Tabelul 1) [3,4].

Production of sulfuric acid maintains the solution acidity at a favorable pH level and they lead to the development of ferro-oxidizing and sulfur-oxidizing bacteria and metal leaching. These bacteria are able to oxidize reduced forms of sulfur (sulfide, sulphite, thiosulphite)[7].

General indirect leaching process written as equation (6) is an important reaction achieved through *Acidithiobacillus ferrooxidans* bacteria, and involves the ferric-ferrous cycle [3].

Important mechanisms in bioleaching process are: oxidation and acid production activity of the bacteria [2].

Specifically, microorganisms such as *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, *Sulpholobus spp.* and thermophilic bacteria including *Sulpholobus hermosulphidoxidans* are known to be involved in bioleaching. (Table 1) [3,4].

**Table 1. Microorganismes, processes and application area [3,4,11].**

Microorganismes	Procese	Aria de aplicabilitate
Bacterii de genul <i>Acidithiobacillus</i> și <i>Leptospirillum</i>	Oxidarea sulfurilor metalice, S și Fe <sup>2+</sup> la pH 1.4-3.5 și temperatura 5-35° C.	- În lixivierea metalelor în vrac, subteran sau în bazin, din minereuri și concentrate, din deșeuri din industriile pirometalurgice,
Bacterie termofilă similară cu <i>Acidithiobacilli</i>	Același la pH 1.1-3.5 și temperatură 30-55° C.	- Biosolubilizarea metalelor din sulfuri metalice. - La desulfurarea cărbunelui. - Biolixivierea minereului de aur pentru îndepărtarea matricei pirită
Bacterie termofilă de genul <i>Sulphobacillus</i>	Același la pH 1.1-5.0 și temperatură 20-60° C.	- Biosolubilizarea metalelor din sulfuri metalice.
Bacterie acidofilă de genul <i>Sulpholobus</i> și <i>Acidianus</i>	Același la pH 1-5 și temperatură 45-96° C.	- Biolixivierea minerului de aur pentru îndepărtarea matricei pirită
Microorganismes organotrofe și	- Distrugerea sulfurilor metalice și silicați de aluminiu,	- Pentru extracția prin lixiviere a metalelor din minereuri și

metaboliții lor (fungi, bacterii, alge)	- Reducerea și oxidarea manganului, - Solubilizarea aurului și biosorpția de metal.	roci carbonatate și silicate, - Pentru extracția selectivă a metalelor din soluții.
---	--	--

*Table 1. Microorganisms, processes and areas of application. [3,4,11].*

Microorganisms	Process	Areas of application
Bacteria of the genera <i>Acidithiobacillus</i> and <i>Leptospirillum</i>	Oxidation of sulphide metals, S and Fe <sup>2+</sup> at pH 1.4-3.5 and temperature 5-35 <sup>0</sup> C.	-Dump, underground and tank leaching of metals from ores and concentrates from wastes of pyrometallurgical industries,
Thermophillic bacteria similar to <i>Acidithiobacilli</i>	Same at pH 1.1-3.5 Temperature 30-55 <sup>0</sup> C	-Bioleaching of metals from sulphide metals. -To desulphurization of coal. - -Bioleaching of gold ore to remove pyrite matrix
Thermophillic bacteria of the genus <i>Sulphobacillus</i>	Same at pH 1.1-5.0 Temperature 20-60 <sup>0</sup> C	-Bioleaching of metals from sulphide metals.
Acidophillic bacteria of genera <i>Sulpholobus</i> and <i>Acidianus</i> .	Same at pH 1-5 Temperature 45-96 <sup>0</sup> C	- Bioleaching of gold ore to remove pyrite matrix
Organotrophic microorganisms and their metabolites (Fungi, Bacteria, Yeast, Algae)	- Destruction of sulphide metals and aluminum silicates, -Reducing and oxidation of manganese, -Solubilising gold and biosorption of metal.	-For extraction of metals from carbonates and silicate ores and rocks, -For selective extraction of metals from solution.

Pentru biolixiviere au fost utilizate atât speciile bacteriene cât și fungice. Speciile bacteriene acidofile au fost folosite în biolixivierea minerului de aur pentru îndepărtarea matricei pirită. Bacteriile aparținând genului *Acidithiobacillus* sunt autotrofe aerobe și acidofile, ce joacă un rol important în biosolubilizarea metalelor din minerale sulfide. Aceste microorganisme cedează energia necesară oxidării compușilor de fier și sulf. Fierul feeric și acidul sulfuric produse în sistem produc solubilizarea metalului. Capacitatea bacteriei *Acidithiobacillus* de a oxida Fe<sup>2+</sup> și S determină eficacitatea procesului [3].

For bioleaching both bacterial and fungal species have been used. Acidophilic bacterial species have been used in refractory gold ore leaching for removal of pyrite matrix. The bacteria belonging to the genus *Acidithiobacillus* are aerobic and acidophilic autotrophes which play an important role in the bioleaching of metals from sulphidic minerals. These microorganisms derive their energy requirements from oxidation of iron and sulfur compounds. Ferric iron and sulfuric acid produced in the system bring about metal solubilisation. The ability of *Acidithiobacillus* to oxidize Fe<sup>2+</sup> and S determine the process efficiency [3].

### 3. TEHNICI DE EXTRACȚIE PRIN BIOLIXIVIERE

Tehnicile principale folosite în procedeul de biolixiviere sunt: prin percolare și prin agitare în instalații speciale numite bioreactoare. Realizarea acestora se face în condiții aerobe și anaerobe.

#### 3.1. Biolixivierea în bioreactor cu curent ascendent

Solul este plasat într-un reactor cu un raport sol/mediu nutritiv lichid ce permite formarea unei suspensii de sol. Particulele de sol sunt amestecate și ținute în suspensie într-un mediu nutritiv lichid sub un flux permanent de aer comprimat care promovează omogenizarea și oxigenarea suspensiei de sol [7].

Un bioreactor cu curent ascendent (Figura 2) este format din 3 părți: partea de sus, coloana principală cu manta de apă și partea de jos ce presupune insuflarea de aer. Coloana principală constă dintr-un tub interior de 5 cm diametru, un tub exterior cu diametrul de 15 cm și 150 cm înălțime. Aerul comprimat este insuflat în partea de jos a coloanei în tubul intern, producând un flux de recirculare a suspensiei din coloană. Partea de sus a reactorului este pentru a preveni revărsarea suspensiei [1].

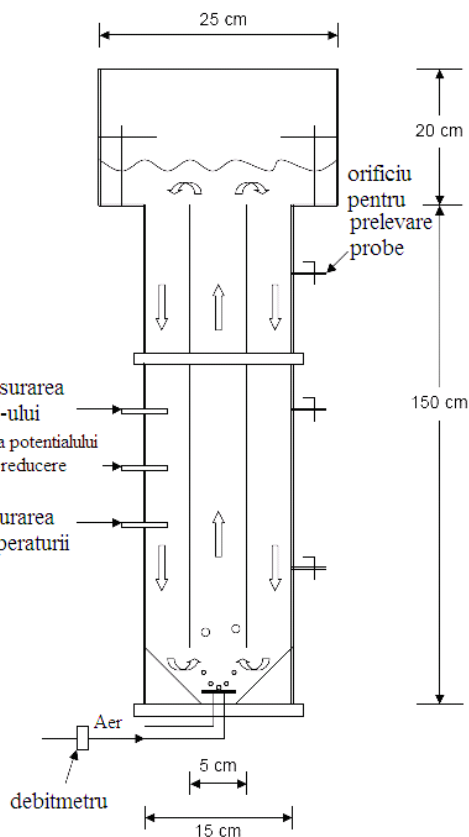
### 3. EXTRACTION TECHNIQUES BY BIOLEACHING

The main techniques used in the process of bioleaching are: by percolation and agitation in special installations called bioreactors. Their implementation is done in aerobic and anaerobic conditions.

#### 3.1. Bioleaching in air-lift bioreactor

The soil is placed in a reactor with a ratio between soil and liquid nutrient environment that allows the formation of a soil suspension. Soil particles are mixed and kept in suspension in a liquid nutrient medium under a constant flow of compressed air that helps mixing and oxygenation of soil suspension [7].

An air-lift bioreactor (Figure 2) consists of three parts: top part, main column with water jacket and bottom part with an air diffuser. The main column consisted of an internal tube of 5 cm diameter, an external tube of 15 cm diameter and 150 cm height. Compressed air was infused from the bottom of the column into the internal tube, which produced a recirculation flow in the column. The top part of reactor is to prevent the overflow of sediment [1].



**Figura 2.** Bioreactor cu curent ascendent de aer folosit pentru biolixiviere [1].

**Figure 2.** Air-lift bioreactor used for bioleaching [1].

### 3.2. Biolixivierea prin percolare în condiții aerobe

Solul excavat se depune sub formă de grămadă pe o geomembrană. Zona de tratare conține un sistem de colectare și un sistem de post-tratare fizică sau chimică a lixiviatelor înainte de procesul de reciclare, o unitate de aerare (extracție sau insuflare de aer) pentru a optimiza transferul de oxigen și o instalație de precipitare a metalelor și metaloizilor extrase [11,7]. Grămada de sol va avea o înălțime de câțiva metri în cazul solurilor argiloase, prin care soluția percolează mai greu sau de 10-20 m în cazul solurilor permeabile [6].

### 3.3. Biolixivierea în bioreactor în condiții anaerobe

Solul contaminat este excavat și introdus într-un bioreactor etanș sub formă de nămol. În prealabil, este necesară eliminarea fracțiilor grosiere prin pre-tratare fizico-

### 3.2. Bioleaching by percolation in aerobic conditions

Excavated soil is deposited under pile form on a geomembrane. The treatment area includes a leachate collection system and physical and/or chemical post-treatment of leachate before recycling, aerating unit (extraction or air insufflations) to optimize the transfer of oxygen and precipitation unit of metals and metalloids extracted [11,7]. The soil pile will have a height of several meters when clay soils are present and the solution percolates more difficult and 10 – 20 m in permeable soils [6].

### 3.3. Bioleaching in bioreactor in anaerobic conditions

Contaminated soil is excavated and placed in a sealed bioreactor as sludge. In advance, coarse fractions should be removed by physical-chemical pre-treatment. In the

chimică. În reactor, se adaugă elemente nutritive și eventual un agent chelator, cum ar fi EDTA (etilen-diamină-triacetică), și se agită continuu sau discontinuu [7]. Urmează o separare lichid/solid, faza lichidă fiind supusă tratării metalelor dizolvate.

### 3.4. Biolixivierea prin percolare în condiții anaerobe

Solul excavat se plasează într-un bazin etanș, și încorporat cu scopul de a menține un strat de apă deasupra fazei solide. Nutrienții sunt injectați în stratul de apă pentru a percola prin sol într-o mișcare descendentă (Figura 3).

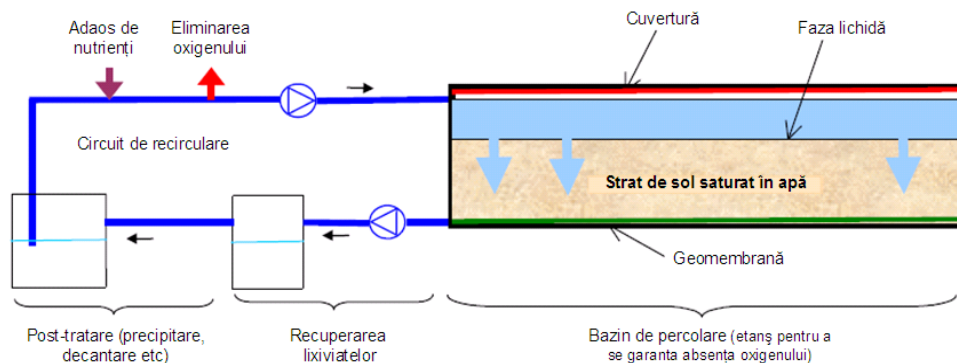


Figura 3. Biolixivierea prin percolare în condiții anaerobe [7].

Faza lichidă este recuperată la baza bazinului, tratată pentru a elimina metalele dizolvate, și reutilizată pentru a pregăti soluția de nutrienți. Este posibil ca bazinul să fie acoperit pentru a reduce oxigenarea stratului de apă, evitând astfel re-precipitarea metalelor în zona superioară a stratului de sol [7].

O analiză comparativă (Tabelul 2) s-a efectuat în vederea stabilirii concluziilor cu privire la aplicabilitatea acestor procedee.

reactor, nutrients and possibly a chelating agent such as EDTS (ethylene-diamine-triacetate) are added, and stir continuously or discontinuously [7]. Following is a liquid/solid separation phase; liquid phase is subjected to treatment of dissolved metals.

### 3.4. Bioleaching by percolation in anaerobic conditions

Excavated soil is placed in a sealed tank and built-in in order to maintain a water layer above the solid phase. Nutrients are injected into the layer of water percolated through the soil using a downward motion (Figure 3).

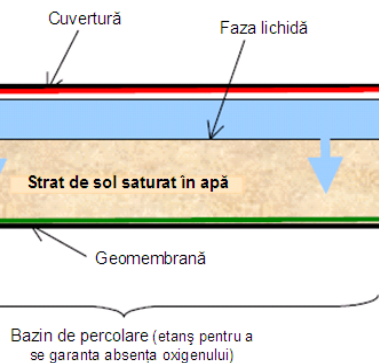


Figure 3. Bioleaching by percolation in anaerobic conditions [7].

The liquid phase is recovered from the bottom of the basin, treated to remove dissolved metals, and reused to prepare the nutrient solution. It is likely that the basin is covered to reduce oxygenation in the water layer, thus avoiding re-precipitation of metals in the upper soil layer [7].

A comparative analysis (Table 2) was conducted to establish the conclusions for the applicability of these procedures.

Tabel 2. Analiza comparativă a tehnicilor aerobe/anaerobe

Tehnica utilizată	Condiții aerobe	Condiții anaerobe
Biolixivierea prin percolare	- Excavarea solului și depunerea pe o geomembrană, - Necesită post-tratarea	- Excavarea solului și plasarea într-un bazin etanș (garantează absența O <sub>2</sub> ), - Necesită post-tratarea levigatului,



	levigatului, - Necesită o instalație de precipitare pentru soluție.	- Faza lichidă se tratează și se reutilizează în proces,
Biolixivierea prin agitare în bioreactoare	- Oxigenul ajută la omogenizarea particulelor în suspensiei, - Este necesară o post-tratare a suspensiei.	- Necesită o pretratare a solului pentru eliminarea fracțiilor grosiere, - Utilizarea nutrienților, - Se face separarea lichid/solid, în vederea tratării fazei lichide.

Table 2. Comparative analysis of aerobic / anaerobic techniques

Technique used	Aerobic conditions	Anaerobic conditions
Bioremediation by percolation	- Soil excavation and deposition on a geomembrane, - Requires post-treatment of leachate, - Requires an installation of precipitation for the solution.	- Excavation and placed of soil in a sealed tank ( guarantee the absence of O <sub>2</sub> ), - Requires post-treatment of leachate, - The liquid phase is treated and reused in the process,
Bioremediation by agitations in bioreactors	-Oxygen helps to mix the particles in suspension, -It is necessary an after-treatment of suspension.	- Requires pretreatment of the soil to eliminate coarse fractions, - Use of nutrients, - Liquid/solid separation is made, to treat the liquid phase.

#### 4. CONCLUZII

Analizând principiul biolixivierii anaerobe se concluzionează că prin utilizarea microorganismelor de tipul *Acidithiobacillus* decontaminarea se face atât în mod direct, caz în care microorganismele pot oxida direct ionul de sulf din sulfura de metal, cât și indirect când oxidarea sulfurilor metalice se face prin intermediul ionilor ferici generați pe cale microbiană.

Din analiza comparativă făcută asupra tehnicilor de remediere reiese faptul că aplicabilitatea în condiții optime a procedurilor aerobe și a celor anaerobe are un impact negativ minor asupra mediului și randamente de depoluare mari. În aceste condiții sănătatea umană nu este pusă în pericol.

Din punctul de vedere al aplicabilității, biolixivierea prin percolare aerobă prezintă cel mai mare grad de aplicare, fiind folosită chiar și la nivel industrial pentru

#### 4. CONCLUSIONS

Analyzing the principle of anaerobic bioremediation is concluded that using microorganisms such as *Acidithiobacillus* the decontamination process is done both directly, in which case microorganisms can directly oxidize sulfur ion from metal sulphide, and also indirectly when the oxidation of metal sulphides by ferric ions is generated using the microbial way.

From comparative analysis made on remediation techniques shows that the applicability of aerobic and anaerobic process in optimal conditions has a minor negative impact on the environment and high remediation efficiency. In these conditions human health is not endangered.

From the point of view of applicability, aerobic percolation bioremediation has the greatest degree of application, being used even in industry for various heavy metals.

diferite metale grele.

**NOTĂ:** Această lucrare a beneficiat de suport financiar prin proiectul "Creșterea calității studiilor doctorale în științe inginerești pentru sprijinirea dezvoltării societății bazate pe cunoaștere-QDOC", contract: POSDRU/107/1.5/S/78534, proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013.

## BIBLIOGRAFIE

- [1] Chen, S.-Y., Lin, J.-G., - Bioleaching of heavy metals from contaminated sediment by indigenous sulfur-oxidizing bacteria in an air-lift bioreactor: effects of sulfur concentration, *Water Research* 38, 2004;
- [2] Chen, S.-Y., Lin, P.-L., - Optimization of operating parameters for the metal bioleaching process of contaminated soil, *Separation and Purification Technology* 71, 2010;
- [3] Jayesh, D.-S.-D.-M., Bioleaching of lateritic nickel ore using chemolithotrophic microorganisms (*Acidithiobacillus ferrooxidans*), National Institute of Technology Rourkela, 2007;
- [4] Jerez, C.A., - Biomining Microorganisms: Molecular Aspects and Applications in Biotechnology and Bioremediation - Soil Biology. *Advances in Applied Bioremediation*, 2009;
- [5] Liu, Y.-G. et al., - Bioleaching of heavy metals from mine tailings by indigenous sulfur-oxidizing bacteria: Effects of substrate concentration, *Bioresource Technology* 99, 2008;
- [6] Micle, V., Neag, G., - Procedee și echipamente de depoluare a solurilor și a apelor subterane, UTPRESS, Cluj-Napoca, 2009;
- [7] Micle, V. – Reabilitarea ecologică a siturilor poluate, *Notițe de curs -Masterat*, Cluj-Napoca, 2010;
- [8] Mougin, C., Boukcim, H., Jolival, C., -

**ACKNOWLEDGMENT:** This paper was supported by the project "Improvement of the doctoral studies quality in engineering science for development of the knowledge based society-QDOC" contract no. POSDRU/107/1.5/S/78534, project co-funded by the European Social Fund through the Sectorial Operational Program Human Resources 2007-2013.

## REFERENCES

- [13] Chen, S.-Y., Lin, J.-G., - Bioleaching of heavy metals from contaminated sediment by indigenous sulfur-oxidizing bacteria in an air-lift bioreactor: effects of sulfur concentration, *Water Research* 38, 2004;
- [14] Chen, S.-Y., Lin, P.-L., - Optimization of operating parameters for the metal bioleaching process of contaminated soil, *Separation and Purification Technology* 71, 2010;
- [15] Jayesh, D.-S.-D.-M., Bioleaching of lateritic nickel ore using chemolithotrophic microorganisms (*Acidithiobacillus ferrooxidans*), National Institute of Technology Rourkela, 2007;
- [16] Jerez, C.A., - Biomining Microorganisms: Molecular Aspects and Applications in Biotechnology and Bioremediation - Soil Biology. *Advances in Applied Bioremediation*, 2009;
- [17] Liu, Y.-G. et al., - Bioleaching of heavy metals from mine tailings by indigenous sulfur-oxidizing bacteria: Effects of substrate concentration, *Bioresource Technology* 99, 2008;
- [18] Micle, V., Neag, G., - Procedee și echipamente de depoluare a solurilor și a apelor subterane, UTPRESS, Cluj-Napoca, 2009;
- [19] Micle, V. – Reabilitarea ecologică a siturilor poluate, *Notițe de curs -Masterat*, Cluj-Napoca, 2010;
- [20] Mougin, C., Boukcim, H., Jolival, C., -

- Soil Bioremediation Strategies Based on the Use of Fungal Enzymes - Soil Biology. Advances in Applied Bioremediation, 2009;
- [9] Nareshkumar, R., Nagendran, R., Parvathi, K., - Bioleaching of heavy metals from contaminated soil using *Acidithiobacillus thiooxidans*: effect of sulfur/soil ratio, *World J Microbiol Biotechnol* 24, 2008;
- [10] Ren, W.-X., Li, P.-J., Geng, Y., Li, X.-J., - Biological leaching of heavy metals from a contaminated soil by *Aspergillus niger*, *Journal of Hazardous Materials* 167, 2009;
- [11] \*\*\*Proiect de înfrățire PHARE 2006/IB/EN-03 - Ghid privind tehnicile de depoluare a siturilor și solurilor contaminate;
- [12] \*\*\*Raport anual privind Starea Mediului în România pe anul 2009, Capitolul 5. - Solul, [http://www.anpm.ro/upload/16102\\_5%20SOL%202009.pdf](http://www.anpm.ro/upload/16102_5%20SOL%202009.pdf);
- Soil Bioremediation Strategies Based on the Use of Fungal Enzymes - Soil Biology. Advances in Applied Bioremediation, 2009;
- [21] Nareshkumar, R., Nagendran, R., Parvathi, K., - Bioleaching of heavy metals from contaminated soil using *Acidithiobacillus thiooxidans*: effect of sulfur/soil ratio, *World J Microbiol Biotechnol* 24, 2008;
- [22] Ren, W.-X., Li, P.-J., Geng, Y., Li, X.-J., - Biological leaching of heavy metals from a contaminated soil by *Aspergillus niger*, *Journal of Hazardous Materials* 167, 2009;
- [23] \*\*\*Proiect de înfrățire PHARE 2006/IB/EN-03 - Ghid privind tehnicile de depoluare a siturilor și solurilor contaminate;
- [24] \*\*\*Raport anual privind Starea Mediului în România pe anul 2009, Capitolul 5. - Solul, [http://www.anpm.ro/upload/16102\\_5%20SOL%202009.pdf](http://www.anpm.ro/upload/16102_5%20SOL%202009.pdf);