



инж. ЯНА ЙОРДАНОВА МЕРСИНКОВА

**ФАКТОРИ, ВЛИЯЕЩИ ВЪРХУ ПОВЕДЕНИЕТО НА БИО-  
ЕЛЕКТРОХИМИЧНИ СИСТЕМИ**

АВТОРЕФЕРАТ

на научен труд за придобиване на образователна и научна степен  
„доктор” по научна специалност “Технология за пречистване на  
водите”, Професионално направление 5.10. “Химични технологии”

Научен ръководител: доц. д-р инж. Хюсеин Йеменджиев

**Бургас, 2022**

Дисертационният труд е обсъден на разширен катедрен съвет при катедра Химични технологии, Университет „Проф. д-р Асен Златаров” – гр. Бургас, на заседание, състояло се на 20.01.2022г. и е насочен за разкриване на процедура за защита пред жури, определено със заповед ..... на Ректора на Университет „Проф. д-р Асен Златаров”.

Дисертационният труд съдържа 105 страници, 3 таблици и 24 фигури. В библиографията са включени 165 заглавия.

## СПИСЪК НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ СЪКРАЩЕНИЯ

АТФ - Аденозинтрифосфат

БЕС - Био-електрохимични системи

БПК - Биологична потребност от кислород

ДТА - Диференциално термичен анализ

ЕГК - Електролизна горивна клетка

МГК - Микробиологична горивна клетка

МЕК - Микробиологична ензимна клетка

ОВ - Отпадъчни води

СЕМ - Сканираща електронна микроскопия

ХПК - Химична потребност от кислород

COD - Chemical oxygen demand

ICP MS- Inductively coupled plasma mass spectrometry

LB- Luria- Bertani Broth

NAD<sup>+</sup>- Никотинамид аденин динуклеотид

NADH - Редуциран никотинамид аденин динуклеотид

PCR - Полимеразна верижна реакция

## **ВЪВЕДЕНИЕ**

*Биоелектрохимичните системи (БЕС) са хибридни реактори, чрез които може едновременно да се третираят потоци, съдържащи органични замърсители и да се възстановява енергия от тях, често директно под формата на електрически ток. Типичен пример за такава система са Микробиологичните горивни клетки (МГК), които се състоят от анод, катод, сепаратор и външна верига, свързваща двата електрода. За да протече пълноценен био-електрохимичен процес е необходимо в анодното пространство да присъстват специална група електрохимично активни микроорганизми (често наричана електрогени). Особеност на техния метаболизъм е, че в анаеробна среда те могат да осъществяват безкислородно дишане като отдават добитите при окислените на субстратите електрони на различни алтернативни външни крайни акцептори. Осъществяването на този тип процеси при пречистването на отпадъчни води може да намали високите енергийните нужди на биологичното пречистване дори и само чрез елиминирането на нуждата от принудителна аерация, което би намалило значително и въглеродният отпечатък на водообработката.*

*В настоящата работа са разгледани състоянието на БЕС и са представени резултати от оригинални изследвания на този тип реактори.*

## ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящата работа е да се проучи влиянието на някои основни биологични и технологични фактори, върху цялостното поведение на Био - електрохимичните системи и в частност реакторите от типа Микробиологична горивна клетка.

За постигането на тази цел бяха формулирани следните изследователски задачи:

1. Идентифициране и характеризиране на природни местообитания и източници на електрохимично активни бактерии.
2. Определяне на таксономичната принадлежност на електрохимично активните микроорганизми в анодните биофилми.
3. Изследване на влиянието на външното съпротивление върху мощността, електрохимията и биохимията на МГК.
4. Изследване на възможностите за приложение на микробна анодна имобилизация при МГК.
5. Приложение на БЕС при третирането на реални отпадъчни води и сравнителна характеристика по отношение на конвенционалните анаеробни процеси.

## ОСНОВНИ МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Всички химикали, използвани в това проучване са с аналитична или биохимична чистота и са набавени от съответните производители и доставчици. Ако не е изрично упоменато, всички експерименти са проведени при анаеробни условия и стайна температура (около 22°C) в лабораторни двукамерни МГК изработени от PVC и плексиглас с обем на анодната и катодната камери 45ml и електроди от въглеродно платно с токоотводи от корозионно устойчива стомана.

Всички биоелектрохимичните експерименти са проведени в три-електродна система с работен, измервателен и референтен електрод. Като референтен е използван - Ag/AgCl електрод (нас. KCl, 0.210 V vs. SHE, Metrohm Autolab, Netherlands).

В изследванията са използвани още следните апарати и методи:

- PCR апарат ESCO Swift™ MiniPro
- Спектрофотометър Lange DR 3900
- Апарат за диференциална термо гравиметрия NETZSCH STA 449 F3 TGA-DSC
- ICP апарат Spectro Analytical Instruments GmbH
- Сканиращ електронен микроскоп Inovenso SEMoscope IEM10
- Електрохимичен анализатор за циклична волтаметрия METROHM AUTOLAB PGSTAT101
- Мултиметър RIGOL DM3058E

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

### 1. Идентифициране и характеризиране на природни местообитания и източници на електрохимично активни бактерии

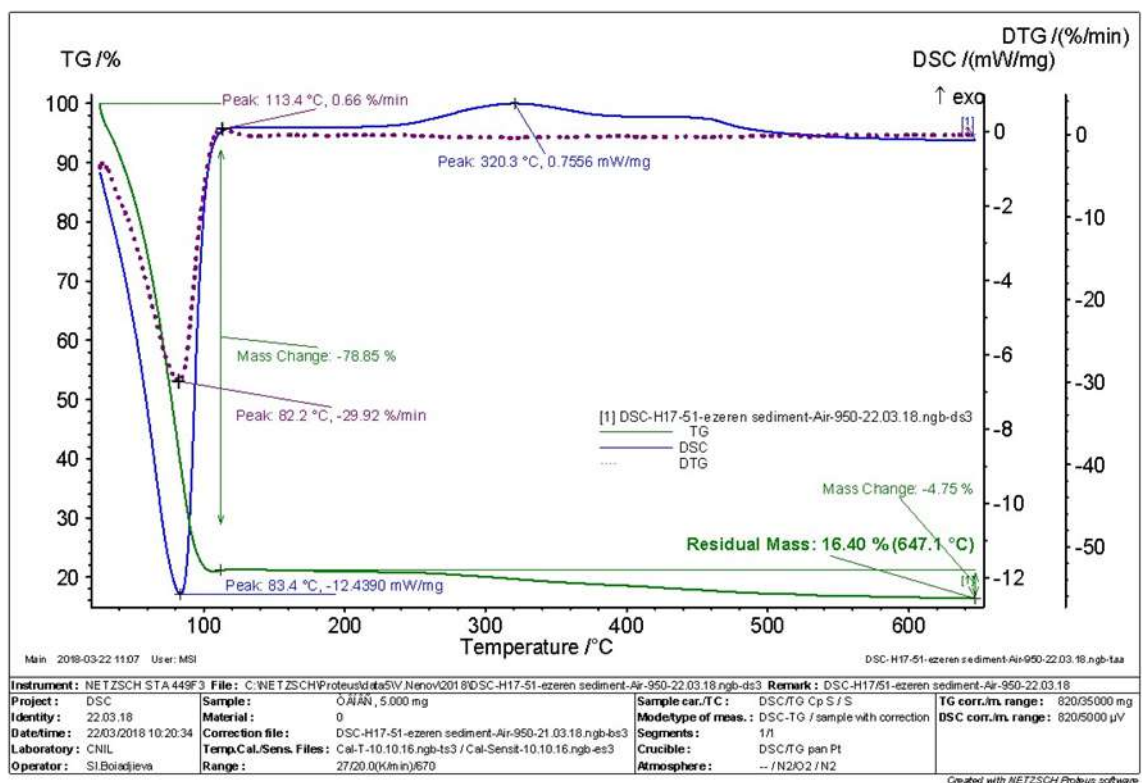
Първоначалната хипотеза в това изследване беше, че електрохимично активни микроорганизми, способни на безкислородно дишане и потенциално приложими като анодни култури в МГК биха обитавали екологични ниши, които се характеризират с ниска наличност на разтворен кислород, високо органично съдържание и присъствие на потенциални алтернативни електронни акцептори (като желязни и манганови йони). Основен обект на проучването бяха езерни седименти от Защитена местност "Пода", разположена на излива на езерото „Узунгерен”, южно от град Бургас.

Бяха взети серия от проби, включващи вода и седимент от изследвания обект. По време на пробовземането, на място бяха измерени основните физични параметри на водата. Получените резултати показват, че водното тяло се характеризира с много ниска концентрация на разтворен кислород, варираща от 1,4 до 2,2 mg/dm<sup>3</sup> в различните му участъци на дълбочина от 1м. Електропроводимостта и активната реакция на водата са относително високи, достигайки средни стойности съответно 5230  $\mu$ S/cm и рН 8,2. Високите стойности на проводимостта са показател за висока концентрация на разтворени органични и неорганични вещества.

Анализът на данните показва интензивна промяна на масата на изследваната проба в интервала от 30-105 °C(зелената линия на Фиг. 6), което е резултат от влагосъдържанието на седимента. Друг отличителен масов преход се отчита при температури от 260 до 520 °C, който може да бъде отнесен към изгарянето на органичното съдържание в изследвания образец. В потвърждение на това, данните

от калориметрията отчитат увеличаване на емитираната от пробата топлина в същия интервал (тъмносинята линия на Фиг. 6). Според получените резултати и направените изчисления, съдържанието на органично вещество в пробата от седимента е 22,5% от общото сухо вещество.

Седиментните проби бяха подложени на термо-гравиметричен анализ, от който се очакваше да даде оценка за относителното съдържание на органика. Получените криви са представени на Фиг. 6.



**Фиг. 6.** Термо-гравиметричен анализ на седимент от Защитена местност „Пода“ - езеро “Узунгерен“

Известно е, че биоразнообразието и биохимичните процеси в езерните и речните седименти зависят от съдържанието на органичен въглерод. Според приетата класификация органичното съдържание от около 20 до 25% е висока концентрация и е характерно за среди с



интензивни метаболитни процеси на превръщане в седиментите (Neuer and Kalff, 1998). Процесите на биодеградация, извършвани от бентосния микробиом, са значително по-енергийно ефективни в присъствието на подходящи крайни електронни акцептори като разтворен кислород. Дълбоководните седименти обаче често са в условия на аноксичен режим и респираторните процеси и биологичното окисление на субстратите зависят в изключителна степен от наличието на подходящи алтернативни електронни акцептори. При тези условия, като такива могат да бъдат използвани йони, елементи и съединения с висок редокс потенциал. Примери в това отношение са нитратите ( $\text{NO}_3^-$ ), желязните йони ( $\text{Fe}^{3+}$ ), сулфатите ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), сярата (S), мангана (Mn) и др. Анаеробното дишане е част от биохимичните механизми зад глобалните цикли на азот, желязо, сяра и въглерод. Тези процеси се случват в различни среди, включително сладководни и морски седименти, почва, подпочвена среда и микробни биофилми.

За да се открие наличието на потенциални алтернативни електронни акцептори в изследваните седиментни и водни проби беше извършен ICP анализ на елементния състав. Получените резултати са представени в Табл. 2.

Известно е, че редуцируемите форми на желязо и манган в околната среда (като хематит, гьотит, ферихидрит, бирнезит и пиролузит) са обект на микробно редуциране и разтваряне. В този смисъл, наблюдаваните високи концентрации на Mn и Fe в изследваната проба от Защитена местност „Пода“ подкрепят заключението, че анаеробно дишане, основано на редукция на метални йони, е възможно в изследваната среда.

Разбира се, ключови в случая са и метаболитните възможности на конкретните микроорганизми. С цел да се установят и характеризират микроорганизми с електрохимична и електрогенна активност беше извършена микробиологична работа по изолиране на анаеробни бактерии от седиментната проба. Чрез култивиране в богата хранителна среда беше получена смесена микробна култура, която по-късно беше пренесена в анодната камера на лабораторна МГК, за да се

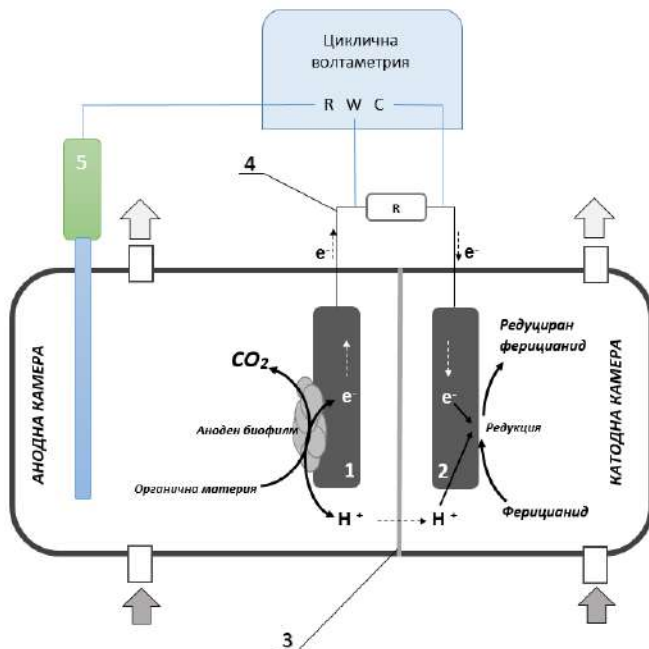
изследва поведението и. Образуването на аноден биофилм и неговата електрохимична активност бяха проследени чрез така наречените „стойности на анодния редукиционен ток” (резултат от електронния поток от бактериалната клетка към анодната повърхност), които се измерват чрез потенциостатична циклична волтаметрия и последващата обработка на получените сурови данни (Фиг. 7).

**Таблица 2.** Концентрация на основните елементи, присъстващи в седимент и водните проби от Защитена местност „Пода“ .

Елемент	Вода mg/dm <sup>3</sup>	Седимент mg/kg
<b>B</b>	2.151105	112.0807
<b>Mg</b>	775.974	7014.2490
<b>Al</b>	0.018349	8370
<b>Si</b>	2.543293	679.5351
<b>P</b>	0.372954	1537.3662
<b>Cr</b>	Не се установява	34.1101
<b>Mn</b>	<b>0.533521</b>	<b>395.0672</b>
<b>Fe</b>	<b>0.763587</b>	<b>30511.8976</b>
<b>Ni</b>	Не се установява	271.4268
<b>Co</b>	0.000387	14.4213
<b>Zn</b>	0.009713	124.9506
<b>Cu</b>	0.025476	256.4381
<b>As</b>	0.011003	4.6231
<b>Se</b>	0.023848	2.0683
<b>Cd</b>	Не се установява	0.9390

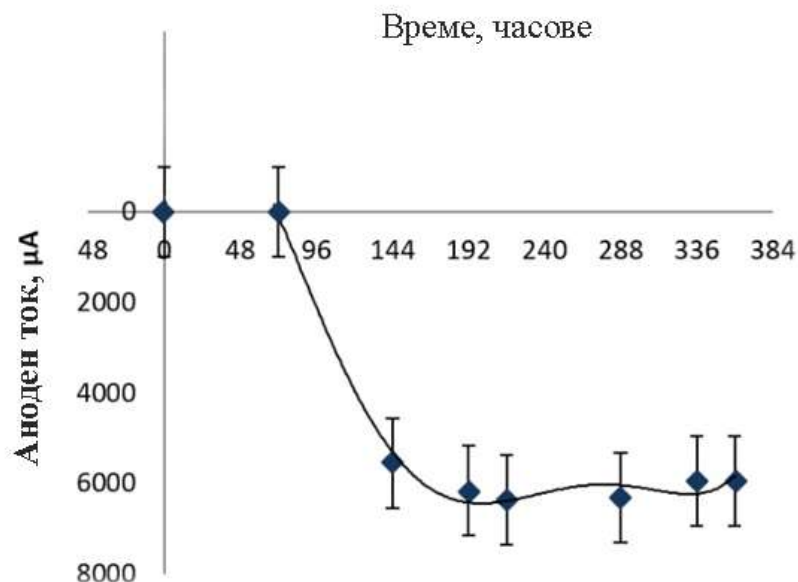
Клетката беше оперирана при състояние на стационарност по отношение на катодния потенциал чрез непрекъснато подаване на свеж феррицианид като католит. Периодично беше провеждан електрохимичен анализ, характеризиращ системата към дадения момент. Стойностите за анодния ток са свързани единствено с наличието на електрохимична активност върху анода, което в конкретния случай е резултат от електрогенните микроорганизми като

колкото по-висока е абсолютната стойност на тока, толкова по-активен е биофилма.



**Фиг. 7.** Схема на използваната МГК и електродната конфигурация на цикличната волтаметрия при анализа в аноден биофилм. 1-анод, 2-катод, 3-протон обменна мембрана, 4-външна верига с товар, 5-референтен електрод

Получените данни показаха типичната за периодичните микробни култури крива и динамика на развитие (Фиг. 8). След 72 часова лаг фаза, анодния ток започна експоненциално да се увеличава и достигна максимални стойности в рамките на една седмица от стартирането на процеса. Тези стойности бяха задържани в продължителна и сравнително устойчива стационарна фаза. Достигането на плато след определен период от време при постоянни операционни условия обикновено е свързано с успешната колонизация на електрода и електрохимичното стабилизиране на системата. Наблюдаваната ниска биоелектрохимична активност в първите часове след инокулация е характерна за първичните биофилми. Причината за това е, че в популацията, количеството на електроактивните бактерии е относително по-малко в сравнение с това на неелектрогенните микроорганизми. Това съотношение се очаква да се промени в хода на био-електрохимичния процес поради селективността на средата и условията.



**Фиг. 8** Формиране на електрохимично активен аноден биофилм в МГК инокулирана със смесена седиментна бактериален култура от ез. Узунгерен, Защитена местност „Пода“

Вземайки под внимание основната цел на изследването, а именно прилагането на МГК при третирането на отпадъчни води, анодната култура и цялостната работа на био-електрохимичния реактор във фазата на стабилизиране на електрохимичните процеси беше оценена и по отношение на деградационните характеристики. Направените анализи показаха средни скорости на отстраняване на ХПК за този етап от порядъка на  $42 \text{ mgO}_2/\text{dm}^3$  на ден като заедно с това беше развита пикова потенциална разлика между анод и катод от  $277 \text{ mV}$ . През този период максималната наблюдавана плътността на мощността достигна  $3,5 \text{ W/m}^2$  (отнесено към анодната повърхност). Достигането на тези стойности именно във фазата на култивиране след 168 час потвърждава направените по-рано заключения за „узряване“ и привеждане на анодния биофилм в работно състояние в този период.

## **2. Определяне на таксономичната принадлежност на електрохимично активните микроорганизми в анодните биофилми**

Съвременните подходи за идентифициране и класифициране на микроорганизмите се базират на полифазният таксономичен анализ. Той включва както класическите морфологични, физиологични и биохимични анализи, така и генетични характеристики на изследваните щамове. Като най-дискриминативен, а с напредването на технологиите и като най-бърз, се отличава методът базиран на консервативността на малката РНК-субединица. При прокариоти се секвенира участък от ДНК, кодиращ 16s субединицата на бактериалната рибозома. Първичната структура на този ген обикновено е достатъчна за детерминирането на родовата и видовата принадлежност на изследваните проби.

За идентифициране на електрогенните микроорганизми в анодния биофилм бяха изолирани чисти култури от микробната асоциация (чийто първоизточник е седиментна проба от ез. „Узунгерен“ в участъка на местност „Пода“), формирана на повърхността на анода. Бяха установени пет доминиращи щама, които бяха диференцирани по макро- и микро-морфологични признаци. Всички те бяха изолирани на богата хранителна среда в анаеробни условия. Изолатите бяха пречистени микробиологично до чисти култури и всеки от тях беше обозначен с индивидуален буквен и цифров код.

С цел да се установи точната таксономия на петте щама – P2, P3, P4, P5 и P6 от тях беше изолирана геномна ДНК, а след това беше проведена и PCR амплификация на 16S рибозомални гени с помощта на универсални праймери за бактерии. Всички праймери са създадени да оперират при висока температура на сдвояване, така че да се избегне възможността за неспецифична амплификация на нецелева ДНК. Очаквания размер на амплификационния продукт, получен при приложение на прайменранта двойна 27F и 1492R е около 1450 базови двойки.

Получените амплификационни продукти бяха пречистени и частично се секвенират с вътрешни праймери (785F и 907R) четящи веригата в двете посоки. С помощта на биоинформатичен методи и софтуер от суровата секвенционна информация бяха получени крайни секвенции с дължина от порядъка на 650 базови двойки (Фигури от 9 до 13). Секвенционните данни бяха използвани за сравнителен анализ с базите данни за водещи центрове за биоинформатична информация след който изследваните микробни изолати бяха таксономично Това е предпоставка за по-точно таксономично характеризирани и отнесени към съответните видове и родове.

Сравнителния генетичен и морфологичен анализ даде основание, изследваните изолати да бъдат отнесени към следните видове *Pseudomonas lutea* P2; *Bacillus cereus*.P3; *Pseudomonas protegens* P4; *Pseudomonas syringae* P5; *Aeromonas fluvialis* P6.

Като щамово название на изолираните бактерии беше посочен идентификационния код, използван при изолирането им (P#), който идва от латинския вариант на правата буква от наименованието на източника на изолиране – Защитена местност „Пода“.

```
1 gctaacgcat taagttgacc gcctggggag tacggccgca aggttaaaac tcaaatgaat
61 tgacgggggc cgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgaagcaac gcgaagaacc
121 ttaccaggcc ttgacatcca atgaactttc cagagatgga ttggtgcctt cgggaacatt
181 gagacagggtg ctgcatggct gtcgtcagct cgtgtcgtga gatgttgggt taagtcccgt
241 aacgagcgc aaccctgtcc ttagttacca gcacataatg gtgggcactc taaggagact
301 gccggtgaca aaccggagga aggtggggat gacgtcaagt catcatggcc cttacggcct
361 gggctacaca cgtgctacaa tggctcggta agagggttgc caagccgcga ggtggagcta
421 atcccagaaa accgatcgta gtccggatcg cagtctgcaa ctcgactgcg tgaagtcgga
481 atcgctagta atcgcgaatc agaatgtcgc ggtgaatacg ttcccgggcc ttgtacacac
541 cgcccgtcac accatgggag tgggttgacac cagaagtagc tagtctaacc ttcgggagga
601 cggttaccac ggtgtgattc atgactg
```

**Фиг. 9** Секвенция на фрагмент от16s рРНК ген от бактериален изолат P2

```

1 agtgtagag ggtttccgcc ctttagtgct gaagttaacg cattaagcac tccgcctggg
61 gagtacggcc gcaaggctga aactcaaagg aattgacggg ggcccgcaca agcgggtggag
121 catgtgggtt aattcgaagc aacgcgaaga accttaccag gtcttgacat cctctgaaaa
181 ccctagagat agggcttctc cttcgggagc agagtgacag gtgggtgatg gttgtcgtca
241 gctcgtgtcg tgagatgttg ggttaagtc cgcaacgagc gcaacccttg atcttagttg
301 ccatcattaa gttgggcaact ctaaggtgac tgccggtgac aaaccggagg aagggtggga
361 tgacgtcaaa tcatcatgcc ccttatgacc tgggctacac acgtgctaca atggacggta
421 caaagagctg caagaccgag aggtggagct aatctcataa aaccgttctc agttcggatt
481 gtaggctgca actcgcctac atgaagctgg aatcgcctag aatcgcggat cagcatgccg
541 cgggtaatac gttcccgggc cttgtacaca ccgcccgtca caccacgaga gtttghtaaca
601 cccgaagtcg gtggggtaac ctttttggag ccagccgcct aagggtgggac agatgattgg
661 ggtgaagtcg tac

```

**Фиг. 10** Секвенция на фрагмент от 16s рРНК ген от бактериален изолат Р3

```

1 agttgaccgc ctggggagta cggccgcaag gttaaaactc aaatgaattg acgggggccc
61 gcacaagcgg tggagcatgt ggtttaattc gaagcaacgc gaagaacctt accaggcctt
121 gacatccaat gaactttcta gagatagatt ggtgccttcg ggaacattga gacagggtgt
181 gcatggctgt cgtcagctcg tgtcgtgaga tgttgggtta agtcccgtaa cgagcgcaac
241 ctttgtcctt agttaccagc acgtaatggt gggcactcta aggagactgc cggtgacaaa
301 ccggaggaag gtggggatga cgtcaagtca tcatggccct tacggcctgg gctacacacg
361 tgctacaatg gtcggtacag agggttgcc aagcccgagg tggagctaat cccacaaaac
421 cgatcgtagt ccggatcgca gtctgcaact cgactgcgtg aagtcggaat cgctagtaat
481 cgcgaatcag aatgtcgcgg tgaatacgtt cccgggcctt gtacacaccg cccgtcacac
541 catgggagtg ggttgacca gaagtagcta gtctaacctt cgggaggacg gttaccacgg
601 tgtgattcat gactggggtg aagtcgtacg

```

**Фиг. 11** Секвенция на фрагмент от 16s рРНК ген от бактериален изолат Р4

```

1 cttgagctc ttagtggcgc agctaacgca ttaagttgac cgcctgggga gtacggccgc
61 aaggttaaaa ctcaaatgaa ttgacggggg cccgcacaag cgggtggagca tgtggtttaa
121 ttcgaagcaa cgcgaagaac cttaccaggc cttgacatcc aatgaacttt ccagagatgg
181 attggtgcct tcgggaacat tgagacaggt gctgcatggc tgtcgtcagc tcgtgtcgtg
241 agatgttggg ttaagtcccg taacgagcgc aacccttgtc cttagttacc agcacgtcat
301 ggtgggcaact ctaaggagac tgccggtgac aaaccggagg aagggtggga tgacgtcaag
361 tcatcatggc cttaccggcc tgggctacac acgtgctaca atggtcggta cagagggttg
421 ccaagccgag aggtggagct aatcccacaa aaccgatcgt agtccggatc gcagtctgca
481 actcgactgc gtgaagtcgg aatcgcctag aatcgcgaat cagaatgtcg cgggtaatac
541 gttcccgggc cttgtacaca ccgcccgtca caccatggga gtgggttgca ccagaagtag
601 ctagtctaac cttcgggagg acggttacca cgggtgtgatt catgact

```

**Фиг. 12** Секвенция на фрагмент от 16s рРНК ген от бактериален изолат Р5

```

1 agctacgcgt taaatcgacc gcctggggag tacggccgca aggttaaaac tcaaatgaat
61 tgacgggggc ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgatgcaac gcgaagaacc
121 ttacctggcc ttgacatgtc tggaaatctcc aagagattgg ggagtgccctt cgggaatcag
181 aacacaggtg ctgcatggct gtcgtcagct cgtgtcgtga gatgttgggt taagtcccgc
241 aacgagcgca acccctgtcc tttgttgcca gcacgtaatg gtgggaactc aagggagact
301 gccggtgata aaccggagga aggtggggat gacgtcaagt catcatggcc cttacggcca
361 gggctacaca cgtgctacaa tggcgcgtac agagggctgc aagctagcga tagtgagcga
421 atcccaaaaa gcgcgtcgta gtccggatcg gagtctgcaa ctcgactccg tgaagtcgga
481 atcgctagta atcgcgaatc aaaatgtcgc ggtgaatacg ttcccgggcc ttgtacacac
541 cgcccgtcac accatgggag tgggttgcac cacaagtaga tagcttaacc ttcgggaggg
601 cgtttaccac ggtgtgattc atgactgg

```

**Фиг. 13** Секвенция на фрагмент от 16s рРНК ген от бактериален изолат Р6

Получените в хода на разработка секвенции бяха депозирани в биотехнологичните бази данни NCBI (САЩ), DDBJ (Япония) и EMBL-EBI (ЕС) под регистрационни номера както следва: MN956535; MN956536; MN956537; MN956538; MN956539.

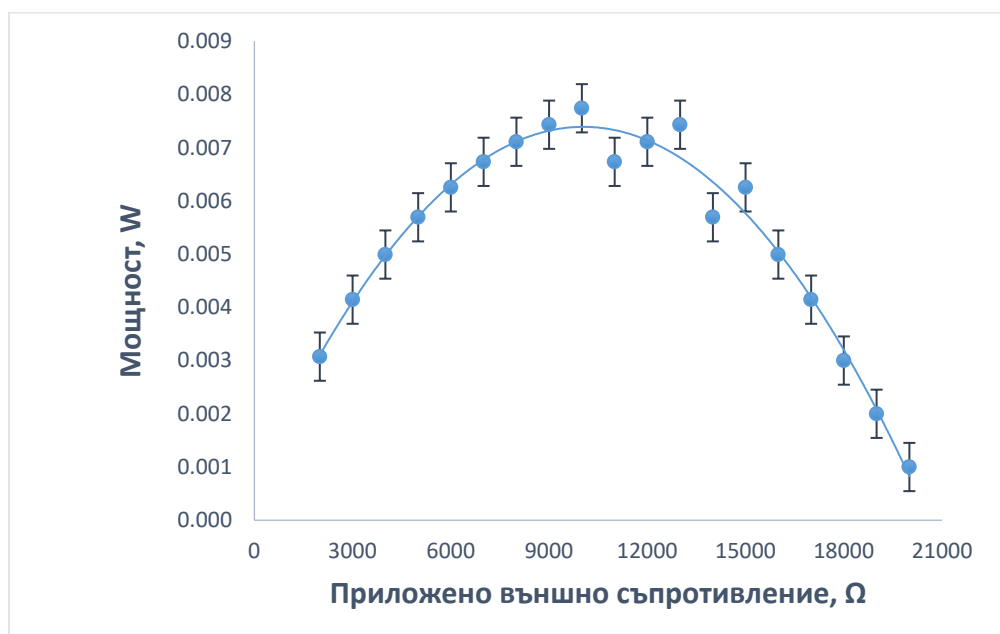
Откриването на представители на родовете *Bacillus* и *Pseudomonas* в анодните популации потвърждава предходни научни съобщения, в които бактерии от тези таксони са изолирани от биофилми в био-електрохимични реактори от различен тип. *Pseudomonas lutea* (както много други видове от род *Pseudomonas*) обикновено се считат за строги аероби и тяхното изолиране от анаеробни култури може на пръв поглед да изглежда необичайно, но последните изследвания за биологията на представителите на този бактериален род показаха, че те могат да се адаптират и да растат в отсъствие на кислород ако са налични алтернативни терминални акцептори на електроните, получвани при биологичното окисление на субстратите.



### 3. Изследване на влиянието на външното съпротивление върху мощността, електрохимията и биохимията на МГК

Един от факторите, който често е обект на оптимизация при МГК е външното съпротивление във веригата, свързваща анода и катода. Според закона на Ом, прилагайки по-ниско съпротивление във външната верига, се очакват пропорционално по-високи плътности на тока. В същото време обаче, това намалява поляризацията и потенциалната разлика между анода и катода, изравнявайки техните индивидуални потенциали с всички електрохимични и биохимични последици от това.

Първият етап от това изследване имаше за цел да установи как се влияят електрическите параметри на МГК от външното съпротивление във веригата анод-катод. За тази цел бяха отчитани стойностите на генерираната мощност в микробната горивна клетка, която каскадно беше натоварвана с различно външно съпротивление, вариращи от 1 до 20 k $\Omega$  (Фиг. 14).



**Фиг. 14** Генерирана електрическа мощност в МГК при различни стойности на външното съпротивление

Установено беше, че генерираната мощност и ток се повишават с повишаването на външното съпротивление до стойности от около 10 k $\Omega$  и именно в този порядък клетката достига своя максимум, след което електрическите характеристики на системата се влошават. Най-високата плътност на мощността, наблюдавана по време на това проучване беше 3,6 W.m<sup>-2</sup> и тази стойност е една от най-високите докладвани за МГК през последните години, което е още едно потвърждение за добрата електрохимична активност на изолираните от Защитена местност „Пода“ електрогени. В зоната около 10 k $\Omega$  се наблюдава известна деформация от стойности, които не следват стриктно очакваната тенденция, което може би е резултат от въздействие на съпротивления в този порядък върху био-електрохимията на процеса, които не могат да се обяснят с чисто електрическите взаимодействия, дефинирани от закона на Ом.

Повечето от проучванията изследват влиянието на външното съпротивление върху тока и мощността на МГК и много малко от тях връзката между външното съпротивление, анодния потенциал и произтичащите от това ефекти върху микробния метаболизъм и разнообразието. Типичната анодна култура в МГК е консорциум от различни видове и последните проучвания предполагат, че метаболитното поведение на микроорганизма зависи от способността на анода ефективно да отвежда електроните, които се получават при биологичното окисление на субстратите. Високия аноден потенциал стимулира експресията на гени, свързани с дихателните вериги на клетката и цитохром подобни белтъци, за които е установено, че имат главна роля при екстрацелуларния електронен транспорт.

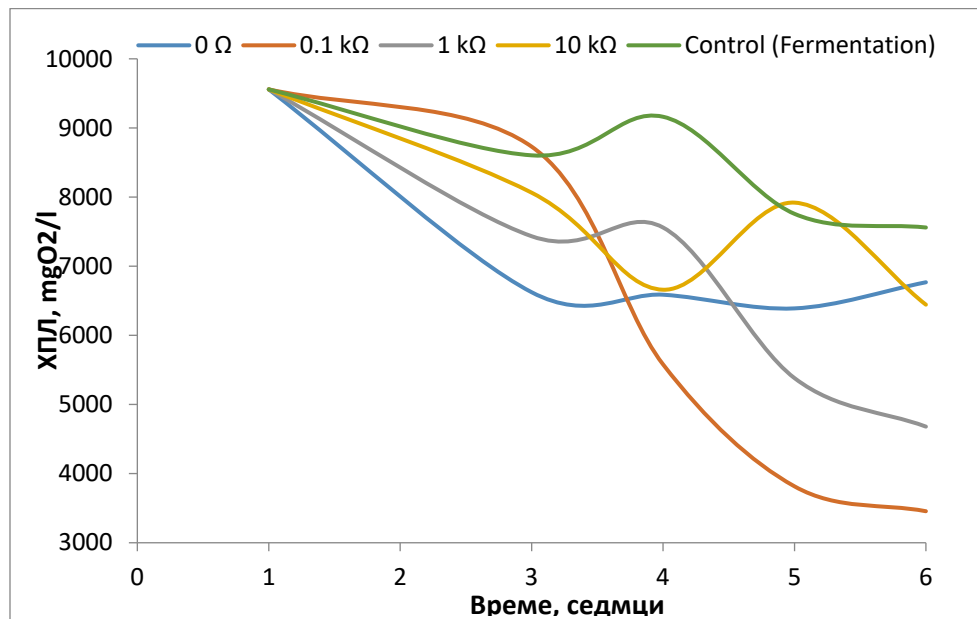
Същинският етап на това изследване се базира на първоначалното предположение, че външното съпротивление може да играе значителна роля върху поведението на МГК, отвъд чисто електрическото влияние върху мощността и тока. Хипотеза, която трябваше да се тества беше, съпротивлението като фактор, който може да "превключи" катаболитната биохимия на анодния биофилм от безкислородно

дишане (използвайки електрод като краен електронен акцептор) към режим на ферментация. За био-електрохимичните системи, ферментационните процеси се считат за нежелателни, тъй като те са редукионни в същността си и консумират електрони, намалявайки по този начин кулоновата ефективност на МГК. Освен това, ферментацията не е енергийно изгоден катаболитен път за микробната клетка.

В този смисъл беше приложен функционален подход и количеството органични киселини (измерени като ацетатни еквиваленти) в анодното отделение е прието като индикатор за биохимичното състояние на микробната култура по отношение на катаболизма на субстрата като ацетат, лактат и т.н. са типичният продукт на ферментацията и важни междинни продукти на метаногенезата. Това предположение е направено въз основа на добре познатите и описани по-рано електрохимични механизми, участващи в процесите, които са в основата на МГК. Генерираната в реакторите мощност и биологичната активност на електрогените се балансират между потенциалната разлика анод-катод, която поляризира клетката и създава електродвижеща сила, насочваща потока от електрони през външната верига.

Четири МГК бяха стартирани в паралелен експеримент при еднакви условия, както през първата седмица на работа, всички те бяха конфигурирани при съпротивление на външна верига от  $1\text{k}\Omega$  за образуване и стабилизиране на анодния биофилм съгласно процедурата, разработена и описана по-горе. След този начален етап, еднакви работни условия на реакторите се поддържаха за всички експериментални варианти с изключение на натоварването на външната верига, което варираше от 0 до  $10\text{k}\Omega$ . Контролна проба, включваща същата среда, субстрат и микробна култура, се инкубира при анаеробни условия, за да се получат данни за сравнение на процеса в МГК с типичната анаеробна ферментация. В рамките на 6 седмици бяха проследени динамиката на отстраняване на ХПК и съдържанието на органични киселини в средата (Фиг. 15 и Фиг. 16).

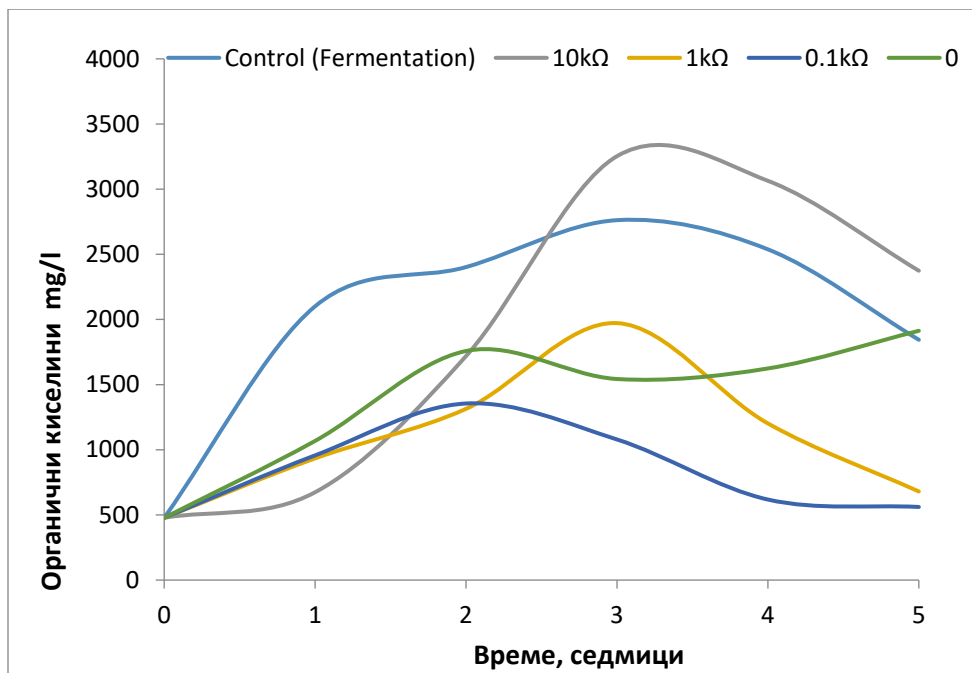
От получените резултати става ясно, че механизмът и динамиката на разграждането на органичните субстрати се различават значително при различни външни съпротивления. Данните за съдържанието на органични киселини показват преход от ферментация към клетъчно безкислородно дишане при наличие на подходящи електрохимични условия на анода.



**Фиг. 15** Динамика на отстраняване на ХПК от анодния биофилм в МГК, работещи при различно външно съпротивление.

При 0 Ω (Директно свързани анод и катод) и при 10 kΩ съпротивление във веригата, се наблюдава активна продукция на органични киселини и концентрации съизмерими с тези, които се установяват при контролната проба в условия на ферментация. Макар и със сходен краен ефект върху микробния метаболизъм, предполагаемият механизъм на въздействие на тези два сценария (0 Ω и 10 kΩ) се различава. В първия случай процесът се характеризира с ниска потенциална разлика и нисък аноден афинитет по отношение на електроните поради липса на поляризация в системата и липсата на електрон-движещата сила. Във втория случай, изключително високите стойности на външното съпротивление създават висока потенциална разлика и поляризация (560 mV, измерени по време на експеримента),

но транспортът на електрони през високото съпротивление е значително затруднен.



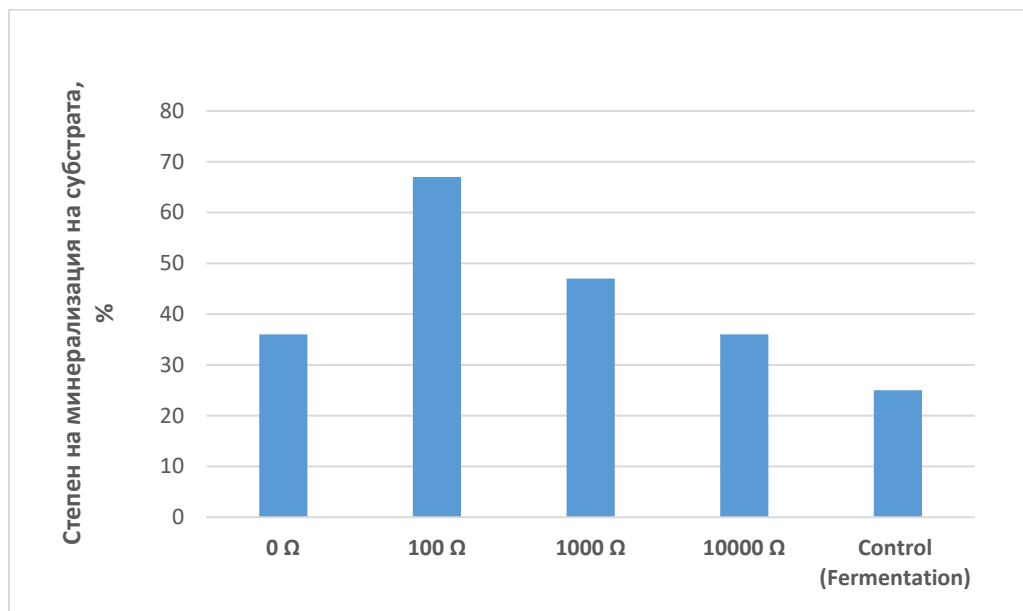
**Фиг. 16** Съдържание на органични киселини в анодната камера на МГК, работещи при различно външно съпротивление.

И в двата случая анодният биофилм не може да изнася ефективно електроните към анода и биохимичните механизми на клетъчното дишане не могат ефективно да участват с утилизацията на субстратите, което принуждава клетката да ги ферментира.

Най-ефективното безкислородно дишане се наблюдава при 100 Ω съпротивление във веригата анод-катод, което се демонстрира от наблюдаваните най-ниските нива на органични киселини в хода на процеса. В този експериментален вариант се установява и най-високата скорост на деградация на органичните и най-високата степен на минерализация от близо 70% (Фиг. 17).

Данните получени в това изследване разкриват влиянието на съпротивлението във външната верига на МГК върху метаболитното поведение на анодния биофилм, което определя цялостната производителност на реактора. Условието, които са благоприятни за

дишането, благоприятстват минерализацията на субстрата поради високата ефективност на този тип катаболитни процеси в сравнение с ферментацията. Може да се направи извода, че микробните видове в анодните биофилми могат да адаптират своя катаболизъм към електрохимичните условия на повърхността на анода като се разкрива поле за изследване на генетичните и регулаторните фактори, които определят това поведение.



**Фиг. 17.** Ефективност по отношение на минерализация на субстрата в МГК, работещи при различно външно съпротивление.

#### **4. Изследване на възможностите за приложение на микробна анодна имобилизация при МГК**

Ефективността на биоелектрохимичните системи се ограничава от редица фактори като най-важните от тях са свързани с активационните и омичните загуби формирани на границата микробен биофилм-анодна повърхност. За това конкретно изследване беше формулирана хипотезата, че тези ограничения могат да бъдат намалени с

имобилизация на електрогенните микроорганизми върху повърхността на анода.

Прилагането на микробна имобилизация е един от важните фактори за бързата индустриализация и мащабиране на редица биотехнологии в последните години. Тя се използва като ефективен метод за подобряване на производителността и икономиката на много микробно катализирани процеси. Предимствата на този подход пред употребата на свободни суспендирани култури се крият във възможността за лесна сепарация на течната фаза от биомасата, по ефективната субстратна трансформация поради силно подтиснатия непродуктивен растеж на имобилизираните клетки (при запазване на физиологичната и биохимична активност) и улеснената автоматизация и контрол на технологичните. Имобилизираните култури също така показват по-висока устойчивост на флуктуации в параметрите на средата (рН, температура, концентрация на субстрата, солесъдържание, инхибиращи вещества и крайни метаболити). Активността, жизнеспособността и продуктивността на имобилизираните клетки могат да се поддържат за дълъг период от време, което улеснява непрекъснатите процеси на култивиране и води до по-добра операционна стабилност.

При разработването на ефективен метод за микробна анодна имобилизация в това изследване бяха заложили следните предварителни критерии:

- Ковалентно свързване на бактериалните клетки към повърхността на носителя
- Осигуряване на добра електропроводимост между електрода и микроорганизмите
- Осигуряване на условия за безпрепятствена дифузия на субстрати и метаболити в обема на имобилизирания препарат

Включването в хитозанови гелове и ковалентното свързване на бактериални клетки към носители с глутаров алдехид са два от популярните методи за бактериална имобилизация. Веки един от тях

има своите предимства и е доказан в различни практически приложения в индустриалните биотехнологии. Всеки един от тези два метода обаче има своите ограничения, които го правят несъвместим с изискванията на микробиологичните горивни клетки.

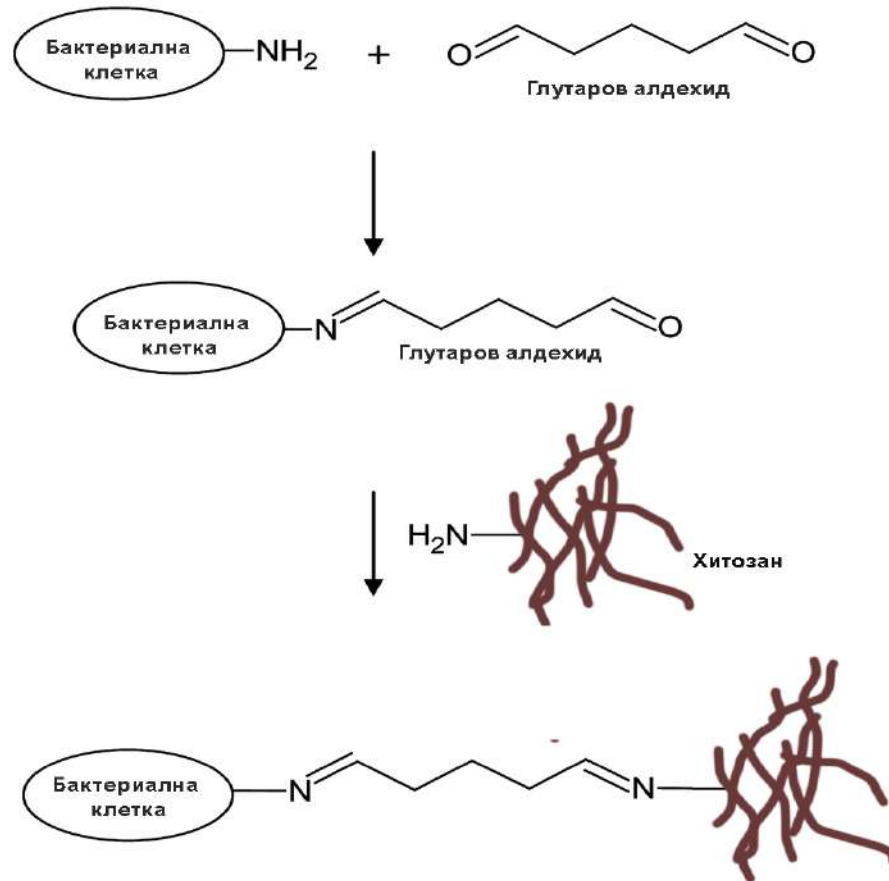
Включването в хитозанови гелове в условията на анодните процеси в МГК би увеличило концентрационните и активационните загуби и значително би влошило състоянието на анода по отношение на омичните загуби. Това се дължи на факта, че при този метод за имобилизация, клетките са физически уловени в обема на хитозановия гел, което ограничава скоростта на масообменна между клетката и средата поради забавената скорост на дифузия на хранителните вещества и крайните метаболитните продукти през матрицата на гела. Освен това, хитозановите полимера са непроводими, което би създадо диелектрична бариера между електрохимично активните бактерии и повърхността на анода. Всичко това би влошило кинетиката и динамиката на деградационните процесите с негативен ефект върху общото поведение на МГК. Ковалентното свързване чрез глутаров алдехид е добър метод за химично закрепване на бактериални клетки към носители, но за целта последните трябва да разполагат със значителен брой реактивно способни функционални групи.

Въглеродното платно е най-популярният аноден материал в МГК, който е структуриран от нишки с изключително висока степен на карбонизация и на практика по повърхността му отсъстват свободни за ковалентно свързване функционални групи. За да бъдат преодолените тези ограничения в рамките на това изследване беше разработен метод за анодна имобилизация на бактерии, който се базира на модификация и комбиниране на споменатите два подхода. Въглеродното платно от което се изработват анодите за МГК бяха предварително обработени с хитозан за получаване на фин полимерен слой върху въглеродните влакна в структурата на тъканта, а след това те бяха обработени със суспензия на електрохимично активни бактерии в глутаров алдехид.

При спазване на необходимите условия на методиката глутаровият алдехид „съшива“ ковалентно бактериите към хитозановия филм по



повърхността на анода чрез ковалентни мостове формирани при реакцията на алдехидните групи с амино групите по повърхността на бактериите от една страна и хитозана от друга (Фиг. 18).



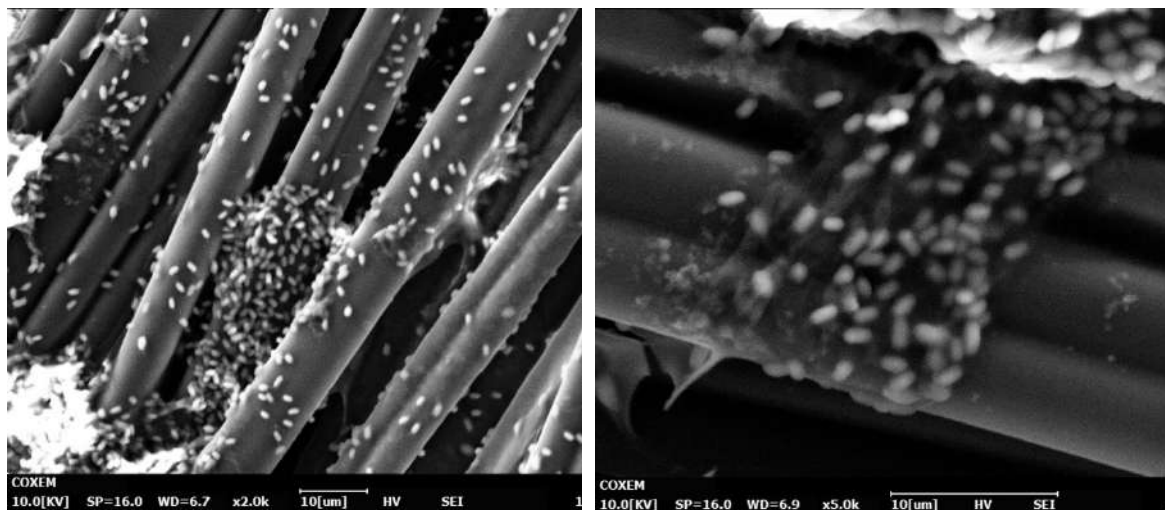
**Фиг. 18** Предполагам механизъм на ковалентното съшиване на бактериални клетки към хитозанова матрица чрез мостове от глутаров алдехид

Беше постигнат значителен успех при „опроводяването“ на иначе непроводимата хитозанова матрица чрез включването в състава и на пълнители от въглеродни микрочастици (Carbon Black) като най-добър компромис между проводимост и механични качества на гела бяха установени при спазване на съотношение въглеродни микрочастици към хитозан 0,7:10. Тази модификация е от критична важност за

намаляване на вътрешните загуби и осигуряването на ефективен експорт на електроните от бактериалната повърхност към електрода.

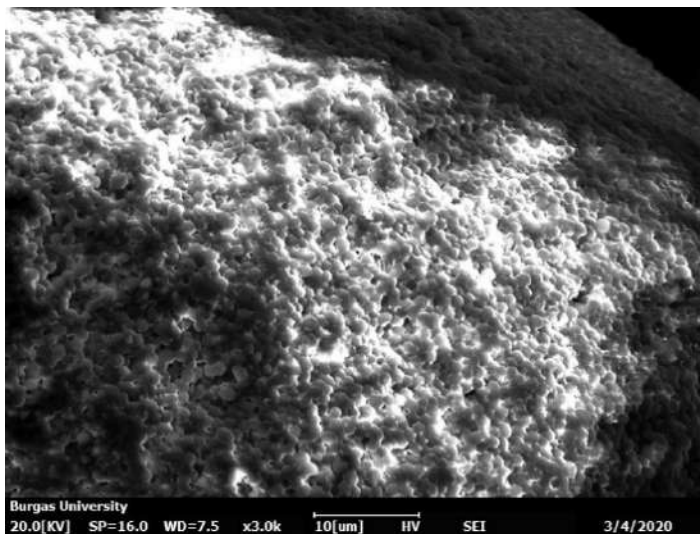
На този етап след прилагане на разработения подход за микробна анодна мобилизация, получените образци бяха изследвани чрез сканираща електронна микроскопия (Фиг. 19).

От микроскопиите ясно се вижда, че бактериалните клетки са афинитетно закрепени към участъците с хитозанов филм, което е доказателство за специфичността на ковалентната имобилизация и потвърждение на предположението, че въглеродните нишки сами по себе си не предоставят активни терминали за такова свързване. Оптимизирането на процедурата по имобилизация в хода на работата даде възможност да се получат образци с много висока плътност на имобилизираната биомаса (Фиг. 20).

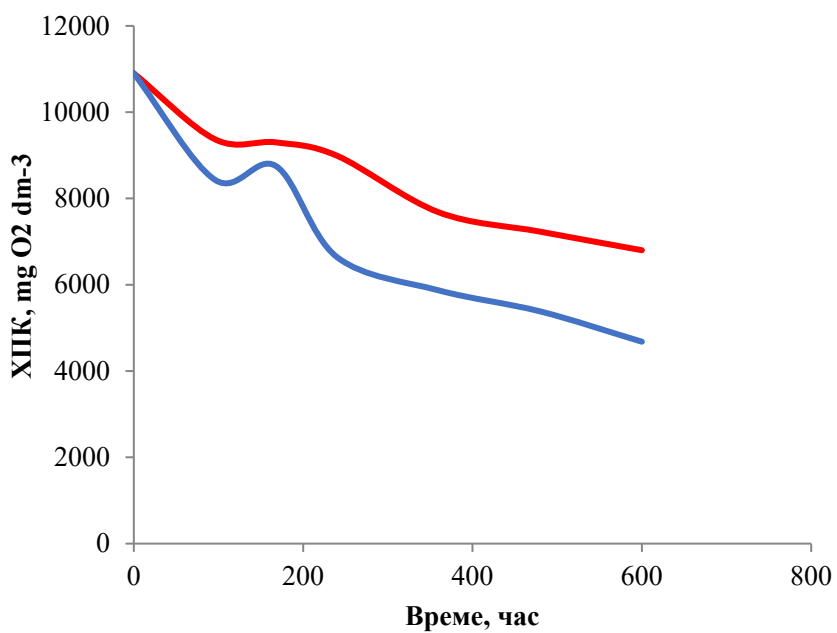


**Фиг. 19** СЕМ на бактерии имобилизирани в система *въглеродно платно-хитозан-глутаров алдехид*.

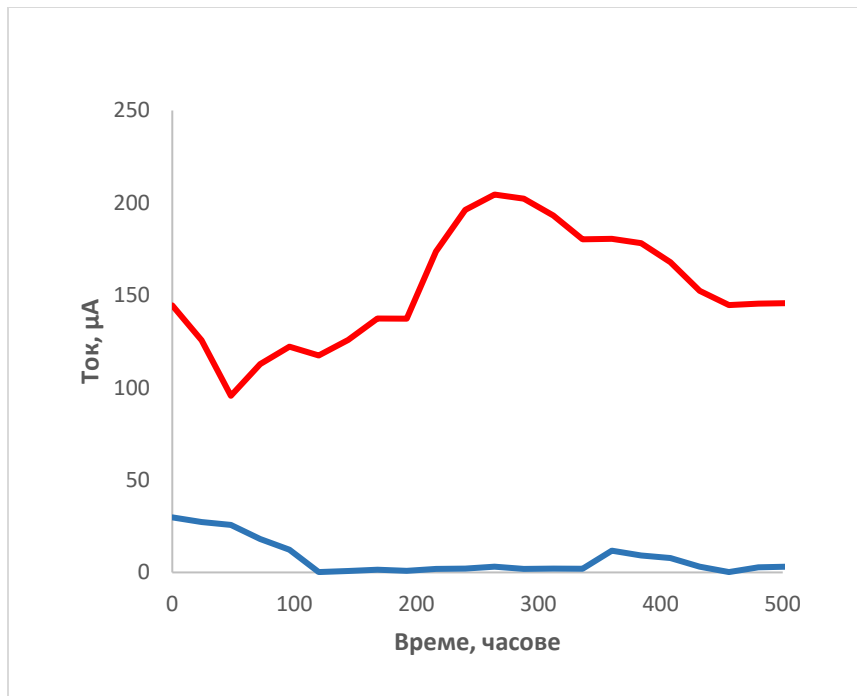
За да се оцени ефективността на имобилизацията директно в успореден експеримент бяха сравнени две МГК съответно оборудвани с нормален и имобилизиран анод. Беше проследена динамиката по отношение на деградация на органична материя в анодната камера и генерираните токове (Фиг. 21 и Фиг. 22)



**Фиг. 20** СЕМ на бактерии имобилизирани в система въглеродно платно-хитозан-глутаров алдехид след оптимизиране на процедурата по имобилизация



**Фиг. 21** Дegradационна динамика по отношение на органичните субстрати в анодната камера при МГК с имобилизирана (червено) и суспензионна (синьо) микробна култура

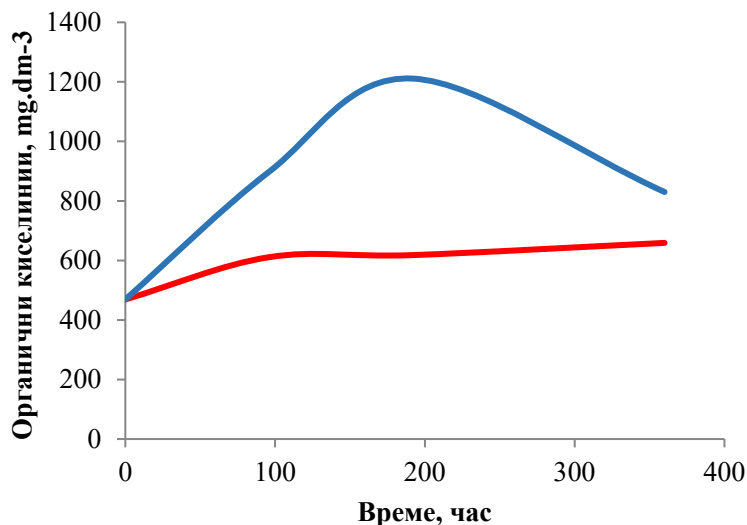


**Фиг. 22** Електрически ток генериран в МГК с имобилизирана (червено) и суспензионна (синьо) микробна култура

Получените резултати показва сходна динамика по отношение на утилизацията на субстрати при двата типа аноди като се забелязва леко предимство на реактора със суспензионна култура. Причините за това не са свързани с по-ниска биохимична активност на имобилизираните бактерии, а с факта, че този реактор работи със значително по-малко общо количество биомаса ангажирано в процеса. За разлика от имобилизирания анод, при суспензионната култура освен активния биофилм имаме и значително присъствие на микроорганизми в обема на хранителната среда в анодната камера, които също участват в деградационния процес макар и неефективно по отношение на електрогенезата. Ако вземем предвид количеството на бактериите и се изчисли специфичната деградационна активност (или както традиционно се нарича в технологията на отпадъчните води – калово натоварване) бихме видели значително предимство в полза на имобилизацията. Потвърждение на това в голяма степен получаваме от данните за генерирания електрически ток. Ясно се вижда, че МГК с

имобилизиран анод генерира много по-високи стойности на тока (достигащи до 204 микроампера) за по-дълъг период от време, което е ясен признак за метаболитната активност на имобилизираните бактерии. Освен това, в този експериментален вариант (при сравними степени на минерализация на хранителната среда) очевидно се наблюдава преимуществена деградация чрез активно анодно дишане, т.е. системата се характеризира с много по-висока кулонова ефективност. Обратно, в МГК със суспензионна култура и естествено образувал се биофилм, вероятно една значителна част от субстрата се разгражда по пътя на ферментацията, което значително намалява енергийната ефективност на био-електрохимичната система тъй като както вече беше описано, ферментационните процеси са непродуктивни по отношение на преноса на електрони към анода и генерирането на ток между анода и катода.

В потвърждение на горното предположение беше направено изследване и съдържанието на органични киселини в анодната среда в хода на двата процеса като евентуален признак за протичащи ферментационни процеси и данните категорично показаха по-ефективното анодно дишане при варианта с имобилизирана култура (Фиг. 23).



**Фиг. 23** Количество на синтезирани органични киселини в анолита по време на експеримента (Имобилизиран анод – червено; Суспензионна култура – синьо).

В това изследване, анодната имобилизация показва значителен потенциал да подобри работата на МГК като ги направи по-ефективни по отношение на извличането на енергия от органичните субстрати в отпадъчните потоци. Процесът може значително да се оптимизира по отношение на скоростите на деградация чрез увеличаване на анодните площи за постигане на по-добро съотношение площ (респективно микробна биомаса) към обем на третируания поток.

## **5. Приложение на БЕС при третирането на реални отпадъчни води и сравнителна характеристика по отношение на конвенционалните анаеробни процеси**

Пречистването на отпадъчни потоци чрез аеробни биологични процеси е процес, който въпреки своята висока ефективност има редица недостатъци. На първо място това са високите експлоатационни разходи свързани с нуждата от енергия за постоянна принудителната аерация на обработваните води. Заедно с това, процесът е свързан с генерирането на големи обеми биомаса или т.нар. излишните утайки, които се явяват вторичен отпадъчен поток, нуждаещ се от отделно третиране и управление.

Тези недостатъци, особено когато се касае за концентрирани отпадъчни потоци, се преодоляват в голяма степен при осъществяването на анаеробна деградация или метанизация, но цената е по-ниската степен на минерализация и времето необходимо за осъществяване на пречистването. Биоелектрохимичните процеси дават перспектива за комбиниране на предимствата на аеробните и анаеробните деградационни процеси при пречистването на отпадъчни води и утайки, поради респираторния характер на процесите, което е предпоставка за по-големи степени на минерализация (характерни за аеробната деградация) и в същото време елиминирането на нуждата от

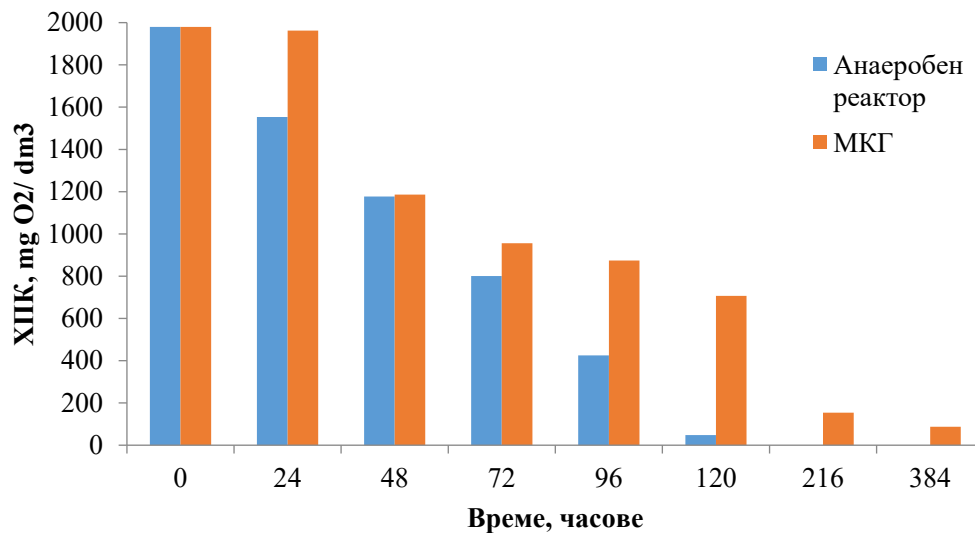
принудителна аерация. От биохимична гледна точка между конвенционалната анаеробната деградация и био-електрохимичните процеси в МГК има фундаментална разлика, въпреки че и двата процеса протичат в отсъствие на кислород. В единия случай се касае за анаеробна деградация предимно чрез ферментативна трансформация на субстратите, а в другия за пълноценен респирационен процес с всички типични енергийни ползи за бактериалната клетка.

В тази част от изследванията бяха сравнени ефективността по отношение на пречистването на отпадъчни води с висока концентрация на органични замърсители чрез конвенционална метанизация и био-електрохимични процеси. Като обект на изследването беше използвана реална отпадъчна вода от производството на вино и спиртни напитки. Проведени бяха паралелни експерименти по утилизация на отпадъчната вода в лабораторен анаеробен реактор (метан танк) и Микробиологична горивна клетка. На база на получените данни беше направена оценка на технологичната ефективност и степените на възстановяване на енергия от отпадъчната органика както и технологично сравнение на двата процеса.

Получените данни и директно сравнение на основните параметри на двата процеса са представени на Фиг. 24 и Табл. 3. И при двата процеса се наблюдава висока ефективност по отношение на отстраняването на ХПК и минерализацията на средата (над 95%), но средната скорост на процеса при метанизацията е по-висока. Въпреки това, тя е сравнима по порядък с тази наблюдавана в МГК. Наблюдаваната динамика на процеса не е неочаквана и предимствата на конвенционалната анаеробната деградация са безспорни. Този процес е много добре интегриран в индустрията превръщайки се в стандарт при третирането на концентрирани отпадъчни води.

Съвременното състояние на метанизацията и технологичното и оборудване са резултат от дългогодишна оптимизация и усъвършенстване. Прави впечатление обаче, че в определени етапи на процеса с МГК се наблюдават до два пъти по-високи максимални скорости на деградация, което ясно демонстрира потенциала на био-

електрохимичните методи. Вероятно тази нова технология крие значителни възможности, които могат да бъдат разгърнати чрез оптимизиране както на самите био-електрохимични реактори, така и на параметрите на процеса.



**Фиг.24** Динамика на процесите по отношение на отстраняване на ХПК

Друга положителна характеристика на МГК е почти два пъти по-ниския добив на излишна утайка по време на пречистването на отпадъчните води, което може да бъде значително технологично предимство предвид факта, че излишните утайки се явяват вторичен замърсяващ поток, който се формира при всички биологични методи за обработка на отпадъчни води. Голяма част от разходите на енергия и труд в съоръженията за третиране на води се генерират именно в дейностите за управление на излишните утайки.

МГК предлагат потенциална възможност за възстановяване на енергия от отпадъчни потоци директно под формата на електричество и избягване на допълнителни технологични етапи като изгаряне на биогаз за получаване на електрически ток и топлина. Освен това, дори и двата процеса (метанизация и био-електрохимично окисление) да бъдат извършени единствено с цел стабилизиране или третиране на



отпадъчните потоци (без целево оползотворяване на енергия), премахването на метанизацията би намалило значително климатичния отпечатък от дейностите по пречистване на отпадъчни води. Това се дължи на факта, че метанът е много по-силен парников газ от въглеродния диоксид. Друг фактор, подкрепящ климатичната неутралност на МГК е разликата в температурния режим между двата процеса. За разлика от анаеробната деградация, която често се нуждае от допълнително подаване на топлина и контрол на температурата, биоелектрохимичните процеси се характеризират със значително по-ниски (близки до околната) температурни изисквания.

**Таблица 3.** Сравнение на операционните и технологични характеристики на анаеробна деградация с метанизация и Микробните горивни клетки

Показател	Анаеробен реактор - Метанизация	МГК
Хидравлично време на престой	120 часа	384 часа
Температурен режим	30-35 °C	14-20 °C
Степен на пречистване	97%	95, 7 %
Средна скорост на редукция на ХПК	376,2 mgO <sub>2</sub> /dm <sup>3</sup> /d	118,3 mgO <sub>2</sub> /dm <sup>3</sup> /d
Максимална скорост на редукция на ХПК	380 mgO <sub>2</sub> /dm <sup>3</sup> /d	722 mgO <sub>2</sub> /dm <sup>3</sup> /d
Добив на излишна активна утайка	0,159 g/ g ХПК	0,09 g/ g ХПК
Възстановяване на енергия	Биогаз (топлина и електроенергия след когенерация)	Директен добив на електроенергия

## ИЗВОДИ

1. Условието за наличие на микроорганизми с електрохимична активност в природата включват ниска наличност на кислород, високо съдържание на органична материя и присъствие на възможни алтернативни електронни акцептори.
2. Микробни изолати от езерни седименти на Защитена местност „Пода“ показват електрохимична активност и в условията на МГК могат да достигнат до скорости на редукция на ХПК от  $42 \text{ mgO}_2/\text{dm}^3$  на ден генерирайки ток с висока плътност на мощността ( $3,5 \text{ W/m}^2$ ).
3. Времето за образуване на активен аноден биофилм в МГК е 96-144 часа.
4. Смесената култура изолирана от седиментни проби от Защитена местност „Пода“ съдържа следните видове с електрогенна активност: *Pseudomonas lutea* P2; *Bacillus cereus*.P3; *Pseudomonas protegens* P4; *Pseudomonas syringae* P5; *Aeromonas fluvialis* P6.
5. Максимални стойности за мощността на МГК от  $8 \text{ mW}$  се достигат при товар във веригата от  $10 \text{ k}\Omega$ .
6. Съпротивлението във външната верига (анод-катод) на МГК оказва значително влияние върху метаболизма на анодния филм и при различни стойности може да насочва процеса от клетъчно анодно дишане към типична ферментация.
7. Най-добри показатели по отношение на скоростта на деградацията на ХПК, минерализация на хранителната среда и респираторна активност на анодния биофилм се наблюдават при товар във веригата от  $100 \Omega$ .

8. Успешна имобилизация на електрохимично активните бактерии към анода може да се осъществи чрез модификация на стандартните методи за включване в хитозанов гел и ковалентното свързване с глутаров алдехид като критичен етап е опроводяването на хитозан с пълнител от въглеродни микрочастици в съотношение 0,7:10.

9. МГК с имобилизиран биоанод генерира значително по-висок електрически ток от конвенционална МГК като максималните стойности могат да бъдат до един порядък по-високи, достигайки 204  $\mu\text{A}$ .

10. Анодната имобилизация повишава кулоновата ефективност на МГК като при този тип реактори се наблюдава силно ограничаване на неефективните в био-електрохимичен контекст ферментационни процеси.

11. МГК са сравними с традиционните анаеробни процеси за обработка на концентрирани отпадъчни води като средните скорости на отстраняване на органика при третиране на води от производството на вино, спирт и високо алкохолни напитки достигат до 118,3  $\text{mgO}_2/\text{dm}^3$  ХПК на ден, а наблюдаваните пикови максимални скорости дори 722  $\text{mgO}_2/\text{dm}^3$  ХПК на ден.

12. Важно предимство при прилагането на МГК за пречистване на отпадъчни води може да бъде изключително niskия прираст на биомаса и съответно niskия добив на излишни утайки в процеса (0,09 g за грам отстранено ХПК).

## ПРИНОСИ

1. За пръв път е направена характеристика на водни и седиментни проби от Защитена местност „Пода“ разположена на излива на езерото „Узунгерен“, южно от град Бургас в контекста на необходимите условията за присъствие на микроорганизми със специфична метаболитна активност (безкислородно дишане) в тази екологична ниша.
2. Създадена е микробна колекция от пет електрохимично активни бактериални вида.
3. Получени са оригинални секвенции на 16s рРНК гени от петте микробни изолата, които са депозиранни в международни биотехнологични бази данни.
4. Установена е таксономичната принадлежност на електрохимично активните бактерии от микробната колекция.
5. Чрез оригинален експериментално-функционален подход е доказана възможността за въздействие върху метаболитното поведение на анодната култура чрез стойностите на съпротивлението във външната верига.
6. Разработен е оригинален и ефективен подход за микробна анодна имобилизация чрез комбиниране и модификация на два стандартни метода.
7. Проведен е успешен опит за третиране и пречистване на реални отпадъчни води от индустрията чрез МГК и са изведени някои основни технологични характеристики на процеса.

## НАУЧНИ ПИБЛИКАЦИИ ПО ТЕМАТА НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Yana Mersinkova and Hyusein Yemendzhiev (2020) Identification and Characterization of Natural Habitats of Electrochemically Active Bacteria. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*, 23(1), 19-25

DOI: 10.9734/JABB/2020/v23i130135

2. Yana Mersinkova, Ralitza Koleva, Hyusein Yemendzhiev, Valentin Nenov (2020) Power Performance Of A Microbial Fuel Cell. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 55(5), 1087-1091

**SCOPUS, SJR 0.22, Impact Score: 0.81, Q3**

3. Yana Mersinkova, Valentin Nenov, Hyusein Yemendzhiev (2021) Comparative analysis of conventional anaerobic digestion and bio-electrochemical systems in waste organics utilization. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 10(04):428-435

DOI: 10.4236/jacen.2021.104028

4. Yana Mersinkova, Valentin Nenov, Hyusein Yemendzhiev (2022) Comparative Study On the Metabolic Behaviour of Anode Biofilm in Microbial Fuel Cell Under Different External Resistance, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, in press

**SCOPUS, IF 1.632**

## ДОКЛАДИ НА НАЦИОНАЛНИ И МЕЖДУНАРОДНИ НАУЧНИ ФОРУМИ

1. Доклад на тема „Degradation dynamics and behavior of the bio-electrochemical systems utilizing wastewater“ представен на Пета международна конференция “ECOLOGICAL ENGINEERING AND ENVIRONMENT PROTECTION – EEEP’2017”, гр. Пловдив, 5-7 юни 2017 г.

2. Изнесен доклад на тема “Dream Green – advanced science for sustainable solutions” на “BURGAS CLIMATHON – THE BLUE ECONOMY AND WATER CHALLENGE”, част от Climathon 2017 (<https://climathon.climate-kic.org/>) на 27-28 октомври 2017.

3. Представяне на доклад за „Научната сесия за 2018 г. за студенти, докторанти и млади научни работници „Природни и технически науки” на тема „Био-електрохимичните системи – алтернатива за устойчиво управление на отпадъчните води“.

4. Участие с постер в XII Национална научно-техническа конференция с международно участие „ЕКОЛОГИЯ И ЗДРАВЕ“ 2018 гр. Пловдив на тема „Изолиране на електрохимично активни бактерии от природни източници“
5. Участие с постерен доклад за 6th International Conference on Water, energy and Environment (ICWEE2019) организиран от American University of Sharjah, United Arab Emirates on March 26-28, 2019
6. Участие с доклад на тема „POWER PERFORMANCE OF MICROBIAL FUEL CELL“ на 6-th International Conference with Youth Session ECOLOGICAL ENGINEERING AND ENVIRONMENT PROTECTION (EEEE'2019) 5-7 June 2019, Burgas, Bulgaria
7. Участие с доклад на тема “Comparative analysis of conventional anaerobic process and bio- electrochemical systems in waste stream utilization”, 7-ма Международна конференция „Екологично инженерство и опазване на околната среда”, Варна, 30 септ. – 3 окт. 2021 г.

#### **УЧАСТИЕ В НАУЧНИ ПРОЕКТИ**

1. ОУФ-НИ10 “Хибридни технологии за отстраняване на биогенни елементи от отпадъчни потоци и възстановяването им като торови препарати за приложение в органичното земеделие” ръководител доц. д-р Хюсеин Йеменджиєв
2. Н17/51 „Възстановяване на фосфор и получаване на био-тор от отпадъчни потоци“ ръководител проф. д-р Валентин Нєнов
3. ДМ 17/5 „Иновативно възстановяване на фосфор от отпадъчни утайки в животновъдството“ ръководител гл. ас. д-р Гєргана Пєєва
4. Национална научна програма „ Нисковъглеродна енергия за транспорта и бита - Е+“ ръководител чл. кор. Константин Хаджииванов