



ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН УНИВЕРСИТЕТ

ФАКУЛТЕТ ПО ХИМИЧНО И СИСТЕМНО ИНЖЕНЕРСТВО

КАТЕДРА „БИОТЕХНОЛОГИЯ”

инж. Полина Георгиева Величкова

ТЕМА

СЪЗДАВАНЕ И ИЗСЛЕДВАНЕ НА БИОТЕХНОЛОГИЧНИ СИСТЕМИ ЗА ГЕНЕРИРАНЕ НА ЕНЕРГИЯ

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертация

за придобиване на образователната и научна степен „доктор”

по научна специалност 4.2. Химически науки

(Биоорганична химия, химия на природните и физиологично активните вещества)

Научен ръководител: доц. д-р инж. Иво Лалов

Научно жури:

1. Проф. д-р Нели Георгиева – председател, рецензент
2. Проф. дбн Милка Кръстева – рецензент
3. Доц. дбн Светла Данова – становище
4. Доц. д-р Анатолий Ангелов – становище
5. Доц. д-р инж. Иво Лалов – становище

София, 2019

Дисертационният труд е написан на 152 страници, съдържа 56 фигури и 35 таблици. Цитирани са 183 източника. Номерата на фигурите, таблиците и уравненията в автореферата не съответстват на тези в дисертацията.

Представеният дисертационен труд е обсъден и приет за защита на заседание на разширен катедрен съвет на катедра „Биотехнология” при Химикотехнологичен и металургичен университет - София, състояло се на 28.11.2018 г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на 28.03.2019 г. от 14:00 часа в зала 424, сграда „А” на ХТМУ.

Материалите са на разположение на интересувашите се на интернет страницата на ХТМУ и в отдел „Научни дейности”, стая 406, етаж 4, сграда „А” на ХТМУ.

*Изказвам най-искрените си и сърдечни благодарности
на научния си ръководител доц. д-р инж. Иво Лалов
за доверието, отделеното време и внимание, за придобитите знания
и умения и оказаната помощ при разработването на дисертационния труд!*

*Благодаря на целия колектив на катедра „Биотехнология“ и катедра
„Хартия, целулоза и полиграфия“ за отзывчивостта и подкрепата!*

Благодаря на семейството си за подкрепата и вярата им в моя успех!

Сърдечно благодаря на всички!

Съдържание

Въведение.....	5
I. Цел и задачи на дисертационния труд	6
II. Материали и методи (част от описаните в дисертацията)	7
III. Резултати и дискусия	12
1. Подбор и охарактеризиране на органични индустриални отпадъци.....	12
1.1. Винаса.....	12
1.2. Целулозен хидролизат (ЦХ).....	13
1.3. Ябълкова пулпа	15
1.4. Картофени обелки (КО)	16
2. Влияние на типа на метаногенния консорциум върху определянето на БМП.....	18
3. Влияние на микроелементния състав на средата върху процедурата за определяне на БМП.....	24
4. Влияние на температурата върху процедурата за определяне на БМП	27
5. Влияние на съотношението субстрат/инокулат върху процедурата за определяне на БМП.....	31
6. Определяне БМП на изследваните субстрати	32
6.1. Винаса.....	32
6.2. Целулозен хидролизат (ЦХ).....	33
6.3. Ябълкова пулпа	34
6.4. Картофени обелки	35
7. Изследване на възможностите за повишаване на енергийния потенциал на вторични биомаси с помощта на различни видове предобработка.....	36
8. Определяне БМП на модифицирани субстрати	39
9. Продуциране на биоетанол от нативен и модифициран субстрат	42
10. Изследване на пълния енергиен потенциал на моделния субстрат	44
11. Определяне състава на получените биогазове	47
IV. Основни изводи на дисертационния труд	49
V. Приноси на дисертационния труд	50
Списък на научните публикации по дисертационния труд.....	51
Списък на устните доклади по дисертационния труд, изнесени на национални и международни конференции	51
Списък на постерните доклади по дисертационния труд, изнесени на научни конференции и постерни сесии.....	51

Въведение

Енергийната зависимост от изкопаеми горива води до търсене на нови алтернативи за производство на енергия. Поради тази причина от края на 90-те години на XX век държавите-членки на ЕС започват да насърчават производството на биоенергия от възобновяеми енергийни източници. Основните цели са снабдяване с електрическа енергия, намаляване изменението на климата (глобалното затопляне) и защита на околната среда. Внедряването на възобновяеми енергийни източници е ключов елемент за постигането на устойчивост в развитието без да се генерира отрицателно въздействие върху околната среда.

Правилното управление на отпадъците от индустрията посредством анаеробни процеси предоставя възможността за едновременно третиране на тези отпадъци и производство на възобновяема биоенергия. Процесът на синтез на биогаз, който съдържа основно метан, протича през многостъпален път на разграждане на първичния субстрат до все по-нискомолекулни субединици, като специфични групи микроорганизми участват във всяко едно отделно стъпало на процеса. Този процес включва четири основни стъпки-хидролиза, ацидогенеза, ацетогенеза и същинска метаногенеза.

Използването на биомаса като суровина за получаване на биоенергия и биохимикали се насърчава чрез намаляване на парниковите емисии на CO₂, необходимостта от сигурно енергоснабдяване и съживяване на селските райони. При биорефинерийния подход се прилагат съвместно технологични процеси за различни видове суровини от биомаса за производство на широка гама от биопродукти. Концепцията за биорафинерия е аналогична на днешната нефтена рафинерия, която произвежда множество горива и продукти от нефт.

Засиленият обществен интерес за защита на околната среда и климата изискват надеждни статистически данни за нови субстрати, които могат да бъдат използвани за производство на биоенергия и биохимикали.

Съществува значително разнообразие от вторични (отпадъчни) биомаси, които могат да се превърнат в потенциални суровинни бази за създаване на биорафинерийни системи. Тези системи могат да служат за производство на различни органични химикали като етанол, ацетон, бутанол, биоводород, биометан, оцетна киселина, лимонена киселина, фумарова киселина, млечна киселина, ксилитол и т.н. Значително количество от изследванията са насочени и към генериране на устойчива биоенергия като в този случай оценката на енергийния потенциал на изследваната суровина се осъществява на базата на най-ефективното съчетание от технологии, водещи до получаването на различни биогорива.

По отношение на биохимичен метанов потенциал изследванията са насочени към оптимизация на процедурите, включващи по-строго дефиниране на условията за обработване на суровината и използването на различни подходи за моделиране на процеса, отчитащи различните фактори, влияещи върху него. Съществува единодушие по въпроса, че колкото по-реалистична е оценката на биоразградимостта и енергийния потенциал на дадена конкретна вторична биомаса, толкова по-полезна е тази информация за целите на конструирането и оптимизирането на работа в евентуални енергийни биорафинерийни платформи.

I. Цел и задачи на дисертационния труд

Целта на настоящия дисертационен труд е да бъдат изследвани възможностите за създаване на биотехнологични системи (биорафинерии), генериращи енергия на базата на вторични биомаси, отпадащи от различни източници.

За изпълнение на поставената цел бяха формулирани следните **задачи**:

- 1) Да се осъществи подбор и да бъдат охарактеризирани различни типове отпадъчни биомаси, което да позволи достатъчно коректно и прецизно оценяване на техния потенциал като евентуална суровина за биорафинерийна платформа;
- 2) Да се проучат различни възможности за оптимизация и обективизиране на процедурата за определяне на БМП посредством стандартизиране на условията за провеждане на анализа, като във връзка с това бъде изследвано влиянието на различни променливи върху процедурата:
 - 2.1) Влияние на метаногенната активност на смесени метаногенни консорциуми, изолирани от природни и промишлени източници;
 - 2.2) Влияние на микроелементния състав;
 - 2.3) Влияние на температурата;
 - 2.4) Влияние на съотношението субстрат/инокулат;
- 3) С помощта на оптимизираната процедура да се определи
 - 3.1) Реалният биохимичен метанов потенциал на изследваните промишлени отпадъчни продукти;
 - 3.2) Общият енергиен потенциал, който да бъде повишен главно посредством прилагането на различни физични, физикохимични, химични и биохимични методи при тяхната предварителна обработка;
 - 3.3) Метановото съдържание на продуцираните биогазове, получени при различните процеси на биометанизация;
- 4) Да бъде изследвана възможността за продуциране на течно биогориво (биоетанол) от нативен и модифициран субстрат;
- 5) Да се изследва пълният енергиен потенциал на вторични биомаси, посредством комбинирано получаване на течно и газообразно биогориво;
- 6) Да бъде изследвана адекватността на различни математически модели за описание процесите на продуциране на биогаз.

II. Материали и методи

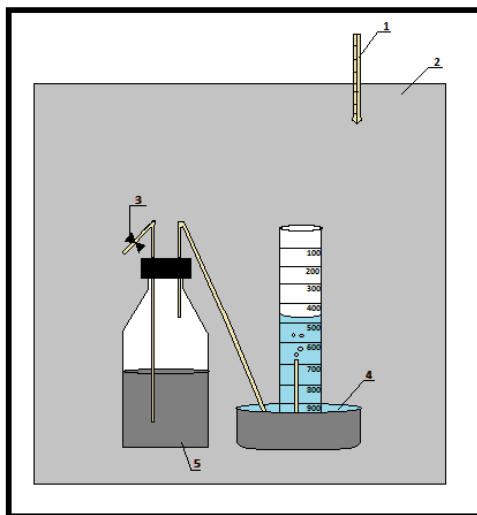
Материали:

- Винаса - получена в резултат на дестилация на виноматериал (домашно вино) в лабораторни условия с цел отстраняване на алкохола. Остатъкът беше съхраняван в хладилник на 4 °C;
- Ябълкова пулпа - остатък, получен след обработката на ябълков материал до получаване на ябълково вино и след това на ябълков оцет. След протичането на алкохолната и оцетно-кисела ферментации течността се отделя от кашата посредством пресоване, а твърдият остатък (пулпа) с влажност около 90 % се отстранява. Материалът бе получен от завод ВЕДА ООД, гр. Долни Дъбник и съхраняван в хладилна камера на -18 °C;
- Целулозен хидролизат „ЦХ“ - получен при киселинна хидролиза на избелена широколистна целулоза в катедра „Целулоза, хартия и полиграфия“, ХТМУ. Концентрацията на сярна киселина е 10 %, количеството ѝ спрямо целулозата е 2 % при 10 % маса, хидролизната температура е 130 °C, а реакционното време - 120 мин.;
- Картофени обелки („КО“) – лабораторно получени от картофи *Solanum tuberosum*, закупени от голям хранителен магазин в гр. София. Те бяха обелени ръчно, 20 гр от тях раздробени в блендер с 60 мл дест. вода (за по-добра хомогенизация) и след това съхранявани в хладилник на 4 °C;
- Смесен метаногенен консорциум, изолиран от дъното на река Искър, с. Ореховица (подбрано място със слаб поток на водата);
- Смесен имобилизиран върху активен въглен метаногенен консорциум от работещ анаеробен реактор за третиране на води, отпадащи от производство на биоетанол в завод „Алмагест“, с. Веринско, община Ихтиман;
- Смесен имобилизиран върху активен въглен метаногенен консорциум с изразена хидролитична активност спрямо лигноцелулозни материали от работещ анаеробен реактор за третиране на води, отпадащи от производство на биоетанол в завод „Алмагест“, с. Веринско, община Ихтиман.
- Ензим α -амилаза с активност 490 Е/гр за втечняване на нишестето, LpHera, Novozymes; Ензим амилоглюкозидаза с активност 1589,9 Е/гр за озахаряване на нишестето, Saczyme Plus 2x, Novozymes; Микс от ензими, съдържащ глюकोзидаза с активност >126 Е/гр за подпомагане процеса на озахаряване, Sanferm Yield, Novozymes.

Част от използваните методи:

1. Определяне на БМП

Анализът за биохимичен метанов потенциал (БМП) се използва широко за определяне добива на метан от органични суровини. След стабилизиране на добива на биогаз в три последователни периодични процеса за осъществяване на БМП – теста бе използвана описаната по-долу процедура. В обема на лабораторния реактор (серумна банка с обем 563 мл) беше поставена 300 мл метаногенна култура, претърпяла процес на адаптация с концентрация на активната утайка 10,3 г/л. Като субстрат бяха въведени съответно: 10 мл центрофугирана винаса, 20 мл хидролизат от избелена целулоза, 10 г ябълкова пулпа, разредена с дестилирана вода до обем 20 мл, 10 г картофени обелки, раздробени и разредени с дестилирана вода до обем 20 мл, 20 мл от всеки картофен хидролизат. Всички субстрати предварително бяха неутрализирани до pH 7,0 с 5N NaOH. Бутилките бяха продухвани с N₂ за осигуряване на анаеробни условия и веднага бяха запечатани с гумени тапи и пластмасови капачки. След това бяха поставени в термостат с водна баня при 35° C, осигурявайки им постоянни температурни условия по време на експеримента. Количеството на отделения биогаз бе проследявано до пълното затихване на процеса. Принципна схема на лабораторната инсталация за биометанизация по време на БМП тест е показана на фиг. 1.



Фиг. 1. Схема на лабораторна инсталация за биометанизация

Легенда: 1- термометър, 2- термостат, 3- затваряща щипка, 4- газхолдер, 5- биореактор

Определянето на биохимичния метанов потенциал бе осъществено посредством нормализация на получените резултати с помощта на следните зависимости:

- За течните субстрати (винаса и целулозен хидролизат):

$$\text{БМП} = \frac{V_{\text{биогаз}} \cdot C_{\text{метан}}}{V_{\text{суб}} \cdot \text{ХПК}_{\text{суб}} \cdot 100} \quad (1)$$

където:

БМП – биохимичен метанов потенциал, лСН₄/гХПК

V_{биогаз} – общ обем на продуцирания биогаз, л

C_{метан} – концентрация на метан в биогаза, %

V_{суб} – обем на използвания в теста субстрат, л

ХПК_{суб} – химична потребност от кислород на субстрата, гО₂/л

- За твърдите субстрати (ябълкова пулпа, картофени обелки и картофени хидролизати):

$$\text{БМП} = \frac{V_{\text{биогаз}} \cdot C_{\text{метан}}}{M_{\text{суб}} \cdot \text{ЛТВ}_{\text{суб}} \cdot 100} \quad (2)$$

където:

БМП – биохимичен метанов потенциал, лСН₄/гХПК

V_{биогаз} – общ обем на продуцирания биогаз, л

C_{метан} – концентрация на метан в биогаза, %

M_{суб} – маса на използвания в теста субстрат, кг

ЛТВ_{суб} – съдържание на летливи твърди вещества в субстрата, гЛТВ/кг

2. Оптимизиране на процедурата за определяне на БМП

Оптимизацията на процедурата за определяне на БМП включваше: балансиране на средата по отношение на съдържанието на различни, важни за микроорганизмите, микроелементи в средата; изследване на температурния оптимум на процеса; отношението субстрат/инокулат и влиянието на предварителната обработка на субстратите.

Изследването на влиянието на предварителната обработка на картофени обелки беше установено чрез подлагането на суровината на различни хидролизис с цел оптимизиране захарния състав:

- „KX_{HCl}“

Солната киселина обикновено се използва за пълна хидролиза на въглехидрати от растителен произход до прости редуциращи захари, без никакви неблагоприятни ефекти върху материала. В реактивно автоклавируемо шише от 500 мл бяха поставени 40 гр. смлени в блендер картофени обелки хомогенизирани със 120 мл 0.5 М HCl. Сместа беше стерилизирана при 121 °C в продължение на 15 минути. По време на стерилизацията въглехидратите от картофените обелки се превръщат в ферментиращи захари, дължащи се

на киселинна хидролиза. Процедурата е описана от Agaroglou et al. (2010). Полученият хидролизиран разтвор беше неутрализиран с 1 % NaOH и съхраняван в хладилник на 4 °C.

➤ „*KX_{H3PO4} терм*“

С цел да не се нарушава буферността в разтвора, беше изследвана и хидролизната активност на H₃PO₄. 30 гр. картофени обелки бяха смлени в блендер и хомогенизирани със 100 мл. 1 % H₃PO₄. След това разтворът беше нагряван на водна баня в продължение на 5 часа. През определени интервали (0, 30, 60, 90, 120, 180, 240 и 300 мин.) бяха взимани проби и подложени на глюкозен анализ, използвайки метода на 3,5-динитросалициловата киселина, описан от Miller (1959). Полученият хидролизиран разтвор на нишесте беше неутрализиран с 1 % NaOH и съхраняван в хладилник на 4 °C.

➤ „*KX_{H3PO4} автокл*“

Подобно на горната процедура бяха смлени и хомогенизирани 30 гр. картофени обелки със 100 мл. 1 % H₃PO₄. След това разтворът беше автоклавиран за 15 мин. при 121 °C. Полученият хидролизиран разтвор беше неутрализиран с 1 % NaOH и съхраняван в хладилник на 4 °C.

➤ „*KX енз*“

За втечняването на нишесте беше използвана α-амилаза Lp Hera, а за озахаряването- амилоглюкозидаза Saczyme Plus 2x и Sanferm Yield на фирма Novozymes. 40 гр. картофени обелки бяха смлени в блендер и хомогенизирани с 119 мл. дестилирана вода. Разтворът беше загрят до около 90 °C и беше прибавен 1 мл. разтвор на α-амилаза Lp Hera (процес на втечняване). Нагряването продължи 120 минути като на всеки 20 минути бяха взимани проби и подложени на глюкозен анализ, използвайки метода на 3,5-динитросалициловата киселина, описан от Miller (1959). След това разтворът беше охладен до 35-40 °C, хидратиран с вода до първоначалния обем и добавени по 1 мл. от разтвор на амилоглюкозидаза Saczyme Plus 2x и смес от ензими Sanferm Yield (процес на озахаряване). Разтворът беше съхраняван в хладилник на 4 °C.

3. Определяне състава на продуцирания биогаз

➤ Елементен анализ на H₂S, CO, O₂, запалими газове (CH₄)

Първоначалният анализ на продуцирания биогаз от различни източници бе направен с помощта на преносим газоанализатор Dräger X-am 3000 с катализиращ детектор тип пелистор за анализ на H₂S (0-100 ppm), CO (0-400 ppm), O₂ (0-25 обемни %), запалими газове (0-100 % долна граница на експлозивност- ДГЕ).

Стандартни обеми от анализирания биогаз бяха въвеждани през щуцер в затворено пространство (кутия) с обем 3,5 л при газоанализатора в 10 пъти по-ниска концентрация, за да може да се осъществи измерване в обхвата на апарата.

➤ **Абсорбционен количествен анализ**

Резултатът от БМП се дефинира от количеството метан, синтезиран от определено количество субстрат. Тъй като биогазът се състои основно от два типа газ: метан и въглероден диоксид, това позволява приблизителна оценка на състава му, като се използват поглъщатели на въглеродния диоксид, които не поглъщат метан. Количественият състав на биогаза бе определен с помощта на абсорбиращ метод, описан от Lalov et al. (2013).

4. Охарактеризиране на консорциума със сканираща електронна микроскопия (SEM)

Смесеният метаногенен консорциум от „Алмагест“ беше дехидратиран чрез изпаряване на водата в него и покрит със слой от въглерод. След това беше сканиран със SEM. Снимките бяха направени с два детектора: BSE и SE, различно анодно съпротивление - 10.00 и 30.00 kV и различна големина на обектите - 2, 5 и 10µm.

5. Математическо моделиране на процеса на биометанизирание

За описание на процесите на метанизация на различни субстрати, оценка на БМП и ефекта на различни процеси на първоначална обработка на субстратите редица автори използват математически модели [Syaichurrozi et al., 2013; Zieminski et al., 2015; Budiyo et al., 2014; Donoso-Bravo et al., 2010]. Използваните модели на Гомперц (модифициран) и Логистичен са сходни, те предполагат растежа на популация при ограничен ресурс. Моделът на крива на реакцията е с по-голямо приложение в автоматиката и показва реакцията на една система във времето при промяна на условията. И трите модела използват три параметъра: максимален добив, скорост и лаг фаза. Само при реакционния модел лаг-фазата може да бъде зададена като 0. Тъй като кривите са нелинейни се използва нелинеен метод на най-малките квадрати. За да намерим параметрите в такива сложни модели, обикновено се използват математически програми: Матлаб, Маткад, Мейпъл. Мейпъл е програма за математически изчисления и моделиране, с възможности равни на изредените програми, а в някои отношения и по-добри. В случая използваната версия е 13, разработка на Waterloo Maple Inc. 2009. Има и няколко по-нови версии, но те изискват значително по-голяма изчислителна мощ (по-мощни компютри).

III. Резултати и дискусия

1. Подбор и охарактеризиране на органични индустриални отпадъци

Като потенциален базов субстрат за разработване на биорафинерийна платформа бяха изследвани четири типа органични отпадъци: а) винаса, представляваща обезалкохолен вторичен продукт при производството на винено бренди; б) хидролизат от избелена целулоза - означен като „ЦХ“; в) ябълкова пулпа, отпадаща от производството на ябълков оцет и г) картофени обелки, означени като „КО“. Тези субстрати бяха подбрани както поради високия енергиен потенциал, типичен за този вид отпадъчни продукти, така и във връзка с необходимостта от разрешаването на проблема, свързан с тяхното третиране преди изхвърлянето им в околната среда. Преди да бъдат подложени на анаеробна обработка за получаване на биогаз, субстратите бяха охарактеризирани с помощта на различни аналитични методи и резултатите бяха използвани за установяване на енергийния им потенциал като суровинна база за получаване на биоенергия.

1.1. Винаса

Първият отпадък, използван като субстрат за метанизация, беше винаса, отпадаща след дестилацията на червено вино при получаването на винени дестилати. За да се определи потенциалът ѝ като енергиен източник, бе подложена на по-детайлни изследвания, резултатите от които са обобщени в таблица 1.

Табл. 1. Основни характеристики на винаса

Параметър	Стойност
pH	3.17
ХПК, гО ₂ /л	216
Общ белтък, г/л	6.34
Редуциращи вещества, г/л	2.19
Летливи мастни киселини г/л	8.45
Азот, г/л	0.664
Фосфор, г/л	0.127
Сяра, г/л	0.266

Както може да се забележи от демонстрираните в таблица 1 резултати винасата представлява течен отпадък с подходящо за целите на биометанизацията съдържание на белтъчни (6.34 г/л) и захарни (2.19 г/л) компоненти. Може да се установи типичното за този остатък високо съдържание на органична материя (ХПК 216 гО₂/л) и летливи мастни киселини (8.45 г ЛМК/л), което го превръща в рисков замърсител при директно изхвърляне в околната среда. Важно е да се отбележи, че в случая органичната замърсеност дори надвишава обичайните за този отпадък стойности, които типично са

между 10 и 65 г/л [Moraes et al., 2014], въпреки че съществуват данни за над 100 г/л [Robles-Gonzalez et al., 2010; Lutoslawski et al., 2011].

Допълнително предимство на винасата е доброто съотношение на микро- и макроелементите, необходими за развитието на микроорганизми. В хода на по-ранни изследвания [Лалов, 2001] е установено, че в разглежданата суровина най-високо е съдържанието на калий (625.0 мг/л) и калций (88.0 мг/л), следвани от мед (29.0 мг/л), натрий (22.8 мг/л) и желязо (5.0 мг/л).

Наличието на големи количества органични киселини (8.45 г ЛМК/л) предопределя и сравнително ниските стойности на рН (3.17). Тъй като подобна висока киселинност на средата не би позволила осъществяването на процес на биометанизация поради инхибиране на метаногенните микроорганизми, при всички проведени изследвания преди използването ѝ като субстрат рН бе коригирано до неутрални стойности.

Благодарение на получените резултати можем да заключим, че анаеробното ѝ третиране, целящо едновременно намаляване на органичното натоварване и генериране на енергия под формата на биогаз, би представлявало ефикасна биотехнология за оползотворяване на винасата. Нейната ценност като потенциален субстрат за метанизация се повишава както от балансирания ѝ състав така и от факта, че представлява отпадъчен продукт, чието икономически изгодно третиране нерядко създава проблеми.

Според литературни данни от винасата могат да се получат и други ценни химикали като тартарати и антоциани [Braga et al., 2002; Devesa-Rey et al., 2011]. Това е примамлива и икономически изгодна перспектива за по-нататъшна разработка на биорафинерийната платформа.

Изборът на винаса като моделен субстрат за изследване и оптимизация на процедурата за определяне на БМП беше обусловен не на последно място и от факта, че съществува значителен предишен опит при работата с този отпадък, който потвърждава пълноценността на този тип вторична биомаса като субстрат за биометанизация. Този опит позволи по-добро разбиране и осмисляне на феномените, наблюдавани от екипа в хода на новите изследвания.

1.2. Целулозен хидролизат (ЦХ)

Съществува значителна по обем информация, отнасяща се до различен тип енергийни трансформации на лигноцелулозни материали като най-често се изследва трансформацията в биоетанол. Тези изследвания, обаче, обхващат предимно директна трансформация на суровини, получени от енергийни култури [Melin et al., 2010; Guerrini et al., 2013; Chandra et al., 2012] или отпадащи от селскостопанска и лесотехническа дейност.

Сравнително по-слабо са изследвани възможностите за получаване на бιονергия от лигноцелулозни материали, отпадащи от различен вид промишлени производства. Поради спецификата на промишлените процеси този вид отпадъци се характеризират с редица характерни особености, което не позволява механично пренасяне на резултатите от изследванията, получени при преработката на друг тип лигноцелулозни материали директно върху този тип вторична биомаса. Производството на микрокристална целулоза е значително по обем и е доста разпространено в световен мащаб поради широкото ѝ и мащабно приложение в медицинска, биотехнологична, козметична, хранително-вкусова, керамична и др. промишлености. Това производство от своя старана е свързано с генерирането на значителен по обем течен отпадък, характеризиращ се с високо органично натоварване, дължащо се главно на присъствието на различни видове пентози и хексози, както и фурфурал. Това го превръща в добра потенциална суровина за различен тип биотехнологични процеси за получаване на енергия, а от друга страна директното му изхвърляне е свързано със значителен риск за качеството на околната среда.

Вследствие на гореизброените причини при избора си на обект за изследване се спряхме на целулозния хидролизат, получаван при производството на микрокристална целулоза. Както е описано в раздел *Материали и методи*, той е получен при лабораторен процес за производство на микрокристална целулоза посредством частична киселинна хидролиза на избелена широколистна целулозна суровина. Конкретните условия на процеса са описани в предходния дял. Резултатите, получени при охарактеризирането му, са обобщени в таблица 2.

Табл. 2. Основни характеристики на целулозен хидролизат

Параметър	Стойност
pH	1.47
Редуциращи захари, г/л	3.96
Общ белтък, г/л	1.11
ХПК, гO ₂ /л	28.8
D(+) глюкоза, г/л	0.319
D(+) ксилоза, г/л	1.121
D(+) маноза, г/л	0.128
Фурфурал, г/л	0.133

Анализите на отпадъка потвърдиха добрата му органична натовареност (ХПК = 28,8 гO₂/л), дължаща се главно на присъстващите в разтвора захари - ксилоза (1.121 г/л), глюкоза (0.319 г/л) и маноза (0.128 г/л). Според литературни проучвания фурфуралът в целулозния хидролизат може да бъде основа за получаване на ценни химикали [Machado

et al., 2016]. Високото съдържание на захари (3.96 г/л) и белтъчини (1.11 г/л) определят отпадъка като подходящ за целите на биометанизацията. Поради високата киселинност на средата (pH 1.47) при всички изследвания преди използването му като субстрат pH бе коригирано до неутрални стойности.

Предвид на конкретните параметри, получени при охарактеризирането на нашия продукт (съдържание на захари и фурфурал), бе преценено, че този отпадък може да служи като източник на фурфурал адекватен на тези, описани в други изследвания [Machado et al., 2016]. От друга страна съдържанието на захари, по-специално на глюкоза, макар и относително високи, не са напълно подходящи за рентабилно получаване на течено биогориво (например биоетанол), макар да съществува възможност те да бъдат рентабилно превръщани в някакъв друг вид ценни химикали. По тази причина по-нататъшните изследвания бяха насочени към прецизно определяне на БМП на целулозния хидролизат с оглед бъдещо създаване на инсталация за генериране на биометан, която да е насочена към минимизиране на енергийните разходи в хода на целия технологичен процес на производство на микрокристална целулоза.

1.3. Ябълкова пулпа

При обработката на ябълков материал до ябълков оцет се акумулира голямо количество твърд органичен отпадък. След протичането на алкохолната и оцетно-кисела ферментации течността се отделя от кашата посредством пресоване, а твърдият остатък (ябълкова пулпа) се отстранява. В литературата трудно могат да бъдат намерени данни за по-нататъшната му обработка и утилизиране.

С цел охарактеризиране на този индустриален отпадък като потенциален субстрат за метанизация бяха проведени редица анализи, резултатите от които са обобщени в таблица 3.

От данните, представени в таблицата се вижда, че изследваният субстрат се отличава с високо органично съдържание (89 гЛТВ/кг), а също така и с известна небалансираност по отношение на съотношението C:N 40.65:1.33, дължаща се очевидно на растителния му произход.

Поради сравнително високата киселинност на средата (pH 3.56) при всички изследвания преди използването му като субстрат pH бе коригирано до неутрални стойности. Високото органично натоварване и количеството въглерод определят отпадъка като подходящ за целите на биометанизацията.

Табл. 3. Основни характеристики на ябълкова пулпа

Параметър	Стойност
pH	3.56
Редуциращи захари, г/кг	6.6
Общ белтък, г/кг	3.82
Сух остатък, г/кг	89.1
Влагосъдържание, г/кг	910.9
Органично съдържание, гЛТВ/кг	89
Азот, % _{СВ}	1.33
Въглерод, % _{СВ}	40.65
Водород, % _{СВ}	6.36

Поради ограничените възможности за сравняване на получените резултати от различен тип евентуални предобработки и съответно сложността да бъде направена адекватна оценка на ефекта от тези допълнителни третираня, беше решено да бъде изследван енергийният потенциал единствено на нетретирания отпадък посредством определяне на БМП с помощта на предварително оптимизирана при други субстрати процедура.

1.4. Картофени обелки (КО)

Тъй като този тип отпадък е доста разпространен (специално в страните от ЕС), при което проблемът с неговото оползотворяване е оценяван от различни изследователи като значителен, поне в рамките на Европа, и от друга страна поради наличието на данни от разнообразни проучвания, позволяващи сравнение на новополучените резултати с тези от предходни изследвания, беше решено този тип вторична биомаса да бъде използвана като моделен отпадък, позволяващ обективна оценка на ефекта от едновременното прилагане на различни комбинации от биотехнологични обработки на отпадъка с цел оптимизация на енергийния му потенциал.

Изборът на този индустриален отпадък за моделен субстрат, с чиято помощ да се създаде подход за определяне на пълния енергиен потенциал на евентуални суровини за получаване на биоенергия, логично беше съпроводен с неговото охарактеризиране. За тази цел бяха проведени редица анализи, като резултатите са обобщени в таблица 4.

От получените резултати се вижда, че изследвания твърд отпадък притежава сравнително високо органично съдържание (133.6 гЛТВ/кг) като съдържанието на пепел е незначително (под 2 %), което е съизмеримо с резултатите, получени при други изследвания (0.9-1.6 %) [Sepelev et al., 2015]. Логично, съдържанието на белтък в картофените обелки (6.12 г/кг), както и това, цитирано за липиди (1-4 г/кг) [Sepelev et al., 2015], също бяха относително ниски. Водното съдържание в обелките е 84.72 %, което също кореспондира добре с други литературни данни, където то е между 83 и 85 %

[Arapoglou et al., 2010; Schieber et al., 2009]. От резултатите личи също така, че съдържанието на моно- и дизахариди е незначително, което от своя страна означава, че те все още са организирани като полимери. Това се потвърди и от литературните данни за състава на този тип отпадък, според които въглехидратите (87-124 г/кг) са представени главно от нишесте (78 г/кг) [Sepelev et al., 2015] и лигноцелулозен компонент („фибри” – около 25 г/кг) [Schieber et al., 2009]. Този факт естествено предполага необходимостта от различни типове предварителна обработка, целяща хидролиза на полимерните съединения и повишаване на „ферментируемостта” на материала. Изследването на елементния състав показва, че субстратът е достатъчно балансиран по отношение на него като определеното съотношението C/N беше приблизително 14.4/1. Подобен състав се потвърждава допълнително и от данните за белтъчното и захарно съдържание.

Табл. 4. Основни характеристики на картофените обелки

Параметър	Стойност
Редуциращи захари, г/кг	4.36
Общ белтък, г/кг	6.12
Сухо вещество, г/кг (% _{св})	152.8 (15.28)
Влагосъдържание, % _{св}	84.72
Пепел, %	1.92
Органично съдържание, гЛТВ/кг (% _{св})	133.6 (87.43)
Азот, % _{св}	3.16
Въглерод, % _{св}	45.50
Водород, % _{св}	6.49
D- целобиоза, г/кг	0.03
D(+) ксилоза, г/кг	0.016
D(+) маноза, г/кг	1.74
D(+) глюкоза, г/кг	-
Фурфурал, г/кг	-

Всички тези резултати водят до логичното заключение, че така анализираната вторична биомаса има висок потенциал да бъде използвана като суровинна база както за директно получаване на енергия под формата на биометан, така и за генериране на други биогорива (например биоетанол) или ценни химикали след подходяща предобработка.

Предвид така очерталите се възможности по-нататъшните изследвания бяха насочени към адекватно оценяване на пълния биоенергиен потенциал на този отпадък посредством определяне на БМП с помощта на оптимизирана процедура, както и изследване на потенциалните възможности за получаване на два и повече вида енергоносителя с помощта на прилагане на комбинация от различни биотехнологични методи. По този начин субстратът се оказа и подходящ обект за изследване на ефекта от

различните типове предобработка върху повишаване на енергийния потенциал на изследваната суровина.

2. Влияние на типа на метаногения консорциум върху определянето на БМП

Общият енергиен потенциал на дадена суровина може да се изрази като сума от потенциала на различните енергоносители (метан, етанол, метанол и др.), които могат да бъдат получени при комплексна преработка на изследваната суровина.

Определянето на БМП е основна процедура, позволяваща да се оцени количеството метан, което може да бъде получено при трансформацията на суровината при всеки един етап от нейната преработка. Макар и широко използвана за охарактеризирането на енергийния потенциал на различни типове биомаса, поради редица комплексни причини, процедурата все още не е стандартизирана по начин, който да позволява получаването на обективни и достатъчно повтаряеми резултати, макар в практиката да се използват няколко стандартни описания. Както беше подчертано, вариабилността на резултатите от подобен тип анализи се дължи на комплексния характер на редица съществени променливи, които са определящи за крайния резултат. Бъдещото стандартизиране на процедурата задължително ще включва минимизирането на тяхното влияние, включително посредством по-детайлен подбор на изходните условия. Значението на подобна вариабилност на резултатите може да се онагледява дори само с примера за проектиране на подобни инсталации, при което всяко значително подценяване или надценяване на продукцията на биогаз биха имали критично въздействие върху икономическата рентабилност на проекта.

Много автори са изследвали влиянието на химичния състав (т.е. съдържание на органични вещества, белтъци, липиди, влакна и т.н.) върху разграждането на биомасата в анаеробни условия. Така например биоразграждането на лигноцелулозни субстрати в анаеробни условия е трудно за постигане и по тази причина производството на биогаз е ниско. В допълнение, има широк набор от химически вещества, които могат да причинят дисбаланс на анаеробното разграждане (например, прекомерно производство на летливи киселини и др.). През последните години, съвременните индустриални изследвания въвеждат нови технологии за подобряване на процеса [Moore, 2006; Baun et al., 2008].

Една от най-съществените променливи с подобен комплексен характер е съставът и активността на използвания като биокатализатор за трансформиране на субстрата смесен метаногенен консорциум. Известно е, че върху тази променлива влияят значително количество фактори, някои от които имащи случаен характер – състав и промени в състава на околната среда, кратковременни или дълговременни вариации на рН или температура,

адаптация към конкретни условия и др. Доколкото изкуственото контролиране на състава на консорциума (създаването на т. нар. синтетични консорциуми) е доста сложно от практическа гледна точка, стремежът да се оптимизира този параметър би следвало да бъде свързан най-вече с подбор на подходяща естествено формирана смесена метаногенна култура.

Изследвани са множество източници на инокулат като е установено, че резултатите за биоразградимостта на даден субстрат могат съществено да варират в зависимост от конкретния източник на метаногенен консорциум, както и от времето за адаптация към определен субстрат. При повечето описани процедури за определяне на биохимичен метанов потенциал като източник на активна метаногенна култура – инокулат обикновено се използва биомаса от работещ метанов реактор. Въпреки, че подобен подход има и някои трудно преодолими недостатъци, неговите безспорни преимущества го правят предпочитан при огромно болшинство от провежданите изследвания.

Едно определено съществено, но доста слабо изследвано влияние върху БМП несъмнено оказва както вида така и състава на метаногените консорциуми, които се различават помежду си в голяма степен. Поради това беше взето решение да бъде проучено въздействието на различни по произход и състав метаногенни консорциуми върху биохимичния метанов потенциал.

Използваните при изследванията смесени метаногенни консорциуми бяха подложени на предварително охарактеризиране, което включваше изследване на структурата на активната утайка (морфологичен анализ) и определяне на нейното органично съдържание (минерален и органичен състав). След това активните утайки бяха активирани чрез култивиране в модифицирана хранителна среда и един от потенциалните субстрати – винаса. Беше сравнена кинетиката на трите консорциума и беше избран най-подходящият за следващите изследвания.

Смесените метаногенни култури, получени от естествени източници, се формират под въздействието на факторите на околната среда и са адаптирани към естествените условия за живот в различните ареали на разпространение на метаногените като блата, езерни дъна, храносмилателния тракт на някои преживни животни и т.н. При подборът на конкретния консорциум основна роля играят два фактора: достъпността на местообитанието, т.е. източника на изолиране, и метаногенната активност на естествено формираната смесена култура спрямо съответния индустриален отпадък.

Достъпността на естествените източници се определя за всяка индивидуална ситуация, но сред най-достъпните местообитания на метаногенни микроорганизми са

органичните торове, получавани вследствие жизнената дейност на домашни преживни животни, както и дъната на водни басейни със сравнително неподвижна водна маса (езера, блата, язовири и др.) [Zehnder, 1988].

Предвид на гореизложеното беше решено да бъдат изследвани два различни консорциума от действащи метаногенни реактори и един, изолиран от естествен природен източник. Като природен източник на изолиране беше използвана дънна утайка (означена като *култура 1*), добита от застойна зона на естествен водоем (река Искър, с. Ореховица). Другите два метаногенни консорциума бяха получени от работещи анаеробни биореактори за третиране на отпадащи води от производството на биоетанол или от обработка на лигноцелулозни материали. Консорциумите бяха доставени от завод „Алмагест“, община Ихтиман, означени като *култура 2* и *култура 3*. Вторият от тях притежава повишена хидролитична активност спрямо целулозни материали. Някои от по-важните им характеристики са показани в табл. 5.

Табл. 5. Основни характеристики на изследваните смесени метаногенни консорциуми

Параметър	<i>Култура 1</i>	<i>Култура 2</i>	<i>Култура 3</i>
Влагосъдържание, тегл. %	60	92	93
ЛСТВ, % (мг/мл)	4,5 (23,28)	86 (56,42)	87 (62,96)
Абсолютно сухо вещество, тегл. % (г/мл)	40 (0,517)	7,5	7

Общият вид на *култура 1* е показан на фиг. 2. Както може да се забележи на снимката тя е хомогенна и фина, което е типично за такава утайка.



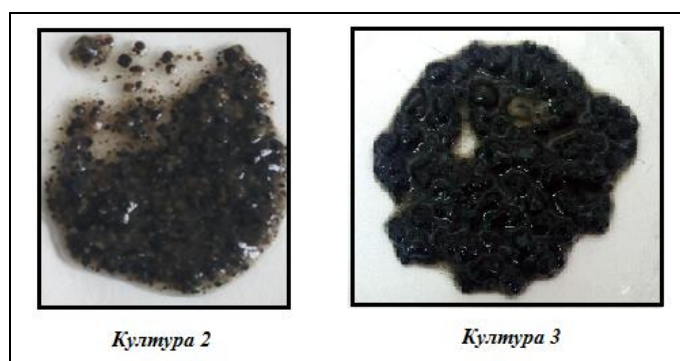
Фиг. 2. Снимка на *култура 1*

При активните утайки от природен източник минералният компонент достига до 70 %. В случая определеното за изследвания консорциум влагосъдържание беше относително ниско – 60 тегл. %, което се дължи именно на високото минерално съдържание на активната утайка. Влиянието на минералния състав определи и факта на доста по-високата относителна плътност на изолираната активна утайка, която достига стойност от 1,3. Определеното сухо вещество беше около 40 тегл. % или 0,517 г/мл. Съдържанието на органична материя, изразено като ЛСТВ, представляваше 4,5 % от сухото вещество или

23,28 мг/мл. Подобно ниско съдържание на органичната материя спрямо минералното съдържание предполага съществуване на смесения метаногенен консорциум под формата на биофилм от микроорганизми, имобилизирани върху неорганичния носител.

Общият вид на *култура 2* и *култура 3* е демонстриран на фиг. 3. Както може да се забележи на снимката, двете утайки са гранулирани под формата на сферични флокули (меки гранули), съставени от адхезирали бактерии върху активен въглен. Размерите на тези частици са от порядъка на 2-3 мм при *култура 2* и 5-6 мм при *култура 3*. Гранулите проявяват добра устойчивост, запазвайки формата си при ниски скорости на разбъркване при условие, че се избягва пряко механично въздействие. Така структурираният консорциум притежава редица предимства като бърза седиментация, способност да се задържа в обема на реактора при сравнително високи скорости на потока, повишена устойчивост на токсични шокове и др., което го прави подходящ за използване в редица реакторни системи.

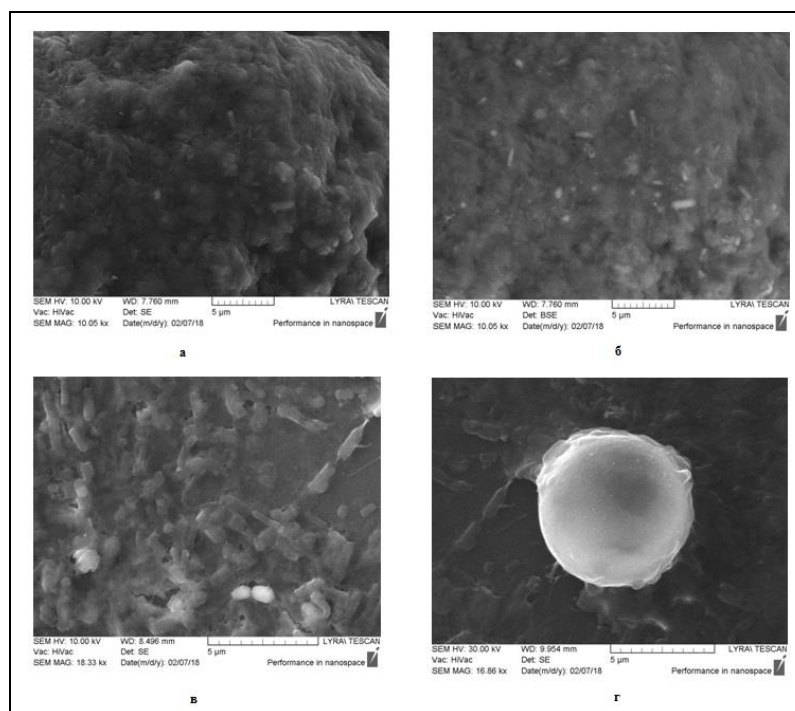
Анализите за определяне на състава на *култура 2* и *култура 3* показаха, че те се отличават с доста по-високо влагосъдържание около 92-93 %, което подсказва ниско съдържание на минерални компоненти. Съдържанието на сухо вещество варираше около 7-7,5 %, от което органичните вещества, измерени като ЛСТВ, достигаха до 87 %. По този начин може да се твърди, че в получените от метаногенни реактори *култура 2* и *култура 3* формираните флокули са съставени предимно от микроорганизми. Конкретните концентрации на ЛСТВ, определени за двете култури, бяха съответно 56,42 мг/мл за *култура 2* и 62,96 мг/мл за *култура 3*. Този състав беше използван по-късно при определяне съотношението между количеството субстрат и използвания за трансформацията метаногенен консорциум.



Фиг. 3. Снимка на *култура 2* и *култура 3*

На снимките, направени със SEM на *култура 2*, се вижда, че самата повърхност на носителя е грапава и силно нагъната (фиг. 4 а), което в съчетание с факта, че има

въглероден произход, го прави подходящ за колонизация от метаногенни организми. Колонизацията на повърхността на гранулите (фиг. 4 а, б) е относително по-слаба от тази на вътрешната им част (фиг. 4 в, г). Този феномен може да обясни повишената устойчивост на консорциума спрямо въздействието на неблагоприятни фактори на средата като например присъствието на разтворен кислород.

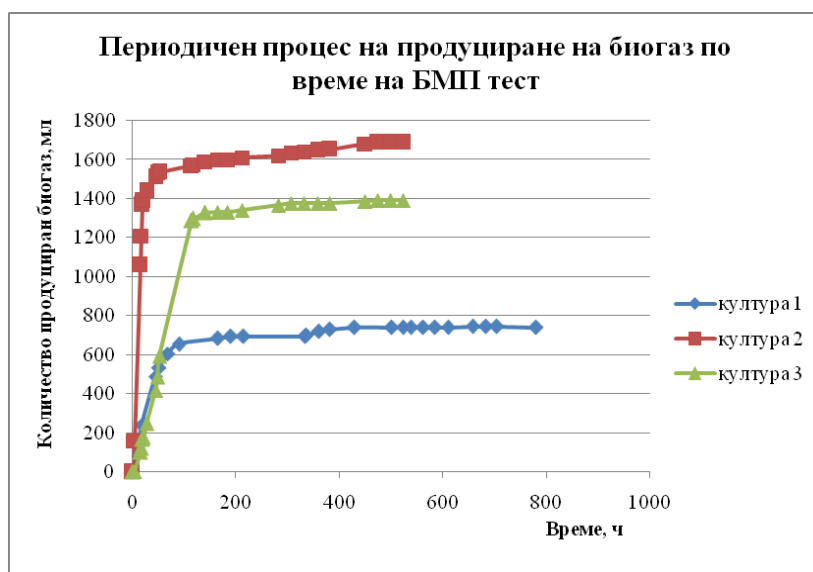


Фиг. 4. Снимки със SEM на култура 2

В състава на консорциума се забелязва наличие на различни морфологични форми пръчковидни, коковидни и др. бактерии с размер около 2 μm (фиг. 4 б, в), някои от които могат да бъдат определени като предполагаеми представители на различни родове метаногенни бактерии. Забелязва се и присъствие на предполагаеми еукариоти, което без да е напълно типично, е описано за редица консорциуми, използвани при метанизация на разнообразни по характер и химичен състав субстрати (фиг. 4 г).

След така описаното охарактеризиране на метаногенните консорциуми, беше пристъпено към определяне на тяхната биохимична активност и по-специално способността им да генерират биометан. За целта като моделен субстрат беше избрана лабораторно получена винаса, както поради добрите характеристики и балансиран състав, така и поради значителния опит за работа с нея. Метановата активност на отделните консорциуми беше изследвана при стандартни условия в хода на три отделни периодични процеса, при които беше използвано едно и също съотношение субстрат/инокулат.

Резултатите от проведените експерименти са демонстрирани с помощта на сравнителните графики, представени на фиг. 5, описващи кинетиките на продуциране на биогаз, проведени съответно с *култура 1*, *култура 2* и *култура 3*.



Фиг. 5. Сравнителна графика между кинетиките на продуциране на биогаз от винаса с трите различни консорциума

Както личи от фигурата поведението на метаногенните консорциуми и тяхната метаногенна активност силно се отличават спрямо дадения субстрат при равни други условия. Този факт може да се приеме като недвусмислено доказателство за изключителната зависимост на демонстрирания БМП от вида и състава на метаногенния консорциум. Това от своя страна предполага, че обективността на резултатите, получавани с досега използваните процедури може значително да се подобри, ако първоначално бъде извършвана селекция на използвания биокатализатор (метаногенен консорциум) спрямо конкретния изследван субстрат.

В конкретния случай количеството продуциран биогаз от винаса с помощта на *култура 2* - 1690 мл очевидно значително превъзхождаше това, получено с помощта на *култура 1* - 740 мл. Въпреки очакванията, че консорциумите *култура 2* и *култура 3* ще демонстрират сходна кинетика на метанизация поне за случая на нискомолекулни субстрати, беше забелязано, че както началната скорост на продуциране на биогаз, така и общият краен добив на биометан от единица субстрат при *култура 2* очевидно превъзхожда тези, определени за *култура 3*.

При внимателно изследване на кинетиката може да се установи, че *култура 1*, както и *култура 3*, демонстрират краткотрайна няколкочасова лаг-фаза, каквато в случая

на *култура 2* почти не се наблюдава. Демонстрираната разлика в активността допълнително потвърди, че използването на метаногени консорциуми, взети директно от работещи инсталации без сравнение на активността им спрямо определен субстрат може да доведе до сериозно подценяване или надценяване на биохимичния му метанов потенциал. Като първи критерий за оптимизиране на процедурата за определяне на БМП би следвало да се дефинира подборът на подходящ метаногенен консорциум. Някои резултати от дългосрочни експерименти по биометанизацията на дадени субстрати свидетелстват, че е възможна частична адаптация и съответно подобряване на метаногенната активност на използваните консорциуми по отношение на конкретен субстрат, но тези процеси се развиват за прекалено дълго от практическа гледна точка време и трудно могат да бъдат използвани като част от реална процедура за определяне на БМП.

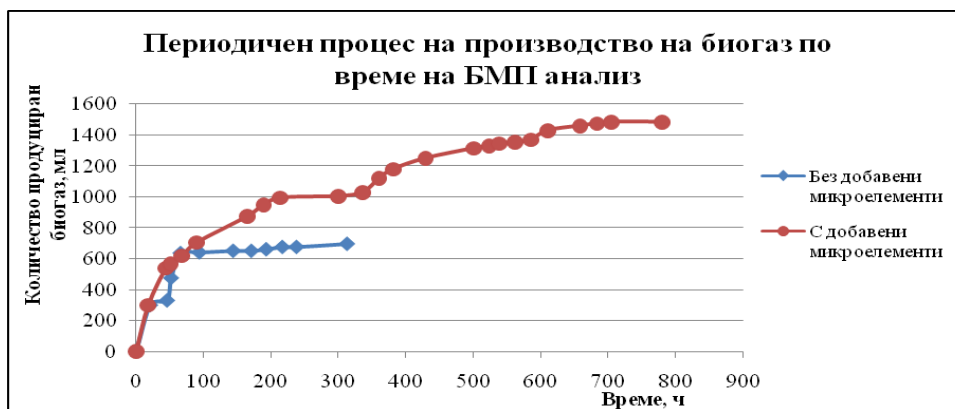
В резултат на проведеното сравнително изследване като най-добър биокатализатор за метанова трансформация на различни субстрати беше определен консорциум, обозначен като *култура 2* и той беше използван за определяне на БМП на всички изследвани субстрати.

3. Влияние на микроелементния състав на средата върху процедурата за определяне на БМП

Липсата на подходящи количества и съотношения, както на макро-, така и на микроелементи в средата, често е съществена преграда пред определянето на пълния БМП на даден субстрат. Подобна липса може да доведе до така наречения дисбаланс на субстрата, което да стимулира странични на целевия биохимични процеси и активности. Това не би позволило пълна и оптимална трансформация на изходната суровина в желанния продукт (биогаз). Както са демонстрирали изследванията на различни колективи, процесът може да бъде оптимизиран чрез добавяне на микроелементи в средата, които са много важни за растежа на микроорганизмите [Owen et al., 1979]. Поради тази причина беше проучено влиянието на състава на средата върху процедурата за определяне на БМП посредством добавянето на синтетични минерални разтвори към изследвания субстрат. Оптималният състав на тези добавки беше избран от литературни данни на базата на изследвания на други колективи и е описан в раздел *Материали и методи*. Изследването на влиянието на тези хранителни добавки върху проявяването на пълния биохимичен метанов потенциал беше извършено с помощта на същия моделен субстрат – получена в лабораторни условия винаса.

Кинетиката на двата периодични процеса е сравнена на фиг. 6. Двата процеса бяха осъществени като в единия случай бяха използвани 10 мл неутрализирана винаса (процес

без добавени микроелементи), а в другия случай в биореакторът, съдържащ метаногенния консорциум, бяха вложени 10 мл неутрализирана винаса и съответните количества микроелементи, съгласно методиката в раздел *Материали и методи*.



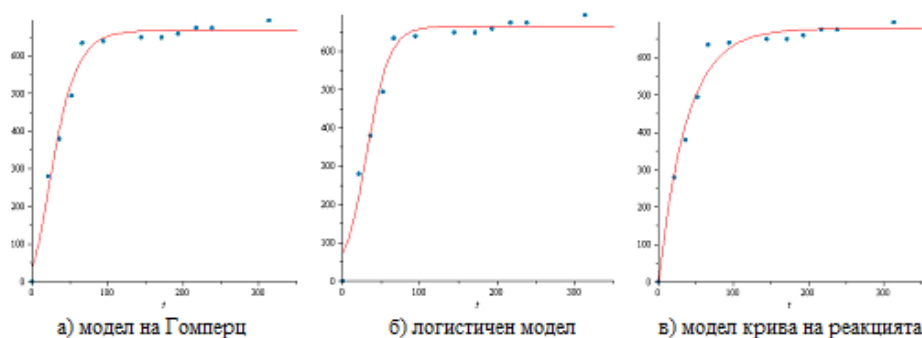
Фиг. 6. Сравнителна графика на кинетиката на процеса при наличие и отсъствие на микроелементи в средата

От фигурата се вижда, че при процеса с балансиран микроелементен състав добивът на биогаз нараства почти двойно като достига 1485 мл. В същото време максималният добив на биогаз от чистия субстрат беше 695 мл. Подобни резултати показаха, че дори при субстрати, често преценявани като достатъчно балансирани по отношение на технологичните изисквания на процеса биометанизация, какъвто е винасата, добавянето на микроелементи може драстично да повиши количеството на продуцирания биометан. Това потвърди предварителните ни очаквания, че при определяне на БМП независимо от резултатите при изследването на конкретния субстрат е необходимо да се добавят подходящи микроелементни композиции.

По-нататък беше изследвана и адекватността на различни математически модели за описание процеса на продуциране на биогаз. Различните модели бяха подбрани с помощта на литературно проучване. От тези изследвания беше установено, че при описанието на продукцията на биогаз в различен тип експерименти, включително при определяне на биохимичен метанов потенциал на различни субстрати, едни от най-използваните модели са модел на Гомперц, Логистичен модел и модел Крива на реакцията [Donoso-Bravo et al. (2010); Parra-Orobio (2017)]. По-детайлно представяне на моделите е предложено в раздел *Материали и методи*. От експерименталните резултати параметри като максимално количество произведен метан (скорост, мл/ч), продължителност на лаг-фазата (часове) и максимален добив (мл) бяха определени чрез трите модела. За всеки модел беше определена съответната мярка за добро съвпадение - коефициентът на корелация (R^2) и средната квадратична грешка (сума на квадратите). В последствие беше използван

софтуерен продукт Мейпъл 13.0, за да се определи най-адекватният за описанието на процеса модел, който максимизира R^2 и минимизира сума на квадратите.

Резултатите, получени с математическо моделиране, са представени на фиг. 7 и фиг. 8, а съответните константи, определени от различните модели, са демонстрирани в табл.6 и табл. 7.



Фиг. 7. Кинетика на продуциран на биогаз от винаса без добавени микроелементи в средата, описана чрез математически модели

Табл. 6. Стойности от кинетичните модели на продуциране на биогаз от винаса без добавени микроелементи в средата

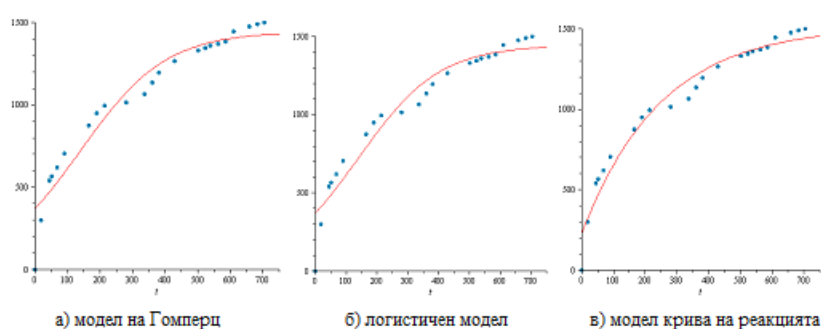
Модел	Максимален добив, мл	Скорост, мл/ч	Лаг-фаза, ч	Стандартно отклонение	Сума от квадратите на остатъците	Обща сума от квадратите	R^2
Гомперц	668	11,8	1,0	30,5	8345	504756	0,983
Логистичен	665	11,3	1,7	37,5	12657		0,975
Крива на реакцията	678	18,4	0,5	30,7	8486		0,983

На фиг. 7 е показано описанието на продуциране на биогаз от винаса без добавени микроелементи в средата с помощта на всеки един от тите модела. Очевидно е, че моделите описват по идентичен начин този процес като степента на тяхната адекватност е приблизително еднаква и при трите. В известна степен по-добра е при два от тях – модел на Гомперц и Крива на реакцията ($R^2 = 0,983$) в сравнение с Логистичния модел ($R^2 = 0,975$), както е вижда от стойностите в табл. 6.

Теоретичният максимален добив и при трите модела е приблизително един и същ (съответно 668 мл, 665 мл, 678 мл). Продължителността на лаг-фазата е сравнително кратка. Определените с помощта на различните модели минимални стойности на лаг-фазата могат да се обяснят с протекъл процес на предварителна адаптация на консорциума към субстрата.

На фиг. 8 по аналогичен начин са представени описанията на процеса на продукция на биогаз от винаса с добавени микроелементи в средата с помощта на всеки един от тите

модела. Както личи от константите на моделите, обобщени в табл. 7, те описват отново по сравнително идентичен начин процеса. Въпреки, че константите R^2 , максимална скорост на продуциране, както и стандартното отклонение, са приблизително еднакви. Би могло да се заключи, вземайки в предвид и данните от табл. 6, че моделът Крива на реакцията представя най-добро описание на изследваните процеси. Съгласно този модел максималният добив, също както и експериментално определеният, превъзхожда около два пъти максималния добив, определен за процеса без минерални добавки. Наблюдава се и най-добро съвпадение между експерименталните и теоретично получените параметри (максимален теоретичен добив - 1518 мл, максимален експериментално получен добив – 1475 мл).



Фиг. 8. Кинетика на продуциран на биогаз от винаса с добавени микроелементи в средата, описана чрез математически модели

Табл. 7. Стойности от кинетичните модели на продуциране на биогаз от винаса с добавени микроелементи в средата

Модел	Максимален добив, мл	Скорост, мл/ч	Лог-фаза, ч	Стандартно отклонение	Сума от квадратите на остатъците	Обща сума от квадратите	R^2
Гомперц	1471	3,1	-101,1	99,7	198764	3789574	0,948
Логистичен	1445	2,7	-122,9	111,5	248545		0,934
Крива на реакцията	1518	6,1	-40,6	80,7	130264		0,966

Отрицателните стойности за лаг-фазата, получени и при трите модела, могат да се обяснят отчасти с по-високата биохимична активност на консорциума към субстрата при наличие на подходящ микроелементен състав в средата. При това преимуществено се формира биометан без забележимо генериране на нова биомаса, т.е. консорциумът се доближава до ролята на чист биокатализатор, трансформиращ субстрата до метан.

4. Влияние на температурата върху процедурата за определяне на БМП

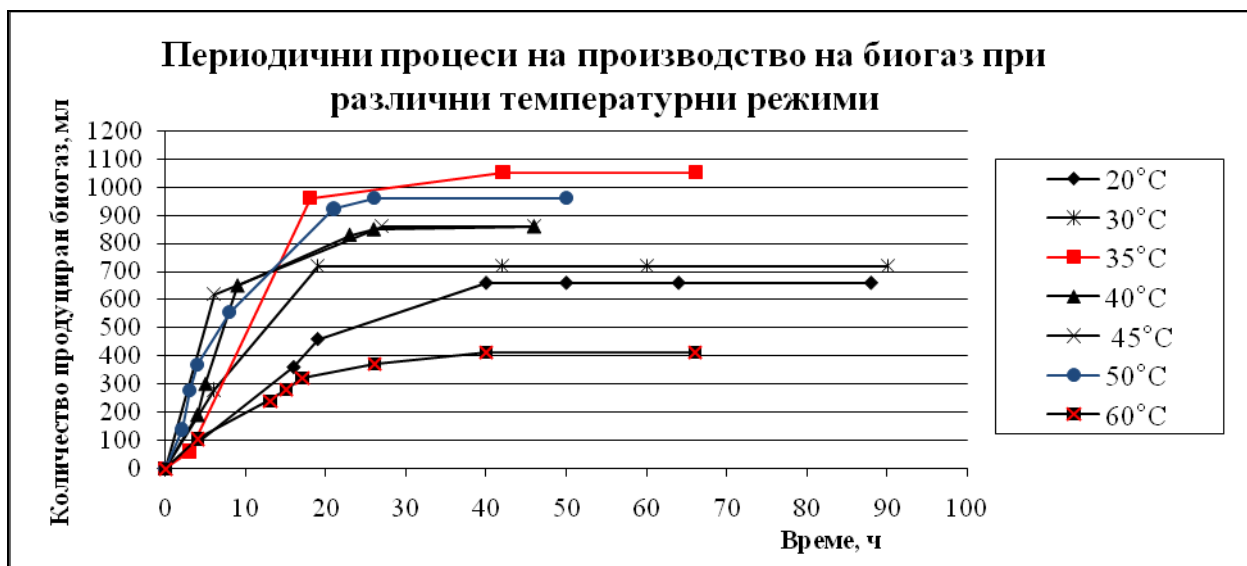
Определянето на оптималния температурен режим на процеса на биометанизация има изключително значение за постигането на максимално възможната продукция на биометан. В литературата е описано, че анаеробното разграждане на биомаса може да

протича в три различни диапазона: психрофилен (10 - 20 °C), мезофилен (20 - 45 °C) и термофилен (45 - 68 °C). Обикновено метаногенните консорциуми притежават достатъчно пластичност и могат да се адаптират към различните режими при условие на достатъчно дълги периоди на този процес. Въпреки това различните температурни режими се характеризират, както с твърде различна скорост на продуциране на биогаз, така и с различен максимален добив. Този феномен намира естественото си обяснение във факта, че преминаването на метаногенния консорциум от един температурен режим в друг е свързано със значителни промени в неговия микробиален състав.

Предвид на обстоятелството, че продукцията на биогаз от даден конкретен субстрат при едни и същи други условия е функция от температурния режим на процеса на биометанизация, може да се приеме с голяма степен на сигурност, че адекватното определяне на реалния БМП е свързано с предварително определяне на температурния оптимум на използвания като биокатализатор консорциум. По този начин следващата стъпка от процеса на оптимизация на процедурата за определяне на БМП беше свързано с изследване влиянието на температурата върху процеса на биометанизация на изследвания субстрат. Отново, както в предишните експерименти, беше използвана лабораторно получената винаса. Като изследван температурен диапазон логично беше избрана зоната на температурна стабилност и биохимична активност на използвания метаногенен консорциум. Така изследванията се състояха в провеждането на серия периодични процеси на метанизация на винаса при различни температури, вариращи в диапазона 20 - 60 °C, като стъпката на промяната при всеки следващ процес беше 5 °C.

Кинетиката на биометанизация при различните температурни режими е обобщена на фиг. 9.

В резултат на проведените изследвания беше установено, че температурният оптимум на процеса е 35 °C, което кореспондира с данните за оптимум при мезофилен температурен диапазон, описан от Gerardi (2003). Така определеният температурен оптимум е достатъчно логичен предвид факта, че поне в краткосрочен план, той зависи в решаваща степен от вида и състава на метаногенния консорциум.



Фиг. 9. Кинетика на продукцията на биогаз при различни температурни процеси

До известна степен парадоксално беше наблюдаван и втори, макар и по-нисък, температурен оптимум, при което втора по величина максимална продукция на биогаз беше получена при повишаване на температурата до 50 °C. Появата на този допълнителен оптимум вероятно се дължеше на процесите на температурна адаптация, протекли в метаногенния консорциум вследствие на плавното повишаване на температурата на средата. Очевидно е, че при първоначално увеличаване на температурата мезофилният консорциум беше поставен в условия на температурен стрес, което се изрази в понижаване на метаногенната му активност при процесът, осъществен при 40 °C като тази понижена активност се съхрани и при 45 °C. Липсата на по-нататъшно понижаване при по-висока температура подсказваше началото на процес на температурна адаптация. Вероятно в резултат на относително продължителния период на функциониране при високотемпературни режими, добивът при 50 °C показва тенденция към възвръщане към максималните стойности, регистрирани при класически мезофилен процес. Подобна температурна адаптация позволи на консорциума да демонстрира метаболитна активност дори при последващо повишаване на температурата до 60 °C. Въпреки че по-нататъшното повишаване на температурата доведе до дезактивация на консорциума и съответно прекратяване на процеса, така получените резултати ни позволиха да допуснем и хипотезата, че при достатъчно дълъг период на адаптация на метаногенния консорциум към високи температури може да бъде постигната равна или дори по-висока активност от тази, демонстрирана при мезофилни условия (35 °C). Независимо от тази възможност не бяха изследвани по-дълги периоди на адаптация при високотемпературни режими на работа, т.к. от практическа гледна точка термофилните процеси са доста по-рядко

реализирани в промишлен мащаб и определянето на по-висок метанов потенциал при тези условия няма да има практическа стойност за проектирането на конкретна инсталация, доколкото допълнителното количество биогаз не може да компенсира допълнителната енергия за поддържане на по-висока температура.

Резултатите, получени от експерименталните изследвания, бяха използвани по аналогичен начин за определяне на най-адекватния модел за описание на изследваните процеси.

При демонстрираните резултати, както и при константите, намерени за различните температурни режимима на процеса за всеки един от трите модела, могат да се проследят някои по-отчетливи или по-слабо изразени тенденции. Най-общо може да се отбележи, че и трите модела демонстрират достатъчно висока степен на съвпадение с експерименталните резултати като коефициентът на корелация (R^2) във всички случаи надвишаваше 0,965. Съответно величината от най-голям интерес за оптимизация на процедурата за определяне на БМП, а именно максималният теоретичен добив, в почти всички случаи съвпаднаше достатъчно добре с експериментално получения. При това с промяна на температурния режим на процеса от по-ниски към по-високи температури бяха наблюдавани няколко по-любопитни тенденции. Така например процесите до втория (термофилен) температурен оптимум се описват по-точно с помощта на модела на Гомперц и Логистичния модел, което личи от съответните коефициенти на корелация, вариращи в изключително тесния диапазон от 0,997 до 1. За разлика от тези стойности, процесите, реализирани с частично адаптирания към термофилни условия консорциум, съответно при 50 и 60 °C, се описват по-добре с модел Крива на реакцията, където R^2 е 0,994-0,995. Подобно явление може да се дължи на някои изменения в състава и характеристиките на използвания биокатализатор в процеса на температурната му адаптация.

Друга проследима тенденция е промяната в определената съгласно най-адекватните модели лаг-фаза, при което може да се твърди, че с повишаване на температурата нейната продължителност се съкращава от 7,4-7,5 часа до около 0,1 часа. Като единствената промяна на слабо повишаване при покачване на температурата се наблюдава в началото на температурната адаптация на метаногенния консорциум, който очевидно е свързан с известно преустройство в състава му.

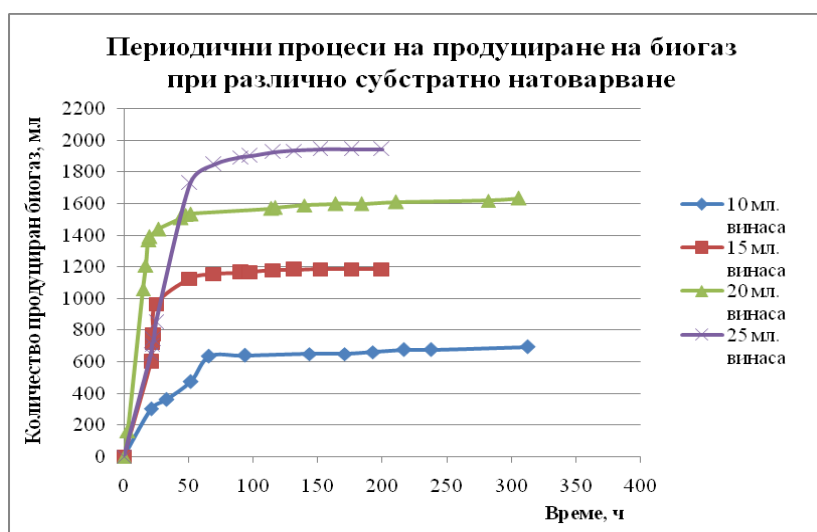
5. Влияние на съотношението субстрат/инокулат върху процедурата за определяне на БМП

Редица изследвания, свързани с оптимизацията на процедурата за БМП, се съсредоточават върху влиянието на съотношението на изследвания субстрат спрямо използвания метаногенен консорциум. Тези изследвания, макар и ограничени на брой, са установили при всички случаи наличието на оптимум за този параметър, което прави определянето му задължителна част от изследване, насочено към оптимизацията на цялостната процедура за определяне на реалния БМП. Въпреки единодушието по отношение на оптимално съотношение субстрат/инокулат може значително да варира при отделни изследвания може значително да варира. Така например съгласно Raposo et al. (2006) специфичната метанова продукция се увеличава при съотношение субстрат/инокулат = 0.5, но при по-високи съотношения е установено, че тази скорост започва да намалява почти непрекъснато. Някои други изследователи като Owen et al. (1987) обаче препоръчват като стандарт да се използва съотношение субстрат/инокулат = 1. В крайна сметка повечето изследователи [Raposo et al., 2006; Parra-Orobio et al., 2015] се обединяват около идеята определянето на съотношението субстрат/инокулат, което повишава метановата продукция да бъде определяно по отношение на всеки конкретен субстрат. Предвид на това при нашите изследвания беше поставено за цел да се определи както оптималното съотношение на използвания от нас моделен субстрат – винаса към избрания метаногенен консорциум, така и значимостта на варирането на този параметър.

Изследването на оптималното съотношение беше осъществено посредством провеждането на серия периодични процеси на метанизация, при които беше вариран обемът на използвания субстрат (винаса). Количествата на третираната при всеки отделен процес винаса варираше от 10 до 25 мл (ХПК 216 гО₂/л), при което количеството на използвания метаногенен консорциум беше еднакво (300 мл), процесът протичаше при 35 °С. Общо бяха осъществени 4 отделни процеса, чиято обобщена кинетика е представена на фиг. 10.

Както може да бъде изчислено на базата на демонстрираните на фигурата резултати, максимално количество биогаз от единица субстрат се продуцира в случая, когато като субстрат са вложени 20 мл винаса. По този начин можем да заключим, че по отношение на нашия моделен субстрат, оптималното съотношение на субстрат/инокулат, изразено като органично натоварване (органична материя за единица биокатализатор), е около 0.54 г ХПК/ гСВ. Повишаването на добива на биогаз, което се наблюдаваше в диапазона от 10 до 20 мл, вероятно се дължи на факта, че при лимитирани количества от

субстрата по-голяма част от него се използва за удовлетворяване на метаболитните нужди на консорциума не свързани пряко с продукцията на биометан. Въпреки че изследванията потвърдиха наличието на оптимално съотношение между субстрата и инокулата и съответно предполага необходимостта от намиране на този оптимум за всеки отделен субстрат, трябва да се отбележи, че реалната вариация в стойностите на максималната и минималната продукция на биогаз не превишаваше 15 %. Подобна относително ниска вариация предполага, че в някои случаи биха могли да се използват предварително използвани съотношения от 0,5 без особен риск от сериозно компроментиране на резултатите.



Фиг. 10. Кинетика на периодичен процес на биометанизация с различни количества винаса

Резултатите бяха описани и чрез математически модели, като може да се забележи, че и трите модела демонстрират достатъчно висока степен на съвпадение с експерименталните резултати като коефициентът на корелация (R^2) във всички случаи надвишаваше 0,966. Съответно величината от най-голям интерес за оптимизация на процедурата за определяне на БМП, а именно максималният теоретичен добив, в почти всички случаи съвпаднаше достатъчно добре с експериментално получения. При всички вариации на съотношението субстрат/инокулат резултатите се описват най-точно от модел на Гомперц и Лочистичния модел, където R^2 е между 0,992 и 0,999.

6. Определяне БМП на изследваните субстрати

6.1. Винаса

На базата на предходните изследвания беше дефинирана оптимизирана процедура за определяне на БМП, която ни позволи да изследваме предварително избраните и охарактеризирани субстрати по отношение на техния потенциал да служат като суровинна

база за биорафинерия за генериране на енергия под формата на биометан. Т.к. оптимизацията на процедурата за определяне на БМП по отношение на различни параметри като моделен субстрат беше използвана винасата, резултатите от тези предходни изследвания ни позволиха да изчислим, че реалният БМП е 0.36 лСН₄/гХПК.

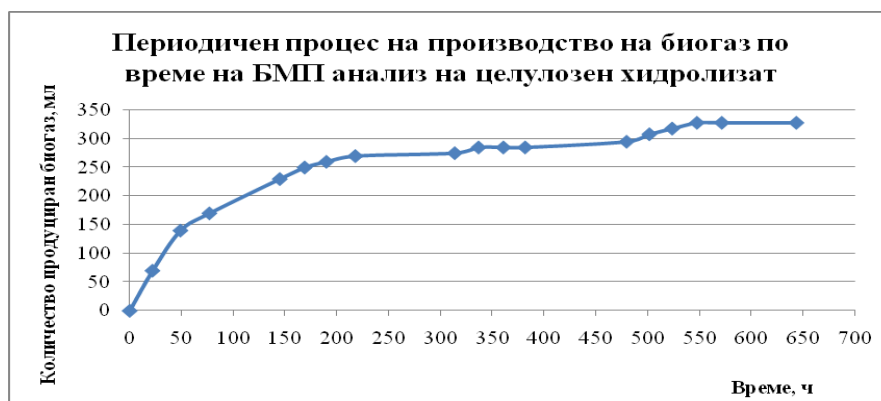
С помощта на така оптимизираната от нас процедура за определяне на БМП, по-нататък беше определен реалният енергиен потенциал на целулозния хидролизат, ябълковата пулпа и картофените обелки.

6.2. Целулозен хидролизат (ЦХ)

При определянето на БМП на хидролизата беше използвана процедурата, описана детайлно в раздел *Материали и методи* (20 мл хидролизат с ХПК 28,8 гО₂/л), като температура на процеса беше избрана оптималната мезофилна 35 °С, съотношението субстрат/инокулат също беше близко до оптимално определеното. Процесът беше проследяван до пълна липса на продукция на биогаз. В случая продължителността на периодичния процес беше 650 часа.

На фиг. 11 е показана кинетиката на продуциране на биогаз от ЦХ.

Максималното количество продуциран биогаз достигна 328 мл. По този начин изчисленият (по описания в раздел *Материали и методи* начин) биохимичен метанов потенциал беше 0.57 лСН₄/гХПК. Подобна относително висока стойност, дефинирана за този отпадък, в съчетание със значителните количества, в които се формира при производството на микрокристална целулоза, предполагат добра перспектива за енергийно оптимизиране на едно доста широкомащабно производство посредством оползотворяването на генерирания при евентуално анаеробно третиране биогаз.



Фиг. 11. Кинетика на продуциране на биогаз при биометанизация на ЦХ

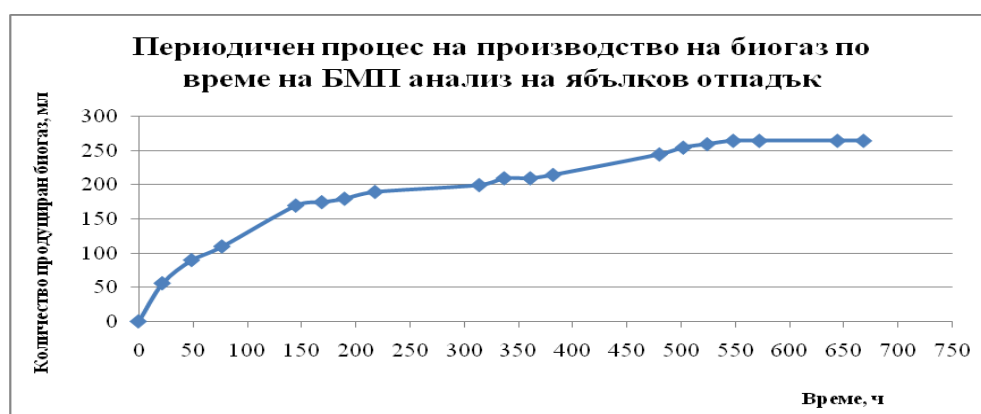
Резултатите бяха описани и чрез математически модели, от които се вижда, че трите модела описват по сходен начин процесът на продуциране на биогаз от целулозен

ходроллизат при определяне на неговия реален биохимичен метанов потенциал. Лаг-фазата има отрицателен знак, което може да се дължи на предварителната адаптация на субстрата към метаногенния консорциум. В резултат на утилизацията на по-малки количества от субстрата не се продуцира нова биомаса, а консорциумът играе ролята на биокатализатор, трансформиращ суровината в биогаз. Подобен недостатък (дефиниране на отрицателна лаг-фаза) е наблюдаван и в други изследвания, използващи тези модели. И при трите модела максималният добив на биогаз е около 300 мл, като скоростта на продуциране е между 1.4 и 2.9 мл/ч. Коефициентът на корелация е най-висок при модела Крива на реакцията (0,980).

6.3. Ябълкова пулпа

Аналогично при определянето на БМП на ябълкова пулпа, отпадаща от производството на ябълков оцет, беше използвана оптимизираната процедура, при условията описани в раздела *Материали и методи* (10 гр суровина с органично съдържание 89 гЛТВ/кг). Процесът беше наблюдаван отново до пълно затихване на продукцията на биогаз, като общата продължителност достигна 668 часа. На фиг. 12 е показана кинетиката на продуциране на биогаз от ябълкова пулпа.

Общият обем на продуцирания биогаз за целия процес достигна 265 мл. Изчисленият с помощта на описаната по-горе процедура биохимичен метанов потенциал беше 0.30 лСН₄/гЛТВ. Подобна величина от своя страна също предлага достатъчно добри възможности за енергийна оптимизация на производството на ябълков оцет посредством оползотворяване на значителните количества твърд отпадък в хода на анаеробната му трансформация в метан. Въпреки отсъствието на информация в литературните източници специално по отношение на този тип вторична биомаса, би могло да се заключи, че дори оползотворяването му под формата на единствен биорафинериен продукт (под формата на газообразно гориво биометан) би имал положителен икономически ефект.

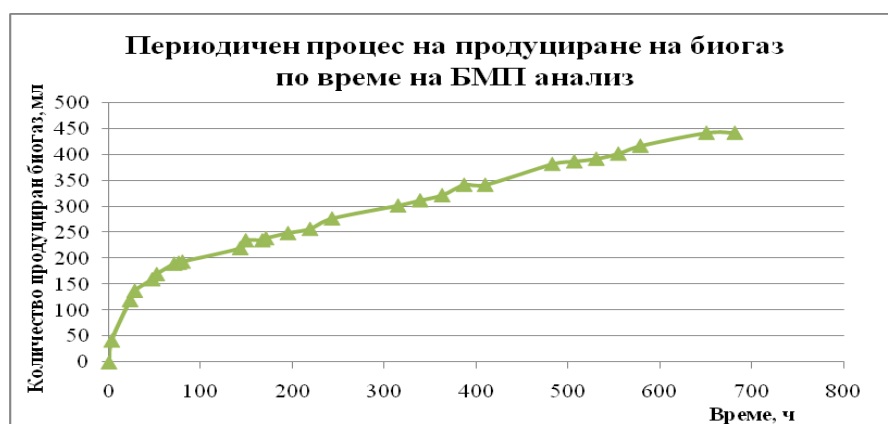


Фиг. 12. Кинетика на продуциране на биогаз при биометанизация на ябълкова пулпа

Резултатите от този анализ, по-специално продукцията на биогаз, бяха описани и чрез математически модели, като описанието на резултатите с помощта на трите модела е доста аналогично на ситуацията, наблюдавана при ЦХ, като в случая може да се отбележи единствено донякъде по-ниският коефициент на корелация, наблюдаван особено при Логистичния модел като отново коефициентът на корелация е най-висок при модел Крива на реакцията (R^2 0,970). Също така аналогично на предходния случай стойностите за лаг-фазата и при трите модела са отрицателни, което може да се отдаде разбира се на същите причини. Скоростта на продуциране на биогаз беше сравнително по-ниска, като варираше между 0,7 и 1,4 мл/ч. Този факт се потвърждава и от експериментално отчетените данни.

6.4. Картофени обелки

Логично, като първа стъпка от този по-комплексен анализ с помощта на оптимизираната процедура, беше определен потенциалът на картофените обелки. Началните условия на процеса бяха аналогични, както при определяне на БМП на ябълкова пулпа. В лабораторната реакторна система бяха вложени отново 10 гр от предварително добре хомогенизираната суровина с органично съдържание 133.6 гЛТВ/кг. Процесът беше наблюдаван отново до пълно затихване на продукцията на биогаз, като общата продължителност достигна 682 часа. На фиг. 13 е показана кинетиката на продуциране на биогаз от картофени обелки.



Фиг. 13. Кинетика на продуциране на биогаз при биометанизация на КО

В хода на процеса максималното количество продуциран биогаз достигна 442 мл. По този начин изчисленият (по описания в раздел *Материали и методи* начин) биохимичен метанов потенциал беше 0.33 лСН₄/гЛТВ.

Описанието на резултатите чрез математически модели беше аналогично на представеното за предходните експерименти. Трите модела са доста аналогични на ситуацията с предишните два субстрата. Макар и наблюдавано общо по-слабо съответствие

на моделните криви с експерименталните данни в сравнение с това, наблюдавано при ЦХ и ябълковата пулпа, коефициентът при най-добре описващия процеса модел отново надвишаваше 0,95. Отново бяха наблюдавани отрицателни стойности за лаг-фазата, който феномен беше дискотиран при изследването на предходните два субстрата. Определеният теоретичен максимален добив на биогаз във всички случаи надвишаваше експериментално получения (442 мл) като варираше между 444 и 479 мл. Скоростта на продуциране по време на анализирания процес на биометанизация на картофени обелки варираше между 0,7 и 1,4 мл/ч като на практика не се различаваше от резултатите, получени при изследване на ябълковата пулпа. Предвид на данните, получени от нашето изследване, които са напълно сравними с резултатите, цитирани в различни доклади, може да се заключи, че директната биометанизация на изследвания субстрат би могла да представлява съществен източник за подобряване на енергийната ефективност на цялото производство (470 м³ биометан/тон отпадък). При това, разбира се, следва да се отчете възможността този потенциал да бъде повишен с помощта на различни модификации на субстрата, позволяващи генерирането и на други продукти.

7. Изследване на възможностите за повишаване на енергийния потенциал на вторични биомаси с помощта на различни видове предобработка

Както вече беше аргументирано, като моделен субстрат за изследване ефекта от различен тип модификация на суровината с помощта на различни видове предобработка върху повишаването на нейния енергиен потенциал, бяха избрани картофените обелки. Освен аргумента, че са достатъчно добре охарактеризирани като субстрат в литературата, допълнителното им преимущество се състоеше във факта, че сравнително добре са изследвани различни процеси за получаване на конкретни биопродукти от тях (оцетна киселина, млечна киселина, етанол и други).

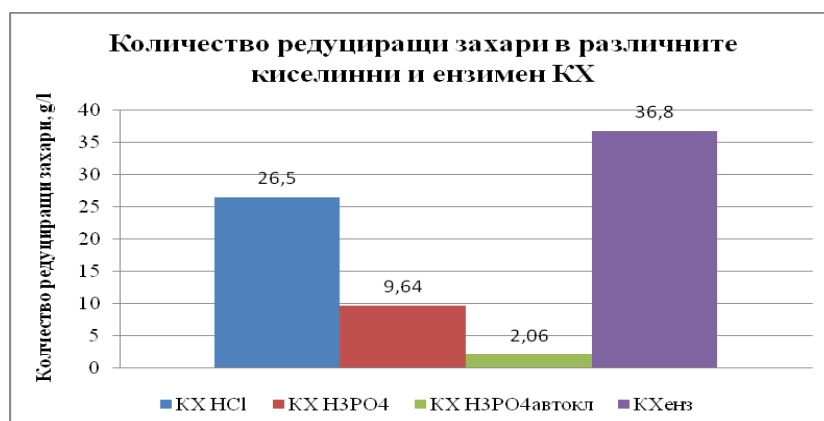
Беше изследвано влиянието на киселинна хидролиза с помощта на различни агенти (киселини) и различни температурни режими на процеса, като условията са подробно описани в раздел *Материали и методи*.

За един от процесите беше избрана солна киселина предвид на нейното широко приложение в серия аналогични изследвания и обещаващите резултати, които се постигат при съчетаването на киселинната с високотемпературна обработка (автоклавирание в този случай). При първия процес при съответно описаните по-рано условия картофените обелки бяха подложени на хидролиза с 0,5М HCl, при налягане 1 атмосфера и температура 121 °C за 15 минути.

Като държахме сметка за необходимостта да се избягва високо съдържание, както на сулфатни, така и в по-малка степен на хлоридни йони и едновременно с това желаяйки да повишим буферната стабилност на средата, както и допълнително да я балансираме по отношение на съдържанието на фосфор, за другите два експеримента, свързани с изследване влиянието на киселинната хидролиза върху състава и характеристиките на изследвания субстрат, беше избрана обработката с фосфорна киселина. В първия случай беше проведена хидролиза на картофените обелки с 1 % H_3PO_4 при условия, идентични с тези при солно-киселата хидролиза. С цел да установим възможностите за модифициране на субстрата при атмосферно налягане и понижена температура (което би опростило и апаратурното оформление на процеса), беше изследвана кинетиката на образуване на редуциращи захари при киселинна хидролиза с 1 % H_3PO_4 при нагряване до температура 100 °C. Процесът на хидролиза беше провеждан до постоянно количество редуциращи захари в средата, като продължителността беше 5 часа.

Последната модификация на субстрата, целяща повишаване на ферментируемите захари, представляваше ензимна хидролиза на нишестето в картофените обелки с помощта на подходящ амилолитичен комплекс, както е описано в раздел *Материали и методи*. Въпреки, че при повечето описани в литературата проучвания изследователите предпочитат да използват за ензимно третиране на картофените обелки с целулазни хидролитични комплекси, нашият избор беше обусловен от факта, че съдържанието на нишесте, дори съгласно литературните данни, е доста по-значително от целулозата и хемицелулозата, като достига в някои случаи до 90 % от общите въглехидрати.

Обобщените резултати от четирите типа предварителна обработка на моделния субстрат са представени на фиг. 14.



Фиг. 14. Сравнителна графика между съдържанието на редуциращи захари в КХ

Както се вижда от графиката, количеството редуциращи захари е успешно повишено при всички хидролизати. Въпреки усилията да бъдат постигнати при едни или

други условия на хидролиза с H_3PO_4 резултати, съпоставими с тези постигнати при солно-киселата хидролиза, и в двата случая бяха установени значително по-ниски стойности на съдържанието на редуциращи захари в крайния модифициран продукт. Поради тази причина беше преценено, че въпреки дискутираните по-горе преимущества при използването на фосфорна киселина като хидролизиращ агент, от икономическа гледна точка реализацията на този процес би била трудно оправдаема. Доколкото при едни и същи енергийни вложения (в случая с автоклавиране) количеството на новообразуваните в средата захари при солно-киселата хидролиза надвишава около 13 пъти това, получено от хидролизата с фосфорна киселина. А подобряването на това съотношение до 2,8:1 е свързано със значителен разход на енергия (нагряване до 100 °C за 5 часа).

Кинетичните изследвания върху процеса на ензимна хидролиза на картофени обелки, показаха че количеството на редуциращите захари нараства най-много до 90 минута, като самият процес продължи 120 минути. Както личи от фиг. 14, в този случай на обработка на изследваната от нас вторична биомаса беше постигнато най-сериозно повишаване на редуциращите захари в средата като тяхната стойност достигна 36,8 г/л. Тези резултати бяха потвърдени и от допълнителните хроматографски изследвания на състава на солно-киселия и ензимния хидролизат. В крайна сметка въз основа на тези предварителни резултати за по-нататъшно изследване бяха подбрани въпросните два хидролизата.

С цел да се определи по-детайлно промяната в захарния състав на субстрата постигната с помощта на солно-кисела и ензимна хидролиза, с помощта на HPLC беше определено съдържанието на моно- и дизахариди в двата продукта KX_{HCl} и $KX_{енз}$. Резултатите от този анализ са представени в табл. 8.

Табл. 8. Захарен състав на хидролизатите от картофени обелки

Параметър	KX_{HCl}	$KX_{енз}$
D(+) глюкоза, г/л	12.081	23.644
D- целобиоза, г/л	3.943	0.156
D(+) ксилоза, г/л	1.308	1.364
D(+) маноза, г/л	0.392	0.01
D(+) галактоза, г/л	-	-
L(+) арабиноза, г/л	-	-
Общи захари, г/л	17.724	25.174

В изследваните хидролизати не е установено наличие на фурфурал, галактоза и арабиноза. От резултатите, показани в табл. 8, се вижда, че съдържанието на ферментируеми захари е високо, като най-високо е това на глюкозата (съответно 12.081

г/л и 23.644 г/л). Общите захари са 17.724 г/л за киселинния и 25.174 г/л за ензимния хидролизат. Резултатите кореспондират с литературни данни, при които при киселинна хидролиза със HCl общите захари са 19.37 г/л, от които 18.15 г/л са ферментируеми, а при ензимна хидролиза в комбинация с целулазни ензими са достигнали 18.48 г/л [71]. Въпреки че резултатите доказват ефективността на двата типа предобработки за повишаването на ферментируемите захари и съответно подобряването на общия енергиен потенциал на субстрата, както и разширяването спектъра на получавани от суровината потенциални биорафинерийни продукти, може да отбележим и някои различия между двата типа модификации. Така например приблизително двукратно по-високото съдържание на глюкоза предполага по-добър потенциал за продуциране на биоетанол от ензимния картофен хидролизат в сравнение с киселинния. От друга страна заслужава да се отбележи, че разграждането на целулозния и хемицелулозния компоненти на отпадъка логично е протекло значително по-добре в случая на киселинната хидролиза, както личи от съдържанието на целобиозата (3.943 г/л за KX_{HCl} и 0.156 г/л за $KX_{енз}$) и маноза (съответно 0.392 г/л за KX_{HCl} и 0.01 г/л за $KX_{енз}$).

Вследствие на увеличеното съдържание на ферментируеми захари в получените хидролизати от картофени обелки, беше решено в по-нататъшните изследвания да бъде проучен пълният им биоенергиен потенциал за получаване на биогорива като биоетанол или биометан (както и комбинация от двете).

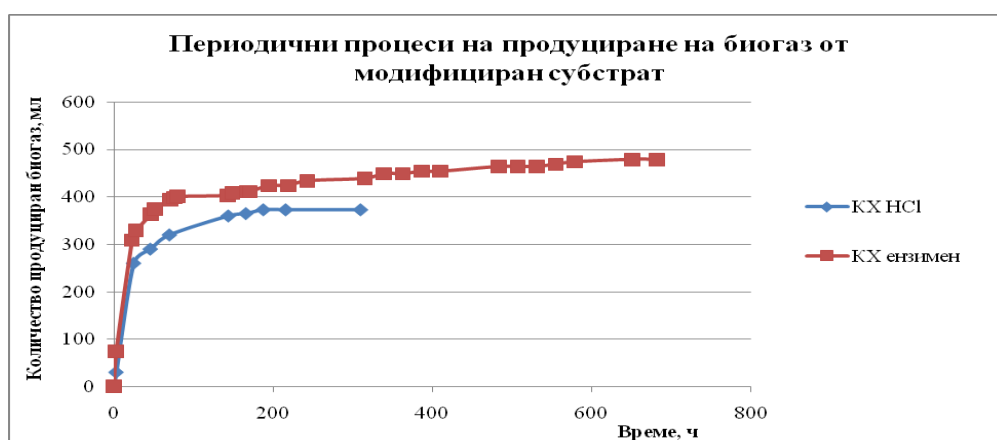
8. Определяне БМП на модифицирани субстрати

Изследването на ефекта от различните типове предобработка на субстрата върху повишаването на общия му енергиен потенциал се състоеше от два отделни етапа. От една страна беше изследвано повишаването на БМП на модифицираната суровина в сравнение с изходната, а от друга страна бяха изследвани възможностите за комбинирано продуциране на течно и газообразно биогориво под формата съответно на биоетанол и биометан. Във втория случай допълнително беше оценена и възможността за разширяване на спектъра от биорафинерийни продукти, получавани на базата на изследваната вторична биомаса в следствие на нейната предварителна модификация, доколкото продуцирането на етанол може да се използва като индиректен критерий изобщо за възможността да бъдат получавани различни ферментационни продукти (оцетна, млечна киселина и др.).

За определяне на БМП беше необходимо предварително да се определи органичното съдържание на двата хидролизата. Това съдържание първоначално беше определено с помощта на измерване на химическа потребност на кислород, при което бяха получени съответно 35.7 за киселинния и 32.7 гO₂/л за ензимния хидролизат. Предвид

суспензионния характер на двата разтвора, бяха получени занижени с известна степен стойности. Във връзка с това, както и за по-обективно сравнение с нетретираните картофени обелки, приехме, че е по-коректно общото органично съдържание на двата модифицирани субстрата да бъде представено с помощта на количество летливи твърди вещества (ЛТВ). Определените посредством този анализ параметри на двата изследвани продукта бяха съответно 43.07 мгЛТВ/мл за ензимния и 45.7 мгЛТВ/мл за киселинния.

Биохимичният метанов потенциал на модифицирания посредством двете предобработки субстрат беше определен съгласно оптимизираната при предишните изследвания процедура, при което бяха сравнени резултатите от три отделни периодични процеса на биометанизация. Кинетиката на процесите е показана на фиг. 15.



Фиг. 15. Кинетика на продуциране на биогаз от предварително преработени картофени обелки

Сравнението на процесите на биометанизация на киселинно и ензимно модифицирания субстрат (фиг. 15), с тези, получени от нетретираните обелки (фиг. 13), на първо място демонстрира ролята на хидролизата като тип предобработка за същественото ускоряване на анаеробния процес, което по принцип има изключително значение за технологичните характеристики на евентуална промишлена система за генериране на енергия под формата на биометан. От данните, описващи и трите процеса, може лесно да се види, че скоростта на протичане на двата процеса, използващи модифицираните форми на субстрата, е доста по-висока като биометанизацията на киселинния хидролизат е приключила на 100 % до 195 час. При ензимния хидролизат за същото време е достигната над 88 % степен на конверсия, което в случая на реален индустриален процес може да се приеме като практически край, докато при нативните картофени обелки степента на конверсия е достигнала едва 56 %, след който момент тя нараства почти линейно до 651 час.

Както е добре известно, от скоростта на конверсия на субстрата пряко зависи необходимият му времепрестой в реакторната система, което от своя страна дефинира работните обеми на използваните апарати и пряко определя цената на цялата технологична система. Подобен ефект на рязко увеличение на скоростта на биотрансформацията е очевидно се дължи на сполучливото елиминиране вследствие на предобработка от процеса на биометанизация на комплексна органична материя, а именно нейната хидролиза. Както е добре известно в литературата, този етап в почти всички случаи играе лимитираща роля по отношение продължителността на целия процес, т.е. е скоростоопределящ, като често не протича до край едновременно лимитирайки и степента на конверсия.

С цел да бъде количествено оценено влиянието на двата типа предобработка върху повишаването на енергийния потенциал на суровината, бяха определени и изчислени, според описаната в раздел *Материали и методи* процедура, стойностите на БМП за двата изследвани хидролизата като последните бяха сравнени с тази, получена за нативните картофени обелки, с помощта на фиг. 16. Съгласно представените резултати можем да заключим, че и двата типа предобработка водят до повишаване на биохимичния метанов потенциал. Това повишение е особено забележимо при ензимната хидролиза, в който случай се наблюдава 67 %-тно увеличение на количеството метан, получавано при трансформацията на единица материя. Аналогично повишение, макар и само с 24 %, се наблюдава при солно-киселата. Подобни резултати недвусмислено доказват, че хидролизата на биополимерите (в случая дори на нишестето) протича само до определена степен единствено със средствата на метаногенния консорциум. Повишението на БМП в крайна сметка добре съответства на резултатите за химичния състав на двата модифицирани субстрата, получени по-рано (табл. 8 и фиг. 14).

Както и при предишните изследвания, беше проверена възможността експерименталните резултати, получени при метанизацията на двата субстрата, да бъдат описани с помощта на използваните и при предишните случаи три математични модела.

От резултатите от тези изследвания може да заключим, че и при трите модела се наблюдава една макар и не особено изразена до незначителна лаг-фаза. Коефициентите на корелация са сравнително по-добри от тези, получени при необработените обелки. Отново моделът Крива на реакцията е с най-високи стойности на R^2 и описват най-точно процесите. Максималният теоретичен добив достатъчно добре съвпада с експериментално определения при киселинния хидролизат (373 мл) като варираше между 352 и 365 мл и на практика беше незначително по-нисък от него. Максималният теоретичен добив варираше

между 434 и 441 мл при ензимния хидролизат, като скоростта на продуциране беше между 11 и 18,1 мл/ч.



Фиг. 16. Сравнителна графика между БМП на нетретирани картофени обелки и модифицирани чрез киселина и ензими хидролизати

9. Продуциране на биоетанол от нативен и модифициран субстрат

Както беше отбелязано по-рано, другата цел на модификацията на изследвания субстрат беше да бъде разширен спектъра от възможни биорафинерийни продукти (както биогорива, така и биохимикали), получавани на базата на тази суровина. За тази цел следващият етап от изследването включваше проверка на възможностите за генериране на биоетанол, както от двата модифицирани субстрата, така и от необработения, при което алкохолната ферментация служеше като общ индиректен критерий за повишаването „ферментируемостта” на субстрата вследствие на различни предобработки. Доколкото биоетанолът макар и по-специфичен като субстратни изисквания от биометана, от своя страна притежава всички преимущества на течното пред газообразното гориво, той можеше да бъде използван за целите на конкретната оценка на общия енергиен потенциал на суровината, включващ комбинираното ѝ третиране в хода на серия биотехнологични процеси.

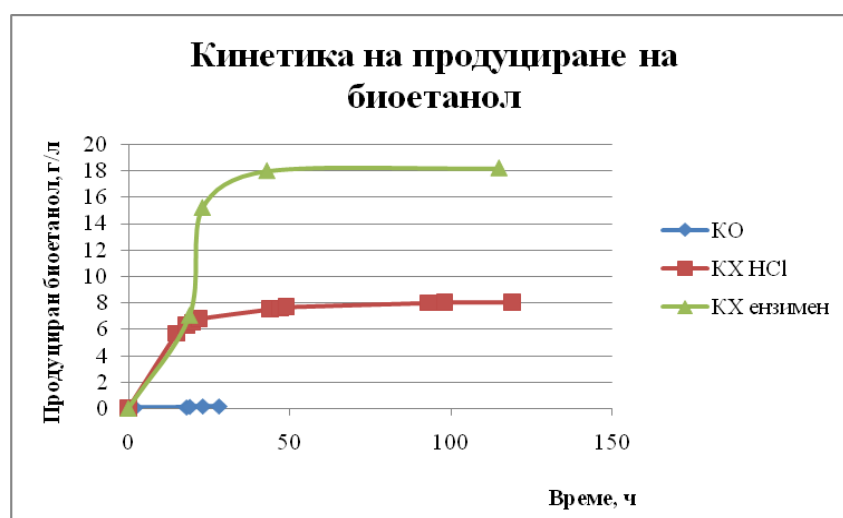
Нетретираните КО и тези, обработените в процесите на киселинна и ензимна хидролиза (KX_{HCl} и $KX_{енз}$), бяха подложени на ферментация с дрожди *Saccharomyces cerevisiae* при анаеробни условия (pH 7.0, 28 °C) в 250 мл ерленмайерова колба с ферментационен капан. Процесът на алкохолна ферментация във всички случаи беше проследяван до неговото затихване. Получените вследствие на ферментацията продукти, бяха означени съответно като $KX_{HCl-\phi}$ и $KX_{енз-\phi}$ (където ϕ отбелязваше протеклата ферментация). По-детайлно процедурата е описана в раздел *Материали и методи*.

На фиг. 17 е представено сравнение на кинетиката на трите процеса, използващи като субстрати съответно нативни и хидролитично модифицирани картофени обеки.

Ефективността на процеса на алкохолна ферментация, определяна посредством степента на трансформация на ферментируемите захари, също така беше количествено оценена. За целта беше анализирано остатъчното захарно съдържание в средата след приключване на ферментационния процес. Резултатите за трите процеса са представени в табл. 9.

Табл. 9. Остатъчно захарно съдържание в КО и КХ след алкохолната ферментация

Параметър	КО	КХ _{HCl}	КХ _{енз}
D(+) глюкоза, г/л	0.027	0.023	0.069
D- целобиоза, г/л	0.041	0.124	0.178
D(+) ксилоза, г/л	-	-	-
D(+) маноза, г/л	0.035	0.017	0.025
Общи захари, г/л	0.103	0.164	0.272



Фиг. 17. Сравнителна графика между кинетиките на продуциране на биоетанол от КО и два от КХ с най-високо захарно съдържание

Както може лесно да се установи от данните в табл. 8, описваща началното захарно съдържание на двата хидролизата, и табл. 9, в процеса на алкохолна ферментация глюкозата, съдържаща се, както в киселинния (намаление от 12.081 до 0.023 г/л), така и в ензимния хидролизат (от 23.644 до 0.069 г/л), е почти изцяло трансформирана. Дори степента на конверсия на общите захари достига 99 %. По този начин безспорно е установено, че предложените типове предобработка не водят до формирането на инхибиращи компоненти в средата и по никакъв начин не повлияват отрицателно върху „ферментируемостта” на модифицираните субстрати. Очевидно почти пълната липса на ферментируеми моно- и дизахариди в случая с нативните картофени обелки (табл. 4) не позволява формиране на значително количество етанол в средата.

Кинетиката на продуциране на биоетанол, демонстрирана на фиг. 17, илюстрира факта, че както при киселинния, така и при ензимния хидролизати, ферментационният

процес приключва почти изцяло в рамките на първите 48-50 часа. Постигнатите максимални добиви добре корелират с тяхното глюкозно съдържание. Съответно стойностите за KO , KX_{HCl} и $KX_{енз}$, изчислени според описания в раздел *Материали и методи* начин, са 0.179, 8.04 и 18.19 г/л (като преизчислени в г/ЛТВ са 0.003, 0.18, 0.42). От резултатите може да се направи заключение, че ензимната предобработка дава възможност за оптимално генериране и оползотворяване на ферментируеми захари.

По този начин бихме могли да заключим, че доколкото по отношение на биометанизацията киселинната хидролиза позволява максимално съкращаване на последващия анаеробен процес, т.к. очевидно е свързан с по-пълната хидролиза на присъстващите в субстрата целулозен и хемицелулозен компоненти, то ензимната хидролиза от своя страна подобрява в по-голяма степен ферментируемостта на модифицирания субстрат и позволява получаването на по-високи добиви от допълнителни продукти като течни биогорива (например етанол) или биорафинерийни химикали.

10. Изследване на пълния енергиен потенциал на моделния субстрат

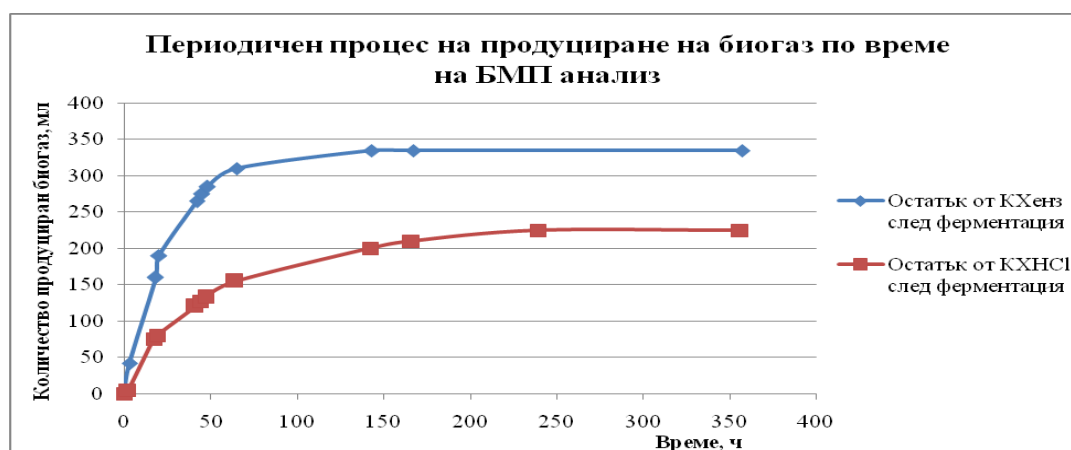
Както беше посочено още в литературния обзор, икономическата ефективност на една енергийна биорафинерия зависи по критичен начин от комплексното оползотворяване на суровинната база с помощта на подходящо съчетание от взаимно допълващи се биотехнологични процеси. Доколкото в практиката, както и в значителен дял от проучената литература, обикновено се предлагат едностъпални процеси на трансформация дори на сравнително по-широко изследвани суровини като картофените обелки (или само в метан, или в етанол), може да се заключи, че не съществуват комплексни оценки за пълния енергиен потенциал на изследваните суровини.

Във връзка с това нашият стремеж към възможно обективно оценяване на пълния потенциал на суровина логично ни насочи към изследване на ефекта от комбинирането на етанолната ферментация с генериране на биогаз в последващ анаеробен процес. Подобно съчетание освен, че можеше да се окаже енергийно по-изгодно – в смисъл, че сумарната енергийна плътност на двете получени в комбиниран процес горива, би могла да надвишава тази, получена за всяко индивидуално третиране, то във всички случаи ще доведе и до разнообразяване спектъра и съответно възможностите за използване на генерираните биопродукти.

С цел да дефинираме пълния потенциал на модифицираните моделни субстрати, остатъкът, получен след отдестилиране на етанола от средата, беше охарактеризиран като съдържание на ЛТВ и подложен на последваща биометанизация. В този случай оценката на общия енергиен потенциал беше осъществена посредством сумиране на енергийната

плътност на двете, последователно получени биогорива с тази на генерираните при съответните индивидуални процеси енергийни носители. Доколкото в случая на нетретирания субстрат не беше наблюдаван никакъв значим резултат от подлагането им на алкохолна ферментация, тяхното третиране в подобен комбиниран процес беше прието за безмислено.

На фиг. 18 е сравнена кинетиката на продуциране на биогаз от обезалкохолените остатъци, получени след отдестилиране на алкохола, присъстващ в хидролизните ферментационни продукти $KX_{HCl-ф}$ и $KX_{енз-ф}$.



Фиг. 18. Сравнителна графика на продуциране на биогаз от обезалкохолените остатъци $KX_{HCl-ф}$ и $KX_{енз-ф}$

Биогазификацията (метанизация) и на двата остатъка беше осъществена след довеждането им до първоначалните обеми, измерени преди дестилирането на етиловия алкохол. Това беше направено с цел да се облекчи изчислението на общия енергиен потенциал на изследваните модифицирани субстрати (KX_{HCl} и $KX_{енз}$). Органичното съдържание на обезалкохолените ферментационни продукти отново беше определено като ЛТВ, като наблюдаваните стойности бяха съответно 16.85 мгЛТВ/мл за $KX_{енз-ф}$ и 18.14 мгЛТВ/мл за $KX_{HCl-ф}$. Предвид на тези по-ниски стойности, с цел да се запази съотношението субстрат/инокулат в границите, използвани при предишните експерименти, в случая на биометанизация бяха подложени два пъти по-високи обеми от обезалкохолените ферментационни продукти в сравнение с тези, използвани при изследването на самите хидролизати.

Експериментално получените максимални добиви, както може да се види от фиг. 53, бяха 225 и 335 мл. Съответно изчисленият БМП на двата продукта беше 0,31 л CH_4 /гЛТВ за киселинния и 0,50 л CH_4 /гЛТВ за ензимния. Общо взето намаляването на биохимичния метанов потенциал, наблюдаван и при двата остатъка, очевидно се дължи на изчерпването на лесно-ферментируемата компонента (захари) на субстрата в процеса на

предходната алкохолна ферментация при съхранение на по-трудно разградимата и дори инертна част от нея.

Експерименталните данни бяха анализирани с помощта на трите, използвани дотук, математични модели. Беше установено, че поведението на кинетичните криви, описващи процесите на продукция на биогаз от двата обезалкохолени ферментационни продукта, е аналогично на наблюдаваното при биометанизацията на получените при предобработката хидролизати. Отново коефициентът на корелация е най-добър при модел Крива на реакцията, следван от модел на Гомперц и Логистичния модел. Наблюдаваният R^2 във всички случаи надвишава 0,95. По същия начин не се забелязва лаг-фаза в изследваните процеси, като теоретичният максимален добив за ензимния процес варира между 324 и 339 мл, а за киселинния – от 214 до 221 мл.

Като заключителен етап от изследването на влиянието на двата типа предобработка върху повишаването на енергийния потенциал на разглеждания моделен субстрат (картофени обелки), беше изчислена сумарната енергийна плътност на енергоносителите, получавани в хода на индивидуална биотехнологична трансформация (биометанизация) на немодифицираните и модифицирани субстрати и тази, получавана в хода на комбинираната (алкохолна и метанова) трансформация. При изчисляването на съответните стойности бяха използвани данните за специфичната енергия (енергийната плътност) на етанол и метан, цитирани в Engineering ToolBox [Fuels - Higher and Lower Calorific Values].

Въпреки комплексността и дори в някои случаи противоречивостта на методиките, използвани за изчисление на НЕБ, при различни биотехнологични процеси, свързани с генериране на биогорива, съществува единодушие по въпроса, че използването на енергийната плътност на продукта (количеството енергия, което може да бъде екстрахирано от единица обем или маса от изследваното гориво) е добър начин да бъде дефинирана енергийната ефективност на даден процес. Беше прието, че анализа на енергийна плътност е логично да се отнесе към единица органично съдържание на изследваните субстрати. По този начин всички стойности, изразени като кДж/гЛТВ, могат да бъдат коректно сравнявани и позволяват оценка на ефекта от различните модификации.

Както личи от данните в табл. 10, при генерирането на биометан (индивидуална трансформация) директно от нативните картофени обелки или двата вида нетретирани хидролизати, различните процеси на хидролиза влияят директно на повишаването на енергийната плътност и съответно енергийния потенциал на модифицираните субстрати в сравнение с немодифицираните. При това е очевидно, че ензимната хидролиза най-

сполучливо реализира целта за увеличаване на енергийния потенциал като изчислената енергийната плътност надвишаваше 67 %. Резултатите от представените във втората колона на таблицата изследвания доказват съществено значение на предварителната хидролиза не само на минорните хемицелулозен и целулозен компоненти, а също така и на присъстващия в големи количества нишестен компонент. Като имаме предвид резултатите от ензимната и киселинната хидролиза, спокойно може да заключим, че повишаването на енергийния потенциал пряко е свързан със степента на хидролиза на изходния продукт.

Табл. 10. Сумарна енергийна плътност на немодифицирани и модифицирани КО

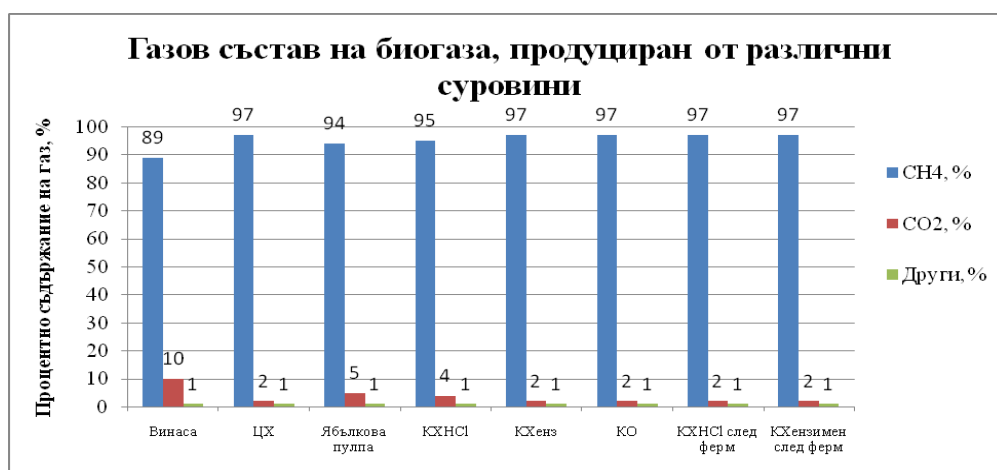
Субстрат	Енергийна плътност при индивидуална трансформация	Енергийна плътност при комбинирана трансформация
Картофени обелки	11,99 кДж/гЛТВ	-
Ензимен хидролизат от КО	19,98 кДж/гЛТВ	26,67 кДж/гЛТВ
Солно-кисел хидролизат от КО	14,93 кДж/гЛТВ	14,17 кДж/гЛТВ

Анализът на ефекта от комбинираните процеси на биотехнологична преработка на модифицираните субстрати ни позволи да заключим, че киселинната хидролиза, която макар и по-широка като спектър е значително ограничена като степен на хидролиза, позволява най-вече разнообразяване спектъра на получаваните енергоносители. Основното ѝ предимство се основава на възможността освен биогаз да бъдат получени и други биорафинерийни продукти с енергийно или друго предназначение. Както личи от стойностите за солно-киселия хидролизат, енергийната плътност при индивидуално и комбинирано третиране почти не се променя. В същото време прилагане на комбинирана трансформация в случая на ензимния хидролизат позволява както разширяване спектъра на получаваните продукти, така и повишаване на общия енергиен потенциал с още 57 %, при което сумарният енергиен потенциал надвишава повече от 2,2 пъти този на изходната суровина. Това вероятно се дължи на факта, че високото количество на монозахари, по-специално на глюкозата, постигнати при ензимното третиране, от енергийна гледна точка се трансформират по-ефективно в етанол вследствие на „едностъпална“ алкохолна ферментация, отколкото в метан (получаван вследствие на „многостъпален“ последователен процес на ферментация, ацетификация и метанизация).

11. Определяне състава на получените биогазове

За да бъде изчислен коректно БМП, беше необходимо освен общият обем на биогаз, да бъде дефиниран и неговият състав, по-специално съдържанието на метан в

него. Допълнително за качествата на биогаза от съществено значение е присъствието на примеси, които могат да окажат неблагоприятно влияние върху апаратурата, използвана за трансформирането му в топлинна, електрическа или механична енергия и по-специално съдържанието на H_2S . Наличието на този газ във всеки друг случай, освен директното изгаряне на биогаза в пещи, предполага първоначалното му третиране, целящо отстраняването на сяроводорода. За определянето на този състав бяха използвани два подхода. Единият предполагаше, описаният в литературата „абсорбционен метод”, а за потвърждаване на така получените резултати, както и за проверка на биогаза за наличие на съпътстващи газове като H_2S и CO беше използван измервателен уред. И двете процедури са по-детайлно описани в раздел *Материали и методи*. В целия период на изследването съставът на получените биогазове беше определян непрекъснато, като резултатите от тези анализи са обобщени на фиг. 19.



Фиг. 19. Разпределение на газовия състав в продуцирания от различни източници биогаз

Демонстрираното на фигурата високо съдържание на метан, характерно за всички типове получен биогаз се дължеше на факта, че продуцираният в процеса на биометанизация CO_2 , в голяма степен беше абсорбиран във водния разтвор, използван в избраната от нас измервателно газхолдерно устройство.

Инструменталният анализ позволи да установим, че на практика в състава на биогаза отсъстваха детектируеми количества H_2S и CO . Това от своя страна ни позволява да твърдим, че генерираният във всички експерименти биогаз е с достатъчно високо качество и би могъл да се използва без допълнителна обработка или единствено след сушене във всички системи за генериране на енергия.

IV. Основни изводи на дисертационния труд

Въз основа на резултатите от цялостното изследване могат да бъдат направени следните изводи:

1) При охарактеризирането на четири типа индустриални органични отпадъци е установено сравнително високо органично съдържание (съответно 216 г ХПК/л_{винаса}, 28.8 гХПК/л_{ЦХ}, 89 гЛТВ/г_{ябълкова пулпа}, 133.6 гЛТВ/г_{КО}) и балансиран състав при всички;

2) Сравнени са характеристиките на три различни смесени метаногенни консорциума, получени от работещи анаеробни реактори (*култура 2*, *култура 3*) и дънна утайка (*култура 1*), като е установена най-висока метаногенна активност при *култура 2* – 0.782 л/гХПК. С помощта на микроскопски изследвания е показана специфична колонизация на носителя при този консорциум, обясняваща повишената му устойчивост спрямо неблагоприятни фактори на околната среда;

3) Установено е оптимално съотношение субстрат/метаногенен консорциум (0.54 гХПК/гЛТВ_{инокулат}), както и съществено влияние на микроелементния състав върху резултатите от процедурата за определяне на БМП. Получени са доказателства за температурната адаптация на смесената метаногенна култура, при което се наблюдават два температурни оптимума – мезофилен (35 °C) и термофилен (50 °C);

4) С помощта на оптимизирана процедура е определен реалният БМП на четири вторични биомаси (съответно 0.36 лСН₄/гХПК_{винаса}, 0.57 лСН₄/гХПК_{ЦХ}, 0.30 лСН₄/гЛТВ_{ябълкова пулпа}, 0.33 лСН₄/гЛТВ_{КО}), при което са установени достатъчно високи стойности, позволяващи всяка от тях да бъде дефинирана като подходяща суровинна база на система за генериране на биоенергия;

5) Показано е, че два типа предобработки, киселинна хидролиза в условията на висока температура и налягане (121 °C и 1 атмосфера) и третиране субстрата с амилазен комплекс при повишена температура, са най-ефективни при модификацията на моделния субстрат – картофени обелки по отношение повишаване съдържанието на моно- и дизахариди, главно глюкоза (12.081 г/л за киселинния хидролизат и 23.644 г/л за ензимния);

6) Показано е повишаването на БМП на картофените обелки в резултат на тяхната ензимна и киселинна модификация, съответно със 67 % и 24 % спрямо този на изходния субстрат;

7) Демонстрирано е разширяване на спектъра на генерираните биогорива вследствие на двете модификации на изходната суровина, при което е установена по-висока

ефективност на ензимната предобработка, при която добивът на етанол достига 0.42 г/гЛТВ срещу 0.18 г/гЛТВ за киселинната;

8) Посредством комбинирани биотехнологични процеси е установено повече от двукратно повишаване на пълния енергиен потенциал при ензимно-модифицирания субстрат (26,67 кДж/гЛТВ);

9) Анализите на състава на генерираните биогазове показаха високо съдържание на метан, достигащо до 97 % в условията на газосъбиране и отсъствие на понижаващи качеството примеси като H_2S и CO , което ги превръща в подходящ заместител на природния газ.

V. Приноси на дисертационния труд

1. Предложен е подход за оптимизиране и обективизация на процедура за определяне на БМП на вторични биомаси от различен произход;
2. Определени са основни характеристики и БМП на слабо изследван субстрат като отпадащата при производството на ябълков оцет ябълкова пулпа, при което е установен значителният му потенциал за оползотворяване като евентуална суровина за биоенергийна система;
3. Предложен е подход за определяне на пълния енергиен потенциал на вторични биомаси и по-специално на нишесте-съдържащи отпадъци;
4. Определен е пълният енергиен потенциал на значителен отпадък като картофените обелки, което позволява по-адекватната икономическа оценка на различни подходи за оползотворяването му;
5. Изследвана е адекватността на различни кинетични модели при описанието на процесите на продуциране на биогаз, като в огромното болшинство от случаите се наблюдава много висока степен на корелация на моделните криви с експерименталните данни, което показва че подобни модели могат да се използват за определяне на теоретичния максимален добив на биогаз. Въпреки това някои техни недостатъци предполагат възможността за изследване адекватността и на някои динамични модели.

Списък на научните публикации по дисертационния труд

1. **Velichkova P. G.**, Ivanov T. V., Lalov I. G. (2017) A study of the energy potential of vinasse, *Bulgarian Chemical Communications*, Volume 49, Special Issue L, 74-78 (IF=0.229).
2. Yavorov N., Petrin S., **Velichkova P.**, Todorova D., Valchev I., Lalov I. (2017) Effect of parameters of mild acid hardwood pulp hydrolysis on the released wastewater sugars and methane production potential, *Proceeding of 13th International Conference on Polysaccharides-Glycoscience, Prague*, 311-314;
3. Лалов И. Г., Камбуров М. Н., Иванов Т. В., **Величкова П. Г.** (2015) Метод за оценка на биохимичния метанов потенциал на органични субстрати, *Научни трудове на университет по хранителни технологии – Пловдив*, ТОМ LXII, 540-545.

Списък на устните доклади по дисертационния труд, изнесени на национални и международни конференции

1. **Polina Velichkova**, Shaaban Omar, Todor Ivanov, Ivo Lalov, Bioenergy potential of potato peels hydrolysates, 65-та международна научна конференция „Хранителна наука, техника и технологии- 2018”, 11-13.10.2018 г., УХТ- Пловдив;
2. **P. G. Velichkova**, T. V. Ivanov, I. G. Lalov, A study of the energy potential of vinasse, Девета национална конференция по химия „Наука и технология за по-добър живот“, 29.09-01.10.2016 г., Факултет по химия и фармация, СУ.

Списък на постерните доклади по дисертационния труд, изнесени на научни конференции и постерни сесии

➤ С международно участие

1. Shaaban Omar, **Polina Velichkova**, Todor Ivanov, Ivo Lalov, Investigation of energy potential of potato peels as a raw material base for biofuels production, Международна научна конференция „Климентови дни” 2018, 8-9.11.2018 г., Биологически факултет, СУ;
2. N. Yavorov, S. Petrin, **P. Velichkova**, D. Todorova, I. Valchev, I. Lalov, Effect of parameters of mild acid hardwood pulp hydrolysis on the released wastewater sugars and methane production potential - постер, 13-та международна конференция за полизахариди- GLYCOSCIENCE, 8-10.11.2017 г., Университет по химия и технологии - Прага, Чехия, публикувана в пълен текст в сборника от конференцията;

3. **Polina G. Velichkova**, Ivo G. Lalov, Ivo V. Valchev, Biomethanization of acid hydrolysates from lignocellulosic materials - постер, 64-та международна научна конференция „Хранителна наука, техника и технологии- 2017”, 20-21.10.2017 г., УХТ- Пловдив;
4. И. Г. Лалов, М. Н. Камбуров, Т. В. Иванов, **П. Г. Величкова**. Метод за оценка на биохимичния метанов потенциал на органични субстрати - постер, 62-ра научна конференция с международно участие „Хранителна наука, техника и технологии 2015”, 23-24.10.2015 г., УХТ- Пловдив, *публикувана в пълен текст в сборника от конференцията.*

➤ **Други**

1. **Polina Velichkova**, Shaaban Omar, Ivo Lalov, Todor Ivanov, Waste biomass as a raw material base for energy bio-refinery platforms - постер, XV постерна сесия за млади учени, докторанти и студенти, 23.05.2018 г., ХТМУ- София; отличен с грамота и награда за първо място и отлично представяне от Студентски съвет;
2. **П. Величкова**, И. Лалов, И. Вълчев, Изследване енергийния потенциал на киселинни хидролизати на лигноцелулозни материали - постер, XIV постерна сесия за млади учени, докторанти и студенти, 19.05.2017 г., ХТМУ- София;
3. **П. Величкова**, И. Лалов, Оптимизация на процеса на биометанизация на винаса - постер, XIII постерна сесия за млади учени, докторанти и студенти, 20.05.2016 г., ХТМУ- София; отличен с грамота и награда за отлично представяне;
4. **Polina Velichkova**, Ivo Lalov, Study of the energy potential of vinasse - постер, 2-ра национална конференция за млади учени „Биологически науки за по-добро бъдеще”, 30-31.10.2015 г., ПУ- Пловдив;
5. **П. Величкова**, И. Лалов, Д. Маринкова, Изследване на енергийния потенциал на различни органични отпадъци - постер, XII постерна сесия за млади учени, докторанти и студенти, 22.05.2015 г., ХТМУ- София.