



МИННО-ГЕОЛОЖКИ
УНИВЕРСИТЕТ
„СВ. ИВАН РИЛСКИ“

РОСЕН ИВАНОВ

**БИОСЕНЗОРИ БАЗИРАНИ НА
СЕДИМЕНТНИ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ
ЗА МОНИТОРИНГ НА ВОДИ,
ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ**



СОФИЯ, 2026

РОСЕН ВАЛЕРИЕВ ИВАНОВ

**БИОСЕНЗОРИ БАЗИРАНИ НА
СЕДИМЕНТНИ МИКРОБНИ
ГОРИВНИ КЛЕТКИ
ЗА МОНИТОРИНГ НА ВОДИ,
ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ**

София · 2026

Автор: гл. ас. д-р Росен Валериев Иванов

**БИОСЕНЗОРИ БАЗИРАНИ НА
СЕДИМЕНТНИ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ
ЗА МОНИТОРИНГ НА ВОДИ,
ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ**

Минно-геоложки университет „Св. Иван Рилски“

Българска, първо издание

Рецензенти: проф. д-р Анатолий Ангелов

доц. д-р инж. Силвия Лаврова-Попова

ISBN 978-954-353-510-1 (мека корица)

ISBN 978-954-353-511-8 (pdf)

© Росен Валериев Иванов, 2026

Издателска къща „Св. Иван Рилски“ на

МГУ „Св. Иван Рилски“

София, 2026

СЪДЪРЖАНИЕ

Предговор	7
I. ТЕОРЕТИЧНИ ОСНОВИ НА ОРГАНИЗИРАНЕТО И ПРОВЕЖДАНЕТО НА МОНИТОРИНГ НА ВОДИ	9
1.1 Теоретични основи на екологичния мониторинг	9
1.2 Източници на замърсяване на водите с тежки метали	11
1.3 Мониторинг на тежки метали във води	12
1.4 Предизвикателства и перспективи	12
II. БИО-ЕЛЕКТРОХИМИЧНИ СИСТЕМИ	13
2.1 Принцип на работа и приложение на био- електрохимични системи	14
2.2 Био-електрохимичните системи като инструмент за мониторинг на води	16
III. СЕДИМЕНТНИ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ	21
3.1 Принцип на работа и приложение на седиментни микробни горивни клетки	21
3.2 Биосензори базирани на седиментни микробни горивни клетки	25
IV. ФАКТОРИ ВЛИЯЕЩИ ВЪРХУ ЕФЕКТИВНОСТТА НА СЕДИМЕНТНИТЕ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ	29
4.1 Влияние характеристиките на седимента върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки	31
4.2 Влияние на сепаратора върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки	35

4.3 Влияние материала на електродите върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки	37
4.4 Влияние на микробните процеси в анодната зона върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки	40
4.5 Влияние на засаждането и вида на растителността върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки	48
4.6 Влияние на йонната сила на разтвора върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки	53
V. Мониторинг на води замърсени с тежки метали чрез СМГК-базирани биосензори	58
5.1 Конструирание на лабораторни модели СМГК-базирани биосензори	59
5.2 Детекция на медни йони във води чрез СМГК-базирани биосензори	61
5.3 Чувствителност на СМГК-базирани биосензори към йони на хром, цинк и никел	67
VI. ВЛИЯНИЕ ФАКТОРИТЕ НА СРЕДАТА ВЪРХУ ЧУВСТВИТЕЛНОСТТА НА СМГК-БАЗИРАНИ БИОСЕНЗОРИ	72
6.1 Влияние на температурата върху чувствителността на СМГК-базирани биосензори	75
6.2 Влияние на pH върху чувствителността на СМГК-базирани биосензори	78
6.3 Влияние на тежките метали върху активността на електроактивните микроорганизми	81
VII. ВЛИЯНИЕ НА КОНСТРУКТИВНИТЕ ОСОБЕНОСТИ ВЪРХУ ЧУВСТВИТЕЛНОСТТА НА СМГК-БАЗИРАНИ БИОСЕНЗОРИ	83

VIII. ИНТЕГРИРАНЕ НА СМГК-БАЗИРАНИ БИОСЕНЗОРИ В КОНСТРУИРАНИ ВЛАЖНИ ЗОНИ ЗА ПРЕЧИСТВАНЕ НА ВОДИ ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ	91
8.1 Изграждане на лабораторен модел на конструирана влажна зона с интегрирана седиментна микробна горивна клетка	93
8.2 Комбиниран мониторинг и биоремедияция на води замърсени с тежки метали в конструирани влажни зони с интегрирани седиментни микробни горивни клетки	95
IX. ПРОЕКТИРАНЕ, ИЗГРАЖДАНЕ И АНАЛИЗ НА РАБОТАТА НА ПИЛОТНА ИНСТАЛАЦИЯ НА КОНСТРУИРАНА ВЛАЖНА ЗОНА С ИНТЕГРИРАНИ СЕДИМЕНТНИ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ ЗА МОНИТОРИНГ И БИОРЕМЕДИАЦИЯ НА ВОДИ	102
9.1 Оразмерителни зависимости при проектиране на конструирани влажни зони	103
9.2 Проектиране и изграждане на пилотна инсталация на конструирана влажна зона за пречистване на битови отпадъчни води с интегрирани седиментни микробни горивни клетки	108
9.3 Възможности за мониторинг и пречистване на води замърсени с мед в пилотна инсталация на конструирана влажна зона с интегрирани седиментни микробни горивни клетки	114
X. ПРОТОТИПИ НА СМГК-БАЗИРАНИ БИОСЕНЗОРИ ЗА МОНИТОРИНГ НА ЗАМЪРСЯВАНИЯ НА ВОДИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ	118
10.1 Прототип на СМГК-базиран биосензор за замърсявания на води с тежки метали, с възможност за работа в полеви условия и настолно приложение	119
10.2 Прототип на LED СМГК-базиран биосензор за мониторинг на замърсявания на води с тежки метали, с	123

възможност за директно инсталиране в технологични
схеми

ХІ. ПЕРСПЕКТИВИ И ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВА ПРЕД ПРИЛОЖЕНИЕТО НА СЕДИМЕНТНИ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ КАТО БИОСЕНЗОРИ ЗА МОНИТОРИНГ НА ВОДИ ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ	134
11.1. Стратегии за подобряване на изходния сигнал	135
11.2. Моделиране на процесите в седиментните микробни горивни клетки	140
11.3. Мониторинг на микробната екология и електромикробиология	141
11.4. Подобряване характеристиките на седимента	141
11.5. Скалиране на СМГК-базираните биосензори	142
11.6 Икономическа оценка	143
Литература	145

ПРЕДГОВОР

С бързото развитие на индустрията и увеличаващите се градски райони, тежките метали все повече навлизат в околната среда. Тяхното натрупване във водите и почвите представлява потенциална опасност за екосистемите и човешкото здраве. Антропогенното замърсяване на води с тежки метали получава сериозно внимание в световен мащаб поради тяхната токсичност, устойчивост в околната среда и бионаличност. Контролът и ранното предупреждение за замърсявания на води с тежки метали е от ключово значение за вземане на навременни мерки и предотвъзможаване на негативното им въздействие.

Повечето методи за контрол включват периодичен мониторинг, което предполага ограничение в проследяването, с оглед на това, че пробите отразяват моментното качество на водата. В момента на вземане на пробата може да не бъдат установени замърсявания или те да са минимални, но за дълъг период от време да окажат сериозно въздействие във водните екосистеми. Този недостатък се оказва много по-сериозен при течащите повърхностни води, където условията могат да се променят във всеки един момент. Традиционните методи за анализ имат висока селективност и чувствителност, но също така са скъпи, имат сложно пробонабиране и пробоподготовка. Тези недостатъци могат да бъдат решени с използването на подходящи биосензори, чрез които да се наблюдава качеството на водата и да бъдат открити замърсители на околната среда на място и в реално време.

През последните години сензорите базирани на био-електрохимични системи се предвиждат като обещаващ, евтин и енергийно ефективен инструмент за наблюдение на замърсявания във води с тежки метали в реално време. При повечето сензори базирани на микробни горивни клетки, детекцията на замърсители се основава на инхибиране на метаболитната активност на електроактивните микроорганизми в анодната зона, водещо до намаляване на електрическия сигнал. Това са оказва сериозен недостатък, тъй като сензорите не могат да наблюдават повтарящи се замърсявания, освен ако електроактивните бактерии не бъдат възстановени или повторно инокулирани и аклиматизирани след всяко замърсяване. За да бъде преодолян недостатък е възможно използването на сензори базирани на седиментни микробни горивни клетки (СМГК) за наблюдение на замърсявания на води с тежки метали. Основните предимства на сензора са, че вместо да използва инхибирането на електроактивни бактерии в седимента, открива замърсявания от тежки метали във води, като те се редуцират върху

катода и се повишава напрежението. Седиментът адсорбира голяма част от тежките метали, защитавайки електроактивните микроорганизми от инхибиране от йони на тежки метали, като по този начин сензора може да работи нормално след шокови замърсявания. Също така, сензора използва естествени електроактивни бактерии живеещи в седимента, генерирайки базово напрежение, следователно процесът на инокулация може да бъде избегнат.

В настоящата монография е направен последователен преход от теоретичните, терминологични и научни основи на разглежданата проблематика към експериментална част и инженерни решения. В първите три глави са представени теоретичните основи на екологичния мониторинг, източниците и методите за контрол на замърсявания с тежки метали, принципите на работа и приложението на био-електрохимичните системи и седиментните микробни горивни клетки. Четвърта глава е посветена на факторите оказващи влияние върху ефективността на седиментните микробни горивни клетки и стабилността на изходния сигнал, като основа за надеждна дългосрочна работа и висока чувствителност на СМГК-базираните биосензори.

В следващите три глави са представени същинските изследвания върху чувствителността на СМГК-базираните биосензори към тежки метали, както и влиянието на различни фактори върху тяхната работа. Осма и девета глава разширяват изследването към комбиниран мониторинг и биоремедиация чрез интегриране на СМГК-базиран биосензор в конструирана влажна зона. Предложено е инженерно решение чрез пилотна инсталация, работеща в реални условия.

Десета глава има ясно изразен приложен характер, като са разработени и представени два прототипа на биосензори – портативен/настолен вариант и LED СМГК-базиран биосензор за директно интегриране в технологични схеми за мониторинг. Последната глава е посветена на перспективите за развитие на технологията, като разглежда възможностите за мащабиране, внедряване и икономическите аспекти на приложението на разработените системи.

Научно-приложната насоченост и предложените инженерни решения, правят кмигата подходяща, както за студенти и изследователи, така и за специалисти, работещи в областта на мониторинга и управление качеството на води.

Авторът

ГЛАВА I. ТЕОРЕТИЧНИ ОСНОВИ НА ОРГАНИЗИРАНЕТО И ПРОВЕЖДАНЕТО НА МОНИТОРИНГ НА ВОДИ

В съвременния свят проблемите, свързани с опазването на околната среда, заемат централно място в научноизследователската и управленската дейност. Сред тях особено значение придобива мониторингът на водните ресурси, тъй като водата е жизненоважен компонент на екосистемите и незаменим ресурс за човешкото общество. Антропогенните въздействия върху околната среда, свързани с индустриализацията, урбанизацията и интензивното земеделие, водят до значителни промени в качеството на водите. Един от най-сериозните проблеми в тази връзка е замърсяването с тежки метали, които притежават висока токсичност, устойчивост и способност за биоаккумуляция. Поради това екологичният мониторинг на водите, замърсени с тежки метали, се явява ключов инструмент за оценка на състоянието на водните екосистеми, прогнозиране на бъдещи тенденции и разработване на ефективни стратегии за управление и опазване на водните ресурси [103].

Настоящата глава има за цел да представи теоретичните основи на екологичния мониторинг, да анализира източниците и последствията от замърсяването на водите с тежки метали, както и да разгледа методологичните подходи и предизвикателствата, свързани с мониторинга на тези замърсители.

1.1 Теоретични основи на екологичния мониторинг

Екологичният мониторинг представлява систематичен процес на наблюдение, измерване и оценка на състоянието на околната среда и нейните компоненти. Той се основава на периодичното събиране на данни за физични, химични и биологични показатели, които характеризират качеството на въздуха, водата, почвата и биоразнообразието. Основната цел на мониторинга е да предостави надеждна информация за текущото състояние на околната среда, да се идентифицират тенденции, да се оцени въздействието на антропогенните фактори и да се прогнозира бъдещото развитие на екологичните процеси и състояние на екосистемите [14].

За разлика от еднократните изследвания, мониторингът е непрекъснат и дългосрочен процес, който позволява проследяване на динамиката на екологичните промени във времето и пространството. Получените данни служат като основа за вземане на информирани

управленски решения, насочени към опазване и възстановяване на околната среда.

Организацията на екологичния мониторинг включва няколко ключови етапа:

- *Формиране на цели и задачи.* Определянето на целите на мониторинга е първата и най-важна стъпка. Те могат да бъдат свързани с оценка на качеството на водите, проследяване на замърсяването с определени вещества, оценка на въздействието на конкретни дейности върху екосистемите или разработване на стратегии за управление на водните ресурси.
- *Идентификация на целевата среда.* Необходимо е подробно описание на характеристиките на изследваната среда – географско положение, геология, хидрология, климат, биота. Тази информация е от съществено значение за правилното планиране на мониторинговата програма.
- *Избор на показатели и методи за пробовземане.* Определянето на показателите, които ще бъдат наблюдавани, е критично за успеха на мониторинга. Те трябва да бъдат представителни за състоянието на средата и да отразяват въздействието на антропогенните фактори. Методите за пробовземане трябва да бъдат стандартизирани и да гарантират представителност и надеждност на резултатите.
- *Пространствено и времево планиране.* Мониторинговата мрежа трябва да бъде проектирана така, че да осигурява равномерно покритие на изследваната територия и да отчита пространствената изменчивост, а честотата на пробовземане – времевата изменчивост на екологичните процеси.
- *Качество на данните.* Осигуряването на високо качество на данните е от решаващо значение за надеждността на мониторинга. Това включва калибриране и проверка на измервателните уреди, използване на стандартни методи за анализ, прилагане на контролни проби и статистическа обработка на резултатите [44].

Събраните данни от мониторинга подлежат на обработка и анализ, за да се извлекат коректни заключения за състоянието на околната среда. Анализът включва статистически методи, графично представяне на резултатите и сравнение с нормативни стойности. Интерпретацията на данните позволява да се идентифицират тенденции, да се оценят въздействията на антропогенните фактори и да се прогнозира развитие на екологичните процеси и екологичния риск.

Екологичният мониторинг не включва намеса в околната среда, не включва регулиране на качеството на средата. Екологичният мониторинг констатира фактите, като получената информация служи като основа за разработване на управленски решения, насочени към опазване и възстановяване на околната среда. Мониторингът е динамичен процес, който изисква постоянна адаптация и усъвършенстване на методологията в зависимост от резултатите и новите научни постижения.

1.2 Източници на замърсяване на водите с тежки метали

Замърсяването на водите с тежки метали може да бъде резултат както от естествени, така и от антропогенни източници. Към естествените източници спадат процесите на изветряне на скалите, вулканичната дейност и ерозията на почвите. Тези процеси водят до естествено отделяне на тежки метали в околната среда, но обикновено в ниски концентрации [55]. Антропогенните източници са основните причинители на сериозни замърсяването с тежки метали. Сред тях се открояват:

- Индустрия – металургия, химическа промишленост, галванични производства, производство на батерии, текстилна промишленост и др.
- Минно дело – добив и преработка на руди, съдържащи тежки метали.
- Земеделие – използване на пестициди, торове и отпадъчни води от животновъдството.
- Битови и промишлени отпадъци – неконтролирано изхвърляне на битови и промишлени отпадъци и отпадъчни води.
- Транспорт – износване на гуми, спирачни накладки и двигатели, както и изгаряне на горива [99].

Замърсяването на водите с тежки метали има сериозни последствия както за екосистемите, така и за човешкото здраве. Тежките метали се натрупват в организмите на водните растения и животни, като предизвикват токсични ефекти, нарушават репродуктивните функции и водят до намаляване на биоразнообразието. Чрез хранителната верига тежките метали достигат до висшите трофични нива, включително и до човека [14].

Попадането на тежки метали в организма на човека може да доведе до сериозни здравословни проблеми, включително увреждане на нервната система, бъбреците, черния дроб, сърдечно-съдовата система

и дори ракови заболявания. Особено уязвими са децата, тъй като техният организъм е в процес на развитие.

1.3 Мониторинг на тежки метали във води

Мониторингът на тежки метали във води включва няколко основни етапа:

- Пробовземане – пробите от води се вземат на определени места и в определени интервали от време, съгласно предварително изготвен план. Важно е да се осигури представителност на пробите и да се избегне замърсяване на пробите или промяна в техните свойства и характеристики до момента на изследване.
- Подготовка на пробите – пробите се подлагат на предварителна обработка, включваща филтруване, концентриране и стабилизиране, за да се улесни последващият анализ.
- Аналитични методи – за определяне на концентрацията на тежки метали във вода се използват различни аналитични техники, сред които:
 - Атомно-абсорбционна спектроскопия (AAS) – един от най-широко използваните методи за определяне на концентрацията на тежки метали.
 - Индуктивно-свързана плазмена масспектрометрия (ICP-MS) – високочувствителен метод, позволяващ едновременно определяне на множество елементи.
 - Рентгенофлуоресцентен анализ (XRF) – неразрушителен метод, подходящ за анализ на твърди проби.
 - Анодна стрипинг волтаметрия (ASV) – електрохимичен метод с висока чувствителност за определяне на следови количества тежки метали [4].

1.4 Предизвикателства и перспективи

Мониторингът на тежки метали във води е свързан с редица предизвикателства. Често концентрациите на тежки метали във води са много ниски, което изисква използването на високочувствителни аналитични методи. Също така е необходимо да се вземат строги мерки за предотвратяване на замърсяване и промяна на характеристиките на пробите по време на пробовземането, транспортирането и анализа им. Аналитичните методи за определяне на тежки метали често са скъпи и изискват специализирано оборудване и квалифициран персонал. Това

може да повлияе върху времевото измерение на мониторинга. Честотата на мониторинга да не бъде с достатъчна честота и да бъдат пропуснати събития на замърсяване с тежки метали [99]. В още по-голяма степен това важи за течащи води, където условията се изменят бързо и такива събития могат да бъдат пропуснати. Поради тази причина е желателно традиционния инструментален мониторинг да бъде комбиниран с мониторинг на биоиндикатори за качество на околната среда [97].

За да се отговори на тези предизвикателства, се налага развитието на нови технологии и методи за мониторинг на тежки метали във води. Значителни перспективи за подобряване на качеството на водните ресурси и опазване на околната среда се поставят пред решения като разработване на нови сензори и биосензори за бързо и евтино определяне на тежки метали във води, както и използване на дистанционни методи за мониторинг, базирани на спътникови изображения и географски информационни системи (ГИС).

Екологичният мониторинг на водите, замърсени с тежки метали, е от съществено значение за опазването на водните ресурси и защитата на човешкото здраве. Чрез систематичното събиране и анализ на данни за концентрацията на тежки метали във вода можем да оценим степента на замърсяване, да идентифицираме източниците на замърсяване и да разработим ефективни стратегии за управление и възстановяване на водните екосистеми [70].

Необходима е постоянна инвестиция в научни изследвания и технологични разработки, за да се подобрят методите за мониторинг и да се осигури надеждна информация за вземане на информирани управленски решения. Само чрез интегриран подход, включващ научни изследвания, мониторинг, законодателство и обществено участие, може да се постигнем устойчиво управление на водните ресурси и да се гарантира тяхното качество за бъдещите поколения.

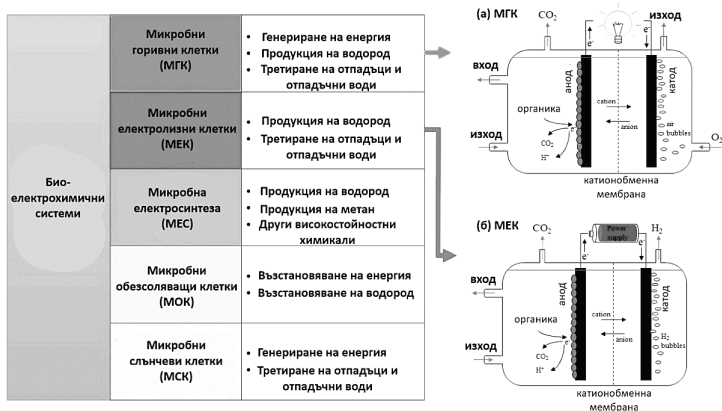
ГЛАВА II. БИО-ЕЛЕКТРОХИМИЧНИ СИСТЕМИ

2.1 Принцип на работа и приложение на био-електрохимични системи

През последните години се наблюдава значително увеличение на търсенето на възобновяеми енергийни източници поради ограничената наличност и екологичните последици от конвенционалните изкопаеми горива. Получаването на биогорива, което е биологично опосредстван процес, може да предостави екологична и устойчива алтернатива на изкопаемите горива в близките години. Този процес може лесно и ефективно да се комбинира с разграждането на различни органични съединения, включително органични отпадъци. Ролята на микроорганизмите в производството на биогорива е широко изследвана и доказано ефективна. По-специално, хетеротрофните бактерии и фотосинтезиращите микроводорасли са показали значителни нива на ефективност в различни био-електрохимични системи за производство на биоводород в микробни електролизни клетки и биоелектричество в микробни горивни клетки [75].

Био-електрохимичните системи привличат много голям интерес в научната общност през последните години. Тези системи се появяват като нов начин на получаване на енергия при оползотворяване на различни органични отпадъчни продукти. През последното десетилетие, забележителен напредък е постигнат в областта на био-електрохимичните процеси за производство на биоелектричество. В био-електрохимичната система, взаимодействието на микроорганизми или ензими с електроди се използват за получаване електрохимични устройства, които могат да се прилагат за различни цели. Най-често срещаните био-електрохимични системи на базата на микроорганизми включват микробни горивни клетки, микробни електролизни клетки, микробни клетки за обезсоляване, микробни електросинтезни клетки и микробни слънчеви клетки (фиг. 1). Тези технологии разчитат на способността на някои бактерии да пренасят електрони от донор субстрат, към твърд електроден материал (акцептор на електрони), наречен анод [13]. След това електродът се свързва чрез външна електрическа верига към катод, който също може да бъде колонизиран от бактерии, които катализират редукцията на окислен електронен акцептор. Приложенията на био-електрохимичните системи обхващат генериране на електрическа енергия и биоремедиация до производството на химикали и биосензорни инструменти. Био-електрохимичните системи могат успешно да бъдат свързани с

интерфейси за събиране на данни и за автономно предаване на данни чрез безжична комуникация. По-голямата част от научните усилия са насочени към приложението на биоелектрохимичните системи за целите на производството на електроенергия, но необходимостта от подобряване на производството на енергия и избора на материали ограничава този мащаб [9]. Приложението на биоелектрохимични системи като биосензорни инструменти е по-малко изследван, но може да бъде от изключителен интерес и с необходимост от бързо внедряване.



Фигура 1. Основни видове био-електрохимични системи

а) принципна схема на микробна горивна клетка; б) принципна схема на микробна електролизна клетка. Адаптирано по [49]

Най-добре изучени и с най-широко приложение са два от основните видове био-електрохимични системи – микробната горивна клетка и микробната електролизна клетка:

– Микробната горивна клетка се състои от анодна и катодна камери, разделени от протонообменна мембрана. В анодната камера, електроактивните микроорганизми образуват биофилм върху електродната повърхност. Микроорганизмите в анодната зона разграждат органичното вещество, при което се генерират електрони и протони. Електроактивните бактерии извършват извънклетъчен трансфер на електрони чрез директни или медирирани пътища към анода. Впоследствие електроните, предадени на анода, достигат до катода чрез външна електрическа верига. Този поток от електрони генерира електрическа енергия, която може да бъде използвана. Токът,

произведен от електроактивни бактерии в микробната горивна клетка, е пряко свързан с метаболитна активност на развития биофилм. На катода, който е поставен в аеробната камера, електроните обикновено се използват за редуциране на разтворен във водата кислород. Анодната камера е свързана с катодната камера чрез йоннообменна мембрана или солеви мост, което позволява на генерираните протони да преминат от едната камера в другата [33].

Важни резултати са докладвани от редица публикации, където изследванията са фокусирани главно върху инженерството на електроди за микробни горивни клетки и дизайн на клетките, за да се увеличи максимално мощността на производство на устройствата и намаляване на времето за стартиране. Изходната мощност обаче все още е твърде ниска, за да се направи технология, конкурентна в търговската мрежа. Една от причините за ниското производство на енергия може да се намери в недостига на фундаментални изследвания, насочени към изследване механизмите на реакциите, които се осъществяват вътре в микробната горивна клетка, и особено при връзката между микроорганизмите и повърхността на електрода.

– Микробната електролизна клетка се характеризира с подаване на електрическа енергия, която се преобразува в химическа енергия. При този вид клетки микробен анод е свързан с абиотичен катод, което осигурява производството на водород чрез редукция на вода. Когато не протичат странични реакции на катода, обемът на произведения водород е правопрпорционален на електрическия ток, преминаващ през електролизния елемент [49].

2.2 Био-електрохимичните системи като инструмент за мониторинг на води

Замърсяването с тежки метали може да има както природен характер, например изветряне на скали, така и антропогенен характер, като миннодобивната и миннопреработвателната промишленост, металургията, преработка на отпадъци и други. Тежките метали вследствие на антропогенната дейност са по-мобилни и бионалични от тези с природен характер и представляват по-голям риск за здравето на хората и околната среда. Степента на замърсяване с тежки метали се е увеличила значително с бързата индустриализация. Тежките метали освободени от различни промишлени дейности се разпространяват в околната среда, най-вече чрез течащите повърхностни води. Промислените отпадъчни води обикновено съдържат тежки метали като хром, мед, цинк, олово и други [63], които в големи концентрации

могат да причинят здравословни проблеми и замърсяване на природните екосистеми [48].

Съществуват различни химични, физични и биологични технологии за третиране на такива води, които ефективно отстраняват тежките метали. Въпреки всичко, след третиране водите трябва да бъдат изследвани дали отговарят на стандартите за заустване. Ако емисиите на тежки метали надвишават допустимите концентрации, това може да доведе до сериозни екологични проблеми и увреждане на околната среда. От решаващо значение е концентрациите на тежки метали в отпадъчни води да бъдат строго контролирани в реално време преди изпускането им в околната среда.

Повечето методи за контрол включват периодичен мониторинг, което предполага ограничение в проследяването, с оглед на това, че пробите отразяват моментното качество на водата. В момента на вземане на пробата може да не бъдат установени замърсявания или те да са минимални, но за дълъг период от време да окажат сериозно въздействие върху водните екосистеми. Този недостатък се оказва много по-сериозен при течащите повърхностни води, където условията могат да се променят във всеки един момент. Този проблем се решава с използването на подходящи биосензори, чрез които може да се наблюдава качеството на водата и да бъдат открити замърсители на околната среда на място и в реално време [25]. Традиционните методи за анализ имат висока селективност и чувствителност, но също така са скъпи, имат сложно пробонабиране и пробоподготовка и не могат да предоставят данни в реално време и на място.

През последните години са разработени редица биосензори, които представляват интегрирани устройства комбиниращи биологични материали и преобразуватели, за количествено и полуколичествено наблюдение на различни аналити, като тежки метали, БПК, летливи мастни киселини и други [60]. В сравнение с традиционните техники, характеристиките на биосензорите показват, че са прости, евтини и преносими за практическо приложение. Повечето от разработените до момента биосензори, обаче, използват или пречистени протеини (като ензими, метал-свързващи протеини и антитела) или цели генно модифицирани микроорганизми. Такива биосензори се изправят пред предизвикателството на токсичността за биологичния компонент, което възпрепятства използването им при проби с висока концентрация на тежки метали. Нещо повече, голяма част от тези сензори не могат да осигурят данни на място и в реално време [98].

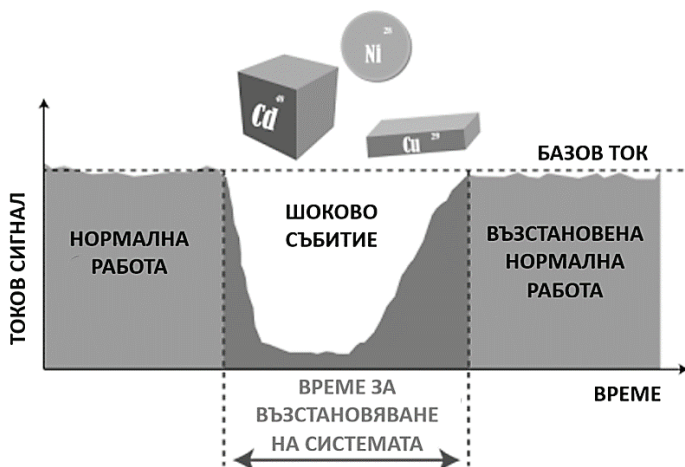
Био-електрохимичните системи са в състояние да направят уникален и ценен принос за наблюдението на състоянието на околната среда, предоставяйки поток от данни, който може да се използва както за наблюдение в реално време, така и за директна обратна връзка при оптимизиране на процеси като пречистване на отпадъчни води и ремедиация на замърсени почви. Има много предимства, които могат да бъдат заложени в разработването на биосензори базирани на био-електрохимични системи за мониторинг на околната среда, включително комплексни измервания и способност за предоставяне на нова информация, която не е възможна чрез съществуваща технологии, като оценка на токсичността [72]. Въпреки че повечето био-електрохимични системи трябва работят във водна среда, развитието на газопропускливи мембрани и подходящи процедури за извличане, могат да разширят обхвата на среди, достъпни за анализ от тези устройства. Този вид биосензори могат също да осигурят бърз и икономичен скрининг и ранно предупреждение за един или широк спектър от замърсители в отпадъчните води. Тази информация позволява бързи коригиращи действия и разработване на защитни мероприятия [53].

Био-електрохимичните системи предоставят подходящо решение за онлайн наблюдение на различни параметри на замърсяване, като разтворен кислород, ХПК, БПК и други токсични замърсители на води, по сравнително по-евтин и бърз начин [19]. Работата в лабораторен мащаб на биосензорите базирани на био-електрохимични системи е успешна, но приложенията в реално среда все още предстои да бъдат установени. Биосензорите показват отлична производителност, висока линейност, дългосрочна стабилност и добра възпроизводимост, като има огромен потенциал за комерсиална търговска употреба. Въпреки това, продължителността на времето за реакция и чувствителността трябва да бъде допълнително подобрена, преди да бъдат разглеждани, като технологии за индустриални приложения.

През последните години сензорите базирани на микробни горивни клетки се предвиждат като обещаващ, евтин и енергийно ефективен инструмент за наблюдение на замърсявания във води и почви в реално време. При повечето сензори базирани на микробни горивни клетки, електроактивните микроорганизми се инокулират и аклиматизират в анодната камера, за да се открие токсичността на замърсителите. Ако замърсителя инхибира метаболитната активност на електроактивните микроорганизми, електрическият сигнал (напрежение или ток) на тези сензори намалява. Това се счита за основен принцип на МГК базирани сензори. Използването на електроактивни

микроорганизми за долавяне на замърсители има сериозен недостатък, тъй като сензорите не могат да наблюдават повтарящи се замърсявания, освен ако електроактивните бактерии не бъдат възстановени или повторно инокулирани и аклиматизирани след всяко замърсяване [46].

Шоковия биосензор е много обещаващо приложение на микробните горивни клетки за биочувствителност. Шок възниква при високи натоварвания със замърсители, като тежки метали или токсични съединения, присъстващи във води в концентрации от порядък на величина по-високи от нормалните условия. Ранното откриване на шок би позволило съответна навременна намеса за минимизиране на вредните ефекти върху околната среда. Шоковите замърсявания могат да бъдат открити тъй като те провокират смущение в електрическия отговор на микробните горивни клетки, който се получава при нормални работни условия, както схематизирано на фигура 2 [24].



Фигура 2. Принцип на работа на биосензори базирани на микробни горивни клетки при шоково замърсяване с тежки метали. Адаптирано по [27].

За да се осигури бърза намеса и минимизиране на щетите за околната среда биосензорът трябва да може да работи в условия на поток и да осигурява бърз отговор. Трябва също да се отбележи, че за шоков мониторинг микробните горивни клетки трябва винаги да работят при условия на насищане, за да се гарантира, че промените в

тока/изходната мощност не се дължат на промени в концентрацията на субстратите. Последните усилия в областта на микробните горивни клетки за шок мониторинг са фокусирани върху установяването на критични аспекти за приложение в реална среда. Тези аспекти включват ефекта на скоростта на реакция на микробната горивна клетка, подобряване на чувствителността на сензора и миниатюризация на устройството заедно с приложението на нови технологии като 3D печат за по-лесно и по-бързо изработване. Изследванията показват, че колкото е по-висока скоростта на потока, толкова по-малка е чувствителността и скоростта на реакция на микробните горивни клетки към токсичните шокове. Този резултат предполага, че за прилагане на микробни горивни клетки в системи за мониторинг на води, скоростта на потока вътре в горивната клетка трябва да бъде оптимизирана, за да отговори на изискванията за скорост на реакция и чувствителност на устройството [82].

Възможното приложение на био-електрохимични системи за биосензирането е доказано и представлява голям интерес поради възможност за откриване и контрол на няколко различни параметъра. От последните литературни данни възникват четири основни аспекта:

1) Интерес към миниатюризиране на устройствата с цел да се улесни интегрирането на биоелектрохимичните системи в съществуващи съоръжения, намаляване на времето за стартиране и намаляване количеството и цената на необходими химикали и материали;

2) Интерес към разработването на поточни/непрекъснати устройства с цел да се изпълняват бързо и лесно онлайн измервания вместо сложни, ex-situ и изискващ време анализ като HPLC, ICP и MS.

3) Интерес към развиване на био-електрохимични системи с подобрена чувствителност и по-ниски граници на откриване чрез оптимизирани конфигурации на електроди и конструкции на клетки.

4) Интерес към увеличаване обхвата на замърсители/параметри, които могат да бъдат открити от био-електрохимичните системи [98].

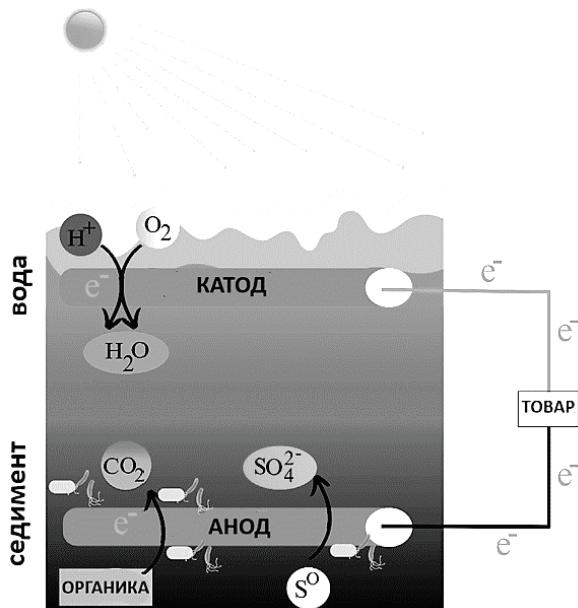
Въпреки това, все още има проблеми за преодоляване за да се стигне до реалното приложение на биоелектрохимичните системи в индустрията и практиката.

ГЛАВА III. СЕДИМЕНТНИ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ

3.1 Принцип на работа и приложение на седиментни микробни горивни клетки

Седиментните микробни горивни клетки (СМГК), като разновидност на традиционните микробни горивни клетки, получава голямо внимание, тъй като предлага възможността за биодеградия на органични съединения в различни седиментни с генериране на електричество [51]. Схематичната диаграма на седиментна микробна горивна клетка е показана на фигура 3. Основните елементи на системата седиментна микробна горивна клетка са анод, поставен в анаеробната зона с органично-богати седименти, и катод, разположен в повърхностния слой на водата [16]. Органичната материя в седимента се използва като източник на въглерод и енергия за микроорганизмите в анодната зона. Електроактивните бактерии, като *Geobacter* и *Desulforomonas*, разграждат органичното съдържание на седимента, като освобождават електрони и протони. Генерираните електрони достигат до катода чрез външна електрическа верига, където могат да редуцират кислорода, а протоните се транспортират към катодната зона през седимента. При седиментните микробни горивни клетки естественият градиент на кислорода осигурява различните окислително-редукционни условия между анодната и катодната зона, а седимента играе роля на своеобразна мембрана [2].

Седиментните микробни горивни клетки могат да преобразуват химическата енергия, съхранена в органичната материя, в електрическа енергия посредством биологично катализиране от микроорганизмите, като така осигурява източник на дългосрочна енергия за устройства с ниска консумация – например за мониторинг на параметри на околната среда. Това ефективно решава проблемите, свързани с ограничената работа на дистанционни измервателни уреди и трудностите при смяна на батериите, и в момента представлява нова алтернатива за захранване на електронно оборудване в отдалечени райони [6].



Фигура 3. Принципна схема на седиментна микробна горивна клетка. Адаптирано по [35].

Важна крачка е постигната, когато изследванията показат, че седиментните микробни горивни клетки могат едновременно да произвеждат електрическа енергия и да биоремедираат замърсени води и почви. Тези системи ускоряват разграждането на органични замърсители, намаляват натрупването на сулфиди и имобилизират тежките метали, като предоставят двойно предимство – генериране на енергия и възстановяване на околната среда [25]. Седиментните микробни горивни клетки позволяват третиране на води и почви, замърсени с тежки метали, чрез промени в окислително-редукционния потенциал и валентността на тежките метали, микробна извънклетъчна адсорбция и вътреклетъчно натрупване [12]. Редица катиони на тежки метали като Cu^{2+} , Cr^{6+} и U^{6+} могат да бъдат трансформирани в по-малко токсични или относително стабилни състояния при ниски електродни потенциали, като по този начин се намалява тяхната концентрация във водата. Важно е обаче да се отбележи, че не всички тежки метали могат да бъдат елиминирани чрез редукционни реакции. Например, живакът се превръща в по-вредния метилживак в редукционни условия.

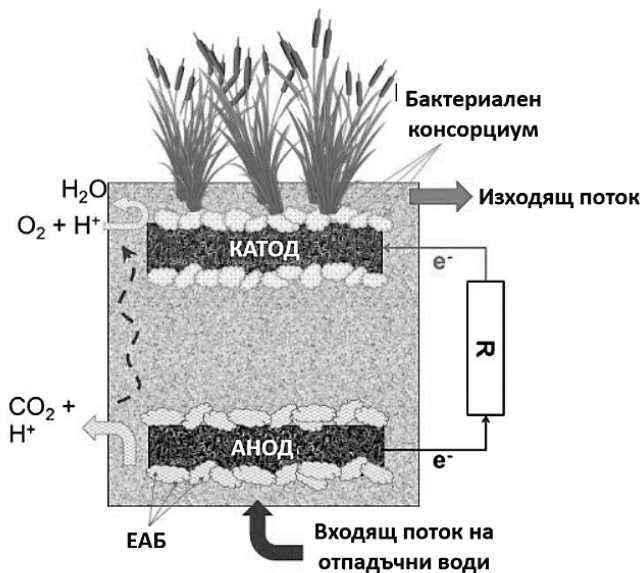
Следователно, естествените характеристики на металните замърсители трябва да се вземат предвид при проектирането на седиментни микробни горивни клетки [47].

Оптимизирането на седиментните микробни горивни клетки за генериране на електричество, биоремедиация и изследване на механизмите за разграждане на органични вещества е главната насока и тенденция в тяхното изследване. Използването на нови материали или химични катализатори в комбинация с електроди, както и предварителната обработката на седиментите, могат значително да увеличат токовата и мощностната плътност на седиментните микробни горивни клетки [15].

Паралелно с това се създават седиментни микробни горивни клетки интегрирани в конструирани влажни зони (CW-SMFC), които вграждат технологията в системи за пречистване на отпадъчните води [54]. Тези системи са представени на Фигура 4. Проведените изследвания показват, че CW-SMFC могат да подобрят ефективността на пречистване, като същевременно произвеждат електричество, съчетавайки екологичното инженерство с био-електрохимично генериране на енергия [10]. Замърсяването в отпадъчната вода може да подпомогне растежа на растенията и едновременно да осигури необходимите протони и електрони за генериране на електричество. Съществена разлика между растителните седиментни микробни горивни клетки и CW-SMFC е, че в първите електрогенните микроорганизми в ризосферата се хранят единствено от екскретирани органични съединения и ризодепозитите, докато в CW-SMFC микроорганизмите получават храна както от отпадъчната вода, така и от органичните съединения, предоставени от растежа на растенията [66].

Разгледаните технологии са стигнали различни етапи на зрялост, обикновено описвани чрез нивата на технологична готовност (Technology Readiness Levels, TRL, фигура 6). Седиментни микробни горивни клетки, проектирани за хранване на екологични сензори, са достигнали ниво TRL 5–6, като множество успешни полеви инсталации демонстрират стабилна работа в продължение на години с минимална поддръжка. Растителните седиментни микробни горивни клетки обикновено са на ниво TRL 4–5 – има обещаващи пилотни резултати, но комерсиализацията е ограничена, тъй като изследванията продължават да оптимизират избора на растения, конфигурацията на електродите и стратегиите за мащабиране. CW-MFC заемат сходен диапазон от TRL 4–6, като пилотните демонстрации потвърждават тяхната полезност за

децентрализирано пречистване на отпадъчни води в райони със слаба енергийна инфраструктура [67].



Фигура 4. Принципна схема на конструирана влажна зона с интегрирана седиментна микробна горивна клетка (CW-SMFC). Адаптирано по [92].

TRL 1 – наблюдавани са основни принципи.

TRL 2 – формулирана е технологична концепция.

TRL 3 – доказана е концепцията чрез първоначални експерименти.

TRL 4 – технологията е валидирана в лабораторна среда.

TRL 5 – технологията е валидирана в релевантна среда (тестова или демонстрационна среда, близка до реалните условия)

TRL 6 – технологията е демонстрирана в релевантна среда.

TRL 7 – прототип или система е демонстрирана в реална работна среда.

TRL 8 – системата е завършена и квалифицирана.

TRL 9 – технологията е доказана в реална експлоатация.

Фигура 5. Нива на технологична готовност (TRL)

Текущите изследвания на седиментните микробни горивни клетки са фокусирани върху подобряване на плътността на мощността

и надеждността чрез използване на наноструктурирани електроди, инженерни микробни общности и усъвършенствани конструкции на клетките [29]. Преходът на технологията на седиментните микробни горивни клетки от контролирани лабораторни условия към разнообразни и непредвидими полета среди представлява важен етап в нейното технологично съзряване. Този преход трябва да потвърди ефективността на тези био-електрохимични системи при реални условия, като демонстрира надеждна работа сред динамичните сложности на естествените екосистеми [35]. Лабораторните условия – стабилна температура, контролирано доставяне на субстрат, дефинирани микробни култури и минимални смущения – се отличават кардинално от променливостта на естествените среди. Основно предизвикателство при прехода от лаборатория към реална околна среда е проектирането на системи, които да останат устойчиви и адаптивни при такава променливост [69].

Съгласно последните изследвания, ефективността на седиментните микробни горивни клетки се влияе от редица параметри, включително материалите на електродите, разстоянието между електродите, температура, рН, йонна сила, концентрация на разтворен кислород в близост до катода, характеристики на седимента, състав на бактериалната общност и други. От изключително значение за надеждната работа в реални условия е тези параметри да бъдат изследвани и анализирани, и да бъде създадена оптимална конструкция от гледна точка на себестойност, ефективност и устойчивост [16].

3.2 Биосензори базирани на седиментни микробни горивни клетки

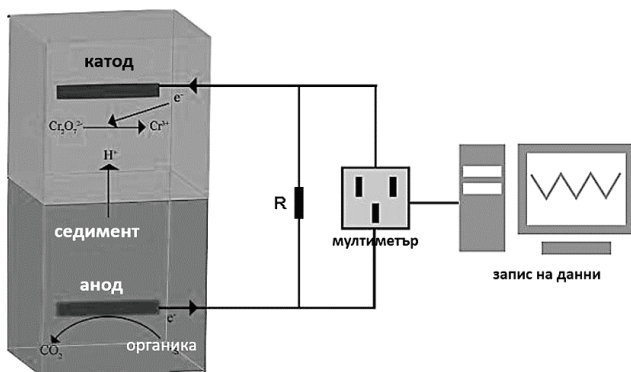
Както вече бе споменато, основният недостатък на биосензорите базирани на класически микробни горивни клетки е, че те трудно могат да бъдат използвани за наблюдение на повтарящи се замърсявания, тъй като електроактивните микроорганизми трябва да бъдат възстановени или инокулирани наново след всяко замърсяване. Процеса на възстановяването и аклиматизацията могат да отнемат до няколко седмици. За да бъде преодолян недостатъкът е възможно използването на сензори базирани на седиментни микробни горивни клетки за наблюдение на замърсявания с тежки метали във води [90]. Основните предимства на сензора включват:

- вместо да използва инхибирането на електроактивни бактерии в седимента, детектира замърсявания от тежки метали във водата, като те се редуцират върху катода и се повишава напрежението;

– седимента адсорбира голяма част от тежките метали, защитавайки електроактивните микроорганизми от инхибиране от йони на тежки метали, като по този начин сензора може да работи нормално след шоккови замърсявания;

– сензора използва естествени електроактивни бактерии живеещи в седимента, генерирайки базово напрежение, следователно процесът на инокулация може да бъде избегнат [3].

Механизмът на процеса на откриване се основава на редукцията на замърсителите на катода, което води до увеличение на електрическите параметри на сензора — базово напрежение и ток. Схема на работата на СМГК-базираните биосензори е показана на фигура 6. Като резултат, увеличението на напрежението ще бъде считано за реален сигнал по време на наблюдение на събитие на замърсяване [52]. Компонентите на сензора са монтирани в интегрирана система, като по този начин наблюдението е удобно и стартира с поставянето на сензора във водна среда. Въз основа на гореспоменатите предимства, сензорът би бил подходящ за мониторинг на повтарящи се замърсявания с тежки метали във води [84]. Прилагането на сензора включва продължителна работа с различна промяна на температурни и метеорологични условия, и повтарящи се замърсявания, поради което производителността на сензора при такива условия е неизвестна, особено по отношение на активността на електроактивните микроорганизми и резки промени в електрическия сигнал на сензора [50].



Фигура 6. Принципна схема на биосензор базиран на седиментна микробна горивна клетка. Адаптирано по [91].

Основните предимства на седиментните микробни горивни клетки са ниска цена, проста конструкция и дългосрочно осигуряване на изходна мощност. По този начин системата е приложима като биосензор за дългосрочна *in situ* експлоатация [22]. Има редица данни за приложението на биосензори базирани на седиментни микробни горивни клетки за мониторинг в реално време на параметри на околната среда, като температура и разтворен кислород. Изследванията за развитието на седиментните микробни горивни клетки като биосензори за мониторинг на тежки метали не са много, но данните и резултатите са в обещаващ етап. В световната литература липсват данни за производителността и чувствителността на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки при дългосрочна работа, при различни условия на средата (температура, pH, метеорологични условия), дизайна, материалите и конструктивните особености на седиментните микробни горивни клетки [101].

Седиментните микробни горивни клетки могат да се разполагат в естествени или изкуствени влажни зони. Интегрирането на СМГК-базирани биосензори в конструирани влажни зони ще позволи, както мониторинг на постъпващите води, така и дългосрочен източник на зелена енергия на база жизнената дейност на микроорганизми и висши растения. В комбинация с това, редуцирането на йоните на тежките метали върху катода на интегрираните СМГК-базирани биосензори ще повиши ефективността на пречистване на конструираните влажни зони [54].

Възможността за използване седиментни микробни горивни клетки като биосензор разчита на факта, че промяната в концентрацията на конкретен замърсител (аналит) може да повлияе на големината на тока/мощността на устройството [83]. Освен това, за да се прилага като биосензор, седиментната микробната горивна клетка трябва да осигури добър линеен отговор в интересувания ни концентрационен диапазон, добра чувствителност, бърза реакция и възможност за откриване на широк набор от аналити. Ниският ток/изходна мощност, който характеризира седиментните микробни горивни клетки, може да повлияе на чувствителността на биосензора чрез намаляване на промяната на токовия отговор за единица промяна от аналита. Ниският базов ток/изходна мощност, също може да повлияе на границата на откриване на биосензора. Съответно усилията на учените трябва да са насочени към тези ограничения [50].

СМГК-базираните биосензори обикновено се тестват в лабораторни условия, но в реални много параметри могат да повлияят на реакцията на био-електрохимичните системи и биочувствителната им способност (температура, йонна сила, нива на кислород). Изследванията и проектирането на нови методи и стратегии за конструиране на седиментни микробни горивни клетки, които могат да бъдат устойчиви в различни среди, също са спешни задачи за бъдещото развитие на този вид биосензори. Подобряването на аналитичните характеристики винаги е ключов въпрос за базираните на СМГК биосензори. Освен това, полеовото тестване и мащабирането също са важни задачи за практическото им приложение. В момента, повечето базирани на СМГК биосензори работят при лабораторни условия. Тяхното прототипиране е друго голямо предизвикателство. Разработването и експлоатацията на СМГК-базирани биосензори с мащаб на реално приложение също трябва да бъдат разгледани в бъдеще. Освен това, за индустриални приложения, трябва да се развият по-устойчиви материали, тъй като се изисква технологиите да задоволяват дългосрочните резултати от мониторинга, за да бъдат конкурентоспособни. Бъдещите изследвания фокусирани върху тестването на СМГК-базираните биосензори на място и при реални работни условия ще бъдат от решаващо значение за да се подобрят тези технологии и да станат комерсиални [52].

Преди решаването на всички тези задачи, от първостепенно значение е да бъдат установени факторите оказващи влияние върху стабилността на генерираната енергия от седиментните микробни горивни клетки. Тези енергия се използва като изходен сигнал за СМГК-базираните биосензори, поради което тя трябва да бъде с достатъчна големина и стабилност при дългосрочна работа. В следващата глава са представени данни за основните фактори и влиянието им върху генерираната енергия от седиментните микробни горивни клетки, на база проведени експерименти.

ГЛАВА IV. ФАКТОРИ ВЛИЯЕЩИ ВЪРХУ ЕФЕКТИВНОСТТА НА СЕДИМЕНТНИТЕ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ

Работата на седиментни микробни горивни клетки, е чувствителна към редица фактори на околната среда, сред които температура, рН и електропроводимост. Изследванията в тази област показват, че повишаването на температурата води до по-висока плътност на мощността и степен на отстраняване на токсични метали в седиментни микробни горивни клетки. Подобрената ефективност при тази температура се обяснява с по-високата електропроводимост на водата, оптимизирания метаболитни пътища и омичната редукция [5]. Въпреки това, повишаването на температурата над определена граница може да доведе до денатуриране на ензимите и намаляване на метаболитната активност на електрогенните бактерии, с изключение на някои термофилни бактерии, за които все още има ограничени данни относно екзоелектрогенните им способности. Литературните данни показват, че оптималният температурен диапазон за генериране на максимална енергия от седиментните микробни горивни клетки е между 30 и 45 °C [89].

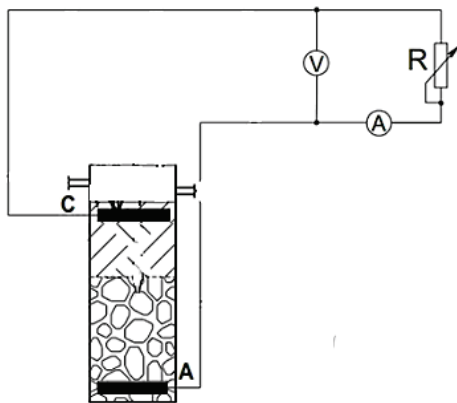
Плътността на тока в седиментните микробни горивни клетки варира в зависимост от дълбочината на почвения слой, поради което позиционирането на анода в по-дълбоките слоеве може да подобри производителността на системата. По отношение на влиянието на рН, някои изследвания показват, че ниските стойности на рН водят до понижена плътност на мощността вследствие на натрупването на киселинни продукти от ферментацията и дифузията на H^+ йони от катодната към анодната зона. При аерираните седиментни микробни горивни клетки разликата в рН между катодната и анодната камера е минимална, докато при неаерираните тя е по-съществена. Алкалното рН, от своя страна, благоприятства адхезията на биофилма върху анода. Изследванията в тази област показват също, че слабокиселото рН води до по-високо напрежение и концентрация на разтворен кислород, вероятно поради благоприятните условия за редукция на кислород и намаленото образуване на хидроксилни йони (OH^-). Буферният капацитет на почвата може да забави реакциите и да внесе несигурност в резултатите. Макар някои екзоелектрогени да проявяват устойчивост към кисело рН, освобождаването на електрони и протони може да наруши метаболизма на субстратите и да стимулира метаногенезата [100]. В същото време, други изследвания сочат, че неутралното рН е

по-благоприятно за висока плътност на мощността и образуване на стабилен биофилм, тъй като потиска метаногенната активност [31].

Електропроводимостта на средата също оказва влияние върху работата на седиментните микробни горивни клетки. При умерена електропроводимост системите функционират добре, но при по-високи стойности се увеличават омичните загуби, а осмотичният дисбаланс може да окаже негативно въздействие върху електрогенните микроорганизми в анодната област [74].

Освен тези фактори, редица други, като конструктивни особености, засаждането и вида на растения, характеристики на седимента, йонна сила на разтвора и т.н. оказват влияние върху ефективността на седиментните микробни горивни клетки и ще бъдат разгледани подробно в настоящата глава [7].

Изследванията целящи установяване влиянието на факторите на средата върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки са проведени в идентични лабораторни инсталации, принципна схема на които е представена на фигура 7.



Фигура 7. Принципна схема на използваните лабораторни модели седиментни микробни горивни клетки

C – катод, A – анод, V – волтметър, A – амперметър, R – съпротивление

Седиментната микробна горивна клетка е изградена от PVC съд с обем 1000 cm^3 . Запълнен е с 800 cm^3 седимент. След това към клетките е добавена вода. В долната част на седимента и в повърхностния слой на водата са разположени електроди (съответно анод и катод). В

различните проведени експерименти варира материала на електродите, характеристиките на субстрата, контруктивните елементи и други, като тези характеристики са описани подробно по-долу.

4.1 Влияние характеристиките на субстрата върху ефективността на седиментните микробни горивни клетки

Предварителната обработка на субстратите преди прилагане в седиментни микробни горивни клетки може значително да повиши техните електрическите характеристики, като най-често се използва добавяне на източници на въглерод и вещества увеличаващи проводимостта на субстрата [26].

Въвеждането на органични вещества – например хитозан, целулоза или други полизахариди – може да ограничи проблема с недостатъчната наличност на хранителен субстрат в седимента и да осигури стабилно и продължително снабдяване с енергия за микробната общност. Това е особено важно, тъй като естествените седименти често са бедни на лесноусвоими органични вещества, което може да ограничи растежа и активността на екзоелектрогенните бактерии (ЕАБ). От друга страна, прекомерната концентрация на добавяната органика създава благоприятни условия за развитие на метаногенни бактерии, което от може да доведе до конкуренция за електронните донори и до намаляване или нестабилност на генерираното електричество от седиментните микробни горивни клетки. Поради тази причина типът и концентрацията на добавените въглеродни източници трябва да се определят с особено внимание, така че да се постигне оптимално увеличаване на мощността без да се провокира неблагоприятна метаногенна или друга активност [76].

Също така, включването на проводими материали (например графит, въглеродни нанотръби, метални оксиди) в утайката стимулира електронния трансфер между микроорганизмите и електродите, като намалява вътрешното съпротивление на системата и подобрява електрохимичните параметри. Тези добавки са особено полезни, когато седиментните микробни горивни клетки се използват за едновременно генериране на енергия и биоремедиация на замърсената среда, тъй като могат да улеснят редукцията на тежки метали и органични замърсители. Въпреки това, прекомерната употреба на проводими вещества може да доведе до неблагоприятни ефекти – например повишаване на йонната сила, корозия на електродите или токсичност за микробната флора – поради което също изисква внимателно и балансирано прилагане [32].

Характеристиките на седимента са от голямо значение за постигане на висока мощност в седиментните микробни горивни клетки. Изследванията показват ясна положителна корелация между плътността на мощността, продължителната и устойчива работа, и съдържанието на въглерод (C) и азот (N) в седимента.

Физико-химичните свойства на седимента – съдържание на органични вещества, електропроводимост и pH – също играят съществена роля за бързото стартиране, генерираната мощност и дълготрайната и стабилна работа на седиментните микробни горивни клетки. Достатъчно количество въглерод и хранителни елементи ускоряват аклиматизацията на екзоелектрогенните микроорганизми, позволявайки им да генерират по-висока енергия. От друга страна, отклонения в pH, окислително-редукционен потенциал и електропроводимост могат да ограничат активността на електроактивните микроорганизми и да доведат до по-ниски електрически параметри [100].

Друга важна характеристика на използвания субстрат влияещи на мощността на седиментните микробни горивни клетки е, че органичните и хранителните вещества отговорни за бактериалния растеж, не са разпределени равномерно в седимента. В зависимост от дълбочината се наблюдават различия в химичните характеристики на седимента. Това предполага, че екзоелектрогенните микроорганизми ще имат различен достъп до органична материя и/или хранителни вещества и това ще доведе до различни енергийни характеристики в седиментните микробни горивни клетки. От особено значение е това, когато седиментните микробни горивни клетки се прилагат в реални полеви условия, поради което е необходим внимателен предварителен анализ на седиментите преди разполагането на седиментни микробни горивни клетки във водни обекти за практически приложения.

Както беше обсъдено по-горе, ниската проводимост на водата и утайката е една от основните причини за намалената мощност. Следователно методите, които водят до увеличаване проводимостта на седиментите, ще бъдат допринесат за подобряване на работата на седиментните микробни горивни клетки. Трябва да се има предвид, че предварителната обработка на седимента може да доведе до промяна на съотношението между електроактивните бактерии, а от там и върху производителността на седиментните микробни горивни клетки [17].

За да се определи влиянието на характеристиките на използвания субстрат върху работата на седиментните микробни горивни клетки е

проведен експеримент, при който към седимента е добавян торф в различни съотношения. Физико-химичните характеристики на торфа са представени в Таблица 1. За целите на експеримента са конструирани пет варианта на седиментни микробни горивни клетки с различно съотношение на седимент и торф в анодната зона:

Първи вариант – само седимент

Втори вариант – съотношение седимент към торф 3:1

Трети вариант – съотношение седимент към торф 1:1

Четвърти вариант – съотношение седимент към торф 1:3

Пети вариант – само торф

Таблица 1. Физико-химични характеристики на използвания торф

Параметър	Съдържание
Електропроводимост	1 – 2 mS/cm
pH	5.5 – 6.5
Микроелементи	50 mg/l
Желязо	до 65 mg/m ³
Фосфор (P ₂ O ₅)	120 – 300 mg/l
Азот (NH ₄ ⁺ и NO ₃ ⁻)	100 – 250 mg/l
Органика (в сухо вещество)	45 – 52%

След конструирание на клетките и тяхното запълване със субстрат и вода е измервано и записвано напрежението на отворена верига в продължение на месец.

От данните, получени по време на експеримента, се установява най-висока стойност на напрежение на отворена верига в седиментна клетка Вариант 2, със съотношение седимент към торф 3:1. Измереното напрежение се движи в границите 510 – 600 mV. В клетката с използван чист седимент напрежението на отворена верига през последните дни от експеримента се движи в интервала 390 – 410 mV.

Нарастването на съдържанието на торф (трети, четвърти и пети вариант) води до намаляване на напрежението на отворена верига, като най-ниски стойности показва пети вариант на седиментна клетка, запълнена изцяло с торф. При нея напрежението спада под 200 mV в края на експеримента.

След като електрохимичните параметри се стабилизираха бяха свалени поляризационните криви на различните варианти седиментни клетки. Резултатите показваха, че напрежението и плътността на мощността достигат най-високи стойности във втория вариант на седиментна клетка. Достигнатата мощност при този вариант е 17.56 mW/m², при плътност на тока 43.46 mA/m² и приложено съпротивление 400 Ω. Най-ниски електрически параметри са измерени в пети вариант на седиментна клетка. При него плътността на мощността е 3.69 mW/m², а плътността на тока е 23.56 mA/m².

Получените резултати показват, че добавянето на торф към седимента в оптимално съотношение (3:1) значително подобрява електрическите характеристики на седиментните микробни горивни клетки. Това се дължи на по-високото съдържание на органични вещества и хранителни елементи в торфа, които стимулират активността на екзоелектрогенните бактерии и улесняват електронния трансфер. Ниските стойности на напрежение и плътност на мощността при по-високи концентрации на торф (трети, четвърти и пети вариант) се дължи на повишената йонна сила на разтвора, което води до увеличена проводимост на разтвора и нарушава баланса на електрохимичните процеси в клетката. Резултатите при Вариант 1 (чист седимент) се обясняват с ниското съдържание на биогенни и микроелементи в субстрата, което увеличава вътрешното съпротивление на клетката и затруднява движението на протоните през седимента от анодната към катодната зона.

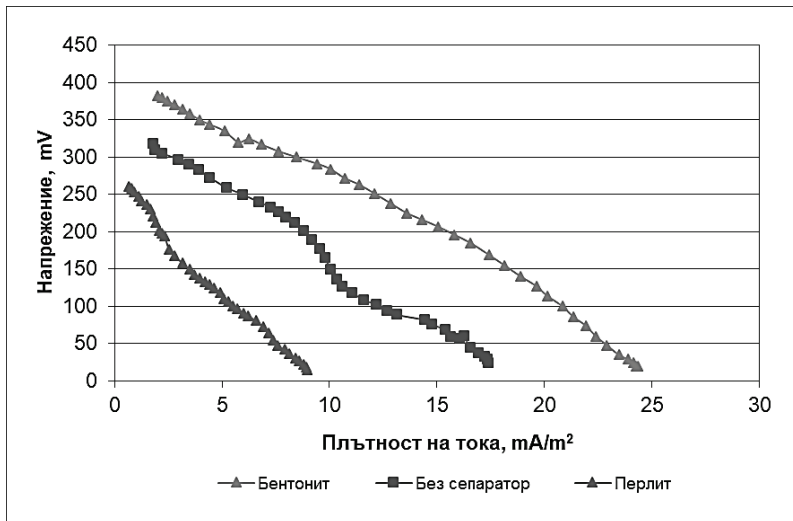
Тези резултати са в съответствие с публикувани данни, според които съдържанието на въглерод и азот в субстрата е пряко свързано с производителност на седиментните микробни горивни клетки [76]. Оптималното количество органични и хранителни вещества ускорява аклиматизацията на екзоелектрогенните бактерии и позволява на седиментните микробни горивни клетки да произвеждат по-високи максимални плътности на мощността.

4.2 Влияние на сепаратора върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки

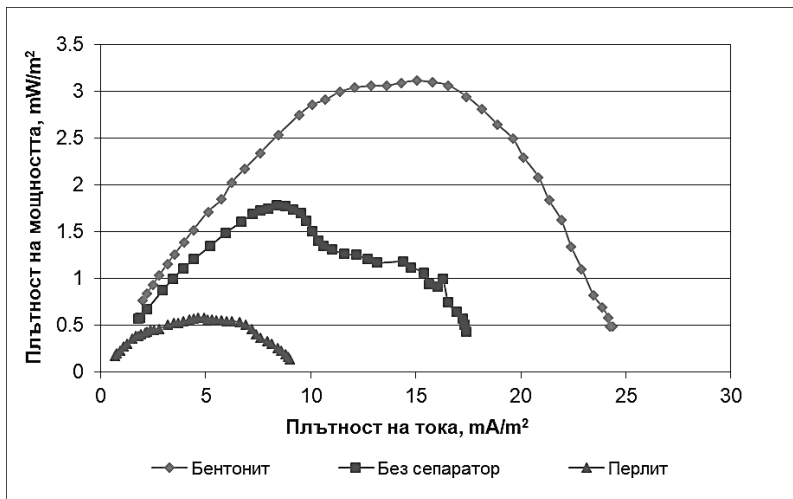
Липсата на ефективен сепаратор в седиментните микробни горивни клетки, води до по-ниска ефективността на електрохимичните реакции и генерирането на енергия в сравнение с традиционните микробни горивни клетки. Също така, липсата на сепаратор може допълнително да увеличи шанса за преминаване на донори/акцептори на електрони между анодната и катодната зона. От друга страна пък, липсата на сепаратор допринася за намаляване на вътрешното съпротивление на клетката и генериране на по-висока мощност. Системата на седиментната микробна горивна клетка може да бъде оптимизирана чрез използване на подходящ сепаратор. Вариантът с йонообменна мембрана за разделяне на анодната и катодната област ще повиши значително генерираната енергия [61]. Въпреки това, този вариант не е особено подходящ при серийно производство поради цената на йонообменната мембрана и идеята на седиментните микробни горивни клетки, като ниско бюджетна технология. Евтини и естествени материали, като солеви мостове, бентонит, перлит и други биха имали по-широко практическо приложение.

Проведен е експеримент, който цели да установи влиянието на сепаратора върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки. За целите на експеримента са конструирани три варианта на седиментни микробни горивни клетки с различен сепаратор между анодната и катодната зона. При първия вариант между анодната и катодната зона е поставен слой от бентонит с дебелина 2 см. Във втория вариант е поставен слой от перлит с дебелина 2 см, а в третия не е поставян сепаратор, а самия седимент е служил като своеобразна мембрана. Сепараторите са избрани с цел да се запази основното предимство на седиментните микробни горивни клетки, а именно ниската им цена.

След стабилизиране на напрежението на отворена верига на конструираните седиментни микробни горивни клетки са измерени основните им електрически параметри. Данните от измерванията са предствени на фигури 8 и 9.



Фигура 8. Волт-амперна характеристика на трите варианта СМГК



Фигура 9. Диманика на мощността на трите варианта СМГК

От представените гафики се вижда, че седиментната микробна горивна клетка с поставен сепаратор от бентонит постига най-високи електрически параметри. Тази клетка достига максимална плътност на

мощността от 3.12 mW/m^2 . Седиментната микробна горивна клетка без сепаратор се характеризира с по-малка плътност на мощността – 1.75 mW/m^2 . Най-ниски електрически параметри са измерени при варианта на седимента микробна горивна клетка с използване на перлит, като сепаратор.

От получените резултат и може да се заключи, че за постигането на максимална ефективност на седиментните микробни горивни клетки е необходимо поставянето на сепаратор между анодната и катодната зона. Това ще спомогне за по-доброто разграничаване на двете зони и процесите, протичащи в тях, както и смесване на реакционните среди. Също така, ще допринесе за поддържане на оптимални условия за микроорганизмите в анодната зона и ще възпрепятства преминаването на кислород и донори/акцептори на електрони между катодната и анодна зона, което би могло да инхибира активността на анаеробните екзоелектрогенни бактерии.

Изборът на подходящ сепаратор за седиментни микробни клетки трябва да бъде балансиран между ефективност и цена. Бентонитът, използван в настоящото изследване, предлага добро съотношение между цена и ефективност, но други материали като йонообменни мембрани могат да осигурят още по-висока производителност, макар и на по-висока цена. Бъдещите изследвания следва да бъдат насочени към разработване на нови, евтини и ефективни сепаратори, които да подобрят производителността на седиментните микробни горивни клетки.

4.3 Влияние на материала на електродите върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки

Материалът на електродите, тяхната геометрия и промени в тяхната повърхност са основни характеристики, които могат да увеличат генерираната енергия от седиментните микробни горивни клетки. Тези характеристики на електродите оказват влияние върху електронния трансфер, прикрепването на екзоелектрогенните микроорганизми и окислително-редукционните реакции [64].

Електродите играят ключова роля в протичането на електрохимичните реакции и оказват силно влияние върху ефективността на седиментните микробни горивни клетки. За да бъдат максимално ефективни, електродните материали трябва да съчетават няколко важни качества – висока електропроводимост, добра биосъвместимост, голяма специфична повърхност, химическа

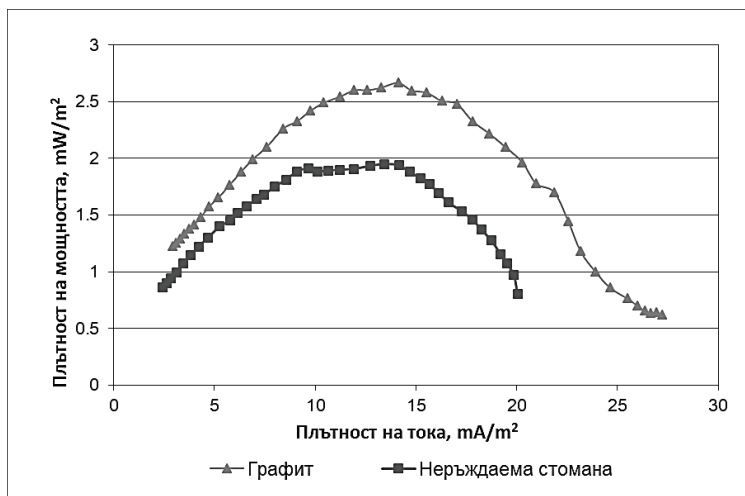
стабилност и устойчивост на корозия. Сред най-често използваните материали са графит, въглеродни материали и електроди от различни благородни и неблагородни метали. Различията в химичния състав, формата и порьозността на тези материали обаче водят до значителни вариации в произведената електрическа мощност. Създаването на електроди от композитни въглеродни материали може да подобри електрохимичната производителност на седиментните микробни горивни клетки и да увеличи активната реакционна площ спрямо използването на еднородни материали [1]. Практическото приложение на катализаторите е ограничено от високата им цена, краткия експлоатационен живот и риска от вторично замърсяване, което налага внимателен подбор. Увеличаването на повърхността на електродите спомага за преодоляване на ограниченията, свързани с масовия трансфер, и ускорява движението на електроните, като по този начин повишава ефективността на производството на електрическа енергия в седиментните микробни горивни клетки. Освен материалът на електрода, неговата геометрия също оказва съществено въздействие върху функционирането на седиментните микробни горивни клетки. Изборът на форма с по-голяма специфична повърхностна може да подобри електрическата производителност, тъй като позволява по-ефективна дифузия на субстрата и прикрепване на електроактивните микроорганизми. За да се подобри адхезията на микроорганизмите повърхността на анода може да бъде предтретирана [61].

За да бъде установено влиянието на материала на електродите върху ефективността на седиментните микробни горивни клетки е проведен експеримент, като са конструирани два варианта на седиментни клетки – с електроди от неръждаема стомана и с електроди от графит. След конструирането на двете клетки, те са оставени да достигнат базовото си напрежение. Измерени са основните електрически параметри, като резултатите от изследването са представени на фигури 10 и 11.

Резултатите от експеримента показват, че по-високи стойности на електрическите параметри са постигнати при използването на електроди от графит. Измерената плътност на мощността при този вариант е $2,64 \text{ mW/m}^2$. При използването на електроди от неръждаема стомана е достигната плътност на мощността от $1,96 \text{ mW/m}^2$.



Фигура 10. Волт-амперни характеристики на СМГК-и с електроди от различен материал



Фигура 11. Динамика на мощността на СМГК-и с електроди от различен материал

Получените резултати могат да се обяснят с факта, че графитните електроди имат по-висока специфична повърхност и висока

електропроводимост, което улеснява дифузията на субстрата, окислително-редукционните реакции и адхезията на електроактивните бактерии към него. Въпреки това, те са крехки и лесно се пасивират, особено в анодната зона. Това води до намаляване на контактната им повърхност и съответно – до понижаване на ефективността. Всичко това води до преосмислянето на избора на графитни електроди при дългосрочна работа на седиментните микробни клетки в реални условия.

Въпреки генерираната по-ниска енергия от седиментната микробна горивна клетка с електроди от неръждаема стомана, използването на електроди от такъв материал предлага редица предимства като корозионна устойчивост, лесна, добра електрическа проводимост, стабилност при температурни колебания и не на последно място ниска цена. Тези характеристики могат да направят неръждаемата стомана предпочитан материал за електроди в седиментните микробни горивни клетки при дългосрочна устойчива работа.

4.4 Влияние на микробните процеси в анодната зона върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки

Микробните процеси, които протичат в анодната зона, както и активността на микроорганизмите могат да оказват съществено влияние върху ефективността на седиментните микробни горивни клетки. Поради това е проведен експеримент, който цели да установи влиянието на четири микробни процеса – ферментация на захари, денитрификация, сулфат-редукция и фери-редукция, протичащи в анодната зона, върху работата на седиментни микробни горивни клетки.

Ферментацията на захари в почвени условия представлява анаеробно разграждане на прости захари (глюкоза, фруктоза, захароза) от почвени микроорганизми, при което се образуват органични киселини, алкохоли, газове (CO_2 , H_2) и други междинни продукти. Този процес е особено активен в зони с ограничен достъп на кислород, каквато е анаеробната зона на седиментните микробни горивни клетки. Най-важните автохтонни групи микроорганизми, които осъществяват ферментация на захари в почвата, са представители на родовете *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*. Те извършват млечнокисела, смесенокисела, бутилатна и други видове ферментации. Освен тях, дрожди от род *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia* са особено активни при по-ниско рН и по-висока концентрация на захари. Някои видове актиномицети също могат да ферментират захари, макар и по-слабо от бактериите и гъбите.

Микробната денитрификация е анаеробен процес, при който нитратите (NO_3^-) в почвата се редуцират последователно до нитрити (NO_2^-), диазотен окис (N_2O), азотен окис (NO) и накрая до газ азот (N_2), който се отделя в атмосферата. Денитрификацията в почвата се извършва от разнообразни хетеротрофни и автотрофни бактерии. Най-важните родове са:

- Хетеротрофни бактерии – *Pseudomonas*, *Paracoccus*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Thiobacillus denitrificans*. Те използват органични вещества като източник на енергия.
- Автотрофни бактерии – *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Nitrococcus*. Те използват неорганични съединения като източник на енергия.

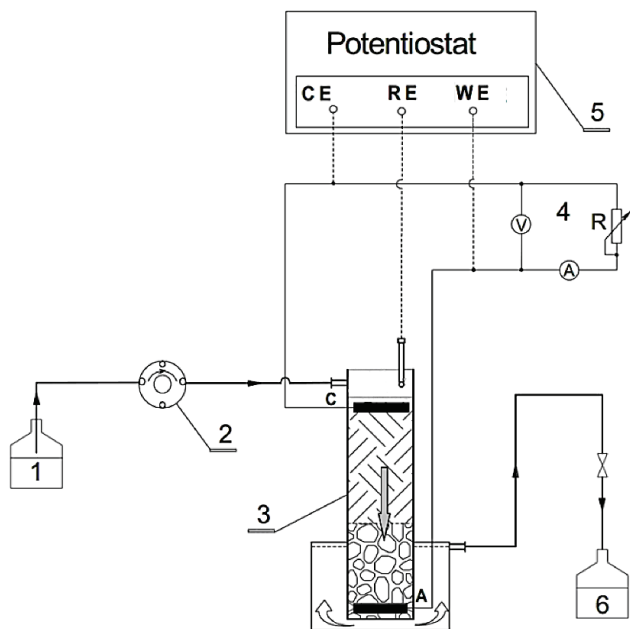
Денитрификацията протича при нисък окислително редукционен потенциал и се осъществява в анаеробите зони на почвата и тези с висока влажност. Поради тези причини е изключително подходящ процес за симулиране в анодната зона на седиментните микробни горивни клетки и изследване влиянието на процеса върху ефективността на клетката.

Микробната сулфат редукция е анаеробен процес, при който сулфатните йони (SO_4^{2-}) се редуцират до сероводород (H_2S), сулфиди (S^{2-}) или елементарна сяра (S^0). В седиментните микробни горивни клетки анодната зона е анаеробна среда, богата на органична материя и често съдържаща сулфати. В такива условия микробната сулфат редукция играе ключова роля като допълнителен път за разграждане на органични субстрати и като източник на електрони за електрогенните бактерии [8]. За разлика от класическите почвени системи, където микробната сулфат-редукция често се разглежда като нежелан процес (поради образуването на токсичен H_2S), в седиментните микробни горивни клетки тя може да бъде управлявана и използвана за повишаване на ефективността на електрогенерацията. Едни от най-разпространените сулфат-редуциращи микроорганизми в крайречните и речни седименти принадлежат към следните родове – *Desulfovibrio*, *Desulfobacter*, *Desulfobulbus*, *Desulfomicrobium*, *Desulfococcus* и други. *Desulfovibrio* и *Desulfobacter* обикновено са най-доминиращите, като разпределението им зависи от конкретните условия на средата. Микробната сулфат редукция в анодната зона на седиментните микробни горивни клетки може значително да повиши ефективността и устойчивостта на тези клетки.

Фери-редукцията е анаеробен процес, при който микроорганизмите редуцират железните йони от трета валентност (Fe^{3+}) до втора валентност (Fe^{2+}). Фери-редукцията се извършва от желязо-редуциращи анаеробни и факултативно анаеробни бактерии, като най-важни родове са *Shewanella*, *Geobacter*, *Geothrix*, *Rhodoferrax*, *Pelobacter* [17]. Това са естествено населяващи почвата микроорганизми, които използват Fe^{3+} като краен електронен акцептор вместо кислород. Микробната фери-редукция в анодната зона на седиментните микробни горивни клетки е процес, който може да повиши ефективността и устойчивостта на тези системи. Чрез разбиране на взаимодействията между желязо-редуциращите микроорганизми и електрогенните бактерии и чрез прилагане на подходящи стратегии за оптимизация, фери-редукцията може да се превърне в ценен инструмент за повичаване ефективността на седиментните микробни горивни клетки. Съдържанието на Fe^{3+} в субстрата на седиментните микробни горивни клетки е изключително важно, защото желязоредуциращите екзоелектрогенни бактерии (напр. *Geobacter*, *Shewanella*, *Geothrix*) се развиват по-добре в среда с висока концентрация на желязо, което от води до по-висока ефективност на клетките [18]. Тези бактерии произвеждат специфични електронни посредници които усилват електронния трансфер към електрода.

Експериментите целящи установяване влиянието на тези процеси върху ефективността на седиментните микробни горивни клетки са проведени в друг модел клетка, чиято схема е представена на фигура 12.

Седиментната микробна горивна клетка представлява PVC съд с цилиндрична форма и обем 3650 cm^3 . На дъното е поставен седем сантиметров слой чакъл равняващ се на приблизително 3 килограма. Зърнометричния състав е от 10 до 20 мм. В средата на цилиндричния съд е поставена PVC тръба с размери 110 мм диаметър и 440 мм височина. Тръбата е перфорирана в основата. Електрод от неръждаема стомана AISI 304 с площ 364 cm^2 е разположен на дъното на тръбата. Електродът също е покрит с чакъл, с дебелина на слоя 7 см. За субстрат е използвана смес от седимент и торф в съотношение 3:1, с която е запълнена тръбата. Клетката е запълнена с вода, като в повърхността ѝ е поставен втори електрод (катод) от същия материал, но с въглеродно покритие. Катодът е с дължина 400 мм и ширина 20 мм. И двата електрода са навити спираловидно.



Фигура 12. Схема на лабораторната инсталация за провеждане на експеримента

1 – Входящ разтвор; 2 – Помпа; 3 Седиментна микробна горивна клетка; 4 – Мултиметър; 5 – Потенциостат; 6 – Съд за изходящ разтвор; C – Катод; A – Анод; CE – Противоелектрод; RE – Сравнителен електрод; WE – Работен електрод; R – Съпротивление [38]

Целта на проведения експеримент бе да се установи как различни анаеробни микробни процеси влияят върху електрическите характеристики и ефективността на седиментни микробни горивни клетки. За целта в анодната камера на конструираните клетки са подавани синтетични разтвори с различен състав (Таблица 2), всеки от които стимулира специфичен микробен процес.

Таблица 2. Състав на анолита за осъществяване на изследваните микробни процеси

Процес	Начален разтвор
Ферментация	NH ₄ Cl 0.02 g/l, MgSO ₄ 0.01 g/l, K ₂ HPO ₄ 0.01 g/l, Пептон 0.1 g/l, <u>Глюкоза 0.4 g/l</u>
Денитрификация	NH ₄ Cl 0.02 g/l, MgSO ₄ 0.01 g/l, K ₂ HPO ₄ 0.01 g/l, Пептон 0.1 g/l, Глюкоза 0.4 g/l, <u>NO₃⁻ 1 g/l</u>
Сулфат редукция	NH ₄ Cl 0.02 g/l, MgSO ₄ 0.01 g/l, K ₂ HPO ₄ 0.01 g/l, Пептон 0.1 g/l, Глюкоза 0.4 g/l, <u>SO₄²⁻ 1 g/l</u>
Фериредукция	NH ₄ Cl 0.02 g/l, MgSO ₄ 0.01 g/l, K ₂ HPO ₄ 0.01 g/l, Пептон 0.1 g/l, Глюкоза 0.4 g/l, <u>Fe(OH)₃* 1 g/l</u>

*Fe(OH)₃ е получен при реакция между на железен хлорид и натриев хидроксид. Получената утайка е промита с дестилирана вода.

Използвани са четири различни анолитни разтвора, всеки съдържащ глюкоза, пептон, минерални соли и специфичен електронен акцептор: нитрати (NO₃⁻), сулфати (SO₄²⁻) или железни оксиди [Fe(OH)₃]. Като контрола е използван вариант с вода в анодната зона. Всеки процес е проследяван в продължение на седем дни, като през това време са регистрирани промените в pH, окислително-редукционния потенциал (Eh), електропроводимостта, концентрацията на йони и числеността на основни физиологични групи микроорганизми. Освен това са измерени електрическите параметри на седиментните микробни горивни клетки – плътност на мощността, плътност на тока и напрежение.

В таблици 3 и 4 са представени данни за изследваните параметри в анолита на седиментните микробни горивни клетки в началото и края на изследваните микробиологични процеси.

Таблица 3. Динамика на основни химични характеристики на анолита при протичане на изследваните микробиологични процеси

Микробен процес	Eh, mV нач.	Eh, mV край	ЕС, mS/cm нач.	ЕС, mS/cm край	pH нач.	pH край
Ферментация	-47	-58	1.21	0.69	6.83	6.69
Денитрификация	-62	-68	2.34	1.97	6.57	6.71
Сулфат редукция	-70	-225	3.12	2.70	6.49	6.62
Фериредукция	-140	-136	2.86	2.27	6.66	6.77

При ферментацията на глюкозата е наблюдавано понижаване на рН поради натрупване на органични киселини. При останалите три микробни процеса рН се е повишило, вследствие на консумация на протони или образуване на бикарбонатни йони. Най-редукционни условия (най-ниски Eh стойности) са установени при сулфат-редукция и фери-редукция, което кореспондира с окислително-редукционните потенциали на съответните редокс двойки. При всички процеси се наблюдава намаляване на електропроводимостта, което се дължи на трансформация и асимилация на разтворените йони от микроорганизмите.

Концентрацията на биогенни елементи (азот, фосфор и сяра) в анолита е била по-висока от тази в началните разтвори, което се обяснява с освобождаването им от торфа, използван като субстрат. Въпреки това, във времето концентрацията на тези елементи е намаляла поради тяхното използване като крайни акцептори на електрони и асимилация от микрофлората в анодната зона. От получените резултати се установява, че с най-висока скорост протича микробната сулфат-редукция, следвана от денитрификацията и фери-редукцията. Съответните стойности за микробните процеси са 138.3 mg/l.d, 131.8 mg/l.d и 12.1 mg/l.d.

Перманганатната окисляемост е намаляла при всички изследвани процеси, което показва бързо разграждането на органичните вещества от микроорганизмите. Най-високи стойности на този показател са отчетени при ферментацията, където се образуват значителни количества органични киселини.

Таблица 4. Динамика на перманганатната окисляемост и основни компоненти в анолита по време на експеримента

	Ферментация	Нитрификация	Сулфат-редукция	Фери-редукция
ПО, mg/l начало	295.30	264.70	233.60	247,80
ПО, mg/l край	194.40	124.20	115.20	120.60
PO ₄ ³⁻ , mg/l начало	17.33	20.64	24.13	25.72
PO ₄ ³⁻ , mg/l край	9.47	13.95	14.70	19.70
NO ₃ ⁻ , mg/l начало	78.60	1012.60	75.29	75.68
NO ₃ ⁻ , mg/l край	59.59	90.22	67.06	66.86
NH ₄ ⁺ , mg/l начало	28.43	32.33	24.61	39.17
NH ₄ ⁺ , mg/l край	22.86	19.13	11.61	13.09
SO ₄ ²⁻ , mg/l начало	14.60	15.90	1014.50	23.40
SO ₄ ²⁻ , mg/l край	8.60	7.30	46.10	9.10
Fe ²⁺ , mg/l начало	3.60	4.10	3.90	2.80
Fe ²⁺ , mg/l край	2.40	3.30	2.70	84.50

Микробиологичното изследване (таблица 5) потвърждават протичането на целевите процеси. Чрез добавяне на лесно усвоими източници на въглерод и енергия, се постига нарастване на числеността на всички изследвани физиологични групи микроорганизми с до 2 порядъка. При липса на крайни акцептори на електрони протичат разнообразни ферментационни процеси на глюкозата, като доминатни популации в биоценозата са анаеробните хетеротрофни бактерии. Денитрифициращите бактерии са с най-висока численост (7.0×10^6 cells/ml) при добавянето на нитрати в такива концентрации, които стимулират протичането на микробна денитрификация. При добавянето към анолита на сулфати, използвани като краен акцептор на електрони, се наблюдава повишаване числеността на сулфат-редуциращите бактерии и те достигат 6.0×10^7 кл./ml в края на експеримента. Числеността на Fe³⁺-редуциращите бактерии е най-висок при седиментната клетката с разтвор с добавени ферийони под формата на Fe(OH)₃.

Таблица 5. Численост на различните групи микроорганизми [39]

Група микро- организми	Клетки/мл				
	Преди добавяне на разтвор	Фермен- тация	Денитри- фикация	Сулфат- редукция	Fe ³⁺ - редукция
Аеробни хетеротрофни бактерии	3.8×10^5	9.1×10^7	2.5×10^7	5.6×10^6	3.8×10^7
Анаеробни хетеротрофни бактерии	7.0×10^5	2.5×10^7	7.0×10^6	2.5×10^6	6.5×10^6
Бактерии, ферментиращи въглехидрати с продукция на газ	2.0×10^3	2.5×10^6	1.3×10^4	5.0×10^4	6.0×10^4
Денитрифицир ащи бактерии	2.5×10^5	1.1×10^4	7.0×10^6	2.5×10^5	7.0×10^4
Fe ³⁺ - редуциращи бактерии	6.0×10^4	7.0×10^5	1.3×10^5	5.0×10^4	2.5×10^6
Сулфат- редуциращи бактерии	5.0×10^2	2.5×10^3	5.0×10^3	6.0×10^7	5.0×10^3

От направените електрическите измервания на седиментните микробни горивни клетки се установява, че най-високи стойности на напрежение, плътност на тока и плътност на мощността са постигнати при протичане на процеса сулфат-редукцията – напрежение при отворена верига 720 mV, плътност на мощността 11.75 mW/m² при съпротивление 200 Ω и максимална плътност на тока 42.52 mA/m². Ферментацията е довела до малко по-ниски стойности, докато фери-редукцията и денитрификацията са показа значително по-слаби резултати. Най-ниски стойности на електрическите параметри бяха установени при варианта, при който анодната зона беше запълнена с вода. Данните от експеримента сочат, че при протичането на изследваните микробни процеси се наблюдава значително повишение на ефективността на седиментните микробни горивни клетки, в

сравнение с варианта, чиято анодната зона е пълна с вода. Цикличните волт-амперни характеристики също потвърждават, че протичането на микробна сулфат-редукцията в анодната зона осигурява най-висока ефективност на седиментните микробни горивни клетки. Амплитудите на потенциалите при другите процеси са по-ниски, като същото се установява и за площите на получените хистерезиси [39].

4.5 Влияние засаждането и вида на растителността върху ефективността на седиментните микробни горивни клетки

Растителните седиментни микробни горивни клетки, представляват ново поколение седиментни микробни горивни клетки, при които биологичните взаимодействия между растения и микроорганизми се използват за едновременно третиране на замърсители и производство на електроенергия [21]. Настоящото точка е насочено към изследване и получаване на данни за производителността на седиментните микробни горивни клетки и изясняване на ключовите механизми, реализирани чрез засаждане на водни растения в клетките. Ефективността на седиментните микробни горивни клетки е пряко зависима от концентрацията на биоразградиими органични вещества и кинетиката на катодната реакция. Въвеждането на растения в системата осигурява постоянен приток на коренови ексудати и кислород, които функционират съответно като субстрати за електроактивните бактерии в анода и като електронни акцептори в катода, което води до повишена ефективност.

В растителните седиментни микробни горивни клетки растенията – със своята биомаса, корени и стъбла, играят съществена роля в разграждането на замърсители и генерирането на електричество. Вегетиращата растителност изпълнява няколко функции – фотосинтеза, отделяне на кислород и екскреция на органични съединения, които служат като източник на въглерод за ризосферните микроорганизми [92]. Тези микроорганизми трансформират слънчевата и биохимична енергия в биоелектричество. Растенията имат многостранна роля – осигуряват въглерод за микроорганизмите, доставят хранителни вещества, усвояват замърсители, формират субстрат за развитие на биофилм и регулират водния поток във седиментните клетки. Допълнително, тяхното присъствие увеличава микробната плътност в катодната зона и стимулира електрогенната активност в анодната зона [68].

Органичните съединения, отделяни от корените, се разграждат от ризосферните микроорганизми, при което се образуват CO_2 , електрони

и протони. Аналогично на традиционните седиментни микробни горивни клетки, протоните мигрират от анода към катода през седимента, създавайки естествен редокс градиент, а електроните се събират на анода. Чрез непрекъснатото отделяне на органични субстрати под формата на коренови ексудати, растенията преодоляват проблема с изчерпването на органичната материя в седимента и осигуряват практически неограничена работа, базирана на фотосинтезата.

При седиментните микробни горивни клетки, комбинирани с водорасли, фотосинтетичната активност на водораслите допълнително повишава производството на кислород в катодната зона съпроводено с консумация на CO_2 . Важна характеристика на седиментните клетки с водорасли е способността им да улавят въглеродния диоксид, отделян при разграждането на органични вещества в анодната зона, като по този начин допринасят за постигане на въглеродна неутралност. Това се дължи основно на повишаването на кислородното съдържание в католита вследствие на фотосинтезата, като неговата концентрация може да достигне до 14 mg/L. Наред с това, присъствието на водорасли води до отстраняване на химичната потребност от кислород (ХПК) и амониевия азот. Въвеждането на водорасли в катодната зона за повишаване концентрацията на кислород, необходим за катодната редукция, в комбинация със синергичните ефекти между водораслите и електроактивните микроорганизми, потенциално може да позволява на седиментните микробни горивни клетки да генерират значително по-висока максимална мощност в сравнение със стандартните седиментни клетки [57].

Проведен е експеримент целящ оценка на ефективността на седиментни микробни горивни клетки при вегетация на различни видове водолюбива растителност в сравнение с контролна клетка без растения. За целта са конструирани пет седиментни клетки. Три от клетките са засадени с водолюбиви растения – остра острица, двуредна острица и теснолистен папур (*Carex acuta*, *Carex disticha* и *Typha angustifolia*). Четвъртата клетка е инокулирана със смесена култура синьозелени водорасли (*Oscillatoria*, *Scenedesmus* и *Chlorella*), а петата служи за контрола и не е засадена с растителност (Таблица 6).

Таблица 6. Схема на експеримента

Клетка	Засадена растителност
Вариант 1	Остра острица (<i>Carex acuta</i>)
Вариант 2	Двуредна острица (<i>Carex disticha</i>)
Вариант 3	Теснолистен папур (<i>Typha angustipholia</i>)
Вариант 4	Синьозелени водорасли (р. <i>Oscillatoria</i> , <i>Chlorella</i> и <i>Scenedesmus</i>)
Вариант 5	Контрола без растения и водорасли

След двумесечен период на вегетация са анализирани основни електрически параметри, както и химични показатели на водната среда – рН, окислително-редукционен потенциал (Eh), електропроводимост (ЕС), перманганатна окисляемост (ПО) и концентрации на фосфати (PO_4^{3-}), нитрати (NO_3^-) и амониев азот (NH_4^+). Данни от получените резултати са представени в таблица 7.

Таблица 7. Основни химични параметри след двумесечна вегетация на растенията

Вариант	рН	Eh, mV	ЕС, mS/cm	ПО, mg/l	PO_4^{3-} , mg/l	NO_3^- , mg/l	NH_4^+ , mg/l
1	6.68	310	1.1	27.02	3.46	1.25	4.66
2	6.7	349	0.76	27.87	2.06	0.8	2.92
3	6.44	335	0.68	20.63	3.75	0.97	4.25
4	6.64	290	0.71	47.15	4.69	1.33	7.55
контрола	6.53	276	1.12	37.02	5.04	2.58	6.73

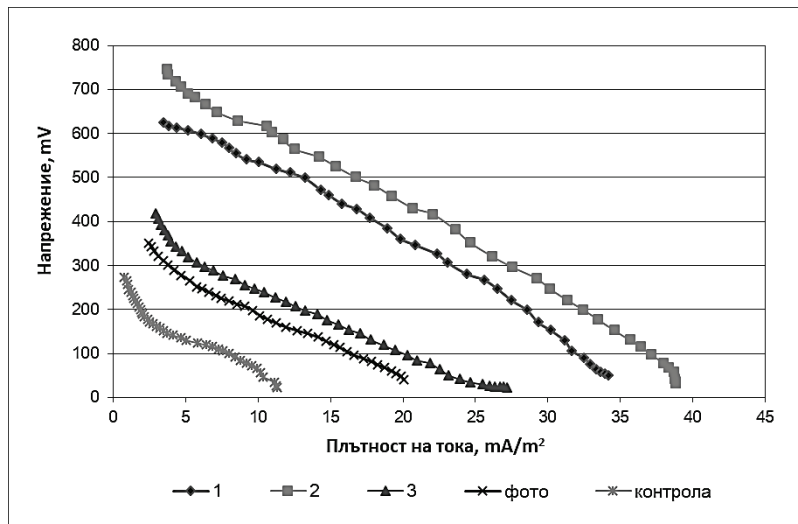
Установено е, че рН във всички варианти варира в тесен диапазон от 6.44 до 6.7, като по-окислителни условия ($E_h = 310\text{--}349$ mV) са характерни за вариантите с висши растения, което се свързва с интензивни фотосинтетични процеси. Данните за ПО показват по-ниска концентрация на разтворени органични вещества при вариантите с растения спрямо този с водорасли и контролата. Най-високи стойности на ПО (47.15 mg/l) са регистрирани във варианта с водорасли, вероятно поради отделянето на органични съединения от тези организми. Концентрациите на биогенни елементи са по-ниски при всички

варианти с растения в сравнение с контролата, което се дължи на тяхната асимилация от вегетиращите видове.

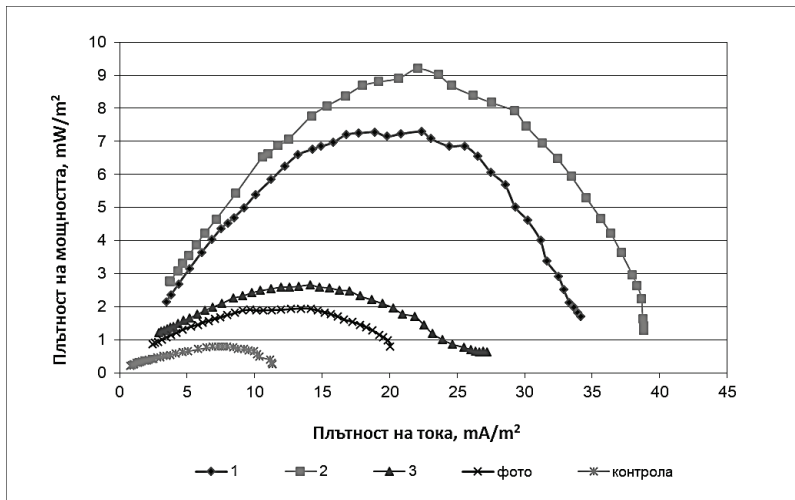
Измерванията на електрическите параметри показват, че най-високи стойности на напрежението и плътността на мощността са достигнати в клетката засадена с двуредна острица. Напрежението на отворена верига е 791 mV, а плътността на мощността – 9.2 mW/m² при приложено съпротивление 600 Ω .

По-ниски са стойностите измерени при клетката засадена с остра острица (Вариант 1). Вариантите 3 (теснолистен папур) и 4 (водорасли) се характеризират със значително по-ниско напрежение и плътност на мощността, но резултатите показват, че наличието на фотосинтезиращи организми е от важно значение за създаване на потенциална разлика между катодната и анодната зона. Най-ниската максимална плътност на мощността – 0,8 mW/m² – е отчетена в контролата без вегетираща растителност.

С цел сравнимост на данните от експеримента, на фигури 13 и 14 са представени волт-амперните характеристики и динамиката на мощността на петте варианта седиментни микробни горивни клетки.



Фигура 13. Волт-амперни характеристики на седиментните микробни горивни клетки с различна растителност



Фигура 14. Динамика на мощността на седиментните микробни горивни клетки с различна растителност

Цикличните волт-амперни характеристики (CVA, фиг. 15) на петте варианта допълнително потвърждават, че вариант 2 е най-ефективен. Амплитудите на потенциалите и площите на получените хистерезиси са най-високи именно при този вариант, докато най-лоши електрохимични характеристики са установени при контролата.



Фигура 15. Сваляне на циклични волт-амперни характериситки на седиментните микробни горивни клетки със засадена растителност

В заключение, резултатите от изследването демонстрират, че използването на подходящи растителни видове в седиментни микробни горивни клетки може значително да повиши тяхната ефективност. Сред изследваните варианти, двуредната острица (*Carex disticha*) показва най-добри резултати по отношение на генерираното напрежение и плътност на мощността, което я прави перспективен избор за приложение в технологии за едновременно третиране на замърсени води и производство на електроенергия [38].

4.6 Влияние на йонната сила на разтвора върху ефективността на седиментни микробни горивни клетки

Йонната сила на електролита (анолита и католита) е един от най-важните параметри, определящи ефективността на седиментните микробни горивни клетки. Тя представлява мярка за концентрацията на йоните в разтвора и оказва пряко въздействие върху електропроводимостта, дифузията на веществата и активността на микроорганизмите [74]. Ефективността на сладководните седиментни микробни горивни клетки е ограничена поради няколко ключови фактора. Ниската йонна концентрация и съответно електропроводимостта на сладководните среди, както и високото вътрешно съпротивление на системата, водят до значително по-ниска производителност в сравнение с морските седиментни микробни горивни клетки [31].

Подобрение на производителността може да бъде постигнато чрез повишаване проводимостта на католита и анолита. Повишаването на йонната сила води до увеличаване на електропроводимостта на разтвора. Това намалява омичното съпротивление в системата, което е особено важно при седиментните микробни горивни клетки, където вътрешното съпротивление често е лимитиращ фактор. Намаленото съпротивление улеснява движението на електроните и протоните между анода и катода, което директно повишава генерирания ток и мощност.

Йонната сила на разтвора оказва влияние и върху жизнената дейност и активността на електроактивните микроорганизми. Екстремно ниската йонна сила може да повлияе негативно върху осмотичния баланс на клетките и да намали тяхната жизнеспособност. Оптималната йонна сила поддържа стабилна клетъчна среда и благоприятства растежа и метаболитната активност на електроактивните бактерии [18].

Добавянето на соли към анолита и/или католита може да повиши йонната сила и да подобри производителността на седиментните микробни горивни клетки. Въпреки това, трябва да се внимава с концентрацията, тъй като прекомерното количество соли може да инхибира активността на някои микроорганизми. При висока концентрация на биогенни елементи може да се увеличи конкуренцията между различните микроорганизми в системата. Това може да доведе до изместване на екзоелектрогенните бактерии от други видове, които не участват в производството на електроенергия.

Високата концентрация на хлоридни йони (Cl^-), например при използване на NaCl , може да ускори корозията на металните електроди (особено желязо и стомана). Това скъсява живота на системата и изисква по-честа подмяна на електродите. Макар че високата йонна сила обикновено намалява омичното съпротивление, при прекомерно високи концентрации може да се получи обратен ефект. Това се дължи на увеличената вискозност на разтвора и по-бавната дифузия на по-големи молекули, което може да ограничи транспорта на електрони и протони [11].

Изясняването на влиянието на йонната сила на електролитите е особено важно за повишаване на ефективността на седиментните микробни горивни клетки. Балансът между електропроводимост, дифузия и клетъчна активност трябва да бъде внимателно оптимизиран, за да се постигне стабилна работа и максимално генериране на електроенергия от тези системи.

За да се проучи как йонната сила на разтвора влияе върху работата на седиментни микробни горивни клетки със засадена растителност (фигура 16), бяха проведени експерименти с постепенно увеличаване на концентрацията на биогенни елементи. Към всяка клетка на два етапа се добавяни KH_2PO_4 , KNO_3 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, като крайните им концентрации са показани в Таблица 8. Течната фаза от всяка клетка първо се извличаше, добавяха се посочените източници на азот и фосфор и след това беше връщана обратно.

Пет дни след добавянето на биогенните елементи са проведени измервания на основни химични параметри на водата в катодните зони на клетките, представени в Таблица 9. Също така са измерени и сравнени електрическите параметри на клетките.

Таблица 8. Концентрации на биогенни елементи, в течната фаза на седиментните клетки.

Биогенен елемент	Етап I Концентрация в течната фаза, mg/l	Етап II Концентрация в течната фаза, mg/l
PO ₄ ³⁻	25	50
NO ₃ ⁻	50	100
NH ₄ ⁺	25	50

Таблица 9. Основни химични параметри след етап I

Клетка	pH	Eh, mV	ЕС, mS/cm	ПО, mg/l	PO ₄ ³⁻ , mg/l	NO ₃ ⁻ , mg/l	NH ₄ ⁺ , mg/l
1	7.29	261	1.25	62.34	15.36	24.82	14.22
2	7.28	271	0.83	65.15	16.71	22.17	12.73
3	6.92	266	1.12	59.61	17.82	21.57	13.31
4	7.74	259	0.94	89.21	19.94	37.13	20.16
контрола	7.33	182	1.31	80.23	22.41	42.71	23.51

Както се вижда от представените данни, при всички варианти pH се повишава, поради внесените соли и протичането на микробни процеси като сулфат-редукция и денитрификация в анаеробните зони. Хомогенизирането на разтвора, поради изтеглянето и вкарването на нов разтвор в началото на експеримента, води до равномерно разпределение на органичните вещества и по-високи стойности на перманганатната окисляемост в повърхностния слой (62–89 mg/l). Това създава благоприятни условия за развитие на аеробни микроорганизми и понижава стойностите на Eh. Наблюдава се и активно усвояване на биогенните елементи от микроорганизмите, водораслите и най-вече от растенията.

От свалените електрически параметри на различните варианти седиментни микробни горивни клетки със засадена растителност, най-високи стойности на напрежение и плътност на мощността са отчетени при варианта с двуредна острица – *Carex disticha*, където напрежението

при отворена верига е 710 mV, а плътността на мощността достига 6.4 mW/m². Най-ниска ефективност е измерена в седиментната клетка без растителност.

При втория етап на добавяне на биогенни елементи (Таблица 10) отново се наблюдава повишаване на pH и понижаване на Eh. Данните показват бърза асимилация на елементите, особено от висшите растения. В седиментната клетка с водорасли концентрациите на фосфати, нитрати и амониев азот остават близки до тези измерени в клетката без растителност, поради по-малката биомаса в сравнение с клетките с висша растителност.

Таблица 10. Основни химични параметри след етап II

Вариант	pH	Eh, mV	EC, mS/cm	ПО, mg/l	PO ₄ ³⁻ mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	NH ₄ ⁺ mg/l
1	7.43	245	1.43	98.65	29.14	68.29	31.15
2	7.39	256	1.15	103.5	30.08	65.69	29.36
3	7.24	238	1.29	95.61	32.59	62.05	33.57
4	7.92	243	1.21	129.42	42.74	84.41	44.65
контрола	7.51	172	1.58	121.01	43.84	86.32	45.91

След второто добавяне на биогенни елементи най-високо напрежение при отворена верига отново е отчетено при седиментна клетка със засадена двуредна острица – *Carex disticha*. Въпреки това, най-ефективна се оказва клетката с остра острица (*Carex acuta*), при която максималната плътност на мощността достига 5.1 mW/m² при съпротивление 800 Ω.

При сравняване на електрическите параметри на клетките преди добавяне на биогенни елементи, след първи етап и след втори етап могат да бъдат направени интересни заключения. От получените резултати се установява, че клетките със засадена висша растителност показват по-висока ефективност след първия етап на добавяне на биогенни елементи. Това се свързва с асимилирането на повече хранителни вещества от растенията и по-добрата вегетация. При втория етап на добавяне на биогенни елементи се наблюдава влошаване на електрическите параметри, свързано с увеличената проводимост на разтвора и слоя между анодната и катодната зона.

При вариантите с водорасли и без растителност ефективността намалява още след първото добавяне на биогенни елементи. Поради липсата на висша растителност и значително количество биомаса, биогенните елементи не се усвояват толкова бързо и водят до прекомерно увеличаване на електропроводимостта между анодната и катодната зона.

В заключение можем да кажем, че увеличаването на йонната сила на разтвора чрез добавяне на биогенни елементи води до положителен ефект върху електрическите параметри на седиментните микробни горивни клетки със засадена растителност, поради осигуряването на хранителни вещества за висшите растения и по-добрата им вегетация. Обратно, увеличаването на йонната сила на разтвора чрез добавяне на високи концентрации биогенни елементи на седиментни микробни горивни клетки влошава тяхната ефективност поради липсата на голямо количество биомаса, която да ги усвои, което води до увеличаване на проводимостта на слоя между анодната и катодната зона. Внасянето на ниски концентрации биогенни елементи биха подобрили проводимостта на бедни седименти и благоприятствали развитието и плътността на електроактивните микроорганизми, с което да се повиши ефективността на седиментните микробни горивни клетки. За оптимална работа на седиментните микробни горивни клетки е необходимо да се направи оптимален баланс между силата на йонния разтвор и спецификите на клетката, характеристиките на изходния седимент и условията, в които ще работи.



Фигура 16. Седиментни клетки с вегетиращи растения, микроводорасли и контрола

ГЛАВА V. МОНИТОРИНГ НА ВОДИ ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ ЧРЕЗ СМГК-БАЗИРАНИ БИОСЕНЗОРИ

Антропогенното замърсяване на води с тежки метали получава сериозно внимание в световен мащаб поради тяхната токсичност, устойчивост в околната среда и бионаличност [32]. Разработването и внедряването на сензори за ранно предупреждение и мониторинг в реално време е ключово за предприемането на своевременни мерки и предотвратяване на сериозни замърсявания [46]. Конвенционалните методи за мониторинг на качеството на водата разчитат на периодично вземане на проби и физикохимични лабораторни анализи, чрез които може да се получи подробна информация за замърсяването с тежки метали. Въпреки това, вземането на проби и техния анализ отнемат много време и могат да пропуснат събития на замърсяване. Всичко това прави много трудно своевременното предупреждение за замърсяване с тежки метали [69].

Както вече бе споменато приложението на класическите микробните горивни клетки като устройства за мониторинг на води замърсени с тежки метали имат някои основни недостатъци. Необходими са няколко седмици за инокулиране и аклиматизация на електроактивните микроорганизми в анодната камера. Това ги прави непрактични при мониторинг на неочакван токсичен шок във води, тъй като замърсители биха инхибирали микроорганизмите и дори могат да причинят непоправими щети, правейки невъзможно проследяването на последващо замърсяване.

Сензорите, базирани на седиментни микробни горивни клетки, избягват инхибирането на електроактивните микроорганизми тъй като те откриват замърсяванията с тежки метали във води, редуцирайки ги на катода и повишавайки напрежението на клетката [87]. Утайката абсорбира голяма част от тежките метали, предпазвайки електроактивните микроорганизми от инхибиране [7], като по този начин позволява на сензора да функционира нормално след шокови замърсявания. Също така се избягва необходимостта от инокулиране на електроактивни микроорганизми, тъй като се използват автохтонни микроорганизми, населяващи използвания седимент.

Изследванията на възможността за мониторинг на води замърсени с тежки метали чрез СМГК-базирани биосензори са в ранен етап. Необходимо е да бъдат изяснени ключови параметри, като времето за стартиране на сензорите, оптималните електрически параметри на клетките за тяхната стабилна работа като биосензори, както и тяхната

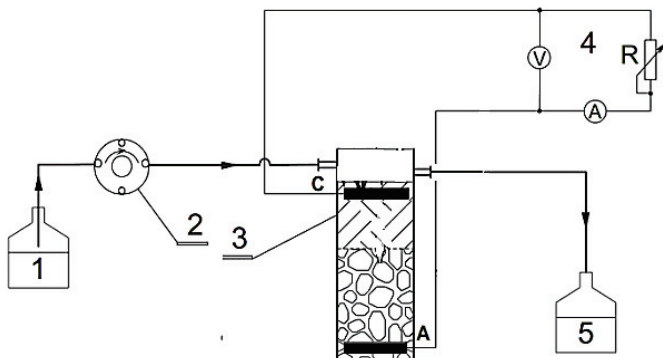
чувствителност към йони на различни тежки метали. За да бъдат установено влиянието на тези параметри, в настоящата глава са представени данни от проведени експерименти и изследвания върху влиянието на базовите електрически параметри на седиментните микробни горивни клетки върху чувствителността на биосензора, както и чувствителността на СМГК-базираните биосензори към йони на различни тежки метали.

5.1 Конструирание на лабораторни модели СМГК-базирани биосензори

С цел провеждане на необходимите експерименти са разработени достатъчен брой биосензори базирани на седиментни микробни горивни клетки с анод, поставен в седимент и катод, потопен в повърхностния слой на водата, за мониторинг на замърсяване с йони на тежки метали (мед, хром, никел и цинк), които са типични и опасни замърсители на водните екосистеми вследствие на антропогенни дейности.

За конструирането на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки е използван крайречен седимент от дълбочина 20-30 cm. След вземане на седимента по-големите частици са отстранени чрез пресяване през сито 2 mm. За извършване на физикохимични анализи част от пресята почва е въздушно изсушена. Основните физикохимични характеристики на почвата са както следва pH 6.89 и EC 142.31 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Почвата е класифицирана като пясъкливо-глинеста, съдържанието на азот по Келдал е 0.214%, а разтворения органичен въглерод 68.34 mg/kg. Измерената концентрация на мед е 59,5 mg/kg, хром – 20,2 mg/kg, никел 13,0 mg/kg, цинк – 105 mg/kg.

Седиментната микробна горивна клетка (Фигура 17) представлява пластмасов контейнер с обем 800 cm³. На дъното на съда има електрод от неръждаема стомана AISI 304 с площ 32 cm². В съда е поставен седимент с обем 550 cm³. След това клетката е запълнена с чиста вода и втори електрод от неръждаема стомана с площ 32 cm² е поставен в повърхностния слой на водата. Физикохимичните характеристики на водата са pH 7.23, Eh 382 mV и EC 51 $\mu\text{S cm}^{-1}$. На фигура 17 е показана схема на лабораторния модел на СМГК-биосензор.



Фигура 17. Схема на лабораторна инсталация на СМГК-базирани биосензор

1 – Входящ разтвор, 2 – Перисталтична помпа, 3 – Седиментна микробна горивна клетка, 4 – Мултиметър, 5 – Изходящ разтвор, А – Анод С – Катод

Изработени са общо осем лабораторни модела СМГК-базирани биосензори (Фигура 18) за провеждане на изследвания за установяване чувствителността към различните тежки метали.

Тестваните синтетични разтвори, съдържащи тежки метали, преминават през катодната зона, където металните йони играят ролята на допълнителен акцептор на електрони и повишават напрежението на клетката чрез промяна на електрохимичните параметри. СМГК-базирани биосензори са оставени да се стабилизират в продължение на 14 дни, докато се достигне базовото напрежение на всяка клетка и електроактивните микроорганизми е аклиматизират. Числеността на електроактивните микроорганизми е определена количествено чрез 16S rRNA ген. В използвания крайречен седимент *Geobacter* и *Clostridium* са с най-висока численост. Установени са още *Anaeromyxobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* и *Desulfolobus*.

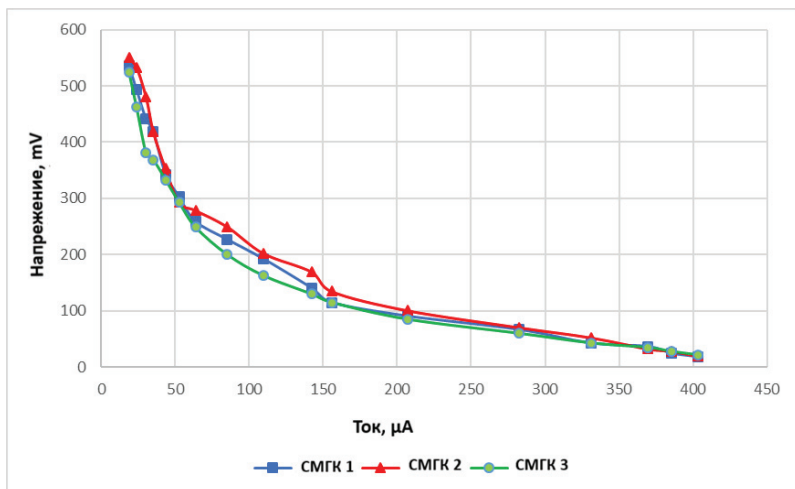


Фигура 18. Конструирани лабораторни модели СМГК-базирани биосензори

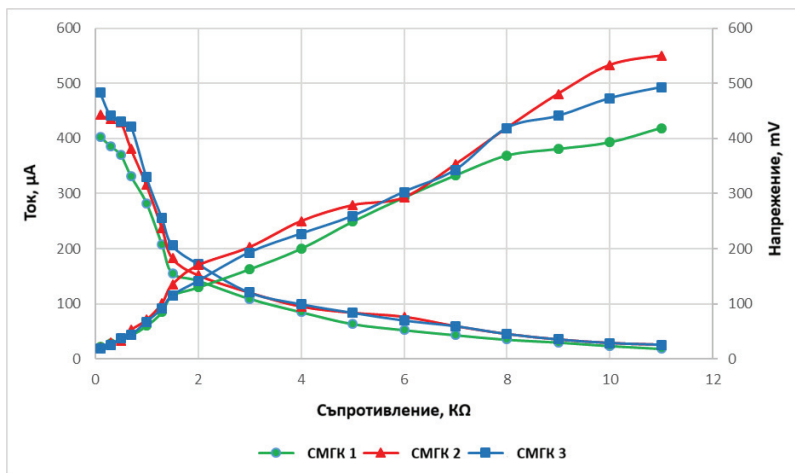
5.2 Детекция на медни йони във води чрез СМГК-базирани биосензори

След конструирането на лабораторните модели СМГК-базирани биосензори те бяха оставени да се аклиматизират и да достигнат базовото си напрежение на отворена верига. За 10 дни напрежението на клетките достигна плато от 540 ± 15 mV. След това бяха измерени волт-амперните характеристики на три от СМГК-базираните биосензори. Данните от изследването са представени на фигури 6, 7 и 8.

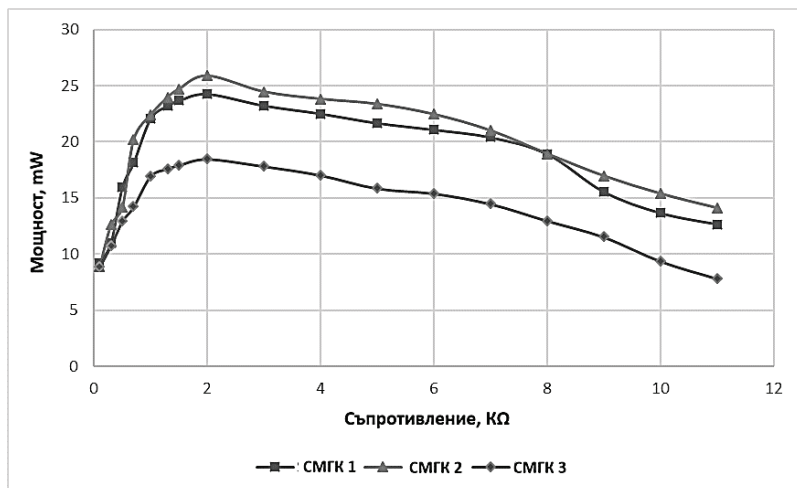
От получените графики се установява, че максималната мощност от 24.27, 25.86 и 18.47 mW е постигната при 2000 Ω външно съпротивление съответно за СМГК1, СМГК2 и СМГК3 (Фигура 21). При това съпротивление клетките имат напрежение от 141, 170, 130 mV и ток съответно 172.1, 152.1 и 142.1 μ A (Фигура 19). Графиката на фигура 20 показва връзката между напрежението и тока на трите SMFC



Фигура 19. Волта-амперни характеристики на трите СМГК-базирани биосензора



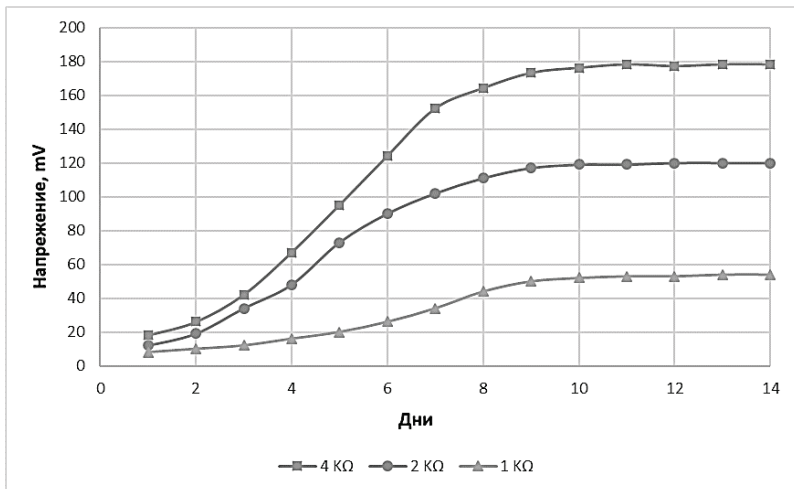
Фигура 20. Поляризационни криви на трите СМГК-базирани биосензора



Фигура 21 Динамика на мощността на трите СМГК-базирани биосензора

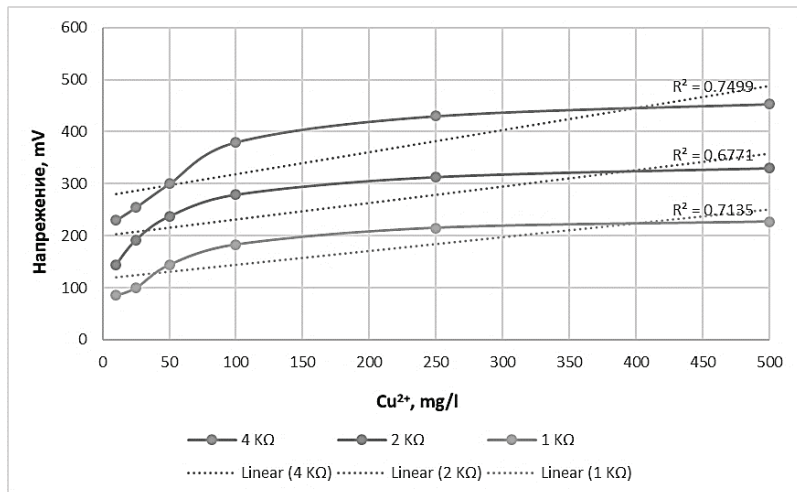
Въз основа на получените електрически характеристики, трите биосензора базирани на седиментни микробни горивни клетки бяха включени да работят с външно съпротивление от 4000 Ω , 2000 Ω и 1000 Ω , тъй като при тези съпротивления клетките показаха най-висока мощност. Така клетките работиха в продължение на 14 дни, докато напрежението достигне относително стабилно плато и се аклиматизират електроактивните микроорганизми. Резултатите от изследването са представени на фигура 22.

От представената графика може да се види, че след деветия ден и трите биосензора базирани на седиментни микробни горивни клетки достигат базово напрежение от 176 ± 2 mV, 117 ± 3 mV и 52 ± 2 mV съответно при външно съпротивление от 4000 Ω , 2000 Ω и 1000 Ω , съответно.



Фигура 22. Динамика на базовото напрежение на СМГК-базирани биосензори

След стабилизиране на напрежението се премина към следващата част от експеримента, целяща да установи чувствителността на така конструирани биосензори към йоните на медта. Синтетични разтвори на мед с нарастваща концентрация – 10, 25, 50, 100, 250, 500 mg/l са подавани последователно към трите биосензора. Скоростта на подаване е 3 ml/s. Скоростта на подаване влияе върху скоростта на реакция на СМГК-базирани биосензори, но не и върху крайната стойност на напрежението. Това се дължи на факта, че постъпващите медни йони, които освен разтворения кислород са допълнителен акцептор на електрони в катодната зона, променят електрохимичните параметри на клетката до достигане на постоянна концентрация на Cu^{2+} . Колкото по-бързо се подава разтворът с медни йони, толкова по-бързо се променят електрохимичните параметри и напрежението на клетката се увеличава. При подаването на отделните разтвори е отчетено изменението на напрежението след неговото стабилизиране. Въз основа на промяната в напрежението при различните концентрации на мед е изчертана стандартна крива. Графиката е показана на фигура 23.

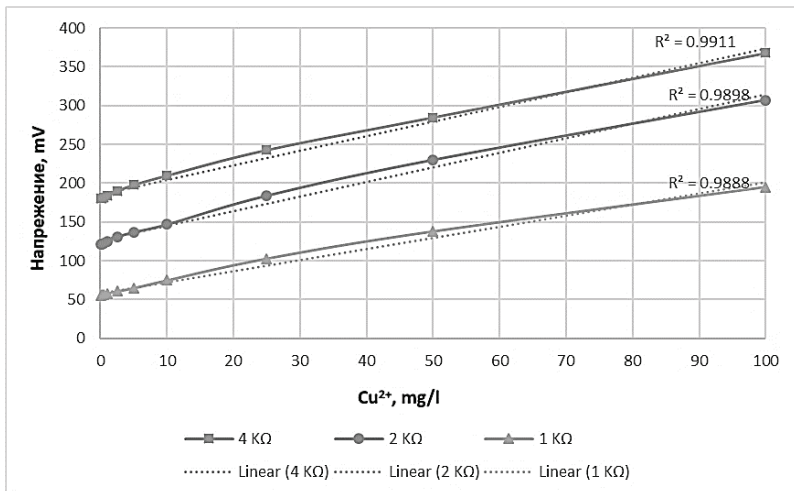


Фигура 23. Чувствителност на СМГК-базираните биосензори към Cu^{2+} при различно външно съпротивление

Графиката показва не достатъчно висок коефициент на детерминация – $R^2 = 0.7499$, 0.6771 и 0.7135 съответстващи на за 4, 2 и 1 k Ω външно съпротивление. Наблюдават се и сериозни отклонения на графиките от стандартните криви, което ги прави невъзможни за използване за аналитични цели в изследвания интервал.

При повишаване на концентрацията на мед над 100 mg/l се наблюдава слаба чувствителност на SMFC-биосензорите, съответно слабо увеличение на генерираното напрежение в сравнение с концентрацията на медни йони.

В интервала 10 – 100 mg/l Cu^{2+} чувствителността на SMFC базираните биосензори е значително по-висока, поради което са направени допълнителни изследвания в интервала 0.1 – 100 mg/l Cu^{2+} . Също така, по-ниските концентрации са използвани за определяне прага на чувствителност на СМГК-базирания биосензор. Данните от изследването са представени на фигура 24.



Фигура 24. Чувствителност на СМГК-базираните биосензори към Cu^{2+} при различни външни съпротивления

Графиката показва висок коефициент на детерминация – $R^2 = 0.9911, 0.9898$ и 0.9888 съответно за 4, 2 и 1 $\text{K}\Omega$ външно съпротивление. Наблюдава се леко отклонение на графиките от стандартните криви в изследвания интервал. Разтворите с концентрация на мед от 0.1 до 0.5 mg/l водят до минимални промени в напрежението, поради което не се виждат ясно на графиката. Това може да се окаже ограничаващ фактор при прилагането на този вид биосензор в реални условия за откриване на много ниски концентрации на мед. Проучването обаче показва, че така конструираният СМГК- базиран биосензор има по-широк интервал на откриване и по-голяма промяна на напрежението ΔV в сравнение с изследванията на други автори.

Конструираните биосензори базирани на седиментни микробни горивни клетки и проведените с тях експерименти доказаха възможностите за приложение на тези устройства като биосензори за мониторинг в реално време на повтарящо се и/или токсично шоково замърсяване на водата с мед. СМГК-базираните биосензори работиха при три различни външни съпротивления (4, 2 и 1 $\text{K}\Omega$), за да се определи ефектът върху тяхната работа и чувствителност. Изследвано е влиянието на шест концентрации на мед (10, 25, 50, 100, 250, 500 mg/l) върху изменението на електрохимичните параметри на сензорие, като не бе постигнат висок коефициент на детерминация в изследвания

диапазон на концентрация. Установена е ниска чувствителност на сензора в интервала 100 – 500 mg/l. Висок коефициент на детерминация $R^2=0.9911$ бе постигнат в диапазона 0.1 – 100 mg/l. Получените резултати показват, че базираните на SMFC биосензори могат да работят ефективно и при трите тествани съпротивления - 4, 2 и 1 K Ω , като коефициентите на детерминация са съответно 0.9911, 0.9898 и 0.9888. Резултатите показват също, че конструираният SMFC-биосензор има по-широк интервал на детекция и по-голяма промяна на напрежението ΔV при изследваните концентрации [37, 40].

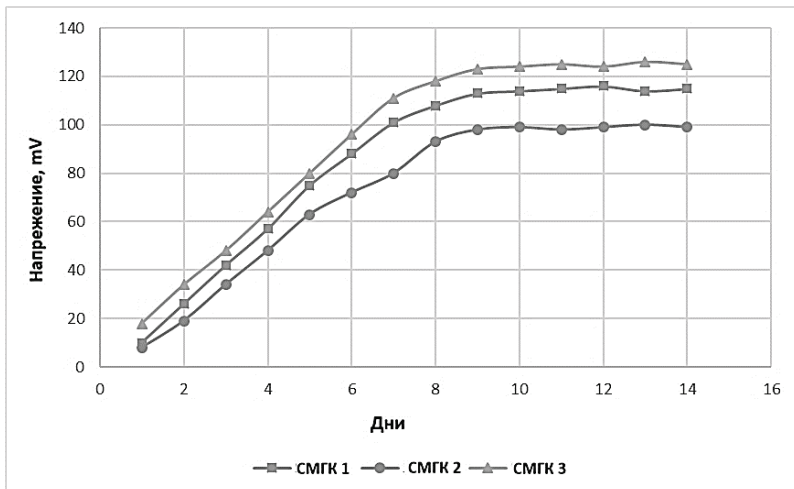
5.3 Чувствителност на СМГК-базираните биосензори към йони на други тежки метали

В предходната точка бяха определени някои работни параметри на СМГК-базирания биосензор, като външно съпротивление и обхват на чувствителност към йоните на медта. Чрез получените данни от проведения следващ експеримент ще бъде установена чувствителността на биосензора към йони на други тежки метали и ще бъде определена зависимостта между концентрацията на замърсителя и промяната на напрежението.

За целите на изследването са приготвени три синтетични разтвора, съдържащи съответно хром ($K_2Cr_2O_7$), цинк ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) и никел ($NiSO_4 \cdot 6H_2O$) в седем концентрации – 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 mg/l.

За да се определи промяната на напрежението към замърсяването с тежките метали, напрежението на биосензорите беше измервано и записвано с Vernier LabQuest Mini и Logger Lite софтуер. За целите на изследването е използвана същата конструкция на СМГК-базирания биосензор.

Въз основа на получените електрически характеристики, нови три биосензора, базирани на СМГК, бяха включени да работят с външно съпротивление от 1000 Ω за 14 дни, докато напрежението достигна относително стабилно плато и се аклиматизираха електроактивните микроорганизми. Външното съпротивление е избрано така, че да се осигури максимален ток между анода и катода, с което да се повиши чувствителността на биосензорите. Резултатите от изследването са представени на фигура 25.

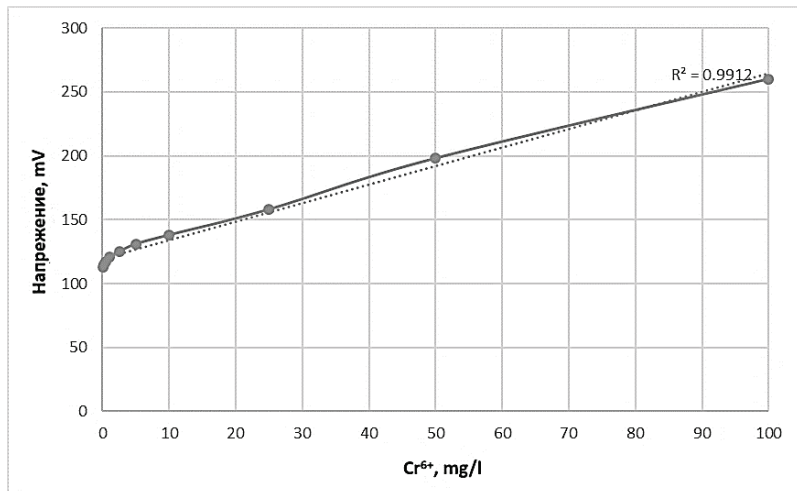


Фигура 25. Динамика на базовото напрежение на СМГК-базираните биосензори

От представената графика може да се види, че след деветия ден трите биосензора, базирани на СМГК, достигат базово напрежение от 126 ± 2 mV, 117 ± 3 mV и 99 ± 2 mV.

След като напрежението се стабилизира, е преминато към следващата част от изследването. Синтетичните разтвори на хром, цинк и никел, с нарастваща концентрация – 0,5, 1, 2,5, 5, 10, 25, 50 mg/l, са подавани последователно към трите биосензора. Скоростта на подаване е 3 ml/s. При подаването на отделните разтвори е отчетено изменението на напрежението след неговото стабилизиране. Въз основа на промяната в напрежението при различните концентрации на тежки метали са изчертани графики на получените криви.

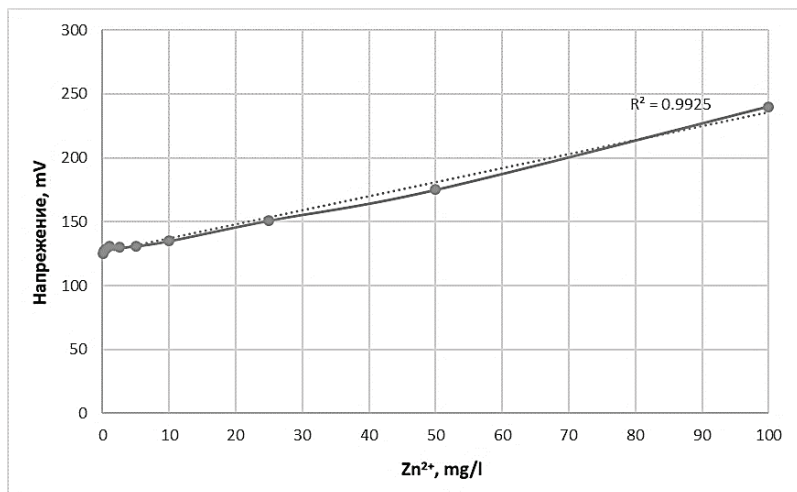
Фигура 26 представя резултатите за Cr^{6+} .



Фигура 26. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Cr^{6+}

Графиката показва висок коефициент на детерминация - $R^2 = 0.9912$, при мониторинг на Cr^{6+} . Наблюдава се леко отклонение на графиката от стандартната криви при последните две концентрации.

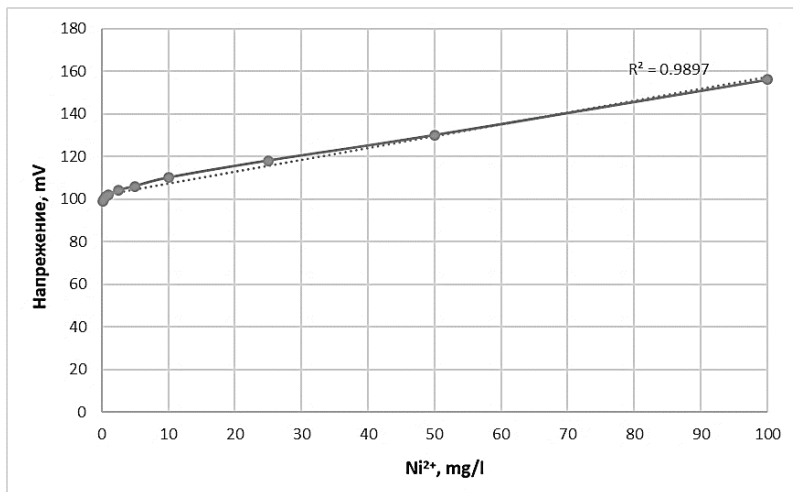
Фигура 27 показва резултатите за Zn^{2+} .



Фигура 27. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Zn^{2+}

За Zn^{2+} коефициентът на детерминация достига $R^2 = 0.9925$. От графиката се вижда, че сензорът проявява добра чувствителност към йоните на цинка и силна корелация между неговата концентрация и повишаването на напрежението на сензора.

На фигура 28 са представени резултатите за Ni^{2+} .



Фигура 28. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Ni^{2+}

При изследването за чувствителност на биосензора към йони на никел също бяха получени добри резултати. Коефициентът на детерминация достигна $R^2 = 0.9897$. Въпреки това, при мониторинг на изследваните метали, никелът показва най-слабо нарастване на напрежението с увеличаване на концентрацията на йоните на метала.

За да се определят възможностите за приложение на седиментни микробни горивни клетки като биосензори за мониторинг на повтарящи се замърсявания на води с хром, цинк и никел, бяха конструирани три идентични СМГК-базирани биосензора. Изследвано е влиянието на седем концентрации на хром, цинк и никел (0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 mg/l) върху изменението на електрохимичните параметри на биосензорите. Добавянето на йони на тежки метали в катодната област повишава електрохимичните параметри на клетката, тъй като освен разтворения кислород, йоните на изследваните тежки метали се използват като допълнителен краен акцептор на електрони.

При проведените изследвания с биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки е открита висока корелация между увеличаването на концентрацията на йони на тежки метали в катодната област и промяната в електрохимичните параметри на биосензора, достигайки коефициент на детерминация $R^2 = 0.9912, 0.9925, 0.9897$ за Cr^{6+} , Zn^{2+} , и Ni^{2+} съответно. Изследванията показват, че седиментните микробни горивни клетки могат да се използват като биосензори за повтарящо се замърсяване с хром, цинк и никел, но са необходими допълнителни изследвания върху тяхната конструкция, влиянието на факторите на средата и чувствителността им при дългосрочна работа [43].

ГЛАВА VI. ВЛИЯНИЕ ФАКТОРИТЕ НА СРЕДАТА ВЪРХУ ЧУВСТВИТЕЛНОСТТА НА СМГК-БАЗИРАНИ БИОСЕНЗОРИ

Преходът на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки от контролирани лабораторни условия към разнообразни и непредвидими полеви условия е важен етап в нейното технологично осъвършенстване. Изследванията на тези устройства при променливи условия на средата трябва да потвърдят тяхната устойчивост и ефективност при реални условия, като надхвърля идеализираните лабораторни условия и демонстрира надеждна работа при динамиката на естествените водни екосистеми [74].

Фактори на околната среда като температура, рН, Eh, концентрация на разтворен кислород и други, могат да повлияят на работата и чувствителността на СМГК-базирани биосензори. Електроактивните бактерии в седимента са от съществено значение за генериране на стабилно базово напрежение от биосензорите. Температурата, като основен фактор на микробната жизнена среда, значително влияе върху метаболитната активност на електроактивните микроорганизми в седимента, което от своя страна се отразява върху генерираната електроенергия от седиментните микробни горивни клетки. Изследванията показват, че при температури между 20 °C и 30 °C не се наблюдава значителна разлика в генерираното напрежение, но при температури под 10 °C базовото напрежение може да спадне значително. Следователно активността на микроорганизмите в седиментните микробни горивни клетки може да бъде силно засегната от по-ниските зимни температури, което да доведе до съществено по-ниско генерирано напрежение в сравнение с пролетта и лятото [32].

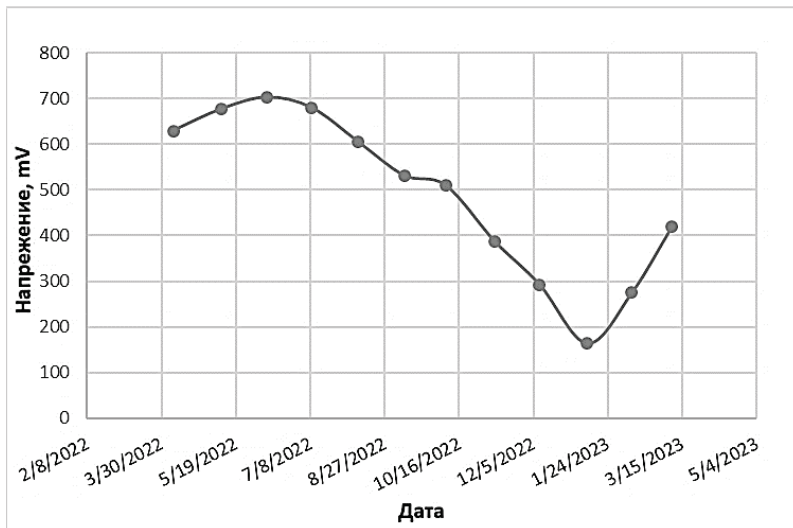
Освен това, числеността и разпределението на електроактивните микроорганизми в седимента зависят в голяма степен от началната температура, при която те се развиват. Поради това е от съществено значение да се поддържа подходяща температура за СМГК-базирани биосензори до стартирането им, за да се осигури по-стабилна работа на сензорите в реални условия [95].

Друг важен фактор за ефективната работа на СМГК-базирани биосензори е концентрацията на разтворен кислород в катодната зона. Кислорода е основния краен акцептор на електрони за катодните реакции. Способността за генериране на енергия от седиментните микробни горивни клетки е тясно свързана с концентрацията на разтворен кислород в близост до катода. Бавният масов трансфер на кислород в повърхностния слой на водата възпрепятства ефективната

му дифузия към катода на седиментните микробни горивни клетки. Аерацията на катодната зона в лабораторни условия в голяма степен решава този проблем, но в реални условия е трудно обществимо и трябва да се вземе предвид при прехода на СМГК-базираните биосензори от лабораторията към полева работа. Освен това може да доведе до смущения в изходния сигнал на сензора [88]. рН също е фактор, който може да променя своята стойност в реални условия, особено когато се касае за промишлени отпадъчни води. Изясняването на неговото влияние върху работата и чувствителността на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки е от съществено значение за бъдещото им приложение в реална оперативна среда. По време на работа на седиментните микробни горивни клетки в анодната зона се генерират протони, което може да доведе до понижаване на рН. Киселинната среда може да потисне микробиологичната активност и да намали ефективността на клетките. Оптималното рН за ефективна работа на седиментните микробни горивни клетки може да варира и в зависимост от конкретен целеви микробиологичния процес протичащ в анодната зона [5].

За да бъде установено влиянието на основни фактори на средата, както и поведението на СМГК-базираните биосензори при дългосрочна работа, е проведен експеримент, при който е изследвана чувствителността на биосензорите при мониторинг на води замърсени с тежки метали с различно рН и различни температури на околната среда. Също така е проследена ефективността на седиментните микробни горивни клетки в продължение на една година. За целите на експеримента беше използвана същата конструкция на СМГК-базираните биосензори. Отново са използвани четири синтетични разтвори на води съдържащи определен тежък метал – мед, цинк, никел и хром, в концентрации - 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50 mg/l. Конструирани са четири еднакви СМГК-базирани биосензора, като синтетичните разтвори на тежки метали са подавани през сензорите с нарастваща концентрация и е записвана промяната на напрежението. Биосензорите, базирани на седиментни микробни горивни клетки, бяха използвани в продължение на една година в реална околна среда в зона с умерен континентален климат.

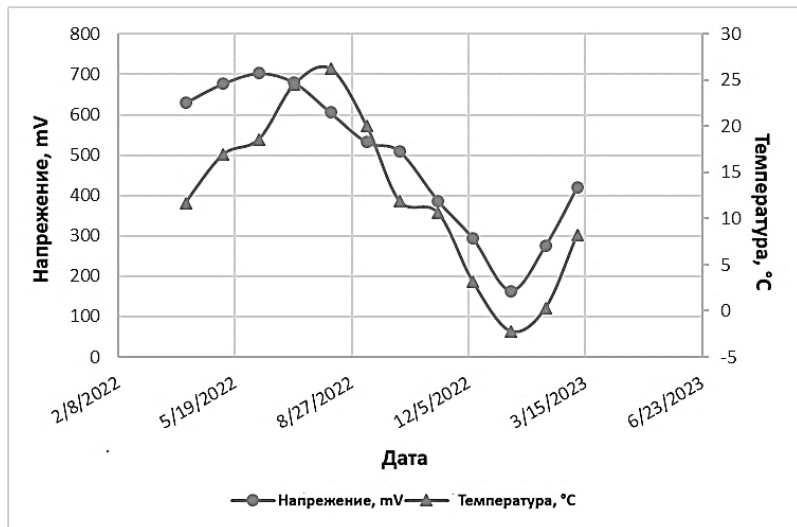
Напрежението на отворена верига на четирите биосензора базирани на седиментни микробни горивни клетки е наблюдавано в продължение на една година. Базовите напрежения на клетките бяха идентични през целия период, като графиката показва средното напрежение на клетките в продължение на една година (Фигура 29).



Фигура 29. Динамика на напрежението на СМГК-базираните биосензори в продължение на една година

От данните представени на графиката се вижда, че напрежението на клетките е значително по-високо през пролетта и лятото. През есента и зимата се наблюдава понижаване на базово напрежение на клетките, което се дължи на по-ниските температури през тези сезони и намаляване на активността на електроактивните микроорганизми.

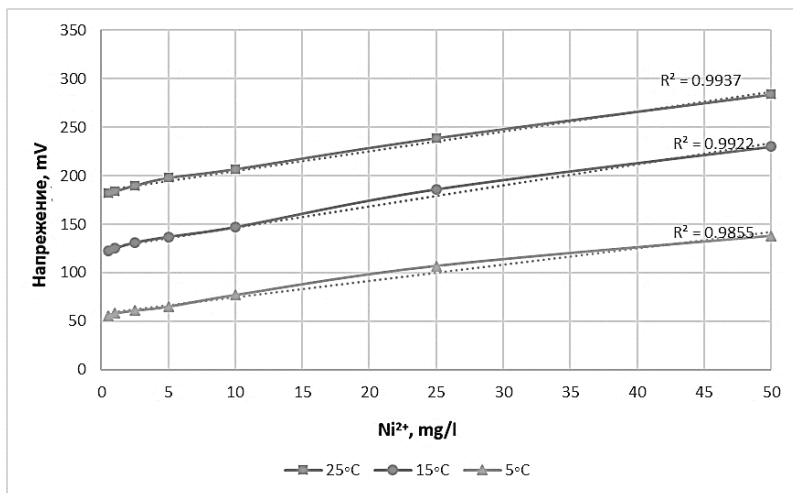
За да се докаже тази зависимост е построена графика, с помощта на която да се установи зависимостта между среднодневните температури на околната среда и базовото напрежение генерирано от СМГК-базираните биосензори. От представените данни на фигура 30 става ясно, че напрежението, генерирано от клетките, е в пряка зависимост от средните дневни температури. По-високите температури на околната среда повишават метаболитната активност на електроактивните микроорганизми, което води до повишаване на генерираното напрежение. Когато средните дневни температури през есента и зимата се понижават, активността на микроорганизмите в седимента намалява и базовото напрежение на клетките се понижава.



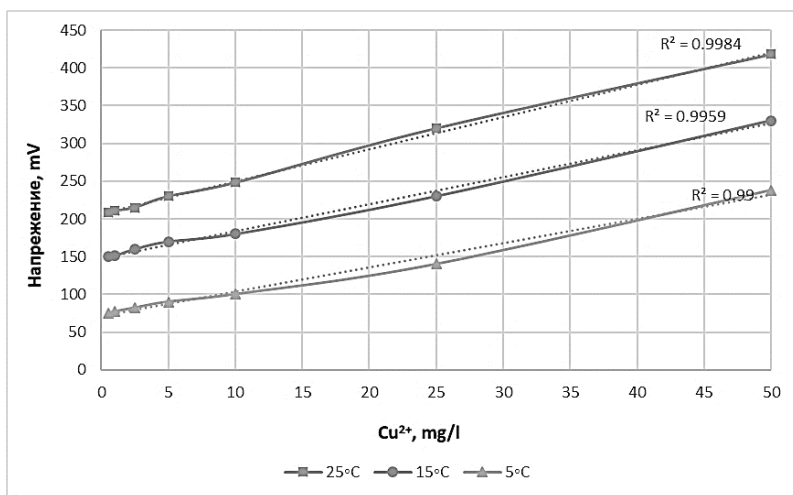
Фигура 30. Динамика на напрежението на СМГК-базираните биосензори спрямо средндневните температури в продължение на една година

6.1 Влияние на температурата върху чувствителността СМГК-базирани биосензори

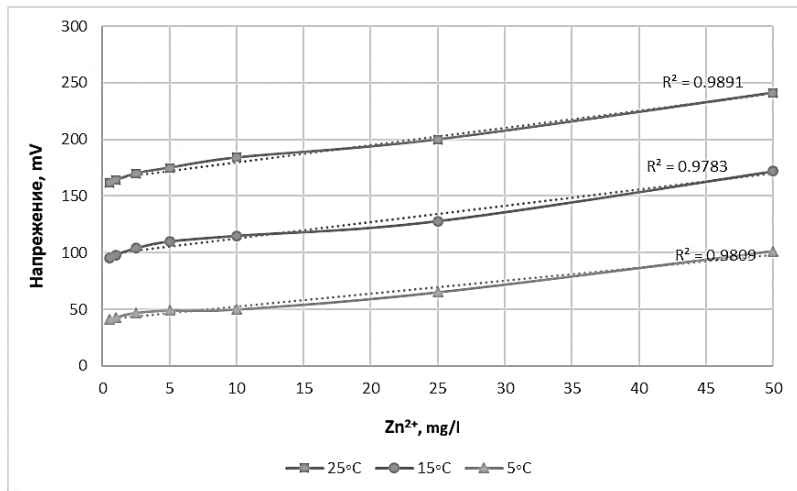
За да бъде установено влиянието на температурата, като основен фактор на околната среда, върху чувствителността на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки е проведен експеримент при три различни температури, характерни за различните сезони в зона с умерено континентален климат. Изследването е проведено през пролетта, лятото, есента и зимата при съответно средни дневни температури от 25, 15 и 5°C. Резултатите от изследването са представени на фигури 31, 32, 33 и 34.



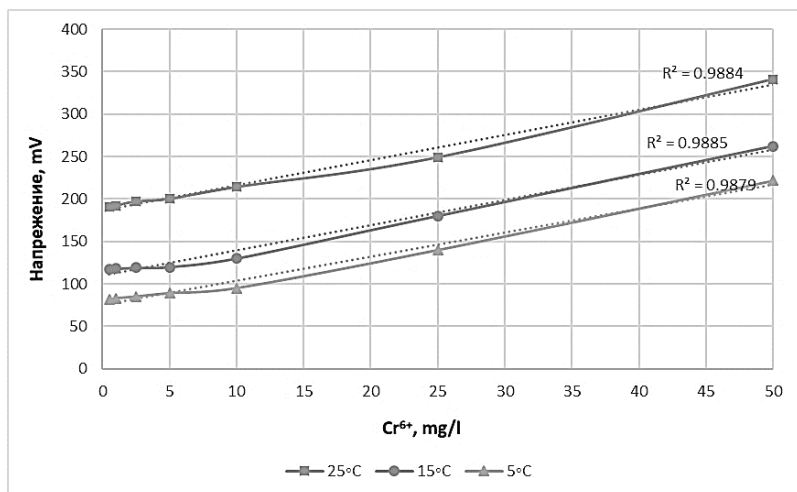
Фигура 31. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Ni^{2+} при различна температура на околната среда



Фигура 32. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Cu^{2+} при различна температура на околната среда



Фигура 33. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Zn^{2+} при различна температура на околната среда



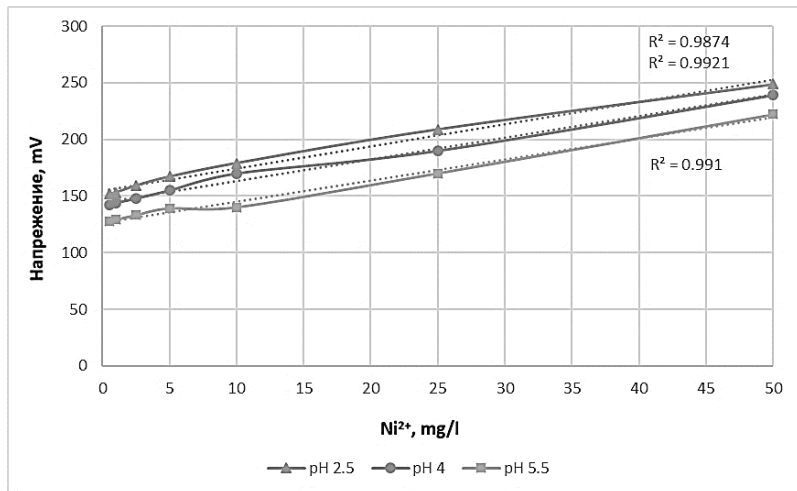
Фигура 34. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Cr^{6+} при различна температура на околната среда

Независимо от температурата на околната среда резултатите показват много висок коефициент на детерминация - R^2 и за четирите изследвани метала. Температурата засяга само базовото напрежение на клетките, тъй като то до голяма степен се формира от активността на електрогенните микроорганизми. Увеличаването на напрежението след добавянето на разтвори на тежки метали се основава изключително на промяна в електрохимичните параметри, а именно добавянето на допълнителен акцептор на електрони в катодната област. Следователно ефективността на базирания на СМГК биосензор за мониторинг на тежки метали остава висока дори при ниски температури, като коефициентът на детерминация и при трите изследвани температури варира между $R^2 = 0.9783 - 0.9984$.

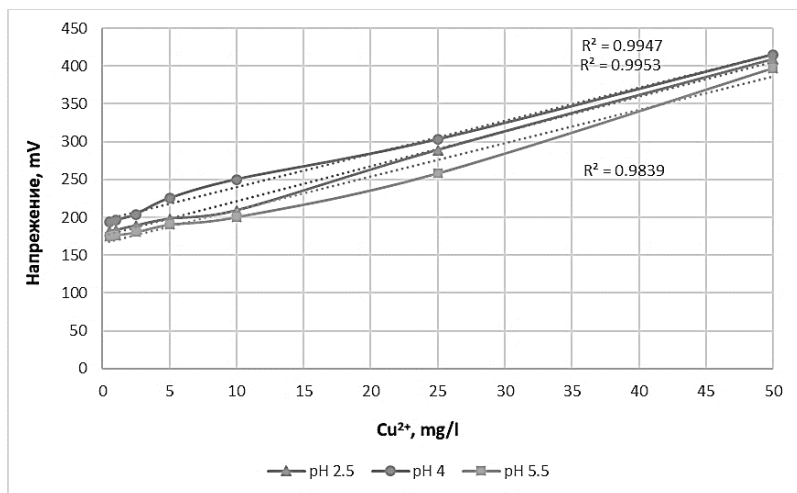
6.2 Влияние на рН върху чувствителността на СМГК-базирани биосензори

За да бъде установено влиянието на рН на изследваните води върху чувствителността на СМГК-базирани биосензори са анализирани синтетични разтвори на тежки метали със същите концентрации, но с различно рН. Разтворите на тежки метали имат рН стойности от 2,5, 4 и 5,5. Изследваните стойности на рН са избрани така, че да не се компрометира разтворимостта на изследваните метали.

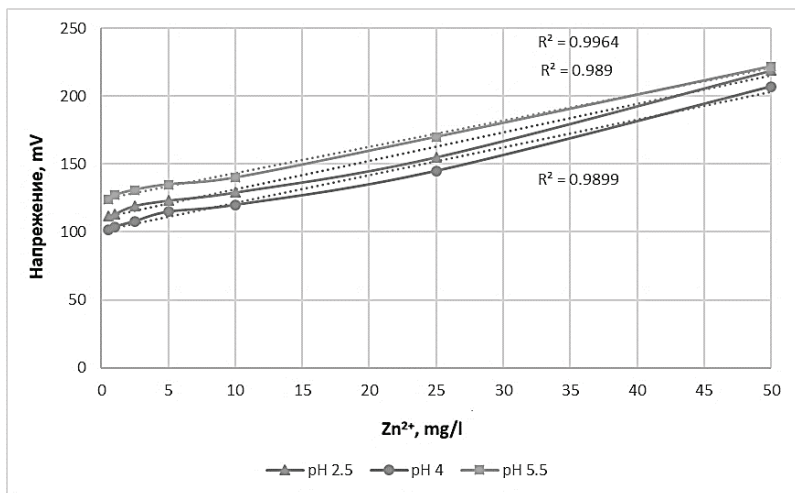
Резултатите от изследването представени на фигури 35, 36, 37 и 38 показват висок коефициент на детерминация - R^2 и за четирите изследвани метала, независимо от рН на постъпващите разтвори. Коефициентът на детерминация варира между 0.9839 и 0.9964. Наблюдават се несъщществени разлики в генерираното напрежение на клетките, но те не корелират с промяната на рН, а се дължат на минимални различия конструктивните особености и параметри на клетките.



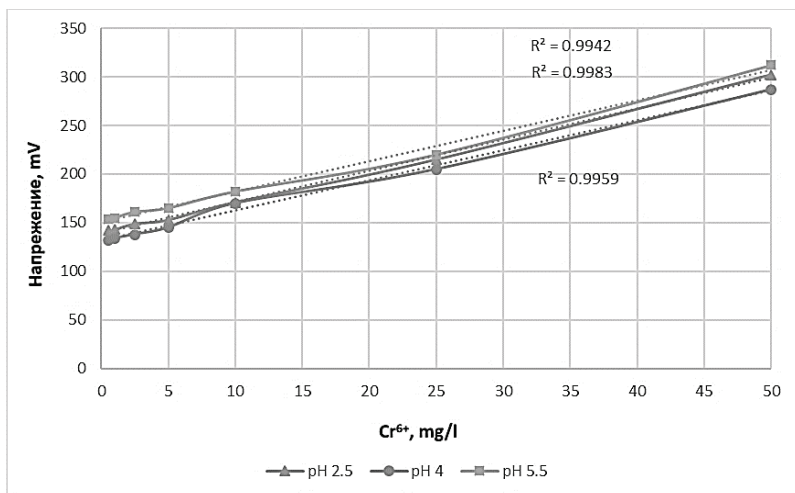
Фигура 35. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Ni^{2+} при различно рН на средата



Фигура 36. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Cu^{2+} при различно рН на средата



Фигура 37. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Zn^{2+} при различно рН на средата



Фигура 38. Чувствителност на СМГК-базиран биосензор към Cr^{6+} при различно рН на средата

6.3 Влияние на тежките метали върху активността на електроактивните микроорганизми

Главно предимство на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки е, че почвения слой играе ролята на защитна бариера, така че мониторираните тежки метали да не достигат до електроактивните микроорганизми. Въпреки това, за да премине технологията от лабораторни изследвания в реална оперативна среда е необходимо това предимство на биосензорите да бъде изследвано при дългосрочна работа при променливи фактори на средата. За тази цел е проведено изследване на числеността на електроактивни микроорганизми в седимента на СМГК-базираните биосензори и инхибиторния ефект на тежките метали, преди и след провеждане на предходните в тази глава експерименти. Беше установено, че *Geobacter* и *Clostridium* са доминиращи електроактивни бактерии в изходния седимент. Следователно те бяха избрани като представители на електрогенните бактерии за qPCR анализ. След една година работа на биосензора, базиран на СМГК, беше определена числеността на *Geobacter* и *Clostridium* в анодната зона на СМГК-базираните биосензори. Резултатите са представени в таблица 11.

Таблица 11. Численост на електроактивни бактерии в анодната зона на СМГК-базиран биосензор

	<i>Geobacter</i> копия на 16S rRNA ген (10^9)				<i>Clostridium</i> копия на 16S rRNA ген (10^9)			
	Zn ²⁺	Cr ⁶⁺	Ni ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Cr ⁶⁺	Ni ²⁺	Cu ²⁺
Изходен седимент	0.31	0.31	0.31	0.31	0.49	0.49	0.49	0.49
След една година работа	0.25	0.22	0.27	0.29	0.48	0.45	0.47	0.46

Числеността на *Geobacter* и *Clostridium* се определя с копия на 16S rRNA ген. Копията на 16S rRNA ген за *Clostridium* са приблизително два пъти по-високи от тези за *Geobacter*. В анодната зона се наблюдава незначително намаляване в числеността *Geobacter* и *Clostridium* между изходния седимент и седимента след едногодишна работа на СМГК-

базираните биосензори. Това се дължи на факта, че повърхностният слой на почвата адсорбира йоните на тежките метали и по този начин се предотвратява проникването им в по-дълбоките слоеве на почвата. Това твърдения ще бъде доказано в получените резултати от следващи експерименти в книгата. Може да се заключи, че електроактивните микроорганизми в по-дълбоките почвени слоеве не са били инхибирани и влиянието на йоните на тежки метали е ограничено.

Ефективността на седиментните микробни горивни клетки зависи силно от няколко ключови фактора на околната среда. Сред тях рН и температурата имат решаваща роля за микробиологичната активност, трансфера на електрони и общата производителност на системата. Също така, те оказват пряко влияние върху кинетиката, термодинамиката, коефициентите за масов трансфер, характера и разпределението на микробната общност. Както вече беше обсъдено, ефективността на седиментните микробни горивни клетки е важна за стабилната работа и чувствителността им, когато те се използват, като биосензори за тежки метали. В тази връзка проведения експеримент установи влиянието на основни фактори на околната среда върху работата и чувствителността на СМГК-базирани биосензори. Получените резултатите показват, че температурата засяга само базовото напрежение на биосензора, но не и неговата чувствителност към йони на тежки метали. рН на входящия разтвор не повлия на работата на биосензора и бяха постигнати високи стойности на коефициента на детерминация за всичките четири изследвани тежки метала. Повърхностният слой на почвата адсорбира йоните на тежките метали и по този начин се предотвратява проникването им в по-дълбоките слоеве на почвата. Това води до минимално инхибиране на електроактивните бактерии и позволява биосензорът да се използва за наблюдение на повтарящо се замърсяване на водата с тежки метали. Резултатите доказаха дългосрочната ефективност на базираните на СМГК биосензори при работа в различни условия на околната среда [42].

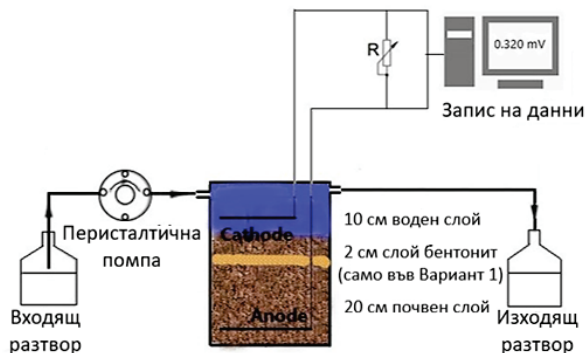
ГЛАВА VII. ВЛИЯНИЕ НА КОНСТРУКТИВНИТЕ ОСОБЕНОСТИ ВЪРХУ ЧУВСТВИТЕЛНОСТТА НА СМГК- БАЗИРАНИ БИОСЕНЗОРИ

Биосензорите базирани на седиментните микробни горивни клетки се характеризират с лесен механизъм на работа, ниска цена за конструиране и поддръжка, което улеснява прехода на технологията от лабораторията към околната среда. Въпреки това, трябва да бъдат явядени редица фактори, преди този вид биосензори да могат да бъдат приложени в по-широк мащаб. Изследванията от предходните глави се фокусираха върху факторите на средата, дългосрочна стабилност и други фактори, влияещи върху чувствителността на СМГК-базирани биосензори. Дългото време за стартиране може да бъде част от ограниченията, които възпрепятстват тяхното практическо приложение. Стартирането на СМГК-базирани биосензори показва времето за достигане на стабилно базово напрежение на седиментната клетка, което служи за сравнение при мониторинг на води замърсени с тежки метали [64].

Съществуват редица проучвания целящи подобряване работата на седиментните микробни горивни клетки в лабораторни условия чрез модифициране на електродни повърхности, промяна на конфигурацията на електродите, конструиране на клетки с няколко анода, промяна на дълбочината и положението на електродите, аериране на катодната зона и други. Много учени прилагат различни модификации на електродите, като електроди от благородни метали, електроди с различни покрития и електроди с по-голяма специфична повърхност с цел увеличаване на генерираната енергия от седиментните микробни горивни клетки. [11] Въпреки това, липсват изследвания и данни, как тези модификации и други конструктивни особености влияят върху чувствителността на СМГК-базирани биосензори. Също така, основна цел на подобен тип разработки е да се запазят тези биосензори като евтини, лесни за конструиране и експлоатация устройства, което да доведе до широко приложение в мониторинга на замърсяването на води с тежки метали и ранното предупреждение.

На база получените резултати от изследванията за факторите влияещи върху ефективността на седиментните микробни горивни клетки представени в Глава IV е проведен експеримент целящ изследване влиянието на два нискобюджетни електрода – от неръждаема стомана и графит, върху чувствителността на СМГК-базирани биосензори за мониторинг и ранно предупреждение на

замърсявания на води с тежки метали. Също така, за първи път беше изследвано влиянието на сепариращ слой от бентонит, разположен между анодната и катодната зона, върху работата на СМГК-базирани биосензори. Принципна схема на лабораторната инсталация е представена на фигура 39.



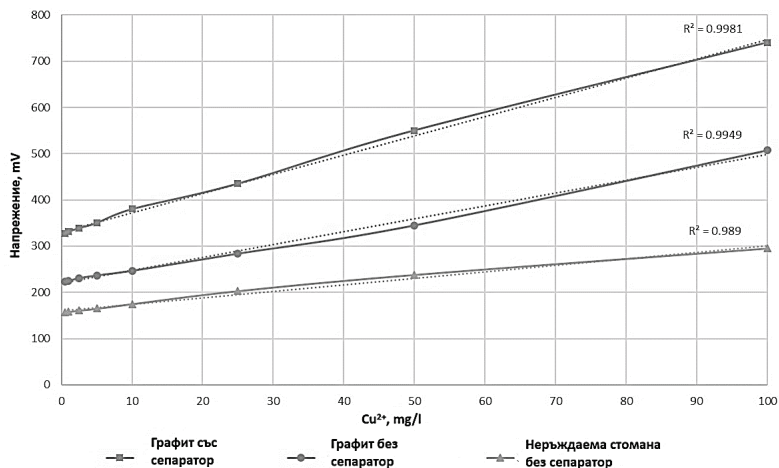
Фигура 39. Схема на лабораторната инсталация, използвана за определяне влиянието на конструктивните елементи върху чувствителността на СМГК-базирани биосензори

За да се определи влиянието на конструктивните особености върху чувствителността на СМГК-базирания биосензор са конструирани 12 клетки в три варианта. Първият вариант представлява седиментна микробна горивна клетка с електроди от графит и сепаратор от бентонит поставен между катодната и анодната зона. При втория вариант са използвани електроди от графит, но не е поставян сепаратор между катодната и анодната зона. Последният вариант е конструиран с електроди от неръждаема стомана, отново без сепаратор.

За целите на изследването са приготвени четири вида синтетични разтвори, всеки съдържащ определен тежък метал – мед ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), хром ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), никел ($\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и цинк ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Изследвани са осем концентрации на тежките метали – 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 mg/l. Разтворите са подавани последователно с нарастваща концентрация през конструирания СМГК-базирани биосензори, като в реално време е записвана промяната на напрежението. Първоначално към клетките е подавана чиста вода, докато се достигне постоянно базово напрежение. Анодът и катодът на всеки от биосензорите е свързани с външно съпротивление от 1000 Ω посредством меден

проводник, като в продължение на 14 дни се достигна стабилно базово напрежение и електроактивните микроорганизми се аклиматизираха. В седимента с най-голямо численост бяха *Geobacter*, *Clostridium*, *Anaeromyxobacter* и *Bacillus*. Изолирани бяха също *Pseudomonas*, *Desulfolobus* и *Desulfovibrio*.

За да се определи влиянието на различни конструктивни особености върху работата на СМГК-базираните биосензори, след стабилизиране на базовото напрежение започна подаването на синтетичен разтвор на мед през трите варианта на сензорите. Промяната в напрежението на сензорите по време на преминаването на разтворите с различна концентрация беше записана, след което въз основа на получените резултати бяха построени стандартни криви на чувствителността на сензорите. Графиките са представени на Фигура 40.

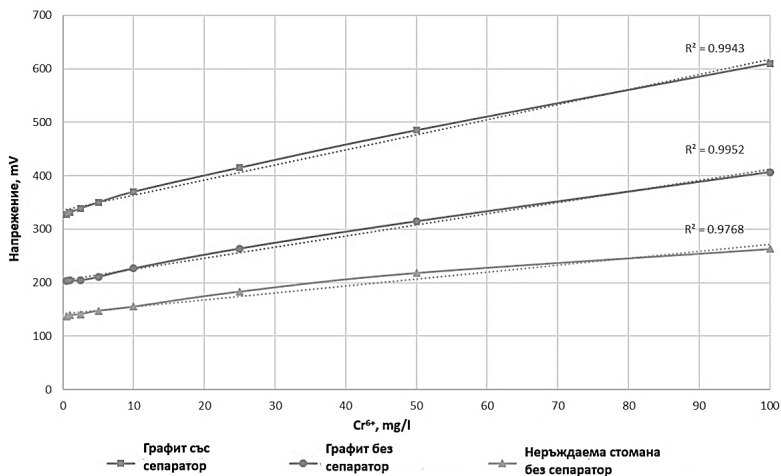


Фигура 40. Чувствителност на СМГК-базирани биосензори към Cu^{2+} при различни конструктивни характеристики

При варианта на СМГК-базиран биосензор с графитни електроди и сепаратор, поставен в седимента, беше наблюдавана най-голямата промяна в напрежението ΔU като функция от концентрацията на Cu^{2+} йони при преминаването на разтворите с различна концентрация, което показва, че този вариант е най-чувствителен към замърсяване с мед. От представената графика може да се види, че биосензорът с електрод от неръждаема стомана без сепаратор има най-ниско базово напрежение, както и най-малка промяна в напрежението ΔU спрямо концентрацията

на медни йони. Въпреки това, и двата параметъра са значително по-високи в сравнение с проучвания на други автори [52] относно чувствителността на СМГК-базирани биосензори към медни йони.

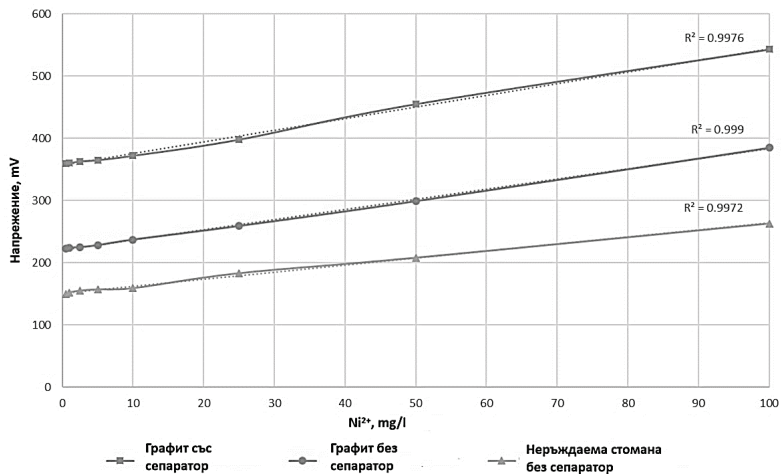
Следващата част от експеримента имаше за цел да установи влиянието на конструктивните особености на СМГК-базирания биосензор върху чувствителността му при мониторинг на води, замърсени с хром. На Фигура 41 са показани стандартните криви на чувствителността, получени при преминаване на разтвори на хром през различните варианти на сензора.



Фигура 41. Чувствителност на СМГК-базирани биосензори към Cr^{6+} при различни конструктивни характеристики

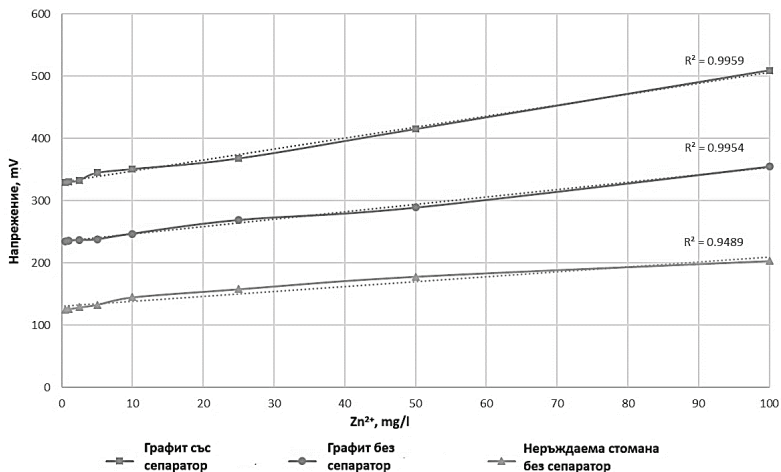
Отново, сензорът с графитни електроди и сепаратор показва най-голяма промяна в напреженията спрямо концентрацията на изследвания метал, което съответства на висока чувствителност към йони на хром. В този случай ΔU за концентрация от 100 mg/L Cr^{6+} йони достига 412 mV. За сравнение, при изследване на чувствителността на СМГК-базирани биосензори към Cr^{6+} йони от други автори, този параметър варира между 25 и 150 mV [101].

Проучванията, проведени за установяване на чувствителността на различните варианти СМГК-базирани биосензори към замърсени с никел води, са представени на фигура 42.



Фигура 42. Чувствителност на СМГК-базирани биосензори към Ni^{2+} при различни конструктивни характеристики

Вариантът с графитни електроди и сепаратор отново има най-високо базово напрежение и промяна в напрежението при преминаване на разтворите с различните концентрации на никел.



Фигура 43. Чувствителност на СМГК-базирани биосензори към Zn^{2+} при различни конструктивни характеристики

Последната част от експеримента беше насочена към установяване на влиянието на конструктивните особености на СМГК-базирани биосензори върху тяхната чувствителност към води, замърсени с цинк. Получените резултати от изследването са представени на Фигура 43.

И при това изследване се наблюдава много малка промяна в напрежението на сензора с електроди от неръждаема стомана, без сепаратор по време на пропускането на разтвори с различни концентрации на цинк. СМГК-базираният биосензор с графитни електроди и сепаратор отново показва най-висока чувствителност към води, замърсени с цинк.

От представените графики може да се види, че разтвори на тежки метали с концентрации от 0.5 и 1 mg/l не водят до значителна промяна в напрежението на биосензора. ΔU за тези концентрации варира между 1 и 4 mV, което може да се отдаде на странични фактори и не може да бъде показателно за замърсяване с тежки метали.

От получените графики може също да се види, че поставянето на сепаратор значително увеличава както базовото напрежение, така и чувствителността на биосензора, изразена чрез ΔU . Поставянето на сепаратор между анодната и катодната зона предполага няколко ключови предимства, като оптимизиране на транспорта на йони, намаляване на проникването на кислород в анодната зона, контролиране на химичните процеси в анодната и катодната зона [16]. Всичко това води до по-стабилни електрохимични параметри на клетката и съответно до подобрена чувствителност на СМГК-базирания биосензор.

За да се осигури по-добра съпоставимост на получените резултати, Таблица 12 представя параметрите на линейната регресия и коефициента на детерминация на изследваните биосензори, базирани на СМГК.

Таблица 12. Параметри на линейната регресия на изследваните СМГК-базирани биосензори

Вариант	Наклон, а	Пресечна точка, b	Коефициент на детерминация, R ²
Cu²⁺			
Графит със сепаратор	4.15	330.88	0.9981
Графит без сепаратор	2.79	219.7	0.9949
Неръждаема стомана без сепаратор	1.41	159.83	0.989
Cr⁶⁺			
Графит със сепаратор	2.82	335.06	0.9943
Графит без сепаратор	2.08	203.98	0.9952
Неръждаема стомана без сепаратор	1.29	141.45	0.9768
Ni²⁺			
Графит със сепаратор	1.87	356.43	0.9976
Графит без сепаратор	1.62	220.61	0.999
Неръждаема стомана без сепаратор	1.13	150.99	0.9972
Zn²⁺			
Графит със сепаратор	1.77	329.55	0.9959
Графит без сепаратор	1.19	234.3	0.9954
Неръждаема стомана без сепаратор	0.79	130.49	0.9489

От данните, представени в Таблица 12, се наблюдават високи коефициенти на детерминация за всички изследвани варианти. Въпреки това, за всичките четири изследвани метала най-ниската стойност на R² се получава за варианта на биосензора, базиран на седиментна микробна горивна клетка, с електроди от неръждаема стомана без сепаратор. Подобни коефициенти на детерминация са докладвани и от други

автори при изследване на чувствителността на биосензори, базирани на СМГК, към мед и хром [52]. Същата тенденция се наблюдава и при другите два представени параметъра – наклон и пресечна точка. Те са най-високи при варианта на биосензор, базиран на СМГК, с графитни електроди и сепаратор, и най-ниски при варианта с електроди от неръждаема стомана без сепаратор. От представените данни може също да се заключи, че конструираните биосензори, базирани на СМГК, показват по-висока чувствителност към йони на мед и хром. Това е видно от получените параметри за наклон и пресечна точка, които са значително по-ниски при изследване на чувствителността към йони на никел и цинк. Това до голяма степен се дължи на природата на изследваните метали и техните стандартни редукционни потенциали.

Мониторингът в реално време и ранното предупреждение за замърсявания на води с тежки метали са изключително важни за опазването на околната среда. Конструирането на евтини и прости сензори ще позволи тяхното широко приложение и навременното откриване и третиране на замърсени води. С провеждането на настоящия експеримент беше установено влиянието на конструкцията на биосензори, базирани на СМГК, върху тяхната ефективност и чувствителност към води, замърсени с тежки метали. Бяха изследвани три варианта на биосензори, базирани на СМГК – със стоманени електроди без сепаратор, с графитни електроди без сепаратор и с графитни електроди и бентонитов сепаратор, поставен между катодната и анодната зона. Изследвана беше чувствителността на биосензорите към четири вида замърсители – мед, хром, никел и цинк. Получените резултати показаха висока ефективност на конструираните биосензори спрямо изследваните замърсители. Беше постигнат висок коефициент на детерминация и при трите варианта на биосензори. Най-чувствителен към изследваните замърсители се оказа биосензорът, базиран на СМГК, с графитни електроди и сепаратор, поставен в утайката. За този вариант бяха установени и най-високите стойности на параметрите на линейната регресия – наклон и пресечна точка. Влиянието на сепаратора върху ефективността на биосензор, базиран на СМГК, беше изследвано за първи път, а резултатите показаха повишаване на базовото напрежение и увеличаване на чувствителността на биосензора към замърсяване на водата с тежки метали. Получените резултати ще допринесат за по-добро разбиране на биосензорите, базирани на СМГК, и за конструирането на евтини и прости сензори за екологични приложения.

ГЛАВА VIII. ИНТЕГРИРАНЕ НА СМГК-БАЗИРАНИ БИОСЕНЗОРИ В КОНСТРУИРАНИ ВЛАЖНИ ЗОНИ ЗА ПРЕЧИСТВАНЕ НА ВОДИ ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ

С бързото развитие на индустрията и увеличаващите се градски райони, тежките метали все повече навлизат в околната среда. Тяхното натрупване във водите и почвите представлява потенциална опасност за екосистемите и човешкото здраве [65]. Тежките метали и металоиди като цинк, мед, олово, никел, хром, кадмий и арсен се срещат естествено във всички повърхностни компоненти на околната среда поради тяхното разпространение по време на изветрянето и други природни процеси. Последващото им включване в различни биогеохимични кръговрати и процеси, може да улесни допълнително навлизането на тежки метали по хранителните вериги. Известно е, че много антропогенни дейности, като тези, свързани с добива и преработката на минерални суровини и металургията, са довели до множество пътища за навлизане на тежки метали в околната среда, като по този начин допринасят за увеличаване на съдържанието на тежки метали в повърхностните води и почви [86].

Минните дейности водят до реален риск от заустване на различни видове замърсители, включително тежки метали, които могат да застрашат качеството на приемащите водни тела [28]. Настоящите и минали минни дейности могат да освобождават години напред тежки метали в околната среда, което води до опасения за бъдещото състояние на екосистемите и човешкото здраве. Цинкът, медта, оловото, никелът и хромът са сред най-често срещаните метали, присъстващи във високи концентрации в тези видове замърсени води [94]. Кадмият е токсичен елемент, който лесно се усвоява от растенията и по този начин може да навлезе в хранителните вериги и да се биоакумулира [67].

Отстраняването на тежки метали от води се счита за голямо предизвикателство в областта на опазването и пречистването на води, но има установени много методи за третиране на такива води, като мембранна сепарация, химическо утаяване и електролиза. Въпреки това, прилагането на тези технологии може да породи допълнителни затруднения, като голям обем произведена утайка, висока консумация на енергия, допълнително замърсяване с химически реагенти и сложната поддръжка [56]. Сред многобройните известни техники, конструираните влажни зони имат доказана ефективност при третирането на отпадъчни води, съдържащи тежки метали. Конструираните влажни зони се считат за обещаваща алтернативна технология поради ниската си цена за изграждане и последваща

експлоатация, ниска консумация на енергия и екологични ползи [10]. Основните механизми за третиране на води замърсени с тежки метали в конструираните влажни зони включват адсорбция, утаяване на замърсителите чрез окислително-редукционни процеси, биосорбция и биоаккумуляция от растенията и микроорганизми [45]. Растенията са от съществено значение за пречистването на водите от тежки метали в конструираните влажни зони чрез фиторемедиация, фитостабилизация и фитоекстракция [59, 78]. Също така, за ефективното отстраняване на тежки метали чрез конструирани влажни зони, структурните особености, видът на субстрата, хода на водния поток и други фактори са от съществено значение [68].

През последните години значително напреднаха научните изследвания на технологията конструирана влажна зона – седиментна микробна горивна клетка (KB3-СМГК) [57]. Основни предимства на тази технология са ниска цена за изграждане, експлоатация и потенциал за когенериране на енергия [67]. Въпреки това, прилагането на системата конструирана влажна зона – микробна горивна клетка изисква допълнителни изследвания върху механизмите на разграждане на замърсителите, генерирането и оползотворяването на енергия, стабилната работа на системата при дългосрочна експлоатация и влияние на различни фактори на околната среда [92].

Използваните традиционни химични методи за мониторинг на качеството на води се извършват извън водните обекти, в резултат на което такива методи не са подходящи за мониторинг в реално време и се възпрепятства бързата реакция при събития на замърсяване [21]. Сензорите за мониторинг в реално време придобиват важно значение за мониторинга на качеството на водите, защото могат да осигурят ранно предупреждение за навременни мерки [33]. С рязката си реакция към токсични вещества био-електрохимичните системи се появяват като силен конкурент на традиционните методи за мониторинг на води. Сензорите, базирани на седиментни микробни горивни клетки, избягват някои недостатъци на традиционните био-електрохимични сензори, което ги прави по подходящи за интегриране в конструирани влажни зони за едновременно пречистване и мониторинг на замърсени води.

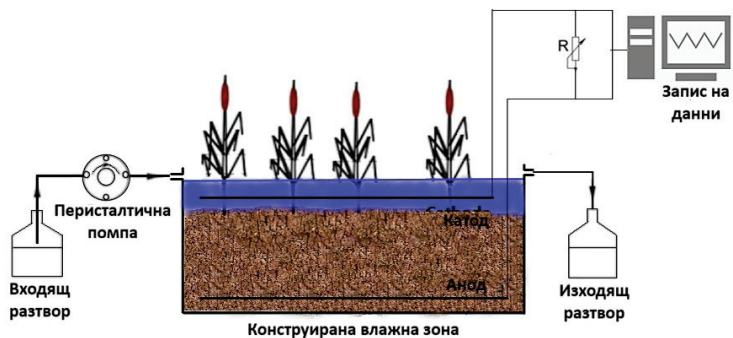
В този контекст е проведен експеримент, с помощта на който да се оцени осъществимостта на интегрирането на биосензор базиран на седиментна микробна горивна клетка в конструирана влажна зона и да се проучи ефективността на едновременната биоремедиация и

мониторинг в реално време на води, замърсени с тежки метали – мед, хром, никел и цинк. Резултатите от този експеримент ще предостави допълнителни, ценни резултати за бъдещи разработки и потенциалното приложение на биосензор, базиран на седиментна микробна горивна клетка, в конструирана влажна зона.

8.1 Изграждане на лабораторен модел конструирана влажна зона с интегрирана седиментна микробна горивна клетка

За проектирането и изработката на конструирана влажна зона с интегрирана седиментна микробна горивна клетка е взет крайречен седимент от дълбочина 20-30 cm. След вземане на седимента, по-големите парчета са отстранени чрез пресяване през сито 2 mm. За извършване на физикохимични анализи част от пресята почва е въздушно изсушена. Основните физикохимични свойства на почвата са както следва pH 6.68, EC 154.45 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Почвата е класифицирана като пясъчливо-глинеста глинеста почва, съдържанието на Kjeldahl-N е 0.21%, а разтворения органичен въглерод 66,14 mg kg⁻¹. Измереното количество мед е 59.5 mg/kg, хром – 20.2 mg/kg, никел – 13.0 mg/kg и цинк – 105 mg/kg. Така подготвената почва се използва за запълване на конструираните влажни зони с интегрирани седиментни микробни горивни клетки.

Схема на лабораторната инсталация на конструирана влажна зона с интегрирана седиментна микробна горивна клетка е показана на фигура 44. За целите на изследванията са изработени четири конструирани влажни зони с интегрирани седиментни микробни горивни клетки (фигура 45). Конструираната влажна зона представлява пластмасов контейнер с обем 10 dm³. На дъното на съда има графитен електрод с площ 120 cm². Съдът е напълнен с крайречен седимент с обем 8 dm³. След това клетката е запълнена с 2 dm³ чиста вода и втори 120 cm² графитен електрод е поставен в повърхностния слой на водата. След това конструираните влажни зони са засадени с *Typha angustifolia*. Физикохимичните характеристики на водата са pH 7,06, Eh 223 mV и EC 46 $\mu\text{S cm}^{-1}$.



Фигура 44. Схема на лабораторната инсталация на конструирана влажна зона с интегрирана седиментна микробна горивна клетка



Фигура 45. Конструирани влажни зони в интегрирани седиментни микробни горивни клетки

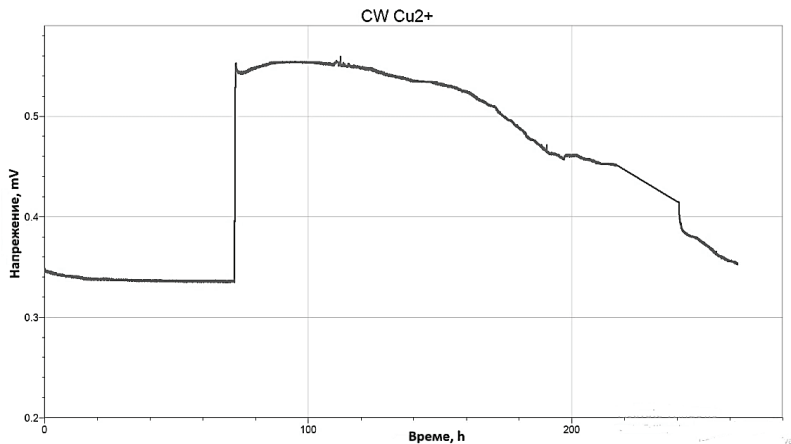
За да бъде установена възможността за едновременен мониторинг и биоремедиация на води замърсени с тежки метали чрез конструираните влажни зони с интегрирани седиментни микробни горивни клетки през тях са пропускани четири синтетични разтвора съдържащи йони на определен тежък метал. Синтетичните разтвори съдържащи тежки метали преминават през конструираната влажна зона с повърхностен поток, където йоните на тежките метали се явяват на допълнителен акцептор на електрони и повишават напрежението на клетката чрез промяна на електрохимичните параметри. Първоначално към клетките се подава чиста вода, докато се достигне стабилно постоянно базово напрежение. След това синтетичните разтвори на тежки метали се подават към отделните клетки при контактно време от седем денонощия и промяната в напрежението на клетката се записва непрекъснато. Периодично се измерва концентрацията на тежки метали според динамиката на напрежението.

За целите на изследването са приготвени четири синтетични разтвора, съдържащи тежки метали. Първият съдържа 25 mg/l Cu^{2+} ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), вторият 25 mg/l Cr^{6+} ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), третият 25 mg/l Ni^{2+} ($\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и последният 25 mg/l Zn^{2+} ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). За да се определи промяната в напрежението към замърсяването с тежките метали, напрежението на биосензорите беше измервано и записвано в реално време чрез Vernier LabQuest Mini и Logger Lite.

8.2 Комбиниран мониторинг и пречистване на води замърсени с тежки метали в конструирани влажни зони с интегрирани седиментни микробни горивни клетки

За да бъде установена приложимостта на конструираните влажни зони с интегрирани седиментни микробни горивни клетки за биоремедиация и мониторинг в реално време на води замърсени с мед, към първата клетка е подавана чиста вода с повърхностен ход на водния поток в продължение на 72 часа. Както се вижда на фигура 46, клетката поддържа стабилно базово напрежение в диапазона 338-340 mV през цялото време. На 72-ия час започна подаването на разтвор на мед с концентрация 25 mg/l. На фигурата ясно се вижда, че когато разтворът навлиза в клетката, напрежението нараства скокообразно до 550 mV. Именно този пик на напрежението може да се използва за практическическо определяне на наличието на замърсяване с мед. В следващите часове се наблюдава постепенно понижаване на напрежението, което съответства на намаляване на концентрацията на мед в изходящата вода. На 200-ия час чрез ICP е определена

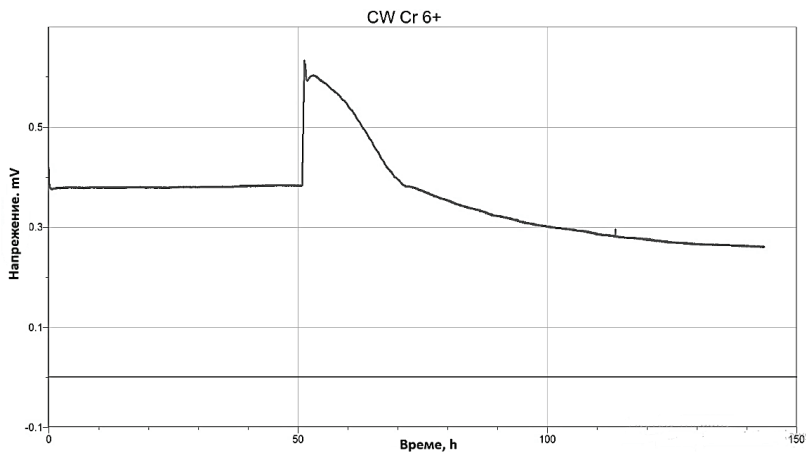
концентрация на мед от 15.34 mg/l, а на 260-ия час е под чувствителността на метода (0,05 mg/l). Напрежението намалява пропорционално с концентрацията на мед и е съответно 458 mV и 462 mV на 200-ия и 260-ия час. Получената графика показва, че в допълнение към наличието на замърсяване с мед, такъв биосензор може да ни даде информация и за степента на третиране на замърсителя в конструираната влажна зона.



Фигура 46. Динамика на напрежението в конструираната влажна зона с интегриран СМГК-биосензор при мониторинг на замърсяване с мед

Следващото проведено изследване целеше да установи възможностите за приложение на конструираните влажни зони с интегрирани седиментни микробни горивни клетки за биоремедиация и мониторинг в реално време на води замърсени с хром. Към втората клетка е подавана чиста вода в продължение на 52 часа. Както се вижда от фигура 47, през тези часове клетката поддържа стабилно базово напрежение в диапазона 377-379 mV. На 52-ия час започна подаването на синтетичен разтвор на хром с концентрация 25 mg/l. Това довежда до моментално повишаване на напрежението до 575 mV и този пик служи за определяне на началото на замърсяването с хром. В следващите часове се наблюдава бързо намаляване на напрежението, което освен на протичащите биохимични и физикохимични процеси на отстраняване на хрома в клетката се дължи и на лесното му отлагане върху катода. На

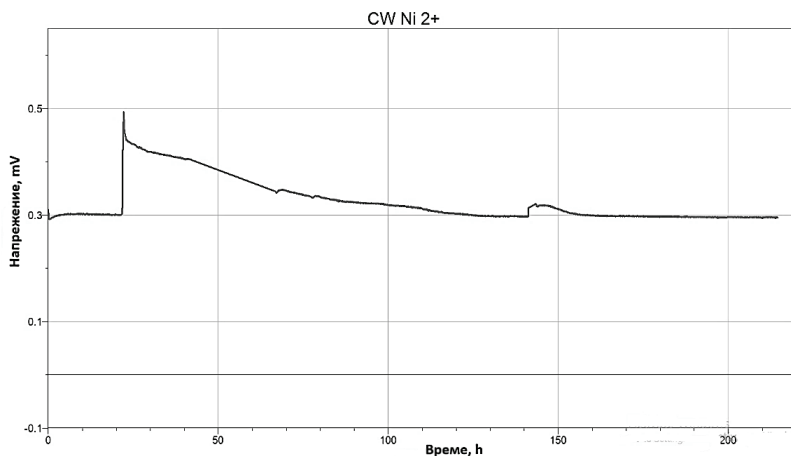
63-ия час чрез ICP е определена концентрация на хром от 13.84 mg/l, а на 80-ия час е под чувствителността на метода (0.05 mg/l). Напрежението намалява пропорционално на концентрацията на хром и е съответно 500 mV и 343 mV на 63-ия и 80-ия час. Напрежението продължава да бъде стабилно, докато се приближава до достигане на нова базова линия от около 270 mV.



Фигура 47. Динамика на напрежението в конструираната влажна зона с интегриран СМГК-биосензор при мониторинг на замърсяване с хром

Третата клетка беше използвана за установяване на възможностите за приложение на конструирани влажни зони с интегрирани седиментни микробни горивни клетки за биоремедиация и мониторинг в реално време на води замърсени с никел (фигура 49). При повърхностен ход на водния поток започна подаването на чиста вода към третата клетка за 22 часа. От фигура 48 се вижда, че през тези часове клетката поддържа стабилно базово напрежение от 300 mV. На 52-ия час при започване на подаване на разтвор на никел с концентрация 25 mg/l се получава пик на напрежението, достигащ мигновено до 497 mV и маркиращ момента на възникване на замърсяване с никел. В следващите часове се наблюдава постепенно намаляване на напрежението, като на 130-ия час то достига базовото за клетката 300 mV. На 70-тия час концентрацията на никел, определена чрез ICP, е 6.91 mg/l, а на 300-ия час е 0.45 mg/l. До края на експеримента (215-ия) час базовото напрежение на клетката не се промени (300 mV), което показва, че след отстраняването на замърсителя клетката продължава да работи

ефективно като биосензор за мониторинг на никел в реално време, и при по-нататъшно замърсяване, това ще се отрази като нов скок на напрежението.

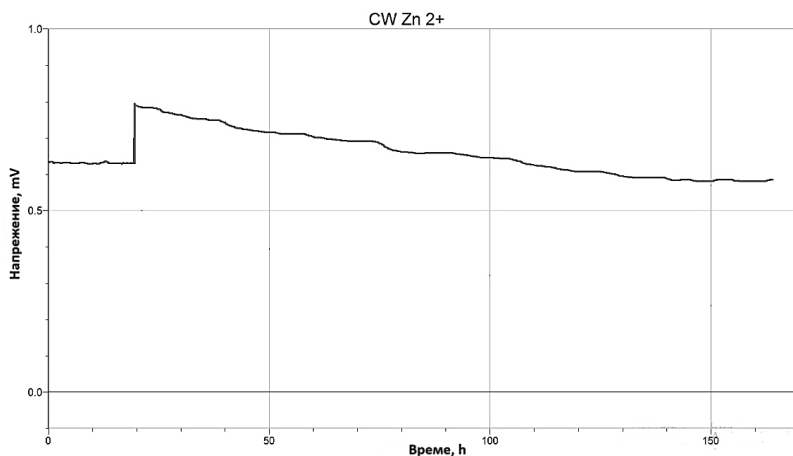


Фигура 48. Динамика на напрежението в конструираната влажна зона с интегриран СМГК-биосензор при мониторинг на замърсяване с никел



Фигура 49. Лабораторна инсталация на конструирана влажна зона с интегриран СМГК-биосензор за мониторинг в реално време и биоремедиация на води замърсени с никел

Последната клетка беше използвана за установяване на приложението на конструирани влажни зони с интегрирани седиментни микробни горивни клетки за мониторинг в реално време и биоремедиация на води замърсени с цинк. Първоначално е подавана чиста вода през клетката, с повърхностен ход на водния поток, за 18 часа. Графиката на фигура 50 показва, че през тези часове клетката поддържа стабилно базово напрежение от 643 mV. На 18-ия час при започване на подаване на цинков разтвор с концентрация 25 mg/l, се получава пик на напрежението до 801 mV и маркира момента на поява на замърсяване с цинк. В следващите часове се наблюдава много плавно намаляване на напрежението, на 50-ия час е 713 mV, на 100-ия час е 658 mV и след това пада под първоначалното напрежение на клетката, достигайки нова базова линия на напрежение на клетката около 600 mV. На 50-ия час концентрацията на цинк, определена чрез ICP, е 18.95 mg/l, на 100-ия час е 8.06 mg/l, а в края на експеримента концентрацията на цинк във водата, изходяща от инсталацията, е 2.62. mg/l.



Фигура 50. Динамика на напрежението в конструираната влажна зона с интегриран СМГК-биосензор при мониторинг на замърсяване с цинк

Адсорбцията на тежки метали от почвата е едно от най-сериозните предимства на биосензорите, базирани на седиментни микробни горивни клетки, за да могат да се използват многократно, без да се засяга електроактивната микрофлора, което е от фундаментално значение за генерирането на енергия в седиментната микробна горивна

клетка. Поради това е проведено изследване върху концентрацията на тежки метали в различните слоеве на почвата, след преминаване на разтворите през клетките. Резултатите са представени в таблица 13.

Таблица 13. Съдържание на йони на тежки етали в различните слоеве на седимента

Седиментен слой	Zn, mg.kg ⁻¹	Ni, mg.kg ⁻¹	Cr, mg.kg ⁻¹	Cu, mg.kg ⁻¹
0-10 cm	140	25.4	25.7	69.8
10-30 cm	108	13.7	20.5	60.5
Изходен седимент	105	13.0	20.2	59.5

От таблицата се вижда, че концентрацията на тежки метали е значително по-висока в първите десет сантиметра от дълбочината на седимента. В долния слой концентрацията на тежки метали остава близка до тази, измерена в изходната почва. Това показва, че дори при шоково замърсяване, електроактивните микроорганизми, обитаващи анодната област, остават защитени от токсичен шок, което позволява биосензорът да се използва дългосрочно при повтарящи се замърсявания с тежки метали.

Навременното откриване и третиране на води, замърсени с тежки метали, е от съществено значение за опазването на околната среда в индустриалния свят. Методите, които предлагат мониторинг в реално време и ефективно пречистване, трябва да са икономически ефективни, за да могат да се прилагат в широки мащаби. Предложеното в тази глава решение съчетава едновременно биоремедиация на води, замърсени с тежки метали, в конструирана влажна зона и мониторинг в реално време чрез естествено генерирано напрежение от интегрирана седиментна микробна горивна клетка.

Резултатите от проведеното изследване показаха незабавна реакция на СМГК-базирания биосензор при замърсяване с мед, хром, никел и цинк в концентрации от 25 mg/l, както и ефективно отстраняване на техните йони от водите вконструираната влажна зона. При въвеждане на йони на тежки метали в системата бе наблюдавано рязко увеличение на напрежението между 150 и 200 mV. Йоните на

хрома бяха отстранени чрез изкуствената влажна зона за най-кратко време – 28 часа. В началото и в края на всеки експеримент напрежението имаше стабилни базови стойности, което показва възможността за използване на този тип биосензори при повторно замърсяване.

Повърхностния слой на почвата абсорбира голяма част от тежките метали, предотвратявайки достигането им до електроактивните микроорганизми в анодната зона, което може да компрометира работата на системата чрез инхибиране на ЕАБ и да наруши стабилната ѝ дългосрочна работа [41].

ГЛАВА IX. ПРОЕКТИРАНЕ, ИЗГРАЖДАНЕ И АНАЛИЗ НА РАБОТАТА НА ПИЛОТНА ИНСТАЛАЦИЯ НА КОНСТРУИРАНА ВЛАЖНА ЗОНА С ИНТЕГРИРАНИ СЕДИМЕНТНИ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ ЗА МОНИТОРИНГ И БИОРЕМЕДИАЦИЯ НА ВОДИ

Продължителността на експлоатация на конструираните влажни зони може да е различна и зависи от редовната поддръжка, основно чрез наблюдение на нормалното преминаване на пречиствания воден поток и предотвратяване на запушвания [5]. В случай на неизправност е възможна подмяната на филтърния материал, засаждане на нова растителност, въвеждане на механично стъпало и други. За да се удължи експлоатационния живот на конструираните влажни зони е необходимо да се спазват някои основни изисквания:

- Да се добави или коригира оформлението на механично стъпало (филтър), което да предотврати преминаването на едри частици, които могат да запушат конструираната влажна зона. Периодично да се ревизира дали механичното стъпало отговаря на проектните параметри и режима на потока;
- Да се извършва редовен контрол на изходящия воден поток (нормално изтичане, явна поява на цвят, мътност или миризма);
- Да се осъществява редовна поддръжка на водолюбивата растителност. Да се премахват нежелани видове, да се следи за вредители по растенията и да се засажда нова при нужда [71].

Подготовката на изграждането включва някои основни етапа – проучвателна работа, разработване на проект, избор на строителна площадка, схема на конструираната влажна зона и разположението ѝ.

Предварителното проучване трябва да бъде фокусирано върху изясняване на следните въпроси:

- Определяне на общата характеристика на района, очакваното местоположение на генериране и отвеждане на отпадъчните води, водния режим, идентифициране на варианти за заустване или оползотворяване на пречистените отпадъчни води и други;

- Определяне на необходимата площ за конструираната влажна зона;
- Определяне на количеството, състава и режима на отпадъчните води;
- Определяне на основните метеорологични и климатични условия и тяхната оценка;
- Икономическа и социална оценка, установяване на имуществени отношения на площите, засегнати от конструкцията на влажната зона, начина на използване на засегнатите площи, възможност за напояване с пречистени отпадъчни води и други [80].

9.1 Оразмерителни зависимости при проектиране на конструиранни влажни зони

Конструираните влажни зони се разделят на два основни вида според хода на пречиствания воден поток:

- Конструиранни влажни зони с хоризонтален повърхностен ход на водния поток;
- Конструиранни влажни зони с вертикален обемен ход на водния поток.

И в двата случая конструираните влажни зони се състоят от хидроизолиран басейн или се използват на пластмасови контейнери. Важно условие е дебелината на хидроизолацията или на контейнера да е съобразена с обема на съоръжението, за да се избегнат деформации или разкъсвания. Използваните материали трябва да бъдат устойчиви на стареене, UV радиация и големи температурни разлики [93].

При конструираните влажни зони с хоризонтален повърхностен поток най-подходящите филтърни материали са речните чакъли, с препоръчителна порьозност 0.40 – 0.45 и хидравлична проводимост 0,1 – 1,5 m/s. Възможно е също да се използва трошен камък. Не е препоръчително да се използват различни фракции от филтриращия материал, защото в този случай е трудно да се осигури хомогенна хидравлична пропускливост на конструираната влажна зона [28].

Конструираните влажни зони с хоризонтален повърхностен поток могат да се състоят и от повече последователно свързани пречиствателни басейна, пълни с филтриращ материал с различна фракция – например първо легло с по-груб материал, второ легло с по-фин материал и трето легло с най-фин пясък. Наклонът на

пречиствателните легла варира от 0.5 до 1.5%. Цялата конструирана влажната зона след запълване с филтърен материал се запълва с вода и повърхността на филтърния материал се подравнява с ниво на водата [56, 34].

Конструираните влажни зони с вертикален ход на водния поток са подобни на тези с хоризонтален поток, с тази разлика, че движението на водния поток е във вертикална посока. Филтриращият материал при тях е по-фин от хоризонталните влажни зони. В практиката често се използва пясък или чакъл с фракция 0.2 – 4 мм. За правилно функциониране на този вид системи, разликата във височината между входа и изхода от влажната зона е много важна [73]. Поради фактът, че пречистването на водите във системата е комбинация от бавни физични, химични и биологични процеси, е необходима защитата от частици, които могат да причинят запушване. Поради тази причина добрата предварителна механична обработка е много важна [20].

Важно условие за доброто функциониране на конструираните влажни зони е равномерното разпределение на отпадъчните води в системата. Отпадъчните води в конструираните влажни зони с вертикален ход на водния поток се разпределят предимно чрез перфорирани пластмасови тръби (PVC, PE и др.). Поради изисквания за височинно разположение на входа и изхода, тръбите не са поставени в дълбочина, поради което са изложени на замръзване. То може да бъде предотвратено чрез използване на топлоизолация [96]. Редовна поддръжка на водоразпределящите перфорирани тръби е много важна. При локално запушване е възможно нарушаване на равномерния поток, отпадъчните води да текат в една точка, което да доведе до недостатъчна ефективност на пречиствателния процес. Регулирането на изходящия поток и нивото на водата в системата най-често се осъществява с гъвкав маркуч или пластмасова тръба, свързана към дренажната тръба. По този начин регулирането е гладко и може да се коригира в зависимост от работните параметри на конструираната влажна зона [94].

Пречистването на отпадъчни води чрез конструирани влажни зони е сложна комбинация от биологични, химични и физикохимични процеси. Поради това в практиката и световната литература няма универсален метод и формули за оразмеряване на конструирани влажни зони. Представените формули са често използвани в практиката за оразмеряване на конструирани влажни зони с повърхностен и обемен ход на водния поток [85, 102].

При проектирането на конструираната влажна зона за пречистване на битови отпадъчни води с когенерация на енергия могат да се използват следните оразмерителни зависимости.

Конструираните влажни зони с хоризонтален поток се проектират съгласно следното уравнение, което е получено от уравнението на кинетиката от първи порядък за отстраняване на БПК₅.

$$A = -\frac{Q}{K} \cdot \ln\left(\frac{C_0 - C^*}{C_i - C^*}\right) \quad (1)$$

Където:

A – повърхностната площ на конструираната влажна зона, m²

Q – среден дебит на постъпващите отпадъчни води, m³d⁻¹

K – константа на скоростта на отстраняване на замърсителя

C_i – входяща концентрация на БПК₅, mg/l

C₀ – изходяща концентрация на БПК₅, mg/l

C* - ПДК на БПК₅, mg/l [102]

Следващото уравнение представя опростено изчисление на повърхностната площ на конструираната влажна зона без отчитане на пределно допустимата концентрация на БПК₅.

$$A = \frac{Q (\ln C_0 - \ln C_i)}{K} \quad (2)$$

Площта на конструираната влажна зона може да бъде изчислена и по формулата:

$$A_s = L \cdot W = \frac{Q \ln\left(\frac{C_0}{C_c}\right)}{K_T h n}, m^2 \quad (3)$$

Препоръчителната скоростна константа за пречистване на градски отпадъчни води е $K_{\text{вод}} = 0.1 \text{ m/d}$, което обикновено дава проектната площ на изградената влажна зона $5 \text{ m}^2/\text{p.e.}$. Чрез анализ на множество конструирани влажни зони, е установена средната стойност на скоростната константа от 0.122 m/d (при БПК₅ на входящите води $> 40 \text{ mg/l}$) [85].

За ефективно отстраняване на амониевия азот и фосфора е необходимо да се избере скоростна константа значително по-ниска – около 0.025 m/d или да се избере конструирана влажна зона с вертикален ход на водния поток с достатъчно дълго контактно време. Поради анаеробните условия при обемен ход на пречиствания поток е възможна намалена ефективност по отношение на отстраняването на амониевия азот. Този недостатък може да бъде преодолян чрез периодичен режим на работа на конструираната влажна зона (импулсно хранване и изпразване на системата) [20].

Контактното време на системата се изчислява на базата на следващото уравнение.

$$t = \frac{L \cdot W \cdot h \cdot n}{Q}, d \quad (4)$$

Където:

t – контактно време, d

L – дължина на конструираната влажна зона, m

W – ширина на конструираната влажна зона, m

h – дълбочина на водния поток в системата, m

n – порьозност на материала в системата, %

Q – среден дебит на отпадъчните води, $\text{m}^3 \text{ d}$ [102]

При проектиране на конструирана влажна зона с вертикален ход на водния поток, особено важен параметър е хидравличното натоварване. В случай на най-често използвания пълнеж на подобни системи – чакъл $2 - 4 \text{ mm}$, препоръчителният диапазон е $0.03 - 0.06 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot d$. Височината на филтрация материал трябва да бъде от 0.9 до

1.5 m. Константите на скоростта на отстраняване на замърсяването са идентифицирани от 0.55 до 0.16 m/d за БПК₅ и от 0.027 до 0.11 m/d за амонячен азот [79].

За оразмеряване на конструирани влажни зони с вертикален ход на водния поток се използват още следните зависимости:

$$W = \frac{1}{h} \cdot \left(\frac{Q A_s}{m K_s} \right)^{0.5}, [m] \quad (5)$$

$$L = \frac{A_s}{W}, [m] \quad (6)$$

$$A_C = W \cdot h, [m^2] \quad (7)$$

Където:

K_s – коефициент на филтрация, m/s

A_C – площ на напречното сечение на системата, m²

m – наклон на дъното на конструираната влажна зона, %

Важен параметър е фактора на хидравличните загуби, като за него могат да се приемат следните стойности:

$a = 0.4 \text{ s.m}^{1/6}$ за рядка, ниско растяща растителност и дълбочина на системата $h > 0.4 \text{ m}$;

$a = 1.6 \text{ s.m}^{1/6}$ за средно гъста растителност и дълбочина на системата $h \approx 0.3 \text{ m}$;

$a = 6.4 \text{ s.m}^{1/6}$ за гъста растителност и дълбочина на системата $h \leq 0.3 \text{ m}$.

За изчисляване на работната температура на конструираната влажна зона се използват следващите уравнения. За целта е необходимо да се изчисли коефициента на топлопреминаване– U на пластове на системата при промяна на температурата с 1°C.

$$U = \frac{1}{\left(\frac{y_1}{\lambda_1}\right) + \left(\frac{y_2}{\lambda_2}\right) + \dots + \left(\frac{y_n}{\lambda_n}\right)}, [W / m^2 K] \quad (8)$$

$$T_C = T_0 - \frac{(T_{\text{възд}} - T_0) U t}{C_p \rho h n}, [^{\circ}C] \quad (9)$$

Където:

C_p – специфичен топлинен капацитет на водата, J/kg.K;

ρ – плътност на водата, kg/m³ ;

h – дълбочина на водния поток в системата , m;

U – коефициент на топлопреминаване, W/m².K .

n – порьозност на материала в системата, %.

t – контактно време, s;

T_0 – температура на постъпващите в системата отпадни води, °C;

$T_{\text{възд}}$ – средна температура на въздуха, °C; [102]

9.2 Проектиране и изграждане на пилотна инсталация на конструирана влажна зона за пречистване на битови отпадъчни води с интегрирани седиментни микробни горивни клетки

Информация за обекта и характеристики на отпадъчните води

Обектът, за който се проектира конструирана влажна зона за пречистване на отпадъчни води с когенерация на енергия се намира в област София-град, село Иваняне, местност Ледника (Фигура 51). Парцелът е с площ 979 m², като 220 m² е застроена площ състояща се от жилищна сграда и стопански постройки. По-голямата част от останалата площ е обработваема земя.



Фигура 51. Сателитна снимка на обекта

Имотът има статут на вила и не се обитава целогодишно. Към момента на предпроектното проучване, отпадъчните води са зауставани в попивна яма. Обекта е с външна тоалетна и чрез проектираната конструирана влажна зона ще бъдат третираны единствено отпадъчните води генерирани от чешми, душове и пералня в къщата (сиви отпадъчни води).

На база предпроектно проучване и анализ на отпадъчните води са установени следните характеристики:

Максимално дневно количество на отпадъчните води – 0.2 m^3

Минимално дневно количество на отпадъчните води – 0.05 m^3

БПК₅ – $80 \text{ mg/l} \pm 5$

ХПК – $150 \text{ mg/l} \pm 10$

Общ фосфор – $10 \text{ mg/l} \pm 2$

Общ азот – $19 \text{ mg/l} \pm 4$

TSS – $120 \text{ mg/l} \pm 10$

pH – 7.6 ± 0.2

Проектиране на конструираната влажна зона

На база проведеното предпроектно проучване е направено проектиране на конструирана влажна зона за пречистване на битови отпадъчни води с когенерация на енергия.

Първо е направено проектиране на конструирана влажна зона с повърхностен поток. За ефективно отстраняване на БПК, азот и фосфор, на база световната практик, а е избрана реакционна константа $K = 0.025$. По горепосочените уравнения е изчислена площта на конструираната влажна зона.

$$A = \frac{Q \ln\left(\frac{C_0}{C_i}\right)}{K} = \frac{0.2 \frac{80}{25}}{0.025} = 25.6 \text{ m}^2 \quad (10)$$

Поради голямата проектна площ на конструираната влажна зона с повърхностен поток и необходимата площ на съпътстващата инфраструктура, е предпочетено изграждането на конструирана влажна зона с вертикален обемен ход на водния поток. Проектирането е извършено на база следните зависимости.

Препоръчителното хидравлично натоварване на конструирана влажна зона с вертикален ход на водния поток за третиране на води с невисоко замърсяване е $0.08 - 0.15 \text{ m}^3/\text{m}^2$. От тук следва:

$Q_{cp}/d = 0.125 \text{ m}^3$ следователно:

$$A = \frac{0.125}{0.13} = 0.96 \text{ m}^2 \quad (11)$$

Получената минимална площ на конструираната влажна зона за дебита на генерираните отпадъчни води е 0.96 m^2 .

Препоръчителната височина на филтриращия материал е $0.8 - 1.5$ метра. За проектирането на инсталацията е избрана височина на филтриращия материал 0.9 метра. Филтриращия материал ще се състои от равни части речен камък ($20-40\text{mm}$) и почва. От тук средната порьозност на филтриращия материал е изчислена на 0.55 .

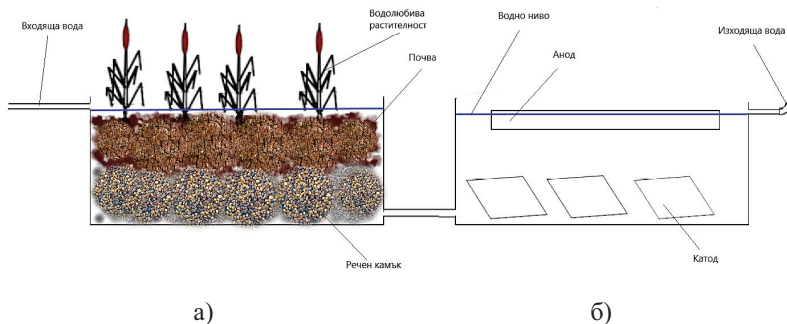
Необходимото контактно време t е изчислено спрямо формулата:

$$t = \frac{L W h n}{Q} = \frac{0.95 \cdot 0.9 \cdot 0.55}{0.2} = 2.38 \approx 2.5 \text{ денонощия} \quad (12)$$

Отпадъчните води ще постъпват в събирателен съд, откъдето гравитачно или посредством помпа ще се подават към конструираната влажна зона. Въпреки, че не се очакват едри частици в отпадъчните води, ще бъде осигурена механично стъпало (решетка) с оглед избягване на запушване на инсталацията.

Изграждане на конструирана влажна зона с интегрирани седиментни микробни горивни клетки

На база получените проектни параметри е избрано конструираната влажна зона да бъде изградена от два последователно свързани пластмасови резервоара с размери В/Ш/Д 117/58/110 см. и обем 500 литра. На дъното на съдовете е поставен слой речен камък (20-40 мм) с дебелина 45 см. Над него е разположен слой почва, също с дебелина 45 см. Двата резервоара са свързани последователно в основата си чрез два сферични крана 1", хромирани нипели 1" и гумен маркуч 1¼" (фигура 53). Отпадъчната вода постъпва чрез перфорирана PVC тръба в повърхностната зона на първия съд и се движи с низходящ ход на водния поток през него. На дъното водата преминава във втория съд и чрез възходящ ход ще излиза от него (фигура 52 а). Изборът на този вид ход на водния поток е свързан със създаването на подходящи окислително-редукционни условия в системата необходими за генерирането на по-висока електроенергия от интегрираните седиментни микробни горивни клетки при пречистването на водите. Конструираната влажна зона е засадена с местна водолюбива растителност (папур, тръстика и острица). При недостигане на достатъчна степен на пречистване е възможно последователното включване на допълнителен съд със същите параметри.



Фигура 52. Схема на конструираната влажна зона с интегрирани седиментни микробни горивни клетки

а) надлъжен разрез на конструираната влажна зона, б) разположение на електродите в КВЗ на интегрираните седиментни микробни горивни клетка



Фигура 53. Изграждане на конструирана влажна зона с интегрирани седиментни микробни горивни клетки (финансирано от Фондация Карол Знание чрез грант от програма Предприемачи в науката)

За постигане на паралелен добив на енергия, в конструираната влажна зона са интегрирани седиментни микробни горивни клетки. За целта на дъното на двата съда (анаеробната зона), са разположени по три електрода от неръждаема стомана AISI 304 с размери 33x40 см, или обща площ на анодите във всеки съд 0.79 m². В повърхностния слой на водата (аеробната зона) са разположени отново по три електрода от неръждаема стомана AISI 304 с размери 22x100 см и площ на катодите

1.32 m² (фигура 52 б). За електрическата верига за използвани многожилни кабели 1.5 mm², като всеки електрод е свързан с два кабела, един основен и един резервен, в случай на прекъсване (фигура 54 а). Използването на три електрода за анод и три за катод ще позволи по-задълбочени измервания и установяване на различни електрохимични зависимости.



а)



б)

Фигура 54. Конструирана влажна зона с интегрирани седиментни микробни горивни клетки

а) в процес на изграждане, б) завършен вид на КВ



Фигура 55. Конструираната влажна зона с интегрирани седиментни микробни горивни клетки след едногодишна работа

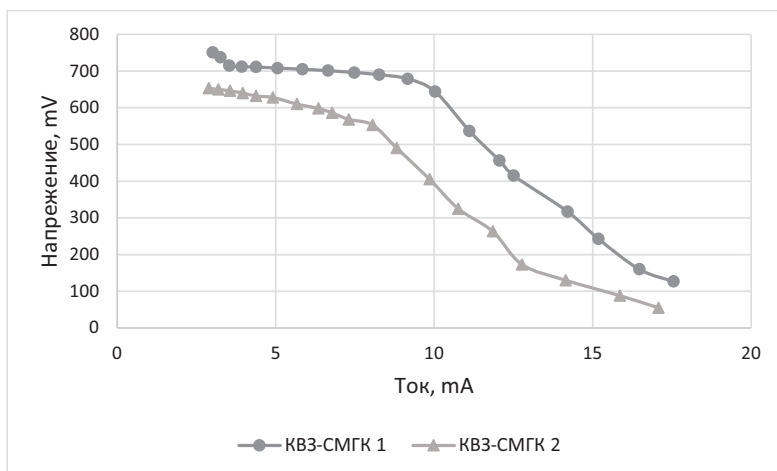
След завършване на изграждането на конструираните влажни зони (фигура 54 б), те бяха запълнени с чиста вода и оставени в рамките на две седмици за стабилизиране на електрохимичните и микробиологични процеси. След този период започна подаване на

отпадъчна вода към системата. Резултатите от третирането показаха добра ефективност на системата по отношение на изследваните замърсители. След третиране, водата достигна достатъчно добро качество и беше използвана за напояване, което значително намали разхода на прясна вода за такива цели. След едногодишна работа се наблюдаваше значително подобрене в развитието и вегетацията на водолюбивата разстителност (фигура 55). Това доведе и до повишаване ефективността на пречистване.

Ефективността на пречистване в конструираната влажна зона на битови отпадъчни води не е тема на настоящата книга, поради което ще обсъдим по-широко електрическите параметри на системата по време на нейната работа и проведените по-късно експерименти свързани с мониторинга и пречистването на води замърсени с мед.

9.3 Възможности за мониторинг и пречистване на води замърсени с мед в пилотна инсталация на конструирана влажна зона с интегрирани седиментни микробни горивни клетки

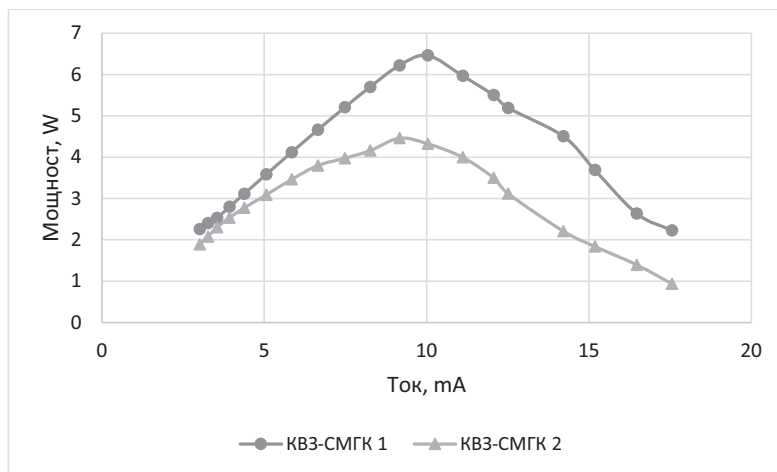
На фигура 56 и 57 са представени основни електрически параметри на двата резервоара (KB3-СМГК1 и KB3-СМГК2) изграждащи конструираната влажна зона с интегрирани седиментни микробни горивни клетки след едногодишна работа.



Фигура 56. Волт-амперни характеристики на интегрираните седиментни микробни горивни клетки

Измерените волт-амперни характеристики показват по-високо генерирано напрежение от КВЗ-СМГК 1. Това вероятно се дължи на хода на водния поток, който в КВЗ-СМГК 2 е възходящ и възпрепятства създаването на оптимални окислително-редукционни условия и достатъчно висока потенциална разлика между анодната и катодната зона. По отношение на тока се наблюдават близки максимални стойности за двата седиментни микробни горивни клетки, съответно 17.55 mA за КВЗ-СМГК 1 и 17.08 mA за КВЗ-СМГК 2.

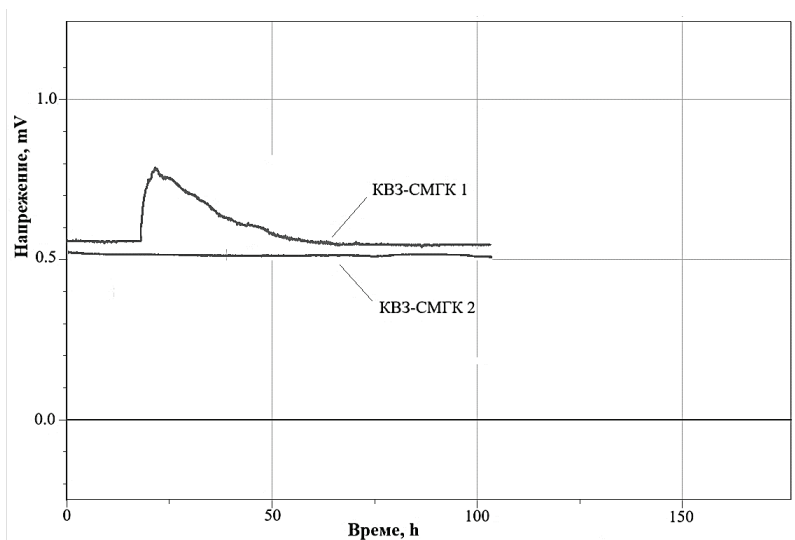
На фигура 57 е представена динамиката на мощността за двете интегрирани седиментни микробни горивни клетки. Поради по-ниското генерирано напрежение, в КВЗ-СМГК 2 се наблюдава по-ниска максимална мощност от 4,45 W, докато в КВЗ-СМГК 1 тя е 6.46 W. И двете максимални мощности са отчетени при външно съпротивление от 1000 Ω , поради което това съпротивление е използвано и при изследване възможността за приложение на конструираната влажна зона с интегрирани седиментни микробни горивни клетки за мониторинг и биоремедиация на води замърсени с мед в реални условия на околната среда.



Фигура 57. Динамика на мощността на интегрираните седиментни микробни горивни клетки

Експериментът за установяване на възможността за едновременен мониторинг и биоремедиация на води замърсени с мед в така проектираната и изградена конструирана влажна зона с

интегрирани седиментни микробни горивни клетки е проведен през пролетта при среднодневни температури от 18.5 °C. За целта към конструираната влажна е подавана чиста вода с контактно време 72 часа. На 20-тия час към KB3-СМГК 1 импулсно е подаден синтетичен разтвор с обем 65 литра (приблизителния обем на повърхностния воден слой на KB3-СМГК 1) съдържащ мед с концентрация 25 mg/l, след което е продължено подаването на чиста вода при същото контактно време. През целия период на експеримента в реално време е записвана промяната на напрежението на KB3-СМГК 1 и KB3-СМГК 2. Данни за динамиката на напрежението са представени на фигура 58.



Фигура 58. Динамика на напрежението в конструираната влажна зона с интегриран СМГК-биосензор при мониторинг на замърсяване с мед

От получените графики може да се установи, че след стабилно базово напрежение на KB3-СМГК 1 от 568 mV при подаване на чиста вода, на 20-тия час при импулсно подаване на синтетичния разтвор на мед се наблюдава рязко покачване на напрежението с 230 mV. В следващите часове се наблюдава бавно понижаване на напрежението в следствие, както на разреждането на водата в катодната област, така и на пречиствателните процеси водещи до отстраняване на медните йони. На 63-тия час, напрежението се връща до базовата си стойност за KB3-

СМГК 1, докато напрежението на KB3-СМГК 2 остава постоянно в рамките на 510 ± 5 в продължение на целия експеримент.

За да бъде установена ефективността на пречиствателния процес, на 40-тия и 65-тия час за взети проби за анализ от повърхностния слой на KB3-СМГК 1 и от изходящите води от KB3-СМГК 2. На 40-тия час концентрацията на мед в повърхностния слой на KB3-СМГК 1 е 10,29 mg/l, докато в 65-тия час концентрацията е под чувствителността на метода (0.05 mg/l). И при двете опробвания на изходящите води от KB3-СМГК 2, концентрацията на мед беше под 0.05 mg/l, което корелира с постоянното напрежение на тази клетка.

Въпреки, че конструираната влажна зона с интегрирани седиментни микробни горивни клетки е проектирана и изградена за пречистване на битови отпадъчни води с паралелен добив на енергия, проведените експерименти за установяване на възможността за едновременен мониторинг и биоремедиация на води замърсени с мед в реални условия на околната среда бяха успешни. Резултатите показват ефективно отстраняване на медните йони, като след 40 часа, в системата и в изходящите от конструираната влажна зона води, концентрацията им е под 0.05 mg/l. Интегрираните седиментни микробни горивни клетки могат да работят ефективно като биосензори за замърсяване с мед. При навлизане на води съдържащи медни йони, генерираното напрежение от KB3-СМГК 1 се повишава рязко, след което постепенно започва да спада корелирайки с намаляващата концентрация на Cu^{2+} . Базовото напрежение на KB3-СМГК 2 остава постоянно по време на целия експеримент отразявайки липсата на замърсяване с медни йони в изследваните изходящи води от клетката. Експериментът показва още едно възможно приложение на СМГК-базирани биосензори интегрирани в конструирани влажни зони, а именно проследяване ефективността на пречиствателния процес. Предстои да бъдат направени допълнителни изследвания при различни условия на средата, концентрации и вид на замърсителя и различни контактни времена. Получените резултати са основа за осъвършенстване на технологията и подобряване на чувствителността на биосензорите за бъдещо приложение в практиката.

ГЛАВА X. ПРОТОТИПИ НА СМГК-БАЗИРАНИ БИОСЕНЗОРИ ЗА МОНИТОРИНГ НА ЗАМЪРСЯВАНИЯ НА ВОДИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ

Замърсяването на водите представлява значителна заплаха за водните екосистеми, околната среда и човешкото здраве, което налага непрекъснат мониторинг на тяхното качество. Инструменталните методи за наблюдение на замърсителите във водата имат висока чувствителност, но често тези техники изискват скъпо оборудване и време за анализ. Те се сблъскват и с предизвикателства, свързани със сложни оперативни процедури. За разлика от тези традиционни физикохимични методи, които могат да откриват само предварително избрани замърсители, базираните на биосензори подходи осигуряват по-широк обхват и оценка на замърсяването на водите. Чрез оценяване на общия физиологичен отговор на биологичните компоненти към водни проби, те могат да откриват както известни, така и неизвестни токсични вещества, допълвайки недостатъците на традиционните методи [52]. В този контекст разработването на устойчива, лесна за работа и евтина система за ранно предупреждение и откриване в реално време на замърсявания е от решаващо значение за екологичните последици.

В сравнение с конвенционалните биосензори, биосензорите, базирани на седиментни микробни горивни клетки, показват предимства като ниска цена, прост дизайн, възможност за използване на място и автономен мониторинг, което ги прави обещаващи устройства за дългосрочен мониторинг на качеството на водите [3]. През последните години са разработени лабораторни модели на биосензори, базирани на седиментни микробни горивни клетки, за откриване на различни екологични замърсители и фактори, като нефтени разливи [58], разтворен кислород [22, 62], тежки метали [90], химическа необходимост от кислород (ХПК) [77], мощност на утайки [87] и други.

Изследването и проектирането на нови методи и стратегии за конструиране на СМГК-базирани биосензори, които могат да бъдат стабилни в различни среди, са неотложни задачи за бъдещото развитие на този вид биосензори. Разработването на евтини електродни материали, които са устойчиви на корозия, пасивиране и други негативни влияния, може да бъде много важно за бъдещи приложения, за да се отговори на изискванията за дългосрочен мониторинг. [61] Подобряването на аналитичните характеристики винаги е ключов въпрос за биосензорите, базирани на СМГК. Освен това, тестването на терен и мащабирането също са важни задачи за практическото

приложение на тези устройства. В момента повечето биосензори, базирани на седиментни микробни горивни клетки, работят при лабораторни условия. Въпреки това, при полеви приложения много параметри като рН, температура, концентрация на кислород, йонна сила и други влияят на тяхната работа. Следователно, биосензорите, базирани на СМГК, трябва да бъдат допълнително тествани при реални условия и е необходима полева оценка преди практическо приложение. Освен това, мащабирането е друго голямо предизвикателство за СМГК-базирани биосензори.

10.1 Прототип на СМГК-базиран биосензор за мониторинг на замърсявания на води с тежки метали, с възможност за работа в полеви условия и настолно приложение

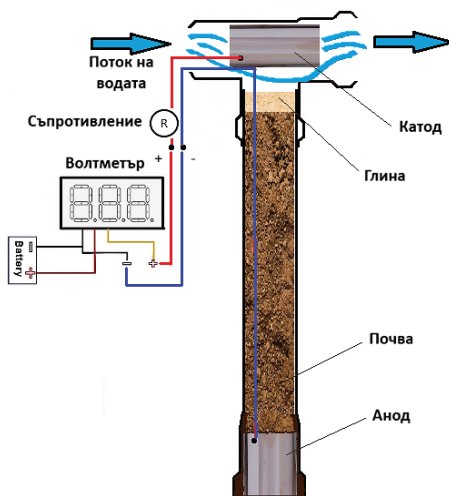
Като бяха взети предвид изброените фактори, както и липсата в достъпната литература на предложени и изследвани модели СМГК-базирани биосензори за реално практическо приложение, беше конструиран и тестван прототип на биосензор, базиран на СМГК, изцяло предназначен за практическо приложение с цел валидиране в реални оперативни условия. При изграждането на биосензора бяха взети предвид и оптимизирани влияещите параметри, така че сензорът да може да работи дългосрочно, ефективно на терен, да има достатъчно висока чувствителност към различни тежки метали и да бъде изработен от евтини и стандартизирани структурни елементи. Изследванията показаха висока ефективност както при лабораторни условия, така и по време на полеви тестове.

Биосензорът се състои от седиментна микробна горивна клетка, която включва анодна и катодна част. Анодната част представлява PVC тръба с диаметър 50 mm и дължина 500 mm. Дъното на тръбата е затворено с PVC тапа. Тръбата е пълна с крайречен седимент. На дъното на тръбата има електрод от неръждаема стомана AISI 304 с площ 240 cm², действащ като анод. В горната си част тръбата е запущена с перфорирана гумена капачка с глинен слой, действащ като мембрана между анодната и катодната зона. Катодната част представлява PVC разклонител Ø50/50x87°, в който надлъжно е разположен дъгообразен електрод, направен от неръждаема стомана AISI 304 с площ 240 cm², действащ като катод. Двете структурни елементи са свързани и формират прототип на биосензор (фигура 59), базиран на СМГК.

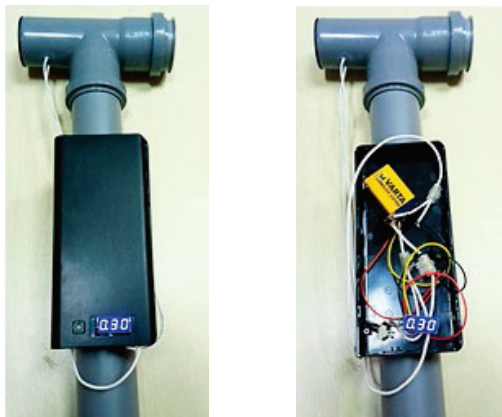
Потокът на изследваната вода преминава свободно през катодната зона. Двата електрода са свързани чрез меден проводник към цифров волтметър с индивидуално захранване. В електрическата верига

е инсталиран и потенциометър с максимално съпротивление от 20 K Ω . Волтметърът измерва промяната в напрежението, генерирано от биосензора, когато изследваната вода преминава през него (фигура 60).

За целите на изследването бяха приготвени пет синтетични разтвора, съдържащи съответно Ni²⁺ (NiSO₄·7H₂O), Pb²⁺ (PbCl₂), Cu²⁺ (CuSO₄·5H₂O), Mn²⁺ (MnSO₄·H₂O) и Zn²⁺ (ZnSO₄·7H₂O) с различни концентрации. Разтворите на тежки метали бяха приготвени в четири концентрации – 5 mg/l, 20 mg/l, 50 mg/l и 100 mg/l. През биосензора последователно бяха пропускани отделните разтвори на тежки метали с нарастващи концентрации. За да се определи реакцията на напрежението спрямо йоните на тежки метали, напрежението на биосензорите беше измерено и записано с помощта на Vernier LabQuest Mini и софтуер Logger Lite 1.9.4.

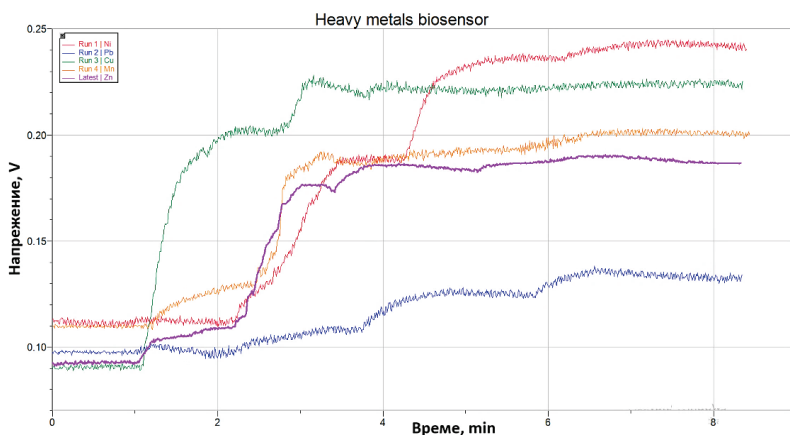


Фигура 59. Схема на прототип на СМГК-базиран биосензор



Фигура 60. Прототип на СМГК-базиран биосензор

На Фигура 61 са представени графики, показващи промяната в напрежението на биосензора в отговор на различни концентрации на тежки метали – Ni, Zn, Pb, Mn и Cu.



Фигура 61. Динамика на напрежението на СМГК-базирания биосензор спрямо разтвори на тежки метали с различна концентрация

Представената графика показва промяната в напрежението спрямо различни концентрации на метални йони: никел, олово, мед, манган и цинк. Данните показват, че биосензорът проявява най-висока

чувствителност към медни йони. При само 5 mg/l Cu^{2+} , напрежението на сензора се увеличава с 120 mV в рамките на секунди, след което напрежението се стабилизира на 206 ± 2 mV. Подаването на разтвор с концентрация на мед от 20 mg/l води до увеличение на напрежението с 25 mV, докато подаването на разтвор с концентрация на мед от 50 mg/l води до увеличение на напрежението с 10 mV. Преминаването на разтвор с концентрация на мед от 100 mg/l не предизвиква никаква промяна в напрежението, което показва, че тази концентрация надвишава обхвата на чувствителност на биосензора за изследваните концентрации.

Биосензорът проявява най-ниска чувствителност към оловни йони. Концентрация на оловни йони от 5 mg/l води до увеличение на напрежението с 5 mV, докато концентрация от 20 mg/l води до увеличение на напрежението с 10 mV. Сензорът демонстрира по-висока чувствителност при концентрации от 50 mg/l и 100 mg/l, въпреки до увеличението на напрежението с 22 mV и 14 mV съответно.

За останалите три метали се наблюдават сравнително еднакви графики на напрежението. За всички три метала, преминаването на разтвор с концентрации на йони от 100 mg/l води до незначителни увеличения на напрежението, които често могат да се отдадат на различни фактори на околната среда. Въвеждането на разтвор с концентрация от 5 mg/l не води до промяна в напрежението за никел, за разлика от цинка и мангана, където се регистрират увеличения на напрежението с 12 mV и 21 mV съответно. Подаването на разтвори с концентрация от 20 mg/l води до най-значителните увеличения на напрежението, съответстваща на най-висока чувствителност, за всички три метала: Ni – 77 mV, Zn – 66 mV и Mn – 62 mV. Въвеждането на разтвори с концентрация от 50 mg/l не води до промяна в напрежението на сензора за манган. За цинк има увеличение на напрежението с 10 mV, докато за никел то е най-съществено – 45 mV.

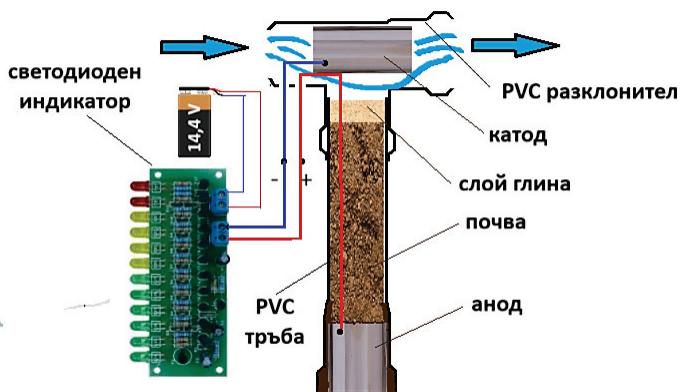
Навременното откриване и третиране на води, замърсени с тежки метали, е от изключителна важност за опазването на околната среда в индустриалния свят. Съществуващите методи често не предполагат навремени реакции на замърсявания на водите, което налага внедряването на иновативни технологии. Биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки предлагат евтина и същевременно ефективна алтернатива на конвенционалните методи за мониторинг и третиране на води, но за практическото им приложение е задължително преминаването им през отделните нива на технологична

готовност. Конструирания и изследван прототип на СМГК-базиран биосензор съчетава евтини и в същото време устойчиви за дългосрочна работа материали. Също така са използвани стандартизирани елементи, което позволява лесната му изработка и внедряване в различни технологични схеми. Конструкцията му позволява да бъде използван и като портативно устройство на терен или при настолна работа. Получените резултати от изследването на прототипа доказват ефективността на предложената конструкция и възможността за практическо приложение в управление качеството на води. Конструирания прототип на СМГК-базиран биосензор показва висока чувствителност към изследваните йони на мед, цинк, никел и манган в лабораторни условия. По този начин сензорът достига ниво на технологична готовност 4-5 (TRL 4-5) Инсталирането на дигитален волтметър към самия СМГК-базиран биосензор позволява лесно установяване на събития на замърсяване при рязко покачване на напрежението. Предстои да бъдат направени изследвания и валидиране на прототипа в реална оперативна среда, което ще повиши нивото на технологична готовност до 7-8 (TRL 7-8). Получените резултати ще бъдат важни за по-скорошното практическо приложение на тези устройства в реални условия [36].

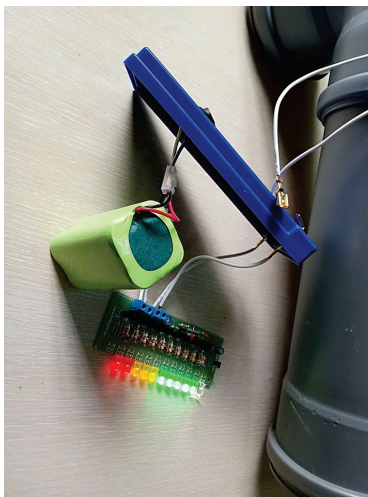
10.2 Прототип на LED СМГК-базиран биосензор за мониторинг на замърсявания на води с тежки метали, с възможност за директно интегриране в технологични схеми

След конструиране и тестване на първия прототип на СМГК-базиран биосензор, беше разработен втори такъв. Конструкцията на втория прототип целеше подобряване стабилността на електрическите параметри на биосензора, устойчива дългосрочна работа, повишена чувствителност към йони на тежки метали и не на последно място по-лесно визуално установяване на замърсяване, чрез поставянето на светодиоден индикатор. За тази цел, са използвани PVC тръба Ø110 с дължина 30 см и PVC разклонител Ø110/110x87°. Това позволи поставянето на по-големи електроди, с цел подобряване на електрическите характеристики на СМГК-базирания биосензор. Анодът е с площ 471 cm², а катодът с площ 407 cm². И двата електрода са изработени от неръждаема стомана AISI 304. Конструкцията на втория прототип е идентична с тази на първия, с изключение на гореспоменатите разлики, като схема на биосензора е представена на фигура 62. Вместо поставянето на цифров волтметър, на втория прототип е поставен LED модул (светодиоден индикатор) за индикация

на напрежението, с цел по-лесно визуално установяване на замърсяване и потребителска работа с уреда (фигура 63).

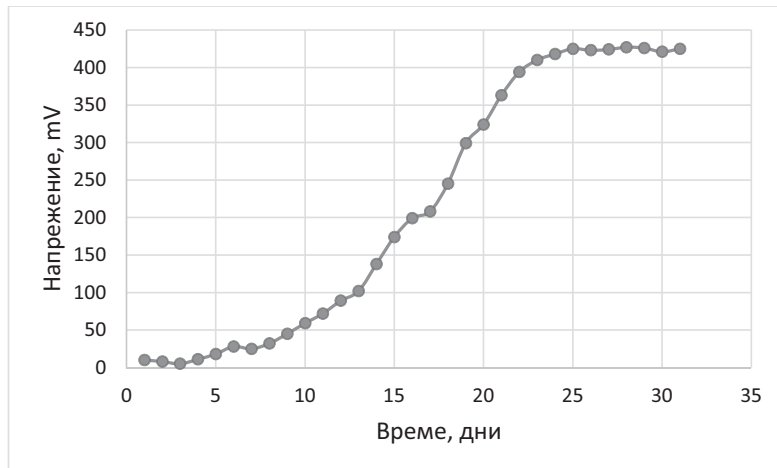


Фигура 62. Схема на LED CMГК-базиран биосензор



Фигура 63. LED CMГК-базиран биосензор за тежки метали

След конструиране на СМГК-базирания LED биосензор, беше изследвано времето му за стартиране, чрез установяване на времето необходимо за достигане на стабилно базово напрежение на седиментната микробна горивна клетка. Данните от изследването са представени на фигура 64.

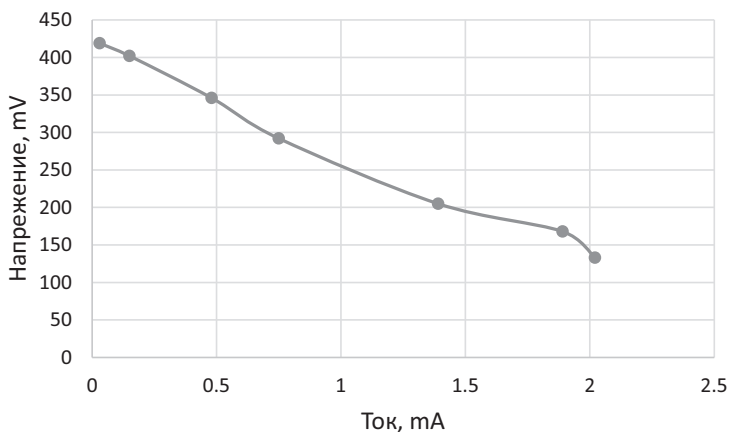


Фигура 64. Време за достигане на базово напрежение на LED СМГК-базирания биосензор

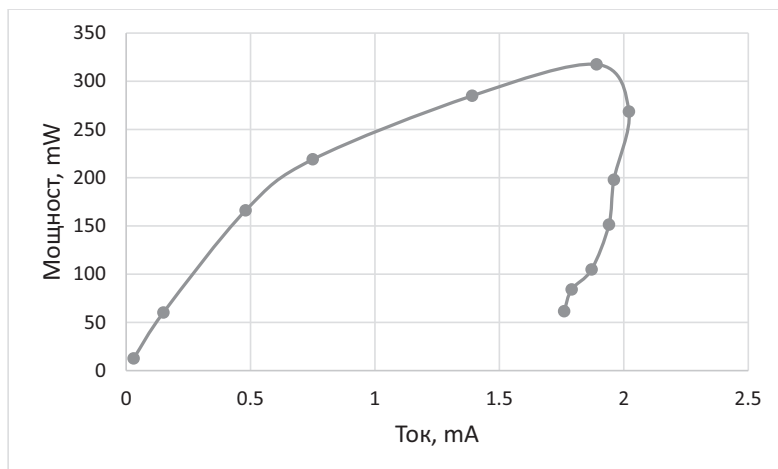
От представената графика се вижда, че след конструиране на биосензора са необходими 25 дни до достигане на стабилно напрежение от СМГК-базирания биосензор. През това време се извършва аклиматизация на електроактивните микроорганизми, както и уравновесяване на био-електрохимичните процеси в анодната и катодната зона на клетката. През първите две седмици се наблюдава по-бавно повишаване на напрежението на отворена верига, като след 15 ден повишаването става по-рязко до достигане на стабилно напрежение на отворена верига между 25 и 31-вия ден от 424 ± 3 mV.

След стабилизиране на работата на СМГК-базирания биосензор, бяха измерени неговите основни електрически характеристики. Данни от измерванията са представени на фигура 65 и 66.

Представните данни показват максимална стойност на тока от 2.02 mA при напрежение от 133 mV. Измерената максимална мощност на СМГК-базирания биосензор е 317.5 mW.

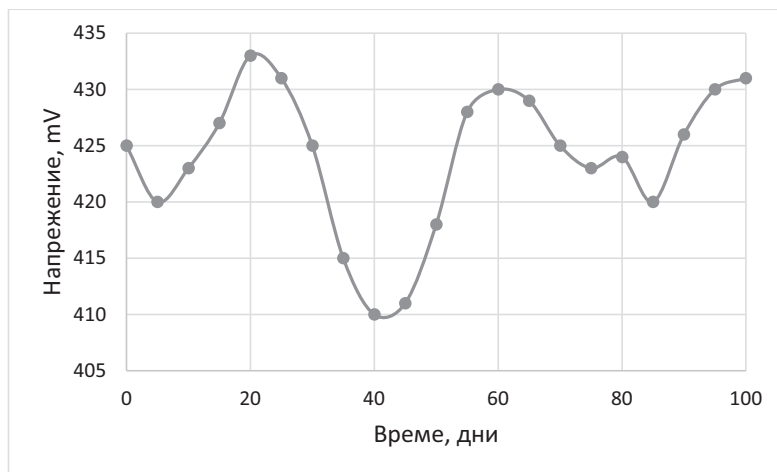


Фигура 65. Волт-амперна характеристика на LED СМГК-базирания биосензор



Фигура 66. Динамика на мощността на LED СМГК-базирания биосензор

Друга важна характеристика на СМГК-базираните биосензори е осигуряването на дългосрочно стабилно базово напрежение. За установяване на тази характеристика на конструирания прототип, в продължение на 100 дни е измервано напрежението на биосензора. Данни от изследването са представени на фигура 67.

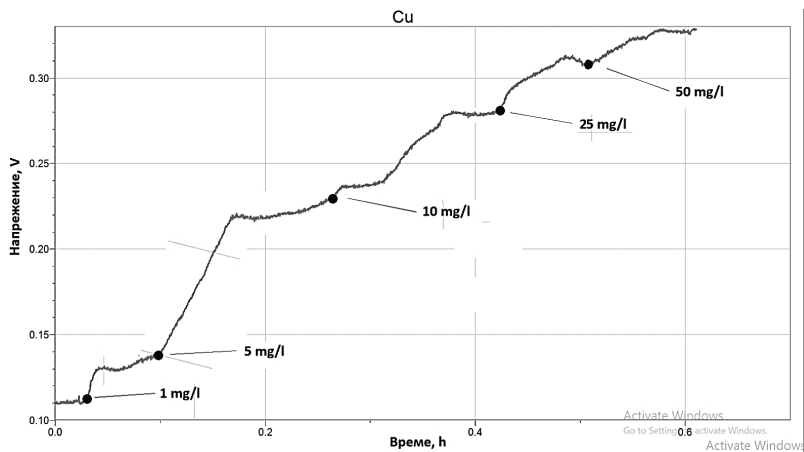


Фигура 67. Дългосрочна стабилност на базовото напрежение

По време на изследвания период не се наблюдаваха значителни колебания в базовото напрежение на СМГК-базирания биосензор. Генерираното напрежение се движи в рамките на 420 ± 12 mV. Незначителните промени в напрежението се случваха бавно и такива колебания при реална работа на биосензора не могат да се свържат с детекция на замърсител в мониторираните води. При детекция на тежки метали, поведението на сензора е коренно различно, с рязък значителен скок на напрежението. Леките промени в генерираното напрежение от биосензора са нормални и най-често са свързани с промени на температурата и активността на електроактивните микроорганизми.

Сладващите експерименти със СМГК-базирания биосензор целяха да установят неговата чувствителност към йоните на някои тежки метали, които най-често се срещат като замърсители в промишлените отпадъчни води и могат имат силно токсично въздействие. За целите на експеримента са подготвени четири вида синтетични разтвори, съдържащи определен тежък метал – мед, манган,

никел и цинк. Разтворите са приготвени в пет концентрации – 1, 5, 10, 15, 50 мг/л. Отделните разтвори са подавани последователно през СМГК-базирания биосензор с нарастваща концентрация, като в реално време е записвана промяната на напрежението на биосензора. При първия експеримент е изследвана чувствителността на биосензора към йоните на медта. Данни от изследването са представени на фигура 68.

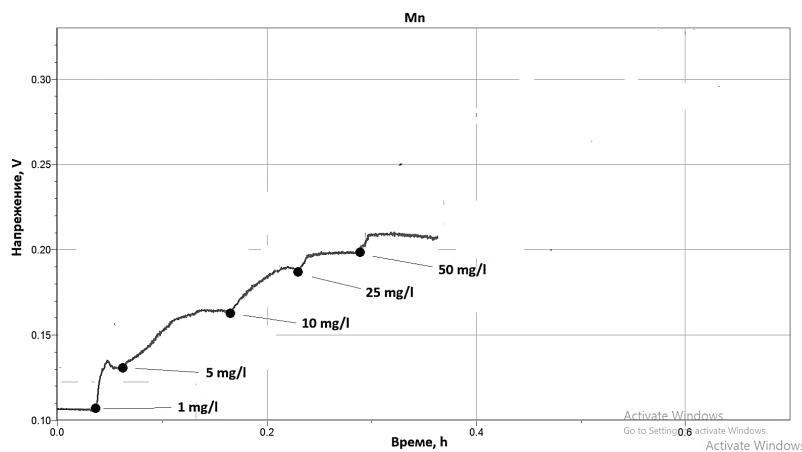


Фигура 68. Чувствителност на LED СМГК-базирания биосензор към Cu^{2+}

В продължение на няколко минути е записвано базовото напрежение на биосензора, което се движи без сериозни колебания около 110 mV. От получената графика се установява, че при започване на подаване на разтвор на Cu^{2+} с концентрация 1 mg/l се наблюдава покачване на напрежението на биосензора до 131 mV, след което бавно се стабилизира до 138 mV. При подаването на разтвор с концентрация на мед 5 mg/l се отчита значително покачване на генерираното от биосензора напрежение, като то достига до 222 mV за 4 минути. Следва стабилизиране на напрежението около 227 mV и подаване на следващия разтвор с концентрация 10 mg/l. При тази концентрация следва по-бавна реакция от биосензора, като напрежението се покачва с 56 mV и се стабилизира на 283 mV за 6.5 минути. При подаване на разтвори с концентрации 25 и 50 mg/l напрежението се покачва съответно с 30 mV и 19 mV. Тази слаба промяната в напрежението показва, че СМГК-

базирания сензор приближава своя максимален обхват за замърсявания с мед при изследваните концентрации. От получените резултати може да се заключи, че биосензора има висока чувствителност към йоните на медта, изразяваща се в промяна на генерираното напрежение. Най-голямо покачване на напрежението беше установена при концентрации на мед от 5 и 10 mg/l. Въпреки това, дори при концентрация 1 mg/l мед, биосензора реагира с мигновено покачване на напрежението с 21 mV, което показва нисък праг на чувствителност към Cu^{2+} .

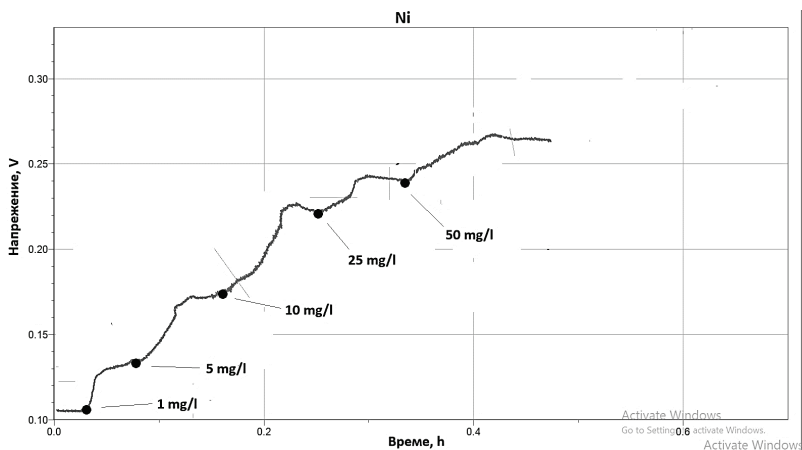
На следващата графика (Фигура 69) са представени данните от изследването на чувствителността на СМГК-базирания прототип на биосензор към йоните на манган.



Фигура 69. Чувствителност на LED СМГК-базирания биосензор към Mn^{2+}

При подаването на разтвор с концентрация на манган 1 mg/l отново се наблюдава рязко покачване на напрежението с 22 mV. При подаването на разтвор с концентрация 5 mg/l отново имаме ясна реакция на биосензора и значително покачване на напрежението до 162 mV. Премаването на разтвор с концентрация на манган води до покачване на напрежението с 26 mV. Отново, разтворите с концентрация на манган 25 и 50 mg/l не водят до значително изменение на напрежението. И при двете концентрации, то се повишава с по 10 mV, което се явява и горна граница на чувствителност при изследвания диапазон на концентрации.

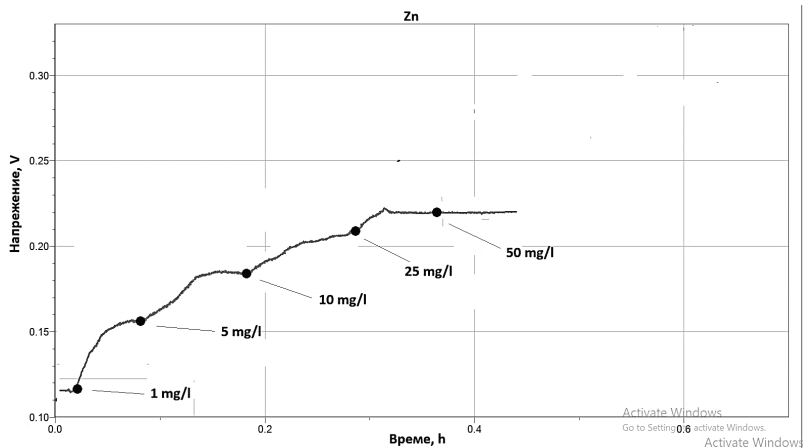
Резултатите от изследването за чувствителността на СМГК-базирания биосензор към йони на никел са представени на фигура 70. След стабилно базово напрежение от 115 mV, преминаването на води с концентрация на никел от 1 mg/l водят до бързо покачване на напрежението до 133 mV. И при този изследван метал, подаването на разтвор с концентрация 5 mg/l води до значителна реакция от биосензора и покачване на напрежението с 43 mV. Подобна реакция се наблюдава и при преминаването на води с концентрация на никел 10 mg/l. Тази концентрация води до покачване на напрежението от 172 mV до 221 mV. При следващите изследвани концентрации се наблюдава по-слаба реакция на биосензора, но въпреки това ясен отговор на преминаващите йони на никел с концентрация 25 и 50 mg/l. Покачването на напрежението е съответно 17 mV и 29 mV.



Фигура 70. Чувствителност на LED СМГК-базирания биосензор към Ni^{2+}

Последното изследване установи възможността за мониторинг на води замърсени с цинк посредством разработения прототип на СМГК-базирания биосензор (фигура 71). Още първата изследвана концентрация от 1 mg/l показва силен отговор от биосензора и своевременно покачване на напрежението с 40 mV. Следващите изследвани концентрации на цинк имаха по-слаб отговор, като при 5 mg/l напрежението на биосензора се покачи от 155 mV на 182 mV, а при концентрация от 10 mg/l напрежението се покачи с 28 mV. При подаване на синтетичен разтвор на цинк с концентрация 25 mg/l напрежението на биосензора се покачи от

182 mV на 210 mV, докато при изследване на разтвор с концентрация 50 mg/l не се наблюдаваше реакция от биосензора и генерираното напреженето запази стойността си от 210 mV.



Фигура 71. Чувствителност на LED СМГК-базирен биосензор към Zn^{2+}

За по-добра сравнимост на резултатите в таблица 14 са представени стойностите на измененията в напрежението ΔU за изследваните концентрации на тежки метали.

Таблица 14. Промяна на напрежението на LED СМГК-базирния биосензор при различни концентрации тежки метали

	ΔU 1 mg/l	ΔU 5 mg/l	ΔU 10 mg/l	ΔU 25 mg/l	ΔU 50 mg/l
Cu^{2+}	28 mV	90 mV	55 mV	30 mV	19 mV
Mn^{2+}	22 mV	32 mV	23 mV	10 mV	10 mV
Ni^{2+}	16 mV	43 mV	49 mV	17 mV	29 mV
Zn^{2+}	40 mV	27 mV	28 mV	19 mV	0 mV

От представените данни се вижда ясен биосензорен отговор при мониторинга на концентрации от 5 и 10 mg/l и при четирите изследвани тежки метала. При изследване на концентрация от 1 mg/l и при четирите метала се наблюдаваше много бърза реакция на биосензора, чрез своевременно покачване на напрежението, при навлизане на йоните на замърсителите в катодната зона. Най-висока чувствителност на

биосензора е установена при замърсяване на цинк, където напрежението се покачва с 40 mV при концентрация на Zn^{2+} 1 mg/l. И при изследването на останалите йони на тежки метали се наблюдава нисък праг на чувствителност, което е важна характеристика на конструирания LED СМГК-базирани биосензор, позволяваща ранно предупреждение и своевременна реакция при замърсяване на водите. При изследване на концентрации от 25 и 50 mg/l се наблюдаваше доближаване максималния обхват на биосензора за изследвания диапазон, като се установиха по-слаби изменения в напрежението, спрямо постъпващите йони на замърсителите. Най-отчетлива реакция на биосензора е установена при мониторинг на води замърсени с мед, като при този замърсител се наблюдаваха най-големи изменения на напрежението при преминаването на разтвори с нарастваща концентрация.

След установяване на чувствителността на прототипа на СМГК-базирани биосензор към йоните на изследваните тежки метали, към него е поставен LED модул. LED модулът се състои от светодиоден индикатор на напрежение и 14.4 V захранване. Платката на светодиодния индикатор има един бял светодиод, индикиращ режим на готовност за работа на биосензора, пет зелени, три жълти и два червени светодиода. Посредством вграден потенциометър, стъпката на светване на всеки следващ светодиод може да бъде регулирана между 10 и 100 mV. След предварителна калибрация и настройване на тази стъпка, отново бяха подавани синтетичните разтвори на тежки метали. Изследването показва прецизно светване на желаните светодиоди при преминаването на разтвори с определена концентрация. Инсталирания LED модул позволява лесна потребителска работа и ясна индикация на настъпило замърсяване. Предварителната калибрация може да покаже и ориентировъчна концентрация на замърсителя, чрез светване на определен брой и цветове светодиоди. Прототипът на СМГК-базирания биосензор е подходящ за мониторинг на повтарящи се замърсявания с определен тежък метал, тъй като не притежава селективност към изследвания замърсител. Може да бъде използван и за ранно предупреждение на промяна в характеристиките на водите, а чрез допълнителни аналитични методи да бъде установен конкретен замърсител.

Технологичния трансфер на съвременните научни разработки към реално промишлено приложение е от изключително значение за икономическия растеж, устойчивото развитие и опазването на околната среда. Внедряването на нови технологии води до повишаване на производителността, конкурентоспособността, като позволява

резултатите от научните изследвания да достигнат до комерсиализация и да носят реална добавена стойност на потребителите. Приложението на СМГК-базирани биосензори неминуемо трябва да премина през създаването на прототипи, които да бъдат валидирани в различните нива на технологична готовност. Предимствата на тези устройства в мониторинга на води ще стимулира допълнителни изследвания и усъвършенстване на СМГК-базираните биосензори. Конструираният прототип на LED биосензор показва ефективна работа в лабораторни условия и висока чувствителност към йони на мед, манган, никел и цинк. LED модулът, простата конструкция и използваните стандартизирани материали позволяват лесната му интеграция в различни технологични схеми и ранни предупреждения за настъпили замърсявания. За достигане до реалното му практическо приложение предстои да бъдат направени допълнителни изследвания и валидация на прототипа в по-горни нива на технологична готовност.

ГЛАВА XI. ПЕРСПЕКТИВИ И ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВА ПРЕД ПРИЛОЖЕНИЕТО НА СЕДИМЕНТНИ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ КАТО БИОСЕНЗОРИ ЗА МОНИТОРИНГ НА ВОДИ ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ

Стабилността на генерираното напрежение е едно от най-големите предизвикателства при дългосрочния мониторинг чрез биосензори базирани на седиментни микробни горивни клетки. Напрежението на седиментните микробни горивни се влияе както от колебания във факторите на средата, така и от методите и стратегиите за конструирането им. Ето защо изследванията и разработките в тази насока може да се окажат от решаващо значение за бъдещи приложения и отговор на изискванията за дългосрочен мониторинг и устойчива работа в различни среди. Подобряването на аналитичните характеристики също е ключова тема за биосензорите, базирани на седиментни микробни горивни клетки. Понастоящем прага на чувствителност към някои замърсители все още не може да отговори на изискванията за мониторинг на качеството на води. Също така, възможностите за откриване на повече от един замърсител и селективността на СМГК-базираните биосензори все още е обект на лабораторни изследвания. Установяване ефективността на СМГК-базираните биосензори в реални условия и скалирането също са важни задачи за решаване преди практическото им приложение.

Биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки са икономически ефективни и могат да бъдат използвани за мониторинг на място на различни замърсители. Въпреки това, тяхната селективност, чувствителност, стабилна и устойчива работа при повтарящи се замърсявания трябва да бъде подобрена. Бъдещите изследвания трябва да се съсредоточат върху разработването на икономически ефективни и устойчиви конструктивни материали, с по-добра производителност при промишлени приложения. Освен това трябва да се положат повече усилия за разработване на самоподдържащи се и безжични СМГК за отдалечени райони с лоша инфраструктура. В настоящата глава ще бъдат разгледани някои основни предизвикателства за постигане на стабилна, дългосрочна работа при приложение на СМГК-базираните биосензори в реални оперативни условия.

11.1 Стратегии за подобряване на изходния сигнал

- *Размер на анода*

Лабораторните изследвания показват, че увеличението на анодната площ води до пропорционално увеличение на генерираната от седиментните микробни горивни клетки енергия [88]. Въпреки това, по-големите аноди водят до намаляване на плътността на мощността. Размерът на анода трябва да се увеличи многократно за да се удвои изходната мощност. Използване на толкова голям анод, за да се увеличи производството на енергията и стабилността на сигнала в СМГК-базираните биосензори, е проблемно и нерентабилно. Като цяло, увеличаването на размера на анода ще намали плътността на мощността и може да не е полезна стратегия за подобряване на изходния сигнал.

- *Системи с няколко анода*

Тъй като плътността на мощността, генерирана в седиментните микробни горивни клетки с един анод намалява с увеличаване на повърхността на електрода, е възможна конфигурация с няколко анода за подобряване на изходния сигнал. Мулти-анодните системи имат няколко анода, които споделят един общ катод. Тази стратегия осигурява генериране на надеждно и стабилно базово напрежение при дългосрочна работа, дори ако един от анодите е повреден или работи неправилно. Освен че подобряват електрическите характеристики, мулти-анодните системи могат да се използват за други мониторингови цели. СМГК-базирани биосензори с мулти-анодна конфигурация се използват за мониторинг на натрупването на седименти, мониторинг на разтворен кислород и други, чрез закономерни промените в електрическите характеристики. Паралелното свързване на няколко анода няма да увеличат изходното напрежение, но ще повиши токът и ще се получи по-голяма мощност и стабилен сензорен сигнал [74].

Използването на мулти-анодни системи може да окаже положителен ефект върху изходния сигнал и дългосрочната работа на СМГК-базираните биосензори при повреди на анода и прекъсване на електрическата връзка. Съпътстващ проблем може да се окаже разграничаването на увредените аноди и изключването им от веригата, за да се гарантира непрекъснатата енергия от останалите аноди.

- *Дълбочина и посока на поставяне на анода*

При седиментни микробни горивни клетки с хомогенни характеристики в анодната зона, добавянето на повече аноди, хоризонтално или вертикално разположени могат да доведат до по-висока плътност на мощността. Въпреки това, често се наблюдават хоризонтални и вертикални градиенти на химичните съединения в седиментите на седиментните микробни горивни клетки. Това показва промяна във физикохимичните характеристики на седимента в дълбочината и предизвикват неравномерни анодни микробни реакции в различните седиментни слоеве [76]. Правилното разполагане на анодите е от ключово значение за осигуряването на достатъчно източници на въглерод и хранителни вещества, оптимални физикохимични условия за развитие на електроактивните бактерии и генерирането на стабилен и постоянен изходен сигнал.

Дълбочината на поставяне също оказва влияние върху електрическите показатели на седиментните микробни горивни клетки и трябва да бъде оптимална за всеки конкретен случай. От разстоянието между катода и анода зависят параметри на СМГК-базираните биосензори като вътрешно съпротивление и омични загуби. По-голямото анод-катод разстояние води до по-високи омични загуби и вътрешно съпротивление. Твърде близкото разстояние или плиткото заравяне на анода намалява производителността на седиментните микробни горивни клетки. Повишената производителност не винаги е свързана с по-строгата анаеробна среда при по-дълбоките седиментни слоеве, тъй като е доказано, че кислородът е напълно изчерпан още в горните няколко сантиметра на седимента [32]. Промените по-скоро се дължат на това, че анодния потенциал става все по-отрицателен в дълбоична поради различните термодинамични и кинетични условия благоприятстващи електроактивните микроорганизми. Освен това дълбочината на заравяне на анода променя микробното разнообразие и и общностната структурата на анодния биофилм. Микробното разнообразие намалява с увеличаване на дълбочината на заравяне, което предполага, че ЕАБ по-успешно се аклиматизират и превъзхождат неелектрогенните бактерии. Поради това е вероятно да има компромис между увеличеното вътрешно съпротивление и засилената активност на ЕАБ [17].

Оптималната дълбочина на анода до голяма степен ще зависи и от различните характеристики на седиментите, поради което

дълбочината на заравяне на анода трябва да се определи според спецификите на използвания седимент преди конструирането на СМГК-базирания биосензор. В повечето изследвания на СМГК, проведени в лабораторни условия, анодите обикновено са хоризонтално вградени в седимента. Сравнения на изследвания, в които са изследвани различни посоки и ориентации на инсталиране на анода, показват предимство в производителността при хоризонтално разположени катоди [11]. Вертикалното разполагане на анода е значително по-лесно, от практическа гледна точка, при инсталиране на седиментни микробни горивни клетки на терен.

Като цяло не може да се направи последователно заключение относно дълбочина и посока на вграждане на анодите в СМГК-базирания сензори. Всеки отделен случай изисква предварителен анализ на конструкцията, използвания седимент, желаната големина на изходния сигнал, електрическите показатели на клетката и практическата възможност за разполагане на анодите, когато се прави на терен.

- Анодни материали и модификации

Анодът е важен конструктивен елемент на СМГК-базирания биосензор осигуряващ повърхност за прикрепване на електроактивните микроорганизми и функционира като електронен акцептор, което осигурява генериране на стабилен изходящ сигнал при мониторинга. За изработката на електроди се използват различни материали като въглеродни модификации, метали, електропроводими полимерни материали и други. Използването на подходящи електродни материали е ключово за производителността и чувствителността на СМГК-базирания биосензор, защото различните материали имат различни физикохимични характеристики и съответно водят до различни свойства спрямо електроактивните микроорганизми, съпротивление за пренос на електрони, устойчивост към корозия, здравина и други. Множество характеристики, като химическа стабилност, електрическа проводимост, специфична повърхност и биосъвместимост, трябва да се вземат предвид при избора на електродни материали за приложението им като аноди при СМГК-базирания биосензор. Трябва да се обърне специално внимание на механичната якост, устойчивостта на корозия и дългосрочна стабилност, при различни условия на средата.

Цената на анодния електрод е друг фактор, който трябва да бъде взет под внимание. Евтината и проста конструкция на СМГК-

базираните биосензори е едно от основните им предимства, поради което евтините анодни материали са за предпочитане. При интериране на тези биосензори в конструирани влажни зони, обикновено се използват големи анодни повърхности, поради което не е рентабилно да се използват благородни метали или други скъпи материали. Материалите на основата на графит (напр. графитна плоча, графитна пръчка и графитни гранули) или устойчиви на корозия метали и сплави са по-оптимален избор. Идеални електродни материали за конструирание на анодни електроди се характеризират с висока специфична повърхност, добра електропроводимост, висока механична якост и добра биосъвместимост. Един-единствен електроден материал обикновено не притежава всички горепосочени предимства, поради което трябва да се подходи с предварителен анализ на целите и задачите, които ще трябва да изпълнява СМГК-базирания биосензор, за да се постигне желаната ефективност на анода.

За подобряване характеристиките на анодите могат да се прилагат различни методи за модифициране на електрода, които включват физическа или химическа обработка на повърхността на електрода, нанасяне на метални оксиди или въглеродни наноматериали или модифициране с високопроводими полимерни материали. [23] Железните оксиди могат да подобрят ефективността на СМГК-базираните биосензори тъй като Fe^{3+} функционира като междинен електронен медиатор и подобрява преноса на електрони.

- Катодни материали и модификации

Изборът на катоден материал има ключово значение за ефективността и чувствителността на биосензорите, базирани на седиментни микробни горивни клетки. Катодът е мястото, където протича редукцията на кислород и други акцептори на електрони, явяващи се целеви замърсители в изследваните води. Неговата активност пряко определя максималния ток, който може да бъде генериран от системата, респективно чувствителността и стабилността на изходния сигнал. Платината е класически катализатор за редукция на кислород, но е скъпа и податлива на инхибиране от хлоридни йони [16]. Мангановият диоксид е по-евтин и устойчив в реална среда, като има добра порьозна структура, която улеснява отклика при ниски концентрации на замърсителя, поради високата специфична повърхност [81]. Въглеродните композитни материали съчетават добра електропроводимост и отлична специфична повърхност, осигурявайки линейност и широк диапазон на детекция. Титановият диоксид, легиран

с метали, също намира лабораторно приложение като катод в СМГК-базираните биосензори като им осигурява висока чувствителност [89]. Изборът на материал за катода е от съществено значение, тъй като той е елементът за разпознаване на замърсителите от биосензора и от него до голяма степен зависи чувствителността на биосензора. Поради това, по-скъпите катодни материали могат да бъдат оправдани, когато се изисква по-висока точност и чувствителност на откриване на замърсители.

- Дълбочина и посока на поставяне на катода

Както вече стана въпрос, разстоянието между катода и анода, и разположението на катода спрямо анодната зона оказва силно влияние върху електрическите показатели на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки. При късо разстояние между анода и катода се наблюдава минимално омично съпротивление, но съществува риск от намалена чувствителност. Оптималното разстояние осигурява баланс между омично съпротивление и висока чувствителност. Голямото разстояние може да доведе до прекалено високо омично съпротивление и загуба на изходен сигнал, но предлага по-голяма стабилност при дългосрочни измервания. Хоризонталното разположение на катода също оказва влияние, като при него се осигурява по-добър достъп до кислород, но по-висок шум на изходния сигнал. Вертикалното разположение осигурява по-ниска граница на откриване за метални замърсители, но по-ниска стабилност при настъпване на анаеробни условия в дълбочина. Също така, при разработване на СМГК-базирани биосензори за практическо приложение, трябва да бъдат взети предвид и хидродинамичните характеристики на преминаващата през катодната зона вода.

- Форма и размери

Формата и геометричните размери на катода са едни най-силно влияещите параметри върху производителността и чувствителността на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки. Когато катодът има прост плосък профил, специфичната повърхност, която участва в редукцията на кислород и откриването на замърсители, е ограничена до геометричния размер на електрода. При използването на катода с конусовидни, тръбовидни или триизмерни мрежести структури води до голямо увеличаване на активната площ. Това се проявява като значително по-голям изходен сигнал за еднаква концентрация на анализа.

Когато всички геометрични фактори – форма, размер, порьозност и повърхностна текстура са оптимизирани, се получава биосензор с няколко предимства: значително по-висок токов сигнал при еднаква концентрация на анализа, намалена граница на откриване, бърз времеви отговор и дългосрочна стабилност. В заключение, формата и размерите на катода са неразделна част от хидродинамичната и електрохимична структура на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки. Инженерният дизайн, който балансира тези аспекти, е ключов за постигането на висока чувствителност и надеждност в биосензорните приложения. Трябва да бъде постигнат и оптимален баланс относно цената на използваните материали и тяхната устойчивост при екстремни среди, като силно алкални или силно кисели условия, корозионни агенти, високи температурни колебания и условия с високо съдържание на соли.

Катодният материал, разположението и формата са ключови фактори за производителността и чувствителността на биосензорите, базирани на седиментни микробни горивни клетки. Оптимизацията на тези параметри прави тези биосензори конкурентоспособни спрямо традиционните традиционните методи и биосензори, като позволява надеждни и прецизни измервания в различни приложения.

11.2 Моделиране на процесите в СМГК

Моделирането на процесите в биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки, е от съществено значение за подобряване на тяхната работа и разширяване на възможностите за практическото им приложение. Чрез математически и компютърни модели могат да се симулират сложните електрохимични и биологични взаимодействия между микроорганизмите, седимента, електродните материали и целевите замърсители. Това позволява оптимизация на параметри като концентрация на хранителни вещества и рН на седимента, и приложено външно съпротивление, с което да се постигне максимална енергийна ефективност, стабилност и висока чувствителност на системата. Освен това, моделирането ще подпомогне прогнозирането на поведението на биосензора в реални условия и ще улесни адаптирането, калибрирането и детекцията на конкретни замърсители. По този начин моделирането ще ускори внедряването на СМГК-базирани биосензори в практиката и ще допринесе за развитието на устойчиви технологии за опазване на околната среда [81].

11.3 Мониторинг на микробната екология и електромикробиология

Хетерогенността и големият обем на седиментната среда представляват сериозно предизвикателство при получаването на подробна информация за взаимодействието между микробната общност и електродите. За да се преодолее този проблем, е необходимо да се създаде по-контролирана среда, която позволява детайлно изследване и приоритизиране на микробните процеси [95].

Разбирането на механизмите на електронен трансфер между микроорганизмите и електродите е от съществено значение за оптимизиране на СМГК-базираните биосензори. Макар че вече са идентифицирани редица бактериални видове, участващи в този процес, като *Desulfuromonas acetoxidans*, *Alcaligenes faecalis*, *Syntrophus*, *Gammaproteobacteria*, *Epsilonproteobacteria* и *Desulfocapsa*, все още има много неизвестни. Повечето изследвания са фокусирани върху *Geobacter*, *Shewanella* и *Thermoanaerobacter potens*, тъй като тези бактерии са лесни за култивиране и имат добре изучени механизми за пренос на електрони [17]. Въпреки това, е необходимо да се изследват и други микроорганизми, които могат да допринесат за ефективността на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки в реални условия.

Формирането и функционирането на електродния биофилм също играят важна роля в електромикробиологията на СМГК-базираните биосензори. Дебелите биофилми могат да възпрепятстват преноса на електрони към електродите, докато оптималните електрически активни биофилми могат да подобрят биоелектрогенната активност. Идентифицирането на такива биофилми е необходимо за практическото приложение на този вид биосензори.

11.4 Подобряване характеристиките на седимента

Характеристиката на седимента е важен фактор, който може да окаже силно влияние върху производството на енергия и осигуряването на дългосрочен стабилен изходен сигнал на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки. Високото съдържание на органика в седимента осигурява повече субстрат за микроорганизмите и съответно генерирането на повече електрони при разграждането ѝ. Увеличаването съдържанието на органика, при бедни седименти, чрез

добавяне на подходящ субстрат ще подобри работата на биосензорите, особено ако се използват за дългосрочни приложения.

Перспективна решение е използването на седиментни микробни горивни клетки със засадена растителност. В този случай растенията, засадени в седимента, екскретират органични съединения чрез корените си, като по този начин осигуряват дългосрочен източник на енергия за микроорганизмите в анодната зона. Цианобактериите и микроводораслите също могат да допринесат за увеличаване на органичната материя в седиментите. Важно е да се отбележи, че подобно решение е приложимо при интегриране на СМГК-базирани биосензори на терен за дългосрочен мониторинг, но не и за портативни устройства.

11.5 Скалиране на СМГК-базираните биосензори

Скалирането на биосензори, базирани на седиментни микробни горивни клетки, от лабораторна среда към практическо приложение изисква решаването на редица технически, икономически и регулаторни проблеми [29]. Един от основните проблеми е стабилността на микробната общност, която в контролираните условия на лабораторията се поддържа лесно, но в реална среда е подложена на сезонни или производствени колебания. За решаването на този проблем е възможно използването на устойчиви, широкоспектрни шамове микроорганизми, и прилагането на системи за автоматично регулиране на ключови параметри като температура и рН. Друг важен аспект е дизайнът на електродите, чиято проводимост и адхезия на биофилма могат да се влошават при увеличаване на мащаба. Резките промени в изходния сигнал и калибрацията са допълнителни трудности, които могат да произтекат от променливите условия на средата, и да намалят точността на измерванията. Това може да бъде преодоляно чрез алгоритми за автоматична калибрация, както и включването на референтни електроди и вътрешни контролни елементи [30].

Надеждността и поддръжката на биосензорите също са важна част от скалирането на тези устройства. Простата конструкция с лесно подменящи се елементи е ключова за лесния преход от лабораторни изследвания към приложение в реални условия.

Въпреки тези предизвикателства, перспективите пред СМГК-базираните биосензори са изключително обещаващи. Те могат да бъдат интегрирани както в технологични производствени системи, така и

използвани за мониторинг качеството на водите на терен. Предоставяйки данни в реално време за замърсявания с тежки метали и способността си да генерират електрическа енергия, тези устройства могат да създадат самодостатъчни „умни“ мрежи, които функционират автономно без външно захранване. Възможно е също така комбинирането им с други биотехнологични системи за биоремедиация, където микроорганизмите едновременно пречистват водата и събират данни за процеса.

11.6 Икономическа оценка

Икономическата оценка на практическото приложение на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки, съчетава анализ на разходите, добавената стойност и ползите, свързани с технологията. В лабораторна фаза себестойността на СМГК-базирани биосензори е висока, основно заради скъпите електродни материали. При преминаване към индустриално производство обаче цената може да спадне драстично чрез ефекта на мащаба и използването на по-евтини материали.

Оперативните разходи са минимални и се формират главно от периодичната поддръжка, захранването на датчици и сигнализатори, и подмяната на електронни компоненти. При интеграция в автономна система, където генерираната от седиментната микробна горивна клетка енергия се използва за захранване на собствената електроника, директните енергийни разходи могат да бъдат почти елиминирани. Това позволява разработването на бизнес модел, базиран на услуги с нулеви оперативни разходи – клиентът плаща еднократна цена за инсталация, а ползите от събирането на данни и мониторинга се предоставят без периодични такси.

Пазарът за СМГК-базирани биосензори обхваща три основни сегмента: мониторинг на качеството на битови и промишлени отпадъчни води, мониторинг на водни екосистеми и интегрирани решения за мониторинг и биоремедиация на води. Ключов икономически индикатор е съотношението между ползите – избягване на екологични щети, спестяване на лабораторни разходи и намаляване на риска от замърсяване, и разходите за производство и експлоатация.

При правилно управление на разходите, автоматизирано производство и интеграция в автономни системи, себестойността на

единичния сензор може да спадне значително, докато създадените стойности – приходи от продажби, спестявания от химични анализи и значителни екологични ползи, многократно превишават разходите. Това прави скалирането на СМГК-биосензори не само технически осъществимо, но и икономически оправдано.

Седиментните микробни горивни клетки представляват уникална концепция, при която био-електрохимията се слива със сензорната технология, за да предложи автономен и непрекъснат мониторинг на тежки метали във водната среда. Постигнатите лабораторни резултати показват реален потенциал – съществува пряка корелация между концентрацията на тежки метали като мед, цинк, никел, хром, олово манган и други, и генерирания електрически сигнал. Създадените прототипи и тестовите с тях доказват, че системата може да функционира в реални условия.

Въпреки това, преди седиментните микробни горивни клетки да станат практични и мащабируеми биосензори, е необходимо да се преодолеят ключови предизвикателства – повишаване на селективността и чувствителността, осигуряване на дългосрочна стабилност, разработка на надеждни електродни материали и създаване на стандарти за калибрация и екологична безопасност. Тези задачи са в сферата на различни науки, като микробиология, материалознание и електроинженерство, и трябва да бъдат решени чрез интердисциплинарни изследвания. Прилагането на наноматериали, хибридни сензорни платформи и изкуствен интелект ще ускори процеса на трансформация от прототипи към индустриално приложими решения. Ако тези технологии се интегрират в безжични мрежи за дистанционен мониторинг, ще се създаде възможност за получаване на своевременно информация за промени в качеството на водите.

В заключение, бъдещето на биосензорите базирани на седиментни микробни горивни клетки за мониторинг на води замърсени с тежки метали е обещаващо, но зависи от успешното разрешаване на техническите, екологичните и регулаторни предизвикателства. Със съвместни усилия и достатъчно инвестиционна подкрепа, СМГК-базирани биосензори биха могли да се превърнат в ключов елемент от глобалната стратегия за защита на водните екосистеми и общественото здраве.

Литература

1. Abbas, S. Z., Choi, S. H., Bruck, W. M., Samannan, B., Jang, J. K., & Kim, T., 2026, Basswood-anode soil microbial fuel cell-based biosensor for self-sustained and wide-ranged heavy metal detection, *Bioresource Technology*, 444, 134013. [doi:10.1016/j.biortech.2026.134013](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2026.134013)
2. Abbas, S. Z., Rafatullah, M., 2017, A review on sediment microbial fuel cells as a new source of sustainable energy and heavy metal remediation: mechanisms and future prospective, *International Journal of Energy Research*, doi: 10.1002/er.3706
3. Abbas S. Z., Wang J., Wang H., Wang J., Wang Y., Yong Y., 2022, Recent advances in soil microbial fuel cells based self-powered biosensor, *Chemosphere*, 303, doi:10.1016/j.chemosphere.2022.135036
4. Ajibare, A., Ogungbile, P., Ayeku, P., 2022, Evaluation of water pollution monitoring for heavy metal contamination: A case study of Agodi Reservoir, Oyo State, Nigeria, *Environ Monit Assess*, 194:675
5. Akrotos, C.S., Tsihrintzis, V.A., 2007, Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecol. Eng.* 29 (2), 173–191.
6. Alipanahi, R., Rahimnejad, M., 2018, Effect of different ecosystems on generated power in sediment microbial fuel cell. *International Journal of Energy Research*, 42, 4891–4897, doi:10.1002/er.4199
7. Alipanahi, R., Rahimnejad, M. & Najafpour G., 2019, Improvement of sediment microbial fuel cell performances by design and application of power management systems, *International Journal of Hydrogen Energy*, 125-131, doi:10.1016/j.ijhydene.2019.04.162
8. Angelov A., Bratkova S., Loukanov A., 2013, Microbial fuel cell based on electroactive sulfate-reducing biofilm, *Energy Conversion and Management* 67: 283-286.

9. Angelov, A., Bratkova, S., Ivanov, R., Velichkova, P., 2023, Treatment of acid mine drainage in a bioelectrochemical system, based on an anodic microbial sulfate reduction, *Journal of Ecology Engineering*, 24(7), 175-186
10. Arliyani, I., Noori, T., Ammarullah, M. I., Tangahu, B. V., Mangkoedihardjo, S. & Min, B., 2024, Constructed wetlands combined with microbial fuel cells (CW-MFCs) as a sustainable technology for leachate treatment and power generation. *RSC Advances*, 14, Article 32073. doi:10.1039/D3RA08185K
11. Azri, Y. M., Sadi, M., Tou, I., Mehareb, F., Berouaken, A., & Tebbouche, L., 2026, Development of an eco-friendly and cost-effective biosensor for monitoring dissolved oxygen based on a ceramic-sediment microbial fuel cell, *Journal of Water Process Engineering*, 81, 109312. doi:10.1016/j.jwpe.2025.109312
12. Bardarov I., Hubenova Y., Mitov M., 2013, Sediment microbial fuel cell utilizing river sediments and soil. *Bulgarian Chemical Communications*, Volume 45, Special Issue A (pp. 223 – 226)
13. Bajracharya, S., Sharma, M., Mohanakrishna, G., Benneton, X., Strik, D., Sarma, P., Pant, D., 2016, An overview on emerging bioelectrochemical systems (BESs): Technology for sustainable electricity, waste remediation, resource recovery, chemical production and beyond, *Renewable Energy*, 98, 153-170
14. Biedunkova, O., Kuznietsov, P., 2024, Dataset on heavy metal pollution assessment in freshwater ecosystems, *Scientific Data*, 11:1241
15. Bojun X., Zheng G., Zhen H., 2015, Sediment microbial fuel cells for wastewater treatment: challenges and opportunities. *Environmental Science - Water Research & Technology*, 1, 279 p.
16. Bose, D., Bhattacharya, R., Pillai, M., Ray, A., Kaur, T., Mondal, S., & Mondal, A., 2026, State-of-the-art review on sediment microbial fuel cells: evolution, innovations, challenges, scalability, and policy implications for sustainable development, *Water-Energy Nexus*, 9, 30–45. doi:10.1016/j.wen.2025.12.005
17. Bratkova, S., Ivanov, R., Gerginova, M., Peneva, N., Angelov, A., Alexieva, Z., 2018, Rhizosphere microflora of sediment plant microbial fuel

cells, *Exploring Microorganisms: Recent Advances in Applied Microbiology*, 40-43

18. Bratkova S, Plochev S, Nikolova K., 2013, The effect of Fe(III) on the rate of microbial sulphate-reduction, *Analele Universitatii "Constantin Brancisiu" din Targu Jiu* 3, 55-61. ISSN: 1842-4856.

19. Chauhan, N., Sah, N., Saxena, K., & Jain, U., 2025, A review on biosensor approaches for the detection of hazardous elements in water, *Talanta Open*, 12, 100536. [doi:10.1016/j.talo.2025.100536](https://doi.org/10.1016/j.talo.2025.100536)

20. Constructed Wetlands Treatment of Municipal Wastewater, Manual, 1999, *EPA*, 625/R-99/010

21. Corbella, C., Hartl, M., Fernandez-gatell, M. & Puigagut, J., 2019, MFC-based biosensor for domestic wastewater COD assessment in constructed wetlands. *Science of the Total Environment*, 660, 218-226. [doi:10.1016/j.scitotenv.2018.12.347](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.347)

22. Dai, Z., Yu, R., Zha, X., Xu, Z., Zhu, G., & Lu, X., 2021, On-line monitoring of minor oil spills in natural waters using sediment microbial fuel cell sensors equipped with vertical floating cathodes. *Science of the Total Environment*, 782, 146549. [doi:10.1016/j.scitotenv.2021.146549](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146549)

23. Danhassan, U. A., Lin, H., Lawan, I., Zhang, X., Ali, M., Muhammad, A., & Sheng, K., 2023, Critical insight into sediment microbial fuel cell: Fundamentals, challenges, and perspectives as a barrier to black-odour water formation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11, 109098. [doi:10.1016/j.jece.2022.109098](https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.109098)

24. Deng, H., Jiang, Y. B., Zhou, Y. W., Shen, K. & Zhong, W.H., 2015, Using electrical signals of microbial fuel cells to detect copper stress on soil microorganisms. *European Journal of Soil* [doi:10.1111/ejss.12215](https://doi.org/10.1111/ejss.12215)

25. Do M. H., Ngo H. H., Guo W., Chang S. W., Nguyen D. D., Liu Y., Varjani S., Kumar M., 2020, Microbial fuel cell based biosensor for online monitoring wastewater quality: A critical review, *Science of the Total Environment* 712, 135612

26. Dziegielowski, J., Mascia M., Metcalfe B., Di Lorenzo M., 2023, Voltage evolution and electrochemical behaviour of soil microbial fuel cells operated

in different quality soils, *Sustainable energy technologies and assessments* 56, 103071, [doi:10.1016/j.seta.2023.103071](https://doi.org/10.1016/j.seta.2023.103071)

27. Ejeian, F., Etedali P., Mansouri-Tehrani H-A., Soozanipour A., Low Z-X., Asadnia M., Tahri-Kafrani A., Razmjou A., 2018, Biosensors for wastewater monitoring: A review, *Biosensors and Bioelectronics* 118, 66-79

28. Etteieb, S., Zolfaghari, M., Magdouli, S., Brar, K. K. & Brar, S. K., 2021, Performance of constructed wetland for selenium, nutrient and heavy metals removal from mine effluents. *Chemosphere*, 281, Article 130921. [doi:10.1016/j.chemosphere.2021.130921](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130921)

29. Ewing T., Ha P., Babauta J. T., Tang N., Heo D., Beyenal H., 2014, Scale-up of sediment microbial fuel cells, *Journal of power sources* 272, [doi:10.1016/j.jpowsour.2014.08.070](https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.08.070)

30. Ewing, T., Ha P., Beyenal H., 2016, Evaluation of long-term performance of sediment microbial fuel cells and the role of natural resources, *Applied Energy* 192 [doi:10.1016/j.apenergy.2016.08.177](https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.08.177)

31. Garfí, M., Pedescoll, A., Bècardes, E., Hijosa-Valsero, M., 934 Sidrach-Cardona, R., García, J., 2012, Effect of climatic conditions, season and wastewater quality on contaminant removal efficiency of two experimental constructed wetlands in different regions of Spain. *Sci. Total Environ.* 437, 938 61–67.

32. Grattieri, M., Hasan, K. & Minteer, S. D., 2017, Bioelectrochemical Systems as a Multipurpose Biosensing Tool: Present Perspective and Future Outlook, *ChemElectroChem perspective* 4, and 834–842, [doi: 10.1002/celc.201600507](https://doi.org/10.1002/celc.201600507)

33. Hang, D. M., Hao, N. H., Wenshan, G., Woong, C. S., Duc, N. D., Yiwen, L., Sunita, V. & Mathava, K., 2020, Microbial fuel cell-based biosensor for online monitoring wastewater quality: A critical review. *Science of the Total Environment*, 712, Article 135612. [doi:10.1016/j.scitotenv.2019.135612](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135612)

34. Hou, Y., Ren, B., Li, X., Buque, A., Zhao, Y., 2025, Constructed wetlands for emerging pollutants removal: A decade of advances and future directions (2014–2024), *Journal of Water Process Engineering*, 69, 106533

35. Hubenova Y., Bardarov I., Hubenova E., Slavcheva E., 2024, Sediment microbial fuel cells capable of powering outdoor environmental monitoring sensors, *Sensing and Bio Sensing Research* 46, 100695
36. Ivanov, R., 2025, Prototype of a SMFC-based biosensor for real-time monitoring of heavy metals polluted water, *International Scientific Journal "Mechanization in Agriculture and Conserving of the Resources"*, LXXI, 4, 108-111
37. Ivanov, R., 2022, Possibilities for application of sediment microbial fuel cells as biosensors for monitoring of recurrent water pollution with copper, *International Scientific Journal – Industry 4.0*", VII, 3, 114-117
38. Ivanov, R., Bratkova, S., Angelov, A., 2016, Analysis of the sediment microbial fuel cells operation planted with different vegetation, *Annual of the University of Mining and Geology "St. Ivan Rilski"*, Vol. 59, Part II, 147-151
39. Ivanov, R., Bratkova, S., Angelov, A., Nikolova, K., 2016, Influence of various processes in the anodic area on the effectiveness of plant sediment microbial fuel cell, *Annals of the "Constantin Brancusi" University of Targu Jiu, Engineering Series*, 3
40. Ivanov R., Genova P., 2023, Sediment microbial fuel cell based biosensor for real time detection of Cu^{2+} in industrial wastewaters – operation and effectiveness, *Sustainable Extraction and Processing of Raw Materials* 4, 43-45
41. Ivanov, R., Genova, P., Nikolova, K., Angelov, A., 2025, Integration of SMFC-based biosensor in constructed wetland for real time monitoring and bioremediation of heavy metals contaminated waters, *Sustainable Extraction and Processing of Raw Materials*, 6, 29-33
42. Ivanov R., Genova P., Velichkova P., 2023, Influence of environmental factors of long-term operation and effectiveness of SMFC-based biosensor for heavy metal polluted waters, *International Scientific Journal - INDUSTRY 4.0*, Vol.8, Issue 5, 182-185
43. Ivanov, R., Genova, P., Velichkova, P., Plochev, S., 2023, Application and effectiveness of SMFC-based biosensor for real-time monitoring of water pollution with chromium, zinc and nickel, *International Scientific Journal "Industry 4.0"*, Vol. 8, Issue 6, 306-308

44. Khan, M., Omer, T., Ellahi, A., Rahman, Z., Niaz, R., Lone, Sh., 2023, Monitoring and assessment of heavy metal contamination in surface water of selected rivers, *Geocarto International*, doi: 10.1080/10106049.2023.2256313
45. Khan, S., Ahmad, I., Shah, M. T., Rehman, S. & Khaliq, A., 2009, Use of constructed wetland for the removal of heavy metals from industrial wastewater. *Journal of Environmental Management*, 90, 3451-3457. doi:10.1016/j.jenvman.2009.05.026
46. Kim, M., Sik, H. M., Gadd, G. M. & Kim J. H., 2007, A novel biomonitoring system using microbial fuel cells. *Journal of Environmental* 9, 1323–1328 Monitoring, doi:10.1039/b713114c
47. Kothapalli A, Sediment microbial fuel cell as sustainable power resource, 2013, *UWM Digital Commons*, University of Wisconsin-Milwaukee
48. Kumar T., Naik S., Jujjavarappu S. E., 2022, A critical review on early-warning electrochemical system on microbial fuel cell-based biosensor for on-site water quality monitoring, *Chemosphere* 291, 133098
49. Liang, M., Luo, G., Lei, P., 2025, Recent advances in bioelectrochemical approaches for sustainable environmental remediation, *International Journal of Electrochemical Science*, 20, 101077
50. Li, C., Li, X., Li, T., Su, Y., Zhong, W., Han, C., Jiang, Y., & Deng, H., 2024, Sediment microbial fuel cell monitoring repeated Cr(VI) shocks in different wetlands for a year: Performance and mechanism, *Journal of Cleaner Production*, 452, 142147. doi:10.1016/j.jclepro.2024.142147
51. Liu L., Chou T., Lee C., Lee D., Su A., Lai J., 2016, Performance of freshwater sediment microbial fuel cells: Consistency, *International journal of hydrogen energy* 41, 4504-4508, doi:10.1016/j.ijhydene.2015.07.139
52. Liu, L., Lu, Y., Zhong, W., Meng, L. & Deng, H., 2020, On-line monitoring of repeated copper pollutions using sediment microbial fuel cell based sensors in the field environment. *Science of The Total Environment*, 748, Article 141544. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.141544
53. Lorenzo, M., Curtis, T. P., Head, I. M. & Scott, K., 2009, A single-chamber microbial fuel cell as a biosensor for wastewaters. *Water Research*, 43 (13), 3145–3154, doi:10.1016/j.watres.2009.01.005

54. Lu R., Chen Y., Wu J., Chen D., Wu Z., Xiao E., 2022, In situ COD monitoring with use of a hybrid of constructed wetland-microbial fuel cell, *Water Research* 210, 117957
55. Madjar, R., Scaeteanu, G., 2025, An Overview of Heavy Metal Contamination in Water from Agriculture: Origins, Monitoring, Risks, and Control Measures, *Sustainability*, 17, 7368
56. Mengzi, L., Xiaoting, L., Yixin, H. & Hong, L., 2020, Aquatic toxicity of heavy metal-containing wastewater effluent treated using vertical flow constructed wetlands. *Science of Total Environment*, 727, Article 138616. [doi:10.1016/j.scitotenv.2020.138616](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138616)
57. Miwornunyuie, N., Ugochukwu, G. & Hunter, J., 2025, Evolutionary trends and development of constructed wetland coupled microbial fuel cell: A decade of development. *Journal of Environmental Management*, 373 Article 123574. [doi:10.1016/j.jenvman.2024.123574](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.123574)
58. Na, S., Zaisheng, Y., Huacheng, X., Zongbao, Y., Changhui, W., Mo, C., Zhiwei, Z., Zhaoliang, P., Chunliu, W. & He-Long, J., 2019, Development of a sediment microbial fuel cell-based biosensor for simultaneous online monitoring of dissolved oxygen concentrations along various depths in lake water. *Science of the Total Environment*, 673, 272-280, [doi:10.1016/j.scitotenv.2019.04.032](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.032)
59. Nabuyanda, M. M., Kelderman, P., Bruggen, J. & Irvine, K., 2022, Distribution of the heavy metals Co, Cu, and Pb in sediments and *Typha* spp. and *Phragmites mauritianus* in three Zambian wetlands. *Journal of Environmental Management*, 304, Article 114133, [doi:10.1016/j.jenvman.2021.114133](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114133)
60. Naik, S. & S. Jujjavarapu, E., 2021, Self-powered and reusable microbial fuel cell biosensor for toxicity detection in heavy metal polluted water. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 9, Article [doi:10.1016/j.jece.2021.105318](https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105318)
61. Nandy, A., Farkas, D., Pepio-Tarega, B., Martinez-Crespiera S., Borrás E., Avignone-Rossa C. & Lorenzo M., 2023, Influence of carbon-based cathodes on biofilm composition and electrochemical performance in soil microbial fuel cells. *Environmental Science and Ecotechnology*, 16 100276 [doi: 10.1016/j.es.2023.100276](https://doi.org/10.1016/j.es.2023.100276)

62. Olias L. G., Otero A. R., Cameron P. J., Di Lorenzo M., 2020, A soil microbial fuel cell-based biosensor for dissolved oxygen monitoring in water, *Electrochimica Acta* 362, 137108
63. Papaevangelou, V., Gikas, G., Tsihrintzis, V., 2017, Chromium removal from wastewater using HSF and VF pilot-scale constructed wetlands: Overall performance, and fate and distribution of this element within the wetland environment, *Chemosphere* 168, 716-730
64. Peeva G., Yemendzhiev H., Bonev B., Nenov V., 2021, Investigation of sediment microbial fuel cells operation with algae bio-cathode. *Management and education*, Vol. VIII (4)
65. Rongwei, X., Yong Li, L., Xiufang, G., Yan, X., Jinquan, H., Na, L., Cheng, C. & Ming, C., 2024, Distribution and migration of heavy metals in the sediment-plant system: Case study of a large-scale constructed wetland for sewage treatment. *Journal of Environmental Management*, 349, Article 119428, doi:10.1016/j.jenvman.2023.119428
66. Rui, L., Yuhua, C., Junmei, W., Disong, C., Zhenbin, W. & Enrong, X., 2022, In situ COD monitoring with use of a hybrid of constructed wetland-microbial fuel cell. *Water Research*, 210, Article doi:10.1016/j.watres.2021.117957
67. Rusyn, I. & Gomora-Hernandes, J. C., 2024, Constructed wetland microbial fuel cell as enhancing pollutants treatment technology to produce green energy. *Biotechnology Advances*, 77, Article 108468, doi:10.1016/j.biotechadv.2024.108468
68. Saeed, T., Alam, M. K., Miah, M. J. & Majed, N., 2021, Removal of heavy metals in subsurface flow constructed wetlands: Application of effluent recirculation. *Environmental and Sustainability Indicators*, 12, Article doi:10.1016/j.indic.2021.100146
69. Sajana, T., Ghangrekar, M. & Mitra, A., 2014, Effect of operating parameters on the performance of sediment microbial fuel cell treating aquaculture water, *Aquacultural Engineering*, 61, 17-26, doi:10.1016/j.aquaeng. 2014.05.004
70. Saleh, T., Stanley, M., 2023, Real-Time Water Quality Monitoring: Benefits for decision making, *International Institute for Sustainable Development*

71. Sani, A., Scholz, M., Bouillon, L., 2013, Seasonal assessment of experimental vertical-flow constructed wetlands treating domestic wastewater. *Bioresour. Technol.* 147, 585–596
72. Schneider, G., Kovács, T., Rákhely, G. & Czeller, M., 2016, Biosensoric potential of microbial fuel cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 7001–7009, [doi:10.1007/s00253-016-7707-1](https://doi.org/10.1007/s00253-016-7707-1)
73. Shutes, B., 2003, The use of constructed wetland for wastewater treatment, *Wetland International*, 24 pp.
74. Simeon, M., & Freitag, R., 2022, Influence of electrode spacing and fed-batch operation on the maximum performance trend of a soil microbial fuel cell, *International Journal of Hydrogen Energy*, 47, 12304-123016. [doi:10.1016/j.ijhydene.2021.11.110](https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.11.110)
75. Siwal, S., Thakur, V., Zhang, Q., 2021, Bio-electrochemical systems for sustainable energy production and environmental prospects, *Functionalized Nanomaterials Based Devices for Environmental Applications*, 275-301
76. Song N., Jiang H., 2018, Effects of initial sediment properties on start-up times for sediment microbial fuel cells, *International journal of hydrogen energy*, 43, 10082-10093, [doi:10.1016/j.ijhydene.2018.04.082](https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.04.082)
77. Song, N., Yan, Z., Xu, H, Yao, Z., Wang, C., Chen, M., Zhao, Z., Peng, Z., Wang, C. & Jiang H., 2019, Development of a sediment microbial fuel cell-based biosensor for simultaneous online monitoring of dissolved oxygen concentrations along various depths in lake water. *Science of the Total Environment*, 673, 272–280, [doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.04.032](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.032)
78. Stottmeister, U., Wießner, A., Kuschik, P., Kappelmeyer, U., Kastner, M., Bederski, O., Muller, R.A., Moormann, H., 2003, Effect of plants and microorganisms in constructed wetland for wastewater treatment. *Biotechnol. Adv.* 22, 93–117.
79. Subsurface Flow Constructed Wetlands For WasteWater Treatment, A Technology Assessment, 1993, *EPA*, 832-R-93-008
80. Sultana, M-Y, Akratos, Ch., Pavlou, S, Vayenas, D., 2014, Constructed wetlands in the treatment of agro-industrial wastewater: A review, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 96, 181-190

81. Sun, F., Chen, J., Tang, M., & Yang, Y., 2024, Recent research progress, challenges and future directions of sediment microbial fuel cell: A comprehensive review, *International Journal of Hydrogen Energy*, 50, 870-886. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2023.09.112>
82. Sun, J-Z, Kingori, G, Si, R-W., Zhai, D-D., Liao, Z-H., Sun, D-Z., Zheng, T., Yong, Y-C., 2015, Microbial fuel cell-based biosensors for environmental monitoring: a review, *Water Science & Technology*, 71.6
83. Tandukar, M., Huber, S., Onodera, T. & Pavlostatis, S., 2009, Biological Chromium(VI) Reduction in the Cathode of a Microbial Fuel Cell. *Environmental Science and Technology*, 43(21), 8159–8165 doi:10.1021/es9014184
84. Turker O. C., Yakar A., 2025, Sediment-based microbial fuel cell sensor for detecting boron mine effluent pollution in aquatic habitats, *Microchemical Journal* 218, 115355
85. Vymazal, J., Kropfelova, L., 2008, Waste water treatment in constructed wetland with horizontal sub-surface flow, *Environmental Pollution*, Vol. 14
86. Walaszeka, M., Del Nerob, M., Boisa, P., Ribsteinb, L., Coursonb, O., Wankoa, A. & Laurent, J., 2018, Sorption behaviour of copper, lead and zinc by a constructed wetland treating urban stormwater. *Applied Geochemistry*, 97, 167 180. doi:10.1016/j.apgeochem.2018.08.019
87. Wang, C. & Jiang, H., 2019, Real-time monitoring of sediment bulking through a multi-anode sediment microbial fuel cell as reliable biosensor, *Science of the Total Environment*, 697 Article 134009, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134009
88. Wang, G., Yu, M., Xie, K., Zhao, R., Fu, Y., & Chen, T., 2019, Graphene modified polyacrylonitrile fibre as highperformance cathode for marine sediment microbial fuel cells, *Journal of Power Sources*, 438, 227002. doi:10.1016/j.jpowsour.2019.227002
89. Wang, H., Ye, Y., Zhang, J., Ning, H., Xiang, Y., Song, X., Zhao, W., & Guo, F., 2023, Power performance improvement in sediment microbial fuel cells: Recent advances and future challenges, *International Journal of Hydrogen Energy*, 48, 24426-24446

90. Wang, S., Wang, J., Zhao, L., Abbas, S., Yang, Z., & Yong, Y., 2023, Soil microbial fuel cell based self-powered cathodic biosensor for sensitive detection of heavy metals, *Biosensors*, 13, 145. doi:10.3390/bios13010145
91. Wu S., Deng H., Han C., Liu L., Zhong W., 2018, A novel sediment microbial fuel cell based sensor for on-line and in situ monitoring copper shock in water, *Electroanalysis* 30, 2668-2675, doi:10.1002/elan.201800424
92. Xie, J., Zuo, Sh., Zhong, F. & Cheng, Sh., 2024, Unveiling the secrets of bioelectrochemical system coupled with constructed wetland (BES-CW): A comprehensive review on refractory organics removal. *Journal of Cleaner Production*, 470, Article [doi:10.1016/j.jclepro.2024.143262](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.143262)
93. Yadav, A., Kumar, N., Sreekrishnan, T. R., Satya, S., Bishnoi, N., 2010, Removal of chromium and nickel from aqueous solution in constructed wetland: Mass balance, adsorption-desorption and FTIR study, *Chemical Engineering Journal*, 160, 122–128
94. Yang, Z., Acker, S. M., Brady, A. R., Rodrigues, A. A., Paredes, L. M., Ticona, J., Mariscal, G. R., Vanzin, G. F., Ranville, J. F. & Sharp, J. O., 2023, Heavy metal removal by the photosynthetic microbial biomat found within shallow unit process open water constructed wetlands. *Science of Total Environment*, 876, Article [doi:10.1016/j.scitotenv.2023.162478](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162478)
95. Yang, X., Chen, S., 2021, Microorganisms in sediment microbial fuel cells: Ecological niche, microbial response, and environmental function, *Science of the Total Environment*, 756, 144145
96. Yu, G., Wang, G., Li, J., Chi, T., Wang, S., Peng, H., Chen, H., Du, C., Jiang, C., Liu, Y., Zhou, L., Wu, H., 2020, Enhanced Cd^{2+} and Zn^{2+} removal from heavy metal wastewater in constructed wetlands with resistant microorganisms, *Bioresource Technology*, 316, 123898
97. Zhartybayeva, M., Muntayev, N., Tulegenova, S., Oralbekova, Z., Lamasheva, Z., Isakov, K., 2023, Monitoring and Forecasting of Water Pollution by Heavy Metals, *IEEE Access*, 11, 1593-1602
98. Zhang, K., Cao, H., Chen, J., Wang, T., Luo, H., Chen, W., Mo, Y., Li, L., An, X. & Zhang, X., 2022, Microbial fuel cell (MFC)-based biosensor for combined heavy metals monitoring and associated bioelectrochemical process, *International Journal of Hydrogen Energy*, 47(49), 21231–21240, doi: 10.1016/j.ijhydene.2022.04.225

99. Zheng, X., Alam, O., Zhou, Y., Du, D., Li, G., Zhu, W., 2024, Heavy metals detection and removal from contaminated water: A critical review of adsorption methods, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12, 114366
100. Zhao Q., Ji M., Li R., Ren Z. J., 2017, Long-term performance of sediment microbial fuel cells with multiple anodes, *Bioresource Technology* 237 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.002>
101. Zhao, S., Liu, P., Niu, Y., Chen, Z., Khan, A., Zhang, P., & Li, X., 2018, A novel early warning system based on a sediment microbial fuel cell for in situ and real time hexavalent chromium detection in industrial wastewater, *Sensors*, 18, 642. [doi:10.3390/s18020642](https://doi.org/10.3390/s18020642)
102. Анатолий Ангелов, Катерина Николова, Светлана Браткова, Ръководство за упражнения по пречистване на промишлени отпадъчни води, 2010, МГУ „Св. Иван Рилски“
103. Ботьо Захаринов, Янчо Найденов, 2017, Екологичен мониторинг, Нов Български Университет

гл. ас. д-р Росен Валериев Иванов

**БИОСЕНЗОРИ БАЗИРАНИ НА
СЕДИМЕНТНИ МИКРОБНИ ГОРИВНИ КЛЕТКИ
ЗА МОНИТОРИНГ НА ВОДИ,
ЗАМЪРСЕНИ С ТЕЖКИ МЕТАЛИ**

Минно-геоложки университет „Св. Иван Рилски“

Българска, първо издание

Рецензенти: проф. д-р Анатолий Ангелов

доц. д-р инж. Силвия Лаврова-Попова

ISBN 978-954-353-510-1 (мека корица)

ISBN 978-954-353-511-8 (pdf)

© Росен Валериев Иванов, 2026

Формат: 60x90/16

Печатни коли: 10

Издателска къща „Св. Иван Рилски“ на
МГУ „Св. Иван Рилски“

София, 2026



**МИННО-ГЕОЛОЖКИ
УНИВЕРСИТЕТ
„СВ. ИВАН РИЛСКИ“**

**Отпечатано в Издателска къща „Св. Иван Рилски“
на МГУ „Св. Иван Рилски“, София**

mgu.bg