

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО ОРГАНИЧНА ХИМИЯ С ЦЕНТЪР ПО ФИТОХИМИЯ

ЛЕНИЯ-НЕЗАЕТ ДЕ БРИТО ГОНСАЛВЕШ-МУСАКОВА

**ИЗУЧАВАНЕ НА СЯРАТА И ОРГАНИЧНИТЕ СЕРНИ
СЪЕДИНЕНИЯ ПРИ БИОДЕСУЛФУРИЗАЦИЯ НА
ВЪГЛИЩА НИСЪК РАНГ**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертационен труд
представен за присъждане на научна и образователна степен
"ДОКТОР"

Научна специалност:
"Технология на природните и синтетични горива"
шифър: 02.10.23

Научни ръководители:
Доц. д-р Стефан Маринов
Проф. д-р Ян Иперман

Научни консултанти:
Доц. д-р Мая Стефанова
Проф. д-р Робърт Карлиер

София, 2012 г.

Изследванията, свързани с дисертационния труд са проведени в:

1. Лаборатория "Химия на Твърдите Горива", Институт по Органична Химия с Център по Фитохимия, БАН
2. Лаборатория "Аналитична и Приложна Химия", Университет в гр. Хаселт, Белгия
3. Факултет по Материалознание, Университет Сабанци, Турция
4. Катедра по Обща и Промислена Микробиология, Биологически Факултет, СУ "Св. Климент Охридски"

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от колоквиума "Термични и каталитични превръщания на въглеродороди" при ИОХЦФ-БАН на заседание от 01.10.2012 г.

Дисертационният труд е изложен на 214 страници, включва 26 таблици и 36 фигури. Използвани са 264 литературни източника. Резултатите са отразени в 8 научни публикации и са докладвани на 7 научни форума.

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на 14.12.2012г. от 14 часа в зала 111 "Акад. Б. Куртев" на ИОХЦФ при БАН, кв. "Гео Милев", ул. "Акад. Г. Бончев", бл. 9, на открито заседание на Научното жури в състав:

Проф. д-р Н. Петров (ИОХЦФ, БАН) - председател
Проф. д-р Й. Кортенски (МГУ "Св. Иван Рилски")
Проф. д-р Ян Иперман (Университет на Хаселт, Белгия)
Проф. д-р К. Маркова (ХТМУ-София)
Доц. д-р М. Йосифова (Геологически институт, БАН)

Материалите по защитата са на разположение на интересуващите се в канцеларията на ИОХЦФ-БАН – стая 206, ул. "Акад. Г. Бончев", бл. 9, гр. София.

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО ОРГАНИЧНА ХИМИЯ С ЦЕНТЪР ПО ФИТОХИМИЯ

ЛЕНИЯ-НЕЗАЕТ ДЕ БРИТО ГОНСАЛВЕШ-МУСАКОВА

**ИЗУЧАВАНЕ НА СЯРАТА И ОРГАНИЧНИТЕ СЕРНИ
СЪЕДИНЕНИЯ ПРИ БИОДЕСУЛФУРИЗАЦИЯ НА
ВЪГЛИЩА НИСЪК РАНГ**

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертационен труд
представен за присъждане на научна и образователна степен
"ДОКТОР"

Научна специалност:
„Технология на природните и синтетични горива”
шифър: 02.10.23

Научни ръководители:
Доц. д-р Стефан Маринов
Проф. д-р Ян Иперман

Научни консултанти:
Доц. д-р Мая Стефанова
Проф. д-р Робърт Карлиер

София, 2012 г.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ:

S_p – пиритна сяра

S_s – сулфатна сяра

S_o – органична сяра

S_t – обща сяра

ad – въздушно суха маса

db – суха маса

daf – суха безпепелна маса

S-VOCs – сяросъдържащи летливи органични съединения

SS – *Sulfolobus solfataricus*

PP – *Pseudomonas putida*

DBT – дибензотиофен

Th – тиофен

BzTh – бензотиофен

P – кафяви въглища "Пирин"

IN – лигнити "Марица-Изток"

M – хумовитрен "Марица-Изток"

B – лигнити "Бейпазар", Турция

AF – деминерализирана проба

APF – деминерализирана, депиритизирана проба

Oxy – окислена проба

PC – *Phanerochaeta chrysosporium*

TV-1 – биообработка с *Trametes versicolor* при 37°C

MC+BS – *Mixed Culture of microorganisms*

W – влага

VM – летливи вещества

C_{fix} – фиксиран въглерод

AP-TPR – Температурно Програмирана Редукция при Атмосферно Налягане

Pot – потенциометрия

MS – Масспектрометрия

TD-GC/MS – Термична Десорбция – Газова Хроматография/Масспектрометрия

S_{vol} – сяросъдържащи съединения, летливи в условията на TPR пиролиз

APF-oxy-PP – деминерализирани, депиритизирани, окислени и биообработени с *Pseudomonas putida* проби от лигнити "Марица-Изток"

HL – водоратворим хумусоподобен материал

I. УВОД

Сярата е нежелана градивна част на въглищата. Технологичното оползотворяване на сяросъдържащите въглища в т.ч. изгаряне, суха дестилация или хидриране, води до замърсяване на въздуха. При изгарянето на въглищата в котелните инсталации, значителна част от сярата (пиритна (S_p), сулфатна (S_s) и органична (S_o)) формира SO_2 емисии, докато при сухата им дестилация и хидриране тя се отделя под формата на H_2S , CS_2 , COS и сяросъдържащи летливи органични съединения ($S-VOCs$). Наред със замърсяването на въздуха, сярата във въглищата създава и редица технологични проблеми, като отравяне на катализаторите, корозия и износване на инсталациите, както и влошени качества на кокса като металургично гориво, и като суровина за производството на стомана.

Законодателни разпоредби в областта на околната среда, с цел да се ограничат вредните серни емисии, са в сила в много страни и са в процес на разглеждане в много други. Поради тази причина, с оглед спазването на строгите екологични изисквания при изгаряне на въглища, десулфуризацията на изкопаемите горива е от съществено значение. Докато при отстраняването на неорганичната сяра десулфуризацията е постигнала високи нива на сероочистка, то при премахване на органичната сяра резултатите са незадоволителни. Напоследък се забелязва повишен интерес към биодесулфуризацията, като метод с висок потенциал за отстраняване на органичната сяра във въглищата. Биодесулфуризацията е сравнително нов и недостатъчно изучен метод за десулфуризация. Той е атрактивен поради ниските капитални вложения, "меки" експериментални условия и липсата на отделящи се допълнителни замърсители. Въпреки изброените предимства, биодесулфуризацията има и някои недостатъци, които са възпрепятствали промишленото ѝ използване за момента. С цел насърчаване на индустриалното приложение на въглищната биодесулфуризация, налице е необходимостта от допълнителни изследвания, които следва да бъдат проведени с цел повишаване на биодесулфуризацияното действие при подобрена ефективност на използваните микроорганизми.

Известно е, че по-задълбочени познания за промените, които настъпват с органичната сяра във въглища по време на микробиална обработка, както и по отношение на влиянието на въглищната матрица върху биодесулфуризацията, биха способствали за по-доброто провеждане на микробиалната въглищна сероочистка.

II. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ

Основна цел на настоящата дисертация е да се проследят промените, които настъпват със сярата, серните форми и органичните серни функционалности в процес на ефективна биодесулфуризация на различни въглища от нисък ранг.

За постигането на тази цел са поставени следните задачи:

- Биодесулфуризация на високо сернисти въглища с подходящи микробиални култури. Количествена и качествена оценка на промените, които настъпват със сярата, нейните форми и функционалности в резултат на биообработките, чрез пиролитични, хроматографски и спектрални методи;
- Биодесулфуризация на предварително деминерализирани и депиритизирани въглищни проби. Количествена и качествена оценка на промените, които настъпват със сярата, нейните форми и органични серни функционалности, в резултат на приложените биообработки. Тази задача бе поставена с цел да се насочат усилията към по-детайлно изучаване на органичната сярна биодесулфуризация;
- Разработване и прилагане на метод за количествено определяне на елементна сяра (S_{el}) в изследваните проби. Това би довело до по-точен баланс на серните форми в изходните и биотретираните проби;
- Десулфуризация чрез комбинация от химични и микробиални обработки на проба технологични въглища с промишлено значение. Количествена и качествена оценка на серните изменения в резултат на приложените обработки.

III. РЕЗУЛТАТИ, ДИСКУСИЯ И ИЗВОДИ

III.1. Биодесулфуризация на изходна въглищна проба "Пирин"

За биодесулфуризация на изходна въглищна проба "Пирин" са използвани следните микробиални култури: *Trametes versicolor* (TV-1), *Phanerochaeta chrysosporium* (PC) и *Mixed culture of microorganisms* (MC+BS). Установено е, че приложените биообработки постигат максимална биодесулфуризация по отношение на $S_t \sim 26\%$ и $S_o \sim 13\%$ (Таблица 1). Промените, които настъпват със серните форми и функционалности, са проследени чрез използването на техниката "Температурно Програмирана Редукция при Атмосферно Налягане" (AP-TPR), свързана с различни детекционни системи (показана на Фигура 1), в т.ч. маспектрометрия (MS), потенциометрия (Pot), термична десорбция-газова хроматография/маспектрометрия (TD-GC/MS). Проследяването на серните функционалности чрез AP-TPR техниката се основава на хипотезата, че всеки вид сярна функционална група при постоянна скорост на нагриване в редукционна или инертна среда има характеристичен температурен регион, в който се редуцира/хидрира до H_2S . Характеристичните температурни области, в които серните функционалности се редуцират/хидрират са определени въз основа на AP-TPR изследвания върху сяросъдържащи моделни съединения. По този начин, чрез проследяване на еволюцията на сероводорода като функция на температурата, може да се определи разпределението на серни функционални групи във въглища.

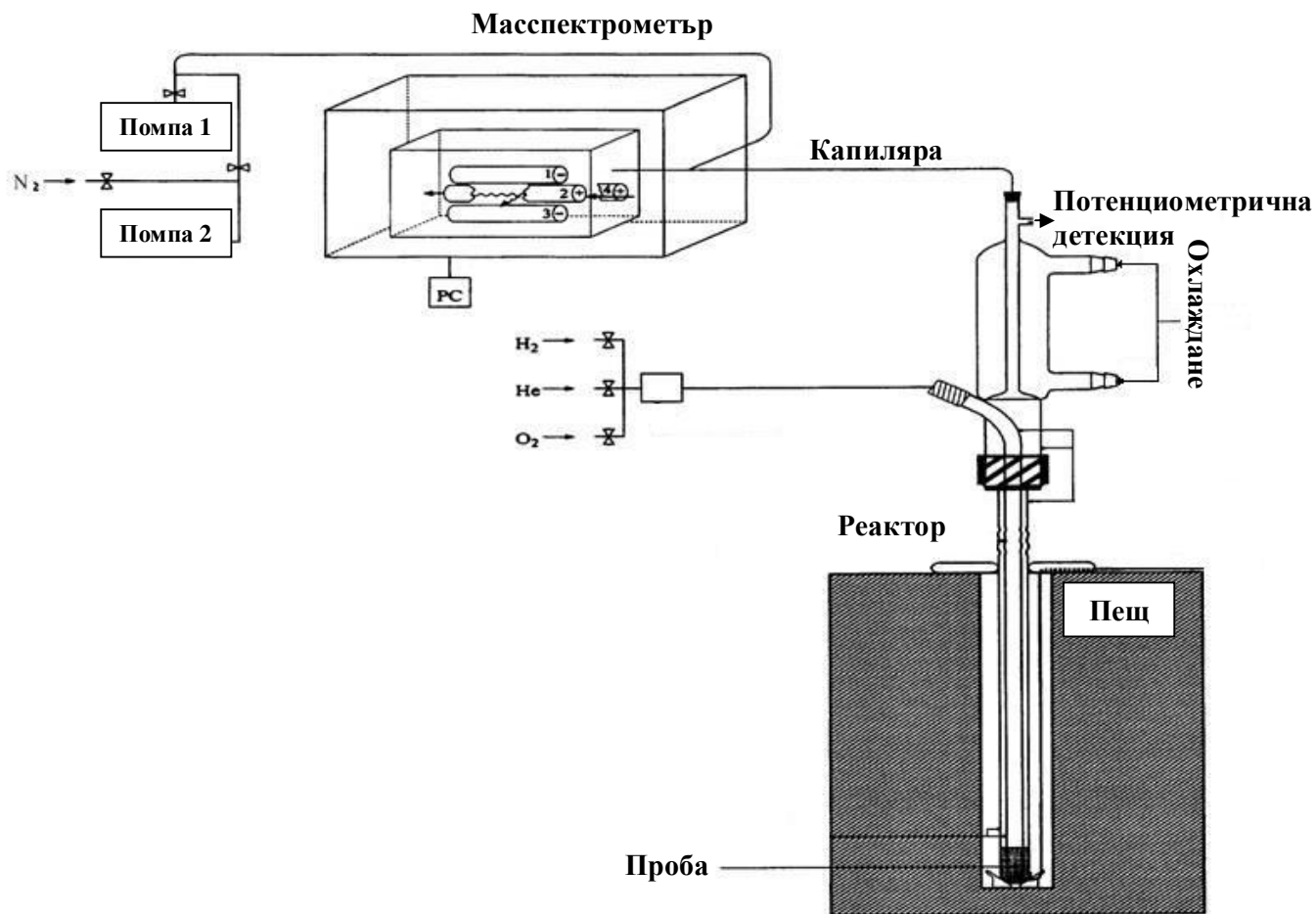
Таблица 1 Обща и органична биодесулфуризация, в %

Проба	S_t^{db}	ΔS_t	S_o^{db}	ΔS_o
Изходна проба Пирин	4,88	-	3,89	-
" <i>Trametes Versicolor</i> ", (TV-1)	3,64	25,4	3,39	12,8
" <i>Mixed Culture+BS</i> ",	3,63	25,6	3,43	11,8
" <i>Phanerochaeta</i>	3,66	25,0	3,39	12,8

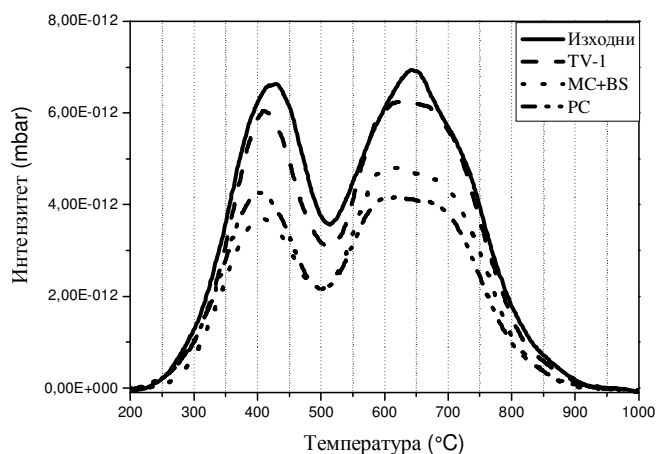
III.1.1. AP-TPR пиролиз "on-line" свързан с MS и Pot детекционни системи

На Фигура 2 са изобразени H_2S профилите на изследваните проби при пиролиз в редукционна среда. H_2S профилите, регистрирани чрез Pot детекция, са сходни на тези, определени с MS детекция. Поради това само сероводородните профили, регистрирани с MS детекция са показани, докато тези регистрирани с Pot детекция, се използват за количествени изчисления. Доколкото йонните профили m/z 34 и m/z 33 проявяват една и съща температурна еволюция, само m/z 34 йонните профили на изследваните проби са показани на Фигура 2. В сероводородните пикове на изследваните проби са налице винаги два пика. Първият пик с максимум при около $400^\circ C$ се отнася за ди-алкил и алкил-арил

сулфиди, дисулфиди, и реактивоспособни ди-арил сулфиди, докато вторият пик с максимум при около 600-650°C се отнася за по-слабо реактивоспособни ди-арил сулфиди с по-здрави C-S връзки и сложни тиофенови структури. Това заключение е направено на базата на AP-TPR-MS изследвания върху сяросъдържащи моделни съединения, както и на проследяването AP-TPR-MS профилите на типични алифатни и ароматни фрагменти, отделени по време на TPR пиролиза на изследваните проби (фигурите не са показани). Установи се, че профилите на алифатни и ароматни фрагменти, отделяни по време на пиролиз при изходната и биотретираните проби, не се различават съществено, както по форма, така и по последователност и температурен максимум. Поради това, би могло да се заключи, че биообработките не оказват съществено влияние върху въглищната матрица.



Фигура 1 Схема на AP-TPR техниката



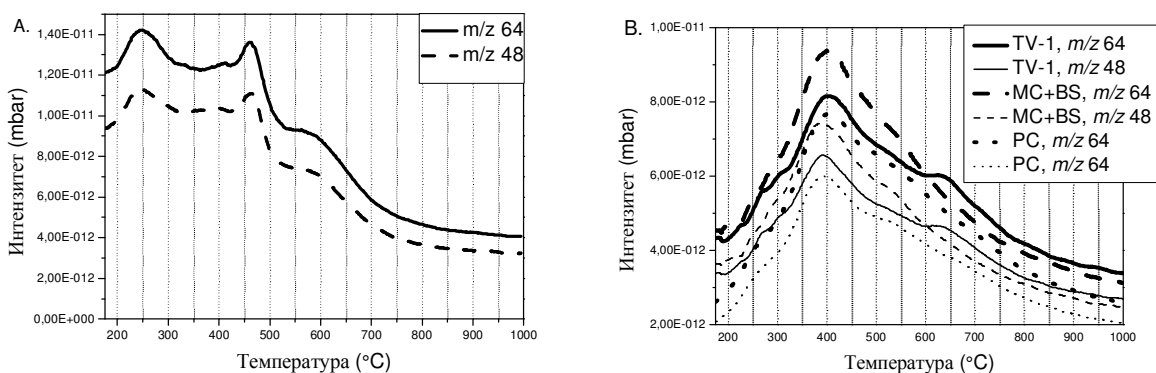
Фигура 2 AP-TPR-MS (H_2) анализ, m/z 34 йони профили на въглища Пирин: изходни и биотретирани с TV, PC, и MC+BS

От сероводородния профил на изходната проба, сравнен с тези на биотретирани проби, се вижда, че H_2S пика при по-висока температура е по-широк и има по-ясно изразен максимум. За биотретирани проби, формата на този пик е по-плоска. Това се дължи на отстраняването на сложни тиофенови съединения и ди-арил сулфиди. За въглищната проба, третирана с MC+BS, първият H_2S пик е по-нисък от втория. Това показва най-вероятно, че ди-алкил и алкил-арил сулфидите, дисулфидите, и реактивоспособните ди-арил сулфиди, се премахват в по-голяма степен от по-слабо реактивоспособните ди-арил сулфиди и сложните тиофенови структури. Друго обяснение е, че в резултат на биообработката с MC+BS, по-слабо реактивоспособните ди-арил сулфиди и сложните тиофени се променят и по този начин стават по-податливи на редукция/хидриране. Очевидно е, че това не е случая за третираните с TV-1 и PC въглищни проби.

Известно е, че окислените серни функционалности, присъстващи във въглищата, могат да не се хидрират изцяло до сероводород в редукционна среда. В резултат на термичната обработка по време на пиролиз тези окислени серни групи деструктират до SO и SO_2 . В зависимост от температурата, при която се отделят SO и SO_2 , могат да се определят кислород-сяросъдържащите групи във въглищата. Освен това се смята, че в инертна атмосфера още по-богата информация може да бъде получена за окислени серни видове. Затова m/z 48 и 64 йонните профили на изследваните проби са проследени чрез AP-TPR-MS в инертна среда (Фигура 3).

По отношение на изходната проба първият максимум при около $250^\circ C$ в m/z 64 и m/z 48 профилите (Фигура 3A) се отнася за органични сулфонови групи,

докато максимума при около 460°C се отнася за железен сулфат. Ниското плато между последно споменатите пикове се свързва с присъствието на алкил-арилни сулфоксиди. Рамото на втория максимум при по-висока температура (около 580°C) на изходната проба се обяснява по-скоро с присъствието на ди-арил сулфоксиди/сулфони.



Фигура 3 AP-TPR-MS (He), m/z 48 и m/z 64 йонни профили на въглища Пирин: (А) изходни и (В) биотретирани с TV, PC, и MC+BS

В m/z 64 и m/z 48 профилите на биотретирани проби е регистриран един широк сигнал с максимум около 400°C (Фигура 3В). Той се отнася за алкил-арил сулфоксиди. В m/z 64 и 48 профилите на въглищната проба, третирана с TV-1, се забелязва втори максимум макар и с нисък интензитет. Той може да се свърже с присъствие на ди-арил сулфоксиди/сулфони. При всички биотретирани проби не се отчитат максимуми при около 260°C, както и при около 500°C за биотретирани с PC и MC+BS въглища. Това е указание, че приложените биообработки премахват сулфонови и сулфооксидни групи.

III.1.2. AP-TPR пиролиз "off-line" свързан с TD-GC/MS детекционна система

Летливите сяросъдържащи съединения (S_{vol}), отделящи се по време на пиролиз, са количествено и качествено охарактеризирани чрез AP-TPR "off-line" TD-GC/MS техника. За тази цел са използвани адсорбционни тубички запълнени с Тенакс (Sigma-Aldrich). Пиролизните експерименти са проведени в редуцираща среда и GC/MS спектрите са количествено интерпретирани чрез използването на деутериран бензен ($Bz-d_6$), като вътрешен стандарт. В хроматограмите на изследваните проби са установени характерни продукти за въглищен пиролиз, в т.ч алкил бензени, алкил нафталени, феноли и др., придружени от сяросъдържащите им аналози. Последните са количествено охарактеризирани и представени на Таблица 2.

Въз основа на количествени данни за S_{vol} на изследваните проби, получени чрез AP-TPR "off-line" TD-GC/MS експерименти, се установи, че най-съществено

намаление в количеството на регистрираните сяросъдържащи летливи органични съединения се забелязва при пробите третирани с TV-1 и MC+BS. Във всички биотретирани проби е установен диметил сулфон. Присъствието на това съединение в пиролизните продукти е указание за протичането на окислителни процеси по време на биообработките. В резултат на тях, най-вероятно част от серните съединения във въглищата са се окислили до сулфоксиди, а след това и до сулфони.

Таблица 2 Сяра в органични серни съединения, регистрирани с AP-TPR "off-line" TD-GC/MS, в $\mu\text{gS/g}$

S-съединения	Проби			
	Изходни	TV-1	MC+BS	PC
Диметил дисулфид	2,4	1,0	3,1	0,4
Диметил сулфон	0,0	0,5	0,2	0,2
Тиофен	1,6	2,8	1,5	3,1
Тиофен- C_1	7,6	5,8	3,8	10,8
Тиофен- C_2	10,5	5,1	5,4	12,0
Тиофен- C_3	10,0	1,7	3,9	11,0
Бензотиофен	4,6	3,3	1,7	1,7
Бензотиофен- C_1	0,8	1,8	0,2	0,8
Общо	37,6	22,0	19,6	40,2

C_n – брой на алкилните заместители

Също така са регистрирани промени в присъствието на сяросъдържащи хетероциклични съединения, в т.ч. тиофени и бензотиофени. Сравнявайки съдържанието на тиофен (Th) в изходната и биотретирани проби се вижда, че в резултат на биообработките с TV-1 и PC, съдържанието на регистрирания Th нараства, докато при биообработка с MC+BS намалява. Повишено съдържание Th при пробите, биотретирани с TV-1 и PC, отчасти се обяснява с хомолитичното разграждане на ароматния пръстен на по-сложни серни органични функционалности, като бензотиофен (BzTh), количеството на който намалява и в двата случая. В резултат на това, ако не протичат процеси на ефективно деметилиране по време на биообработките с тези гъбични култури, съдържанието на метилиран Th (Th-C_n) трябва да се увеличи. В това изследване, увеличаване и значително намаляване на съдържанието на Th-C_n е регистрирано съответно за биотретирани с PC и TV-1 проби. Очевидно по време на биотретиранието с TV-1, заедно с хомолитичното разграждане на ароматни пръстени, протичат и процеси на деметилиране. Поведението на биотретирани с MC+BS въглищна проба е по-различно от това на дискутираните вече проби. При тях,

съдържанията на Th и Th-C_n намаляват заедно с това на VzTh и метилираните форми на VzTh (VzTh-C₁).

III.1.3. Серен баланс

Чрез AP-TPR техниката с Pot детекция е възможно количественото определяне на сярата, отделена по време на пиролиза като H₂S. В Таблица 3 са представени потенциометрично регистрираната сяра (S_I), както и нейния добив, като част от S_o (R_{pot}). От разглежданите проби, биотретираната с РС въглищна проба "Пирин", се характеризира с най-високата стойност на R_{pot} (76%). Най-ниската R_{pot} стойност е определена за изходните въглища (64%) и се обяснява най-вече с високото съдържание на пепел, адсорбираща H₂S. S_{vol} (S_{III}), които не са се редуцирали/хидрирали до H₂S и не са определени чрез AP-TPR техниката с Pot детекция, могат да бъдат количествено определени чрез AP-TPR "off-line" TD-GC/MS техника. В резултат на вторични реакции по време на AP-TPR пиролиз могат да се образуват и по-малко летливи и по-сложни тиофенови структури (S_{II}). Тези сложни сяросъдържащи структури са устойчиви при приложените редуционни AP-TPR условия и остават задържани във фракциите от катран и въглен.

Таблица 3 Серен баланс, в % на суха маса

Проба	S _I	S _{II}	S _{III}	*(S _I +S _{II} +S _{III})	R _{pot}
Изходна	3,14	0,31	0,10	72,7	64,3
TV-1	2,71	0,23	0,06	82,4	74,5
MC+BS	2,51	0,23	0,05	76,9	69,1
PC	2,79	0,21	0,11	85,0	76,2

S_I – сяра регистрирана като H₂S чрез AP-TPR-Pot; S_{II} – сяра в катрана и въглена;

S_{III} – летливи сяросъдържащи съединения, регистрирани с AP-TPR "off-line" TD-GC/MS;

* сума от регистрираната сяра (S_I+S_{II}+S_{III}) като част (%) от общата сяра S_t;

R_{pot} - сяра регистрирана като H₂S чрез AP-TPR-Pot като част от S_t (добив);

Серният баланс може да се състави както следва:

$$S_t = S_I + S_{II} + S_{III} + S_{res},$$

където S_t – обща сяра; S_I – сяра регистрирана като H₂S чрез AP-TPR-Pot; S_{II} – сяра в катрана и въглена; S_{III} – летливи сяросъдържащи съединения, регистрирани с AP-TPR "off-line" TD-GC/MS; S_{res} – серни загуби. Последните включват: i) нерегистрираните и загубени по време на експериментите серни съединения, в т.ч. окислени серни форми, отделяни като SO/SO₂; ii) летливи серни съединения, които не са адсорбирани от адсорбент Тенакс; и iii) изчислителни грешки,

дължащи се на не оптималното инжектиране на вътрешен стандарт, неговия подбор и др.

Относно серния баланс могат да се направят следните коментари: S_{II} стойностите са по-ниски за всички биотретирани проби, в сравнение с изходната проба. Пробата, третирана с РС, се характеризира с най-ниската S_{II} стойност. За същата проба, е определена най-високата стойност за сумата от установена сяра ($S_I + S_{II} + S_{III}$), около 85% (Таблица 3) и следователно най-висок добив на сяра, регистрирана като H_2S (R_{pot}). S_I -стойностите са също по-ниски за всички биотретирани въглища, в сравнение с изходните. Това най-вероятно е свързано с процеси на окисление, които способстват за увеличаване на окислените серни съединения, а по този начин и на количеството на SO/SO_2 , отделяно по време на пиролиз. Както вече бе споменато, SO/SO_2 не са количествено определени с използваната експериментална техника.

III.1.4. Изводи

В резултат на това изследване са формулирани следните изводи:

- Установено е, че приложените биообработки с *Trametes Versicolor*, *Phanerochaeta Chrysosporium* и *Mixed culture of microorganisms* върху изходна въглищна проба "Пирин" имат за резултат максимална биодесулфуризация по отношение на S_t ~26% и S_o ~13%;
- Приложените биообработки не засягат съществено въглищната матрица и се запазват калоричните показатели на пробата;
- Биодесулфуризацият механизъм на протичащите процеси е окислителен. Регистриран е биотрансформационен процес на сулфидни серни функционалности в сулфони и сулфооксиди, придружен от деструкция на органични съединения, съдържащи сулфонови групи;
- За всички биотретирани проби е регистрирано отстраняване на сложни тиофенови структури. При пробите биообработени с гъбите *Trametes Versicolor* и *Phanerochaeta Chrysosporium* е установено отваряне на хомолитични пръстени в тиофенови структури, придружено с процеси на деметилиране.

III.2. Биодесулфуризация на деминерализирани и депиритизирани въглища

С цел да съсредоточим нашите усилия към изучаване на промените, които настъпват с S_o в резултат на биодесулфуризация, разглежданите въглища нисък ранг, в т.ч. кафяви въглища "Пирин" (Р), хумовитрен "Марица Изток" (М), лигнити "Бейпазар" (В), са предварително деминерализирани и депиритизирани.

Използваните за биообработка микроорганизми са *Pherochaeta chrysosporium* (PC) и *Sulfolobus solfataricus* (SS). На Таблица 4 са представени резултатите от техническия анализ, анализа на серните форми и калоричността на изследваните проби.

Таблица 4 Технически анализ и серни форми

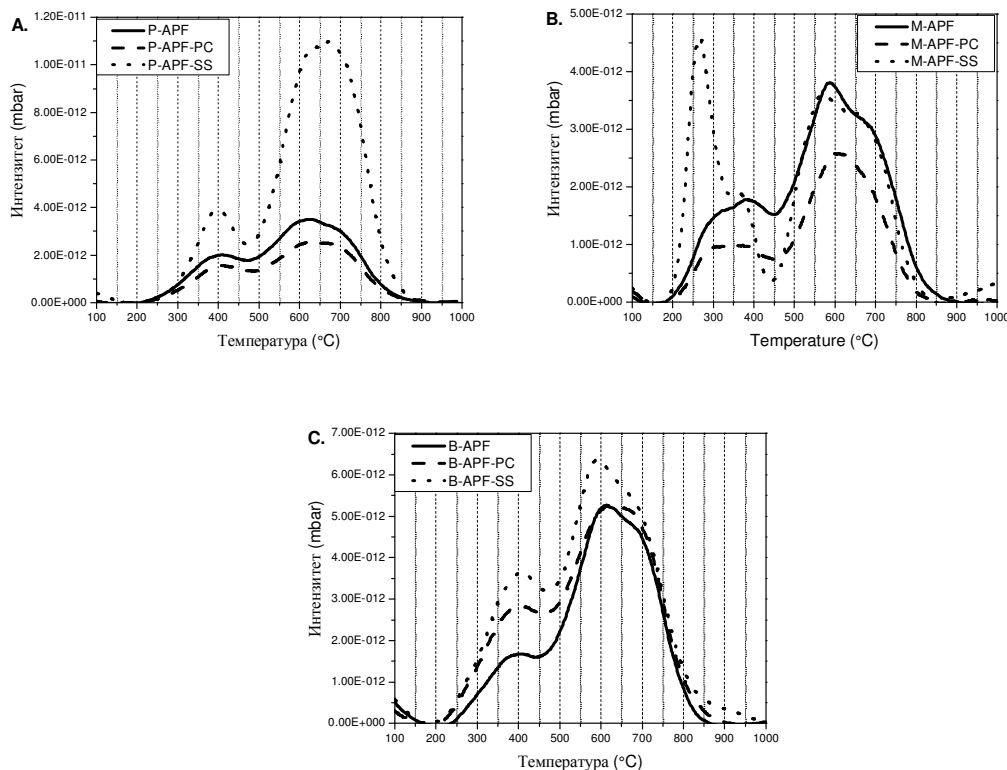
Проби	Технически анализ (%)				S форми (%) ^{daf}				Калоричност* (MJ kg ⁻¹)
	Ash ^{ad}	VM ^{daf}	W ^{ad}	C _{fix} ^{daf}	S _t	S _p	S _s	S _o	
P-APF	0,0	42,3	6,2	57,7	4,10	0,23	0	3,87	23,65
P-APF-PC	0,5	42,9	6,6	57,1	3,11	0,16	0	2,95	23,08
P-APF-SS	1,7	41,0	5,3	59,0	3,53	0,20	0	3,33	26,30
M-APF	1,2	50,8	6,3	49,2	4,01	0,37	0	3,64	19,93
M-APF-PC	0,9	50,5	7,4	49,5	3,04	0,20	0	2,84	20,15
M-APF-SS	1,4	49,9	7,0	50,2	3,87	0,38	0	3,49	24,24
B-APF	0,6	43,7	6,5	56,3	3,49	0,38	0	3,11	22,03
B-APF-PC	1,0	44,0	6,2	56,0	3,13	0,11	0	3,02	22,58
B-APF-SS	1,1	42,4	6,4	57,6	2,90	0,36	0	2,54	23,00

P – въглища "Пирин"; M – хумовитрен "Марица Изток"; B – лигнити "Бейпазар"; APF – деминерализирани и депиритизирани проби; PC – *Pherochaeta chrysosporium*; SS – *Sulfolobus solfataricus*; W – влага; VM – летливи вещества; C_{fix} – фиксиран въглерод; ^{ad} – въздушно сухи; ^{daf} – суха, безпепелна маса; *Калоричност – изчислена на въздушно суха маса по формулата на Чанивала.

Установено е, че биообработката с PC способства за максимална S_t биодесулфуризация около 24.2% в случай на проба M-APF-PC, последвана от проба P-APF-PC (24.1%). Максималната S_o биодесулфуризация е постигната за същите проби: M-APF-PC (22.0%), и P-APF-PC (23.8%). В случай на въглища B-APF-PC, ефектът на S_t биодесулфуризация е много по-нисък (10,3%) и по-съществен по отношение на S_p (71.1%), отколкото за S_o (2.9%). За биотретираните с PC проби P-APF и M-APF също са регистрирани сравнително високи стойности на биодесулфуризация по отношение на S_p. Що се отнася до биообработките със SS, максималните S_t и S_o ефекти на биодесулфуризация са съответно 16.9% и 18.3%, и са постигнати за проба B-APF-SS. Определено за проба M-APF-SS са регистрирани ниски S_t и S_o ефекти на биодесулфуризация, съответно 3.5% и 4.1%. Постигнатите ефекти на биодесулфуризация по отношение на S_t и S_o при проба P-APF-SS са съответно 13.9% и 14.0%. Регистрираните промени в съдържанието на S_p за пробите третираните с SS са в границата на грешката (от порядъка 0.05%), допустима за метода за определяне на S_p.

III.2.1. AP-TPR "on-line" MS анализ

H₂S профилите, регистрирани с AP-TPR-MS техника в редукционна среда, на APF пробите и биотретираните с PC и SS APF проби са представени на Фигура 4. Тъй като йонните профили m/z 34 и m/z 33 демонстрират една и съща температурна еволюция, на Фигура 4 са показани само тези, които се отнасят за m/z 34. В профилите на всички изследвани проби се забелязват два доминиращи пика: първи с T_{\max} около 400°C и втори с T_{\max} около 600°C. Пикът при по-ниската температура се обяснява с наличие на ди-алкил сулфиди, алкил-арил сулфиди и дисулфиди. Не може да се изключи и присъствието на реактивоспособни ди-арил сулфиди. В тези профили няма неоспорими доказателства за присъствие на тиоли, нито в APF пробите, нито в биотретираните APF проби с PC и SS микроорганизми. Въпреки това, тъй като H₂S профилите стартират при около 200°C, особено в случая на проби М, може да се допусне присъствие на тиоли. В H₂S профилите на изследваните проби (Фигура 4), вторият пик може да се обясни главно с присъствието на по-слабо реактивоспособни ди-арил сулфиди и тиофени. Направените отнасяния се основават на AP-TPR изследвания на сяросъдържащи моделни съединения, както и на проследяването на AP-TPR-MS профилите на алифатни, ароматни, тиолови и сулфидни фрагменти, отделени по време на TPR пиролиза.



Фигура 4 AP-TPR-MS (H₂) анализ, m/z 34 йони профили на проби Пирин (А), Хумовитрен "Марица Изток" (В) и лигнити Бейпазар" (С)

Въз основа на относителните площи на всеки H_2S пик в разглежданите профили, може да се получи информация за съотношението между различните серни функционалности, присъстваща в изследваните въглища. В Таблица 5 са представени в относителни проценти площите на първия пик (отнесен за ди-алкил сулфиди, алкил-арил сулфиди, дисулфиди и силно реактивоспособни ди-арил сулфиди) и втория пик (отнесен за по-слабо реактивоспособни ди-арил сулфиди и тиофени), както и съотношението между тях. Площта на всеки H_2S пик е определена чрез деконволюция на H_2S профилите с използването на Гаусова функция. Оказва се, че съотношението между площите е в полза на втория пик за всички изследвани APF проби (Таблица 5 и Фигура 4). Това дава основание да се твърди, че по-слабо реактивоспособните ди-арил сулфиди и тиофени са по-широко разпространени в тези проби, но не и в една и съща степен. Подобен е и случая за всички APF проби, третирани с PC и SS микроорганизми. Въпреки това обаче се наблюдават някои различия. В случая на пробите B-APF-PC и B-APF-SS, сярата включена в по-слабо реактивоспособни ди-арил сулфиди и тиофени е отстранена в по-голяма степен, докато в случая на PC и SS третирани M-APF проби, ди-алкил сулфидите, алкил-арил сулфидите и дисулфидите са предпочетено атакувани. Наблюдаваните изменения са указание, че промените на S_o , настъпващи в резултат на PC и SS обработките на проби B-APF и M-APF, могат да бъдат обяснени не само с вида на серните функционалности, присъстващи във въглищата, но също така и със структурните особености на пробите, т.е. "пространствената достъпност" на алифатните и ароматните серни съединения. Интересен е случая на проба M-APF-SS. В резултат на SS биобработката в нейния H_2S профил се появява нов пик с T_{\max} около 270°C (Фигура 4B). Най-вероятно този нов пик се отнася за полисулфиди и/или тиоли.

Различна е ситуацията за проби P-APF-PC и P-APF-SS, в смисъл, че и двете биобработки (PC и SS) не водят до една и съща промяна в съотношението на серните функционалности. Установено е, че при проба P-APF-PC, ди-алкил сулфидите, алкил-арил сулфидите, дисулфидите и реактивоспособните ди-арил сулфиди, както и по-слабо реактивоспособните ди-арил сулфиди и тиофени са отстранени най-вероятно в еднаква степен, докато при проба P-APF-SS, ди-алкил сулфидите, алкил-арил сулфидите, дисулфидите и реактивоспособните ди-арил сулфиди са предпочетено премахнати. Тези промени са още едно доказателство за разликите във вида на серните функционалности и структурните особености на трите изследвани проби. Също така може да се предположи, че използваните

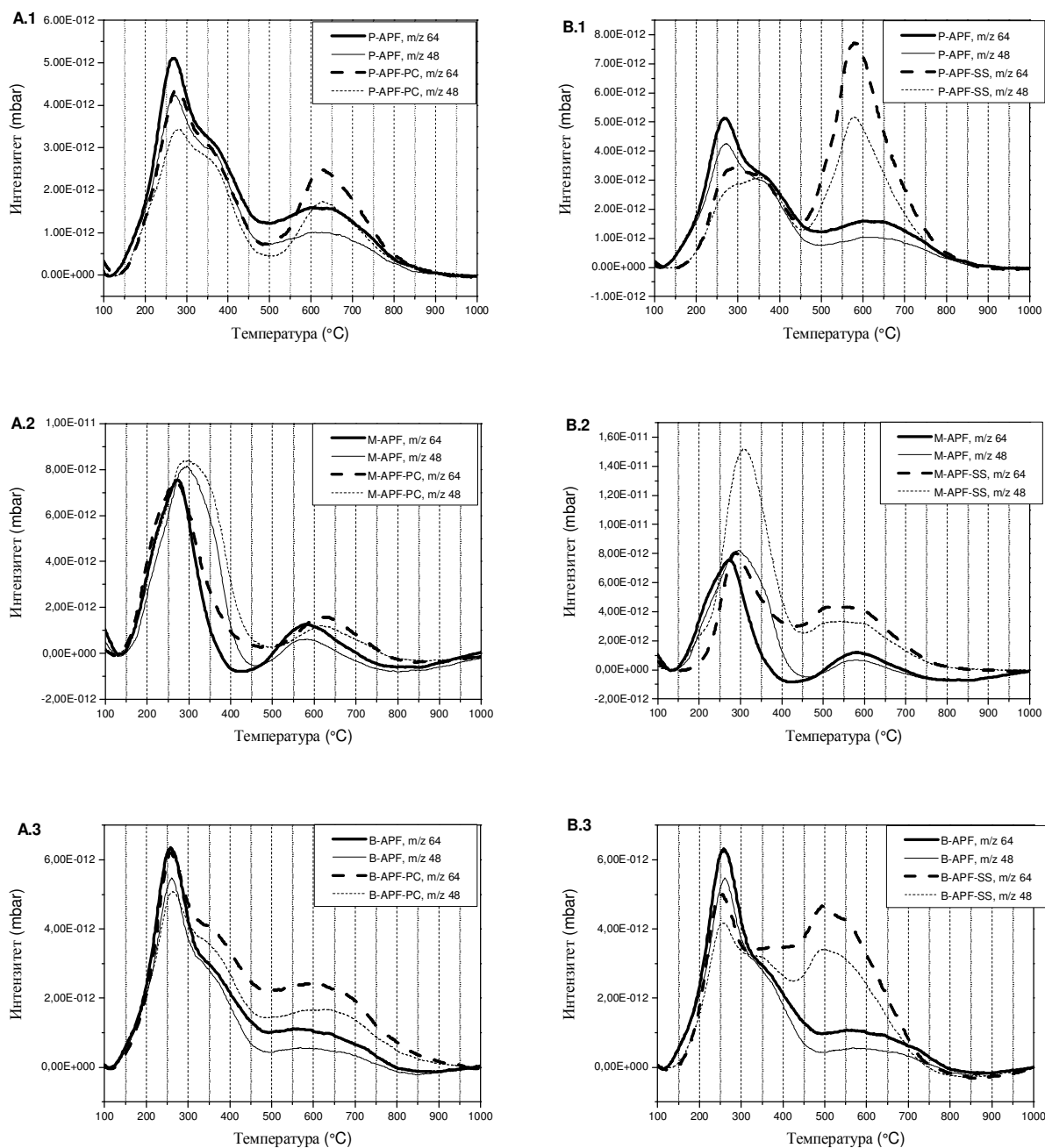
микроорганизми имат различни предпочитания към органичните серни функционалности, присъстващи в изследваните въглища.

Таблица 5 Относителни площи на пиковите в H₂S профилите на изследваните проби, в отн. %

Проби	H ₂ S площ		
	% 1 ^{ви} пик*	% 2 ^{ри} пик**	2 ^{ри} пик/1 ^{ви} пик
P-APF	28,5	71,5	2,5
P-APF-PC	31,2	68,8	2,2
P-APF-SS	17,5	82,5	4,7
M-APF	28,1	71,9	2,6
M-APF-PC	21,7	78,3	3,6
M-APF-SS	21,6	78,4	3,6
B-APF	18,8	81,2	4,3
B-APF-PC	29,8	70,2	2,4
B-APF-SS	33,9	66,1	2,0

* – отнесен за ди-алкил сулфиди, алкил-арил сулфиди, дисулфиди и силно реактивоспособни ди-арил сулфиди ; ** – отнесен за по-слабо реактивоспособни ди-арил сулфиди и тиофени;

С цел да получим информация за окислените серни функционалности са проследени AP-TPR-MS кинетограмите в инертна среда за m/z 48 и m/z 64 (Фигура 5). Първият максимум при около 260°C заедно с рамото при около 360°C в m/z 48 и m/z 64 AP-TPR-MS (He) профилите на пробите P-APF, B-APF и M-APF могат да се отнесат за органични сулфонови групи. Пикът при 600-650°C може да се отнесе за ди-арил сулфоксиди/сулфони. След биообработка с PC и SS наблюдаваните съществени промени в m/z 48 и m/z 64 профилите на изследваните пробите са свързани с увеличаване на съдържанието на ди-арил сулфоксиди/сулфони и намаляване съдържанието на органични сулфонови киселини. Тези промени са особено ясно изразени в APF пробите, третирани с SS. Прави впечатление, че m/z 48 и m/z 64 йонните профили на проби M-APF, M-APF-PC и M-APF-SS са с различна еволюция в нискотемпературния интервал до около 400°C. Това е свързано с присъствието на тиоли в тези проби, които имат принос към m/z 48 йоните профили.



Фигура 5 AP-TPR-MS (He) анализ, m/z 48 и m/z 64 йони профили на проби Пирин (1), Хумовитрен "Марица Изток" (2) и лигнити Бейпазар" (3): А) APF проби сравнени с проби APF-PS; В) APF проби сравнени с проби APF-SS.

III.2.2. AP-TPR "off-line" TD-GC/MS анализ

С цел да се получи допълнителна информация за S_{vol} е използвана AP-TPR "off-line" TD-GC/MS техника. В това изследване подходът е усъвършенстван чрез заместването на адсорбента Тенакс със специална комбинация от сяроселективни сорбенти, а именно Тенакс/Карбопак/Карбосийв комбинация (Markes

International). В резултат на приложението на тези сорбенти, количествено и качествено са идентифицирани по-широка гама от S_{vol} , както и SO_2 , COS и CS_2 .

Общото количество сяра, регистрирано с AP-TPR "off-line" TD-GC/MS, е показано в Таблица 6. Изчислените тегл. % варират в интервала от $7.2 \div 21.5\%$. По отношение на APF пробите, най-високо присъствие на S_{vol} , представено в $\mu gS/g^{daf}$, е регистрирано за проба M-APF последвана от проби B-APF и P-APF. Тези данни корелират със зрелостта на изследваните проби, която нараства в същата последователност. Съдържанието на S_{vol} намалява за всички PC третирани проби, както и за B-APF-SS пробата, докато в случая на проби P-APF-SS и M-APF-SS то нараства. Може да се предположи, че SS обработката при последните две проби предизвиква някои матрични промени, които способстват за по-буйно отделяне на летливи съединения и до "по-меко", частично и специфично окисление на серните форми.

Таблица 6 Сяра в органични серни съединения, регистрирани с AP-TPR "off-line" TD-GC/MS техника

Проби	S_{vol}	
	$\mu g S/g^{daf}$	$Re^{So}(wt\%)$
P-APF	2 768,7	7,2
P-APF-PC	2 505,3	8,5
P-APF-SS	4 453,7	13,4
M-APF	4 917,8	13,5
M-APF-PC	3 641,6	12,8
M-APF-SS	7 495,5	21,5
B-APF	3 575,7	11,5
B-APF-PC	2 376,7	7,9
B-APF-SS	2 247,7	8,8

$Re^{So} - S_{vol}$ като част (%) от S_o

Данните за количествено и качествено регистрираните сяросъдържащи летливи съединения са показани в Таблица 7, Фигура 6 и Фигура 7. Анализът на получените резултати показва, че сред отделените в условията на TPR пиролиз сяросъдържащи съединения, SO_2 (получен от разграждането на окислени серни видове) е в най-голямо количество. Присъствието на окислени органични серни функционалности в APF пробите е допустимо, тъй като те са обработени с азотна киселина при депиритизацията им. Съдържанието на SO_2 е приблизително еднакво за всички APF проби и намалява във всички APF-PC проби. Това е указание, че в резултат на PC обработката на APF пробите, окислените

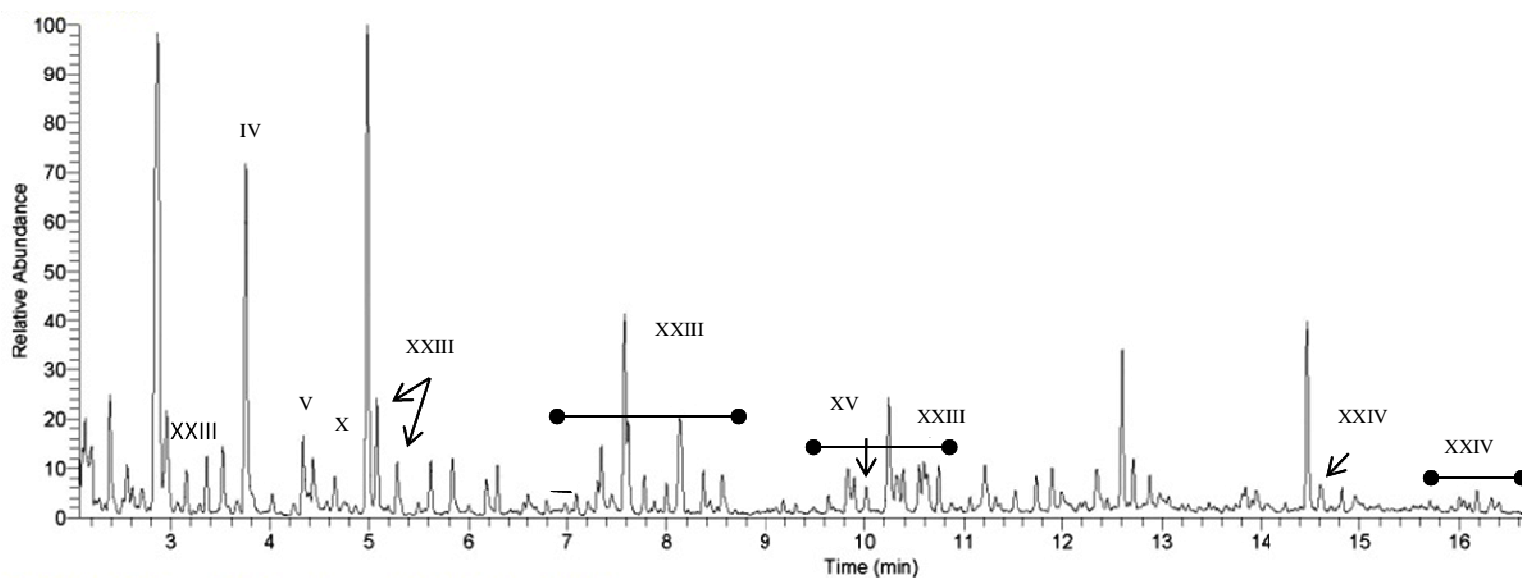
органични серни функционалности са отстранени. Този факт е най-силно изразен за проба В-APF-PC, където е установено намаление на съдържанието на SO₂ с 36.8% спрямо проба В-APF. В резултат на биодесулфуризация с SS, количеството на регистрирания SO₂ е доста високо за проби Р-APF-SS и М-APF-SS.

Най-високо съдържание на летлива, алифатна сяра е регистрирано в проба М-APF, следвана от проби В-APF и Р-APF. Съдържанието на алифатна сяра отново корелира с въглищната зрялост на изследваните проби. Може да се види, че съдържанието на летливи алифатни серни съединения намалява за APF пробите, третирани с микроорганизма PC. Явно алифатната сяра е също атакувана по време PC обработката по окислителен механизъм. Що се отнася до пробите третирани със SS, съдържанието на летлива алифатна сяра нараства за проби Р-APF-SS и М-APF-SS, а за проба В-APF-SS намалява.

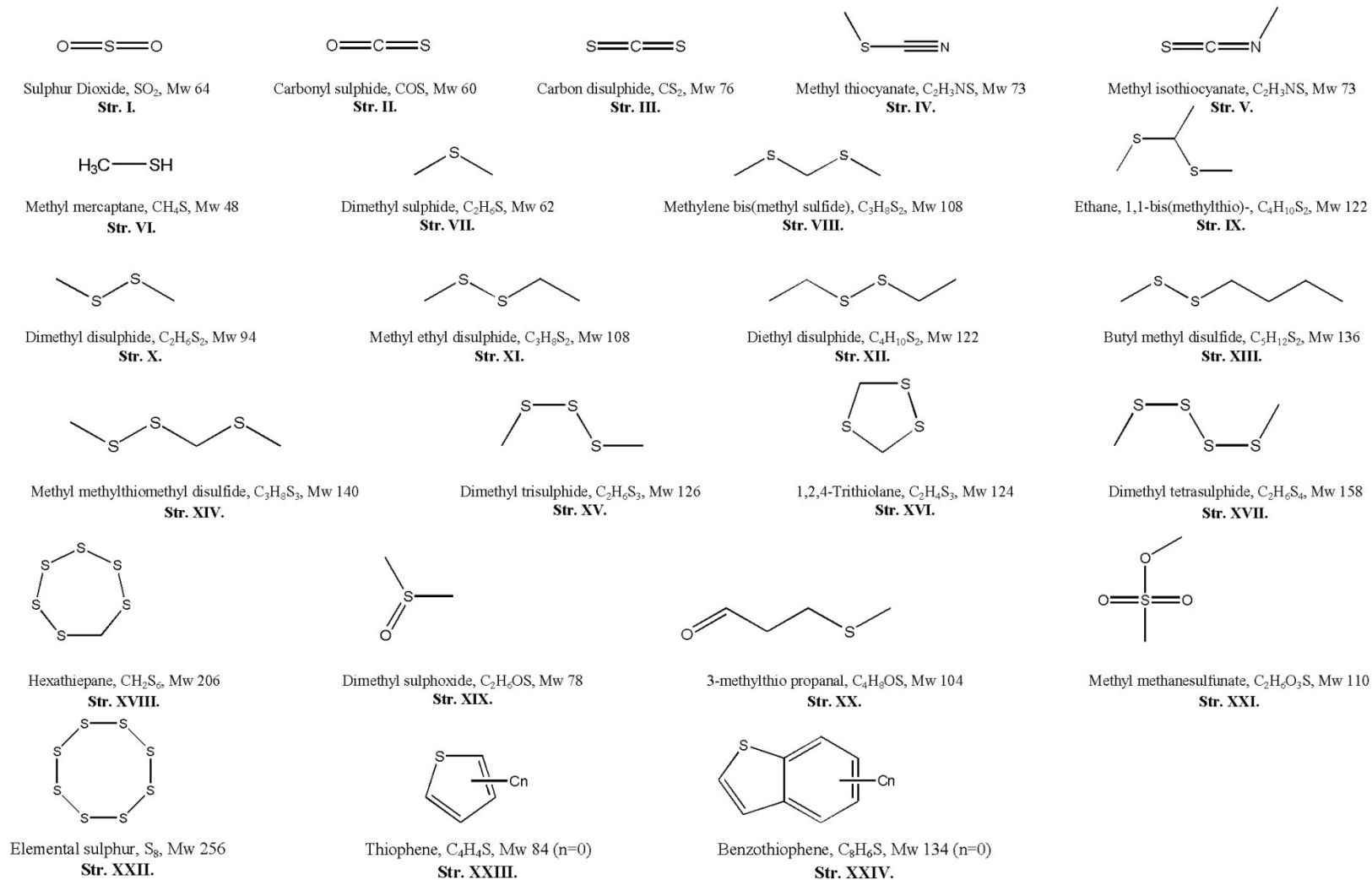
Сред APF пробите, с най-високо съдържание на летлива хетероциклична сяра се отличава проба В-APF (Таблица 7 и Фигура 7). То намалява след биообработка, както с PC, така и със SS. Различен е случаят за PC и SS третираните проби М-APF и Р-APF. При тях е регистрирана противоположна тенденция в изменение съдържанието на Th и VzTh. При увеличение на съдържанието на Th, то това на VzTh намалява и обратно. Този факт ни дава основание да предположим, че промените в съдържанието на Th и VzTh за PC и SS третираните проби Р-APF и М-APF са взаимно зависими.

Таблица 7 Сяра в органични съединения, определени с AP-TPR "off-line" TD-GC/MS техника, в $\mu\text{g S/g}^{\text{daf}}$

Съединения	Структури в Фиг. 7	Пирин			Хумовитрен			Бейпазар		
		APF	APF-PC	APF-SS	APF	APF-PC	APF-SS	APF	APF-PC	APF-SS
Серен диоксид	I	1 525,9	1 259,8	3 147,1	1 546,7	1 063,5	3 448,2	1 544,4	975,6	1 037,4
Карбонил сулфид	II	317,6	343,0	190,0	311,3	208,7	152,7	266,3	0,4	120,1
Въглероден дисулфид	III	68,2	17,0	144,0	624,8	654,7	982,7	402,6	232,0	62,1
Σ S-алифатни съединения	IV-XVIII	260,9	253,0	278,9	2 143,1	1 434,4	2 442,3	642,6	623,4	535,2
Диметил сулфоксид	XIX	-	-	-	-	-	51,3	-	-	-
3-метилтио пропанал	XX	-	-	-	-	-	17,1	-	-	-
Метил метансулфонат	XXI	-	-	-	10,6	11,8	21,1	1,8	3,4	0,0
Елементна сяра	XXII	-	-	-	-	-	-	-	1,9	24,3
Σ тиофени	XXIII	393,0	384,7	519,4	173,6	204,1	196,0	468,0	408,1	408,3
Σ бензотиофени	XXIV	203,1	247,8	174,3	107,6	64,4	184,0	250,0	131,9	60,3



Фигура 6 GC/MS хроматограма на проба B-APF-PC



Фигура 7 Структури на сяросъдържащи летливи органични съединения, установени с AP-TPR "off-line" TD-GC/MS техника

III.2.3. Изводи

Проведеният анализ в хода на това изследване показва:

- По-висок биодесулфуризационен ефект е постигнат за деминерализираните и депиритизирани въглища, третирани с гъбичната култура *Phanerochaete Chrysosporium*. Регистрираните биодесулфуризационни ефекти по отношение на S_t и S_o варират съответно в границите 10.3 – 24.2% и 2.9 – 23.8%. При биообработките с бактерията *Sulfolobus solfataricus* максимално достигнатия ефект на биодесулфуризация по отношение на S_t и S_o е съответно 16.9 % и 18.3%;
- Установено е, че по време на биообработките протичат процеси на деструкция на сложни видове органични серни съединения. Те са придружени от окислителни процеси, които протичат по различни механизми при биообработките с *Phanerochaeta chrysosporium* и *Sulfolobus solfataricus*;
- Регистрираните промени с органичните серни функционалности в следствие на приложените биообработки се определят не само от вида на серните функционалности и структурните особености на пробите, но също така са свързани с предпочитанията на използваните микроорганизми към серните функционалности;
- Информацията, регистрирана с AP-TPR-TD-GC/MS техника е значително обогатена чрез употреба на адсорбционни тубички, запълнени със сяро-селективни сорбенти. В резултат на това, по-голям брой летливи в условията на TPR пиролиз сяросъдържащи съединения са качествено и количествено определени.

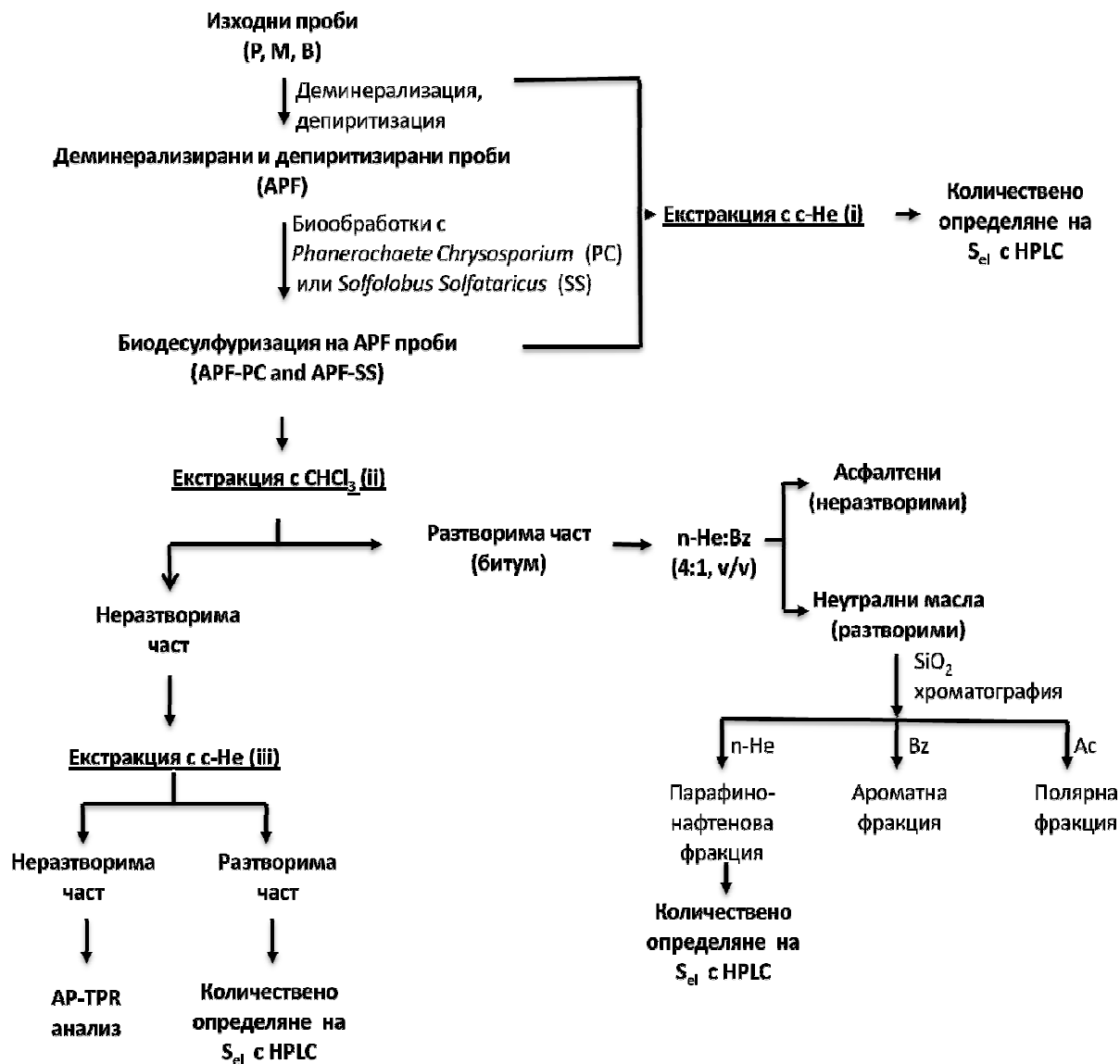
III.3. Метод за определяне на елементна сяра

При анализа на серните форми, присъстващи във въглища, се получават неточности ако изследваните въглищни проби съдържат елементна сяра (S_{el}). Това е свързано с факта, че съществуват стандартни аналитични методи за определянето само на S_t , S_s и S_p . Поради липсата на метод за анализ на S_o тя се определя по разлика от общата и неорганичната сяра, в т.ч. S_p и S_s . Следователно, ако S_{el} присъства в изследваните проби, при количественото определяне на серните форми тя ще бъде включена в стойността на S_o .

Тъй като в настоящата дисертация една от основните цели е количествена и качествена оценка на измененията, които настъпват с S_o в следствие на биодесулфуризация, количественото оценяване на S_{el} е неизбежно. Това наложи разработването на метод за количествена оценка на S_{el} в изследваните проби. Приложена бе експериментална стратегия показана на Фигура 8. Обект на

изследване бяха проби "Пирин", хумовитрен "Марица Изток" и лигнити "Бейпазар", като и техните деминерализирани, депиритизирани и биотретирани с SS и PC проби. Нашето внимание бе насочено към следните екстракти: i) циклохексанови (с-He) екстракти; ii) хлороформени екстракти и по специално парафино-нафтеновата фракция на неутралните масла от тези екстракти; iii) с-He екстракти на вече екстрахираните с хлороформ проби.

За количественото определяне на S_{el} бе използвана високо ефективна течна хроматография (HPLC) с УВ детекция при 254 nm и обратно-фазова колона C_{18} .



Фигура 8 Експериментална стратегия за определяне на S_{el}

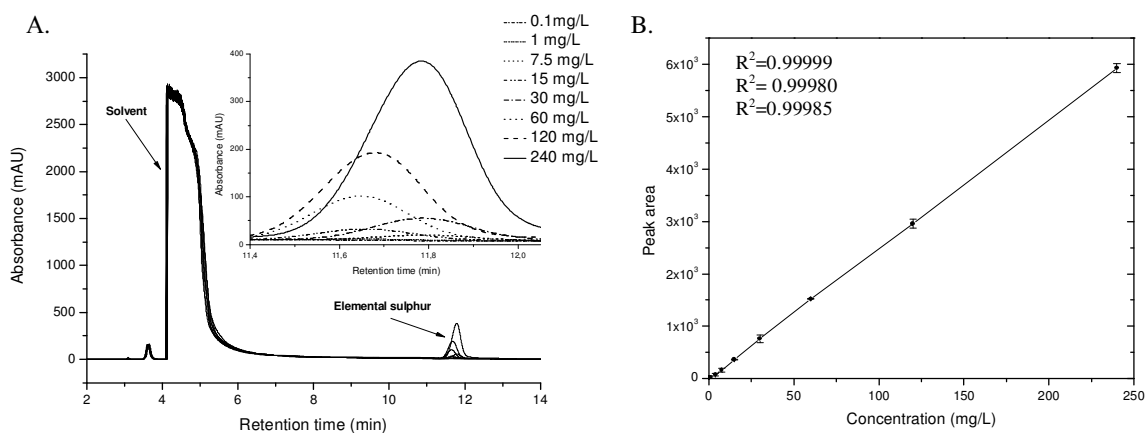
III.3.1. Анализ на S_{el} стандарти

Количеството S_{el} , екстрахирано от изследваните въглища, се изчислява на базата на калибрационни графики, построени за стандартни разтвори на S_{el} в

перхлоретилен (PCE). Фигура 9А представя припокриващи се хроматограми на серия от стандартни разтвори на S_{el} в PCE, в концентрационния интервал 0.1 – 240 mg/L. Пиковете с време на задържане около 11.04-12.01 min се отнасят за S_{el} . Площта на тези пикове нараства с увеличаване на концентрацията на S_{el} . Широкият пик, регистриран при 4 – 6 min, както и малкият пик около 3.6 min се отнасят за PCE. На Фигура 9В са представени калибрационните графики на три серии от S_{el} стандартни разтвори. Точките в калибрационните криви съответстват на площта на пиковете за S_{el} на три серии от стандартни разтвори в концентрационния интервал 0.1 – 240 mg/L. Линеиният регресионен анализ на точките в калибрационните криви даде много добри корелационни коефициенти от 0.99999, 0.99980 и 0.99985. Това показва и много добрата повторемост на HPLC анализите при количествено определяне на S_{el} .

III.3.2. Анализ на екстракти

Данните от проведените количествени анализи за съдържание на S_{el} в изследваните екстракти и твърдия остатък след последователна екстракция с $CHCl_3$ и с-He са дадени в Таблица 8. Ясно се вижда, че за изследваните въглищни проби $CHCl_3$ е по-добър екстрагент на S_{el} в сравнение с с-He. Установи се, че достъпността на S_{el} за различни органични разтворители е от съществено значение. Допълнително доказателство за ефективността на $CHCl_3$, като екстрагент на S_{el} от изследваните проби, е ниското съдържание на S_{el} , както в с-He екстракт след екстракция с $CHCl_3$, така и в твърдия остатък след последователна екстракция с $CHCl_3$ и с-He.



Фигура 9 Анализ на S_{el} стандарти: А) припокриващи се хроматограми на серия от стандартни разтвори на S_{el} в PCE в концентрационния интервал 0.1 – 240 mg/L; В) калибрационни криви на три серии от S_{el} стандартни разтвори.

В Таблица 9 е представено тоталното съдържание на S_{el} в изследваните проби, като абсолютна стойност ($\mu\text{gS/g}$) и като относителна стойност (%) от съдържанието на S_t и S_o . Тоталното S_{el} съдържание е изчислено, базирайки се на съдържанието на S_{el} в: i) CHCl_3 екстракт; ii) с-He екстракт след екстракция с CHCl_3 ; и iii) в твърдия остатък след последователна екстракция с CHCl_3 и с-He.

Най-високото съдържание на S_{el} е регистрирано за предварително деминерализираните и депиритизирани въглища. Това се обяснява с протеклите процеси на изветряне. Съдържанието на S_{el} в APF пробите нараства в следната последователност: въглища "Пирин", хумовитрен "Марица-Изток", лигнити "Бейпазар". Имайки в предвид съдържанието на S_p в APF пробите (Таблица 4), това нарастване е очаквано за първите две проби, в т.ч. P-APF и M-APF, но не и за пробата B-APF. Най-вероятно, различията в съдържанието на S_{el} за пробите M-APF и B-APF може да се обясни с различия в: i) характеристиките на въглищната матрица; ii) кристалографските характеристики на пирита; iii) въздействието на атмосферни влияния (процеси на изветряне) или "in-situ" бактериално действие в находището.

Таблица 8 Съдържание на S_{el} в изследваните екстракти и твърдия остатък след последователна екстракция с CHCl_3 и с-He

Проби	с-He	CHCl_3	с-He екстракт	Твърд остатък
	екстракт	екстракт	CHCl_3	CHCl_3 и с-He
	$\mu\text{g S/g}^{\text{daf}}$	$\mu\text{g S/g}^{\text{daf}}$	$\mu\text{g S/g}^{\text{daf}}$	$\mu\text{g S/g}^{\text{daf}}$
P-APF	11,4	309,5	1,0	2,3
P-APF-PC	9,7	256,7	1,6	3,9
P-APF-SS	10,0	138,1	2,5	4,0
M-APF	29,4	882,1	2,1	4,4
M-APF-PC	17,7	616,4	0,5	3,0
M-APF-SS	8,7	416,1	0,7	1,0
B-APF	121,0	1539,2	17,8	-
B-APF-PC	46,2	1016,0	5,1	3,5
B-APF-SS	74,5	1112,5	3,2	7,0

Таблица 9 Съдържание на S_{el} и коригирани стойности на S_o

Проби	$S_{el}(tot)^{daf}$				корекция* $S_o (wt\%)^{daf}$
	$\mu g S/g \text{ coal}$	wt%	% S_t	% S_o	
P-APF	312,8	0,03	0,73	0,78	3,84
P-APF-PC	262,3	0,03	0,96	1,02	2,92
P-APF-SS	144,6	0,01	0,28	0,30	3,32
M-APF	888,7	0,09	2,24	2,47	3,55
M-APF-PC	619,9	0,06	1,97	2,11	2,78
M-APF-SS	417,9	0,04	1,03	1,15	3,45
B-APF	1557,0	0,16	4,58	5,14	2,95
B-APF-PC	1024,6	0,10	3,19	3,31	2,92
B-APF-SS	1122,6	0,11	3,79	4,35	2,42

% S_t - $S_{el}(tot)$ като част (%) от S_t (daf); % S_o - $S_{el}(tot)$ като част (%) от S_o ; af)

* S_o коригирана от S_{el} .

Установено е, че съдържанието на S_{el} намалява във всички биотретирани проби. По отношение на елементната сяра *Sulfolobus solfataricus* е по-добра биодесулфуризираща култура в сравнение с *Phanerochaeta chrysosporium*. С тази микробна култура е постигнат 54% биодесулфуризиращ ефект по-отношение на S_{el} .

Получените резултати ясно показват, че липсата на оценка на количеството на S_{el} във въглища може да доведе до 5% грешки в количеството на определената по разлика S_o .

III.3.3. Изводи

В резултат на тази експериментална работа могат да бъдат формулирани следните изводи:

- Предложена е нова процедура за определяне на S_{el} във въглища, основаваща се на изчерпателна екстракция с $CHCl_3$ и следващ количествен анализ на екстрактите чрез HPLC с колона с обърната фаза C_{18} . Методиката дава възможност да се постигне по-добър количествен баланс на серните форми;
- Най-високото количество S_{el} е регистрирано в деминерализираните и депиритизирани въглища, и се обяснява с процеси на изветряне;
- Количествено е доказано, че различията в регистрираната S_{el} за всички деминерализирани и депиритизирани проби са пряко свързани със зрялостта на изследваните въглища и с особеностите на въглищната матрица;

- По отношение на S_{el} , *Sulfolobus solfataricus* е по-добра биодесулфурираща култура в сравнение с *Phanerochaeta chrysosporium*. Максималната десулфуризация по отношение на елементната сяра е 54%;
- Направеният анализ на резултатите доказва, че липсата на количествена оценка на стойността на S_{el} в изследваните проби може да доведе до значителна грешка в стойността на S_o .

III.4. Биодесулфуризация на проба технологични въглища с промишлено значение

В това изследване е приложена оригинална стратегия за десулфуризация, която включва последователност от различни химични обработки и микробиално третиране с бактерия *Pseudomonas putida* с цел отстраняване на неорганичната и органична сяра в лигнитни въглища "Марица-Изток" (IN). В резултат, максимална десулфуризация по отношение на S_t (71,0%), S_p (90,6%) и S_o (49,4%) е постигната за деминерализирана, депиритизирана, окислена и биообработена с *Pseudomonas putida* проба (APF-оху-PP). Подробно са изучени промените, които настъпват с органичните серни функционалности в тази проба и във водоразтворимия вторичен продукт (HL). С цел да разграничим приноса на химическите обработки и микробиалното третиране към общия ефект на десулфуризация по отношение на S_t , S_p и S_o , деминерализираната, депиритизирана и окислена проба APF-оху също бе подробно изучена. В Таблица 10 са представени резултатите от техническия анализ и анализа на серните форми на изследваните проби. Установено бе, че ефектите на химическа десулфуризация по отношение на серните форми за проба APF-оху са: $\Delta S_t=63,3\%$; $\Delta S_s=95,8\%$; $\Delta S_p=87,1\%$; и $\Delta S_o=35,5\%$. В резултат на биообработката с PP, за проба APF-оху-PP са регистрирани следните биодесулфуризационни ефекти: $\Delta S_t=21,0\%$; $\Delta S_p=26,8\%$; и $\Delta S_o=21,7\%$. Възниква въпроса какви точно промени претърпява сярата и под каква форма се отстранява в резултат на приложените десулфуризационни обработки. Отговор на този въпрос ще се опитаме да дадем чрез следващите анализи и разсъждения върху получените резултати.

III.4.1. AP-TPR "on-line" MS анализ

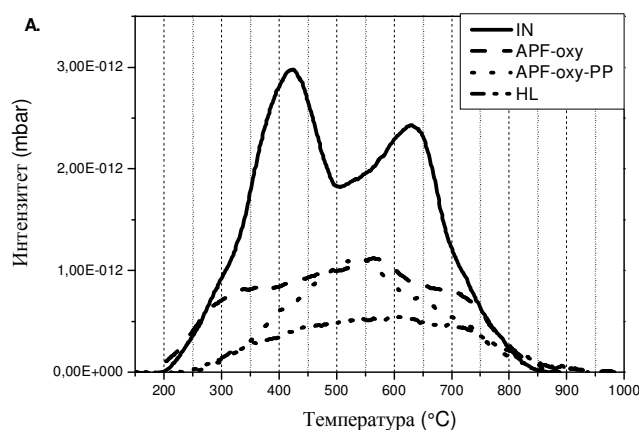
На Фигура 10 са представени H_2S профилите, регистрирани с AP-TPR-MS техника в редукиционна среда за проби IN, APF-оху, APF-оху-PP и HL. Тъй като йонните профили за m/z 34 и m/z 33 проявяват една и съща температурна еволюция, за яснота, на Фигура 10 са представени само тези, отнасящи се за m/z 34.

Таблица 10 Технически анализ и анализ на серните форми

Анализ	Проби			
	IN	APF-оxу	APF-оxу-PP	HL
<i>Технически (wt%)</i>				
W ^{ad}	8,4	5,3	8,0	6,6
Ash ^{ad}	32,1	2,4	1,8	1,9
VM ^{daf}	52,6	39,3	39,1	46,0
C _{fix} ^{daf}	47,4	60,7	60,9	54,0
<i>Серни форми (wt%)^{daf}</i>				
S _t	9,48	3,48	2,75	n.d.
S _s	1,65	0,07	0,10	n.d.
S _p	3,19	0,41	0,30	n.d.
S _o	4,64	3,00	2,35	n.d.

n.d – не е определено

В H₂S профила на проба IN отново се наблюдават два пика. Първият при по-ниската температура се отнася за ди-алкил сулфиди, алкил-арил сулфиди, дисулфиди, и реактивоспособни ди-арил сулфиди, докато вторият при по-висока температура се отнася за по-слабо реактивоспособни ди-арил сулфиди и сложни тиофенови структури. Въпреки високото съдържание на S_p в изходната проба IN, индивидуален пик отнасящ се за пирит не е регистриран. В H₂S профила на тази проба се забелязва сигнал (рамо) при около 300°C. Той се обяснява с хидрирането на алифатни тиоли.



Фигура 10 AP-TPR-MS (H₂) профили за m/z 34 на проби IN, APF-оxу, APF-оxу-PP и HL

Широк сигнал в областта от 200°C до 800°C се наблюдава в H₂S профилите на проби APF-оxу, APF-оxу-PP и HL (Фигура 10). В тях липсват добре оформени

пикове за ди-алкил и алкил-арил сулфиди, дисулфиди, и реактивоспособни ди-арил сулфиди при около 420°C, както и за по-слабо реактивоспособни ди-арил сулфиди и тиофени при около 630°C. Това е указание, че тези съединения са повлияни и до голяма степен отстранени в резултат на приложените обработки. H₂S профила на проба APF-оxу-PP стартира при по-висока температура в сравнение с H₂S профилите на проби APF-оxу и IN, което се обяснява с окисление на тиоли при биообработката с PP. Максимум на H₂S профилите на проби APF-оxу и APF-оxу-PP е отчетен при около 550°C. Той би могъл да се обясни с хидрирането на новосформирана сярна функционалност от окислителен произход. Друга възможност за появата на този максимум е, че някои серни съединения стават по-податливи и/или по-достъпни за хидриране/редукция в резултат на реорганизация на въглищната макроструктура под въздействие на приложените обработки.

III.4.2. AP-TPR "off-line" TD-GC/MS анализ

Пиролизните AP-TPR "off-line" TD-GC/MS експерименти са проведени в редукционна среда с използването на сяроселективни сорбенти Тенакс/Карбопак/Карбосийв. GC/MS спектрите са количествено интерпретирани чрез използването на вътрешен стандарт деутериран тиофен, Th-*d*₄. Резултатите са показани в Таблица 11. Техният анализ показва, че в резултат на приложените химически обработки и микробиално третиране с PP на проба IN, количеството на S_{vol} се увеличава. Очевидно, повишеното съдържание на S_{vol} (сумата на S_{vol} за проби APF-оxу-PP и HL) в резултат на биообработката с PP се дължи на трансформацията на S_o във водоразтворима форма, която се натрупва във водоразтворимия продукт HL. От регистрираните S_{vol} в проба IN, алифатната сяра е в най-голямо количество, следвана от тиофеновата сяра и кислород- сяросъдържащите съединения. За APF-оxу пробата, съотношението на регистрираните класове летливи серни съединения се променя в сравнение с проба IN. В резултат на химическите обработки и протичащите окислителни процеси, съдържанието на кислород- сяросъдържащи съединения се увеличава най-вероятно за сметка на алифатните сяросъдържащи съединения и тиофени. По време на биообработка с PP също има указания за протичане на окислителните процеси, по-скоро при C-атом. Тези процеси водят до повишаване съдържанието на кислород- сяросъдържащи съединения, алифатни и ароматни серни съединения в продукта HL.

**Таблица 11 Сяра в органични серни съединения,
регистрирани с AP-TPR "off-line" TD-GC/MS техника, $\mu\text{gS/g}^{\text{daf}}$**

Съединения	Формула	Mw	Проби			
			IN	APF-oxy	APF-oxy-P	HL
Серен диоксид	SO ₂	64	592,8	1862,3	240,2	5882,9
Карбонил сулфид	COS	60	-	-	-	29,3
Σ на O-S съдържащи съединения			592,8	1862,3	240,2	5912,2
Диметил сулфид	C ₂ H ₆ S	62	-	-	-	-
Диметил дисулфид	C ₂ H ₆ S ₂	94	400,5	23,0	166,7	520,7
Диметил трисулфид	C ₂ H ₆ S ₃	126	335,1	18,2	156,1	344,7
Диметил тетрасулфид	C ₂ H ₆ S ₄	158	47,9	1,2	25,4	342,9
Σ на S съдържащи алифатни съединения			783,5	42,4	348,2	1208,3
Елементна сяра	S ₈	256	26,1	7,3	1,8	71,1
Метил тиоцианат	C ₂ H ₃ NS	73	-	7,8	2,9	100,5
Метил изотиоцианат	C ₂ H ₃ NS	73	-	1,1	2,0	122,9
Тиазол	C ₃ H ₃ NS	85	-	-	-	45,0
Σ на N-S съдържащи съединения			0,0	8,9	4,9	268,4
Тиофен	C ₄ H ₄ S	84	46,1	50,3	71,7	23,3
Тиофен - C ₁	C ₅ H ₆ S	98	348,7	103,4	143,5	2623,8
Тиофен - C ₂	C ₆ H ₈ S	112	195,3	28,7	113,6	1010,1
Тиофен - C ₃	C ₇ H ₁₀ S	126	60,2	2,4	20,8	92,4
Σ на тиофени			650,3	184,7	349,7	3749,5
Бензотиофен	C ₈ H ₆ S	134	9,6	50,8	44,6	442,2
Бензотиофен - C ₁	C ₉ H ₈ S	148	3,2	7,7	5,5	415,9
Бензотиофен - C ₂	C ₁₀ H ₁₀ S	162	0,0	4,0	3,1	80,6
Σ на бензотиофени			12,8	62,5	53,2	938,7
Σ всички съединения			2065,4	2168,0	998,0	12148,2
Re ^{So} (wt%)			4,5	7,2	4,2	29,6

Re^{So}(wt%) – S_{vol} като част (%) от S_o

III.4.3. Изводи

Получените експериментални данни дават основание да се направят следните изводи:

- Приложената биообработка с *Pseudomonas putida* е ефективна и за двата типа сяра, в т.ч. алифатна и ароматна. В резултат, значителна част от органичната сяра се превръща във водоразтворима форма, която е силно летлива в условията на AP-TPR пиролиз;

- Биодесулфуризацията протича по окислителен механизъм. За някои органични серни съединения са предложени схеми на окисление под действие на бактерията *Pseudomonas putida*. Биоокислението на VzTh, Th и техни хомолози протича по S-атом окисляващ механизъм и по C-атом окисляващ механизъм, като втория е предпочетен;
- Проведеният анализ установи голямо сходство между водоразтворимия продукт HL, получен след биообработка с *Pseudomonas putida* и хуминови киселини, извлечени от същата изходна въглищна проба.

IV. Приноси

Формулирани са следните дисертационни приноси:

- Прецизно са оценени биодесулфуризационните ефекти, постигнати под действието на набор от микроорганизми, по отношение на всички серни форми, присъстващи в изследваните въглища. Механизмите на биодесулфуризация на органичните серни съединения са обяснени чрез разработване на подходяща експериментална стратегия и прилагане на адекватни аналитични техники;
- Предложен е нов метод за количествено определяне на елементна сяра във въглища. Той включва изчерпателна екстракция с CHCl_3 и последващ HPLC анализ с колона с обърната фаза C_{18} . Приложението на този метод дава възможност да се постигне точен баланс на серните форми.
- Направени са някои важни подобрения по отношение на AP-TPR техниката. Те позволяват да се приложи по надежден аналитичен инструмент за изучаване на серните промени във въглища.
- В настоящата дисертация, чрез прилагането на оригинална и разнообразна експериментална стратегия става възможно да се определи: (i) подходящи микроорганизми за биодесулфуризация на изследваните въглищни проби; (ii) формите на сярата и серните функционалности, които са предпочитани от приложените микроорганизми; (iii) предварителните обработки, необходими за трансформиране на въглищата, техните серни форми и функционалности във вид, подходящ за микробиална атака и по този начин да се постигне повишаване на биодесулфуризационните ефекти и дейността на микроорганизмите.

V. Научни публикации и участия в конференции

Основното съдържание на дисертационния труд е отразено в следните научни публикации:

- в списания с импакт фактор

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Yürüm Y, Dumanli AG, Dinler-Doganay G, Kolankaya N, Sam M, Carleer R, Reggers G, Yperman J. Biodesulphurized subbituminous coal by different fungi and bacteria studied by reductive pyrolysis. Part 1: Initial coal. Fuel 2008; 87:2533-43;

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Carleer R, Yperman J. Evaluation of elemental sulphur in biodesulphurized low rank coals. Fuel 2011; 90:2923-30;

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Carleer R, Yperman J. Organic sulphur alterations in biodesulphurized low rank coals. Fuel 2012; 97:489-503;

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Carleer R, Yperman J. Biodesulphurized low rank coal: Maritza East and its “Humus-Like” product. Fuel 2013; 103:1039-50;

- материали от международни конгреси с ISBN регистрация

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Yperman J, Carleer R. Organic Sulphur Functionality Changes in Biotreated Coals. 27th Annual International Pittsburgh Coal Conference, 11-14 October, 2010, Istanbul, Turkey. ISBN 1-890977-27-6;

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Yperman J, Carleer R. Assessment of Elemental Sulphur in Biodesulphurized Coals. 27th Annual International Pittsburgh Coal Conference, 11-14 October, 2010, Istanbul, Turkey. ISBN 1-890977-27-6;

- материали от международни конгреси

Marinov SP, Gonsalvesh L, Stefanova M, Yürüm Y, Dumanli AG, Kolankaya N, Sam M, Carleer R, Reggers G, Yperman J. Reductive Pyrolysis Study of Biodesulphurized Subbituminous Coal. International Conference on Coal Science and Technology 2007, Nottingham, CD-version;

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Carleer R, Yperman J. Organic sulphur alterations in consecutively chemically and biotreated lignites. International Conference on Coal Science and Technology 2011, Oviedo, CD-version;

Основното съдържание на дисертационния труд е докладвано на следните **международни конференции:**

- **устни доклади:**

Marinov SP, **Gonsalvesh L**, Stefanova M, Yürüm Y, Dumanli AG, Kolankaya N, Sam M, Carleer R, Reggers G, Yperman J. Reductive Pyrolysis Study of Biodesulphurized Subbituminous Coal. International Conference on Coal Science and Technology 2007, Nottingham;

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Carleer R, Yperman J. Organic sulphur alterations in consecutively chemically and biotreated lignites. International Conference on Coal Science and Technology 2011, Oviedo;

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Yperman J, Carleer R. Organic Sulphur Functionality Changes in Biotreated Coals. 27th Annual International Pittsburgh Coal Conference, 11-14 October, 2010, Istanbul, Turkey. ISBN 1-890977-27-6.

- **постерни доклади:**

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Reggers G, Carleer R, Yperman J. Reductive pyrolysis of Biodesulphurized Demineralized Coal. 18th International Symposium on Analytical and Applied Pyrolysis, 18-23 May, 2008, Lanzarote, Canary Island, Spain;

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Reggers G, Carleer R, Yperman J, Yurum Y. Sulphur Organic forms in Biodesulphurized Demineralized Coal. Second International Symposium on Organic Chemistry, 13-16 December, 2008, Sofia, Bulgaria;

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Carleer R, Yperman J. Evaluation of organic sulphur functionality changes in biotreated coals. International Conference on Coal Science and Technology, 26-29 October, 2009, South Africa;

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Yperman J, Carleer R. HPLC method for Elemental Sulphur Determination in Coal. EMCC-6, 2010, Turkey.

Gonsalvesh L, Marinov SP, Stefanova M, Yperman J, Carleer R. Assessment of Elemental Sulphur in Biodesulphurized Coals. 27th Annual International Pittsburgh Coal Conference, 11-14 October, 2010, Istanbul, Turkey. ISBN 1-890977-27-6;