

## 1. Увод

Биогоривата се определят като алтернатива на конвенционалните горива, но в контекста на опазването на околната среда от замърсяване, биха могли да се превърнат в горива на бъдещето. Биогоривата се получават при преработката на биомаса, която е възобновяем източник на енергия. Под “биогорива” се разбират етанолът, произведен от биомаса по ферментационен път, биодизелът, произведен от растителни и животински мазнини и биогазът, добиван при анаеробната ферментация на органични отпадъци.

Биодизелът представлява едно от най – значимите биогорива – алтернатива на традиционното дизелово гориво. Основен проблем при производството на биодизелово гориво е отделянето на големи количества отпадъчен глицерол, почти еднакви с количеството на използвания метанол.

В настоящата дисертационна работа се изследва възможността за оползотворяването на отпадъчния глицерол за добиване на енергия под формата на биогаз, получаван чрез анаеробна ферментация (АФ), както и на други продукти, основани на глицерола като суровина.

## 2. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Тук ще направим кратък преглед на някои биогорива (биодизел, биогаз), тяхното приложение и проблемите, които поражда то.

### 2.1. Биодизел

Биодизелът представлява смес от естери на висшите мастни киселини с метанола, а понякога и с етанола. За производство на биодизел могат да се използват различни мазнини.

Производството на тези естери става чрез транс-естерификация, т.е. заместването на глицерола в липидите с метанол или етанол. Основен проблем при производството на биодизелово гориво е отделянето на големи количества отпадъчен глицерол, почти еднакви с количеството на използвания метанол. За всеки 1 тон биодизел се произвеждат 100 кг глицерол. Този глицерол съдържа значителни количества вода, метанол, нереагирани мазнини, моно- и ди-глицериди, както и алкална основа, служеща за катализатор за транс-естерификацията. Ниското качество на този отпаден продукт прави невъзможно предлагането му на пазара преди основно

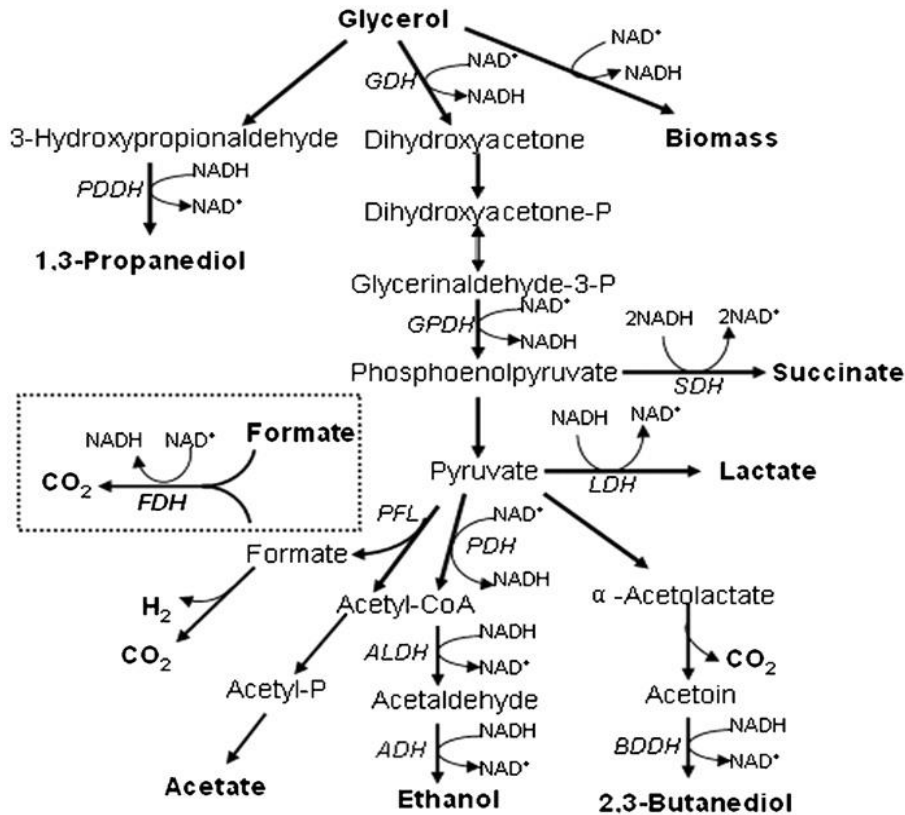
пречистване. Ако се стигне до годишно производство от 10 млн. тона биодизел (в ЕС, или 30 млн. тона в световен мащаб), това ще доведе до получаването на около 3 млн. тона/год. отпадъчен глицерол. Това е огромно количество, което поставя необходимостта от намиране на широк спектър от начини за неговото оползотворяване.

**Глицеролът като суровина за химични продукти.** Натрупването на глицерола като отпадък от производството на биодизел е наложило търсенето на нови негови приложения с оглед решаването на проблема с него като отпадък, както и на едновременната му употреба като суровина, алтернативна на нефта в органичния синтез. Такива опити са насочени към производството на различни органични вещества с широко промишлено значение, като полиоли за производството на пластмаси (2,3-бутандиол, 1,3-пропандиол) [1,2], млечна киселина за производството на биоразградими полимери [3], пропионова и янтарна киселина, превръщането му във водород или въглеродороди чрез каталитичен реформинг [4], за производството на епихлорхидрин, на дихидроксиацетон, етери, полиестери и пр.

Един от начините за неговото оползотворяване, е чрез процеса на анаеробна ферментация до получаване на биогаз. Предимство на метода на анаеробна ферментация (АФ) е, че глицеролът може да се смесва с други отпадъци (като тор) с което се интензифицира процеса на АФ. Резултатът е повече биогаз и по – високо съдържание на метан в него, като се постига оползотворяване на 2 вида отпадъци (глицерол и биомаса). Със цел повишаване на ефективността на процеса е необходимо да се направи математичен модел, който описва АФ и дава представа за това как съответна форма (дизайн) на реактора влияе на добивите на биогаз. Тези резултати и изводите от тях, могат да помогнат при конструиране на биореактор в промишлени условия и мащаби.

**Микробиологично превръщане на глицерола в химически продукти.** Различни бактерии (от родовете *Klebsiella*, *Clostridium*, *Enterobacter*) са в състояние да преработват глицерола, произвеждайки основни химически вещества, различаващи се по междинните реакции и продукти. Метаболитната схема за превръщането на глицерол от бактериите от рода *Klebsiella* [5] е показана на фиг. 1. Вижда се, че по два конкурентни механизма се получават 1,3-пропандиол и 2,3-бутандиол. Освен това се получават

като крайни продукти янтарна и млечна киселина, както и оцетна и мравчена. Възможен е и конкурентен механизъм за получаването на етанол.



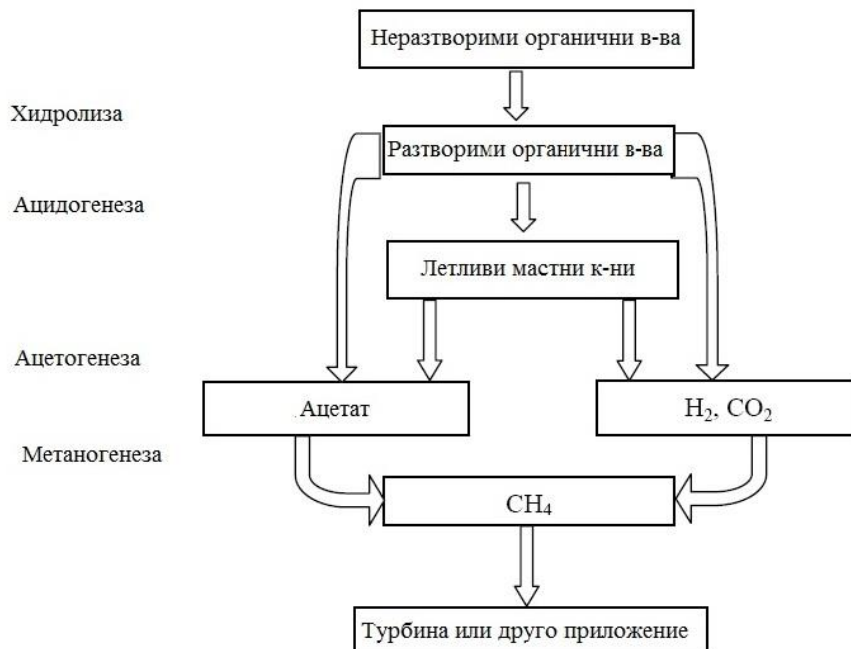
Фиг.1 . Метаболитна схема на усвояване на глицерол от бактерии от рода *Klebsiella* [5]

Получаването на оцетна и мравчена киселина при тези метаболитни процеси представлява интерес във връзката с производството на биогаз (смес от метан и въглероден диоксид). В анаеробни условия и присъствие на метаногенни бактерии е възможно превръщането на мравчената и оцетната киселина (под формата на формиати и ацетати) в метан. Натрупването на киселините обаче води до подкисляването на средата до рН, при които метаногенните бактерии се дезактивират.

## 2.2. Производство на биогаз чрез анаеробна ферментация

**Принцип на метаногенезата.** Процесът на разграждане протича в четири основни етапа и започва с хидролиза на неразтворимите органични съединения, като по този начин те стават усвояеми за други микроорганизми, вж. Фиг. 2.

При хидролизата сложните органични съединения се разграждат до техните градивни елементи. Протеините се разграждат до аминокиселини; мазнините – до мастни киселини; сложните въглехидрати – до прости захари.



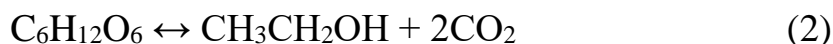
Фиг.2(5). Основни етапи на метаногенезата [6].

Хидролизата се катализира от ензими като целулаза, протеаза, амилаза, липаза. Емпиричното уравнение, описващо процеса на хидролиза на полизахаридите е:



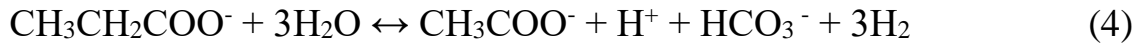
Във втория етап ацидогенните бактерии превръщат продуктите на хидролизата в прости органични съединения, най-вече късоверижни мастни киселини (пропионова, млечна и др.), кетони и алкохоли.

По долу са показани реакциите описващи процеса. По уравнение (2) глюкозата се превръща в етанол, а по уравнение (3) глюкозата се трансформира в пропионова киселина:



Следващият етап е ацетогенезата. Продуктите от ацидогенезата, които не могат да бъдат директно превърнати в метан от метаногенните бактерии, се превръщат в метаногенни субстрати по време на ацетогенезата. При него ацетогенните бактерии превръщат получените органични киселини в оцетна киселина

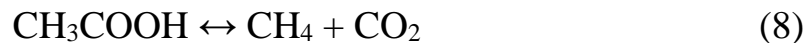
(ацетати). Дълговерижните мастни киселини получени от хидролизата на липидите, се хидролизират до ацетат и пропионат, като в това време се получава и водород (като газ). Уравнението, показващо превръщането на пропионата в ацетат е:



Други паралелно протичащи реакции с образуване на ацетат са следните:



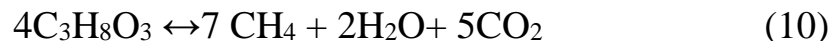
В четвъртия етап метаногените превръщат оцетната киселина в  $\text{CH}_4$  и  $\text{CO}_2$ :



Съществува и друг път за получаване на метан чрез редукцията на въглероден диоксид с водород, образувани при разлагането на мравчената киселина, вж. фиг. 1 и 2:



Когато за субстрат се използва глицерол, сумарното балансово уравнение е следното:



Метаногените са много чувствителни по отношение на промените на киселинността на средата и са жизнени в неутрална и слабо-алкална среда.

Интензифицирането на ацидогенезата е желано заради по-ефективното преработване на субстрата, но води до инхибиране на метаногенезата поради спадане на рН. Освен това метаногенезата е скоростно-определящ стадий в цялата последователна схема, вж. уравнения (5-8). Този факт е много важен от гледна точка гладкото протичане на цялостния процес, тъй като бавното разграждане на оцетната и пропионовата киселина, съчетано с бързото им натрупване ще води до спадане на рН под допустимия минимум и загиване на метаногенните бактерии. Това е в особена степен важно, когато всички стадии на метаногенезата протичат в един реактор по едно и също време. Тогава процесите протичат едновременно и синергично, като всеки етап определя протичането на следващия.

Разсъжденията относно подкисляването на средата и спирането на метаногенезата важат в особена степен, когато се използва нискомолекулен субстрат (каквото е глицеролът), защото той много бързо

се разгражда до органични киселини (пропионова, млечна, оцетна и пр.). Поради тази причина не е възможно да се работи при високи натоварвания по глицерол, защото рН на средата спада много бързо и метаногенезата спира. В резултат на това отделяният газ е богат на въглероден диоксид и не гори.

Ограниченията по киселинността на средата поставят системата в твърде деликатно състояние по отношение оптималните условия за протичане на отделните етапи. Например, хидролизата и ацидогенезата изискват кисела среда, докато метаногенезата – неутрална или слабо-алкална.

Една възможност за избягване на нежеланото понижаване на рН е неутрализацията с алкални агенти. Това обаче води до значително покачване на рН след декарбоксилирането на органичните киселини и загиването на метаногенните бактерии. За избягване на този нежелан ефект се препоръчва неутрализацията с амоняк, който е и източник на азот, подпомагащ растежа на бактериите. Амонякът обаче е и скъп консуматив, който оскъпява и усложнява анаеробната ферментация.

Друга възможност е отстраняването на анионите на излишните органични киселини чрез извличането им върху анион-обменна смола или с органични разтворители, както и чрез обратна осмоза или ултрафилтрация. Но и в този случай натрупването на хидроксилни аниони в средата може да доведе до нежелано алкализиране след декарбоксилирането на органичните киселини.

По-мек и по-ефективен начин, макар и частичен, за преодоляване на ефекта на силно подкисляване при получаването на биогаз е пространственото разделяне на зоните на подкисляване от зоните на метанизация. За тази цел може да се използва каскаден биореактор, разделен на отделения (камери) чрез прегради и непрекъснато или полу-непрекъснато хранване). Основното предимство на този тип реактор в разглеждания случай е разпределянето на различните последователни процеси (хидролиза, ацидогенеза, ацетогенеза, метанизация) в различни отделения на реактора. Поради проточното му хранване продуктите от един междинен процес постъпват в следващото отделение (камера) като субстрати за следващия процес. Благодарение на тази организация на хранване и работа на реактора, в различните камери се култивират

различни микроорганизми, специализирани да преработват различни междинни продукти на общата метаногенеза.

Когато субстратът е глицерол, достатъчни за подготовката на субстрата за метаногенеза са бактерии от един род, например *Klebsiella* или *Clostridium*. Възможностите за получаването на биогаз (т.е. смес от метан и въглероден диоксид) са две: чрез декарбоксилирането на ацетатите до еквимоларна смес от метан и въглероден диоксид или чрез редукция на въглеродния диоксид с водород и двете получени при разлагането на формиати (соли на мравчената киселина). Тъй като съдържанието на метан в биогаза почти винаги е над 50% об. става ясно, че вторият процес е винаги застъпен.

С други думи, глицеролът може да служи както за добиването на биогаз, така и за получаването на ценни продукти, традиционно добивани от нефта. Дозирането на глицерол в първото отделение на каскадния биореактор може да доведе до предимно получаване на даден продукт от схемата на фиг. 1 или до получаването на биогаз.

От друга страна съдържанието на метан в биогаза зависи от конкуренцията на процесите, посочени в схемата, показани във Фиг. 1 и 2. В случай, че преобладава редукцията на въглеродния диоксид с водород, съдържанието на метана в биогаза може да достигне 95%, колкото е в природния газ. Затова от практическа гледна точка е важно кинетичното изследване на метаболитните процеси при превръщането на глицерола в продукти с добавена стойност и на биогаз с високо съдържание на метан. Отговорът на този въпрос трябва да се търси в кинетичното изследване на анаеробното превръщане на глицерола в различни продукти на метаболизма, в това число и в биогаз.

За тази цел е полезно съставянето на математични модели, основани на подходяща метаболитна схема и с тяхна помощ оценяването на кинетичните константи в модела и уточняването на скоросто-определящите фази и значението на междинните продукти като инхибитори. Така става възможно подбирането на условията за желани целеви процеси и избягването на нежелани.

С настоящата дисертационна работа се прави опит да се изследва възможността за метаногенеза, съчетана с получаването на други целеви продукти от субстрат глицерол, отпадащ от производството на биодизел. Избран е каскаден биореактор с

разделени пространства, контрол на рН и извличане на органични киселини с йонообменна смола, когато е необходимо.

### **2.3. Изводи от литературния обзор**

В резултат на представените факти от новата научна литература може да се направят следните изводи.

1. Оползотворяването на възобновяеми суровини като енергия под формата на биодизел се затруднява поради ограниченото потребление на отпадъчния глицерол.
2. Оползотворяването на глицерола може да стане по два основни пътя: като органични продукти и като биогаз. Втората възможност се ограничава от силното подкиселяване на средата и подтискане активността на метаногенните бактерии.
3. Трябва да се търси съчетаване на двата процеса – получаване на ценни органични продукти и биогаз. Последният може да се използва за енергийно обезпечаване на получаването на целевите продукти.

### **3. ЦЕЛ**

Да се изследва възможността за оползотворяване на отпадъчния глицерол до получаване на биогаз в каскаден биореактор.

### **4. ЗАДАЧИ**

1. Да се направи опит за интензифициране на процеса и избягването на инхибиране от междинните продукти на процеса (органични киселини) чрез неутрализация и извличане от ферментационната среда.
2. Да се изследва възможността за получаване на ценни химически продукти от глицерола успоредно на анаеробното му превръщане в биогаз. За тази цел да бъдат проведени изследвания при различно натоварване на ферментатора с глицерол, като се следи за измененията в киселинността на средата и поддържане на подходящи стойности на рН. Изследванията да бъдат проведени в апарат с каскадна конфигурация, позволяващ едновременното протичане на отделните групи процеси на анаеробната метанова



- ферментация в различни места от пространството на биореактора.
3. Да се състави математичен модел на превръщането на глицерол в биогаз и други продукти на метаболизма. математичното моделиране, съчетано с опитни данни ще даде информация за кинетиката на последователните процеси в метаболитната схема. С негова помощ да се определят кинетичните константи на междините и конкурентните реакции и да се определят условията за получаване на биогаз или на целеви химически продукти. Резултатите от изследването, ще улеснят оразмеряването на отделните камери и определяне броя на камерите в каскаден реактор, съобразено със скоростта на отделните процеси.

## 5. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ЧАСТ

### 5.1. Материали и методи

**Материали.** Като суровина беше използван отпадъчен глицерин, получен от промишлено предприятие за производство на биодизел, съдържащ около 80% глицерол и вода, метанол и остатъчна калиева основа. Като посевен материал за ферментатора беше използвана активна тиня, взета от софийската пречиствателна станция за отпадъчни води, с. Кубратово.

Корекцията на рН се извършваше с 1 N NaOH, с квалификация “техническа”.

**Методи и апаратура.** Експериментите бяха извършени на пилотна инсталация. Схемата ѝ е представена на фиг. 3. Биореакторът представлява басейн с обем 270 литра (1500 x 300 x 600 мм) с правоъгълна форма, разделен на 8 камери, през които разтворът на субстрата последователно преминава, след като постъпва в камера 1 и напуска басейна от камера 8. Апаратът е топлинно изолиран, а поддържането на необходимата температура (между 30 и 35<sup>0</sup>С) става чрез серпентина на дъното на апарата, през която тече топла вода, подавана от термостат. Газовото пространство в реактора над течността е свързано с газ-холдер и с комин за вентилация при необходимост.

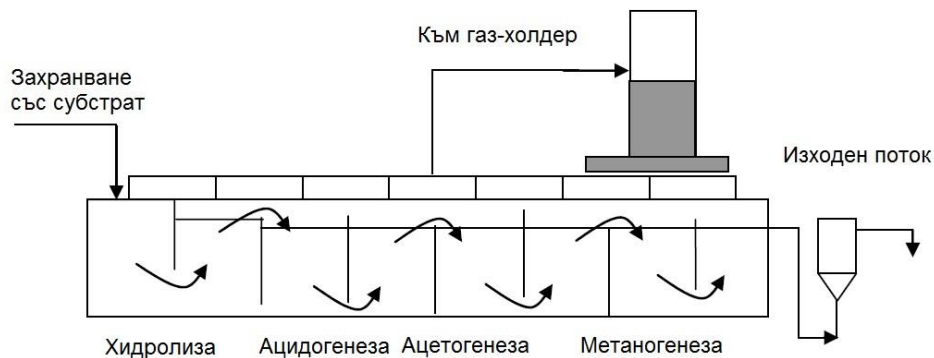
За хранване се използваше отпадъчен глицерин, смесен с определено количество отпадни води от изхода на реактора по следната схема в продължение на 30 дни. Бяха изследвани дневни

дебити на подаване на глицерол от 0.1 до 0.8 литра/денонощие. За хранване се използваше отпадъчен глицерин, смесен с определено количество отпадъчни води. Първоначално хранването е еднократно със 100 ml глицерин в 10 L отпадни води. Следва повишаване на дневното количество (200 ml в 20 L), като хранването става 2 пъти на денонощие. На следващия ден режимът на хранване е 3 пъти в денонощие, на всеки 8 часа в дневно количество 300 ml в 30 L отпадни води, трикратно в денонощие. В края на изследванията направихме опити при дневно количество 400 ml в 20 L отпадни води, както и при 800 ml глицерин в 10 L отпадни води (двукратно в денонощие).

Субстратът се разрежда с част от отпадната вода от биореактора в различни обемни съотношения и се подава периодично в биореактора в различно количество и с различна честота, спазвайки полу-непрекъснат режим.

Отделяният газ се събира общо от пространството над течността и се подава в газо-сборния звънец (газ-холдер), където се съхранява над вода.

Периодично бяха измервани отделяните обеми биогаз и газът беше изпробван за горимост. На базата на тези измервания беше изчисляван добива на биогаз като цяло и като скорост на продуциране. След влизане на реактора в работен режим се задава определена схема на хранване. Целта е да се провери, при какъв режим на хранване какви резултати ще се получат по отношение на дебита и горимостта на газа и до каква степен може да бъде натоварена микробната популация, без това да доведе до инхибиране и спиране на метаногенезата.



Фиг. 3(7). Схема на инсталацията. [публикация Т2-Т5]

Преди захранването се снимаше рН-профила по секции, като се вземаха проби от всяка секция. Следваше захранване с определено количество субстрат в секции 1 или 3. Количеството на получения биогаз, както и горимостта му се определяха след събирането му в газо-сборника над вода. След това събраното и измерено количество се изгаряше в Бунзенова горелка или неговата горимост се определяше по експресен метод. Ако се отчетеше претоварване на реактора и спадане на рН в метаногенните секции (секции от 5 до 8) рН се коригираше и се намаляваше честотата на захранване. Постигането на постоянно рН в секциите говори за установяването на стационарен и оптимален режим на работа на реактора.

Периодично беше сниман рН-профила по дължината на апарата във всяка секция. При необходимост рН се коригираше с 1 N NaOH в секциите, в които стойността му беше под допустимата. Периодично се вземаха проби от всяка секция на апарата, които се подлагаха на количествен анализ с високо-ефективна течна хроматография (HPLC).

Извличането на пропионовата киселина заедно с корекцията на рН ставаше в отделни опити се използваше йонообменна смола (анионитът IONAC SF7, Bayer). Чрез нея е възможно пропионовата киселина да се отстрани от реактора, да се пречисти и получи като готов продукт. За целта се използва йонообменна колона, свързана с перисталтична помпа, с чиято помощ се всмуква течност от определена секция от реактора. След насищане на анионита регенерацията ставаше чрез 1 N NaOH, а регенератът се анализираше за органични киселини с високо-ефективна течна хроматография.

## **5.2. Анализи**

Анализът на състава на газа се извършваше с помощта на обемен газов анализ, като съдържанието на метан в него се определяше по обема на газа след поглъщане на въглеродния диоксид с 0,1 N калиева основа.

Предварително газовите проби се пропускаха през разтвор на меден сулфат за отстраняването на сероводорода и меркаптаните в газа.

Отделни газови проби бяха анализирани с помощта на газова хроматография (извършени в Института по катализ, БАН).

Анализите на течните проби се извършваха на HPLC-система Perkin Elmer Series 10, снабдена с колона Bio-Rad Aminex HPX-87H за органични киселини. Киселините се определяха с Knauer UV-детектор при дължина на вълната 210 nm, докато анализът на алкохолите се извършваше с рефрактометричен детектор. Като подвижна фаза се използваше 0.01 N сярна киселина при дебит на елуиране 0.6 l/min при температура 65 °C. Стойностите на pH в пробите се определяха с помощта на pH-метър (Radelkis, унгарско производство).

### 5.3. Охарактеризиране на микроорганизмите

Охарактеризирането на микроорганизмите във всяка секция на ферментатора беше извършено в секция “Микробна генетика” на Института по микробиология при БАН<sup>1</sup>.

В нашето изследване бяха взети проби от отделните камери на биореактора, в които протичат отделните стадии на метановата ферментация и бе изследвано съдържанието на микроорганизми от различен физиологичен тип в тях, т.е. бяха изолирани както анаеробните, така и аеробните развиващи се при подхранване на биореактора с отпадъчен глицерол.

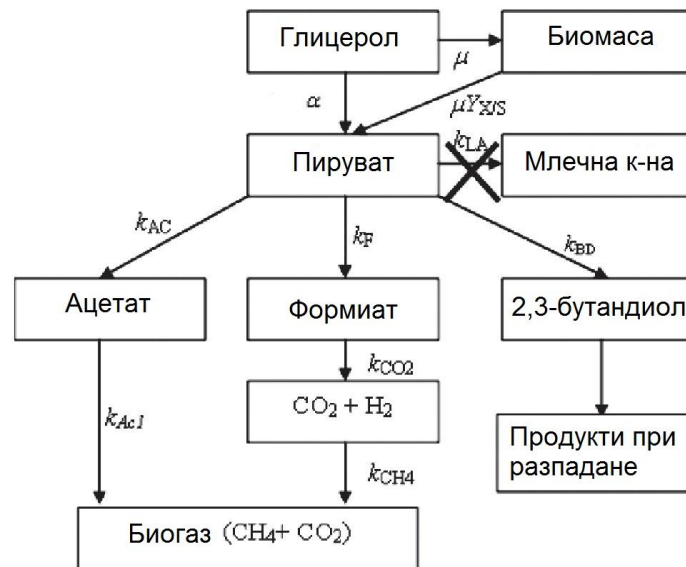
## 6. МАТЕМАТИЧНО МОДЕЛИРАНЕ (ПУБЛИКАЦИЯ T1)

Като основа на математичното моделиране е използван метаболитния път, показан на фиг. 1. Приема се, че някои от междинните процеси са бързи и затова не са скорост-определящи. Като крайни продукти се приемат биомасата, биогазът, 2,3-бутандиолът, а като междинни продукти: ацетати и формиати. За целта на кинетичното изследване е съставен не-структуриран модел, представляващ система от обикновени нелинейни диференциални уравнения със съответните начални условия. Системата (12) се основава на опростяване на метаболитната схема за превръщане на глицерола от бактериите *Klebsiella* (фиг. 1). Опростената схема е показана на фиг. 4. На нея са означени коефициентите в системата (11). Използваните означения са показани в Приложение 1 в края на автореферата.

---

<sup>1</sup> Авторът изказва сърдечна благодарност на доц. д-р Пенка Петрова за оказаната помощ.

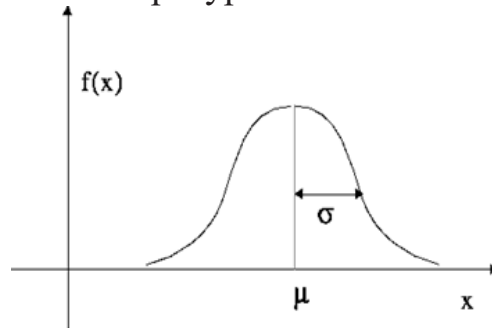
$$\begin{aligned}
\frac{dX}{dt} &= \mu X - K_x X, \quad \mu = \mu_{max} \frac{S}{S + K_m}, \quad t = 0, \quad X = X_0 \\
\frac{dS}{dt} &= -\mu Y_{X/S} S - ab_s X.S, \quad t = 0, \quad S = S_0 \\
\frac{dPv}{dt} &= ab_s X.S - (k_{BD} b_{BD} + k_{Ac} b_{Ac} + k_F b_F) XPv, \quad t = 0, \quad Pv = Pv_0 \\
\frac{dF}{dt} &= k_F b_F X.Pv - k_{CO2} X.Fb_{CO2}, \quad t = 0, \quad I = 0 \\
\frac{dBD}{dt} &= k_{bd} b_{bd} XPv - k_{bd1} b_{bd1} BD, \quad t = 0, \quad BD = 0 \\
\frac{dAc}{dt} &= k_{ac} b_{ac} XPv - k_{Ac1} b_{Ac1} Ac, \quad t = 0, \quad Ac = 0 \\
\frac{dCH4}{dt} &= k_{Ac1} b_{Ac1} Ac + k_{CH4} b_{CH4} X., \quad t = 0, \quad CH4 = 0 \\
\frac{dCO2}{dt} &= k_{Ac1} Ac + k_{CO2} X.Fb_{CO2} - k_{CH4} b_{CH4} X., \quad t = 0, \quad CO2 = 0 \\
b_i &= \exp(-(pH - pH_i)^2 / (2\sigma^2))
\end{aligned}
\tag{11}$$



Фиг. 4(8). Опростена метаболитна схема, основа на математичния модел (12). [Т1]

При опростяването са слети някои междинни процеси и техните продукти и са взети само начални и крайни състояния в схемата на фиг. 1. Тъй като във ферментационната среда не бяха открити млечна киселина и 1,3-пропандиол, тези реакции бяха изключени от метаболитната схема и математичния модел (фиг. 4).

Навсякъде скоростните константи  $k_i$  са умножени по факторите  $b_i$ . С  $b_i$  означаваме относителната активност на  $i$ -тия ензим спрямо рН, като с  $pH_i$  е означена оптималната стойност за активността на конкретния ензим. Зависимостта на ензимната активност от рН е апроксимирана с Гаусова разпределителна крива (фиг. 5), като полуширината на кривата  $\sigma$  показва чувствителността на ензима по отношение на рН. Оптималните стойности за интересующите ни ензими са взети от литературата и са показани в Таблица 1.



Фиг. 5 (9). Нормално вероятно разпределение по Гаус.

Наясно сме, че тези стойности може да не са верни заради различните микроорганизми за които те са установени, но за демонстративните цели, които сме си поставили това е достатъчно.

Таблица 1(3). Подбрани рН-оптимуми за различните междинни реакции в модела (11).

Ензим/реакция	рН-оптимум	Литература
Глицерол до пируват, $b_S$	6.6	[7]
Пируват-декарбоксилаза, $b_{Ac}$	5.6	[8]
Пируват до водород и $CO_2$ , за $b_F$	6.8	[8]
Формиат до водород и $CO_2$ , $b_{CO_2}$	6.1	[8]
Ацетат до метан, $b_{AcI}$	7.5	[9]
Водород и $CO_2$ до метан, $b_{CH_4}$	7.5	[7]
2,3-бутандиол от пируват, $b_{BD}$	7.0	[10]
Биодеградация на 2,3- бутандиол, $b_{BDI}$	7.0	Постулирано

Наясно сме, че тези стойности може да не са верни заради различните микроорганизми за които те са установени, но за демонстративните цели, които сме си поставили това е достатъчно.

Решаването на системата (11) се отнася за каскаден биореактор с осем отделения. Системата уравнения трябва да бъде решавана за всяко отделение поотделно. Тъй като концентрациите на субстрата и

на получаваните продукти бяха забележимо измерими в първите две отделения, ние се ограничихме с изчисления само за тях.

Сумарните стойности на рН в двете изследвани отделения на реактора бяха изчислявани от концентрациите на органичните киселини и техните дисоциационни константи, взети от литературата.

Системата (11) беше решавана с помощта на динамичен симулатор 20-sim.3.4 (холандски софтуер), съчетан с оптимизационна програма за определяне на кинетичните параметри от опитни данни по градиентния метод Broydon–Fletcher–Goldfarb–Shanno. Като целева функция беше избрана сумата от квадратите на разликите между опитните и изчислените стойности за глицерола, рН, 2,3-бутандиола и оцетната киселина:

$$Y = \sum_i (S_i - S_{\text{exp},i})^2 + \sum_i (\text{pH}_i - \text{pH}_{\text{exp},i})^2 + \sum_i (\text{BD}_i - \text{BD}_{\text{exp},i})^2 + \sum_i (\text{Ac}_i - \text{Ac}_{\text{exp},i})^2 \quad (12)$$

Броят на кинетичните параметри е 12. След предварителни числени експерименти бе установено, че решенията не са чувствителни спрямо шест от тях ( $\alpha$ ,  $K_X$ ,  $K_m$ ,  $Y_{X/S}$ ,  $k_{\text{CO}_2}$  и  $k_{\text{CH}_4}$ ) и те може да се приемат за константи. Затова при математичната обработка на опитните данни трябва да се определят останалите шест параметъра ( $\mu_{\text{max}}$ ,  $k_F$ ,  $k_{\text{BD}}$ ,  $k_{\text{BD1}}$ ,  $k_{\text{Ac}}$ ,  $k_{\text{Ac1}}$ ). Имайки предвид сложността на задачата и недостига на кинетични данни за този случай, ние приехме получаваните стойности за качествена оценка за адекватността на модела поради постоянството на оценените параметри при различните опити.

Ефектът на ензимната чувствителност бе определян, променяйки полу-ширината  $\sigma^2$  на Гаусовата крива. Бяха подбрани две различни стойности на  $\sigma^2$ . Поради липса на опитни данни за началните концентрации на пирувата ( $P_{V0}$ ) те също бяха варираны при числените експерименти.

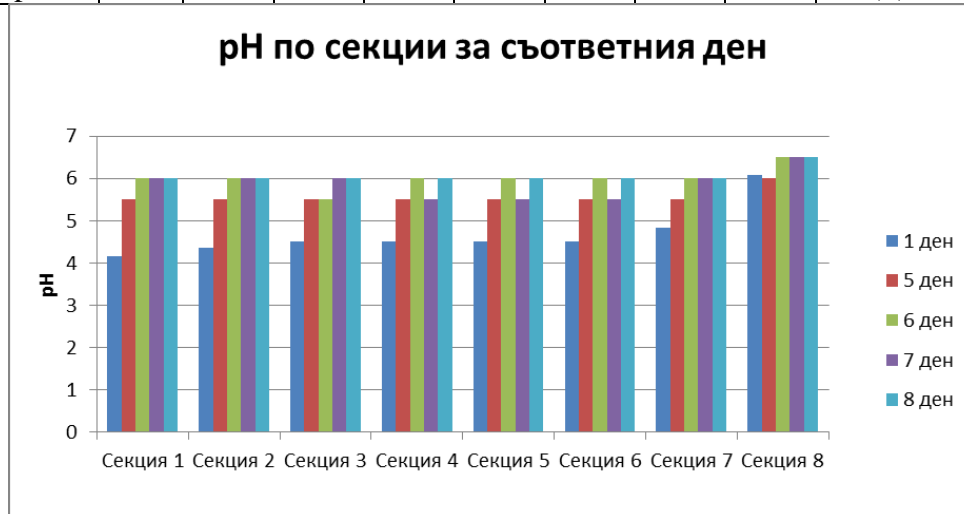
## 7. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

### 7.1 Опити в 8-стъпален биореактор с корекция на рН (публикации Т3-Т5)

Таблица 2 и Фиг. 6 по долу представят данни за осем дни, отнасящи се до измереното за съответния ден рН (експеримент Е1).

Таблица 2(4). рН-профил в биореактора по секции преди и след корекция с натриева основа.

Секция	1	2	3	4	5	6	7	8	дата
рН	4.17	4.37	4.5	4.51	4.5	4.51	4.83	6.08	Ден 1
рН	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	6	Ден 5
рН	6	6	5.5	6	6	6	6	6.5	Ден 6
рН	6	6	6	5.5	5.5	5.5	6	6.5	Ден 7
рН	6	6	6	6	6	6	6	6.5	Ден 8



Фиг.6(11). Разпределение на рН по секции за съответния ден.

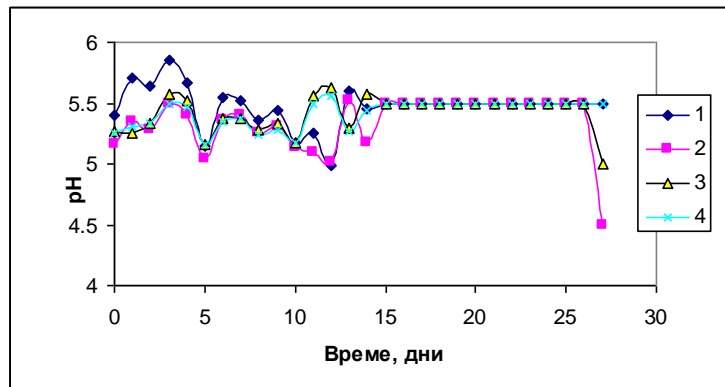
В началото стойностите на рН са твърде ниски и неподходящи за метаногенеза (фиг. 11). Примерни наблюдавани профили на рН и тяхното изменение при корекция на рН в продължение на 30 дни са показани на Фиг. 12 и 13. На фиг. 17 са показани профилите при корекция на рН с натриева основа. Стойностите на рН в секции 1-4 са ниски и сравнително стабилни (фиг. 16). В тези секции протичат предимно процесите на хидролиза, ацидогенеза и ацетогенеза. Условието в секции 5-8 не са така стабилни (фиг.17). Тук се налага строг контрол на рН, за да се избегне подкиселяването и компрометирането на метаногенезата.

Качественият анализ на отделяния биогаз показва, че освен метан той съдържа малко въглероден диоксид и не съдържа серни съединения (сероводород и меркаптани). Последното се очакваше,

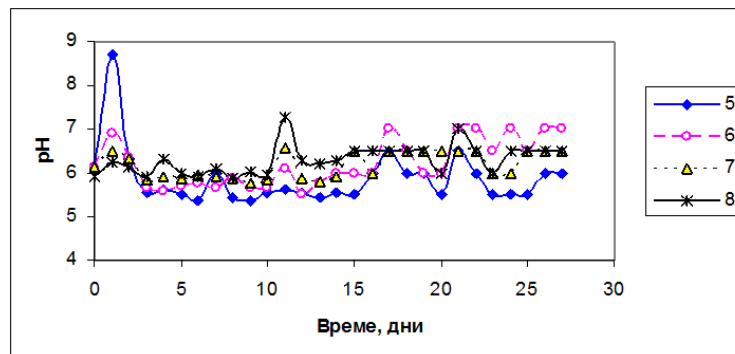


поради факта, че основният субстрат е глицерол. Обемният газов анализ показва много ниско съдържание на въглероден диоксид (под 20% об.) В някои случаи съдържанието на метан достигаше 95% об. Тези факти ни доведоха до заключението, че пътят на редукцията на  $\text{CO}_2$  с водород е основния процес и преобладава над декарбоксилирането на ацетати.

Захранването беше проведено в продължение на 38 дни, като в рамките на този период са направени 21 отделни захранвания. Началната концентрация е 12,1 g/L, а крайната – 100,8 g/L.



Фиг. 12(16). Изменения на рН за секции 1-4, снети в продължение на 28 дни.

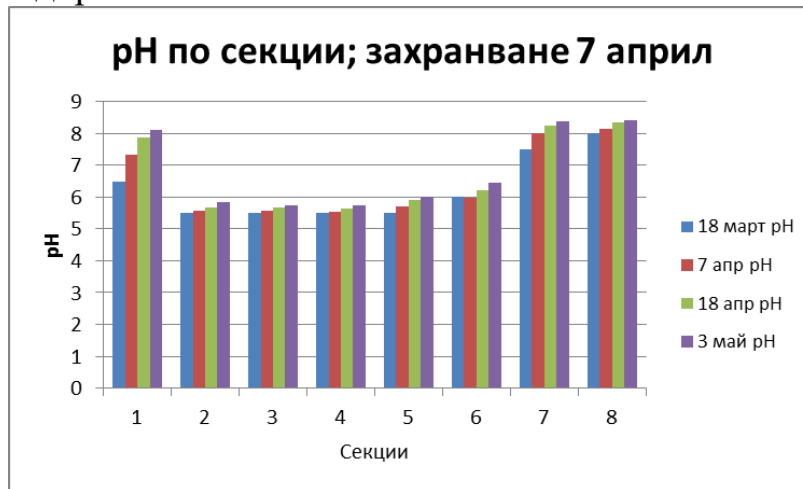


Фиг. 13(17). Изменения на рН за секции 5-8, снети в продължение на 28 дни с корекция на рН.

След известно прекъсване работата на реактора беше проведен следващ експеримент (Е2), при който бяха използвани по – ниски концентрации на глицерол, но реакторът беше оставен да работи по – продължително време (от 29 март до 16 октомври, 2014 г.). Целта бе да се установи влиянието на глицерола и получаването на биогаз за по – голям период от време. Прави се захранване само в началото на експеримента (на четири пъти), на 30 март с концентрация – 6,3 g/L (5 ml/L), на 7<sup>-ми</sup> април с концентрация – 12,6 g/L (10 ml/L), на 20 април с концентрация – 18,9 g/L (15 ml/L) (глицерол/вода) и на 3 май с концентрация – 25,2 g/L (20 ml/L). Биореакторът беше пуснат да

работи в продължение на 202 дни, при който бяха взети 471 контролни проби за биогаз. Проследен беше добивът на биогаз, както и неговата горимост. От 471 контролни проби, положителни за горене бяха 444 и 27 бяха отрицателни.

Данните от 18 до 29 март са преди захранване, данните от 1 април са след захранване на биореактора. Прави впечатление, че в камера 1 рН нараства малко с течение на времето, особено след захранване. Това се дължи на факта, че добавения отпадъчен глицерол съдържа известни количества КОН.



Фиг. 14(24). Разпределение на рН по секции; захранване 7 април.

От фиг. 14 се вижда, че най – голямо понижение на рН поради натрупването на мастни киселини се наблюдава в камери от 3 до 5. рН расте в секция 6 поради изчерпване на киселините, а в камери 7 и 8 има добри условия за метаногенеза. Последният факт благоприятства по–голямото натоварване на реактора с глицерол, при което продължава да се образува метан.

В началото на експеримента се забелязват по – големи колебания в дебита на получавания биогаз. След това се установява сравнително равновесие, последвано от нови колебания в края на експеримента (най – вероятно поради изчерпване на хранителния ресурс след захранването). Установеният среден часов дебит на газа за експеримента е 168,58 L/h. При предходния експеримент (E1), установения среден дебит бе 137 L/h . **Схемата на захранване, изпитана при експеримента E2 е за предпочитане.**

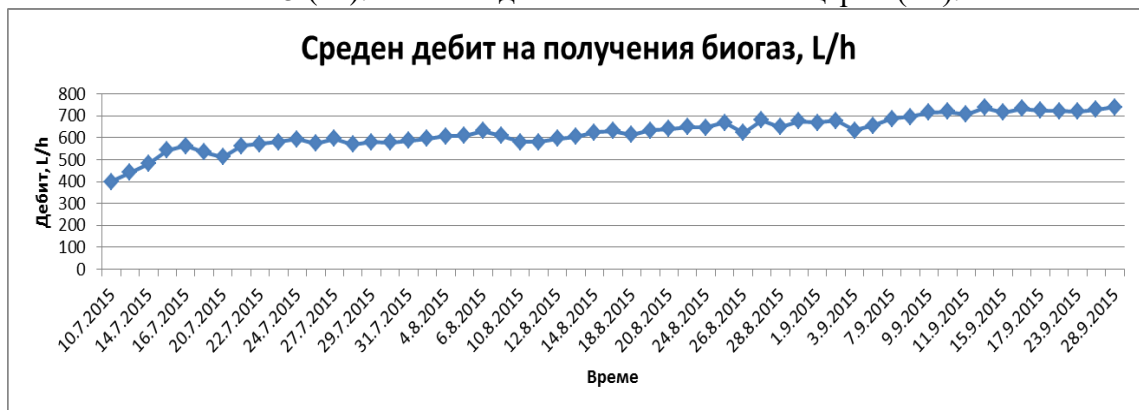
По – късно през 2015 г. бе проведен следващ експеримент (E3), при който глицеролът беше заменен от говежди тор. Реакторът беше пуснат да работи в продължение на 3 месеца (90 дни). Резултатите

за средния часов дебит на биогаза са показани на фиг. 16. Вижда се, че дебитът в този случай достига 700 L/h .

Очевидно оборския тор е по-подходящ като субстрат за получаване на биогаз. Той е достатъчно добре изучен, а нашата цел е да покажем пригодността на глицерола като субстрат за тази цел.



Фиг. 15 (22). Почасов добив на биогаз от глицерол (Е2).



Фиг. 16(27). Среден почасов дебит на получения биогаз с оборски тор (Е3).

## 7.2. Резултати от микробиологичната идентификация на развитите бактерии в реактора (публикация Т2)

Резултатите от микробиологичната идентификация показват (Таблица 3), че при субстрат глицерол в изследваните случаи биореакторът се обогатява на представители на пръчковидните *Methanobacteriales* – *Methanobrevibacter* (*Methanobrevibacter ruminantium*) и *Methanobacterium*. Съставът на микробното съобщество може да бъде обяснен с различните пътища на разграждане на ацетата - един от централните метаболити и главен прекурсор на метана при анаеробното разграждане на отпадъци. Разграждането на ацетата може да стане по два пътя – *ацето-* *класлично* и *окислително* - до водород и въглероден двуокис със

следващо образуване на метан. Първият метаболитен път се предпочита от представителите на *Methanosarcina* и *Methanosaeta*, докато вторият се извършва от синтрофни асоциации от родовете *Methanobrevibacter* и *Methanobacterium*, които основно се наблюдават в нашия случай.

Таблица 3(6). Съдържание на различни бактерии в отделните камери на биореактора. Аеробни, факултативно-аеробни и анаеробни бактерии.

Камера	Аеробни, факултативно-аеробни, брой бактерии в 1 мл		Анаеробни, брой бактерии в 1 мл	
1	$1 \times 10^2$	Плесени, <i>Bacillus</i>	$\sim 1 \times 10^1$	-
2	$1 \times 10^3$	<i>Klebsiella</i>	$\sim 1 \times 10^5$	<i>Methanosarcina</i>
3	$1 \times 10^3$	<i>Klebsiella</i>	$\sim 1 \times 10^5$	<i>Methanobacterium</i>
4	$2 \times 10^3$	<i>Klebsiella</i>	$\sim 1 \times 10^6$	<i>Methanobacterium</i>
5	$6-8 \times 10^2$	<i>Klebsiella</i>	$\sim 4-5 \times 10^6$	<i>Methanobacterium</i>
6	$4 \times 10^2$	<i>Klebsiella</i>	$\sim 2 \times 10^6$	<i>Methanobrevibacter</i>
7	$1-2 \times 10^3$	<i>Klebsiella</i>	$\sim 1 \times 10^6$	<i>Methanobrevibacter</i>
8	$1 \times 10^2$	<i>Bacillus</i> , <i>Klebsiella</i>	$\sim 1 \times 10^5$	<i>Methanobrevibacter</i>

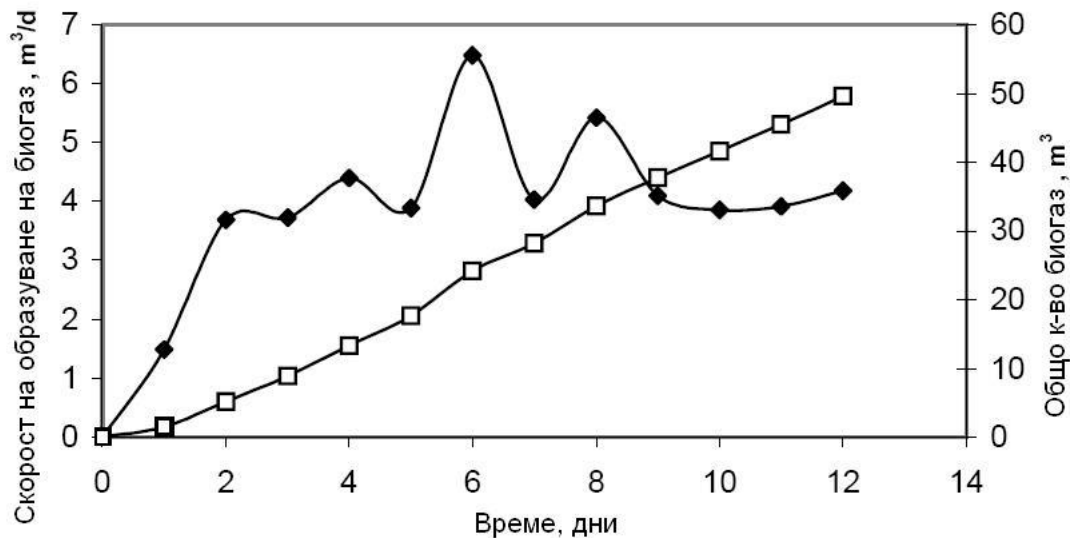
Освен метаногенните бактерии обаче, в биореактора се развиват и редица паразитни (плесени, дрожди и бацили, попаднали от въздуха) или „помощни” микроорганизми. Изследването на аеробните представители разкри наличието на *Klebsiella*, *Bacillus* и пр., които спомагат за началното разграждане на субстратите до киселини.

Преобладаващите микробни видове в отделните клетки на реактора за производство на биогаз са описани в таблицата по-горе. Вижда се значително по-високото съдържание на метаногени в сравнение с аеробните и факултативно аеробните видове.

### 7.3. Профили на междинните продукти (публикация Т2)

Производителността (получаването) на биогаз и неговото натрупване за период от 12 дни са показани във фиг. 17. Вижда се, че дневната производителност е най-висока на шестия ден ( $6,5 \text{ m}^3/\text{ден}$ ). Общо взето, дневната производителност се колебае около средна стойност от  $4 \text{ m}^3/\text{ден}$ . Някои експериментални резултати за междинните продукти, рН и тяхното разпределение по камерите на биореактора са показани във Фиг. 18a-d. В средата на биореактора (камера 4) се наблюдава значително понижаване на рН, поради

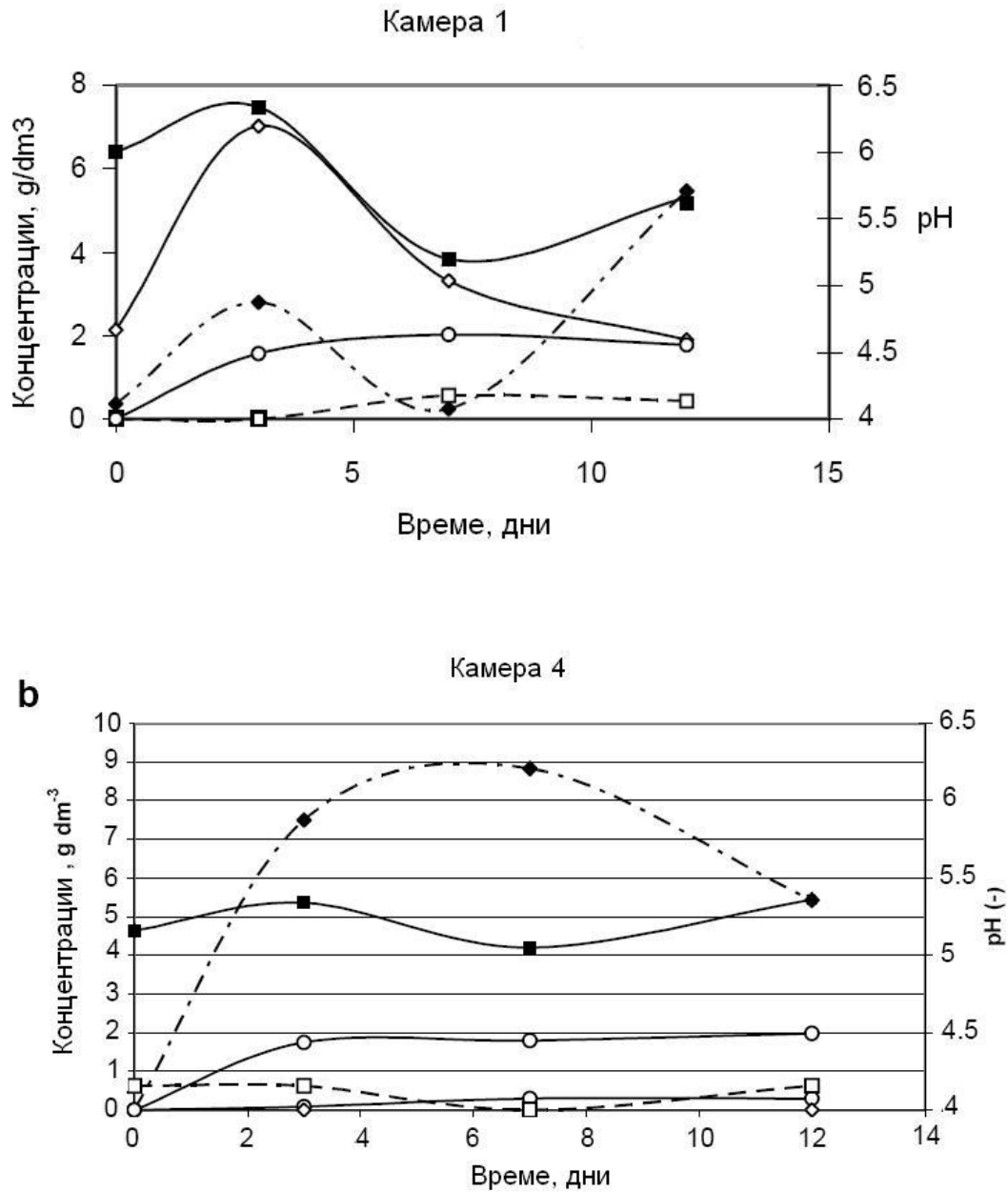
натрупването на летливи мастни киселини, в частност оцетна и пропионова киселина. Ниските стойности на рН инхибират метаногенезата. За щастие ситуацията се подобрява в следващите камери, поради декарбоксилирането на киселините, а рН е в границите на оптимума за метаногенезата.



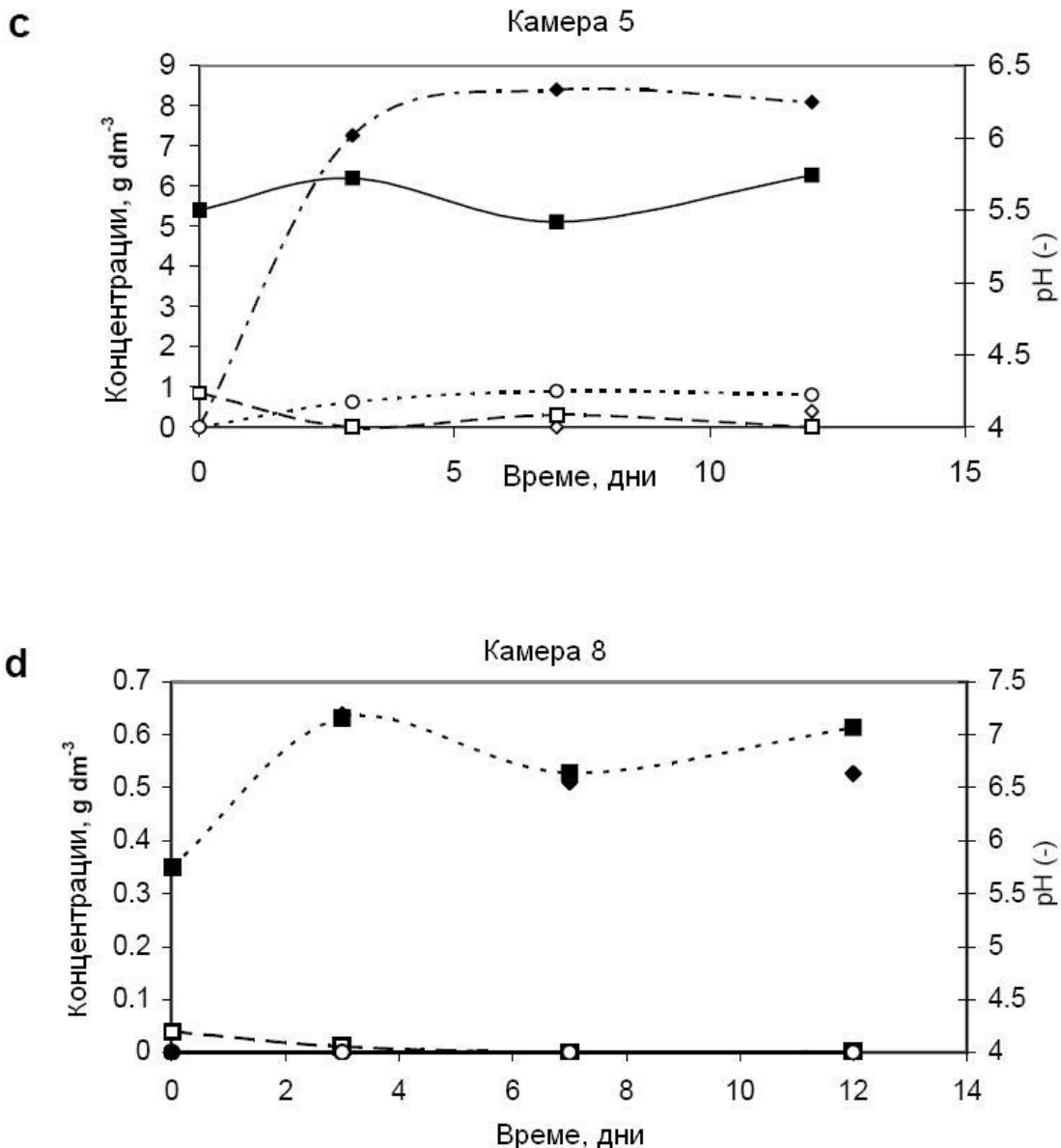
Фиг. 17(31). Изменение на производителността на биогаз и неговото натрупване във времето. (◆)- производителност на биогаз; (□) – общо количество на натрупания биогаз. Захранване еднократно с 1 kg суров глицерол.

Различни профили на междинните продукти и рН по дължина на реактора по камери са показани на Фиг. 19а-с. Вижда се, че рН-стойностите в първата и междинните камери спадат между 5 и 5,5. Тази киселинност не позволява да се произведе метан, но в последните две камери рН-стойностите са между 6,5 и 7,5, т.е. в тях метаногенезата е възможна. Допълнителните експерименти показаха, че претоварването с глицерол (със захранващи дебити над 0,8 L/ден) води до спирането на метаногенезата. Това се обяснява с отместването на ниските стойности на рН в камери 5 и 6, поради нарастването на концентрациите на киселините в тях. В тези случаи преобладава **окислителното разграждане на киселините - до водород и въглероден двуокис**. За сравнение, преди добавянето на глицерола (при  $t = 0$ ) рН-стойностите в камери 5 до 8 са над 6, т.е. подходящи за метаногенеза. След седем дни подходящи стойности на рН се наблюдават само в камери 7 и 8, а концентрациите на киселините спадат в камери 4 до 8. Ситуацията се подобрява и на 12-тия ден рН – профилът е по-добър, отколкото в началото. Значителни количества от 2,3-бутандиол са открити във

ферментационната среда. Това е конкурентен процес на метаногенезата, както е показано в схемата на фиг. 1.

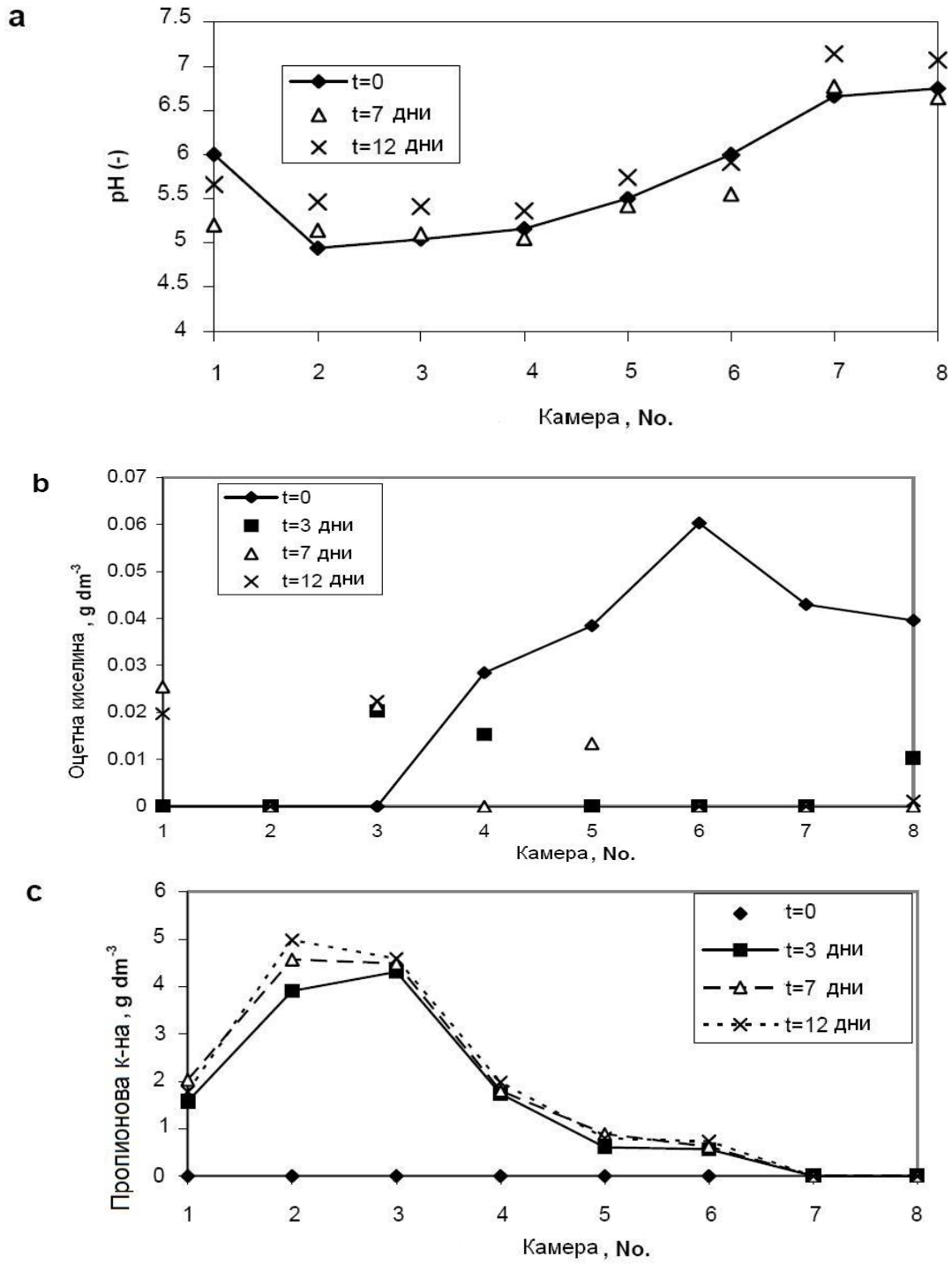


Фиг. 18(28). Времени профили на някои междинни продукти и рН в различни камери на биореактора (a-d). (◇) – неидентифицирано вещество; (□) – оцетна киселина; (○) – пропионова киселина; (◆) - 2,3-бутандиол; (■) - рН. Захранване еднократно с 1 kg суров глицерол.



Фиг. 18(28). Времени профили на някои междинни продукти и рН в различни камери на биореактора (a-d). (◇) – неидентифицирано вещество; (□) – оцетна киселина; (○) – пропионова киселина; (◆) - 2,3-бутандиол; (■) - рН. Захранване еднократно с 1 kg суров глицерол.

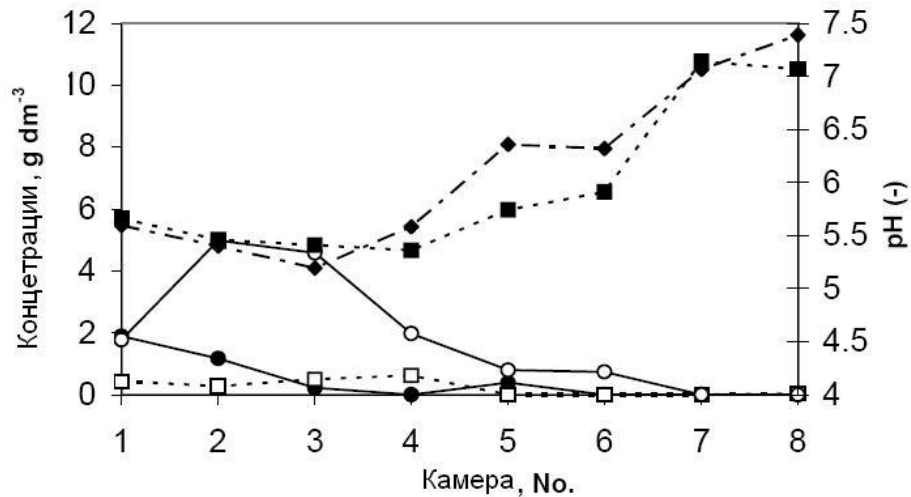
Прегледът на данните за 2,3-бутандиола показва, че след време концентрацията му в камери 4-8 се понижава, повече или по-малко. Количествена оценка на тези процеси, както и подбирането на време и камери за извличане на този продукт при непрекъснат процес на захранване може да се направи след съставянето на кинетичен модел и математично симулиране на базата на опитни данни.



Фиг. 19(29). Профили на рН, оцетна и пропионова киселина различни моменти след хранването. (а) - рН; (б) - оцетна киселина; (с) - пропионова киселина. Хранване еднократно с 1 kg суров глицерол.



Профилите на някои междинни продукти на 12-тия ден след добавянето на глицерол са показани на Фиг. 20. Глицеролът се забелязва само в камери 1-3. В тях оцетна киселина практически не се открива. Пропионовата киселина обаче плавно нараства в камери 1-3 и се забелязва във високи концентрации, освен в последните три камери, където очевидно тя се преработва. В камери 6-8 рН-стойностите са достатъчно високи за образуването на метан. Затова проблемът с натрупването на пропионова киселина е от съществено значение за добива на метан.



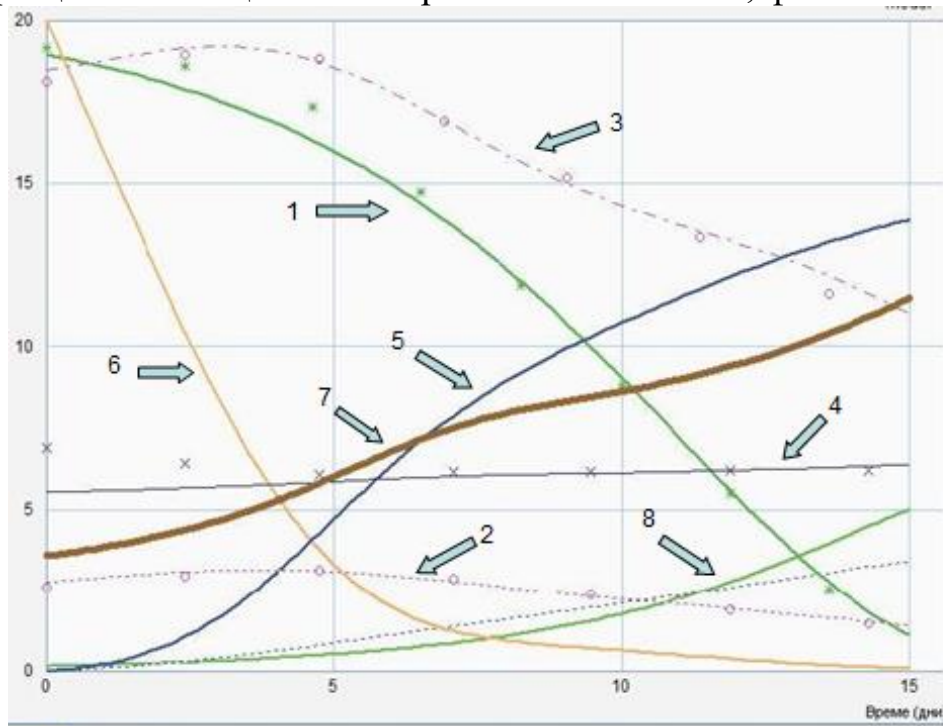
Фиг. 20(30). Концентрационни профили на субстрата, междинни продукти и рН 12 дни след хранването с глицерол. (●) - глицерол; (□) - оцетна киселина; (○) - пропионова киселина; (◆) - 2,3-бутандиол; (■) - рН. Захранване - еднократно с 1 kg суров глицерол.

Тези резултати показват, че избраната конфигурация на биореактор позволява да се постигне много стабилен процес, тъй като при подбрания дебит на захранване винаги има камери с киселинност, подходяща за метаногенеза.

#### 7.4. Резултати от математичното моделиране (публикация Т1)

На фиг. 21 са показани сравнения на моделните криви с опитните данни за различните определяни величини за камера 1 на биореактора. Моделните криви са определяни при по-висока чувствителност на ензимите, т.е. при по-тесен рН-интервал на ензимна активност (по-малка полу-ширина  $\sigma^2$  на разпределителната крива).

Линии 1 – 4 показват сравнението между опитните данни, определени чрез ВЕТХ и моделните криви. Линии 5 – 8 представляват качествена илюстрация за изменението на останалите величини. Наблюдавахме много добро съвпадение на опитните данни с изчислените по модела за 2,3-бутандиола (BD), глицерола (S), оцетната киселина (Ac) и рН. Оказа се, че ензимната активност при скоростната константа  $k_{CH_4}$  нараства по време на процесите в отделението на реактора поради слабото покачване на рН при превръщането на оцетната и мравчената киселина, фиг. 22.



Фиг. 21(32). Времеви профили и сравнение на моделните резултати с опитните данни (като площи на пикетите от ВЕТХ) при  $\sigma^2 = 0.25$ . Линия 1 – глицерол; линия 2 – оцетна киселина; линия 3 – 2,3-бутандиол; линия 4 – рН; линия 5 – обем на метана; линия 6 – пируват; 7 – ензимна активност на образуването на метан от мравчена киселина; 8 – концентрация на биомасата. Начална концентрация на глицерол в отделение 1: 35 g/l.

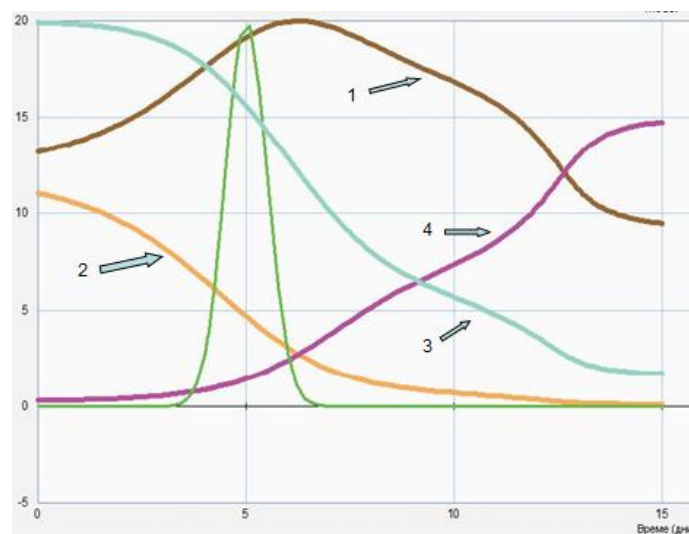
**Ензимна чувствителност.** - Ефектът на чувствителността на ензимите ( $\sigma^2$ ) спрямо понижението на рН и неговото изменение във времето и спрямо концентрациите на различните компоненти на средата са показани на фиг. 22. Някои активности се покачват, други спадат в зависимост от рН-оптимумите и изменението на рН във времето.

Сравнението на определените кинетични параметри за тези два случая на ензимна чувствителност е показано в таблица 7. От

представените резултати се вижда, че в някои случаи процесите са слабо чувствителни спрямо ензимната активност, като функция на рН. Това се отнася за параметрите  $\mu_{\max}$ ,  $k_{BD}$ ,  $k_{BD1}$ ,  $k_{Ac}$  (максимална специфична скорост на растеж, скоростни константи на образуване и разграждане на 2,3 бутандиол и на образуване на оцетна киселина). Процесите на образуване на мравчена киселина и на декарбоксилиране на оцетна киселина с образуването на метан са по-чувствителни спрямо рН оптимума. Тази чувствителност се проявява при по-малката ширина на Гаусовата крива на ензимната активност ( $\sigma^2$ ). Скоростната константа на декарбоксилирането на оцетна киселина  $k_{Ac1}$  е почти 2 пъти по-висока при по-слаба чувствителност на рН.

Таблица 4(7). Сравнение на определените параметри за отделение 1 при различна ензимна чувствителност  $\sigma^2$ . Начална концентрация на глицерол в отделение 1- 35 g/l

Параметър	$\sigma^2 = 0,25$	$\sigma^2 = 0,5$
$\mu_{\max}, h^{-1}$	0,274	0,275
$k_F, h^{-1}$	0,656	0,521
$k_{BD}, h^{-1}$	0,948	1,004
$k_{BD1}, h^{-1}$	0,105	0,118
$k_{Ac}, h^{-1}$	0,107	0,099
$k_{Ac1}, h^{-1}$	0,154	0,272
$P_{V0}$ , площ на пика (-)	19,54	19,98



Фиг. 22 (33). Симулирани изменения на ензимните активности ( $b_i$ ) по време на ферментационния процес в камера 1 при  $\sigma^2 = 0,5$ . Линия 1:  $b_{CH_4}$ ; линия 2:  $b_{P_V}$ ; линия 3:  $b_F$ ; линия 4:  $b_{BD}$ . Гаусовата крива е за сравнение. Начална концентрация на глицерол в камера 1- 35 g/l.

**Определени параметри за две различни отделения на реактора.** Сравнение на кинетичните параметри, определени за отделения 1 и 2 е показано в Таблица 5. Може да се заключи, че с изключение на  $k_{BD}$  е налице разумно съвпадение на определените величини. Разликите в началните концентрации на пирувата са очаквани, тъй като във второто отделение постъпва разтвор с вече превърнат глицерол, съдържащ междинни продукти (в това число и пируват).

Таблица 5(8). Сравнение на определените параметри за първите две камери на биореактора (опитни резултати от друг опит). Начална концентрация на глицерол в камера 1-35 g/l.

Параметър	Камера 1	Камера 2
$\mu_{max}, h^{-1}$	0,274	0,242
$k_F, h^{-1}$	1,370	1,450
$k_{BD}, h^{-1}$	0,820	0,340
$k_{BD1}, h^{-1}$	0,084	0,075
$k_{Ac}, h^{-1}$	0,078	0,085
$k_{Ac1}, h^{-1}$	0,063	0,062
$P_{V0}$ , площ на пика (-)	18,4	39,7

Близките стойности на изчислените скоростни константи са потвърждение на съставения математичен модел. Оказа се, че моделирането е безсмислено за отделения 3 и 4, поради липсата на много от продуктите на реакциите. В тези случаи целевата функция става все по-неопределена. Заедно с това и отделянето на биогаз от тези отделения става все по-малко интензивно.

По този начин с помощта на нашия модел може да се предвидят необходимия брой стъпала в каскадния биореактор, необходими за отделянето на биогаз. Друга възможност, която дава модела е, да се определи времето, необходимо за получаването на целевия продукт (например 2,3-бутандиол) с високи концентрации и добиви, като се избегнат следващите превръщания или биодеградация.

Разработеният математичен модел, макар и опростен, може да опише конкурентното превръщане на глицерол в биогаз и 2,3-бутандиол под действие на бактерии от рода *Klebsiella*. Този подход може да бъде използван за изследването и на други микробни култури, при условие че е известен метаболитният път. Поради много сложния метаболизъм и липсата на знания за кинетиката на

всяка реакция със съответните скоростни константи моделирането има в известна степен демонстративен характер, но може да служи като индикация за определянето на необходимия брой камери в каскадния реактор, достатъчни за пълното превръщане на глицерола в биогаз и други метаболити с практическо значение.

## 8. Изводи

1. Общият извод от направените изследвания е, че глицеролът може да се използва като субстрат за добив на биогаз, но този процес не може да бъде основен за решаването на проблема му като отпадък. Той може да се използва като спомагателен субстрат за добиването на биогаз при строг рН-контрол в метаногенната зона на реактора или с извличане на пропионовата киселина от онези секции, където киселинността е недопустимо висока (при ниски рН).
2. Метаногенните микробни култури, открити в биореактора при ферментацията на глицерола са в по-висока степен способни да превръщат въглеродния диоксид и водорода в метан, отколкото да разграждат органичните киселини (в частност пропионовата) до ацетат и метан. Затова биогазът се обогатява на метан, като съдържанието му достига 95% об. Натрупването на мастните киселини дава обяснение за силното подкисляване на средата при употребата на глицерола като субстрат в сравнение с други субстрати.
3. Експерименталното изследване на ферментацията на глицерол в биореактор, разделен на камери показва, че тази конфигурация на биореактора позволява разделянето на зоните с натрупване на органични киселини, съпроводено с понижение на рН от зоните с метаногенна активност. Каскадният биореактор осигурява голяма стабилност спрямо смущения в хранването, поради едновременното протичане на последователните процеси на хидролиза, ацидогенеза, ацетогенеза и метаногенеза на различни места в реактора по едно и също време.
4. Разработеният математичен модел, описващ кинетиката на ферментацията на глицерол на базата на известна метаболитна схема отчита чувствителността на ензимната активност спрямо рН, като тези зависимости са апроксимирани с Гаусови криви. Моделът позволява да се преценят чувствителността на ензимите,

катализираци реакции в метаболитната схема спрямо рН и условията за получаване на други продукти по конкурентен механизъм, например 2,3-бутандиол. Възможно е да се оцени необходимия брой камери за пълното превръщане на глицерола в биогаз или в други метаболити от практическо значение.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Mario Pagliaro and Michele Rossi, *The Future of Glycerol: New usages for a versatile raw material*, RSC Publishing, Cambridge. ISBN: 0854041249.
2. Ashby, R. D., Wyatt, V. T., Foglia, T. A., Solaiman, D. K. Y. 2009, *Industrial Products from Biodiesel Glycerol*, in: *Biocatalysis & Bioenergy*, Hou, C. T. and Shaw, J. J. (Eds.), J. Wiley & Sons, Inc., Hoboken, pp. 131-154.
3. Braunegg, G., Genser, K., Bona, R., Haage, G. 1999, *Macromol. Symp.*, 144, 375.
4. López J.Á.S., De los Ángeles Martín Santos M., Pérez A.F.C., Martín A.M. (2009) *Bioresource Technol.*, 100,5609-5615.
5. Saxena, R., Anand, P., Saran, S., Isar, J.2009, *Biotechnol. Adv.*, 27, 895.
6. K. Ostrem, *Greening waste: anaerobic digestion for treating the organic fraction of municipal solid wastes*, Thesis, Columbia University, May 2004, p. 6.
7. Petrov K. and Petrova P. 2010, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 87, 943.
8. Saxena, R., Anand, P., Saran, S. and Isar, J.2009, *Biotechnol. Adv.*, 27, 895.
9. Saimmai, A., O. Rukadee, V. Sbhon, S. Maneerat, 2012, *Journal of Scientific and Industrial Research (India)*, 71, 06, 396 – 406.
10. Yanping Zhang, Zhihua Huang, Chenyu Dua, Yin Li, Zhu'an Cao, 2009, *Metabolic Eng.*, 11, 101-106.

## ОЗНАЧЕНИЯ

### към системата диференциални уравнения (11)

- $A_c$  – концентрация на ацетат ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )  
 $b_i$  – безизмерни функции, отчитащи рН-оптимумите на различните ензими  
 $BD$  – концентрация на 2,3-бутандиол ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )  
 $CH_4$  – концентрация на метан ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )  
 $CO_2$  – концентрация на въглероден диоксид ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )  
 $F$  – концентрация на формиат ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )  
 $K_x$  – специфична скорост на отмиране на биомасата, ( $\text{h}^{-1}$ )  
 $K_m$  – константа на насищане в уравнението на Моно, ( $\text{kg}/\text{m}^3$ ) вж. (12)  
 $k_i$  – скоростни константи на различните реакции, ( $\text{h}^{-1}$ ) вж. Фиг. 9.  
 $P_v$  – концентрация на пируват ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )  
 $S$  – концентрация на субстрат-глицерол ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )  
 $t$  – време, h  
 $X$  – концентрация на биомасата ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )  
 $Y_{X/S}$  - добивен коефициент за биомасата, (-)  
 $\alpha$  – безизмерен коефициент на добива за образуване на пируват, (-)  
 $\mu$  - специфична скорост на растеж на биомасата, ( $\text{h}^{-1}$ )  
 $\mu_{\max}$  – максимална специфична скорост на растеж, ( $\text{h}^{-1}$ )  
 $\sigma$  - дисперсия в Гаусова разпределителна крива

### Индекси

- $A_c$  - означава величини, свързани с образуването на ацетати  
 $A_c1$  - означава величини, свързани с декарбоксилирането на ацетати  
 $bd$  – означава величини, свързани с образуването на 2,3-бутандиол  
 $bd1$  – означава величини, свързани с разлагането на 2,3-бутандиол  
 $CH_4$  – означава величини, свързани с метан  
 $CO_2$  – означава величини, свързани с въглероден диоксид  
 $F$  – означава величини, свързани с формиат  
 $P_v$  - означава величини, свързани с пируват  
 $S$  – означава величини, свързани с субстрата

#### **ТРУДОВЕ , ВКЛЮЧЕНИ В ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД**

- T1. V. Beschkov, T. Sapundzhiev, I. Angelov, Modelling of Biogas Production from Glycerol by Anaerobic Process in a Baffled Multi-Stage Digester , *Biotechnology & Biotechnological Equipment* (IF= 0.622), **26** (5),3244-3248 (2012).
- T2. V. Beschkov, I. Angelov, P. Petrova, Biogas Production from Glycerol in a Multistage Anaerobic Digester, *Current Topics in Biotechnology*, **7**, 61-69 (2012).
- T3. V. Beschkov, I. Angelov, P. Petrova, Biogas production from waste glycerol with inhibition from carboxylic acids, *Proc. Linnaeus Eco-Tech'10*, 22 -24 November, 2010, Kalmar (Sweden), pp. 584-591.
- T4. В. Бешков, Ив. Ангелов, Biogas production, *Научни трудове на УХТ-Пловдив*, том 58, свитък 2, 372-377 (2011).
- T5. Венко Бешков, Иван Ангелов, Получаване на биогаз, чрез оползотворяване на отпадъчен глицерол, *Научни трудове на Русенския университет*, том 50, серия 9.2, 55-58 (2011).

#### **ДОКЛАДИ НА НАУЧНИ КОНФЕРЕНЦИИ И СИМПОЗИУМИ**

- 1. V. Beschkov, I. Angelov, P. Petrova, Biogas production from waste glycerol with inhibition from carboxylic acids, *Proc. Linnaeus Eco-Tech'10*, 22 -24 November, 2010, Kalmar (Sweden), pp. 584-591.
- 2. V. Beschkov, I. Angelov, P. Petrova, Biogas recovery from waste organic materials: a comparative experimental study, *Proc. Seventh National Conference on Chemistry, International Conference on Green Technologies and Environmental Protection (7-O5)*, 26–29 May 2011, Sofia, Bulgaria, p. 70.
- 3. V. Beschkov, T. Sapundzhiev, I. Angelov, Modelling of Biogas Production from Glycerol by Anaerobic Process in a Baffled Multi-Stage Digester (4.2). *International Conference on Mathematical Methods and Models in Biosciences, BIOMATH 2011*, Sofia, June 2011, p.16.
- 4. Venko Beschkov and Ivan Angelov, Production of biogas and other products by utilizing waste glycerol, *International Conference on Green Technologies for Environmental Rehabilitation*, February 11-13, 2012, Haridwar, Uttarakhand, India. OP-38, p. 43.
- 5. V.N. Beschkov, I.K. Angelov, Production of biogas and other products by utilizing waste glycerol, *22<sup>nd</sup> International Symposium "Ecology&Safety-2013"*, Sunny Beach, June 7/11, 2013, P16.



## ЗАБЕЛЯЗАНИ ЦИТАТИ

***Венко Бешков, Иван Ангелов, Получаване на биогаз, чрез оползотворяване на отпадъчен глицерол, Научни трудове на русенския университет, том 50, серия 9.2, 55-58, 2011.***

Цитирана от:

- Z. Glavcheva-Laleva, St. Kerekov, D. Pavlov, Iv. Glavchev, Obtaining of Modifiers for Reduced Friction by Esterification of Waste Glycerol from Biodiesel Production and Sylfat 2, Chemical Engineering and Science, 2015, Vol. 3, No. 1, 1-6.

***V. Beschkov, T. Sapundzhiev, I. Angelov, Modelling of Biogas Production from Glycerol by Anaerobic Process in a Baffled Multi-Stage Digester, Biotechnology & Biotechnological Equipment, 26 (5), 3244-3248 (2012).***

Цитирана от:

- Xu, J.H. , Chen, X.F. , Mu, L.L. , Zhang, H.B. , Bi, Y.F., Mesophilic anaerobic study on Chinese herbs residues of honeysuckle and midday tea, Advanced Materials Research, Volume 878, 2014, Pages 481-488.
- Cruz Kozani, Modelling the anaerobic methane production process: current developments and importance for an increased process flexibility, Institute of Biotechnology, Berlin University of Technology (2014).