



Model fermentacji metanowej – ADM1

Krzysztof W. Szewczyk

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej,
Politechnika Warszawska, Warszawa

ADM1 model of methane fermentation

Summary

The generalized anaerobic digestion model developed by the Task Group of IWA is discussed. The structured model includes multiple steps describing biochemical as well as physico-chemical processes. The biochemical steps include disintegration of a particulate substrate to carbohydrates, proteins and lipids, extracellular hydrolysis of these particulate biopolymers to sugars, amino acids, and long chain fatty acids, respectively, acidogenesis from sugars and amino acids to volatile fatty acids and hydrogen; acetogenesis of long chain – and volatile fatty acids to acetate, and separate methanogenesis steps from acetate and from hydrogen and carbon dioxide. The ADM1 is a powerful tool for predicting both steady state and dynamic behaviour of anaerobic digesters. The extensions and applications of the ADM1 model to simulate industrial scale anaerobic digestion processes are reviewed.

Key words:

anaerobic digestion, biogas, mathematical modelling, ADM1.

Adres do korespondencji

Krzysztof W. Szewczyk,
Wydział Inżynierii
Chemicznej i Procesowej,
Politechnika Warszawska,
ul. Waryńskiego 1,
00-645 Warszawa;
e-mail:
szewczyk@ichip.pw.edu.pl

1. Wstęp

Fermentacja metanowa jest złożonym procesem składającym się z wielu przemian mikrobiologicznych, w wyniku których substraty organiczne przekształcane są w tzw. biogaz zawierający głównie metan i ditlenek węgla oraz śladowe ilości siarkowodoru, amoniaku i innych lotnych substancji. Ten beztlenowy proces rozkładu materii organicznej, stosowany jest obecnie do utylizacji ścieków, osadów w oczyszczalniach ścieków i gnojowicy. Może być także wykorzystany do wytwarzania energii z odp-

dów bądź upraw celowych [1,2]. W wielu krajach biogaz jest wykorzystywany głównie jako paliwo dla generatorów prądu elektrycznego (ze 100 m³ biogazu można wyprodukować około 540-600 kWh energii elektrycznej), jako źródło energii do ogrzewania wody, a po oczyszczeniu i sprężeniu jako paliwo do napędu silników. Zastosowanie fermentacji metanowej jako efektywnej techniki produkcji energii wymaga uzyskania dużych wydajności wytwarzania metanu, co można uzyskać dzięki zastosowaniu odpowiednich wysoko wydajnych bioreaktorów, a także przez optymalizację pracy reaktorów. Jedną z metod pozwalającą na uzyskanie tych efektów jest modelowanie matematyczne procesu. Służy ono zarówno do uogólniania danych doświadczalnych jak i do projektowania i optymalizacji przebiegu procesów przemysłowych.

W najprostszym ujęciu ilościowym szybkość fermentacji metanowej opisuje się kinetyką pierwszego rzędu. Ilość powstającego biogazu obliczana jest z zależności [3]

$$Q = Q_{\max} (1 - e^{-kt}) \quad (1)$$

gdzie Q_{\max} i k są parametrami wyznaczanymi doświadczalnie dla każdego układu.

W przypadku tradycyjnych technologii biogazu, czyli fermentacji gnojowicy i fermentacji osadu nadmiernego w oczyszczalni ścieków, prowadzonych w reaktorach o działaniu okresowym, ten uproszczony opis matematyczny był w zupełności wystarczający. Wprowadzenie nowych, wysoko wydajnych fermentorów przepływowych na początku lat siedemdziesiątych XX w. spowodowało zapotrzebowanie na bardziej złożone opisy matematyczne procesu. Jednocześnie, wraz z pogłębianiem wiedzy o złożonych procesach mikrobiologicznych przebiegających podczas fermentacji metanowej, rosła komplikacja opracowywanych modeli matematycznych. Przegląd najważniejszych modeli znaleźć można w pracy Gavala i in. [4]. Specjalna grupa robocza International Water Association zaproponowała model stanowiący podsumowanie dotychczasowych prac [5]. Model ten o nazwie ADM 1 (ang. *Anaerobic Digestion Model No 1*) po raz pierwszy zaprezentowany został na Konferencji IWA w Antwerpii w 2001 r. Najdokładniejszy opis modelu zawiera Raport Naukowo-Techniczny Grupy Roboczej IWA [6]. W 2005 r. zorganizowano w Kopenhadze specjalną konferencję poświęconą wykorzystaniu modelu ADM1 (*1st International Workshop on the IWA Anaerobic Digestion Model No 1*). Model ADM1 jest obecnie podstawowym narzędziem używanym do analizy i symulacji fermentacji metanowej. Celem artykułu jest przedstawienie zasadniczych idei modelu ADM1 oraz możliwości jego rozszerzania i stosowania.

2. Mikrobiologiczne mechanizmy fermentacji metanowej

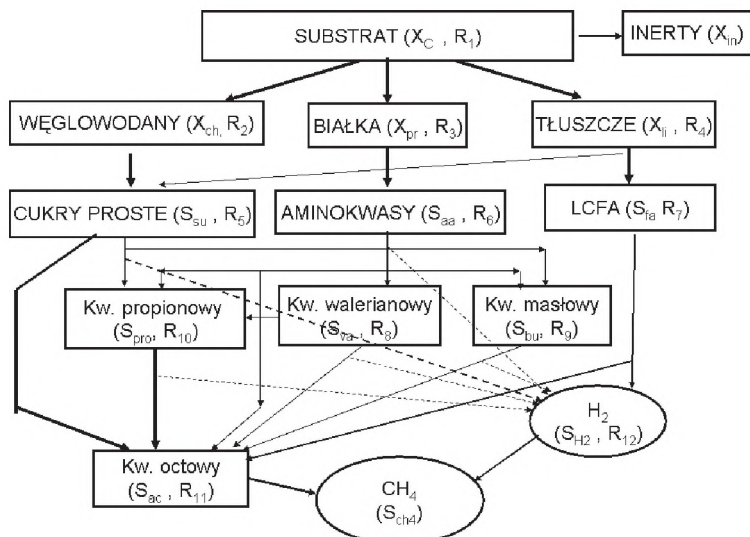
Fermentacja metanowa jest zespołem beztlenowych procesów biochemicznych, w których wielkocząsteczkowe substancje organiczne (węglowodany, białka, tłuszcze, kwasy nukleinowe), są rozkładane do alkoholi lub niższych kwasów orga-

nicznych, a następnie do metanu, dwutlenku węgla i wody. Proces składa się z czterech głównych etapów. W pierwszym wielkocząsteczkowe substancje organiczne (węglowodany, tłuszcze, białka), podlegają hydrolizie do odpowiednio: cukrów prostych, kwasów tłuszczowych, aminokwasów. Hydroliza przebiega w wyniku działania enzymów zewnątrzkomórkowych. Kolejnym etapem jest acidogeneza, podczas której rozpuszczone substancje organiczne są rozkładane przez heterogeniczną populację mikroorganizmów, głównie do lotnych kwasów tłuszczowych i alkoholu przy jednoczesnej produkcji wodoru, dwutlenku węgla i amoniaku. Trzecim etapem fermentacji metanowej jest acetogeneza. W jej wyniku powstają tzw. substraty metanogenne, czyli kwas octowy i dwutlenek węgla. Podstawowa dla procesu jest metanogeneza będąca jego ostatnim ogniwem. W jej następstwie powstaje metan, produkt metabolizmu bakterii metanowych. Redukcja octanu i dwutlenku węgla do metanu w warunkach beztlenowych, jest przeprowadzana dzięki obecności specyficznych kompleksów enzymatycznych, odnalezionych tylko u drobnoustrojów metanogennych, metyloreduktazy metylokoenzymu M oraz koenzymu F_{420} . Około 70% wytwarzanego metanu pochodzi z redukcji octanu, a 30% z redukcji dwutlenku węgla [4]. Wiele cech, dotyczących budowy ściany komórkowej, lipidów, aparatu transkrypcji i translacji, odróżnia metanogeny od bakterii. Dlatego, według obecnie obowiązującej klasyfikacji organizmów żywych, są one klasyfikowane jako archeony [7].

3. Założenia modelu ADM1

Na rysunku przedstawiono schemat przemian w modelu ADM1. Zawiesiny oznaczone są symbolami X z odpowiednim indeksem zaś substancje rozpuszczone symbolem S. Obok symbolu danego komponentu podano oznaczenie szybkości przemiany, w której jest on zużywany. Substrat fermentacji metanowej (X_c) jest nierozpuszczalny w wodzie. Składa się w ogólnym przypadku z węglowodanów (X_{ch}), białek (X_{pr}), tłuszczów (X_{li}) oraz nie podlegających rozkładowi mikrobiologicznemu inertów (X_{in}). Hydroliza substratu składa się z dwóch etapów: rozpadu zawiesiny do nierozpuszczalnych biopolimerów, a następnie rozpadu tych komponentów do rozpuszczalnych monomerów i dimerów. W wyniku hydrolizy węglowodanów powstają rozpuszczalne w wodzie cukry i metabolity zbliżone, np. alkohole, oznaczone jako S_{su} . Hydroliza białek prowadzi do powstania aminokwasów S_{aa} zaś hydroliza tłuszczu do długołańcuchowych kwasów tłuszczowych S_{fa} . W kolejnym etapie produkty hydrolizy przekształcane są mikrobiologicznie do lotnych kwasów tłuszczowych i wodoru. W modelu wyróżniono kwasy: propionowy (S_{pro}), walerianowy (S_{va}) i masłowy (S_{bu}). W przemianach octotwórczych kwasy te przekształcane są do kwasu octowego (S_{ac}).

W modelu wyróżniono 7 grup drobnoustrojów: fermentujące cukry do kwasów organicznych (X_{su}), asymilujące aminokwasy (X_{aa}), asymilujące długołańcuchowe



Rys. Schemat przemian mikrobiologicznych w modelu ADM1.

kwasy tłuszczowe (X_{fa}), przekształcające kwasy walerianowy i masłowy (X_{c_4}), przekształcające kwas propionowy do kwasu octowego (X_{pro}) oraz metanogeny asymilujące kwas octowy (X_{ac}) i metanogeny zużywające wodór (X_{h_2}).

W modelu ADM1 stężenie biomasy drobnoustrojów oraz substratów i metabolitów pośrednich wyrażono w jednolitych jednostkach ChZT (Chemiczne Zapotrzebowanie Tlenu). Wartość ChZT można powiązać z tzw. stopniem redukcji, zależnym od składu elementarnego danej substancji [8,9]. Dla substancji, której skład elementarny podany jest wzorem: $CH_aO_bN_c$, jednostka masy odpowiada wartości ChZT równej

$$m_{chZT} = \frac{8\Gamma}{M_C} \quad (2)$$

gdzie bezwzględny stopień redukcji $\Gamma = 4 + a - 2b$, zaś M_C jest masą węglomola substancji. W literaturze przedmiotu czasami zamiast stopnia redukcji można spotkać wielkość określaną jako Teoretyczne Zapotrzebowanie Tlenu [10] rozszerzającą definicję podaną równaniem (2) także na związki nieorganiczne.

Przyjęcie jako podstawy obliczeń stężeń wyrażonych jako ChZT ma swoje konsekwencje. Równania bilansowe dla poszczególnych składników nie są równaniami bilansu masowego, ale równaniami bilansu tlenu (czasami określanego jako bilans elektronów [9]). W rezultacie dla wyznaczenia bilansu węgla i azotu potrzebne są dodatkowe równania uwzględniające udział węgla i azotu w poszczególnych komponentach (wyrażony np. w gC/gChZT i gN/gChZT). Możliwe jest także sformułowanie równań bilansowych jako bilansów molowych uzupełnionych o bilans elementarny [10,11].

Strukturę przemian mikrobiologicznych można przedstawić w postaci macierzy współczynników bilansowych, której wiersze odpowiadają poszczególnym przemianom zaś kolumny poszczególnym komponentom modelu. Element macierzy N można przedstawić następująco:

w przypadku surowców lub metabolitów zużywanych w „i-tej” przemianie:

$$n_{i,j} = -1 \quad (3)$$

w przypadku biomasy drobnoustrojów rosnących w wyniku danej przemiany

$$n_{i,j} = Y_i \quad (4)$$

zaś dla produktów danej przemiany metabolitów

$$n_{i,j} = (1 - Y_i)f_{i,j} \quad (5)$$

gdzie Y_i jest współczynnikiem wydajności biomasy w „i-tej” przemianie mikrobiologicznej ($i = 1..12$) zaś $f_{j,i}$ jest to współczynnik stechiometryczny „j-tego” komponentu w „i-tej” przemianie.

Współczynniki stechiometryczne spełniają równanie:

$$\sum_j f_{j,i} = 1 \quad (6)$$

zaś współczynniki macierzy zależność:

$$\sum_j n_{i,j} = 0 \quad (7)$$

W tabeli 1 przedstawiono część macierzy współczynników odnosząca się do substratów i metabolitów pośrednich rozpuszczonych, zaś w tabeli 2 tę część macierzy, która obrazuje przemiany składników zawiesiny i wzrost poszczególnych grup drobnoustrojów. W macierzy pominięto kolumnę dotyczącą substancji inertnych, gdyż nie biorą one udziału w przemianach. Pominięto także wiersze odnoszące się do rozkładu drobnoustrojów. W zależności od zastosowań, wiersze te mogą ilustrować powstawanie substratu (w przypadku fermentacji osadu nadmiarowego) lub inertów.

Ilościowe relacje w przemianach mikrobiologicznych opisane są za pomocą 15 niezerowych współczynników stechiometrycznych ($f_{i,j}$) oraz 7 współczynników wydajności biomasy (Y_i). W Raporcie Naukowo-Technicznym podano wartości wszystkich współczynników bilansowych. Wartości te były wykorzystywane w wielu aplikacjach modelu ADM1.

Tabela 1

Macierz współczynników bilansowych – zakres substancji rozpuszczonych

	S_{su}	S_{aa}	S_{fa}	S_{va}	S_{bu}	S_{pro}	S_{ac}	S_{h_1}	S_{ox_i}
Przemiana									
R_2 hydroliza węglowodanów	1								
R_3 hydroliza protein		1							
R_4 hydroliza tłuszczów	$1-f_{fa,li}$		$f_{fa,li}$						
R_5 asymilacja cukrów	-1			$(1-Y_{su}) f_{va,su}$	$(1-Y_{su}) f_{bu,su}$	$(1-Y_{su}) f_{pro,su}$	$(1-Y_{su}) f_{ac,su}$	$(1-Y_{su}) f_{h_1, su}$	
R_6 asymilacja aminokwasów		-1		$(1-Y_{su}) f_{va,aa}$	$(1-Y_{su}) f_{bu,aa}$	$(1-Y_{su}) f_{pro,aa}$	$(1-Y_{su}) f_{ac,aa}$	$(1-Y_{su}) f_{h_1, aa}$	
R_7 asymilacja LCFA			-1				$(1-Y_{fa}) f_{ac,fa}$	$(1-Y_{fa}) f_{h_1, fa}$	
R_8 asymilacja kw. walerianowego				-1		$(1-Y_c) f_{pro,va}$	$(1-Y_c) f_{ac,va}$	$(1-Y_c) f_{h_1, va}$	
R_9 asymilacja kw. masłowego					-1		$(1-Y_c) f_{ac,bu}$	$(1-Y_c) f_{h_1, bu}$	
R_{10} asymilacja kw. propionowego						-1	$(1-Y_{pro}) f_{ac,pro}$	$(1-Y_{pro}) f_{h_1, pro}$	
R_{11} asymilacja octanu							-1		$(1-Y_{ac})$
R_{12} asymilacja wodoru								-1	$(1-Y_{h_1})$

Tabela 2

Macierz współczynników bilansowych – zakres zawiesin

	X_C	X_{ch}	X_{pr}	X_{H_2}	X_{su}	X_{aa}	X_{aa}	X_{e_4}	X_{pro}	X_{ac}	X_{H_2}
R ₁ dezintegracja	-1	$f_{ch,xc}$	$f_{pr,xc}$	$f_{H_2,xc}$							
R ₂ hydroliza węglowodanów		-1									
R ₃ hydroliza protein			-1								
R ₄ hydroliza tłuszczów				-1							
R ₅ asymilacja cukrów					Y_{su}						
R ₆ asymilacja aminokwasów						Y_{aa}					
R ₇ asymilacja LCFA						Y_{fa}					
R ₈ asymilacja kw. walerianowego								Y_{c_4}			
R ₉ asymilacja kw. masłowego								Y_{c_4}			
R ₁₀ asymilacja kw. propionowego									Y_{pro}		
R ₁₁ asymilacja octanu										Y_{ac}	
R ₁₂ asymilacja wodoru											Y_{H_2}

4. Kinetyka przemian mikrobiologicznych

Rozpad złożonego substratu występującego w postaci zawiesiny oraz procesy hydrolizy opisano równaniami pierwszego stopnia względem stężenia odpowiedniego substratu:

$$\begin{aligned} R_1 &= k_{h,1} X_C \\ R_2 &= k_{h,ch} X_{ch} \\ R_3 &= k_{h,pr} X_{pr} \\ R_4 &= k_{h,li} X_{li} \end{aligned} \quad (8)$$

Asymilację cukrów, aminokwasów i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych opisano za pomocą modelu Tsao-Hansena [12] dla wzrostu na dwóch substratach (źródło węgla i nieorganiczne źródło azotu), z funkcjami uwzględniającymi hamowanie wzrostu:

$$R_5 = k_{m,su} \frac{S_{su}}{K_{S,su} + S_{su}} \frac{S_{NH_3}}{K_{S,NH_3} + S_{NH_3}} X_{su} I_{pH} \quad (9)$$

$$R_6 = k_{m,aa} \frac{S_{aa}}{K_{S,aa} + S_{aa}} \frac{S_{NH_3}}{K_{S,NH_3} + S_{NH_3}} X_{aa} I_{pH} \quad (10)$$

$$R_7 = k_{m,fa} \frac{S_{fa}}{K_{S,fa} + S_{fa}} \frac{S_{NH_3}}{K_{S,NH_3} + S_{NH_3}} X_{fa} I_{pH} I_{H_2} \quad (11)$$

W opisie szybkości asymilacji kwasu walerianowego uwzględniono hamujący wpływ kwasu masłowego:

$$R_8 = k_{m,c4} \frac{S_{va}}{K_{S,va} + S_{va}} \frac{S_{NH_3}}{K_{S,NH_3} + S_{NH_3}} X_{c4} \frac{1}{1 + \frac{S_{bu}}{S_{va}}} I_{pH} \quad (12)$$

Z kolei szybkość asymilacji kwasu masłowego jest hamowana przez kwas walerianowy:

$$R_9 = k_{m,c4} \frac{S_{bu}}{K_{S,va} + S_{bu}} \frac{S_{NH_3}}{K_{S,NH_3} + S_{NH_3}} X_{c4} \frac{1}{1 + \frac{S_{va}}{S_{bu}}} I_{pH} \quad (13)$$

Wzrost bakterii na kwasie propionowym, kwasie octowym oraz wodorze również opisano za pomocą modelu Tsao-Hansena:

$$R_{10} = k_{m,pro} \frac{S_{pro}}{K_{S,su} + S_{pro}} \frac{S_{NH_3}}{K_{S,NH_3} + S_{NH_3}} X_{pro} I_{pH} I_{H_2} \quad (14)$$

$$R_{11} = k_{m,ac} \frac{S_{ac}}{K_{S,ac} + S_{ac}} \frac{S_{NH_3}}{K_{S,NH_3} + S_{NH_3}} X_{ac} I_{pH} I_{NH_3} I_{H_2} \quad (15)$$

$$R_{12} = k_{m,h_2} \frac{S_{h_2}}{K_{S,h_2} + S_{h_2}} \frac{S_{NH_3}}{K_{S,NH_3} + S_{NH_3}} X_{h_2} I_{pH} \quad (16)$$

Funkcje inhibicji uwzględniające wpływ pH, amoniaku, wodoru opisano zależnościami:

$$I_{pH} = \frac{1 + 2 \cdot 10^{0,5(pH_{UL} - pH_{UL})}}{1 + 10^{(pH - pH_{UL})} 10^{(pH_{LL} - pH)}} \quad (17)$$

$$I_{NH_3} = \frac{1}{1 + \frac{S_{NH_3}}{K_{I,NH_3}}} \quad (18)$$

$$I_{H_2} = \frac{1}{1 + K_{IH_2}} \quad (19)$$

W modelu uwzględniono także rozpad biomasy drobnoustrojów, opisując go kinetyką pierwszego rzędu:

$$R_{d,i} = k_{d,i} X_i \quad i = su, aa, fa, c_4, pro, ac, h_2 \quad (20)$$

Głównym celem stworzenia modelu ADM1 było opisanie fermentacji metanowej osadu nadmiarowego w oczyszczalni ścieków. Z tego względu przyjęto, że produkt powstający w wyniku rozpadu biomasy drobnoustrojów można utożsamiać z wyjściowym substratem X_C . W przypadku wykorzystania modelu ADM1 do opisu fermentacji metanowej innych surowców należy odróżnić substrat pierwotny od substratu, będącego produktem rozpadu biomasy drobnoustrojów. Można np. przyjąć, że wynikiem rozpadu biomasy jest zawiesina węglowodanów, białek i tłuszczów (składniki X_{ch} , X_{pr} , X_{li}), które powstają także w wyniku rozpadu zasadniczego surowca (składnik X_c) [13].

W przypadku modeli strukturalnych, zawierających dużą liczbę równań i parametrów kinetycznych, dokładne wyznaczenie wartości parametrów jest trudne i jest przedmiotem sporów. W przedstawionych 12 równaniach kinetycznych występuje 31 parametrów. Podstawowe wartości parametrów kinetycznych zaproponowane w Raporcie Naukowo-Technicznym odnoszą się do fermentacji osadu nadmiarowego. W części opisującej etapy: kwasotwórczy, octotwórczy i metanotwórczy – parametry te mogą być stosowane także do opisu fermentacji innych surowców. Zasadnicze różnice będą występowały w określeniu szybkości hydrolizy zawiesiny surowca, gdyż zależy ona od rodzaju fermentowanego surowca, jego składu, a także stopnia rozdrobnienia [14-16]. Równania kinetyczne zaproponowane w modelu ADM1 zostały powszechnie zaaprobowane, jedynie funkcje opisujące hamowanie, zwłaszcza wpływ pH, były modyfikowane [17]. Rekomendowane w Raporcie Nauko-

wo-Technicznym wartości stałych kinetycznych zostały określone przy przyjęciu małych szybkości rozkładu biomasy (0,01-0,02 d⁻¹). Bastone i Keller [18] wskazali, że wyznaczane doświadczalnie wartości szybkości wzrostu i rozpadu biomasy są silnie ze sobą skorelowane. Przyjęcie większych wartości szybkości rozpadu biomasy prowadzi do wyznaczenia większych wartości szybkości wzrostu poszczególnych grup drobnoustrojów [19].

Wykorzystanie złożonych modeli strukturalnych do opisu procesów mikrobiologicznych często wymaga częściowego „dopasowania” parametrów kinetycznych do analizowanego układu. W wielu przypadkach zmiany wartości poszczególnych parametrów są rzędu 20-50% [20,21]. Istotne znaczenie ma wybór parametrów podlegających dopasowaniu. Na podstawie analizy czułości parametrycznej modelu ADM1 wykorzystywanego do modelowania fermentacji glukozy wykazano, że największy wpływ na obliczane szybkości wytwarzania biogazu ma stała nasycenia $K_{S,ac}$ i stała szybkości $k_{m,ac}$. [22]. Takie wyniki nie dziwią, gdyż w przypadku fermentacji cukrów prostych, etapem limitującym jest metanogeneza. Zatem parametry charakteryzujące szybkość metanogenezy mają w takim przypadku decydujący wpływ na wyznaczaną szybkość procesu. Brak jest analiz dotyczących czułości parametrycznej modelu w przypadku fermentacji substratów złożonych.

5. Zjawiska fizykochemiczne w fermentacji metanowej

W modelu uwzględniono zjawiska fizykochemiczne mające istotny wpływ na przebieg fermentacji metanowej. Należą do nich:

- procesy dysocjacji i asocjacji metabolitów pośrednich,
- transport składników gazowych z roztworu do fazy gazowej (desorpcja),
- wytrącanie składników nierozpuszczalnych.

Szybkości dysocjacji oraz desorpcji są znacznie większe od szybkości przemian mikrobiologicznych, dlatego w większości zastosowań, przyjmuje się występowanie równowagi pomiędzy zdysocjowanymi i niezdisocjowanymi składnikami w roztworze oraz pomiędzy fazą gazową i ciekłą.

Kwasowość środowiska w którym przebiega fermentacja ma bardzo duży wpływ na szybkość przemian. W Raporcie Naukowo-Technicznym proponuje się obliczanie pH na podstawie bilansu ładunku:

$$\sum S_{C^+} - \sum S_{A^-} = 0 \quad (21)$$

gdzie $\sum S_{C^+}$ reprezentuje sumę stężeń wszystkich kationów w roztworze zaś $\sum S_{A^-}$ sumę stężeń wszystkich anionów. Jeśli przyjąć, że poszczególne składniki występują w równowadze kwasowo-zasadowej, to prowadzi to do równania algebraicznego uwikłanego, z którego można wyznaczyć stężenie jonów wodorowych za pomocą odpowiedniej procedury numerycznej [23].

6. Modelowanie fermentacji metanowej w bioreaktorach

W przypadku fermentacji w reaktorze z idealnym wymieszaniem (tzw. CSTR, ang. *Continuous Stirred Tank Reactor*) bilans składników w reaktorze ma postać:

$$\frac{d(VX)}{dt} = VNR(X) + F_{WE}X_{WE} - F_{WY}X_{WY} \quad (22)$$

gdzie V jest objętością czynną reaktora, F_{WE} natężeniem dopływu substratu do reaktora, F_{WY} natężeniem odpływu z reaktora, zaś X_{WE} i X_{WY} są wektorami stanu, podającymi stężenia poszczególnych komponentów odpowiednio w strumieniu wlotowym i wylotowym. N jest transformowaną macierzą współczynników bilansowych zaś $R(X)$ wektorem szybkości przemian mikrobiologicznych.

Dla stanu ustalonego ($F_{WE} = F_{WY} = F$, pochodne po czasie równe zero), równanie (22) sprowadza się do układu równań algebraicznych nieliniowych:

$$NR(X_{WY}) = \frac{F}{V}(X_{WY} - X_{WE}) \quad (23)$$

Dla określonego składu strumienia substratu dopływającego do reaktora, rozwiązanie układu (23) pozwala wyznaczyć skład strumienia wypływającego z reaktora – zarówno nieprzereagowanego substratu, metabolitów pośrednich jak i biomasy poszczególnych grup drobnoustrojów. Brak jest w literaturze przedmiotu formalnej analizy układu (23) wskazującej na obszar istnienia rozwiązania i dyskusji jednoznaczności rozwiązania.

W przypadku układów, w których nie można założyć idealnego wymieszania, równania bilansowe prowadzą do układu równań różniczkowych obrazującego przestrzenny rozkład substratów (tzw. modele o parametrach rozłożonych). Model ADM1 wykorzystano w opisie procesów przebiegających w warstwie biologicznej na powierzchni ciała stałego (w tzw. biofilmie) [24,25] jak i do modelowania reaktorów kolumnowych UASB (ang. *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) [26].

W przypadku fermentacji okresowej równanie (22) przyjmuje postać:

$$\frac{d(X)}{dt} = NR(X) \quad (24)$$

W tym przypadku, warunkiem uzyskania rozwiązania jest określenie warunków początkowych tzn. składu substratu i składu populacji drobnoustrojów na początku hodowli (dla $t = 0$). Określenie początkowego składu populacji drobnoustrojów uczestniczących w fermentacji metanowej jest trudne. W badaniach laboratoryjnych skład ten był wyliczany tak aby wyniki obliczeń wg modelu były zgodne z danymi doświadczalnymi [27,28]. W przypadku symulacji procesów okresowych w skali przemysłowej właściwa charakterystyka osadu beztlenowego sprawia dużą trudność. Brak jest obecnie jednoznacznych metod pomiarowych jak i analiz teoretycznych pozwalających rozstrzygnąć tę kwestię.

7. Modyfikacje i rozszerzenia modelu ADM1

Modyfikacje i rozszerzenia modelu podstawowego ADM1 mogą obejmować różne elementy:

- modyfikację struktury przemian mikrobiologicznych (rozszerzanie lub upraszczanie);
- równania kinetyczne (inne funkcje inhibicji, inne postacie równań kinetycznych);
- wartości parametrów kinetycznych i współczynników bilansowych modelu (zwłaszcza gdy model jest stosowany do opisu innych substratów niż osad nadmiarowy).

Jednym z istotnych uproszczeń modelu ADM1 jest opis fermentacji węglowodanów do lotnych kwasów organicznych. Szybkość fermentacji cukrów w etapie kwasotwórczym oraz rodzaj wytwarzanych produktów zależą od pH środowiska oraz ciśnienia cząstkowego wodoru. Model ADM1 nie uwzględnia ograniczeń termodynamicznych występujących w fermentacji metanowej. Standardowe potencjały termodynamiczne fermentacji prowadzącej do wodoru i lotnych kwasów tłuszczowych mają wartości większe od zera. Zatem przemiany te są możliwe jedynie, wtedy gdy stężenie wodoru jest na tyle niskie, że wartości potencjału termodynamicznego przemian są ujemne. Możliwe jest rozszerzenie równań kinetycznych opisujących fermentację wodorową tak, aby uwzględniały one ograniczenia termodynamiczne [29,30]. W modelu ADM1 przyjęto ustaloną stechiometrię przemian glukozy do lotnych kwasów organicznych. W rozszerzeniu opracowanym przez Rodrigeza i in. [11] zaproponowano zastąpienie stałych wartości współczynników bilansowych funkcją wyznaczoną doświadczalnie, ujmującą wpływ pH i stężenia wodoru.

Model ADM1 w wersji przedstawionej w Raporcie Naukowo-Technicznym nie uwzględnia kilku procesów, które mogą odgrywać istotną rolę w praktyce: redukcji siarczanów, przemiany fosforu i precypitacji składników mineralnych.

Uwzględnienie redukcji siarczanów wymaga znacznego rozbudowania modelu. Siarczany mogą być wykorzystywane jak akceptor elektronów w procesach utleniania lotnych kwasów tłuszczowych (propionowego, masłowego, octowego) jak również mogą reagować z wodorem powstającym podczas fermentacji. Siarkowodór, wytwarzany w wyniku redukcji siarczanów, hamuje wzrost drobnoustrojów. W rozszerzeniu modelu ADM1 uwzględniającym przemiany siarczanów [31] wprowadzono cztery dodatkowe grupy drobnoustrojów, które utleniają kwas masłowy, propionowy, octan oraz wodór, wykorzystując siarczany jako akceptory elektronów. Symulacje przeprowadzone za pomocą rozszerzonego modelu były zgodne z danymi doświadczalnymi dla stężeń siarczanów do 6 gS/dm^3 .

Inne rozszerzenie zaproponowali Parker i Wu [32] w próbie symulacji wydzielania odorów podczas fermentacji metanowej. Za główne składniki odorów autorzy uznali siarkowodór, merkaptan metylowy, siarczek metylu oraz lotne kwasy tłuszczowe i amoniak. Przyjęto, że powstające związki siarki są produktami rozkładu cy-

steiny i metioniny. Podstawowy model uzupełniono o bakterie redukujące siarczany, dodano 6 procesów mikrobiologicznych związanych z przetwarzaniem związków siarki oraz trzy procesy fizykochemiczne: desorpcję składników odorów do fazy gazowej, wytrącanie siarczków oraz równowagę ciecz-ciało stałe. Tak rozbudowany model posłużył do określenia wpływu średniego czasu przebywania w reaktorze przepływowym na szybkość wytwarzania odorów. Wyliczono, że w procesie termofilnym (55°C) będzie wydzielać się znacznie więcej siarkowodoru i amoniaku niż w procesie mezofilnym.

Fermentacji metanowej może towarzyszyć denitryfikacja, czyli redukcja azotanów i azotynów do azotu cząsteczkowego przeprowadzana przez organizmy heterotroficzne. W rozszerzeniu modelu ADM1 [28] przyjęto, że drobnoustrojami, które przeprowadzają denitryfikację są bakterie z grupy C4 tzn. asymilujące kwasy walearianowy, propionowy i masłowy. W równaniach kinetycznych uwzględniono limitowanie wzrostu przez azotany lub inne akceptory elektronów (azotyny, NO i N₂O). Wyniki modelowania były zgodne z danymi doświadczalnymi uzyskanymi w fermentacji okresowej.

W podstawowym wariantcie modelu ADM1 przyjmuje się jednostopniowy model hydrolizy substratu i brak wewnętrznego zróżnicowania poszczególnych grup drobnoustrojów. Możliwe jest uwzględnienie różnych szybkości rozkładu surowca poprzez jego podział na część łatwo hydrolizowaną i część trudno hydrolizowaną [33]. Z kolei podział metanogenów na dwie grupy o różnych szybkościach wzrostu, odpowiadające rodzajom Methanosarcina i Methanosaeta, umożliwił zbadanie dynamiki zmian populacji dla różnych średnich czasów przebywania w reaktorze przepływowym [33]. Można w ten sposób badać stabilność fermentacji metanowej, której wyznacznikiem jest tzw. pojemność octanowa zdefiniowana jako iloraz maksymalnej, w danych warunkach, szybkości zużywania octanu w metanogenezie do aktualnej szybkości wytwarzania octanu. Przyjmuje się, że stabilna praca reaktora przepływowego jest możliwa, gdy pojemność octanowa jest większa od jedności [19]. W symulacjach dokonanych za pomocą rozszerzonego modelu ADM1 wykazano, że w stanach nieustalonych, np. wywołanych zmianą przepływu w reaktorze lub zmianą obciążenia, zmienia się skład populacji metanogenów i zmienia się pojemność octanowa, co może prowadzić do zahamowania procesu.

Podjęto kilka prób uściślenia modelu ADM1 m.in. przyjmując za podstawę nie bilans ChZT w poszczególnych przemianach, ale bilans masy. Uwzględnienie kinetyki przemian kwasowo-zasadowych, kinetyki przemian gaz-ciecz i odrębne bilansowanie form zdysocjowanych i niezdisocjowanych prowadzi do modelu zawierającego 30 komponentów strukturalnych, 19 procesów biologicznych, 9 przemian kwasowo-zasadowych i trzy procesy transportu masy ciecz- gaz [10]. Uzyskano w ten sposób pełny, formalnie poprawny bilans masy i ładunku, ale kosztem zwiększenia: 1) złożoności modelu, 2) liczby parametrów oraz 3) trudności obliczeniowych. Porównanie wyników symulacji przebiegu fermentacji w reaktorze przepływowym za pomocą modelu podstawowego oraz dwóch rozszerzeń uwzględniających pełny bi-

lans elementarny prowadzi do wniosku, że rozszerzenia modelu niekoniecznie prowadzą do znaczącego poprawienia dokładności [13]. Wyniki obliczeń różniły się nie więcej niż o 10%. W porównaniu z danymi doświadczalnymi we wszystkich używanych modelach uzyskiwano mniejsze ilości produkowanego metanu, a za to większe zawartości dwutlenku węgla w biogazie i mniejsze stężenia węglanów w cieczy.

W niektórych zastosowaniach model ADM1 można uznać za zbyt skomplikowany. Dla przykładu w przypadku fermentacji osadu nadmiarowego nie ma potrzeby tak szczegółowego specyfikowania produktów hydrolizy substratu – można wprowadzić jeden komponent reprezentujący produkty hydrolizy [34]. Można również uprościć schemat przemian mikrobiologicznych poprzez pominięcie odrębnych przemian kwasu masłowego i walerianowego [19]. Takie uproszczone modele zostały wykorzystywane m.in. do symulacji przebiegu procesów w reaktorach kolumnowych (np. UASB), których opis matematyczny jest bardziej złożony niż reaktorów z idealnym wymieszaniem [35]. Z kolei w symulacji dynamiki wytwarzania biogazu w reaktorze przepływowym wystarczający okazał się uproszczony model uwzględniający tylko dwie grupy drobnoustrojów [36].

8. Zastosowania modelu

Model ADM1 tworzony był przede wszystkim do opisu fermentacji metanowej osadów w oczyszczalni ścieków. Zastosowania modelu, wraz z wartościami parametrów rekomendowanych w Raporcie Naukowo-Technicznym, do symulacji pracy komór fermentacyjnych w oczyszczalniach ścieków dały dobrą zgodność obliczeń z danymi z działających instalacji [37,38]. Różnice pomiędzy przewidywaną dla stanów ustalonych w aparatach przepływowych i zmierzoną wydajnością biogazu i stopniem rozkładu zawieszin nie przekraczały 10%, co w przypadku danych przemysłowych można uznać za zadowalającą dokładność. Na dokładność symulacji istotny wpływ ma określenie zawartości frakcji biodegradowalnej w surowych osadach. Wyznaczone w obliczeniach modelowych stężenia lotnych kwasów tłuszczowych były większe od wartości zmierzonych w instalacjach przemysłowych w przypadku krótszych czasów przebywania w reaktorach (poniżej 36 dni) [38]. Jest to prawdopodobnie wynikiem przyjęcia zbyt silnej zależności opisującej hamujący wpływ odczynu (pH) na przebiegu fermentacji. Dobra zgodność wyników symulacji z danymi przemysłowymi spowodowała, że model ADM został włączony do istniejących uprzednio pakietów symulacji procesów w oczyszczalniach ścieków [17,39-42].

We wszelkich zastosowaniach modelu ADM1 zasadnicze znaczenie ma właściwa charakterystyka substratu tzn. określenie wartości ChZT, zawartości węglowodanów, tłuszczów, białek oraz substancji obojętnych. Niedokładności w wyznaczeniu tych wielkości mają duży wpływ na wyniki obliczeń. Opracowano metodykę wyznaczenia odpowiednich wartości niezbędnych w modelu na podstawie typowych po-

miarów dokonywanych dla ścieków (Chemiczne Zapotrzebowanie Tlenu, Ogólny Węgiel Organiczny, Azot Organiczny, alkaliczność) [43].

Model ADM1 wykorzystywany był nie tylko do symulacji pracy pojedynczych bioreaktorów, ale również kaskad dwustopniowych [44]. W przypadku kaskady składającej się z reaktora termofilnego i mezofilnego, model podstawowy został uzupełniony o równania bilans węgla nieorganicznego i azotu. Na podstawie danych doświadczalnych wyznaczono wartości 8 parametrów modelu w temperaturach 35 i 55°C, wartości pozostałych parametrów modelu przyjęto zgodnie z Raportem Technicznym. Uzyskano dobrą zgodność wyników symulacji z danymi doświadczalnymi. Warto podkreślić, że uzyskana zgodność wynika m.in. z wyznaczenia parametrów procesu dla zakresu termofilnego. W innych obliczeniach, w których zastosowano standardowe wartości parametrów z Raportu Naukowo-Technicznego nie uzyskano tak dobrej zgodności z doświadczeniami [38].

W jednej z analizowanych instalacji przemysłowych ścieki z papierni przerabiane były w kaskadzie dwustopniowej składającej się z reaktora zbiornikowego, w którym zachodził etap kwasotwórczy, oraz reaktora kolumnowego z osadem zawieszonym (UASB). Głównym źródłem kłopotów technicznych było wysokie stężenie jonów wapnia w ściekach, co prowadziło do wytrącania węglanu wapnia w przewodach zasilających i w reaktorze. W efekcie nakłady na czyszczenie instalacji znacznie podnosiły koszty oczyszczania ścieków. Model ADM1 został wykorzystany do analizy wpływu jaki może mieć na przebieg procesu dodatek kwasu solnego w celu przeciwdziałania wytrącaniu węglanu wapnia [18]. W obliczeniach modelowych, potwierdzonych danymi doświadczalnymi, wskazano, że proponowana metoda będzie nieskuteczna.

W przypadku fermentacji odpadów z fabryki żelatyny, znaczna zawartość związków azotu w surowcu powodowała hamowanie wzrostu drobnoustrojów przez amoniak powstający w wyniku przemian mikrobiologicznych. Model ADM1 posłużył do sprawdzenia czy zmiana temperatury fermentacji z 35 na 55°C zwiększy stabilności procesu i zwiększy wydajności produkcji biogazu [18]. W symulacji za pomocą modelu ADM1 wykazano, że podwyższenie temperatury procesu w nieznacznym stopniu zmniejszy efekt hamowania amoniakiem. Również nie należało się spodziewać wzrostu wydajności biogazu w badanym układzie. W obliczeniach wykazano, że w warunkach mezofilnych następowała pełna hydroliza surowca, zatem zwiększanie szybkości hydrolizy w wyniku zwiększenia temperatury nie mogło mieć istotnego wpływu na przebieg procesu.

Podane przykłady dobrze ilustrują jeden z obszarów wykorzystania modelowania matematycznego procesów mikrobiologicznych. Obliczenia symulacyjne pozwoliły na rozstrzygnięcie pewnych zagadnień technologicznych bez konieczności wykonywania kosztownych i długotrwałych eksperymentów laboratoryjnych lub często jeszcze bardziej kosztownych badań w skali przemysłowej [18]. Można też wykorzystać modelowanie fermentacji metanowej do analizy i wyboru najbardziej odpowiedniego reaktora do prowadzenia procesu [45] lub optymalizacji pracy instalacji [46].

Warto zauważyć, że mimo iż model ADM1 jak i jego praktyczne aplikacje dotyczą przede wszystkim fermentacji metanowej osadów nadmiarowych z oczyszczalni ścieków to zastosowanie modelu do opisu procesu fermentacji innych odpadów, np. ścieków z sanitariatów [45], wytlóków oliwnych [47] oraz tzw. kofermentacji, daje równie dobre wyniki [46].

9. Podsumowanie

Model ADM1 jest złożonym, strukturalnym, ilościowym opisem przemian fermentacji metanowej. Prezentuje kompromisowe rozwiązanie: z jednej strony jest wystarczająco złożony aby symulować wiele zjawisk, a z drugiej zawiera wiele uproszczeń, ułatwiających jego wykorzystanie. Na podstawie dotychczasowych doświadczeń wskazuje się, że model ADM1 jest bardzo użytecznym narzędziem pozwalającym na symulacje procesu w różnych warunkach i badanie wpływu wybranych czynników na przebieg fermentacji. Może być traktowany jako punkt wyjściowy zarówno do uproszczeń jak i rozszerzeń w symulacji fermentacji różnorodnych substratów w różnych reaktorach. Prace nad rozwojem modelu ADM1 ukierunkowane są obecnie na wyznaczenie wartości parametrów kinetycznych dla różnych substratów, dokładniejszy ilościowy opis rozpadu biomasy drobnoustrojów, wyznaczenie dokładniejszych zależności parametrów kinetycznych od temperatury.

Praca finansowana była w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Informatyzacji 3T09C 004 27.

Wykaz oznaczeń

- F – natężenie przepływu
- f – współczynnik stechiometryczny
- I – funkcja inhibicji
- K_S – stała nasycenia
- k – stała kinetyczna
- k_d – stała rozpadu biomasy
- k_h – stała szybkości hydrolizy
- k_m – maksymalna właściwa szybkość wzrostu
- m_{ChZT} – wartość ChZT jednostki masy surowca
- M_C – masa węglomola
- N – macierz współczynników bilansowych
- $n_{i,j}$ – element macierzy współczynników bilansowych
- Q – objętość wytwarzanego biogazu
- Q_{max} – maksymalna ilość biogazu powstająca z danego surowca
- R – szybkość przemian
- S – stężenie komponentów rozpuszczalnych

- V – objętość czynna reaktora
 X – stężenie komponentów nierozpuszczalnych
 Y_i – współczynnik wydajności biomasy
 Γ – bezwzględny stopień redukcji

Indeksy:

- aa – aminokwasy
 ac – kwas octowy
 bu – kwas masłowy
 C – substrat całkowity
 ch – węglowodany
 fa – kwasy tłuszczowe
 H_2 – wodór
 NH_3 – amoniak
 li – tłuszcze
 pr – białka
 pro – kwas propionowy
 su – cukry proste
 va – kwas walerianowy
 WE – dopływ do reaktora
 WY – wpływ z reaktora

Literatura

1. Szewczyk K. W., Sobieszuk P., (2005), Inż. Aparat.Chem., 44, 105-106.
2. Szewczyk K. W., (2006), Przem. Chem., 85, 1321-1323.
3. Vavilin V. A., Rytov S. V., Lokshina L. Y., (1996), Bioresource Technol., 56, 229-237.
4. Gavala H. N., Angelidaki I., Ahring B. K., (2003), Adv. Biochem. Eng. Biotechnol., 81, 57-93.
5. Batstone D. J., Keller J., Angelidaki I., Kalyuzhnyi S. V., Pavlostathis S. G., Rozzi A., Sanders W. T. M., Siegrist H., Vavilin V. A., (2002), Wat. Sci. Technol., 45, 65-73.
6. Batsone D. J., Keller J., Angelidaki I., Kalyuzhnyi S. V., Pavlostathis S. G., Rozzi A., Sanders W. T. M., Siegrist F. H., Vavilin V. A., (2002), *Anaerobic Digestion Model no 1 (ADM1)*, IWA Publishing, London.
7. Schlegel H. G., (2004), *Mikrobiologia ogólna*, PWN, Warszawa.
8. Szewczyk K. W., (2000), *Bilansowanie i kinetyka procesów biochemicznych*, Oficyna Wydawnicza PW, Warszawa.
9. Szewczyk K. W., (2002), Biotechnologia, 57, 15-32.
10. de Gracia M., Sancho L., Garcia-Heras J. L., Vanrolleghem P., Ayesa E., (2006), Wat.Sci.Technol., 53, 225-240.
11. Rodriguez J., Lema J. M., van Loosdrecht M. C. M., Kleerebezem R., (2006), Wat. Sci. Technol., 54, 101-110.
12. Tsao G. T., Yang C. H., (1976), Biotechnol.Bioeng., 18, 1827-1831.
13. Huete E., de Gracia M., Ayesa E., Garcia-Heras J. L., (2006), Wat. Sci. Technol., 54, 157-166.
14. Christ O., Wilderer P. A., Angerhofer R., Faulstich M., (2000), Wat. Sci. Technol., 41, 61-65.
15. Sanders W. T. M., Geerink M., Zeeman G., Lettinga G., (2000), Wat. Sci. Technol., 41, 17-24.

16. Dimock R., Morgenroth E., (2006), *Water Res.*, 40, 2064-2074.
17. Rosen C., Vrecko D., Gernaey K. V., Pons M. N., Jeppsson U., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 11-19.
18. Batstone D. J., Keller J., (2003), *Wat. Sci. Technol.*, 47, 199-206.
19. Siegrist H., Vogt D., Garcia-Heras J. L., Gujer W., (2002), *Environ. Sci. Technol.*, 36, 1113-1123.
20. Blumensaat F., Keller J., (2005), *Water Res.*, 39, 171-183.
21. Batstone D. J., Keller J., Steyer J. P., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 1-10.
22. Jeong H-S., Suh C-W., Lim J-L., Lee S-H., Shin H-S., (2005), *Bioproc. Biosys. Eng.*, 27, 81-89.
23. Smith S. A., Chen S., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 21-29.
24. Batstone D. J., Keller J., Blackall L. L., (2004), *Water Res.*, 38, 1390-1404.
25. Picioreanu C., Batstone D. J., van Loosdrecht M. C. M., (2005), *Wat. Sci. Technol.*, 52, 501-507.
26. Batstone D. J., Hernandez J. L. A., Schmidt J. E., (2005), *Biotechnol. Bioeng.*, 91, 387-391.
27. Kalyuzhnyi S. V., (1997), *Bioresource Technol.*, 59, 249-258.
28. Tugtas A. E., Tezel U., Pavlostathis S. G., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 41-49.
29. Kleerebezem R., Stams A. J. M., (2000), *Biotechnol. Bioeng.*, 67, 529-543.
30. Kleerebezem R., van Loosdrecht M. C. M., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 51-57.
31. Fedorovich V., Lens P., Kalyuzhnyi S., (2003), *Appl. Biochem. Biotechnol*, 109, 33-45.
32. Parker W. J., Wu G. H., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 111-117.
33. Straub A. J., Conklin A. S. Q., Ferguson J. F., Stensel H. D., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 59-66.
34. Sotemann S. W., van Rensburg P., Ristow N. E., Wentzel M. C., Loewenthal R. E., Ekama G. A., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 109-117.
35. Batstone D. J., (2006), *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 5, 57-71.
36. Bernard O., Chachuat B., Helias A., Rodriguez J., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 53, 85-92.
37. Shang Y., Johnson B. R., Sieger R., (2005), *Wat. Sci. Technol.*, 52, 487-492.
38. Parker W. J., (2005), *Bioresource Technol.*, 96, 1832-1842.
39. Rabaey K., Ossieur W., Verhaege M., Verstraete W., (2005), *Wat. Sci. Technol.*, 52, 515-523.
40. Zaher U., Grau P., Benedetti L., Ayesa E., Vanrolleghem P. A., (2007), *Environ. Modell. Software*, 22, 40-58.
41. Vanrolleghem P. A., Rosen C., Zaher U., Copp J., Benedetti L., Ayesa E., Jeppsson U., (2005), *Wat. Sci. Technol.*, 52, 493-500.
42. Vrecko D., Gernaey K. V., Rosen C., Jeppsson U., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 65-72.
43. Kleerebezem R., van Loosdrecht M. C. M., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 167-174.
44. Lin C.-Y., Chen C.-C., (1999), *Water Res.*, 33, 409-416.
45. Elmitwalli T., Feng Y. C., Behrendt J., Otterpohl R., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 53, 45-54.
46. Feng Y., Behrendt J., Wendland C., Otterpohl R., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 53, 253-263.
47. Kalfas H., Skiadas I. V., Gavala H. N., Stamatelatos K., Lyberatos G., (2006), *Wat. Sci. Technol.*, 54, 149-156.