

KRZYSZTOF W. SZEWCZYK
TOMASZ NOWAKOWSKI

Wydział Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Politechnika Warszawska, Warszawa

Mikrobiologiczne wytwarzanie wodoru z glicerolu

Wprowadzenie

Wodór uważany jest za paliwo XXI wieku [1]. Zarówno spalanie wodoru, jak i zużywanie w ogniwach paliwowych nie powoduje emisji zanieczyszczeń do środowiska. Jednakże obecnie wodór jest produkowany z węglowodorów i węgla [2], co przyczynia się do zanieczyszczenia środowiska i emisji dwutlenku węgla. Jednym z rozwiązań pozwalających na ekologiczną produkcję wodoru jest zastosowanie metod biologicznych, wśród których zdecydowanie największe szanse praktycznego wykorzystania ma tzw. ciemna fermentacja wodorowa [3]. W wyniku przemian mikrobiologicznych węglowodany przekształcane są do wodoru i lotnych kwasów tłuszczowych. W warunkach przemysłowych korzystne jest prowadzenie fermentacji wodorowej przy pomocy mieszanych populacji drobnoustrojów, które umożliwiają wykorzystanie różnych substratów [4]. W środowiskach naturalnych bakterie fermentacji wodorowej występują w symbiozie z metanogenami archeonami asymilującymi wodór. Powszechnym sposobem usunięcia metanogenów z osadu beztlenowego jest metoda termiczna polegająca na zagrzaniu osadu powyżej 80°C. Wykorzystuje się fakt, iż metanogeny nie wytwarzają przetrwalników są zatem niszczone w podwyższonej temperaturze. Bakterie zdolne do wytwarzania wodoru z węglowodanów (głównie do rodzaju *Clostridium*, *Bacillus* i *Thermoanaerobacterium*) wytwarzają przetrwalniki i zostają zachowane [5].

Fermentacja wodorowa wraz z fermentacją metanową są rozpatrywane jako techniki efektywnego zagospodarowania różnego typu odpadów. Jednym z takich odpadów wymagających zagospodarowania jest frakcja glicerynowa powstająca podczas produkcji biodiesla z olejów roślinnych. W niniejszej pracy podjęto próbę uzyskania drobnoustrojów zdolnych do fermentacji glicerolu i sprawdzenia możliwości ich wykorzystania w bioreaktorach.

Materiały i metody

W badaniach wykorzystano osad beztlenowy stosowany do prowadzenia fermentacji metanowej, hodowany w *Laboratorium Bioprocessów PW*. Jako pożywkę stosowano wodny roztwór glicerolu o stężeniu 8,67 g/dm³ uzupełniony o składniki mineralne: (NH₄)₂CO₃ (2,5 g/dm³), K₂HPO₄ (0,1 g/dm³), MgSO₄·7 H₂O (0,1 g/dm³), pH pożywki wynosiło 8,6. Jako pożywkę kontrolną zastosowano roztwór zawierający zamiast glicerolu 20 g/dm³ glukozy.

Skład gazu oznaczano za pomocą chromatografu gazowego *Shimadzu GC-14B* z kolumną *Carboxen 1010 PLOT*. Jako gaz nośny używany był czysty azot. Chemiczne Zapotrzebowanie Tlenu (ChZT) oraz stężenie lotnych kwasów tłuszczowych

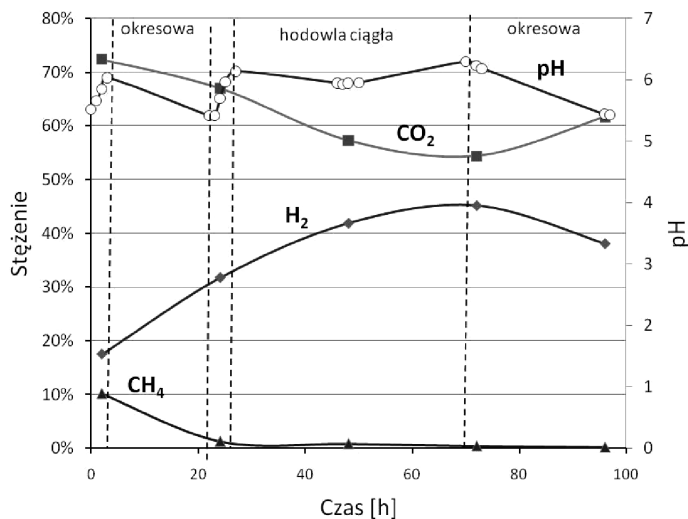
(LKT) oznaczano za pomocą zestawów *Nanonocolor* (*Macherey-Nagel GmbH*, Niemcy).

Selekcja drobnoustrojów

W pierwszej kolejności wypróbowano metodę termiczną. Zawiesinę osadu beztlenowego (1,75 dm³) zakwaszono do pH = 3,30 za pomocą 12% HCl, a następnie termostatowano w temperaturze 80°C przez 1 godzinę. Po 24 godzinach osad zobojętniono za pomocą NaOH do pH = 7,00. Następnie osad był przenoszony do kolb z pożywkami. W przypadku pożywki zawierającej glukozę zaobserwowano po 10 dniach wytwarzanie gazu. Gaz zawierał 22% wodoru i 78% dwutlenku węgla. Redukcja ChZT wyniosła ok. 17% co odpowiada wydajności 2 mole H₂/mol glukozy.

W przypadku pożywki zawierającej glicerol nie stwierdzono wytwarzania gazu. Można zatem wnioskować, że w badanym osadzie nie występowały drobnoustroje, które wytwarzają przetrwalniki i są zdolne do fermentacji glicerolu.

Dane literaturowe wskazują, że drobnoustroje wytwarzające wodór mają większą właściwą szybkość wzrostu niż organizmy metanogenne [6]. Przeprowadzono zatem ciągłą hodowlę osadu czynnego w reaktorze laboratoryjnym w *BIO-STAT® B* o objętości 2 dm³. Hodowlę prowadzono w temperaturze 25°C na pożywce z glicerolem, częstość obrotów mieszadła wynosiła 75 obr/min. Na początku zastosowano średni czas przebywania cieczy 8 h. Po 3 godzinach wyłączone zasilanie i prowadzono hodowlę okresową przez kolejnych 20 godzin. Następnie wznowiono zasilanie pożywką i prowadzono przez 4 godziny hodowlę ciągłą ze średnim czasem przebywania cieczy 8 h. Następnie zmniejszono natężenie przepływu

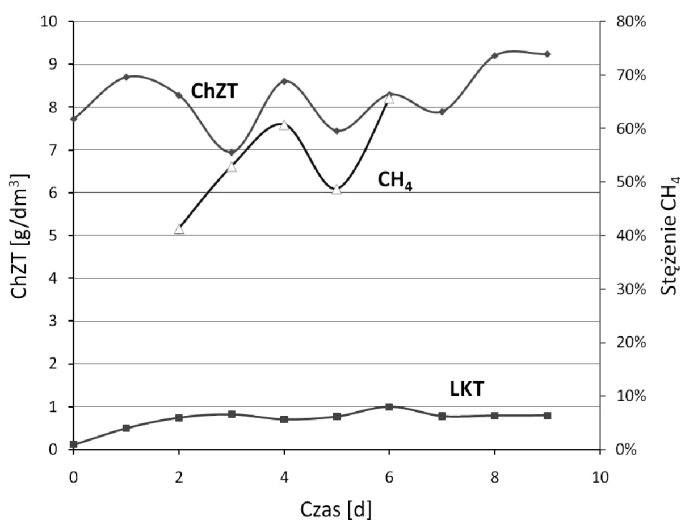


Rys. 1. Przebieg hodowli selekcyjnej. Opis w tekście

pożywki tak by średni czas przebywania wynosił 12 godzin. W takich warunkach prowadzono hodowlę ciągłą przez 40 godzin. W końcowym okresie hodowli ciągłej uzyskano zawartość metanu w produkowanym gazie równą 0,4% zaś stężenie wodoru osiągnęło wartość 45%. Następnie prowadzono hodowlę okresową przez kolejne 24 godziny. Uzyskana w ten sposób populacja drobnoustrojów zdolnych do fermentacji glicerolu została wykorzystana jako inokulum w reaktorze kolumnowym. Na rys. 1 przedstawiono zmiany stężenia metanu i wodoru podczas doświadczenia. Liniami przerywanymi oznaczono kresy hodowli ciągłej i hodowli okresowej.

Hodowla w reaktorze kolumnowym

W badaniach użyto reaktor kolumnowy typu UASB o pojemności czynnej 6 dm³ wykonany z polichlorku winylu. Wysokość części czynnej wynosiła 700 mm a średnica 100 mm (średnica górnego separatora gazu 120 mm).



Rys. 2. Przebieg fermentacji w reaktorze UASB

W reaktorze prowadzono hodowle sekwencyjne. Pożywkę w ilości 2 dm³ podawana była raz na dobę. Średni czas przebywania cieczy w reaktorze kolumnowym wynosił 72 godz.

Na rys. 2 przedstawiono wyniki fermentacji w reaktorze kolumnowym. Uzyskano przeciętną redukcję ChZT o 22%. Stężenie wodoru w gazie wynosiło od 40 do 65%. Stężenie LKT w odcieku z kolumny wynosiło 0,8–1,0 g/dm³. Przeciętna wartość współczynnika wydajności wodoru względem glicerolu wprowadzanego reaktora wyniosła 0,49 dm³ H₂/g.

Wnioski

Metoda termiczna pozwala na selekcję mikroorganizmów produkujących wodór z glukozy. Otrzymane w ten sposób mikroorganizmy nie są zdolne do korzystania z glicerolu jako źródła węgla.

Hodowla ciągła jest skuteczną metodą pozwalającą na selekcję mikroorganizmów produkujących wodór z glicerolu. Czas przebywania pozwalający na wymycie metanogenów z kultury wyjściowej wynosi 12 godzin.

W reaktorze typu UASB uzyskano wydajność wodoru względem dodawanego do reaktora glicerolu równą 0,49 dm³/g.

LITERATURA

1. B. Johnston, M.C. Mayo, A. Khare: *Technovation*, **25**, nr 6, 569 (2005).
2. W.C. Lattina, V.P. Utgikarb: *Int. J. Hydrogen Energy* **32**, nr 15, 3230 (2007).
3. K.W. Szewczyk: *Post.Mikrobiol.* **47**, nr 3, 241 (2008).
4. G. Davila-Vazquez, S. Arriaga, F. Alariste-Mondragón, A. León-Rodríguez, L.M. Rosales-Colunga, E. Razo-Flores: *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* **7**, nr 1, 27 (2008).
5. H. Zhu, M. Bcland: *Int. J. Hydrogen Energy* **31**, nr 14, 1980 (2006).
6. I.Hussy, F.R. Hawkes, R. Dinsdale, D.L. Hawkes: *Int. J. Hydrogen Energy* **30**, nr 5, 471 (2005).

Praca finansowana była przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu rozwojowego nr N R12 0041 04.

INŻYNIERIA I APARATURA CHEMICZNA

Czasopismo naukowo-techniczne

- poświęcone problemom obliczeń procesowych i zagadnieniom projektowo-konstrukcyjnym aparatury i urządzeń dla przemysłów przetwórczych, w tym szczególnie dla przemysłu chemicznego, jak również dla energetyki, gospodarki komunalnej i ochrony środowiska;
- prezentujące procesy i operacje jednostkowe w aspekcie poprawy wydajności, lepszego wykorzystania surowców, oszczędności energii, ochrony środowiska; omawiające badania naukowe, nowe lub ulepszone konstrukcje oraz właściwą eksploatację i obsługę aparatów i urządzeń;
- przeznaczone dla pracowników badawczych, projektantów, konstruktorów, a także menadżerów i inżynierów ruchomych.

Artykuły główne są recenzowane przez specjalistów.