ZESZYTY NAUKOWE POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ

Nr 118 Inżynieria Sanitarna z. 6 1964

JERZY CHMIELOWSKI, ANTONI FRANZ

FERMENTACJA METANOWA DWUTLENKU WĘGLA W OBECNOŚCI WODORU

Szczególną cechą fermentacji metanowej jest wytwarzanie gazu fermentacyjnego z różnych substancji wyjściowych. Głównym składnikiem tego gazu jest metan i dwutlenek węgla. Występowanie tych produktów nie zależy od struktury substratów, zmieniać się może natomiast stosunek CH_4 i CO_2 w gazie zależnie od rodzaju fermentowanych związków. Próbę wyjaśnienia tego zastanawiającego fenomenu podał Van NIEL [1]. Stwierdził on, że utlenienie substratu w fermentacji metanowej jest sprzężone z redukcją dwutlenku węgla do metanu. Zgodnie z tym poglądem fermentację substancji organicznych lub niektórych związków nieorganicznych, należy uważać za utlenienie z udziałem CO_2, które przebiega zgodnie z równaniem:

$$4\ H_2A + CO_2 \longrightarrow 4\ A + CH_4 + 2\ H_2O \qquad (1)$$

w którym H_2A oznacza drobinę związku utlenianego zaś A produkt tego utlenienia [3].

BARKER [2] zwrócił uwagę na wymagania bakterii metanowych dotyczące obecności dwutlenku węgla w środowisku fermentacyjnym. W zasadzie zjawisko to jest powszechne i większość drobnoustrojów potrzebuje niewielkich ilości tego związku dla normalnego rozwoju. Bakterie metanowe zużywają jednak znaczne ilości CO_2, który jest głównym substratem metabolizmu i przemian energetycznych.

Jako fermentację określa się zwykle proces rozszczepienia drobiny substratu na fragmenty, z których część ulega utlenieniu inna zaś redukcji. Z tego punktu widzenia prosta drobina dwutlenku węgla nie wydaje się być dogodnym substratem fermentacji. Reprezentuje najbardziej utleniony związek węglowy. Jeżeli jednak zastosuje się szerszą definicję fermentacji jako beztlenowej przemiany oksydoredukcyjnej - bioche-

miczna redukcja CO_2 do CH_4 pojawia się w nowym świetle. Wyjaśnia się tworzenie metanu jako końcowego, najsilniej zredukowanego węglowego produktu procesów oksydoredukcyjnych.

Zjawiskiem redukcji CO_2 do CH_4 zajmowano się od początku stulecia. SÖHNGEN [4] stwierdził istnienie procesu, w którym wzbogacone kultury niektórych beztlenowców powodowały fermentację wodoru w obecności dwutlenku węgla. To klasyczne spostrzeżenie można przedstawić przez równanie:

$$4\ H_2 + CO_2 \longrightarrow CH_4 + 2\ H_2O \qquad (2)$$

Obserwacje SÖHNGENa [4] uzupełnione przez badania BARKERa [5] oraz KLUYVERa i SCHNELLENa [6] dały doświadczalne podstawy obecnie przyjmowanym hipotezom metanogenezy, sformułowanym przez BARKERa [7].

Wydawałoby się, że najprostszy mechanizm przemiany CO_2 w CH_4 polega na kilkustopniowej redukcji dwutlenku węgla z utworzeniem mrówczanu lub tlenku węgla, formaldehydu i metanolu jako kolejnych produktów pośrednich. Nikłą sugestię występowania takiej sekwencji dały prace STEPHENSON i STICKLANDa [8]. Izolowane przez nich bakterie metanowe zawierały hydrogenezę. Cechowały się zdolnością redukowania dwutlenku i tlenku węgla, mrówczanu, formaldehydu i metanolu do metanu w obecności gazowego wodoru jako reduktora. Doświadczenia te jednak nie dostarczyły jakiegoś zasadniczego dowodu istnienia sekwencji podanych związków w procesie redukcyjnym. Tlenek węgla, formaldehyd i metanol redukowały się zbyt wolno, aby można je było uznać za produkty pośrednie w tym metabolizmie. Mrówczan natomiast rozkładał się do wodoru i tlenku węgla szybciej niż tworzył się metan z tego substratu. Późniejsze badania KLUYVERa i SCHNELLENa [6] nad fermentacją związków jednowęglowych w obecności wodoru przez czyste kultury bakterii metanowych dowiodły, że w mieszaninie CO i H_2 przebiega reakcja:

$$CO + 3\ H_2 \longrightarrow CH_4 + H_2O \qquad (3)$$

Stwierdzono, że reakcja ta przebiega dwustopniowo, z wytworzeniem dwutlenku węgla jako produktu pośredniego:

$$CO + H_2O \longrightarrow CO_2 + H_2 \qquad (4)$$

W obecności dostatecznej ilości molekularnego wodoru produkt pośredni - CO_2 - całkowicie zanika wskutek reakcji wtórnej:

$$CO_2 + 4\,H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O \qquad (2)$$

Na szczególną uwagę zasługuje zdolność czystych kultur Methanosarcina barkerii do fermentowania tlenku węgla nawet bez dodatkowego dostarczania gazowego wodoru, chociaż związek ten jest wybitnie toksyczny dla większości organizmów żywych. Doświadczenia doprowadziły więc do zaskakującego wniosku, że dwutlenku węgla jest produktem pośrednim w fermentacji tlenku węgla.

Zawiesiny Methanobacillus omelianskii powodowały szybką redukcję CO_2 natomiast nie były zdolne do redukowania innych związków jednowęglowych z istotną szybkością. Methanosarcina barkerii powodowała fermentację metanolu, octanu oraz tlenku i dwutlenku węgla - nie redukowała natomiast mrówczanu i formeldehydu. Methanobacterium formicicum fermentowało tlenek węgla i mrówczan oraz redukowało CO_2 w obecności wodoru. Drobnoustrój ten nie był jednak zdolny do redukcji formaldehydu i metanolu. Methanococcus vannielii wykazywał zdolność atakowania mrówczanu i wodoru [9]. Obserwacje te jednoznacznie wyłączyły mrówczas, tlenek węgla, formaldehyd i metanol jako produkty pośrednie w redukcji CO_2 do metanu. Nie wykluczyło to oczywiście faktu, że związki te z wyjątkiem być może formaldehydu, podlegają metabolizmowi przez niektóre gatunki bakterii metanowych. Jest jednak zupełnie pewne, że związki jednowęglowe nie są produktami pośrednimi w fermentacji metanowej.

Ciekawe zastosowanie biochemicznej redukcji CO_2 do metanu w technice wzbogacania i detoksykacji gazu świetlnego pochodzi z prac FISCHERa i współpracowników [10]. Badali oni za-

chowanie się wzbogaconych mieszanych kultur bakterii metanowych względem mieszanin CO i H_2 zawartych w gazie świetlnym. Stwierdzili, że w początkowym stadium procesu część CO zanikała bez ekwiwalentnego wytworzenia CH_4 lub CO_2. Mogło to oznaczać, że tworzy się jakiś nie gazowy produkt pośredni. W dalszych badaniach [11] stwierdzono, że kwas octowy jest stale występującym produktem pośrednim tej konwersji mieszanin gazowych przez wzbogacone populacje bakterii beztlenowych.

Inny ważny przyczynek do poznania mechanizmu redukcji dwutlenku węgla pochodzi z prac WIERINGA [12]. Prowadził on wnikliwe studia konwersji mieszanin CO_2 i H_2 do metanu przez wzbogacone kultury beztlenowców zawierające bakterie metanowe. Stwierdził również występowanie kwasu octowego jako produktu okresowo gromadzącego się w środowiksu fermentacyjnym. Okazało się jednak, że źródłem tego związku był nieoczekiwanie stwierdzony proces powodowany przez zarodnikujące bakterie beztlenowe, nie wytwarzające metanu, które nazwano C l o s t r i d i u m a c e t i c u m. W wzbogaconych kulturach wytwarzanie metanu było więc wywołane przez dwie konsekutywne reakcje. Pierwsza z nich, spowodowana przez C l. a c e t i c u m przebiegała zgodnie z równaniem:

$$2\ CO_2 + 4\ H_2 \longrightarrow CH_3\ COOH + 2\ H_2O \qquad (5)$$

Dalszą fermentację wywoływały rzeczywiste bakterie metanowe:

$$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2 \qquad (6)$$

Wydawałoby się, że te stwierdzenia WIERINGA [12] pozwalają wątpić w zdolność czystych kultur bakterii metanowych do bezpośredniej konwersji CO_2 i H_2 w metan zgodnie z równaniem:

$$CO_2 + 4\ H_2 \longrightarrow CH_4 + 2\ H_2O \qquad (2)$$

KLUYVER I SCHNELLEN [6] oraz BARKER [5, 7, 9] wykazali jednak, że liczne gatunki bakterii metanowych w sposób rzeczywiście bezpośredni redukują dwutlenek węgla w obecności wodoru do metanu. Methanosarcina barkerii i Methanobacterium formicicum redukują tlenek i dwutlenek węgla w mieszaninach z wodorem. Methanobacillus omelianskii redukuje tylko CO_2, nie jest natomiast zdolny do atakowania tlenku węgla. Ta niezdolność Mbac. omelianskii wyklucza CO jako produkt przejściowy w fermentacyjnej redukcji CO_2. W sposób pośredni obserwacja ta stwierdza, że bakterie metanowe, które atakują CO przemieniają ten związek w dwutlenek węgla i wodór z udziałem wody.

Konfrontacja wspomnianych obserwacji z badaniami FISCHERa [10, 11] i WIERINGA [12] prowadzi do stwierdzenia, że kwas octowy musiał pochodzić z przypadkowej, równoczesnej obecności Clostridium aceticum w środowisku fermentacyjnym. Kwas octowy nie jest więc produktem pośrednim redukcji CO_2 w CH_4.

Z badań BARKERa [5] wynika, że szybkość redukcji dwutlenku węgla przy stałym ciśnieniu cząstkowym tego związku jest niezależna od pH w przedziale 5,8 do 7,4. Jeżeli jednak stężenie CO_2 zmniejsza się przy wzroście stężenia jonu HCO_3^- w granicach pH 6,4 do 8,4 - szybkość reakcji ulega zmniejszeniu. Oznacza to, że dwutlenek węgla, a nie jon kwaśnego węglanu jest substratem redukcji. W zakresie pH 6,0 do 7,8 związek ten reaguje z systemem enzymatycznym bakterii metanowych zaś stężenie CO_2 określa szybkość reakcji.

Użycie radioaktywnego CO_2 przez BARKERa i in. [3] dostarczyło ciekawych obserwacji o pochodzeniu węgla zużywanego przez Methanobacillus omelianskii do syntez komórkowych. Stwierdzono, że radioaktywny CO_2 ulegał przemianie w radioaktywny CH_4 i materiał komórkowy, który zawierał około 1,5% ogólnej ilości zredukowanego węgla. Podobny wynik uzyskano również dla Methanosarcina barkerii [3].

Zastosowanie chromotografii gazowej przez CHMIELOWSKIego i ISAACA [13, 14] do badania przebiegu biochemicznej redukcji CO_2 do CH_4 molekularnym wodorem, umożliwiło przeprowadzenie pierwszych prób wyznaczenia kinetyki tego procesu [15] Wydawało się jednak pożądane dokładne zbadanie dynamiki fermentacyjnej przemiany dwutlenku węgla w metan w zależności od czasu aklimatyzacji, stężenia CO_2 oraz objętości masy

fermentacyjnej w kontakcie z fazą gazową. Obserwacje te należało przeprowadzić przy pomocy wzbogaconych, mieszanych populacji bakteryjnych spotykanych w technice fermentacji metanowej. Użycie metody gazowo-chromatograficznej JANAKa zmodyfikowanej dla tych badań, pozwalało spodziewać się łatwego śledzenia przebiegu metanogenezy. Pomiary manometryczne wydawały się szczególnie przydatne do wyznaczenia zużycia wodoru w tym procesie. Należało wyznaczyć stosunek objętości zużytego wodoru i zredukowanego dwutlenku węgla, który w reakcji stechiometrycznej wynosi 4.

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a

Metodyka badań

Substraty i komory fermentacyjne

W badaniach fermentacji metanowej gazowych mieszanin CO_2 i H_2 użyto wzbogaconych, mieszanych populacji bakterii metanowych. Zastosowano technicznie przefermentowane osady biogenne z wydzielonych mezofilnych komór fermentacji metanowej. Ciecze nadosadowe otrzymano przez dekantację technicznie przefermentowanych osadów.

Użycie osadów lub cieczy nadosadowych do badań mogło nastąpić po możliwie wyczerpującym zubożeniu tych środowisk z substratów metanogennych. W tym celu osad technicznie przefermentowany z wydzielonych komór fermentacyjnych podlegał fermentacji szczątkowej w temperaturze 32 ± 1 °C przez okres dwu miesięcy. Fermentacja szczątkowa cieczy nadosadowych trwała około 14 dni. Po tym okresie metan powstający z fermentacji szczątkowej nie wpływał w sposób istotny na obserwację biochemicznej przemiany dwutlenku węgla w metan. W tych warunkach doprowadzony CO_2 był jedynym substratem węglowym fermentacji metanowej.

Analityczną charakterystykę fermentujących osadów stanowiły oznaczenia kwasów lotnych, suchej pozostałości ogólnej i straty przy prażeniu oraz pH. Analizy te przeprowadzano zgodnie z zaleceniami STANDARD METHODS [16], natomiast pH oznaczano potencjometrycznie przy pomocy elektrody szklanej

Dwutlenek węgla, wodór i azot stosowany w tych doświadczeniach pobierano z butli stalowych. Były to gazy o czystości technicznej. Dwutlenek węgla zawierał około 2% azotu i nieznaczna ilości tlenu.

Fermentację metanową mieszanin gazowych dwutlenku węgla z wodorem prowadzono w szczelnie zamkniętych reaktorach. Były to butle szklane o pojemności 3 lub 5 l o dokładnie wyznaczonej objętości przez cechowanie wodą. Doświadczalne komory fermentacyjne znajdowały się w termostacie utrzymującym temperaturę $32^{\circ} \pm 1^{\circ}C$. Temperatura ta odpowiada optimum dla mezofilnej fermentacji metanowej.

Zawory z mięsistej gumy zastosowane przez jednego z autorów w poprzednich pracach [15, 17] służyły do zamknięcia komór. Umożliwiały one doprowadzenie gazowych substratów do reaktora, pobór prób reagującej mieszaniny gazowej oraz pomiary manometryczne przy pomocy przyrządów uzbrojonych w igły iniekcyjne.

Przygotowanie doświadczenia polegało na umieszczeniu znanej objętości osadu lub cieczy nadosadowej w komorze laboratoryjnej. W celu stworzenia warunków beztlenowych komorę przemywano strumieniem CO_2 lub H_2, zależnie od serii doświadczeń. Po szczelnym zamknięciu reaktora doprowadzano drugi z fermentujących składników mieszaniny gazowej do nadciśnienia 200 lub 400 mmHg. W czasie redukcji dwutlenku węgla wodorem następował wyraźny spadek ciśnienia, który okresowo uzupełniano do określonej wartości przez doprowadzanie wodoru. Kontrolę obserwacji zapewniała komora, w której w miejsce wodoru doprowadzano azot jako gaz obojętny w tej przemianie biochemicznej. Komora kontrolna umożliwiała wyznaczenie ilości metanu pochodzące z fermentacji szczątkowej osadów lub cieczy nadosadowych.

Biochemiczna reakcja dwutlenku węgla w obecności molekularnego wodoru przebiega zgodnie z ogólnym równaniem:

$$CO_2 + 4\,H_2 \longrightarrow CH_4 + 2\,H_2O \qquad (2)$$

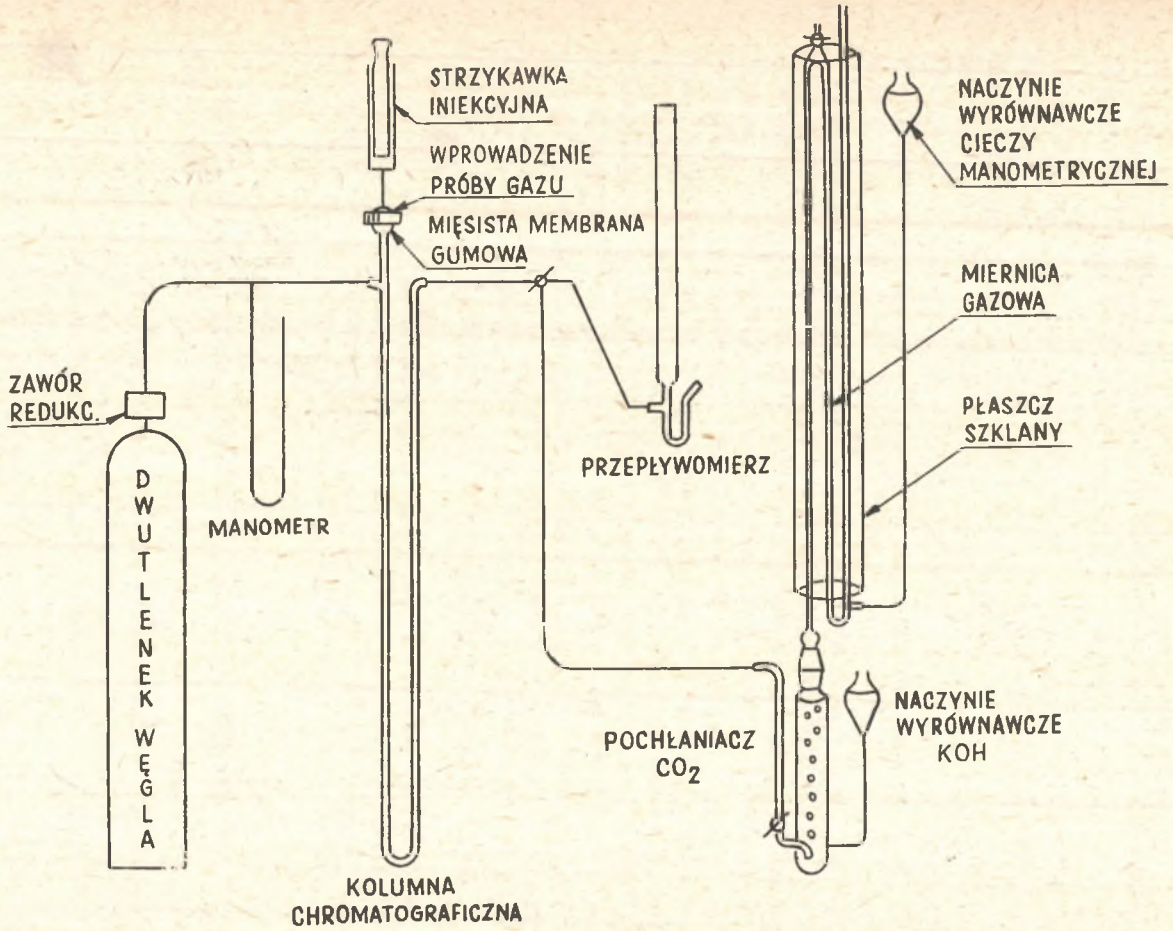
Redukcji jednego mola dwutlenku węgla odpowiada utworzenie jednego mola metanu. Towarzyszy temu zużycie czterech moli wodoru. Pomiary manometryczne są szczególnie dogodne do badania dynamiki przemiany gazowej, która cechuje się dużym zużyciem jednego z reagujących składników. Zastosowano metody-

kę badań manometrycznych opracowaną przez jednego z autorów w pracach wcześniejszych [15, 17].

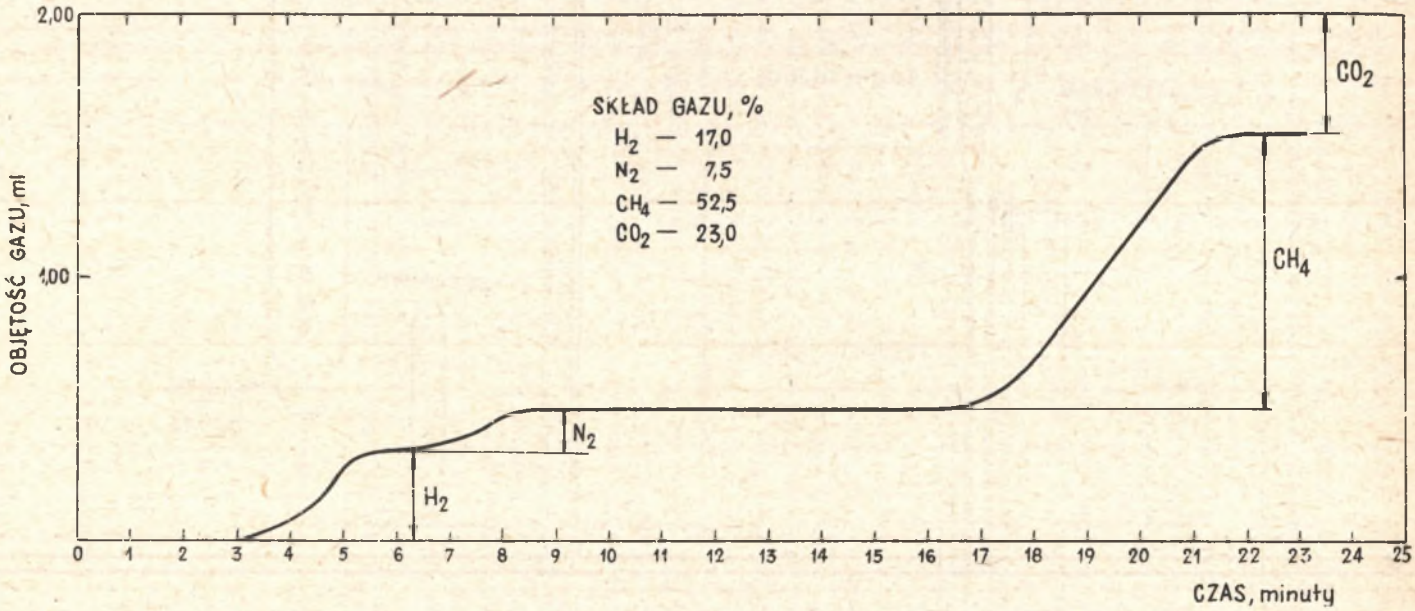
Śledzenie przemian gazowych w metodzie manometrycznej sprowadza się do pomiarów ciśnienia w komorach fermentacyjnych i prostych przeliczeń. Nie można jednak przyjmować wielkości pomiarowych w sposób bezpośredni do opisu dynamiki fermentacji. Wyniki pomiarów manometrycznych wymagają korekty, ponieważ CO_2 doprowadzony do przestrzeni gazowej reaktora ulega rozpuszczeniu w środowisku wodnym fermentacji. W tym celu należy obliczyć współczynnik A [18, 19]; stosunek ten określa ilość CO_2 znajdującego się w fazie gazowej $[CO_{2\,(g)}]$ do całkowitej ilości CO_2 w układzie $[CO_{2\,(g)} + CO_{2\,(c)}]$.

W roztworze wodnym, dwutlenek węgla jest znacznie lepiej rozpuszczalny od metanu. Wskutek tego powstały CH_4 dyfunduje do fazy gazowej. Spadkowi ciśnienia spowodowanego przez zużycie wodoru i dwutlenku węgla towarzyszy przyrost ciśnienia wskutek powstawania metanu [19]. Na każdą jednostkę przyrostu ciśnienia wywołaną przez wytworzenie metanu przypada spadek ciśnienia spowodowany przez zużycie wodoru i dwutlenku węgla o(4 + A) jednostek. Powoduje to zmianę ciśnienia w reaktorze o(3 + A) jednostek. Dla utrzymania rzeczywistych wartości zużycia wodoru, wyniki otrzymane z pomiarów manometrycznych należało pomnożyć przez współczynnik korekcji równy $\frac{4}{3 + A}$. Wartość tego współczynnika podaje tabela I.

Analizę gazu fermentacyjnego i badanych mieszanin gazowych w redukcji dwutlenku węgla do metanu zastosowano metodę chromatografii gazowej JANAKa. W doświadczeniach posługiwano się zmodyfikowaną aparaturą przystosowaną do przeprowadzanych badań [15], (rys.1). Do analizy pobierano strzykawką iniekcyjną próby gazu o objętości 2,0 ml. Typowy chromatogram otrzymywany w tych badaniach demonstruje rys. 2.



Rys. 1. Schemat aparatury do chromatografii gazowej według zmodyfikowanej metody JANAKa



Rys. 2. Analiza gazowo-chromatograficzna mieszaniny gazowej zawierającej wodór, azot, metan i dwutlenek węgla

Przebieg doświadczeń i wyniki badań

Redukcja dwutlenku węgla zawartego w gazie fermentacyjnym z osadów biogennych

Doświadczenie przeprowadzono w trzech laboratoryjnych komorach fermentacyjnych A, B i C o objętości 5 l. Każdy z tych reaktorów zawierał 1,0 l osadu technicznie przefermentowanego. Po upływie dwu miesięcy można było uznać fermentację za zakończoną. Komory wykazywały tylko szczątkowe wytwarzanie gazu. Gaz fermentacyjny nagromadzony w tych reaktowach zawierał 62% CH_4, 27% CO_2 i 11% N_2.

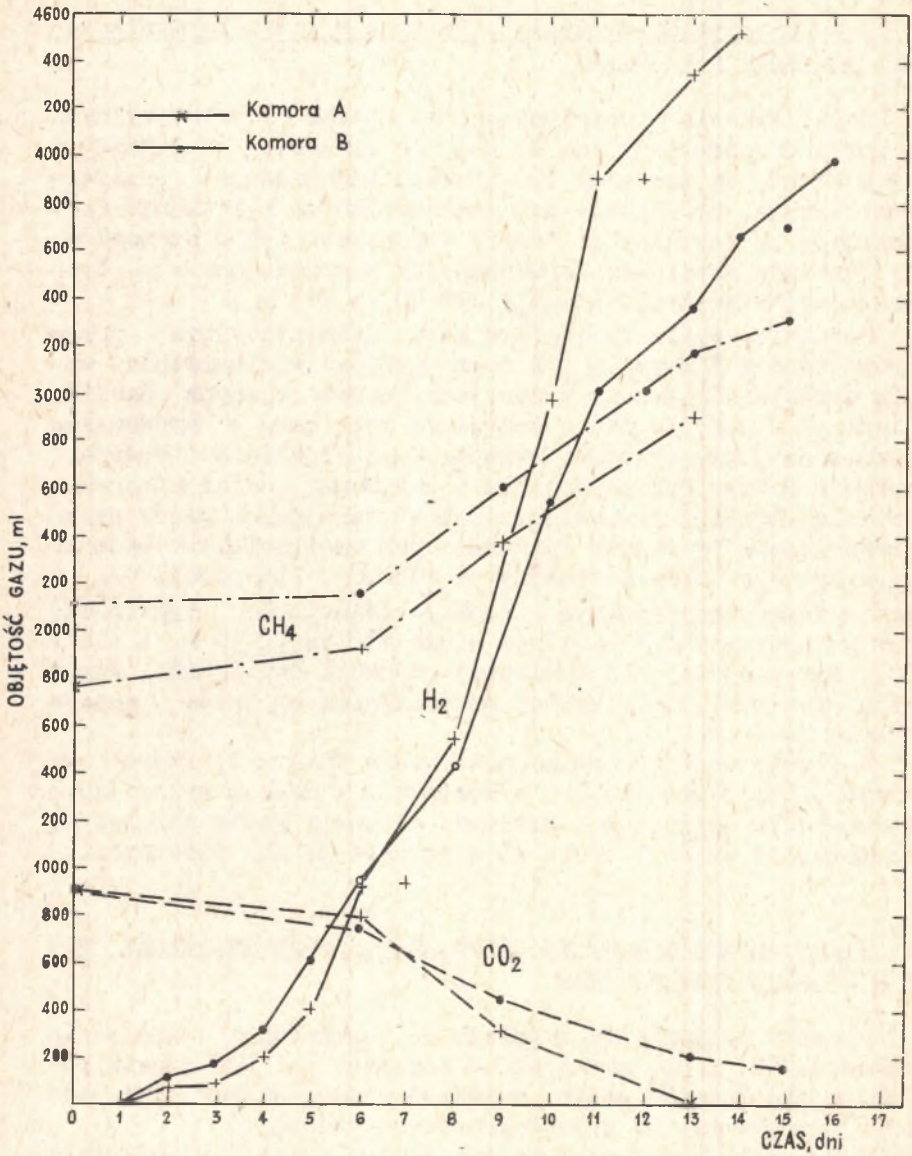
Redukcję dwutlenku węgla w gazie fermentacyjnym przeprowadzono w Komorze A i B doprowadzając wielokrotnie wodór przez zawór gazowy w porcjach odpowiadających nadciśnieniu 200 mmHg. W miarę zużywania tego gazu w środowisku fermentacyjnym, okresowo regenerowano ciśnienie wodorem. Zużycie wodoru wyznaczano przez codzienny pomiar manometryczny. Analiza chromatograficzna reagujących gazów przeprowadzana w odstępach kilkudniowych umożliwiała badanie metanogenezy. Czas potrzebny na redukcję 27% porcji CO_2 w gazie fermentacyjnym wynosił około 14 dni. Po tym czasie gaz w Komorze A i B zawierał około 89% CH_4, 11% N_2 i ślady CO_2. Przebieg tej biochemicznej redukcji dwutlenku węgla ilustruje rys. 3. Objętości przereagowanych gazów podaje tabela I.

Kontrolę doświadczenia umożliwiała Komora C, która zawierała gaz fermentacyjny w kontakcie z osadem wykazującym fermentację szczątkową. Przyrost metanu w gazie wskutek tej fermentacji wynosił około 6% w okresie 14 dni obserwacji.

Wpływ aklimatyzacji na dynamikę redukcji dwutlenku węgla molekularnym wodorem

Wstępna aklimatyzacja układu do fermentacji mieszanin gazowych CO_2 i H_2 nastąpiła w Komorze A i B w czasie poprzedniego doświadczenia. Należało zbadać wpływ dłuższego przystosowywania na przebieg procesu redukcji.

W tym celu przestrzeń gazową Komory A i B napełniono wodorem przy ciśnieniu atmosferycznym, po czym przez zawór gazowy doprowadzono porcję dwutlenku węgla do nadciśnienia 200 mm Hg. Odpowiadało to około 20% zawartości CO_2 w reagu



Rys. 3. Redukcja dwutlenku węgla w gazie fermentacyjnym w kontakcie z osadem przefermentowanym

Tabela I

Stosunek zużytych objętości wodoru i dwutlenku węgla w czasie biochemicznej redukcji dwutlenku węgla do metanu

Redukcja dwutlenku węgla w kontakcie z osadem przefermentowanym	Zużycie wodoru ml		Zużycie dwutlenku węgla ml		Stosunek $H_2 : CO_2$		Współczynnik korekcji		Korygowany stosunek $H_2 : CO_2$		Średni korygowany stosunek $H_2 : CO_2$
	Komora A	Komora B	Komora A	Komora B	Komora A	Komora B	Komora A	Komora B	Komora A	Komora B	
Gaz fermentacyjny zawierający 27% CO_2	4339	3290	908	756	4,77	4,35			4,96	4,52	4,74
Początkowe stężenie 20% CO_2 w gazie Seria I	3587	2277	842	832	4,27	2,73			4,44	2,84	3,64
Początkowe stężenie 20% CO_2 w gazie Seria II	3470	3638	842	832	4,12	4,25	1,04		4,29	4,42	4,36
Początkowe stężenie 20% CO_2 w gazie. Seria III	2936	2944	842	832	3,49	3,54			3,63	3,68	3,65
Początkowe stężenie 40% CO_2 w gazie	6017	6334	1684	1665	3,57	3,81			3,72	3,96	3,84
Początkowe stężenie 70% CO_2 w gazie	15008	13929	4190	4195	3,58	3,32			3,72	3,49	3,66
Początkowe stężenie 20% CO_2 w kontakcie z cieczą nadosadową	2216	1907	621	600	3,57	3,18	1,03		3,67	3,28	3,47

Korygowana wartość średnia stosunku zużycia wodoru do dwutlenku węgla:

$$\frac{H_2\ [ml]}{CO_2\ [ml]} = 3,90$$

jącym gazie. W odstępach 6 godzinnych mierzono manometrycznie zużycie wodoru. Stwierdzono ubytki uzupełniano wodorem do ciśnienia 200 mm Hg. W odstępach 6 lub 12 godzinnych pobierano próby gazu do analizy chromatograficznej.

Opisane obserwacje powtórzono trzykrotnie. Stwierdzono szybkie zmniejszenie się czasu fermentacji 20% CO_2. W pierwszej serii doświadczeń, czas potrzebny na pełną redukcję tej porcji dwutlenku węgla wynosił około 48 godz. Stwierdzony przebieg metanogenezy i zużycia wodoru podaje rys. 4. Objętości reagujących gazów w tym procesie wykazuje tabela I.

Dynamikę metanogenezy i zużycie wodoru w drugiej serii obserwacji ilustruje rys. 5. Pełna redukcja porcji 20% CO_2 zaszła w ciągu około 36 godz. Stosunki objętościowe reagujących gazów zawiera tabela I.

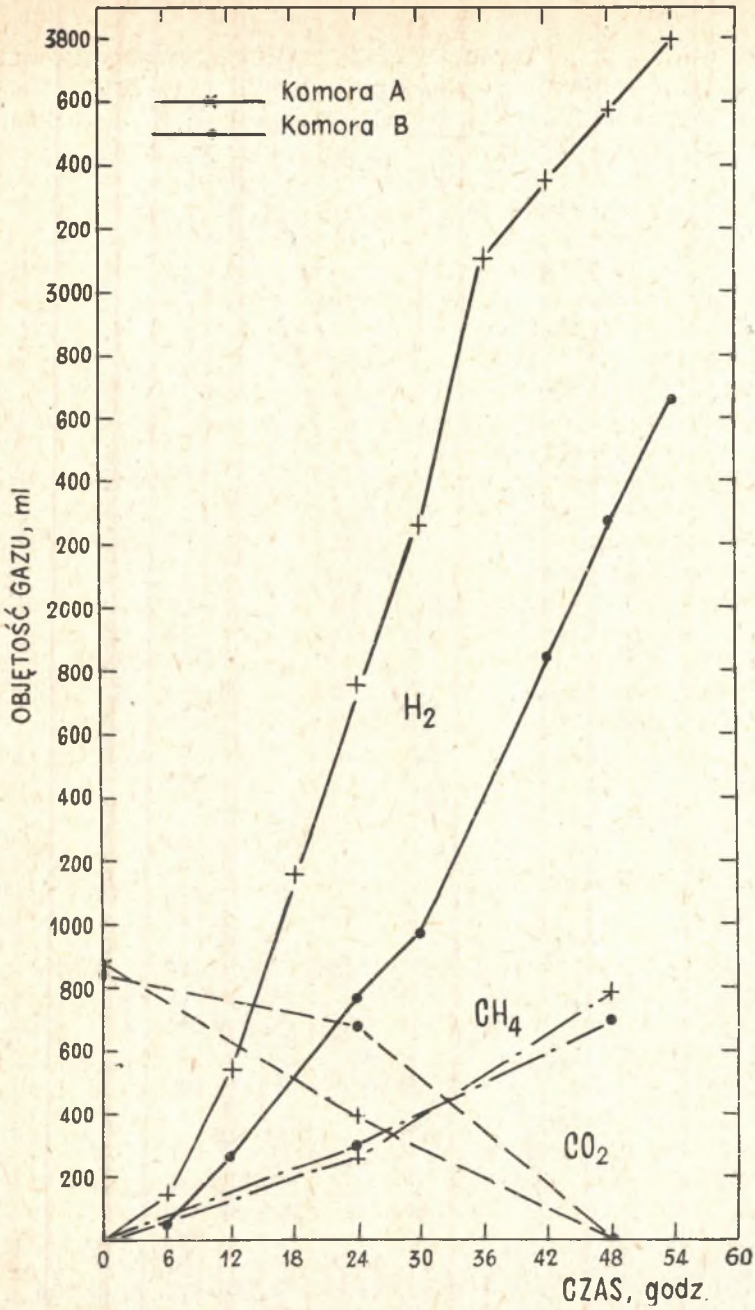
W trzeciej serii fermentacji 20% CO_2 w wodorze stwierdzono, że redukcja CO_2 zaszła w ciągu 24 godz. Przebieg tego procesu ilustruje rys. 6. Objętość zużytego wodoru i dwutlenku węgla podaje tabela I.

Kontrolę trzech opisanych serii doświadczeń zapewniała Komora C w której w miejsce wodoru wprowadzono azot przy ciśnieniu atmosferycznym oraz doprowadzono porcję CO_2 do nadciśnienia 200 mm Hg. Obserwacje kontrolne wykazały wytworzenie 84 ml gazu fermentacyjnego wskutek szczątkowej fermentacji. Wielkość ta była nieznaczna i można ją było pominąć w interpretacji wyników metanogenezy.

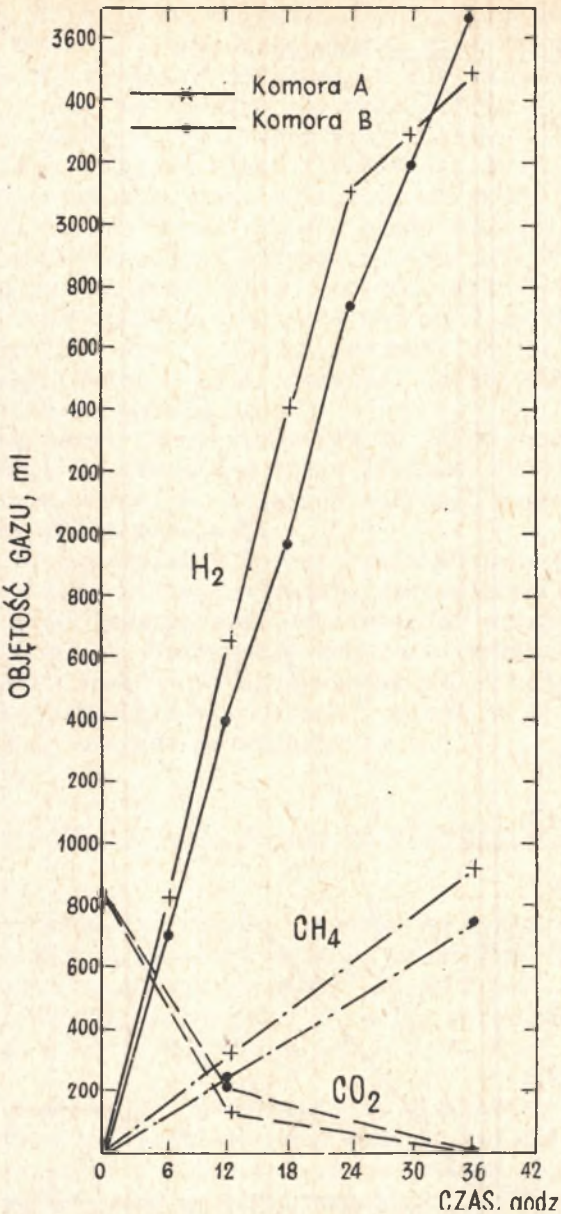
Wpływ stężenia dwutlenku węgla na przebieg konwersji CO_2 w metan

W celu stwierdzenia wpływu stężenia na dynamikę tej fermentacji należało rozszerzyć badania na zakres początkowej zawartości CO_2 w wodorze wynoszącej 20,40 i 70%. W poprzednich doświadczeniach wyznaczono przebieg fermentacji wodoru zawierającego 20% CO_2 w Komorze A i B (rys. 4, 5 i 6; tabela I).

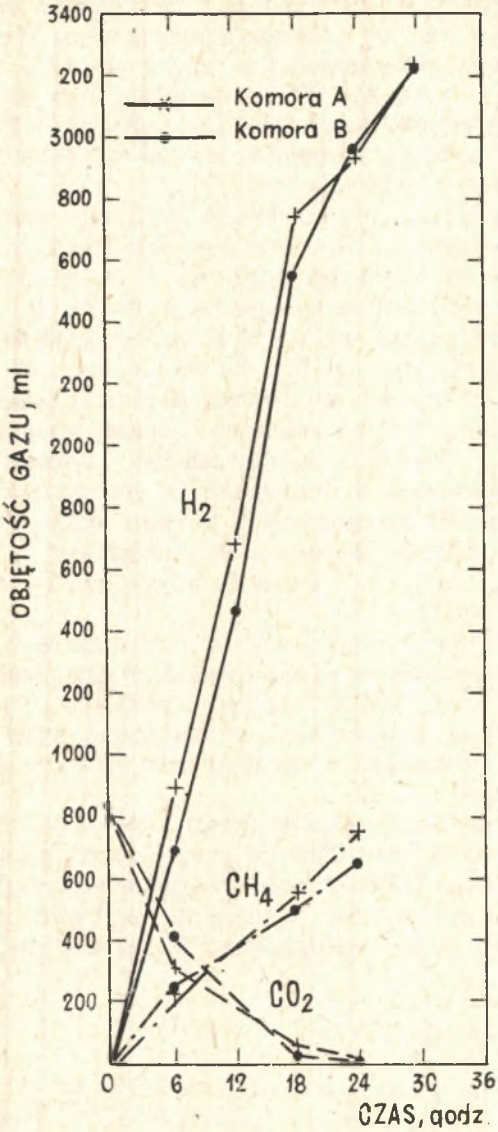
Następne obserwacje przeprowadzono dla Komory A i B, w których znajdowała się mieszanina wodoru zawierająca około 40% CO_2 w kontakcie z aklimatyzowanym osadem przefermentowanym. Przestrzeń gazową komór fermentacyjnych napełniono wodorem pod ciśnieniem atmosferycznym. Wprowadzono porcję dwutlenku węgla do wywołania 400 mm Hg nadciśnienia. Otrzymana w ten sposób mieszanina gazowa zawierała 64% H_2, 33% CO_2 oraz 3% N_2. Zawartość CO_2 w gazie była mniejsza od przewidy-



Rys. 4. Redukcja dwutlenku węgla do metanu w gazie zawierającym około 20% CO_2 w kontakcie z osadem przefermentowanym
Seria I



Rys. 5. Redukcja dwutlenku węgla do metanu w gazie zawierającym około 20% CO_2 w kontakcie z osadem przefermentowanym
Seria II



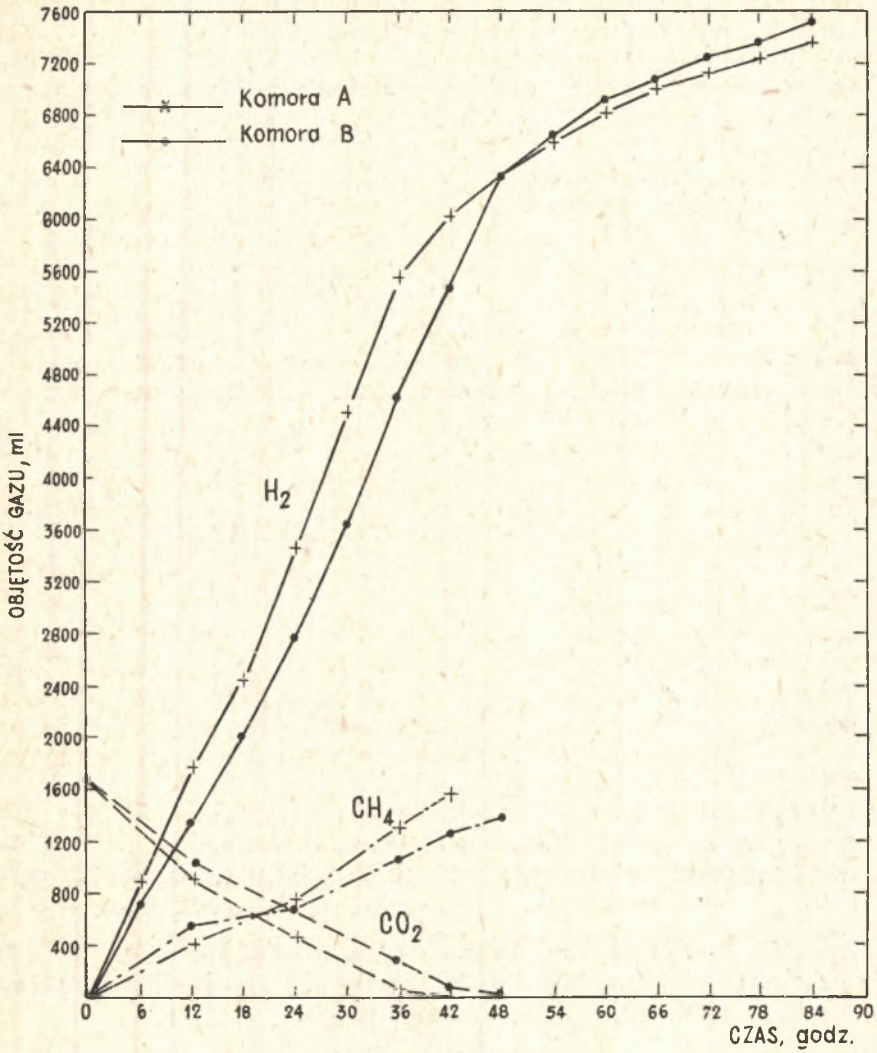
Rys. 6. Redukcja dwutlenku węgla do metanu w gazie zawierającym około 20% CO_2 w kontakcie z osadem przefermentowanym
Seria III

wanej wskutek rozpuszczalności tego składnika w cieczy pod zwiększonym ciśnieniem. Zużycie wodoru kontrolowano manometrycznie w odstępach 6 godzinnych. Stwierdzone spadki ciśnienia poniżej 400 mm Hg uzupełniano wodorem. Analizę chromatograficzną gazu przeprowadzano co 12 godzin. Całkowita redukcja wprowadzonej porcji CO_2 zaszła w ciągu 48 godz.; objętości przereagowanych gazów podaje tabela I. Przebieg zużycia wodoru i dynamikę fermentacji 40% mieszaniny dwutlenku węgla z wodorem ilustruje rys. 7.

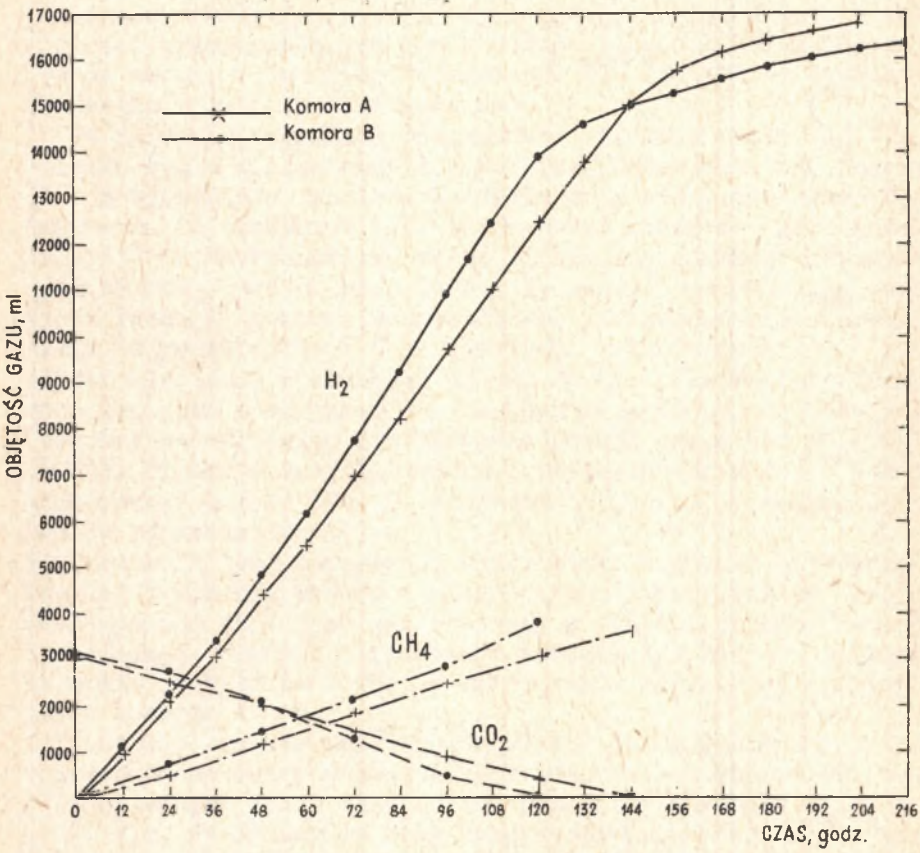
W dalszych badaniach obserwowano redukcję około 70% dwutlenku węgla w mieszaninie z wodorem. Doświadczalne Komory A i B wypełniono dwutlenkiem węgla przy ciśnieniu atmosferycznym. Do reaktorów tych wprowadzono wodór do nadciśnienia 400 mm Hg. Początkowy skład mieszaniny gazowej odpowiadał 65% CO_2, 33% H_2 oraz 2% N_2. Ze względu na mniejszą szybkość reakcji, pomiary manometryczne przeprowadzano w odstępach 12 godzinnych. W tych odstępach czasu uzupełniono wodorem ciśnienie w komorach do 400 mm Hg. Chromatograficzną analizę gazu dokonywano w odstępach 24 godzinnych. Czas potrzebny na całkowite zredukowanie porcji około 70% CO_2 trwał 6 dni. Dynamikę zużycia wodoru i metanogenezy w tej serii obserwacji podaje rys. 8. Stosunek objętości reagujących gazów wykazuje tabela I.

Kontrolę tych obserwacji umożliwiała Komora C. Do komory tej w miejsce wodoru w mieszaninach z dwutlenkiem węgla wprowadzono azot jako gaz obojętny w reakcji. Ilości metanu powstające wskutek fermentacji szczątkowej były znikome i można je było zaniedbać w opracowaniu wyników metanogenezy w Komorze A i B.

Charakterystykę analityczną zmian, jakim podlegały przefermentowane osady w kontakcie z reagującymi gazami w czasie opisanych serii doświadczeń przedstawia tabela II. Okazało się, że zmiany te były nieznaczne i prawdopodobnie nie istotne w ogólnym przebiegu procesu biochemicznej redukcji CO_2.



Rys. 7. Redukcja dwutlenku węgla do metanu w gazie zawierającym około 40% CO_2 w kontakcie z osadem przefermentowanym



Rys. 8. Redukcja dwutlenku węgla do metanu w gazie zawierającym około 70% CO_2 w kontakcie z osadem przefermentowanym

Tabela II

Charakterystyka przefermentowanych osadów biogennych zastosowanych w redukcji dwutlenku węgla do metanu w obecności wodoru

Oznaczenie	Osad przefermentowany			
	Analiza wstępna	Komora A	Komora B	Komora C kontrolna
Sucha pozostałość %	3,96	3,96	3,65	3,28
Strata przy prażeniu suchej pozostałości %	46,3	46,0	45,0	47,0
Kwasy lotne, mg/l CH_3COOH	395	370	405	425
Alkaliczność, mg/l $CaCO_3$	2850	2450	2755	2525
pH	8,3	8,8	8,9	8,0

Wpływ objętości fermentującej masy na przebieg konwersji dwutlenku węgla w metan

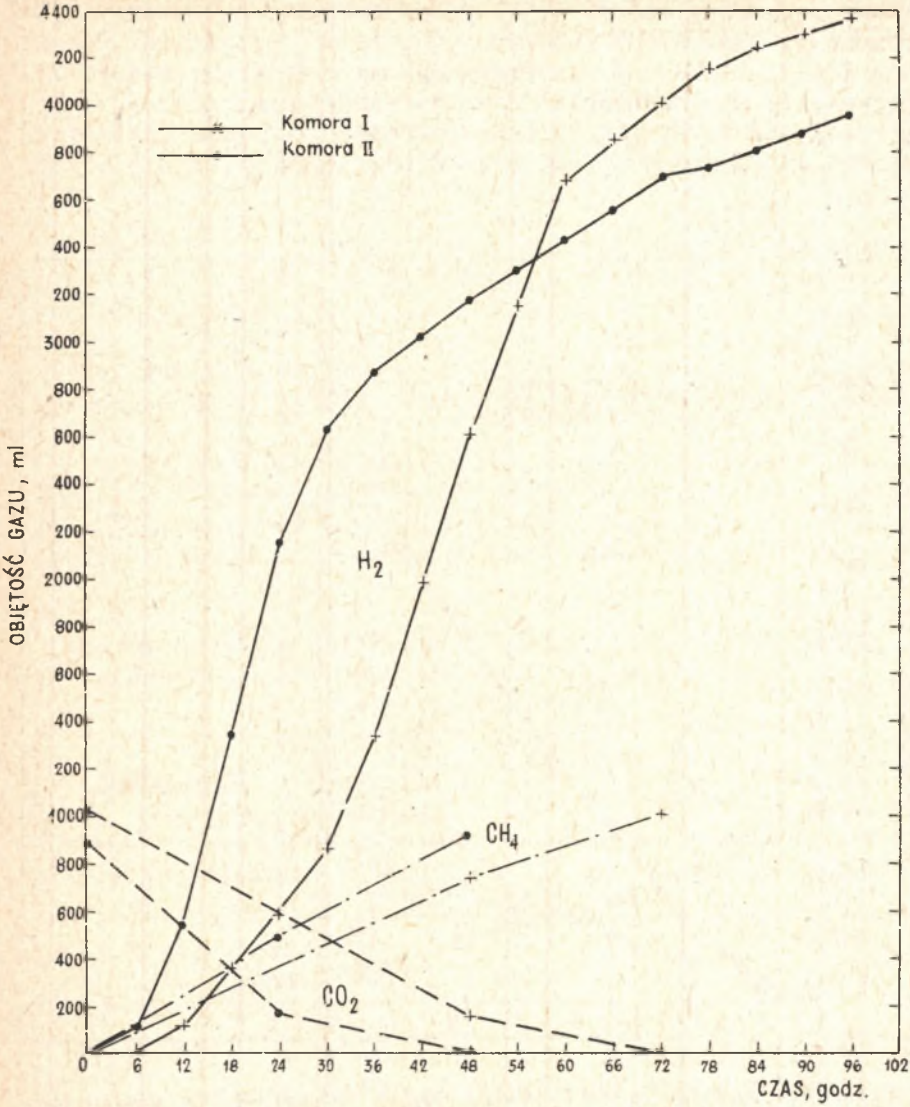
Ustalenie wpływu objętości uaktywnionego osadu przefermentowanego na szybkość konwersji dwutlenku węgla wodorem, przeprowadzono w trzech 5 l komorach doświadczalnych. Komora I zawierała 900 ml zaś Komora II - 300 ml osadu o jednakowej aktywności. Obie komory napełnione wodorem pod ciśnieniem atmosferycznym uzyskały porcję dwutlenku węgla do nadciśnienia 200 mm Hg. Odpowiadało to zawartości początkowej około 20% CO_2 w gazie. W odstępach 6-godzinnych przeprowadzano manometryczny pomiar zużycia wodoru. Notowane spadki ciśnienia uzupełniano wodorem do 200 mm Hg. Analizę chromatograficzną gazu przeprowadzano w odstępach 6 lub 12 godzin

Czas trwania redukcji 894 ml CO_2 w Komorze I, która zawierała 900 ml osadu wynosił 48 godz. Zużycie wodoru wynosiło 3180 ml. W Komorze II zawierającej 300 ml osadu redukcji 1036 ml CO_2 odpowiadało zużycie 4036 ml H_2; fermentacja trwała 72 godz. Przebieg zużycia wodoru i przemiany dwutlenku węgla w metan w obu tych obserwacjach podaje rys. 9. Wykazuje on występowanie wyraźnej fazy indukcyjnej w procesie fermentacyjnym Komory II. Obserwacje te potwierdzają przypuszczenie, że szybkość redukcji CO_2 zależy od objętości fermentującej masy kontaktującej się z fazą gazową. W masie tej rozwijają się aklimatyzowane populacje bakterii metanowych.

Kontrolę doświadczenia stanowiła Komora III, która zawierała 1,0 l masy fermentującej. Przestrzeń gazowa tego reaktora była wypełniona azotem pod ciśnieniem atmosferycznym z dodatkiem CO_2 do nadciśnienia 200 mm Hg. W czasie doświadczenia nie zaobserwowano istotnych zmian ciśnienia w reaktorze kontrolnym.

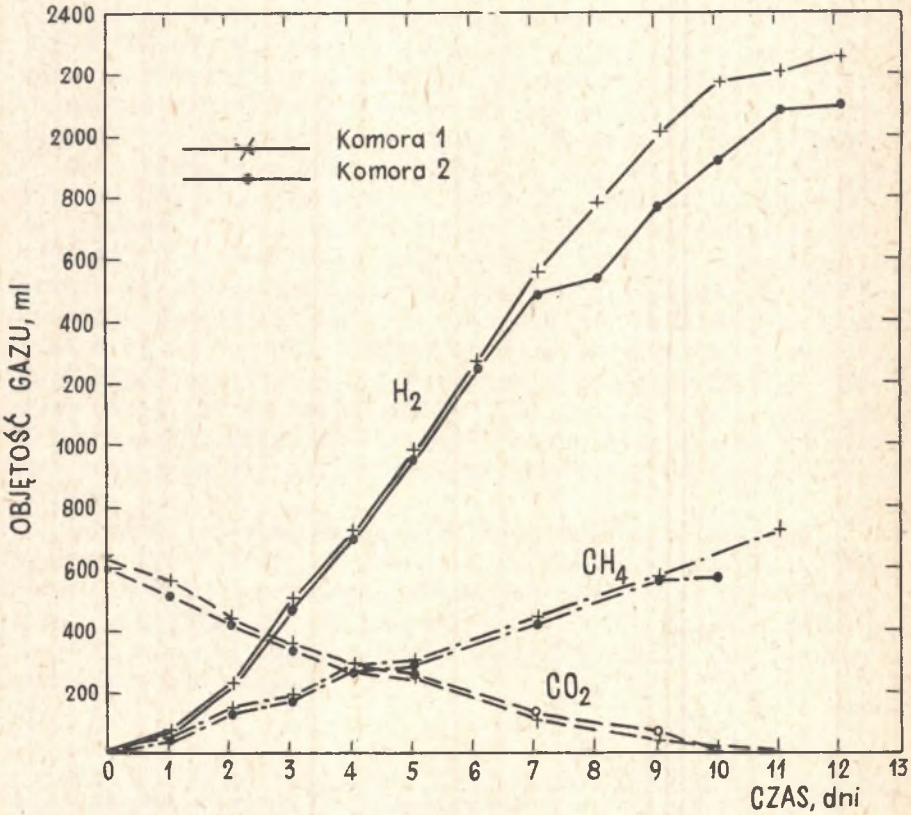
Redukcja dwutlenku węgla wodorem w kontakcie z przefermentowanymi cieczami nadosadowymi

Ciecze nadosadowe użyte w tym doświadczeniu otrzymano przez dekantację technicznie przefermentowanych osadów z wydzielonych komór fermentacji metanowej. Zanik fermentacji trwał około 11 dni. Po tym zubożeniu środowiska przystąpiono do właściwej obserwacji aklimatyzacji kultur bakteryjnych z cieczy nadosadowych do fermentacji mieszanin CO_2 i H_2.



Rys. 9. Wpływ objętości przefermentowanego osadu na szybkość redukcji dwutlenku węgla do metanu w gazie zawierającym około 20% CO_2

Użyto trzech komór doświadczalnych o objętości 3 l, w których umieszczono po 0,5 l przefermentowanej cieczy nadosadowej. Obserwacje konwersji CO_2 do CH_4 prowadzono w Komorze 1 i 2, które w przestrzeni gazowej zawierały wodór doprowadzony pod ciśnieniem atmosferycznym oraz porcję CO_2 wprowadzoną do 200 mm Hg nadciśnienia. Otrzymana mieszanina gazowa miała skład początkowy odpowiadający 78% H_2, 20% CO_2



Rys. 10. Redukcja dwutlenku węgla do metanu w gazie zawierającym około 20% CO_2 w kontakcie z przefermentowaną cieczą nadosadową

oraz 2% N_2. Mała szybkość zużywania wodoru wymagała dokonywania pomiarów manometrycznych trzy razy na dobę w odstępach kilkugodzinnych. Analizę chromatograficzną gazu przeprowadzono w okresach dwudniowych.

Wskutek małej aktywności kultur bakteryjnych w cieczach nadosadowych całkowite zredukowanie wprowadzonej porcji CO_2 następowało dopiero po 10 dniach. Dynamikę zużycia wodoru i metanogenezy w tej fermentacji ilustruje rys. 10. Objętości reagujących gazów podaje tabela I. Komora 3 w której znajdował się azot doprowadzony pod ciśnieniem atmosferycznym z dodatkiem CO_2 do nadciśnienia 200 mm Hg pozwalała na kontrolę procesu fermentacji dwutlenku węgla i wodoru w kontakcie z cieczami nadosadowymi. Po 10 dniach obserwacji Komora 3 wykazała znikome wytworzenie gazu wskutek fermentacji szczątkowej, które można było pominąć w opisie badanego zjawiska.

Zmiany chemiczne jakim uległy ciecze nadosadowe w czasie kontaktu z mieszaniną fermentujących gazów podaje tabela III. Były one małe i prawdopodobnie nieistotne w interpretacji biochemicznej konwersji dwutlenku węgla w metan.

Tabela III

Charakterystyka przefermentowanych cieczy nadosadowych zastosowanych w redukcji dwutlenku węgla do metanu w obecności wodoru

Oznaczenie	Ciecz nadosadowa			
	Analiza wstępna	Komora 1	Komora 2	Komora 3 kontrolna
Sucha pozostałość %	0,29	0,20	0,18	0,20
Strata przy prażeniu suchej pozostałości, %	64,5	60,0	60,5	56,5
Kwasy lotne, mg/l CH_3COOH	159	176	159	123
Alkaliczność, mg/l $CaCO_3$	2800	2950	2950	2900
pH	9,1	9,1	9,1	8,2

Omówienie wyników

Bakterie metanowe w kulturach czystych [3, 5, 6, 7 8, 9] lub populacje mieszane tych drobnoustrojów [4, 10, 11, 12, 14, 15] mają zdolność metanogenezy w procesie utlenienia wodoru sprzężonym z redukcją dwutlenku węgla. Redukcja dwutlenku węgla do metanu w obecności molekularnego wodoru przebiega ze zmniejszeniem swobodnej energii układu:

$$CO_2 + 4\ H_2 \longrightarrow CH_4 + 2\ H_2O$$

$$\Delta G^{o}_{298} = -\ 31{,}2\ \text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1} \qquad (7)$$

Ten proces oksydoredukcyjny jest więc termodynamicznie prawdopodobny. Zgodnie z równaniem stechiometrycznym redukcji jednego mola CO_2 towarzyszy utworzenie mola CH_4 i zużycie czterech moli H_2. Interesujące było stwierdzenie doświadczalnej wielkości tego stosunku. W przeprowadzonych badaniach użyto wzbogaconych kultur bakterii metanowych jako czynnika katalizującego proces. Kultury te znajdowały się w środowisku praktycznie całkowicie przefermentowanych osadów biogennych lub w cieczach nadosadowych. Zubożenie układu przez wyczerpujące odfermentowanie umożliwiło obserwacje wytwarzania się metanu z CO_2 jako jedynego źródła węgla. W środowisku fermentacyjnym mogły się rozwijać te beztlenowe zespoły drobnoustrojów, które były zdolne do wykorzystywania energii swobodnej z podanej reakcji oksydoredukcyjnej.

Doświadczalnie wyznaczone wielkości stosunku zużycia wodoru i zredukowanego dwutlenku węgla podaje tabela I. Wartości liczbowe skorygowano przez uwzględnienie rozpuszczalności CO_2 w cieczy reaktora. Stosunek ten wahał się w granicach od 3,47 do 4,74. Średnia wartość uzyskana z kilku serii badań wynosiła 3,90. Jest ona bliska stechiometrycznej wielkości 4. Stosunek reagujących gazów wyznaczony w pracy BARKERa [5] wynosił 3,53. MYLROIE i HUNGATE [19] stwierdzili wielkość rzędu 3,8. Różnice te mogą pochodzić z odmienności warunków doświadczalnych w cytowanych pracach.
Zgodność teoretycznych i eksperymentalnych wartości stosunku reagujących gazów w przeprowadzonych doświadczeniach można uznać za wystarczającą. Wskazuje ona na podporządkowanie się procesu równaniu stechiometrycznemu.

Badania analityczne przefermentowanych osadów lub cieczy nadosadowych nie stwierdziły istotnych zmian w składzie tych środowisk podczas długotrwałego kontaktu z biochemicznie reagującymi składnikami gazowymi (tabela II i III). Nie obserwowano wzrostu stężenia kwasów lotnych i tworzenia się kwasu octowego, który w doświadczeniach WIERINGA [12] wydawał się być produktem pośrednim w redukcji dwutlenku węgla molekularnym wodorem. Stwierdzenie to w sposób pośredni potwierdza tezę BARKERa [5], że redukcja ulega wolny, rozpuszczony dwutlenek węgla. Stałość alkaliczności układu (tabela I i II) zależnej od stężenia kwaśnych węglanów zdaje się potwierdzać pogląd, że jon HCO_3^- zachowuje się pasywnie w tym procesie oksydoredukcyjnym.

W użytych, celowo zubożonych środowiskach fermentacyjnych znajdowały się mieszane populacje bakterii metanowych. Przez kontakt z gazowymi mieszaninami CO_2 i H_2 w sposób wybiórczy powodowano wzrost bakterii zdolnych do wykorzystywania energii swobodnej tej fermentacji. Proces tworzenia się i aklimatyzacji wzbogaconych populacji był szczególnie widoczny w czasie traktowania gazu fermentacyjnego wodorem. Redukcja około 26% CO_2 zawartego w tym gazie trwało około 14 dni. W przebiegu zużycia wodoru, redukcji CO_2 i metanogenezy (rys. 3) można wyróżnić trzy zasadnicze fazy.

Pierwsza charakteryzuje się małym zużyciem wodoru i małą szybkością redukowania CO_2. Ten okres można przyrównać do indukcyjnej fazy lag rozwijającej się populacji drobnoustrojowej. Następował wówczas wzrost i aklimatyzacja bakterii czynnych w badanym procesie. Faza ta trwała około 6 dni. W drugiej, 5-dniowej fazie następował gwałtowny wzrost szybkości zużycia wodoru do określonej wielkości stałej. Okres ten cechował się prostoliniowym przebiegiem metanogenezy i był typowy dla głównej fazy redukcji CO_2 do CH_4 przez uaktywnione kultury bakteryjne. W trzeciej fazie następowała redukcja szczątkowych ilości CO_2 lub zużycie wodoru w innych, ubocznych procesach. Znamienne jest, że występowanie fazy lag i analogiczną dynamikę procesu wykazywała fermentacja mieszanin CO_2 i H_2 w kontakcie z fermentującymi cieczami nadosadowymi (rys. 10). Powolniejszy przebieg procesu można tłumaczyć przez znacznie mniejsze stężenie enzymatycznie czynnej populacji bakteryjnej w tych cieczach niż w przefermentowanych osadach.

Kultury bakteryjne zawarte w przefermentowanych osadach, uaktywnione w opisanym doświadczeniu, służyły do śledzenia redukcji około 20% CO_2 zawartego w mieszaninie gazów wpro-

wadzonych do komory fermentacyjnej. Całkowita redukcja tej porcji CO_2 w pierwszej serii doświadczeń przebiegała w ciągu 48 godz. (rys. 4). W pierwszych 6 godzinach procesu zużycie wodoru było niewielkie. Przypisać to należy spadkowi aktywności kultur bakteryjnych w końcowej fazie poprzedniego doświadczenia, w którym przebiegała szczątkowa redukcja dwutlenku węgla. Jednak w dalszym przebiegu procesu następował gwałtowny wzrost szybkości zużycia wodoru. W tym okresie następowała całkowita redukcja wprowadzonej porcji CO_2, prostoliniowy przebieg metanogenezy i zużycia wodoru.

Dla porcji 20% CO_2 w gazie fermentującym przeprowadzono drugią serię obserwacji, wykorzystując do tego celu wzbogacone kultury bakteryjne w przefermentowanych osadach z poprzedniej serii badań. Czas potrzebny na zredukowanie wprowadzonej ilości CO_2 wynosił w przybliżeniu 36 godz.(rys. 5) Krzywa zużycia wodoru dla tej serii badań miała przebieg prostoliniowy już od początku doświadczenia. Redukcja CO_2 od początku obserwacji przebiegała pod wpływem uaktywnionych populacji w poprzednich doświadczeniach. Nie wymagały one wpracowania i indukcyjnej fazy lag.

Trzecia seria doświadczeń nad redukcją 20% CO_2 dała wyniki zbliżone do serii poprzedniej. Czas redukcji CO_2 w tej serii był znowu krótszy i wynosił około 24 godz. (rys. 6).

Trzykrotne powtórzenie obserwacji przy pomocy tych samych przefermentowanych osadów, w których rozwijały się wzbogacone kultury bakterii metanowych-dało zbliżone wyniki (rys. 4, 5, 6). Umożliwiają one ogólną charakterystykę dynamiki procesu redukcji CO_2 do CH_4 wodorem. Pod wpływem uaktywnionych kultur wzbogaconych proces ten przebiegał prostoliniowo. Skracający się czas redukcji określonej porcji CO_2 w kolejnych obserwacjach można tłumaczyć przez wzrost aktywności mieszanych kultur bakterii metanowych, zdolnych do fermentacji dwutlenku węgla w obecności wodoru.

W analogiczny sposób przebiegała redukcja dwutlenku węgla w gazie zawierającym 40% CO_2. Czas redukcji tej porcji CO_2 wynosił około 45 godzin (rys. 7). W dynamice tego procesu można wyróżnić dwie zasadnicze fazy. Pierwsza charakteryzująca się prostoliniowym przebiegiem zużycia wodoru i metanogenezy trwała około 42 godz. Faza następna, w której następowała redukcja szczątkowych ilości CO_2 cechowała się malejącą w czasie szybkością procesu fermentacyjnego.

Podobny przebieg miała redukcja 70% CO_2 w mieszaninie z wodorem. Całkowita konwersja tej ilości dwutlenku węgla nastąpiła w czasie około 120 godz. (rys. 8). Dynamika tego

procesu była zbliżona do przebiegu ujawnionego w poprzednich doświadczeniach. Zmniejszenie się szybkości procesu można tłumaczyć przez przeciążenie układu fermentacyjnego substratem [15].

W przeprowadzonych obserwacjach stwierdzono więc dla różnych aktywności układu i różnych stężeń CO_2 - gazowego substratu reakcji - prostoliniowy przebieg metanogenezy oraz zużycia CO_2 i H_2 w głównej fazie procesu fermentacyjnego (rys. 6, 7, 8). Wyniki tych doświadczeń potwierdzają wcześniejsze obserwacje CHMIELOWSKIego [14, 15] dotyczące kinetyki biochemicznej redukcji dwutlenku węgla molekularnym wodorem.

Interesujące było stwierdzenie zależności szybkości redukcji CO_2 w mieszaninie gazowej od objętości masy fermentującej w kontakcie z fazą gazową. W tym celu przeprowadzono obserwacje redukcji 20% CO_2 w wodorze przez przefermentowane osady o jednakowej aktywności. W Komorze I zawierającej 900 ml masy fermentującej redukcja CO_2 zaszła w ciągu 48 godz., natomiast w Komorze II z 300 ml osadu-zbliżona porcja dwutlenku węgla uległa przemianie w metan po 72 godz. (rys. 9). Obserwacja ta potwierdziła oczywiste przypuszczenie, że szybkość redukcji CO_2 zależy od objętości masy fermentującej, która zawiera enzymatycznie czynną masę bakterii. Nie zależy natomiast w sposób równie istotny od powierzchni zetknięcia faz.

Obserwacje redukcji CO_2 w mieszaninie gazowej w kontakcie z przefermentowanymi cieczami nadosadowymi uzupełniają poprzednie stwierdzenie, że czas fermentacji zależy od masy katalitycznie czynnych drobnoustrojów. W cieczach nadosadowych ilość drobnoustrojów była znacznie mniejsza niż w przefermentowanych osadach. Czas potrzebny na redukcję 20% porcji CO_2 w mieszaninie gazowej wynosił wskutek tego 10 dni (rys. 10) czyli był pięciokrotnie dłuższy od czasu fermentacji w kontakcie z przefermentowanymi osadami.

S t r e s z c z e n i e

Szczególną cechą fermentacji metanowej jest wytwarzanie metanu i dwutlenku węgla z różnorodnych substancji wyjściowych. Fermentację tę należy uważać za proces oksydoredukcyj

ny, w którym zachodzi utlenienie substratów przy udziale dwutlenku węgla. Bakterie metanowe mogą powodować redukcję dwutlenku węgla do metanu w obecności molekularnego wodoru. Takie utlenienie substratu sprzęgnięte z redukcją dwutlenku węgla przebiega zgodnie z równaniem:

$$CO_2 + 4\ H_2 \longrightarrow CH_4 + 2\ H_2O$$

Przeprowadzono badanie biochemicznej konwersji mieszanin gazowych o zawartości 20, 40 i 70% CO_2 w wodorze. Gazy te były w kontakcie z wzbogaconymi mieszanymi kulturami bakterii metanowych. Proces przebiegał w warunkach periodycznych. Dynamikę reakcji badano przez manometryczny pomiar zużycia dostarczonego wodoru. Przemianę dwutlenku węgla w metan śledzono przy pomocy chromatografii gazowej metodą JANAKa.

Stwierdzono, że stosunek objętości zużytego wodoru i zredukowanego dwutlenku węgla wynosił około 3,9 i był prawie równy wartości stechiometrycznej. Czas potrzebny na redukcję określonej porcji dwutlenku węgla zależał od aklimatyzacji układu i dla 20% CO_2 wahał się w granicach od 48 do 24 godz. Czas fermentacji zależał w sposób istotny od objętości masy fermentującej, kontaktującej się z reagującą mieszaniną gazową.

Obserwowano prostoliniowy przebieg redukcji CO_2 i zużycia H_2 w głównej fazie procesu dla mieszanin gazowych wodoru z zawartością 20, 40 i 70% dwutlenku węgla.

Przeprowadzone badania w sposób pośredni potwierdzają pogląd BARKERa, że biochemicznej redukcji podlega wolny, rozpuszczony CO_2, natomiast jon HCO_3^- nie jest aktywny w tym procesie.

Politechnika Śląska
Katedra Technologii Wody i Ścieków

LITERATURA

[1] BARKER H.A.: "Studies upon the methane - producing bacteria" Arch. Microbiol. 7, 420 (1936).

[2] BARKER H.A.: "The biochemistry of methane formation" - Arch. Microbiol. 7, 404 (1936).

[3] BARKER H.A., RUBEN S., KAMEN M.D.: "The reduction of radioactive carbon dioxide by methane - producing bacteria" - Proc. Nat. Acad. Sci, 26, 426 (1940).

[4] SÖHNGEN N.L.: "Sur le rôle du methane dans la vie organique" - Rec. trav. chim. 29,238 (1910).

[5] BARKER H.A.: "Studies on the methane fermentation. VI. The influence of carbon dioxide concentration on the rate of carbon dioxide reduction by molecular hydrogen" - Proc. Nat. Acad. Sci. 29, 184 (1943).

[6] KLUYVER A.J., SCHNELLEN Ch. G.T.P.: "On the fermentation of carbon monoxide by pure cultures of methane bacteria" - Arch. Biochem. 14, 57 (1947).

[7] BARKER H.A.: "Biological formation of methane" - Ind. Eng. Chem. 48, 1438 (1956).

[8] STEPHENSON M., STICKLAND L.H.: "The bacterial formation of methane by the reduction of one carbon compounds by molecular hydrogen" - Biochem. J. 27, 1517 (1933).

[9] STADTMAN T.C., BARKER H.A.: "Studies on the methane fermentation. X. New formate - decomposing bacterium, Methanococcus vannielii - J. Bact. 62, 269 (1951).

[10] FISCHER F., LIESKE R., WINZER K.: "Biological gas reduction. I. Transformations of carbon monoxide" - Biochem. Z. 236, 247 (1931).

[11] FISCHER F., LIESKE R., WINZER K.: "Biological gas reduction. II. Production of acetic acid in the biological transformation of carbon monoxide and carbon dioxide by means of hydrogen" - Biochem. Z. 245, 1 (1932)

[12] WIERINGA K.T.: "Formation of acetic acid from carbon dioxide and hydrogen by means of anaerobic bacilli" - Brennstoff Chem. 22, 161 (1941).

[13] CHMIELOWSKI J., ISAAC P.C.G.: "An investigation of the bacterial production of methane by gas chromatography" - Fourth International Congress of Biochemistry, Vienna, (1958), International Abstracts of Biological Science, str. 200, Pergamon Press, London (1958).

[14] CHMIELOWSKI J., ISAAC P.C.G.: "Gas - chromatographic observation of the reduction of carbon dioxide to methane during anaerobic digestion" - Nature 183, 1120 (1959).

[15] CHMIELOWSKI J.: "Kinetyka i mechanizm fermentacji metanowej" - Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej - Chemia Nr 17, Gliwice (1963).

[16] STANDARD METHODS for the examination of water, sewage and industrial wastes" - wyd. 10, Amer. Pub. Health Assn., New York (1955).

[17] CHMIELOWSKI J., SIMPSON J.R., ISAAC P.C.G.: "Use of gas chromatography in sludge digestion" - Sew. Ind. Wastes 31, 1237 (1959).

[18] DIXON M.: "Manometric Methods" - University Press, Cambridge (1951).

[19] MYLROIE R.L., HUNGATE R.E.: "Experiments on the methane bacteria in studge" - Canad. J. Microbiol. 1, 55 (1954).

МЕТАНОВОЕ БРОЖЕНИЕ ДВУОКИСИ УГЛЕРОДА В ПРИСУТСТВИИ ВОДОРОДА

Резюме

Особенным признаком метанового брожения является образование метана и двуокиси углерода из разновидных исходных субстратов. Это брожение следует считать в качестве оксидоредукционного процесса, при котором производится окисление субстратов при содействии двуокиси углерода. Метановые бактерии могут вызывать восстановление двуокиси углерода до метана в присутствии молекулярного водорода. Такое окисление субстрата связано с восстановлением двуокиси углерода производится согласно уравнению:

$$CO_2 + 4H_2 \text{———} CH_4 + 2\,H_2O$$

Произведено биохимическое исследование конверсии газовых смесей содержанием 20, 40 и 70% CO_2 в водороде. Эти газы были в контакте с обогащенными смешанными культурами метановых бактерий. Процесс происходил в периодических условиях. Динамика реакции исследовалась путем манометрического измерения расхода подводимого водорода. Превращение двуокиси углерода в метан исследовалось при помощи газовой хроматографии методом Янака.

Констатировано, что отношение объема израсходованного водорода и восстановленной двуокиси углерода было около 3,9 и было почти равно стехиометрическому значению.

Необходимое для восстановления определенной дозы двуокиси углерода время было в зависимости от акклиматизации системы и для 20% CO_2 колебалось в пределах от 48 до 24 час. Время брожения существенно было зависимо от объема ферментирующей массы, контактирующейся с реагирующей газовой смесью.

Наблюдался прямолинейный процесс восстановления CO_2 и расхода H_2 в основной фазе процесса для газовых смесей водорода с содержанием 20, 40 и 70% двуокиси углерода.

Проведенные исследования подтверждают мнение Баркера, что биохимическому восстановлению подлежит свободный, растворенный CO_2, а ион HCO_3^-, не является активным в этом процессе.

Силезский Политехнический Институт
Кафедра Технологии Воды и Сточных Вод

METHANE FERMENTATION OF CARBON DIOXIDE IN THE PRESENCE OF MOLECULAR HYDROGEN

Summary

The formation of methane and carbon dioxide from the different substrates is a particular feature of the methane fermentation. This fermentation is to be considered as a redox process of the oxidation of a substrate with the reduction of carbon dioxide. The methane bacteria can also cause the reduction of carbon dioxide to methane in the presence of molecular hydrogen. Such a fermentation can be formulated accordingly to the equation:

$$CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O$$

The investigation of biochemical conversion of gaseous mixtures containing 20, 40 and 70 percent of CO_2 in hydrogen was carried aut. Those gases were in contact with the enrichment cultures of the mixed population of methane bacteria. The process was in batch conditions. The course of carbon dioxide reduction was investigated by means of manometric measurements of the fed hydrogen consumption. The conversion of carbon dioxide to methane was determined by JANAK's method of the gas chromatography. It was found that the ratio of hydrogen consumed and carbon dioxide reduced was about 3,9 and was nearly equal to the theoretical value.

The time required to the reduction of some portion of CO_2 depended on the accimation of the fermentation system and with 20 percent of CO_2 varied in the range of 48 to 24 hours The time of fermentation was essentially depended on the volume of the digesting mass in contact with the reacting gaseous mixtures.

The linear of carbon dioxide reduction and hydrogen consumption was observed during the main fermentation phase for the gaseous mixtures of hydrogen containing 20, 40 and 70 percent of carbon dioxide.

The results of performed investigations confirm indirectly BARKER's opinion that free, dissolved CO_2 is susceptible to the biochemical reduction while the HCO_3' ion is not active in the process of methane formation.

Silesion Technical University at Gliwice
Laboratory of Water and Waste Waters Technology