

**Politechnika Gdańska**  
**Wydział Chemiczny**  
**Katedra Technologii Chemicznej**



**Zagospodarowanie osadów nadmiernych - fermentacja metanowa**  
**Instrukcja do ćwiczenia laboratoryjnego nr 6 dla kierunku**  
**Technologii Ochrony Środowiska**  
**Biotechnologia**

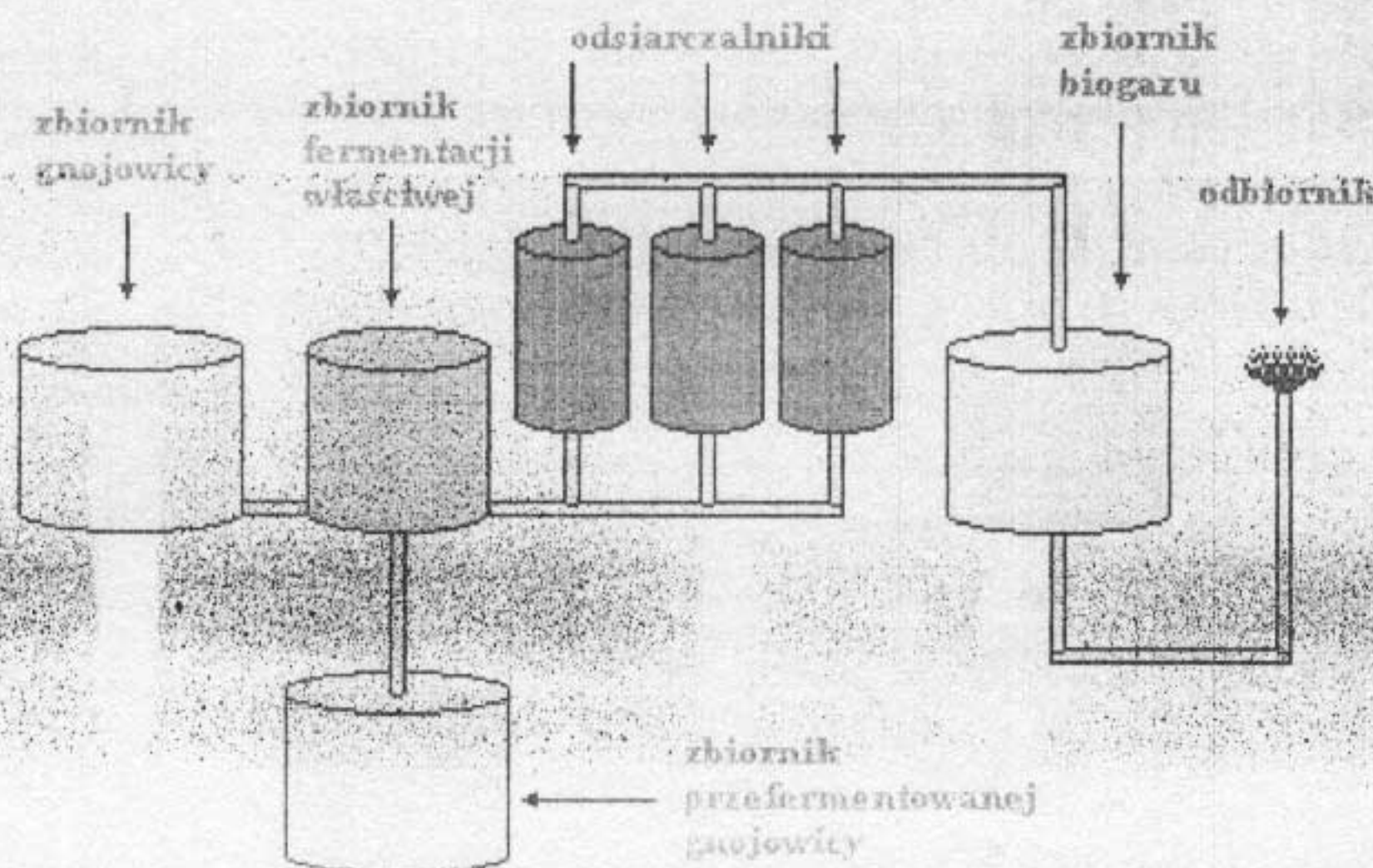
**Przygotował**  
**mgr inż. Andrzej Nowak**

## CZEŚĆ TEORETYCZNA

**Fermentacja metanowa** to proces biochemiczny, który zachodzi w warunkach beztlenowych, a wysoko cząsteczkowe substancje organiczne zawarte w osadach rozkładane są przez bakterie metanowe, które fermentują kwasy tłuszczowe (mrówkowy, octowy, propionowy, masłowy, walerianowy, kapronowy) wyższe kwasy tłuszczowe alkohole I rzędowe (metanol, etanol), alkohole II rzędowe i inne związki jak np. kwas bursztynowy, benzoesowy, aceton, a także wykorzystują tlenek węgla, dwutlenek węgla, wodór gazowy. Powstający w procesie fermentacji metanowej gaz, zwany **biogazem** lub agrogazem, składa się z **metanu i dwutlenku węgla** oraz nieznacznych domieszek **wodoru, siarkowodoru, azotu, pary wodnej i innych gazów**. Skład biogazu zależy od rodzaju biomasy użytej do fermentacji oraz od sposobu przeprowadzenia fermentacji. W skład biogazu wchodzi: *metan - 55 - 70%, wodór - 1- 3%, tlen - 0,5 - 1%, dwutlenek węgla - do 40%*, oraz gazy różne, które stanowią od 1 do 5%. Do wytworzenia biogazu mogą być użyte odchody zwierzęce, jak również wszystkie inne odpadki pochodzenia roślinnego (słoma, łęty ziemniaczane, liście buraczane itd.) i zwierzęcego, zawierające substancje organiczne. Niekiedy dla przeprowadzenia całkowitego rozkładu substratów potrzebne jest współdziałanie kilku gatunków bakterii metanowych i nie metanowych.

Bakterie metanowe w warunkach naturalnych bywają zwykle fakultatywnymi beztlenowymi fermentującymi cukry i wielocukry, w bagnach, w żołądkach przeżuwaczy, w ściekach wyzyskują tu alkohole, kwasy tłuszczowe, dwutlenek węgla i wodór tworzące się w wyniku fermentującego rozkładu celulozy lub innych złożonych węglowodorów zamieniając je w metan często jest zbierany i wykorzystywany do ogrzewania pomieszczeń. Fermentacja metanowa dostarcza nie tylko paliwa energetycznego w postaci biogazu, ale pozwala zarazem ograniczyć zanieczyszczenia środowiska i uzyskać wartościowy nawóz organiczny.

Pierwszą instalację biogazową zbudowano w 1895 roku w Wielkiej Brytanii, natomiast w Polsce już w 1928 roku wykorzystano biogaz w oczyszczalni ścieków w Poznaniu (Rys. 1)



Rys. 1. Uproszczony schemat instalacji biogazowni.

Najprostszym sposobem użytkowania biogazu jest jego wykorzystywanie do celów ogrzewczych (podgrzewanie biomasy w komorze fermentacyjnej, ogrzewanie budynków inwentarskich, szklarni lub innych obiektów - wartość opałowa biogazu zależy od udziału metanu i dla średnich warunków wynosi od 16,8 do 23,0 MJ/ m<sup>3</sup>. Po oddzieleniu z biogazu dwutlenku węgla przez rozpuszczenie go w wodzie można otrzymać gaz o zawartości do 95% metanu. Jego wartość opałowa jest znacznie wyższa i wynosi około 35,7 MJ/ m<sup>3</sup>) lub w gospodarstwie domowym. Nie wymaga on innej aparatury poza powszechnie stosowaną przy pozostałych rodzajach gazu palnego. Biogaz może być również wykorzystywany jako paliwo silników wysokoprężnych w ciągnikach rolniczych.

Fermentacja metanowa jest także przeprowadzana przez drobnoustroje, które nie mogą wykorzystywać w procesach dysymilacyjnych węglowodanów i aminokwasów najbardziej powszechnych źródeł węgla i energii.

Gatunek bakterii	Rozkładany substrat
<i>Methanobacterium omelianski</i>	H <sub>2</sub> , etanol, alkohole 1- 2-rzędu
<i>Methanobacterium suboxydans</i>	maślan, octan, kapronian
<i>Methanobacterium sohngeii</i>	octan, maślan
<i>Methanobacterium propionicum</i>	propionian
<i>Methanobacterium formicicum</i>	H <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , mrówczan
<i>Methanococcus mazei</i>	octan, maślan
<i>Methanococcus vannielli</i>	mrówczan, H <sub>2</sub>
<i>Methanosarcina barkeri</i>	H <sub>2</sub> , CO, metanol, octan
<i>Methanosarcina methanica</i>	octan, maślan

Podczas fermentacji metanowej osadu rozróżniamy proces upłynnienia substancji stałych organicznych - gazyfikacja. Procesy fermentacji stosuje się w oczyszczalniach o dowolnej wielkości dla osadu wstępnego jak również dla osadu zmieszanego z osadem wtórnym. Proces fermentacji przebiega prawidłowo w osadach organicznych pochodzących ze ścieków socjalno-bytowych jak i z przemysłu spożywczego. Procesy fermentacji mogą być stosowane w przypadku innych ścieków lub osadów pod warunkiem że nie zawierają one substancji toksycznych lub związków hamujących proces biochemicznego rozkładu zanieczyszczeń

Bakterie, biorące udział w tej fermentacji, mają jednak stosunkowo długi czas reprodukcji i są bardzo wrażliwe na warunki środowiskowe, z których najważniejsze to:

- brak dostępu powietrza atmosferycznego (tlenu) i światła,
- odpowiednia i stała dla danego rodzaju bakterii temperatura środowiska,
- odpowiedni odczyn, wilgotność oraz mała toksyczność środowiska.

Zmiana choćby jednego tylko z wymienionych czynników powoduje zwolnienie lub zahamowanie aktywności bakterii, czego wynikiem będzie zmniejszenie udziału metanu w wydzielającym się gazie, a w skrajnym przypadku - zaniknięcie wydzielania (następuje tzw. zakiśnięcie biomasy). Bakterie metanowe wykazują dużą wrażliwość na substancje mineralne, trujące i związki chemiczne, przenikające do środowiska wskutek coraz szerszego ich stosowania w hodowli zwierząt. Wydajność i szybkość przebiegu fermentacji metanowej zależy w dużym stopniu od temperatury, w jakiej ten proces przebiega.

Z badań wynika, że fermentacja metanowa wykazuje dwie maksymalne wydajności gazu: pierwszą przy temperaturze 303-308 K (bakterie mezofilne) i drugą przy temperaturze 325-328 K (bakterie termofilne). Temperatura jest bardzo istotnym parametrem procesu fermentacji. Zmiana o 10 stopni w ciągu doby powodują obumieranie (szok termiczny) bakterii metanowych, co wiąże się z zawartością kwasów lotnych w komorze, wzrostem pH i spadkiem zasadowości. Do prawidłowego przebiegu fermentacji metanowej wymagane jest ponadto lekko zasadowe środowisko o pH od 6,5 do 8 (optimum pH wynosi 7,5). Przy zbyt zasadowym odczynie środowiska wydziela się znacznie więcej siarkowodoru i wodoru. W przypadku kwaśnego odczynu środowiska fermentacja metanowa zostaje zahamowana, a nawet może być przerwana. Aby ułatwić przebieg fermentacji metanowej, wskazane jest mieszanie zawartości zbiornika w celu ujednoczenia temperatury i zapewnienia bakteriom jednakowych warunków rozwoju w całej biomacie. Mieszanie znacznie ułatwia pęcherzykom gazu wydostawanie się (następuje niszczenie tzw. kożucha).

W optymalnych warunkach proces wytwarzania biogazu przebiega z różnym natężeniem przez wiele dni. W cyklu jego produkcji można wyróżnić dwie fazy:

a) **fermentacja kwaśna** – w procesie fermentacji kwaśnej bakterie rozkładają związki węgla do dwutlenku węgla a proces ten zbliżony jest do I fazy rozkładu zanieczyszczeń w warunkach tlenowych. Potrzebny tlen bakterie uzyskują z rozszczepiania innych związków oraz wody, wskutek czego uwalniany zostaje wodór. Produktami rozkładu są także gazy:  $CO_2$ , wodór, nieznaczne ilości metanu i  $H_2S$ . Poza tym przy rozszczepieniu tłuszczów zostają uwalniane kwasy organiczne takie jak:  $CH_3COOH$ , kwas masłowy, a powstanie ich uzasadnia określenie tego etapu fermentacją kwaśną. W procesie fermentacji kwaśnej rozkładane są głównie węglowodany a nie związki azotowe. Przy rozwijającej się później fermentacji metanowej rozkładane są również zw. azotowe. Przejściowym produktem tego rozkładu jest amoniak.

b) **fermentacja metanowa** – po zajściu procesu fermentacji kwaśnej następuje fermentacja metanowa, zwana też fermentacją zasadową. Jest to proces, w którym rozkładają się wolne kwasy tłuszczowe powstałe w poprzednim okresie, a odczyn zaczyna być bardziej zasadowy. Wskutek rozkładu kwasów tłuszczowych do:  $CO_2$  i metanu, ilość metanu wzrasta, bo uwolniony poprzednio wodór tworzy z węglem metan. Gaz z fermentacji zawiera wówczas metan i  $CO_2$ . Fermentacja metanowa nadaje się jedynie do unieszkodliwiania osadów ściekowych oraz oczyszczania wyłącznie bardzo stężonych ścieków przemysłu organicznego.

Przy właściwie prowadzonym procesie fermentacji obie fazy powinny przebiegać w ścisłej równowadze. **Natężenie wytwarzania gazu osiąga maksimum po około 30 dniach**, następnie nieco spada i ponownie wznosi się do drugiego maksimum po około 50 dniach, po czym zaczyna gwałtownie spadać.

Material	Wydajność w kg [m3]	Czas fermentacji [dni]
słoma	0,367	78
liście buraków	0,501	14
łody ziemniaczane	0,606	53
łodygi kukurydzy	0,514	52
koniczyna	0,445	28
trawa	0,557	25

Ilość wyprodukowanego biogazu zależy od temperatury prowadzenia procesu, czasu trwania fermentacji metanowej oraz od ilości w biomacie substancji organicznej, która została zmineralizowana. Doświadczalnie stwierdzono, że w procesie fermentacji metanowej można

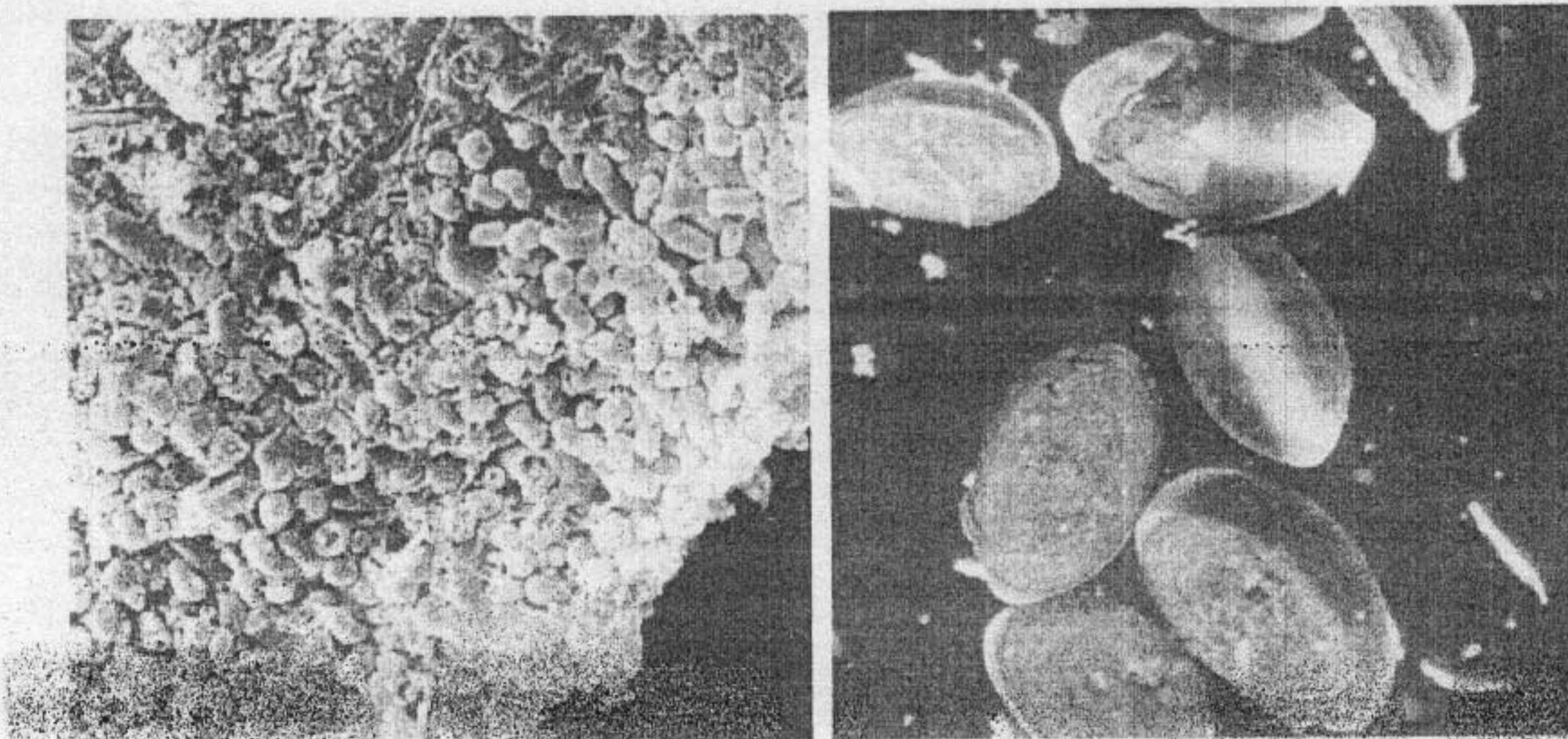
doprowadzić do wykorzystania maksimum 40% substancji organicznej. Jeżeli czas trwania fermentacji jest krótszy (20 - 30 dni), możemy liczyć tylko na około 30% wykorzystania tej substancji zawartej w biomacie.

W porównaniu z tlenowymi metodami oczyszczania ścieków, proces ich fermentacji posiada następujące zalety:

- nie wymaga kosztownego napowietrzania,
- jedynie 2 ÷ 6% usuwanego ChZT (zamiast 30 do 60%) przekształca się w osad nadmierny,
- uzyskuje się od 300 do 400 m<sup>3</sup> biogazu z jednej tony usuwanego ChZT.

Coraz lepsza znajomość mikrobiologicznych, biochemicznych i termodynamicznych podstaw fermentacji metanowej owocuje praktycznie zwiększeniem wydajności procesu oraz znacznym rozszerzeniem rodzajów wykorzystywanych substratów organicznych. Obok tradycyjnych substratów (ścieki przemysłu spożywczego, papierniczego), coraz częściej prowadzi się beztlenową biodegradację fenoli, substancji powierzchniowo czynnych, a nawet produktów petrochemicznych. Aktualnie jedynie nienasycone węglowodory, eter, lignina i niektóre tworzywa sztuczne nie ulegają w ogóle lub bardzo powoli biodegradacji w warunkach beztlenowych.

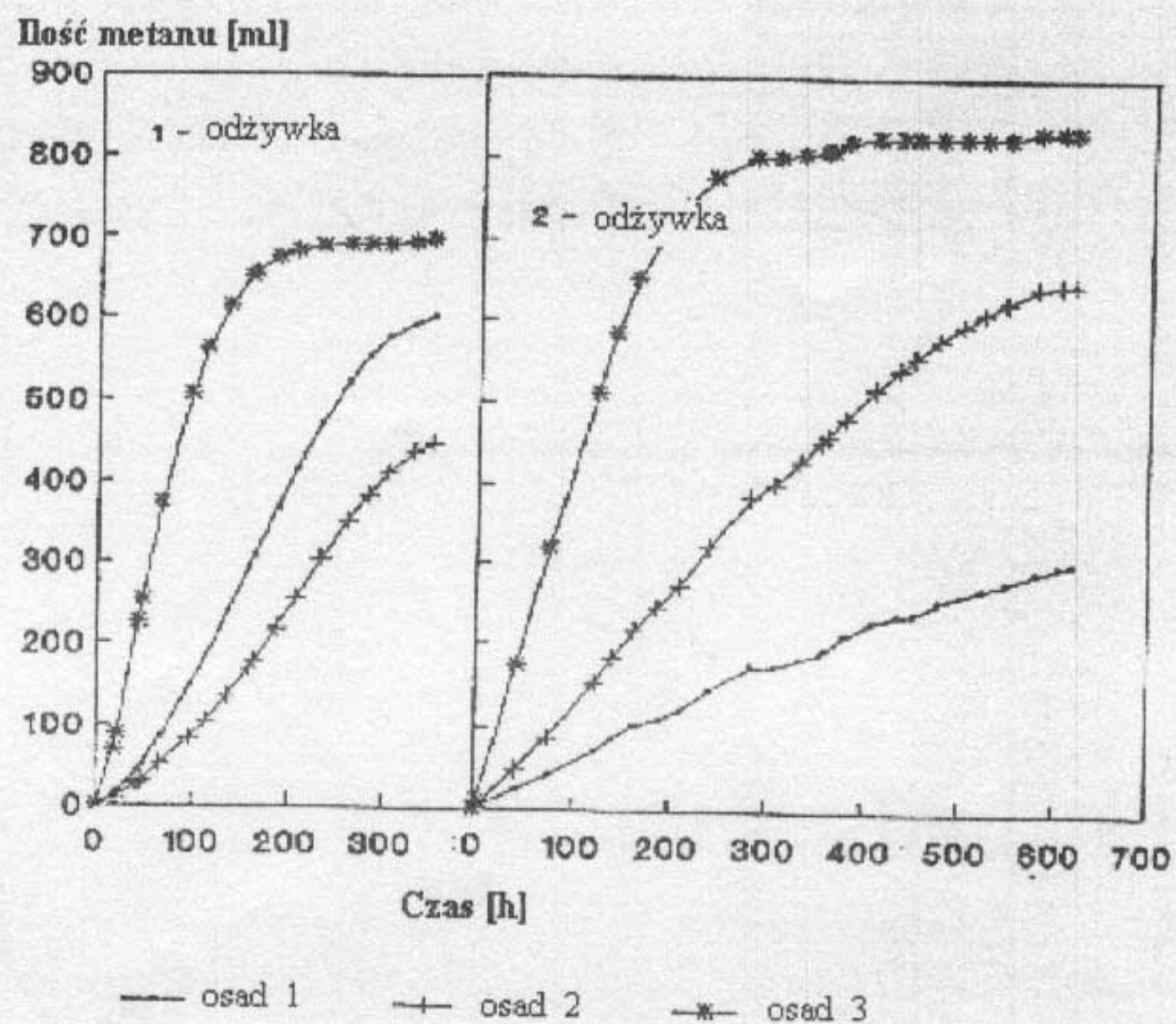
Rozpowszechnienie metod beztlenowego oczyszczania ścieków wiąże się przede wszystkim z rozwiązaniem problemu wolnego czasu namnażania się bakterii prowadzących ten proces. Szczególnie dotyczy to bakterii metanogennych, odpowiedzialnych za ostatni najważniejszy etap fermentacji ścieków. Częściowo rozwiązano ten problem przez technologiczne wyodrębnienie dwu zasadniczych etapów fermentacji. Pierwszy etap obejmuje szybkie fazy hydrolizy, acido- i acetogenne, a drugi fazę metanową. To rozwiązanie pozwoliło także na zmniejszenie zagrożenia stabilności procesu wynikającego z nagromadzenia produktów pierwszych faz, co wpływa hamująco na fazę ostatnią. Lecz największy postęp wynikał ze skutecznego uzyskania populacji drobnoustrojów o dobrych własnościach sedymentacyjnych, bądź dzięki uzyskaniu ich granulowanej formy (proces UASB; Rys. 2)



Rys. 2. a) Granulowany osad czynny; b) Bakterie anaerobowe UASB

lub też zastosowania nośników do immobilizacji drobnoustrojów, (co pozwoliło na znaczne zwiększenie ich stężenia w bioreaktorze i uniezależnienie efektywności procesu od czasu generacji drobnoustrojów).

Opanowano także technikę uzyskiwania aktywnej biocenozy drogą prostej selekcji poprzez kolejne procesy porcjowe (Rys. 3). Ciągłe jednak pewnym ograniczeniem powszechnego stosowania fermentacji ścieków jest jego duża wrażliwość na wahania czynników środowiskowych np. temperatury.



Rys. 3. Porównanie aktywności metanogennych w tych samych ilościach 3 różnych osadów UASB

#### Literatura uzupełniająca:

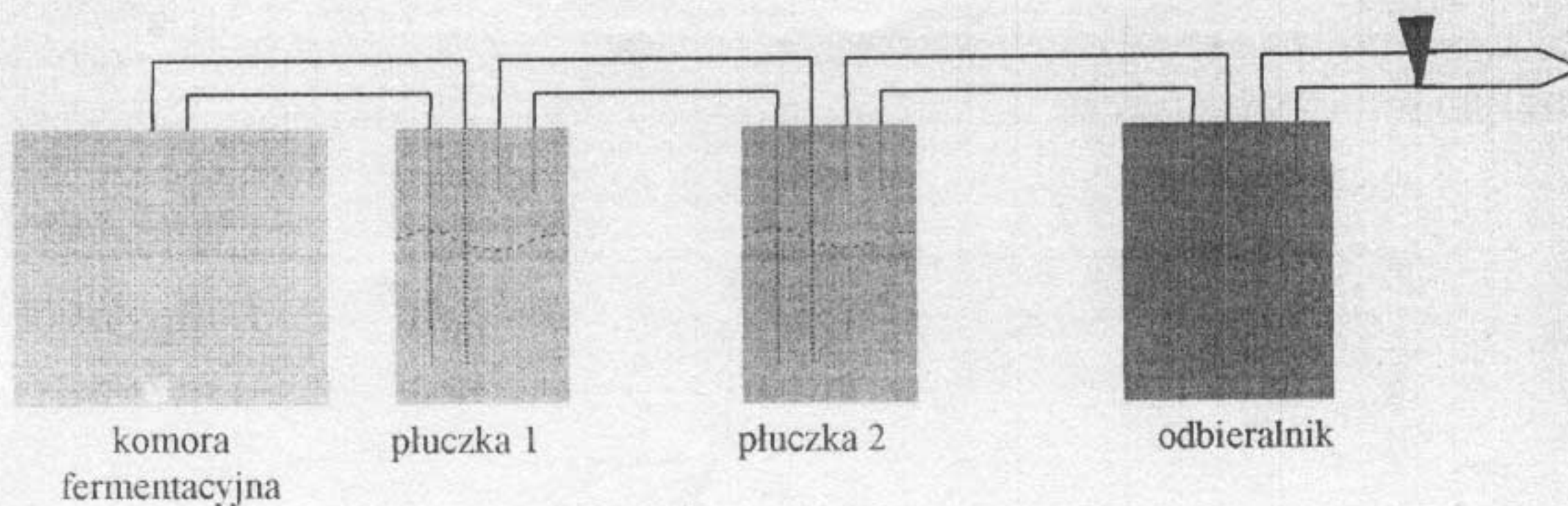
1. B. Cywiński „Oczyszczanie ścieków miejskich: podstawy technologiczne zasady projektowania oczyszczalni [T.2]” Warszawa: Arkady, 1972.
2. <http://www.bioenergia.eco.pl/biogaz.html>
3. H. G. Schlegel „Mikrobiologia ogólna” Warszawa: PWN, 1996.
4. A. Chmiel „Biotechnologia: podstawy mikrobiologiczne i biochemiczne” Warszawa: PWN, 1994.

## CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Istotą poniższego ćwiczenia jest przeprowadzenie procesu fermentacji metanowej przez bakterie metanogenne oraz analiza ilościowa i jakościowa otrzymanego produktu. W tym celu należy przygotować zestaw do fermentacji metanowej składający się z następującej aparatury:

- Komora fermentacyjna z mieszadłem
- Płuczka do usuwania CO<sub>2</sub> (płuczka 1)
- Płuczka do usuwania H<sub>2</sub>S (płuczka 2)
- Pojemnik do magazynowania biogazu

Zestaw skonstruować wg podanego schematu:



Materiały do ćwiczeń:

- Zestaw aparaturowy
- Zawiesina bakterii metanowych (około 2000 ml)
- Roztwór siarczanu *p*-aminodimetyloaniliny (*s<sub>p</sub>*-adma) z chlorkiem żelazowym (FeCl<sub>3</sub>) w środowisku kwaśnym
- Roztwór wodorotlenku sodu (NaOH)

Sposób postępowania:

### 1. Skonstruowanie komory fermentacyjnej

Połączyć komorę fermentacyjną z mieszadłem, umocować w statywie i umieścić w łaźni wodnej z kontrolą temperaturową. Temperaturę grzałki ustawić na 30°C.

### 2. Przygotować materiał organiczny pod biomasę

W komorze fermentacyjnej umieścić ok. 2 dm<sup>3</sup> osadu czynnego.

### 3. Połączyć wężykiem komorę fermentacyjną z płuczką 1

W płuczce 1 umieścić około 10 ml 3 M roztworu NaOH.

### 4. Połączyć wężykiem płuczkę 1 z płuczką 2

W płuczce 2 (osłoniętej od światła słonecznego) umieścić 1 ml kwaśnego roztworu *s<sub>p</sub>*-adma i około 5 ml roztworu FeCl<sub>3</sub>.

Przygotowanie roztworu *s<sub>p</sub>*-adma (w próbówce):

1 ml  $H_2SO_4$  ( $d = 1,84 \text{ g/cm}^3$ ) rozpuścić w 0,6 ml wody destylowanej. Otrzymany roztwór oziębic, a następnie dodać 0,544 g *s\_p*-adma. Otrzymaną mieszaninę dopełnić wodą destylowaną do 4 ml i owinać folią aluminiową.

Przygotowanie roztworu  $FeCl_3$  (w zlewce):

W 25 ml zlewce rozpuścić 5 g  $FeCl_3$  w 3 ml wody destylowanej i dopełnić wodą do 5 ml.

5. Połączenie wężykiem, przez zawór, płuczki 2 z odbiornikiem na biogaz.

#### Analiza ilościowa procesu fermentacji metanowej

Na podstawie danych podanych przez prowadzącego obliczyć teoretyczną objętość otrzymanego biogazu po upływie 2 godzin (założyć, że całkowity czas fermentacji wynosi 14 dni) oraz oszacować jego wartość opałową wiedząc, że wartość opałowa oczyszczonego biogazu wynosi około  $35 \text{ MJ/m}^3$ .

Skorzystać z następujących zależności:

Substrat [1 g]	$Q_{gmax}$ [cm <sup>3</sup> ]	% CH <sub>4</sub> w mieszaninie	% CO <sub>2</sub> w mieszaninie
skrobia, celuloza	825	50	50
cukier	790	50	50
tłuszcz	1250	68	32
białko	704	71	29

oraz:

$$Q_{ge} = Q_g t = 0,65 Q_{gmax} (1 - 10^{-kt})$$

gdzie:

$Q_{ge}$  - praktycznie osiągalna ilość gazu [m<sup>3</sup>]

$Q_g$  - ilość gazu [m<sup>3</sup>/h]

$Q_{gmax}$  - maksymalnie osiągalna ilość gazu [m<sup>3</sup>]

$k$  - stała szybkości reakcji (0,1)

$t$  - czas trwania fermentacji [h]

Natomiast stosując optymalne warunki fermentacji można osiągnąć:

$$Q_{ge} = Q_g t = 0,9 Q_{gmax}$$

#### Analiza jakościowa procesu fermentacji metanowej

- Odkręcić zawór od odbieralnika na biogaz i obserwować zachodzącą reakcję