



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2009 01046

(22) Data de depozit: 14.12.2009

(41) Data publicării cererii:
30.06.2011 BOPI nr. 6/2011

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE
- DEZVOLTARE PENTRU INGINERIE
ELECTRICĂ ICPE-C.A., SPLAIUL UNIRII
NR. 313, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• MATEESCU CARMEN,
CALEA 13 SEPTEMBRIE NR.102, BL.48A,
SC.A, AP.26, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B,
RO

(54) **PROCEDEU DE TRATARE A NĂMOLURILOR DE EPURARE
PENTRU STIMULAREA ACTIVITĂȚII MICROORGA-
NISMELOR METANOGENE**

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la un procedeu de tratare a nămolurilor, de la epurarea prin fermentare anaerobă a apelor uzate, cu un mediu selectiv de cultură, constând dintr-un mediu de bază, compus din 0,75 g KH_2PO_4 , 1,45 g $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3 \text{H}_2\text{O}$, 0,9 g NH_4Cl , 0,2 g $\text{MgCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$, 0,5 g $\text{Na}_2\text{S} \times 9 \text{H}_2\text{O}$, 1 ml rezazurină 0,2%, 1 g agar, 1000 ml apă distilată, mediu care se îmbogățește în proporție de 1,5...2% față de mediul de bază cu soluție 0,1mol/l de acetat de nichel tetrahidrat, după

care mediul îmbogățit se însămânțează cu diluții decimale de nămol fermentat, și probele se incubează în regim mezofil, la determinarea prin metoda statistică înregistrându-se o creștere cu 17,2% a activității microorganismelor metanogene implicate în obținerea biogazului, față de proba inițială.

Revendicări: 1



Procedeu de tratare a namolurilor de epurare pentru stimularea activitatii microorganismelor metanogene

Prezenta inventie se refera la un procedeu de tratare a namolurilor de epurare utilizat pentru stimularea activitatii microorganismelor metanogene cu aplicabilitate in procesele biochimice de obtinere a biogazului prin fermentarea anaeroba a biomasei. Procedeu se aplica atat namolului provenit din statii de epurare a apelor reziduale (municipale sau de la crescatorii de animale), cat si celui provenit din reactoarele anaerobe, prelevat din diferite faze ale procesului de fermentare.

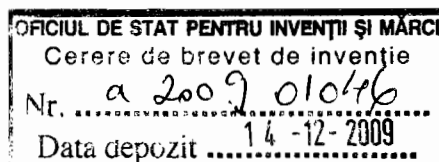
Sunt cunoscute procedee de tratare a namolurilor de epurare pentru stimularea activitatii microbiene ce constau in: cresterea temperaturii masei de fermentare la regim termofil ($50-55^{\circ}\text{C}$) care reduce semnificativ durata de fermentare; imbogatirea namolului cu culturi pure de microorganisme metanogene cultivate in vitro pe medii de cultura ce contin substraturi diverse metanogene (metanol, metilamina, acid acetic si H_2 , CO_2); tratarea namolului cu carbonat de sodiu si un pirofosfat anorganic (pirofosfat de sodiu, potasiu), care regleaza ionii inhibitori ai metanogenezei si stimuleaza activitatea enzimatica a microorganismelor; adaugarea in mediul de fermentare a unor saruri de Na, K, Mg, Ca, de tipul fosfatilor, carbonatilor sau alte saruri ale acizilor anorganici slabi; tratarea namolului cu formiat de sodiu, potasiu, calciu, amoniu generat in situ prin reactia dintre acidul formic si hidroxidul cationilor mentionati.

Procedeele cunoscute prezinta urmatoarele dezavantaje:

- Fermentarea anaeroba termofila ($\sim 55^{\circ}\text{C}$), desi reduce durata de fermentare si implicit volumul reactoarelor de fermentare, are dezavantajul ca necesita costuri suplimentare de energie calorica, in special in perioada de iarna, si determina formarea de cruste si spume in bazine, ingreunand colectarea biogazului;
- Cationi precum Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , produc inhibarea fermentarii anaerobe la concentratii mai mari de 10 g/l;
- Sarurile de sodiu sunt relativ toxice fata de microorganismele metanogene, motiv pentru care este indicata evitarea utilizarii hidroxidului de sodiu ca agent de reglare a pH-ului namolului la valori optime de 7 – 8;
- Acidul formic are efect bactericid si bacteriostatic, determinand reducerea incarcarii microbiene si a eficientei namolului activ. Aceasta va duce la cresterea duratei de fermentare si la reducerea eficientei de descompunere a materialului organic.

Problema tehnica pe care o rezolva inventia consta in stimularea multiplicarii, dezvoltarii si activitatii microorganismelor metanogene existente in namolul de epurare care se utilizeaza ca material de inocul in namolurile organice, in scopul accelerarii procesului de fermentare anaeroba si cresterii gradului de descompunere a materialelor organice pana la stadiul final de biogaz, cu costuri reduse de energie termica si de materiale.

Procedeu conform inventiei inlatura dezavantajele mentionate mai sus prin aceea ca: se utilizeaza namol fermentat provenit din reactorul de fermentare anaeroba a apelor uzate, mediu de cultura selectiv pentru cultivarea si izolarea microorganismelor metanogene, constand dintr-un mediu bazal compus din KH_2PO_4 0,75 g, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ 1,45 g, NH_4Cl 0,9 g, $\text{MgCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ 0,2 g, $\text{Na}_2\text{S} \times 9 \text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, solutie 0,2 %



resazurina 1 ml, agar 1 g, 1000 ml apa distilata; mediu bazal care se imbogateste cu un amestec nutritiv format din componente in parti de volum egale: solutie acid acetic 0,1 N, solutie KOH 0,1 N si metanol; amestecul nutritiv se adauga in proportie de 1/20 fata de volumul mediului bazal; mediul bazal imbogatit cu amestecul de acetat de potasiu si metanol, se insamanteaza cu dilutii decimale de proba de namol fermentat; probele se incubeaza in regim mezofil, apoi se determina numarul de microorganisme metanogene prin metoda statistica MPN; in paralel se pregateste acelasi numar de probe cu mediu de cultura, insamantate cu dilutii decimale de probe de namol fermentat, care a fost tratat in prealabil cu o solutie nutritiva de acetat de nichel tetrahidratat $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ de concentratie 0,1 mol/l, in proportie de 1,5 – 2% (procente volum) fata de proba de namol fermentat; dupa incubare se determina, prin metoda statistica MPN, numarul de microorganisme metanogene existente in proba tratata cu acetat de nichel; in proba initiala se determina un numar de microorganisme metanogene de $6,4 \times 10^4$ celule/ml, iar in proba de namol fermentat tratata cu solutia de acetat de nichel tetrahidrat se inregistreaza un numar de microorganisme metanogene de $7,5 \times 10^4$ celule/ml, ceea ce reprezinta o imbunatatire a activitatii microbiene cu 17,2 % fata de proba initiala de namol fermentat.

Inventia prezinta urmatoarele avantaje:

- Cresterea potentialului microbiologic al namolului de epurare fara a fi necesara incalzirea acestuia in domeniul termofil care ar implica costuri energetice suplimentare;
- Asigurarea necesarului de nichel pentru stimularea multiplicarii, dezvoltarii si activitatii microorganismelor metanogene, deoarece nichelul este un micronutrient indispensabil in metabolismul bacterian, fiind un component al coenzimei F430 responsabila de producerea metanului printr-un lant de reactii enzimatice; S-a optat pentru utilizarea acetatului de nichel ca sursa de nichel avand in vedere ca acetatul reprezinta un bun nutrient pentru microorganismele metanogene in procesele biochimice de sinteza a metanului.
- Imbunatatirea calitatii mediului prin cresterea gradului de degradare si conversie a poluantilor organici din namol si reducerea potentialului patogen al acestora;
- Imbunatatirea calitativa si cantitativa a biogazului generat prin cresterea cantitatii de metan ca urmare a stimularii activitatii microorganismelor metanogene;
- Tratarea namolurilor de epurare in instalatiile de biogaz, duce la cresterea excedentului de biogaz si implicit la cresterea eficientei energetice a instalatiilor cu functionare in regim mezofil.
- Procedeeul de tratare este unul economic avand in vedere ca materialul utilizat ca aditiv este acetatul de nichel hidratat care are o solubilitate ridicata in apa la temperatura ambianta, nefiind necesara incalzirea prealabila a solutiei pentru dizolvarea sa completa; De asemenea, pretul de cost al acetatului de nichel este mai mic comparativ cu cel al altor compusi de nichel usor solubili in apa.

Se da in continuare un exemplu de realizare a inventiei.

In vederea realizarii procedeului de tratare, conform inventiei, se utilizeaza urmatoarele materii prime:

- Namol fermentat prelevat din reactorul de fermentare anaeroba a apelor uzate rezultate in procesele industriale de fabricare a etanolului din cereale (grau, porumb), avand ca inocul initial namol de epurare provenit de la statii municipale;
- Mediu de cultura pentru cultivarea si izolarea microorganismelor metanogene, constand dintr-un mediu bazal cu urmatoarea compozitie: KH_2PO_4 0,75 g, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ 1,45 g, NH_4Cl 0,9 g, $\text{MgCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ 0,2 g, $\text{Na}_2\text{S} \times 9 \text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, solutie 0,2 % resazurina 1 ml, agar 1 g, 1000 ml apa distilata; Mediul de cultura bazal este imbogatit cu un amestec nutritiv format din urmatoarele componente in parti de volum egale: solutie acid acetic 0,1 N, solutie KOH 0,1 N si metanol. Amestecul nutritiv se adauga in proportie de 1/20 fata de volumul mediului bazal.
- Solutie 0,1 M acetat de nichel tetrahidratat $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$;
- Apa bidistilata;

Pentru efectuarea tratarii namolurilor de epurare in vederea stimulării activității microorganismelor metanogene, precum si pentru punerea in evidenta a cresterii gradului de multiplicare si dezvoltare a acestora in urma tratamentului aplicat, sunt parcurse urmatoarele etape de lucru:

Etapa 1: Pregatirea materiilor prime

Se prepara mediul de cultura bazal conform standardului SR CEN ISO/TS 11133-1:2009, care se imbogateste cu un amestec nutritiv pe baza de acetat de potasiu si metanol, obtinut din solutie acid acetic 0,1 N, solutie KOH 0,1 N si metanol in proportii de volum egale. In tuburile de sticla prevazute cu dop de teflon se introduce cate un volum de 9 ml mediu de cultura imbogatit cu amestec nutritiv, apoi se sterilizeaza prin autoclavare la 121°C timp de 20 minute.

Etapa 2: Tratarea namolului de epurare

Mediul de cultura se insamantaza cu cate 1 ml proba de namol fermentat avand diferite dilutii decimale, pregatindu-se serii de cate trei probe pentru fiecare dilutie decimale.

In paralel se pregateste acelasi numar de probe cu mediu de cultura, insamantate cu dilutii decimale de probe de namol fermentat tratat in prealabil cu o solutie nutritiva de acetat de nichel tetrahidratat $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ de concentratie 0,1 mol/l. Volumul de acetat de nichel adaugat in proba de namol fermentat este de 15-20 μl la un volum de 1 ml namol fermentat (1,5 – 2 % fata de volumul namolului fermentat). Pentru asigurarea conditiilor de anaerobioza, dupa inoculare, mediul a fost acoperit cu un strat de 1 cm ulei de parafina steril.

Etapa 3: Determinarea numarului de microorganisme metanogene inainte si dupa tratamentul aplicat namolului de epurare

Probele se incubeaza la o temperatura de $35 - 37^\circ\text{C}$ timp de cateva zile, examinandu-se la fiecare 24 ore pentru identificarea modificarilor survenite (schimbarea culorii, disparitia oxigenului de la suprafata mediului, tulburarea mediului, aparitia de bule de gaz in tubusoarele Durham si la suprafata mediului, depunerea de sediment).

Estimarea cantitativa a numarului de microorganisme metanogene prezente in namolul fermentat inainte si dupa tratarea namolului cu solutia de acetat de nichel s-a

realizat pe baza indicelui MPN obtinut din combinatia de probe pozitive si negative, prezentat in tabelul Mc Crady.

Indicele MPN obtinut pentru proba de namol fermentat este 302, corespunzand unui numar de microorganisme de $6,4 \times 10^4$ celule/ml.

Proba de namol fermentat tratata cu solutia de acetat de nichel tetrahidrat a inregistrat un indice MPN de 311, corespunzand unei incarcari cu microorganisme metanogene de $7,5 \times 10^4$ celule/ml, ceea ce reprezinta o imbunatatire a activitatii microbiene in proba de namol fermentat tratata cu acetat de nichel cu 17.2 % fata de proba initiala.

Conform inventiei se utilizeaza un compus pe baza de nichel ca aditiv chimic, nichelul fiind un element indispensabil activitatii enzimaticice a microorganismelor metanogene. Compusul pe baza de nichel este o sare de tipul acetatului de nichel tetrahidratat, care are o solubilitate ridicata in apa si un pret de cost redus. Acetatul de nichel tetrahidratat se utilizeaza sub forma de solutie 0,1 M in apa bidistilata. Concentratia de solutie acetat de nichel tetrahidratat adaugata la namolul de epurare este de 1,5 - 2 % (procente volum), adica 15-20 μ l solutie acetat de nichel 0,1 M / 1 ml namol fermentat.

Pentru aplicarea inventiei la stimularea activitatii microorganismelor metanogene in procesele industriale de obtinere a biogazului, se prepara o solutie 0,1 M acetat de nichel tetrahidratat $Ni(CH_3COO)_2 \times 4H_2O$, care se adauga sub agitare usoara la cantitatea de namol de epurare sau namol fermentat ce urmeaza a fi utilizate ca inocul in reactoarele de fermentare anaeroba. Pentru fiecare litru de namol se utilizeaza 15-20 ml solutie acetat de nichel tetrahidrat, astfel incat sa se asigure o concentratie de acetat de nichel tetrahidrat in namolul fermentat de 1,5 - 2%.

Prin aplicarea inventiei se obtin:

- reducerea consumurilor energetice necesare asigurarii conditiilor de temperatura in regim termofil care sa contribuie la intensificarea activitatii microbiene a namolului activ;
- reducerea costurilor cu materialele utilizate ca aditivi chimici pentru asigurarea micronutrientilor necesari multiplicarii si dezvoltarilor microorganismelor metanogene;
- reducerea timpului de retentie hidraulica a biomasei in reactoarele de fermentare anaeroba;

Revendicare

Procedeu de tratare a namolurilor de epurare in vederea stimularii activitatii microorganismelor metanogene implicate in obtinerea biogazului, caracterizat prin aceea **ca** se utilizeaza namol fermentat provenit din reactorul de fermentare anaeroba a apelor uzate, mediu de cultura selectiv pentru cultivarea si izolarea microorganismelor metanogene, constand dintr-un mediu bazal compus din KH_2PO_4 0,75 g, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ 1,45 g, NH_4Cl 0,9 g, $\text{MgCl}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ 0,2 g, $\text{Na}_2\text{S} \times 9 \text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, solutie 0,2 % resazurina 1 ml, agar 1 g, 1000 ml apa distilata; mediu bazal care se imbogateste cu un amestec nutritiv format din componente in parti de volum egale: solutie acid acetic 0,1 N, solutie KOH 0,1 N si metanol; amestecul nutritiv se adauga in proportie de 1/20 fata de volumul mediului bazal; mediul bazal imbogatit cu amestecul de acetat de potasiu si metanol, se insamanteaza cu dilutii decimale de proba de namol fermentat; probele se incubeaza in regim mezofil, apoi se determina numarul de microorganisme metanogene prin metoda statistica MPN; in paralel se pregateste acelasi numar de probe cu mediu de cultura, insamantate cu dilutii decimale de probe de namol fermentat, care a fost tratat in prealabil cu o solutie nutritiva de acetat de nichel tetrahidratat $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ de concentratie 0,1 mol/l, in proportie de 1,5 – 2% (procente volum) fata de proba de namol fermentat; dupa incubare se determina, prin metoda statistica MPN, numarul de microorganisme metanogene existente in proba tratata cu acetat de nichel; in proba initiala se determina un numar de microorganisme metanogene de $6,4 \times 10^4$ celule/ml, iar in proba de namol fermentat tratata cu solutia de acetat de nichel tetrahidrat se inregistreaza un numar de microorganisme metanogene de $7,5 \times 10^4$ celule/ml, ceea ce reprezinta o imbunatatire a activitatii microbiene in proba de namol fermentat tratata cu acetat de nichel cu 17,2 % fata de proba initiala.