



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2009 01046**

(22) Data de depozit: **14.12.2009**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30.04.2014** BOPI nr. **4/2014**

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

(73) Titular:
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
INGINERIE ELECTRICĂ ICPE-CA,
SPLAIUL UNIRII NR.313, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **MATEESCU CARMEN,
CALEA 13 SEPTEMBRIE NR.102, BL.48 A,
SC.1, AP.26, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B,
RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
RO 83695; RO 99876

(54) **PROCEDEU DE TRATARE A NĂMOLURILOR DE EPURARE
PENTRU STIMULAREA ACTIVITĂȚII
MICROORGANISMELOR METANOGENE**



1 Prezenta invenție se referă la un procedeu de tratare a nămolurilor de epurare pentru
stimularea activității microorganismelor metanogene, cu aplicabilitate în procesele biochimice
3 de obținere a biogazului prin fermentarea anaerobă a biomasei. Procedeu se aplică atât
nămolului provenit din stații de epurare a apelor reziduale (municipale sau de la crescătorii
5 de animale), cât și celui provenit din reactoarele anaerobe, prelevat din diferite faze ale
procesului de fermentare.

7 Sunt cunoscute procedee de tratare a nămolurilor de epurare pentru stimularea activi-
tății microbiene, ce constau în: creșterea temperaturii masei de fermentare în regim termofil
9 (50...55°C) care reduce semnificativ durata de fermentare; îmbogățirea nămolului cu culturi
pure de microorganisme metanogene cultivate *in vitro* pe medii de cultură ce conțin sub-
11 straturi diverse metanogene (metanol, metilamina, acid acetic și H₂, CO₂); tratarea nămolului
cu carbonat de sodiu și un pirofosfat anorganic (pirofosfat de sodiu, potasiu), care reglează
13 ionii inhibitori ai metanogenezei și stimulează activitatea enzimatică a microorganismelor;
adăugarea în mediul de fermentare a unor săruri de Na, K, Mg, Ca, de tipul fosfaților,
15 carbonaților sau a altor săruri ale acizilor anorganici slabi; tratarea nămolului cu formiat de
sodiu, potasiu, calciu sau amoniu generat in situ prin reacția dintre acidul formic și hidroxidul
17 cationilor menționați.

Procedeele cunoscute prezintă următoarele dezavantaje:

19 - fermentarea anaerobă termofilă (~55°C), deși reduce durata de fermentare și
implică volumul reactoarelor de fermentare, are dezavantajul că necesită costuri suplimen-
21 tare cu energia calorică, în special în perioada de iarnă, și determină formarea de cruste și
spume în bazine, îngreunând colectarea biogazului;

23 - cationii precum Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, K⁺ produc inhibarea fermentării anaerobe la con-
centrații mai mari de 10 g/l;

25 - sărurile de sodiu sunt relativ toxice față de microorganismele metanogene, motiv
pentru care este indicată evitarea utilizării hidroxidului de sodiu ca agent de reglare a pH-ului
27 nămolului la valori optime de 7...8;

- acidul formic are efect bactericid și bacteriostatic, determinând reducerea încărcării
29 microbiene și a eficienței nămolului activ. Aceasta va duce la creșterea duratei de
fermentare și la reducerea eficienței de descompunere a materialului organic.

31 Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în stimularea multiplicării,
dezvoltării și activității microorganismelor metanogene existente în nămolul de epurare care
33 se utilizează ca material de inocul în nămolurile organice, în scopul accelerării procesului
de fermentare anaerobă și al creșterii gradului de descompunere a materialelor organice
35 până la stadiul final de biogaz, cu costuri reduse de energie termică și de materiale.

Procedeu conform invenției înlătură dezavantajele menționate mai sus, prin aceea
37 că: nămolul fermentat este tratat, inițial, cu o soluție nutritivă de acetat de nichel tetrahidrat,
cu o concentrație de 0,1 mol/l, într-o cantitate care să asigure o concentrație a acetatului de
39 nichel în nămolul fermentat de 1,5...2% volumetrică, realizându-se astfel o îmbunătățire a
activității microorganismelor. Se utilizează nămol fermentat provenit din reactorul de
41 fermentare anaerobă a apelor uzate, mediu de cultură selectiv pentru cultivarea și izolarea
microorganismelor metanogene, constând dintr-un mediu bazal compus din KH₂PO₄ 0,75
43 g, K₂HPO₄ x 3H₂O 1,45 g, NH₄Cl 0,9 g, MgCl₂ x H₂O 0,2 g, Na₂S x 9 H₂O 0,5 g, soluție 0,2%
resazurină 1 ml, agar 1 g, 1000 ml apă distilată; mediu bazal care se îmbogățește cu un
45 amestec nutritiv format din componente în părți de volum egale: soluție acid acetic 0,1 N,
soluție KOH 0,1 N și metanol; amestecul nutritiv se adaugă în proporție de 1/20 față de
47 volumul mediului bazal; mediul bazal îmbogățit cu amestecul de acetat de potasiu și metanol
se însămânțează cu diluții decimale de proba de nămol fermentat; probele se incubează în

RO 126398 B1

regim mezofil, apoi se determină numărul de microorganisme metanogene prin metoda statistică MPN; în paralel se pregătește același număr de probe cu mediu de cultură, însă mănțate cu diluții decimale de probe de nămol fermentat, care a fost tratat în prealabil cu o soluție nutritivă de acetat de nichel tetrahidrat $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ de concentrație 0,1 mol/l, în proporție de 1,5...2% (procente volum) față de proba de nămol fermentat; după incubare, se determină, prin metoda statistică MPN, numărul de microorganisme metanogene existente în proba tratată cu acetat de nichel; în proba inițială se determină un număr de microorganisme metanogene de $6,4 \times 10^4$ celule/ml, iar în proba de nămol fermentat tratată cu soluția de acetat de nichel tetrahidrat, se înregistrează un număr de microorganisme metanogene de $7,5 \times 10^4$ celule/ml, ceea ce reprezintă o îmbunătățire a activității microbiene cu 17,2% față de proba inițială de nămol fermentat.

Invenția prezintă următoarele avantaje:

- creșterea potențialului microbiologic al nămolului de epurare fără a fi necesară încălzirea acestuia în domeniul termofil care ar implica costuri energetice suplimentare;

- asigurarea necesarului de nichel pentru stimularea multiplicării, dezvoltării și activității microorganismelor metanogene, deoarece nichelul este un micronutrient indispensabil în metabolismul bacterian, fiind un component al coenzimei F430 responsabilă de producerea metanului printr-un lanț de reacții enzimatică. S-a optat pentru utilizarea acetatului de nichel ca sursă de nichel, având în vedere că acetatul reprezintă un bun nutrient pentru microorganismele metanogene în procesele biochimice de sinteza a metanului;

- îmbunătățirea calității mediului prin creșterea gradului de degradare și conversie a poluanților organici din nămol și reducerea potențialului patogen al acestora; îmbunătățirea calitativă și cantitativă a biogazului generat prin creșterea cantității de metan ca urmare a stimulării activității microorganismelor metanogene;

- tratarea nămolurilor de epurare în instalațiile de biogaz duce la creșterea excedentului de biogaz și implicit la creșterea eficienței energetice a instalațiilor cu funcționare în regim mezofil.

- procedeul de tratare este unul economic, având în vedere că materialul utilizat ca aditiv este acetatul de nichel hidratat, care are o solubilitate ridicată în apă la temperatura ambiantă, nefiind necesară încălzirea prealabilă a soluției pentru dizolvarea sa completă. De asemenea, prețul de cost al acetatului de nichel este mai mic comparativ cu cel al altor compuși de nichel ușor solubili în apă.

Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției.

În vederea realizării procedeeului de tratare, conform invenției, se utilizează următoarele materii prime:

- nămol fermentat prelevat din reactorul de fermentare anaerobă a apelor uzate rezultate în procesele industriale de fabricare a etanolului din cereale (grâu, porumb), având, ca în locul inițial, nămol de epurare provenit de la stații municipale;

- mediu de cultură pentru cultivarea și izolarea microorganismelor metanogene, constând dintr-un mediu bazal cu următoarea compoziție: 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, soluție 0,2% rezazurină 1 ml, agar 1 g, 1000 ml apă distilată. Mediul de cultură bazal este îmbogățit cu un amestec nutritiv format din următoarele componente în părți de volum egale: soluție acid acetic 0,1 N, soluție KOH 0,1 N și metanol. Amestecul nutritiv se adaugă în proporție de 1/20 față de volumul mediului bazal.

- soluție 0,1 M acetat de nichel tetrahidrat $\text{Ni}(\text{CH}_3 \text{COO})_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$;

- apă bidistilată.

RO 126398 B1

1 Pentru efectuarea tratării nămolurilor de epurare în vederea stimulării activității micro-
organismelor metanogene, precum și pentru punerea în evidență a creșterii gradului de
3 multiplicare și dezvoltare a acestora în urma tratamentului aplicat, sunt parcurse următoarele
etape de lucru:

5 **Etapa 1: Pregătirea materiilor prime**

7 Se prepară mediul de cultură bazal conform standardului SR CEN ISO/TS
11133-1:2009, care se îmbogățește cu un amestec nutritiv pe bază de acetat de potasiu și
9 metanol, obținut din soluție de acid acetic 0,1 N, soluție KOH 0,1 N și metanol în proporții de
volum egale. În tuburile de sticlă prevăzute cu dop de teflon, se introduce câte un volum de
11 9 ml mediu de cultură îmbogățit cu amestec nutritiv, apoi se sterilizează prin autoclavare la
121°C, timp de 20 min.

13 **Etapa 2: Tratarea nămolului de epurare**

13 Mediul de cultura se însămânțează cu câte 1 ml probă de nămol fermentat având
diferite diluții decimale, pregătindu-se serii de câte trei probe pentru fiecare diluție decimală.

15 În paralel, se pregătește același număr de probe cu medii de cultură, însămânțate
cu diluții decimale de probe de nămol fermentat, tratat în prealabil cu o soluție nutritivă de
17 acetat de nichel tetrahidrat $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ de concentrație 0,1 mol/l. Volumul de acetat
de nichel adăugat în proba de nămol fermentat este de 15...20 μl la un volum de 1 ml nămol
19 fermentat (1,5...2% față de volumul nămolului fermentat). Pentru asigurarea condițiilor de
anaerobioză, după inoculare, mediul a fost acoperit cu un strat de 1 cm ulei de parafină steril.

21 **Etapa 3: Determinarea numărului de microorganisme metanogene înainte și după
tratamentul aplicat nămolului de epurare.**

23 Probele se incubează la o temperatură de 35...37°C, timp de câteva zile, examinân-
du-se la fiecare 24 h, pentru identificarea modificărilor survenite (schimbarea culorii, dispa-
25 riția oxigenului de la suprafața mediului, tulburarea mediului, apariția de bule de gaz în tubu-
șoarele Durham și la suprafața mediului, depunerea de sediment).

27 Estimarea cantitativă a numărului de microorganisme metanogene prezente în
nămolul fermentat înainte și după tratarea nămolului cu soluția de acetat de nichel s-a reali-
29 zat pe baza indicelui MPN obținut din combinația de probe pozitive și negative, prezentat în
tabelul Mc Crady.

31 Indicele MPN obținut pentru proba de nămol fermentat este 302, corespunzând unui
număr de microorganisme de $6,4 \times 10^4$ celule/ml.

33 Proba de nămol fermentat tratată cu soluția de acetat de nichel tetrahidrat a
înregistrat un indice MPN de 311, corespunzând unei încărcări cu microorganisme
35 metanogene de $7,5 \times 10^4$ celule/ml, ceea ce reprezintă o îmbunătățire a activității microbiene
în proba de nămol fermentat tratată cu acetat de nichel cu 17,2% față de proba inițială.

37 Conform invenției, se utilizează un compus pe bază de nichel ca aditiv chimic,
nichelul fiind un element indispensabil activității enzimatică a microorganismelor metano-
39 gene. Compusul pe bază de nichel este o sare de tipul acetatului de nichel tetrahidrat, care
are o solubilitate ridicată în apă și un preț de cost redus. Acetatul de nichel tetrahidrat se utili-
41 zează sub formă de soluție 0,1 M în apa bidistilată. Concentrația de soluție acetat de nichel
tetrahidrat adăugată la nămolul de epurare este de 1,5...2% (procente volum), adică
43 15...20 ml soluție acetat de nichel 0,1 M/1 ml nămol fermentat.

45 Pentru aplicarea invenției la stimularea activității microorganismelor metanogene în
procesele industriale de obținere a biogazului, se prepară o soluție 0,1 M acetat de nichel
tetrahidrat $\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, care se adaugă sub agitare ușoară la cantitatea de nămol
47 de epurare sau nămol fermentat ce urmează a fi utilizată ca inocul în reactoarele de
fermentare anaerobă. Pentru fiecare litru de nămol, se utilizează 15...20 ml soluție acetat de
49 nichel tetrahidrat, astfel încât să se asigure o concentrație de acetat de nichel tetrahidrat în
nămolul fermentat de 1,5...2%.

Procedeu de tratare a nămolurilor de epurare pentru stimularea activității microorganismelor metanogene implicate în producerea biogazului prin utilizare de nutrienți specifici, **caracterizat prin aceea că** nămolul fermentat este tratat, inițial, cu o soluție nutritivă de acetat de nichel tetrahidrat, cu o concentrație de 0,1 mol/l, într-o cantitate care să asigure o concentrație a acetatului de nichel în nămolul fermentat de 1,5...2% volumetric, realizându-se astfel o îmbunătățire a activității microorganismelor.

