



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 297 450 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 12 P 1/04
C 12 P 5/02
C 12 S 5/00

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD C 12 P / 343 125 6	(22)	30.07.90	(44)	09.01.92
(71)	Arbeitsstelle für Technische Mikrobiologie, Robert-Rössle-Straße 10, O - 1115 Berlin, DE				
(72)	Gerhardt, Matthias, Dipl.-Ing., DE; Svetlichny, Vitaly, Dr. rer. nat., SU; Sokolova, Tatyana, Dipl.-Ing., SU; Ringpfeil, Manfred, Prof. Dr. sc. nat., DE; Zavarzin, Georgy, Prof. Dr. sc. nat., SU; Richter, Herbert, Dr. sc. nat., DE; Zeidler, Hagen, Dipl.-Ing., DE; Zülke, Hans-Jürgen, Dr. rer. nat., DE				
(73)	Arbeitsstelle für Technische Mikrobiologie, O - 1115 Berlin, DE; Energiewerke Schwarze Pumpe AG, O - 7610 Schwarze Pumpe, DE; Institut für Mikrobiologie der Akademie der Wissenschaften der UdSSR, Moskau, SU				
(74)	siehe (71)				
(54)	Verfahren zur mikrobiellen Herstellung von Wasserstoff und/oder Methan				

(55) Produktion; Wasserstoff; Methan; Kohlenmonoxid; Synthesegas; Energietransformation; Fermentation; anaerobe Mikroorganismen; Fermentation; thermophil; lithotroph; Carboxydotherrus hydrogenus; Methanobacterium thermoautotrophicum

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Produktion von Wasserstoff und/oder Methan auf der Basis von Kohlenmonoxid oder Kohlenmonoxid enthaltende Gase (z. B. Synthesegas). Ziel der Erfindung ist die effektive Transformation der Verbrennungsenergie von Kohlenmonoxid auf gasförmige Energieträger wie Wasserstoff und/oder Methan. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, anaerobe Mikroorganismen auszuwählen, um eine Prozeßführungsstrategie auszuarbeiten, die eine hochgradige Energietransformation – weitgehend ohne Zellmassebildung – gestattet. Zur Erreichung hoher Transformationsgeschwindigkeiten und einer ungeschützten Fermentation ist bei Temperaturen > 70 °C zu arbeiten. Erfindungsgemäß wird die Aufgabe durch den Einsatz eines thermophilen, CO-verwertenden und wasserstoffbildenden, strikt anaeroben lithotrophen Mikroorganismenstammes, vorzugsweise *Carboxydotherrus hydrogenus* z-2901, DSM 6008 (Svetlichny, V. A., et. al, hinterlegt an der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen am 20.6.1990), einzeln oder in Mischkultur mit einem thermophilen, anaeroben methanogenen Mikroorganismenstamm, z. B. *Methanobacterium thermoautotrophicum* DSM 2133, in Rein- oder Mischkultur in einer batch-, fed-batch-, oder kontinuierlichen ein- oder mehrstufigen Kultivierung mit Biomasserückhalt bei kontinuierlichem oder diskontinuierlichem Gaswechsel gelöst. Die eingesetzten Stämme erlauben eine hohe Transformationsgeschwindigkeit bei minimalem Energieverlust.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur mikrobiellen Herstellung von Wasserstoff und/oder Methan in einem anaeroben Kultivierungsverfahren, **gekennzeichnet durch**:
 - Kultivierung eines thermophilen, CO-verwertenden und Wasserstoff bildenden, strikt anaeroben lithotropen Mikroorganismenstammes, vorzugsweise von **Carboxydotherrnus hydrogenus** DSM 6008 einzeln oder mit einem methanogenen Bakterienstamm in Mischkultur oder aufeinanderfolgenden Reaktorstufen,
 - unter Verwendung von Kohlenmonoxid als Energiequelle
 - unter zusätzlicher Verwendung von Hefeextrakt, Pepton oder anderer proteinhaltiger Kohlenstoffquellen
 - im Temperaturbereich von 70°C–95°C sowie
 - im pH-Bereich von 5,5–7,5 in mineralischen Medien
2. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet durch** die vorzugsweise Verwendung des Bakterienstammes **Carboxydotherrnus hydrogenus** z-2901 DSM 6008 zur Herstellung von Wasserstoff.
3. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet durch** Kultivierung einer Mischkultur eines thermophilen, CO-verwertenden und Wasserstoff bildenden, strikt anaeroben lithotropen Mikroorganismenstammes, vorzugsweise des Stammes **Carboxydotherrnus hydrogenus** DSM 6008 und eines methanogenen, thermophilen Stammes, wobei der gebildete Wasserstoff teilweise oder vollständig zu Methan konvertiert wird.
4. Verfahren nach Anspruch 3, **gekennzeichnet durch** ein Verhältnis der Zellzahlen der beiden Komponenten der Mischkultur von 30:70 bis 70:30.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 oder 3, **gekennzeichnet durch** einen diskontinuierlichen oder kontinuierlichen Austausch der Gasphase.
6. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß in einem ersten Reaktor ein thermophiler, CO-verwertender und Wasserstoff bildender, strikt anaeroben lithotropen Mikroorganismenstamm, vorzugsweise **Carboxydotherrnus hydrogenus** DSM 6008 und in einem nachgeschalteten Reaktor der methanogene, thermophile Bakterienstamm kultiviert werden, wobei die Gasphase nach Passieren der ersten Stufe unter Aufrechterhaltung der anaeroben Bedingungen der zweiten Stufe zugeleitet wird und nach Passieren der zweiten Stufe zumindest ein CO₂/Methan-Gemisch erhalten wird.
7. Verfahren nach Anspruch 6, **gekennzeichnet dadurch**, daß nach der ersten Stufe zusätzlich Wasserstoff zugegeben wird, so daß nach Passieren der zweiten Stufe ein höherer Methananteil erhalten wird.
8. Verfahren nach Anspruch 1 und einem der Ansprüche 2, 3, 6 oder 7, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Bakterienbiomasse auf Hefeextrakt, Pepton oder einem anderen proteinhaltigen Substrat angezogen wird.
9. Verfahren nach Anspruch 1 und einem der Ansprüche 2, 3, 6 oder 7, **gekennzeichnet dadurch**, daß die Bakterienbiomasse an an sich bekannte Trägermaterialien fixiert im Reaktor vorliegt.
10. Verfahren nach Anspruch 1 und einem der Ansprüche 2, 3, 6 oder 7, **gekennzeichnet durch** einen Druckbereich der Kultivierung von 0 bis 10 MPa.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein mikrobiologisches Verfahren zur Erzeugung von Wasserstoff und/oder Methan unter Einsatz von Kohlenmonoxid oder Synthesegas. Sie kann in der Wirtschaft zur Produktion der Energieträger Wasserstoff und Methan aus Kohlenmonoxid oder Kohlenmonoxid enthaltender Gase (z. B. Synthesegas der Braunkohlenverkokung) eingesetzt werden.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Es sind zahlreiche Verfahren zur mikrobiellen Produktion von Methan und Wasserstoff auf der Basis organischer Abprodukte beschrieben (US 4663043, US 4659471, SU 1247354, J 62004499, J 62288569, SU 1330081, J 60106591, US 4540666, EP 133846, RO 63590, BE 903319, BE 903320, DD 232687, GB 2167055 u. v. a. m.). Bei einigen Verfahren strebt man die Reduzierung des CO₂-Gehaltes des gebildeten Gases an. Das erfolgt über die Separation und/oder Rückführung des CO₂ (J 62176599, US 4722741) bzw. durch die Zusp eisung von Wasserstoff für die metabolische Reduktion der Komponenten CO₂ + 4H₂ → CH₄ + 2H₂O (FR 2537992) oder die CO₂-Assimilation durch Algen (DD 244742).

Andere Verfahren sehen den Einsatz acetogener Bakterien in einer zweiten Verfahrensstufe nach der Methanbildung unter Zusatz von H_2 zur Essigsäurebildung vor (EP 241999).

Die Produktion von Methan auf der Basis von Acetat ist beschrieben (J 60083587).

Das Verfahren (BE 894908) sieht den Abbau von organischem Material zu CO_2 und H_2 vor, in einer zweiten Stufe erfolgt die Methanisierung dieses Gemisches.

Eine Reihe von Verfahren sieht den Umsatz von Calciumcarbonat + Wasserstoff mit methanogenen Bakterien zu Methan vor (US 4571384, J 59098694).

Die mikrobielle Produktion von H_2 und/oder CH_4 auf der Basis von Kohlenmonoxid oder Synthesegas unter Einsatz thermophiler, anaerober Mikroorganismen wird nicht beschrieben.

Effektive chemische Verfahren zur Wassergassynthese sind nicht bekannt.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist die effektive Synthese von H_2 und/oder CH_4 auf der Grundlage von Kohlenmonoxid oder Kohlenmonoxid enthaltenden Gasen mit Kohlenmonoxid als alleinige Energiequelle mikrobiellen Wachstums in einem weitgehend ungeschützten Verfahren.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Mikroorganismen einzusetzen, die bei Temperaturen $> 70^\circ C$ Kohlenmonoxid als einzige Energiequelle nutzen, wobei eine effektive Transformation der Verbrennungsenergie von Kohlenmonoxid auf Wasserstoff und/oder Methan erfolgt.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß ein thermophiler, CO-verwertender und Wasserstoff bildender, strikt anaerober lithotropher Mikroorganismenstamm, vorzugsweise *Carboxydotherrnus hydrogenus* z-2901 DSM 6008 (hinterlegt an der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen am 20.6.1990) und ein methanogener Stamm einzeln oder als Mischpopulation im Temperaturbereich von $70-95^\circ C$ und einem Druck von 100 kPa bis 10 MPa bei einem pH-Wert von 5,5–7,5 in mineralischen Medien unter möglichem Zusatz von Hefeextrakt, Pepton oder anderen proteinhaltigen C-Quellen kultiviert werden, wobei Kohlenmonoxid oder Kohlenmonoxid enthaltende Gase (z. B. Synthesegas) eingesetzt werden. Die Kultivierung erfolgt in batch-, fed-batch- oder kontinuierlicher Fermentation unter diskontinuierlichem oder kontinuierlichem Austausch der Gasphase.

Der vorzugsweise einzusetzende Mikroorganismenstamm *Carboxydotherrnus hydrogenus* z-2901 DSM 6008 wurde aus einem heißen zellulosematerialhaltigen Sumpf bei einer Temperatur von $70^\circ C$ und einem pH-Wert von 6,8 gewonnen.

Der thermophile, CO-verwertende und Wasserstoff bildende, strikt anaerobe lithotrophe Mikroorganismenstamm

Carboxydotherrnus hydrogenus z-2901, DSM 6008 und der methanogene Stamm *Methanobacterium thermoautotrophicum* DSM 2133 wachsen in einem Nährmedium folgender Zusammensetzung ($g\ l^{-1}$ Aqua. dest.):

0,33 NH_4Cl	(0,5 Hefeextrakt)
0,33 $MgCl_2 \cdot 2H_2O$	0,3 $Na_2S \cdot 9H_2O$
0,33 $CaCl_2 \cdot 6H_2O$	1,0 ml Spurensalzlösung*
0,33 KCl	
0,33 KH_2PO_4	
0,33 K_2HPO_4	
* Spurensalzlösung ($mg\ l^{-1}$ Aqua. dest.):	

5 000 EDTA	300 H_3BO_3
2 000 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	200 $CoCl_2 \cdot 6H_2O$
100 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	10 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$
30 $MnCl_2 \cdot 6H_2O$	20 $NiCl_2 \cdot 6H_2O$
30 $MnCl_2 \cdot 4H_2O$	30 Na_2MoO_4

** Vitaminalösung ($mg\ l^{-1}$ Aqua. dest.):

2 Biotin	5 Aminobenzoesäure
5 Riboflavin	5 Panthotensäure
5 Thiamin	10 B 12
5 Nikotinsäure	0,1 B 4

Der vorzugsweise einzusetzende Stamm *Carboxydotherrnus hydrogenus* z-2901 DSM 6008 wurde als $0,9-1,1\ \mu m$ bzw. $1,5-2,5\ \mu m$ breites, gerades bis leicht gekrümmtes Stäbchen mit gerundeten Enden gewonnen (Svetlichny, V. A. et. al., Int. J. Syst. Appl. Microbiol., in press).

Die erfindungsgemäß vorzugsweise einzusetzenden Bakterien werden in einer batch-, fed-batch- oder kontinuierlichen Fermentation in bekannter Weise unter strikt anaeroben Bedingungen kultiviert. Die diskontinuierlich oder kontinuierlich ausgetauschte Gasphase setzt sich zu Beginn aus 100 Vol.-% Kohlenmonoxid oder Synthesegas zusammen.

Ausführungsbeispiele

Die Erfindung wird durch folgende Beispiele erläutert:

Beispiel 1

Der thermophile, CO-verwertende und Wasserstoff bildende, anaerobe, lithoautotrophe Bakterienstamm *Carboxydotherrnus hydrogenus* z-2901, DSM 6008 wurde nach steriler Anzucht im Standkolben einem Produktionsreaktor mit einem Gesamtvolumen von 1,0 m³ bei 100 kg Kulturmedium zugeführt. Der pH-Wert des oben beschriebenen Kulturmediums betrug 7,0, die Temperatur 70°C. Im Reaktor herrschte zu Versuchsbeginn ein Druck von 200 kPa. Im Fermentor befanden sich zu Versuchsbeginn 1800 l u. N. Kohlenmonoxid (entspr. 80,4 mol).

Nach einer lag-Phase von 2 h erfolgte innerhalb von 12 h der Umsatz des gesamten Kohlenmonoxids. Am Ende des ersten Zyklus wurden 57,4 Vol.-% Wasserstoff und 40,2 Vol.-% CO₂ in der Gasphase gemessen. Es erfolgte im weiteren die zweimalige Wiederholung des Gasumsatzzyklus.

Im einzelnen wurden folgende Prozeßkennziffern erreicht:

	1. Zyklus	2. Zyklus	3. Zyklus
Umsatzzeit:	14 h	10 h	10 h
CO-Verbrauch:	80,4 mol	80,4 mol	80,4 mol
H ₂ -Bildung:	78,5 mol	80,4 mol	77,5 mol
Ausbeute:	0,98 mol H ₂ /mol CO	1,0 mol H ₂ /mol CO	0,96 mol H ₂ /mol CO
Produktivität*:	64,3 ml/lh	90,0 ml/lh	90,0 ml/lh
Produktivität**:	643,0 ml/lh	900,0 ml/lh	900 ml/lh

* H₂, bezogen auf Gesamtvolumen (1,0 m³) des Reaktors.

** H₂, bezogen auf Medieninhalt (100 kg) des Reaktors.

Nach einer Produktionszeit von 34 h wurden insgesamt 5,3 m³ Wasserstoff aus 5,4 m³ Kohlenmonoxid hergestellt.

Beispiel 2

Verfahren nach Beispiel 1, wobei nach einer Umsatzzeit von 12 h ein kontinuierlicher Gasaustausch von 100 l/h CO erfolgt. Die resultierende Gaszusammensetzung des abströmenden Gases (180 l/h) beträgt 55 Vol.-% H₂ und 45 Vol.-% CO₂. Damit ergab sich über einen Zeitraum von 60 h eine durchschnittliche Produktivität von 100,0 ml/lh bzw. von 1000 ml/lh (H₂, bezogen auf das Medium).

Beispiel 3

Verfahren nach Beispiel 1 und 2, wobei gleichzeitig mit Beginn des kontinuierlichen Gasaustausches ein kontinuierlicher Mediendurchfluß mit einer Durchflußrate von 0,5 h⁻¹ realisiert wurde. Damit wurde eine Ausdehnung des stationären Zustandes über einen Versuchszeitraum von 10 Tagen bei gleichen Produktivitäten realisiert.

Beispiel 4

Die Mischpopulation des thermophilen, CO-verwertenden und Wasserstoff bildenden, lithoautotrophen Stammes *Carboxydotherrnus hydrogenus* z-2901, DSM 6008 und des methanogenen Stammes *Methanobacterium thermoautotrophicum* DSM 2133 (Verhältnis der Stämme im Inokulum: 60:40) wurden nach steriler Anzucht im Standkolben einem Produktionsreaktor mit einem Gesamtvolumen von 1,0 m³ bei 100 kg Kulturmedium zugeführt. Der pH-Wert des oben beschriebenen Kulturmediums betrug 7,0, die Temperatur 70°C. Im Reaktor herrschte zu Versuchsbeginn ein Druck von 300 kPa. Zu Versuchsbeginn befanden sich im Fermentor 2700 l u. N. Kohlenmonoxid (entspr. 120,5 mol). Nach einer lag-Phase von 2 h erfolgte innerhalb von 12 h der Umsatz des gesamten Kohlenmonoxids. 10 h nach Produktionsbeginn begann der Abbau des gebildeten Wasserstoffes und von CO₂. Nach 98 h Gesamtdauer betrug der Wasserstoffgehalt der Gasphase weniger 5 Vol.-%, 23,0 Vol.-% CH₄ wurden gemessen. Damit wurden folgende Prozeßkennziffern erreicht:

Umsatzdauer:	98 h
Produktivität:	6,3 ml/lh (Methan, bezogen auf Gesamtvolumen des Reaktors)
Produktivität:	63,0 ml/lh (Methan, bezogen auf Medium)
Ausbeute:	0,71 kJ/kJ (entsprechend den oberen Heizwerten)

Beispiel 5

Verfahren nach Beispiel 4, wobei nach einer Versuchszeit von 10 h ca. 55 l h⁻¹ Wasserstoff zudosiert wurde, daß ein vollständiger Umsatz des Kohlenmonoxids zu Methan resultierte. Nach einer Versuchszeit von 150 h resultierte somit eine Gesamtproduktivität von 17,2 ml/lh Methan, bezogen auf Gesamtvolumen bzw. 172,0 ml/lh, bezogen auf Medium.

Beispiel 6

Verfahren nach Beispiel 4, wobei der Prozeß in zwei Reaktoren von je 1,0 m³ durchgeführt wurde. Während in Reaktor 1 der kontinuierliche Umsatz von CO zu CO₂ und H₂ gemäß Beispiel 3 durchgeführt wurde, erfolgte in unmittelbarem Anschluß in Reaktor 2 der Umsatz dieses Gasgemisches zu Methan, wobei bis zu 25 Vol.-% Methan erzeugt wurden.

Reaktor 1 (nach Erreichen des stationären Zustandes).

Produktivität: 100 ml/lh (Gasumsatz, bezogen auf Gesamtvolumen des Reaktors)
1 000 ml/lh (H₂, bezogen auf Medium)

Gasdurchfluß: 100 l/h Gaseintritt
180 l/h Gasaustritt (100 l/h H₂)

Reaktor 2 (nach Erreichen des stationären Zustandes):

Produktivität: 25 ml/lh (Methan, bezogen auf Gesamtvolumen)
250 ml/lh (Methan, bezogen auf Medium)

Gasdurchfluß: 180 l/h Gaseintritt
80 l/h Gasaustritt (25 l/h Methan, 55 l/h CO₂)

Beispiel 7

Verfahren nach Beispiel 6, wobei unmittelbar nach der ersten Reaktorstufe 220 l/h Wasserstoff zudosiert wurden. In der Reaktionsstufe 2 wurde ein Reaktor mit einem Gesamtvolumen von 2 m³ bei einer Füllmenge von 400 kg eingesetzt. Damit resultieren für den Reaktor 2 folgende Umsatzparameter:

Reaktor 2 (nach Erreichen des stationären Zustandes):

Produktivität: 50 ml/lh (Methan, bezogen auf Gesamtvolumen)
250 ml/lh (Methan, bezogen auf Medium)

Gasdurchfluß: 400 l/h Gaseintritt
80 l/h Gasaustritt (20 l/h Methan)
