

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 1571/87

(51) Int.Cl.⁵ : C02F 3/34

(22) Anmeldetag: 22. 6.1987

(42) Beginn der Patentdauer: 15. 7.1990

(45) Ausgabetag: 25. 1.1991

(73) Patentinhaber:

VOLGO-URALSKY NAUCHNO-ISSLEDOVATELSKY I PROEKTNY
INSTITUT PO DOBYCHE I PERERABOTKE SEROVODOROD-
SODERZHASCHIKH GAZOV (VOLGOURALNIPIGAZ)
ORENBURG (SU).

(72) Erfinder:

GVOZDYAK PETR ILLIICH
KIEV (SU).
DENIS ALEXEI DMITRIEVICH
DROGOBYCH (SU).
MOGILEVICH NATALYA FEDOSEEVNA
KIEV (SU).
TSINBERG MARK BENYAMINOVICH
ORENBURG (SU).
GRISCHENKO NADEZHDA IVANOVNA
IRPEN (SU).
ERZIKOVA OLGA NIKOLAEVNA
ORENBURG (SU).

(54) VERFAHREN ZUR BIOLOGISCHEN REINIGUNG VON METHANOLHALTIGEN ABWÄSSERN

- (57) Die Erfindung bezieht sich auf die biologische Reinigung von methanolhaltigen Abwässern. Die methanolhaltigen Abwässer werden mit Orthophosphorsäure neutralisiert und mit Stickstoffdonatoren angereichert. Danach führt man den Stamm *Methylomonas metanica* B-2576 ein, der in der Sammlung industrieller Mikroorganismen des Forschungsinstitutes der UdSSR für Genetik und Züchtung industrieller Mikroorganismen hinterlegt ist. Man züchtet diesen Stamm an dem erwähnten Nährboden für die Reinigung der methanolhaltigen Abwässer.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur biologischen Reinigung von methanolhaltigen Abwässern durch Züchtung eines neuen Mikroorganismus auf den Abwässern, die vorher mit Orthophosphorsäure neutralisiert und mit Stickstoffdonatoren angereichert wurden.

Die Erfindung wird in Betrieben Anwendung finden, in denen schwefelwasserstoffhaltiges Erdgas gefördert und verarbeitet wird.

Gegenwärtig ist die Züchtung von Mikroorganismen, die zu verschiedenen physiologischen Gruppen gehören, bekannt, wobei die Züchtung auf Nährböden erfolgt, die als Kohlenstoffdonator Methanol enthalten.

Bekannt ist beispielsweise ein Verfahren zur Züchtung verschiedener Arten von Hefe auf einem methanolhaltigen Nährboden (V. S. Podgorsky "Physiologie und Metabolismus methanolassimilierender Hefe" Verlag "Naukova dumka" Kiev, 1982). Bekannt ist ebenfalls die Züchtung methanolassimilierender Hefe auf Nährböden, die Abflußkulturflüssigkeit ("Maische") der Hydrolyse-Hefeproduktion enthalten ("Acta microbiol bulg." 1970, Band 7, S. 49 - 54).

Die genannten Verfahren zur Züchtung methanolassimilierender Mikroorganismen können für die Reinigung methanolhaltiger Industrieabwässer eingesetzt werden. So wurde beispielsweise die Züchtung einer Hefekultur der Gattung *Hansenula polymorpha* auf methanolhaltigen Abwässern realisiert, die bei der Förderung und Verarbeitung schwefelwasserstoffhaltigen Erdgases entstehen, was die Möglichkeit gibt, diese Abwässer von Methanol zu reinigen (SU-A-963 960).

Gemäß diesem Verfahren erfolgt die Reinigung der methanolhaltigen Abwässer mit Hefe bei einer Temperatur von 36 bis 38 °C in einem Nährboden, der mit Orthophosphorsäure bis zu einem pH-Wert von 3,9 bis 4,0 neutralisiert und mit Spurenelementen, Stickstoffdonatoren und Vitaminen angereichert wird. Die Abwasserreinigung mittels dieses bekannten Verfahrens ermöglicht es, Wasser zu gewinnen, das nur Spuren von Methanol aufweist.

Der Nachteil des genannten Verfahrens besteht in einem bedeutenden Verbrauch an konzentrierter Orthophosphorsäure, Spurenelementen und Vitaminen, die für die Schaffung eines Nährbodens erforderlich sind, der für die Entwicklung einer methanolassimilierenden Kultur von der Gattung *Hansenula polymorpha* günstig ist. So werden beispielsweise bei einem Abwasservolumen von 2000 m³ 3 m³ konzentrierter Orthophosphorsäure zur Neutralisation sowie über 250 kg Spurenelemente, 3,6 kg Thiamin und 40 g Destibiotin gebraucht. Zu den Nachteilen des bekannten Verfahrens gehört auch eine niedrige Geschwindigkeit der Verdünnung 0,5 l/St: 51 = 0,1 h⁻¹, was große Fassungsvermögen der Reinigungsanlagen erfordert, weil die Verweilzeit der zu reinigenden Abwässer in einer Anlage 10 h beträgt.

Das Ziel der vorliegenden Erfindung besteht in der Entwicklung eines solchen Verfahrens zur biologischen Reinigung von methanolhaltigen Abwässern, welches es ermöglicht, den Reinigungsprozeß zu intensivieren.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur biologischen Reinigung von methanolhaltigen Abwässern zu entwickeln, in welchem ein derartiger Mikroorganismus eingesetzt wird, daß die Reinigung unter in wirtschaftlicher Hinsicht vorteilhaften Bedingungen bei Intensivierung dieses Prozesses erfolgt.

Diese Aufgabe wird dadurch gelöst, daß man im Verfahren der eingangs genannten Art erfindungsgemäß als Mikroorganismus den Stamm *Methylobacter metanica* B-2576 verwendet, der in der Sammlung industrieller Mikroorganismen des Forschungsinstitutes der UdSSR für Genetik und Züchtung industrieller Mikroorganismen hinterlegt worden ist.

Aufgrund dieser Erfindung wird der Verbrauch für die Reinigung von 1 m³ Abwasser gegenüber dem bekannten Verfahren zur Abwasserreinigung auf ein Zwölftel reduziert, wobei die Prozeßführung auf das 2-fache intensiviert wird.

Zweckmäßigerweise werden die Abwässer für dieses Verfahren auf einen pH-Wert von 5,5 bis 7,0 gebracht. Vorzugsweise hält man die Abwässer auf einer Temperatur von 20 bis 37 °C.

Weitere Ziele und Vorteile der vorliegenden Erfindung werden aus der nachstehenden ausführlichen Beschreibung des Verfahrens zur Abwasserreinigung und aus den Ausführungsbeispielen ersichtlich.

Zur Ausführung des erfindungsgemäßen Verfahrens selektiert man eine methanolassimilierende Kultur. Dazu wird der mit Methanol verunreinigte Boden in eine senkrechte Glassäule eingebracht, und man läßt durch diesen methanolhaltigen Abwasser der Erdgasförderbetriebe durch, das vorher mit einem Nährboden bis zu einer Methanolkonzentration von 1 g/l verdünnt wird. Man verwendet einen mineralischen Nährboden, der in g/dm³ folgende Komponenten enthält: K₂HPO₄ - 1,0; MgSO₄ · 7H₂O - 0,5; NaCl - 0,2; FeSO₄ · 7H₂O - 0,03; NH₄NO₃ - 0,5; pH = 7,0. Man vergrößert schrittweise die Methanolkonzentration im Nährboden bis auf 10,0 g/dm³, indem die Verdünnung des anfallenden Abwassers mit dem Nährboden verringert wird. Die Vergrößerung der Methanolkonzentration im Abwasser erfolgt jeweils, wenn das Methanol aus dem Abwasser der vorhergehenden Verdünnung vollständig verwertet wird. Wenn in der Stufe, in der Abwasser mit 10,0 g/dm³ Methanol zugeführt wird, in dem aus der Säule austretenden Abwasser kein Methanol mehr vorhanden ist, erfolgt die Ausscheidung der reinen Bakterienkultur durch Inokulation des Säuleninhaltes auf einen agarisierten mineralischen Nährboden mit der oben angeführten Zusammensetzung, der 2,0 g/dm³ Methanol enthält. Unter stationären Bedingungen verbraucht die Kultur Methanol in geringeren Konzentrationen als bei ihrer Züchtung in

einem kontinuierlichen Strom. Das Wachstum des Mikroorganismus auf dem $2,0 \text{ g/dm}^3$ Methanol enthaltenden Nährboden zeugt von seiner Verwertung durch die Kultur, da das Methanol der einzige Kohlenstoffdonator ist.

Der Stamm *Methylomonas metanica* B-2576 wird durch folgende kultur-morphologische und physiologisch-biochemische Besonderheiten gekennzeichnet: die Zellen sind gerade mit stäbchenartiger Form, beweglich, weisen ein Polaritätsgeflecht auf, sie sind gramnegativ, aerob, vermehren sich durch Teilung, die Zellenabmessungen betragen $0,6 \times 1 \text{ mm}$; die Kolonien haben rosige bzw. cremefarbene Tönung, sind schleimig und haben Abmessungen von 3 bis 4 mm.

Der genannte Stamm wächst an üblichen Nährböden vom Typ des Fleisch-Pepton-Agars nicht, er wächst nur auf methanolhaltigen Nährböden.

Die ausgeschiedene technische Kultur *Methylomonas metanica* B-2576 wurde in der Sammlung industrieller Mikroorganismen des Forschungsinstitutes der UdSSR für Genetik und Züchtung industrieller Mikroorganismen am 04.07.1982 hinterlegt.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur biologischen Reinigung von methanolhaltigen Abwässern besteht darin, daß man die methanolhaltigen Abwässer mit Orthophosphorsäure auf einen pH-Wert von 5,5 bis 7,0 bringt und mit Stickstoffdonationen anreichert, indem man beispielsweise Ammoniumnitrat einführt.

Dann wird in das Abwasser der Stamm *Methylomonas metanica* B-2576 eingeführt, und man züchtet diesen Mikroorganismus, wobei die Temperatur in einem Bereich von 20 bis 37°C gehalten wird. Wie aus Untersuchungen hervorgeht, bewirkt die Züchtung des genannten Mikroorganismus bei einer Temperatur von 20 bis 37°C , daß das Methanol von den Bakterien verwertet wird, bis nur Spuren Mengen im Abwasser verbleiben bzw. bis dieses sogar vollständig methanolfrei ist. Bei einer Temperatur unter 20°C wird die Verwertung des Methanols durch den Mikroorganismus wesentlich verlangsamt, und während 48 h Züchtung werden von den Bakterien lediglich 450 g Methanol, bezogen auf 1 l Abwasser, verbraucht. Bei Temperaturwerten oberhalb 37°C wächst der Stamm *Methylomonas metanica* B-2576 nicht und verwertet das Methanol nicht.

Abwässer werden vorher mit Orthophosphorsäure auf einen pH-Wert nicht unter 5,5 gebracht, weil bei einem niedrigeren pH-Wert das Wachstum und die Verwertung des Methanols durch den eingesetzten Stamm *Methylomonas metanica* B-2576 verlangsamt werden. Schwachalkalische Abwässer (pH-Wert über 7,0) sind ebenfalls ungünstig für den vollständigen Verbrauch des Methanols durch den genannten Mikroorganismus.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur biologischen Reinigung von Abwässern ermöglicht es, Abwässer zu reinigen, die eine hohe Konzentration an Methanol (5 Masse %) aufweisen. Dabei wird das Methanol vollständig von den Mikroorganismen verwertet, und das gereinigte Wasser weist kein Methanol bzw. höchstens Spuren Mengen auf.

Durch Verwendung des Stamms *Methylomonas metanica* B-2576 anstelle der früher für die Abwasserreinigung von Methanol eingesetzten Hefekultur der Gattung *Hansenula polymorpha* wurde der Reinigungsprozeß in wirtschaftlicher Hinsicht vorteilhafter, da erstens die Menge an Orthophosphorsäure, die für die pH-Wert-Einstellung der Abwässer verbraucht wird, wesentlich verringert wird, da nicht bis zu einem pH-Wert von 3,9 bis 4,0, sondern nur bis zu einem pH-Wert von 5,5 bis 7,0 zugegeben wird, und da zweitens der Stamm *Methylomonas metanica* B-2576 für die Entwicklung und Verwertung von Methanol die Vitamine Thiamin und Destiobiotin absolut nicht braucht.

Die Verringerung der Verweilzeit der Abwässer in einem Reinigungsapparat gegenüber der früher dafür zu verwendenden Zeit ermöglicht es, den Reinigungsprozeß auf das 2-fache zu intensivieren.

Bei der erfindungsgemäßen Abwasserreinigung sammelt sich eine Bakterienbiomasse an, die über 70 % Rohprotein aufweist, das später für die Herstellung verschiedener eiweißhaltiger Produkte verwendet wird.

Beispiel 1

In eine Fermentieranlage, die für kontinuierliche Züchtung von Mikroorganismen eingesetzt wird, mit einem Fassungsvermögen von 5 l führt man Abwässer ein, die bei der Förderung und Verarbeitung von schwefelwasserstoffhaltigem Erdgas anfallen und $50,0 \text{ g/dm}^3$ Methanol enthalten. Dann wird der Fermentieranlage Orthophosphorsäure in einer Menge von $0,4 \text{ ml/dm}^3$ und Ammoniumnitrat in einer Menge von 150 mg/dm^3 zugeführt.

Zunächst werden Abwässer mit einem synthetischen Nährboden bis zu einer Konzentration an Methanol von 10 g/dm^3 verdünnt und die Fermentieranlage wird mit dem Stamm *Methylomonas metanica* B-2576 beimpft, der in einen Erlenmeyer-Kolben auf einem synthetischen Nährboden, der Methanol in einer Konzentration von $5,0 \text{ g/dm}^3$ enthielt, unter Hin- und Herbewegung gezüchtet wurde.

Allmählich wird die Konzentration an Methanol im Abwasser bis auf $50,0 \text{ g/dm}^3$ vergrößert, indem man die Verdünnung des Abwassers mit dem synthetischen Nährboden verringert. Die Konzentration der Orthophosphorsäure im Abwasser hält man in einem Bereich von $0,4 \text{ ml/dm}^3$ (pH = 6,5). Die Temperatur des Abwassers beträgt 30°C . Nach Erreichen einer Konzentration des Stammes *Methylomonas metanica* B-2576 von $35 \pm 5 \text{ g/dm}^3$ führt man die Züchtung der Bakterienkultur in einem Abwasserstrom mit einem

Verdünnungskoeffizienten von $0,2 \text{ h}^{-1}$ durch, was der Verweilzeit des zu reinigenden Abwassers in der Fermentieranlage von 5 h entspricht.

5 Während 10 Tage der kontinuierlichen Züchtung des Stammes *Methylomonas metanica* B-2576 an dem methanolhaltigen Abwasser hat sich die Biomasse der Mikroorganismen stabil auf dem Niveau von $37 \pm 2 \text{ g/dm}^3$ gehalten, was von einem hohen Verwertungsgrad des Methanols durch die Mikroorganismen zeugt. Dabei weist das gereinigte Abwasser Methanol nur in Spuren auf.

Beispiel 2

10 Die Reinigung von methanolhaltigen Abwässern erfolgt wie in Beispiel 1 beschrieben. Die Abwässer werden jedoch mit Orthophosphorsäure auf einen pH-Wert von 5,5 eingestellt. Die Temperatur der Abwässer hält man im Bereich von 20°C .

Die Züchtung des Stammes *Methylomonas metanica* B-2576 erfolgt bei periodischer Prozeßführung bei optimaler Methanol-Ausgangskonzentration von 1 g/dm^3 .

Die Reinigung führt man während 48 h unter intensivem Umrühren durch.

15 Das gereinigte Abwasser weist nach Ablauf von 48 h Züchtung der genannten Mikroorganismen $0,002 \text{ g/dm}^3$ Methanol auf.

Beispiel 3

20 Die Reinigung von Abwässern erfolgt wie in Beispiel 1 beschrieben. Die Abwässer werden jedoch mit Orthophosphorsäure auf einen pH-Wert von 7,0 eingestellt. Die Temperatur der Abwässer hält man im Bereich von 37°C .

Die Züchtung des Stammes *Methylomonas metanica* B-2576 erfolgt bei periodischer Prozeßführung bei einer Methanol-Ausgangskonzentration von 1 g/dm^3 .

25 Die Reinigung führt man während 48 h unter intensivem Umrühren durch. Das gereinigte Abwasser weist nach Ablauf von 48 h Züchtung der genannten Mikroorganismen kein Methanol auf.

30

PATENTANSPRÜCHE

35

1. Verfahren zur biologischen Reinigung von methanolhaltigen Abwässern durch Züchtung eines neuen Mikroorganismus auf den Abwässern, die vorher mit Orthophosphorsäure neutralisiert und mit Stickstoffdonatoren angereichert wurden, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Mikroorganismus den Stamm *Methylomonas metanica* B-2576 verwendet, der in der Sammlung industrieller Mikroorganismen des Forschungsinstitutes der UdSSR für Genetik und Züchtung industrieller Mikroorganismen hinterlegt worden ist.

40

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Abwässer auf einen pH-Wert von 5,5 bis 7,0 bringt.

45

3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Abwässer auf einer Temperatur von 20 bis 37°C hält.