



REPUBLIK
ÖSTERREICH
Patentamt

(10) Nummer: **AT 410 214 B**

(12)

PATENTCHRIFT

(21) Anmeldenummer: A 1302/2000
(22) Anmeldetag: 25.07.2000
(42) Beginn der Patentdauer: 15.07.2002
(45) Ausgabetag: 25.03.2003

(51) Int. Cl.⁷: **C12N 1/20**
C12N 9/00, //(C12N 1/20, C12R 1:07)

(56) Entgegenhaltungen:
JP 8217579A JP 3086297A WO 9202613A1
US 5712153A

(73) Patentinhaber:
SUCHER & HOLZER BAUPLANUNGS- UND
HANDELSGESELLSCHAFT MBH
A-8010 GRAZ, STEIERMARK (AT).

(72) Erfinder:
GÜBITZ GEORG DR.
GRAZ, STEIERMARK (AT).
PAAR ANDREAS DR.
MÜRZZUSCHLAG, STEIERMARK (AT).
CAVACO-PAVLO ARTUR DR.
BRAGA (PT).

(54) BAKTERIENSTAMM, DESSEN VERMEHRUNG UND VERWENDUNG

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft den Bakterienstamm mit der Hinterlegungsnummer DSM 13198. Der Bakterienstamm wird vorzugsweise in einem Anreicherungsmedium vermehrt, welches einen Puffer auf Carbonatbasis, Pepton, Citrat, Hefeextrakt, Fleischextrakt, Kaliumhydrogenphosphat und eine Spurenelement-Lösung enthält. Der Bakterienstamm wird zur Behandlung von industriellen Abwässern, insbesondere zum Abbau von Peroxiden, insbesondere Wasserstoffperoxid und/oder Farbstoffen in industriellen Abwässern verwendet.

AT 410 214 B

Die Erfindung betrifft einen Bakterienstamm, dessen Vermehrung und seine Verwendung zur Behandlung von industriellen Abwässern, insbesondere zum Abbau von Peroxiden, insbesondere Wasserstoffperoxid und/oder Farbstoffen in industriellen Abwässern.

In wasserstoffperoxidhaltigen, mit Farbstoffen kontaminierten Abwässern erfolgt der Abbau von Wasserstoffperoxid und Peroxiden und Farbstoffen häufig mittels Mikroorganismen. Hierbei wird auf biologischem Weg Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff umgewandelt. Die Farbstoffe werden durch Oxidation abgebaut. Weiterhin ist bekannt, daß alle aeroben Mikroorganismen in der Lage sind, Peroxide mittels Katalase abzubauen.

Durch erhöhte Konzentrationen von Peroxiden in Abwässern besteht der erhöhte Bedarf, wasserstoffperoxidhaltige oder peroxidhaltige Abwässer zu entsorgen. Weiters besteht der erhöhte Bedarf, farbstoffhaltige Abwässer zu entsorgen.

Ausgehend hiervon liegt der Erfindung u.a. die Aufgabe zugrunde, eine besonders umweltverträgliche Entsorgung von Wasserstoffperoxid- oder peroxidhaltigen Flüssigkeiten, die auch mit Farbstoffen kontaminiert sein können, vorzuschlagen.

Diese Aufgabe wird mit dem erfindungsgemäßen Bakterienstamm gelöst, der mit der Eingangsnummer DSM 13198 bei der DSM Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, hinterlegt ist.

Dieser Mikroorganismus konnte durch Anreicherung und Isolierung aus geeignetem natürlichen Probenmaterial gewonnen werden. Das Probenmaterial kann von verschiedenen Standorten stammen. Beispielsweise seien Abwässer der Textilindustrie, der Zellstoffindustrie, der Lebensmittelindustrie und der Chemieindustrie genannt. Besonders gute Ergebnisse wurden mit Anreicherungskulturen erzielt, die aus dem Abwasser einer Textilfirma stammten.

Der alkali-thermophile Bakterienstamm weist als charakteristische Eigenschaften eine gram-positive Zellwand auf und bildet keine Sporen. Die partielle Sequenzierung der 16S rDNA ergab eine Übereinstimmung von maximal 92,5 % zu verschiedenen Vertretern der *Bacillus coagulans*-Gruppe.

Zur Vermehrung des Bakterienstammes wird als Anreicherungsmedium vorteilhaft eine Lösung eingesetzt, die außer Carbonatpuffer, Pepton, Citrat, Hefeextrakt und Fleischextrakt noch Kaliumhydrogenphosphat und eine Spurenelement-Lösung enthält.

Der erfindungsgemäße Bakterienstamm kann aber auch auf anderen Medien, beispielsweise einem synthetischen Medium, dem Hefeextrakt und Standard I-Nährbouillon als Komplexnährstoff zugegeben wurde (K-Medium), angereicht werden. Weiterhin kann ein sogenanntes H-Medium eingesetzt werden, das Mineralsalze und etwas Hefeextrakt enthält. In allen Fällen wird ein geeigneter Puffer, insbesondere ein hydrogencarbonat- oder carbonathaltiger Puffer, verwendet.

Das Anreicherungsmedium ist vorteilhaft auf einen pH-Bereich von 8,5 bis 10,1, insbesondere zwischen 9,5 und 10,0 gepuffert.

Das Anreicherungsmedium weist vorteilhaft eine Temperatur zwischen 30° und 67°C, insbesondere zwischen 60° und 65°C, auf.

Es hat sich gezeigt, daß das beste Wachstum des Bakterienstammes bei einem pH-Wert von 10,0 und bei einer Temperatur von 65°C erhalten wird.

Der erfindungsgemäße Bakterienstamm ist hervorragend zur Behandlung von industriellen Abwässern und dabei insbesondere zur Behandlung von Abwässern der Textilindustrie, Zellstoffindustrie, Lebensmittelindustrie und Chemieindustrie geeignet.

Insbesondere eignet sich der erfindungsgemäße Bakterienstamm zum Abbau von Peroxiden, insbesondere Wasserstoffperoxid und/oder Farbstoffen.

Vorteilhaft wird dazu der Bakterienstamm dem zu behandelnden Medium auf einem Träger immobilisiert zugegeben. Es können dem zu behandelnden Medium auch Zellbruchteile, Proteine und/oder eine Katalase-Peroxidase-Präparation, die durch Aufschluß aus dem Bakterienstamm erhalten wird, in freier Form oder auf einem Träger immobilisiert zugegeben werden. Der Bakterienstamm kann prinzipiell auch mit anderen Bakterienstämmen als Mischpopulation verwendet werden.

Vorteilhaft findet die Behandlung bzw. der Abbau mit dem erfindungsgemäßen Bakterienstamm bei einer Temperatur von 30°C bis 67°C statt. Weiters vorteilhaft findet die Behandlung bzw. der Abbau bei einem pH-Wert zwischen 7,5 und 10,1 statt.

Nachfolgend soll die Erfindung anhand einer Grobcharakterisierung des Bakterienstammes

DSM 13198 näher erläutert werden.

Bei dem Bakterienstamm, der bei der DSM Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, mit der Eingangsnummer DSM 13198 hinterlegt wurde, handelt es sich um einen alkali-thermophilen Bakterienstamm.

5

Tabelle 1:

Eigenschaften des Bakterienstammes DSM 13198

10 Internationale Hinterlegungsstelle: DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig

Tag der Hinterlegung: 02.12.1999

Von der internationalen Hinterlegungsstelle zugeteilte Eingangsnummer: DSM 13198

Vom Hinterleger zugeteiltes Bezugszeichen: KF-ID 99-300

15

Wissenschaftliche Bezeichnung: Bacillus sp.

	Zellform.....	Stäbchen	Wachstum in	
	Breite (µm).....	0,6 - 0,7	Medium pH 5,7.....	-
	Länge (µm).....	2,0 - 5,0	NaCl 2 %.....	-
20	Sporen.....	-	5 %.....	-
			7 %.....	-
	Katalase.....	+	10 %.....	-
	Oxidase.....	+	Lysozym-Medium.....	-
25	Anaerobes Wachstum.....	-	Säure aus (ASS)	
	VP Reaktion.....	-	D-Glucose.....	-(k.W.)
	pH in VP-Medium.....	7,45	L-Arabinose.....	-(k.W.)
			D-Xylose.....	-(k.W.)
	Maximale Temperatur		D-Mannit.....	-(k.W.)
30	Wachstum positiv bei.....	65°C	D-Fructose.....	-(k.W.)
	Wachstum negativ bei.....	70°C		
	Wachstum bei 30°C.....	+w		
35	Hydrolyse von		Gas aus Glucose.....	-
	Stärke.....	-	NO ₂ aus NO ₃	-
	Gelatine.....	+	Indolreaktion.....	k.W.
	Casein.....	k.W.		
	Tween 80.....	k.w.	Wachstum CASO, pH 7.....	-
40	Eskulin.....	-	pH 7,5.....	+
			pH 8,0.....	+
	Lecithinase.....	-	pH 8,5.....	+

Der erfindungsgemäße Bakterienstamm eignet sich insbesondere zum Abbau von wasserstoffperoxidhaltigen oder peroxidhaltigen Flüssigkeiten und/oder Abwässern, die mit Farbstoffen kontaminiert sind. Somit können mit dem Bakterienstamm derartige Stoffe auf einfache und umweltverträgliche Art entsorgt werden.

45

Beispiel 1:

50 Aus dem erfindungsgemäßen Bakterienstamm in bekannter Weise gewonnene Katalase-Peroxidase wurde auf einem Trägermaterial immobilisiert, wobei pro Gramm Trägermaterial 1 mg Katalase-Peroxidase eingesetzt wurde.

Die so erhaltene Präparation (5 Gramm Trägermaterial) wurde einer wässrigen Lösung von Wasserstoffperoxid (1 l H₂O₂ bei einer Konzentration von 100 mg/l) bei 60°C und einem pH-Wert von 9,0 zugegeben. Die Konzentration des Wasserstoffperoxides wurde in konstanten Zeitabstän-

55

den ermittelt. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in der Figur 1 abgebildet.

Wie aus der Figur 1 hervorgeht, war das gesamte Wasserstoffperoxid nach weniger als 40 Minuten abgebaut.

Beispiel 2:

Eine mit Wasserstoffperoxid beladene wässrige Lösung mit einem pH-Wert von 9,0 und einer Temperatur von 60°C wurde kontinuierlich mit einem Durchsatz von 1 ml/min über einen Festbettreaktor, der mit 5 g mit Katalase-Peroxidase aus dem erfindungsgemäßen Bakterienstamm immobilisiertem Träger beladen wurde, geleitet.

Die Konzentration des Wasserstoffperoxides in der Lösung wurde gemessen. Die Meßwerte sind in der Figur 2 abgebildet.

Wie aus der Figur 2 hervorgeht, betrug die Startkonzentration an Wasserstoffperoxid (ohne Enzymbehandlung) ca. 2,1 mg/l. Wenn die Lösung mit dem Enzym in Kontakt gebracht wurde, konnte dieser Gehalt kontinuierlich auf unter 1 mg/l gesenkt werden.

Beispiel 3:

1 Kubikmeter Abwasser mit einem Gehalt an Wasserstoffperoxid von 150 m/l wurden mit 40 Gramm mit Katalase-Peroxidase aus dem erfindungsgemäßen Bakterienstamm immobilisiertem Träger bei einem pH-Wert von 9,0 und einer Temperatur von 60°C behandelt. Nach 2,5 Stunden war das gesamte Wasserstoffperoxid abgebaut.

Beispiel 4:

Eine wässrige Lösung des Textilfarbstoffes 5,5'-Indigosulfonsäure mit einer Konzentration von 250 mg/l wurde mit auf einem Träger immobilisierter Katalase-Peroxidase aus dem erfindungsgemäßen Bakterienstamm bei einem pH-Wert von 9,0 und einer Temperatur von 60°C behandelt. Nach 5 Stunden Behandlung war die Lösung vollständig entfärbt, d.h. der Textilfarbstoff war vollständig abgebaut.

PATENTANSPRÜCHE:

1. Bacillus sp., DSM 13198.
2. Verfahren zur Vermehrung des Bakterienstammes nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Bakterienstamm in einem Anreicherungsmedium vermehrt wird, welches einen Puffer auf Carbonatbasis, Pepton, Citrat, Hefeextrakt, Fleischextrakt, Kaliumhydrogenphosphat und eine Spurenelement-Lösung enthält.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Anreicherungsmedium auf einen pH-Bereich von 8,5 bis 10,1, vorzugsweise 9,5 bis 10,0 gepuffert ist.
4. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Anreicherungsmedium eine Temperatur von 30°C bis 67°C, vorzugsweise von 60° bis 65°C aufweist.
5. Verwendung des Bakterienstammes gemäß Anspruch 1 zur Behandlung von industriellen Abwässern.
6. Verwendung nach Anspruch 5 zur Behandlung von Abwässern der Textilindustrie, Zellstoffindustrie, Lebensmittelindustrie und Chemieindustrie.
7. Verwendung des Bakterienstammes gemäß Anspruch 1 zum Abbau von Peroxiden, insbesondere Wasserstoffperoxid und/oder von Farbstoffen.
8. Verwendung nach einem oder mehreren der Ansprüche 5 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Bakterienstamm dem zu behandelnden Medium auf einem Träger immobilisiert zugegeben wird.
9. Verwendung nach einem oder mehreren der Ansprüche 5 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß dem zu behandelnden Medium Zellbruchteile, Proteine und/oder eine Katalase-Peroxidase-Präparation aus dem Bakterienstamm zugegeben werden.

AT 410 214 B

10. Verwendung nach einem oder mehreren der Ansprüche 5 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Behandlung bzw. der Abbau bei einer Temperatur von 30°C bis 67°C durchgeführt wird.
- 5 11. Verwendung nach einem oder mehreren der Ansprüche 5 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Behandlung bzw. der Abbau bei einem pH-Wert von 7,5 bis 10,1 durchgeführt wird.

HIEZU 1 BLATT ZEICHNUNGEN

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

FIG. 1

