



Hidrogén előállítása tejcukor folyamatos erjesztésével

A sajtgyártás melléktermékeként a tejsavó leszűrésekor jelentős mennyiségű, laktózt (tejcukrot) tartalmazó szennyvíz keletkezik, ami kezelés nélkül nem engedhető a csatornába. A baktériumokkal végzett ártalmatlanítás során melléktermékként hidrogén is keletkezik. A folyamatok optimalizálásával a hidrogén termelése fokozható, és ez kiválóan használható energiahordozó lévén, melléktermékből főszereplővé léphet elő. Mivel az alapanyag ingyen rendelkezésre áll, és a laboratóriumi kísérletek alapján a termelési technológia sem lesz várhatóan túl igényes, az eljárás olcsó hidrogéntermelés lehetőségével kecsegtet. A vegyi folyamatok részletei, az egyes jellemzők hatása a kihozatalra.

Tárgyszavak: Clostridium; tejcukor; laktóz; hidrogén; folyamatos reakció.

A nagy energiatartalmú hidrogén, mint energiaforrás előtt nagy jövő állhat, ha sikerül termelési költségeit alacsony szintre szorítani. E tiszta fűtőanyag égése során ugyanis melléktermékként csak víz keletkezik. Mivel fosszilis fűtőanyagok feldolgozásával, vagy víz elektrolízise kapcsán hidrogént előállítani meglehetősen költséges, az erre alkalmas biológiai eljárások vonzó megoldásnak tekinthetők – különösen, ha alapanyagként szerves hulladékot

használnak fel. Biológiai módszerekkel többféleképpen is fejleszthető hidrogén: fényenergia által fenntartott vagy sötétben végbemenő erjesztéssel, valamint fermentálással és fotoszintézissel egybekötött biológiai folyamatok segítségével.

A svájci kutatók kis mennyiségű mintatenyészeteken végzett vizsgálatai szerint a *Clostridium thermolacticum* nevű baktérium

alkalmas mikroorganizmus tejcukor (laktóz) acetát és hidrogén keletkezése mellett végzett, hatékony erjesztésére. Jelen tanulmány célja annak megállapítása, hogy *folyamatos erjesztés* esetében milyen mennyiségben és feltételek mellett állítható elő hidrogén. Ezzel kapcsolatos vizsgálataikat a kutatók különböző hígítási arányok és pH-értékek mellett végezték, majd meghatározták azokat a feltételeket, amelyek fenntartásával a folyamat során keletkező gáz a lehető legnagyobb arányban tartalmaz hidrogént. A sajtgyártásban melléktermékként jelentős mennyiségű (Svájcban például évente közel 150 000 tonna) leszűrt tejsavó keletkezik. Ebben a fehérjét nem tartalmazó folyadékban körülbelül 6% tejcukor van. Mivel e szennyvíz biológiai elbomlása literenként 50 gramm oxigént igényel, kezelés nélkül nem lehet a környezetbe engedni, ezért ez környezetvédelmi szempontból is problémát jelent a sajtgyártók számára.

Az alkalmazott módszerek és anyagok

Az elvégzett kísérletek során a *Clostridium stercorarium* (másik nevén *C. thermolacticum*) heterofermentatív anaerob baktériumot használták. A minimális mennyiségű laktózt tartalmazó közegben, 4 °C-os hőmérsékleten tartott baktériumokat egy hónapig tárolva alkalmazták. A tenyészet tisztaságát rutinszerűen

elvégzett mikroszkópos vizsgálatokkal ellenőrizték. A reagáltatott közeg 29 mmol/l tejcukrot tartalmazott. Az anyagot egy 0,22 µm pórusméretű szűrőpatronon átbocsátva egy 50 literes tartályba vezették. A tárolótartály oxigénmentességét túlnyomásos (121 kPa) nitrogén védőgázzal érték el.

A vizsgálatok során használt bioreaktor térfogata 2 liter, hőmérséklete 58 °C volt, a kísérleti elegyet percenként 100 fordulatu keverőlapáttal homogenizálták. A kultúrát tartalmazó elegy térfogatát automatikus szabályozással 1 literes szinten tartották. Hogy a folyamat ténylegesen anaerob legyen, a folyadékfázist nitrogénnel öblítették át. A tenyészet szaporodásának exponenciális fázisában 20 milliliter szuszpenziót adtak be oltóanyagként. A közeg áramoltatását megelőzően a baktériumokat 24 órán át szaporították.

A redox-potenciált és a pH-értéket folyamatosan mérték, az állandó pH-értéket pedig automatikusan, 2 M NaOH hozzáadásával tartották fenn. A sűrűségmérést és a HPLC elemzést megfelelő mintákon, a készüléken kívül végezték. A sejtsűrűséget a folyadék zavarossága alapján, 650 nm-es hullámhosszon működtetett spektrofotométerrel állapították meg. A gáz halmazállapotú összetevőket (köztük a H₂, N₂ és CO₂) egy amerikai gyártmányú mikro-gázkromatográf készülékkel

határozták meg, illetve mennyiségméréseket is végeztek vele. A hidrogénkoncentrációt 80 °C-ra felmelegített hővezetőképesség-érzékenyítő segítségével, 10 µl/l pontossággal lehetett mérni.

A termelő (,A"-val jelzett) gáz volumetrikus és fajlagos hozamát, valamint koncentrációját, illetve a folyékony fázisban oldott szén-dioxid és hidrogén-karbonát mennyiségét az alábbi reakcióegyenletek alapján határozták meg:

az ,A" gáz mennyisége:

$$r_A = \frac{F_{\text{gáz}} p_A}{RT}$$

az ,A" gáz koncentrációja:

$$C_A = \frac{r_A}{D}$$

az oldott CO₂ mennyisége:

$$\text{CO}_2(\text{aq}) = K_H p_{\text{CO}_2}$$

a HCO₃ koncentrációja:

$$\text{HCO}_3^-(\text{aq}) = \frac{K_1 \cdot \text{CO}_2(\text{aq})}{\text{H}^+}$$

az ,A" gáz fajlagos termelékenységé:

$$q_A = \frac{r_A}{X}$$

Ahol: C_A az ,A" gáz mol/literben megadott koncentrációja; D a hígítási arány (h^{-1}); $F_{\text{gáz}}$ a gáz volumetrikus áramlási sebessége ($\text{l l}^{-1} \text{h}^{-1}$); K_1 az első savassági állandó, 50 °C-on $K_1(\text{CO}_2) = 10^{-6,28}$ mol/liter; K_H a Henry-féle állandó, 50 °C-on, $K_H(\text{CO}_2) = 10^{-1,72}$ (M atm^{-1}); p_A az ,A" gáz parciális nyomása (Pa); q_A az ,A" gáz fajlagos hozama ($\text{mol (g CDW)}^{-1} \text{h}^{-1}$); R gázállandó: $8,21 \times 10^{-2}$ ($\text{l atm K}^{-1} \text{mol}^{-1}$); T a hőmérséklet: 333 (K) és X a biomassza-sejtek szárazanyagban kifejezett koncentrációja ($\text{(g CDW)} \text{l}^{-1}$).

Eredmények

A literenként 29 mmol (~ 10 g/l) laktózt tartalmazó táptalajon a *C. thermolacticum* tenyészet növekedése közben folyadék fázisban acetát, gázfázisban pedig számottevő mennyiségű hidrogén keletkezett. A képződő hidrogén mennyiségét a 0,012–0,19 h^{-1} koncentrációtartományban, semleges pH-érték mellett vizsgálták. A tejcukor folyamatos erjesztése során kapott eredményeket az 1. táblázat tartalmazza. Kisebb hígítási arányoknál a laktóz csaknem teljesen elbomlott. A biomassza mellett folyékony fázisban keletkező főbb termék acetát, etanol és laktát volt. A gázfázisban csak hidrogén és szén-dioxid volt, a teljes CO₂-mennyiség alatt a gáz- és a folyadékfázisban található szén-dioxid és a bikarbonát együtte-

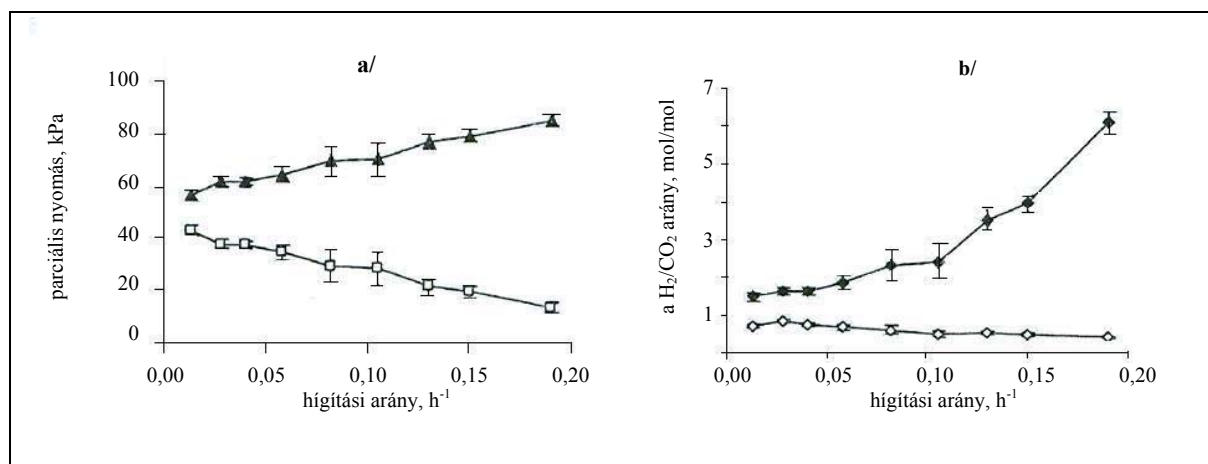
sen értendő. Az 1(a) ábrán a hidrogén és a szén-dioxid parciális nyomása látható. A reaktorból kiáramló gázban minden esetben több hidrogén volt, mint szén-dioxid. A legalacsonyabb hidrogénarányt (55 % v/v) a legna-

gyobb mértékű hígítás mellett mérték. A hidrogén parciális nyomása a hígítási aránnyal lineárisan változott – maximális hidrogéntartalom (86 % v/v) $D = 0,19 \text{ h}^{-1}$ hígításnál adódott.

1. táblázat

A literenként 29 mmol/l laktózt tartalmazó táptalajon a *C. thermolacticum* tenyészet folyamatos reakciójú állandósult állapotában, pH 7,0 mellett keletkezett anyagok mennyiségei (4 kísérlet, a szórás < 17%)

Paraméterek		Hígítási arány (h^{-1})								
		0,013	0,028	0,040	0,058	0,082	0,105	0,130	0,150	0,190
Sejtek szárazanyag-tartalma	(g l^{-1})	0,60	0,70	0,67	0,58	0,48	0,47	0,41	0,39	0,27
Laktózzmaradék	(mmol l^{-1})	1	3	7	12	16	19	21	23	26
Acetát	(mmol l^{-1})	28	26	25	21	16	13	10	8	4
Etanol	(mmol l^{-1})	41	36	33	26	20	17	13	10	5
Laktát	(mmol l^{-1})	22	17	8	1	1	1	0	0	0
Hidrogén	(mmol l^{-1})	65	78	61	44	30	22	17	14	8
Teljes CO_2	(mmol l^{-1})	94	93	82	65	48	43	31	27	18
Szénmérleg	(%)	99	98	97	97	97	100	100	101	101
H_2 -kihozatal laktózra vetítve	(mol mol l^{-1})	2,3	3,0	2,8	2,7	2,4	2,1	2,1	2,3	2,5



1. ábra Gázösszetétel különböző hígítási arányoknál

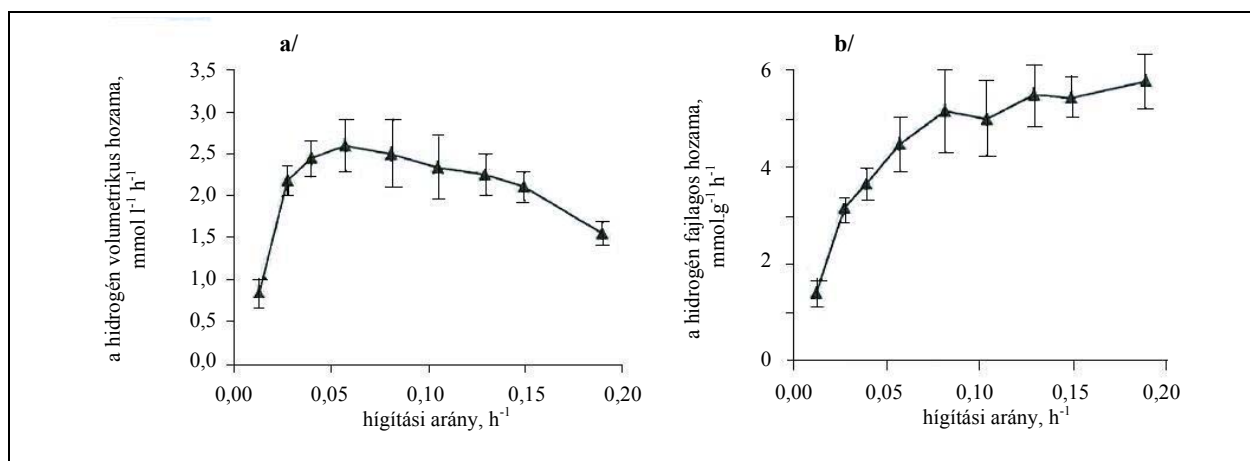
(a) A hidrogén (fekete háromszögek) és a szén-dioxid (üres négyzetek) parciális nyomása gázfázisban; (b) A keletkező hidrogén és szén-dioxid mennyiségek alapján számított $\text{H}_2(\text{gáz})/\text{CO}_2(\text{gáz})$ arány gázfázisban (fekete körök) és $\text{H}_2(\text{gáz})/\text{CO}_2(\text{teljes})$ arány (üres körök)

A $H_{2(gáz)}/CO_{2(gáz)}$ arány gázfázisban $D = 0,013 h^{-1}$ hígításnál 1,22, $D = 0,19 h^{-1}$ -nél pedig 6,14 volt, a teljes hidrogén és szén-dioxid mennyiség közel változatlan maradt. A hidrogén volumetrikus és fajlagos hozamát különböző hígítási arányok mellett a 2. ábra mutatja be. E számításokat az 1. ábra eredményei és a megfelelő reakcióegyenletek segítségével végezték el. A hidrogén legmagasabb volumetrikus hozamát ($2,58 mmol l^{-1} h^{-1}$) a $0,04-0,08 h^{-1}$ közötti hígítási tartományban tapasztalták, e fölött a hozam csökkent. A maximális fajlagos hozam ($5,74 mmol g CDW^{-1} h^{-1}$) $0,08 h^{-1}$ hígítási érték fölött volt mérhető, és közel állandó maradt a hígítási arány növelésével.

A vizsgált hígítási tartományban a hidrogén kihozatali koefficiense durván változatlan maradt, legnagyobb tapasztalt értéke 3,0 volt. Tekintettel arra, hogy laktóz tulajdonképpen

diszacharid, ami felerészt glükózból, felerészt pedig galaktózból áll, ez hexóz egyenértékben számolva 1,5-es hidrogén kihozatali együtthatónak felel meg, ami jóval kisebb az elméleti kihozatalnál.

A fentiekben semleges pH-értéknél optimálisnak mutatkozott $D = 0,056 h^{-1}$ hígítási arány mellett a pH-érték változtatásának hatását vizsgálva megállapították, hogy a pH-érték növekedésével a volumetrikus és a fajlagos hidrogénhozam is növekedett ($2,06$ -ról $3,0 mmol l^{-1} h^{-1}$ -ra), és – a tanulmány keretében vizsgált pH-tartományban – maximumát $pH = 7,5$ -nél érte el (2. táblázat). A három vizsgált pH-értéket ($6,4; 7,0; 7,5$) annak ismeretében választották ki, hogy a *Clostridium thermolacticum* a $6,8-7,4$ közötti, enyhén savas pH-tartományban szaporodik a leggyorsabban.



2. ábra A hidrogén volumetrikus (a) és fajlagos (b) hozama különböző hígítási arányok mellett

A pH-érték hatása a hidrogén és a szén-dioxid parciális nyomására és hozamára – folyamatos reakciónál, 29 mmol/l laktóz koncentrációjú táptalajon, 58 °C-on és $D=0,056 \text{ h}^{-1}$ hígítási arány mellett (szórás < 9%).

Paraméterek		pH		
		6,4	7,0	7,5
A gáz térfogatáramlási sebessége	($\text{ml l}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	95	98	94
A sejtek szárazanyag-tartalma	(g l^{-1})	0,57	0,59	0,62
A H_2 parciális nyomása	(Pa)	53×10^3	62×10^3	78×10^3
A CO_2 parciális nyomása	(Pa)	47×10^3	38×10^3	22×10^3
A H_2 volumetrikus hozama	($\text{mmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	2,06	2,48	3,00
Teljes CO_2 volumetrikus hozam	($\text{mmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	2,80	3,90	4,89
$\text{H}_{2(\text{gáz})}/\text{CO}_{2(\text{gáz})}$ arány	(mol mol^{-1})	1,26	1,82	3,95
$\text{H}_{2(\text{gáz})}/\text{CO}_{2(\text{teljes})}$ arány	(mol mol^{-1})	0,73	0,64	0,61

Értékelés

A kísérletek során kimutatták, hogy a laktózt tartalmazó táptalajon nevelt *C. thermolacticum* tenyészet életműködése közben keletkező gáz fő összetevője a hidrogén (1.a) – ábra). A 2.b)-ábrán világosan látható, hogy a $\text{H}_{2(\text{gáz})}/\text{CO}_{2(\text{teljes})}$ arány stabil maradt, míg a $\text{H}_{2(\text{gáz})}/\text{CO}_{2(\text{gáz})}$ arány a hígítás mértékétől függően nőtt. Kiderült, hogy a keletkező szén-dioxid egy része nem kerül gázfázisba, vélhetően számottevő mennyiség szénsav és bikarbonát ionok formájában a folyadék fázisban oldott állapotban marad.

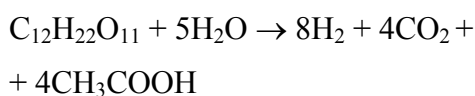
A kísérletek tapasztalatai szerint a hígítási arány növekedésével a bioreaktorban található

közeg gyorsabban cserélődött, emiatt a bikarbonát-ionok kimosódtak, és kevesebb CO_2 diffundált a gázfázisba, ami a gázban a szén-dioxid arányának csökkenéséhez és a hidrogén arány növekedéséhez vezetett. Amikor a pH-érték a lúgos kémhatás felé tolódott el, a hidrogénarány a gázfázisban emelkedett (2. táblázat), mivel a kémiai reakció egyensúlya a bikarbonát-ionok képződése javára tolódott el. A pH-érték savasabbá válásával a hidrogén volumetrikus hozama megnőtt.

Mindezekből következően a közeg lúgossá válása közben a gázfázis hidrogéntartalma 53 kPa-ról 78 kPa-ra dúsul, volumetrikus hozama pedig $2,06 \text{ mmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ -ről $3,0 \text{ mmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ -ra növelhető.

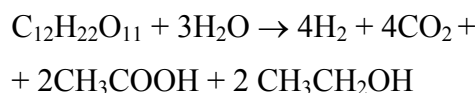
Kapcsolat az etanolképződés és a hidrogénhozam között

Amennyiben etil-alkohol egyáltalán nem képződik, a szénhidrogének acetátra való lebomlása során 4 hidrogénmolekula keletkezik, így a tejcukor erjedését leíró képlet a következőképpen lenne felírható:



A fenti reakcióegyenlet alapján laktózból elméletileg 8 mol mol⁻¹, hexózra vetítve pedig 4 mol mol⁻¹ hidrogén keletkezik, de a szakirodalomban különféle Clostridium fajok révén lejátszódó folyamatok esetén eddig legfeljebb 1,9 mol mol⁻¹-ről számolnak be. Az ismertetett kísérletekben a laktózt tartalmazó táptalajon nevelt *C. thermolacticum* tenyészet esetében laktózra vonatkoztatva legfeljebb 3,0 mol/mol-t értek el, és a hígítási arány módosítása sem gyakorolt a kihozatalra számottevő befolyást (1.a) ábra). Más tapasztalatok arra hívják fel a figyelmet, hogy a hidrogén nagy parciális nyomása akadályozza a baktériumok hidrogéntermelését, és anyagcsere-termékeik összetételét a redukált végtermékek, köztük etanol keletkezése irányába módosítja – e jelenség állhat tehát az elméleti értéknél jóval kisebb hidrogénképződés mögött.

Maga a tény, hogy mindegyik hígítási aránynál jelentős mennyiségben képződött etanol (ld. az 1. táblázat adatait), már magyarázatot ad arra, hogy laktóz táptalajon miért képződött az elméleti értéknél jóval kevesebb hidrogén: a biológiai oxidációs folyamatok során a NADH egy részét a hidrogén helyett az etanol képződése vette igénybe. Etanol keletkezése mellett lejátszódó fékezett hidrogénképződés esetében ezért a reakció egyenlete az alábbiak szerint írható fel:



A szakirodalom tanúsága szerint, habár sokféle (főként glükóz) táptalajon, sok más Clostridium fajjal végeztek kísérleteket, nem sikerült eddig 2,73 mol mol⁻¹-nél nagyobb hidrogén-kihozatalt elérni. A laktózt, mint kiindulási anyagot eddig nem használták fel, pedig ingyenesen rendelkezésre áll a sajtógyártás ártalmatlanítandó melléktermékeként.

Összességében megállapítható, hogy a laktóz *C. thermolacticum* tenyészet segítségével végzett fermentációs kezelése során értékes melléktermékként hidrogéngáz képződik. A gázfázis hidrogéntartalma és a fajlagos hidrogén-kihozatal magas hígítási arányok (0,10–0,20 h⁻¹) és

7,0-nél magasabb pH-érték mellett a legnagyobb. A keletkező szén-dioxid megfelelő csapdával leköthető. Ez az eljárás lehetővé teszi a sajtgyártás melléktermékeként nagy mennyiségben keletkező, laktózt tartalmazó tejsavó erjesztési táptalajkénti hasznosítását, amelynek kapcsán acetát mellett olcsó biohidrogént is elő lehet állítani.

Összeállította: Dr. Balog Károly

Irodalom

- [1] Collet, Ch.; Nevenke Adler, N. stb.: Hydrogen production by *Clostridium thermolacticum* during continuous fermentation of lactose. = International Journal of Hydrogen Energy, 29. k. 14. sz. 2004. nov. p. 1479–1485.
- [2] Lee, Y. J.; Miyahara, T.; Noike, T.: Effect of pH on microbial hydrogen fermentation. = Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 77. k. 6. sz. 2002. p. 694–698.

Röviden...

Villamos energia szennyvízből

Szennyvízből közvetlenül villamos energiát termelő, mikrobák közvetítésével üzemelő üzemanyag-elemet alkalmazó új technológiát fejlesztettek ki az USA-ban. A Penn State egyetemen működő fejlesztő csoport által alkalmazott elrendezés szerint a protoncserélő membránnal elválasztott elektródák egyike a külön keverés nélkül áramló szennyvízbe merül, míg a másik (a katód) egy szabad levegőt tartalmazó kamrában van.

A hígított feldolgozatlan szennyvíz folyamatosan áramlik át a készüléken, amely 0,39 ml/perc sebesség esetén 72 W/m^2 energiát termel. A fejlesztett villamos teljesítmény függ az oldat szennyvíztartalmától. Az energiát a baktériumok a szerves anyag anaerob oxidálása kapcsán az anódkamrában termelik. Itt a biológiailag lebontható szerves anyagok oxidálódása során elektronok szabadulnak fel, majd az áramkörön keresztül a katódhoz áramlanak, ahol az elektronokat oxigén vagy ferricianid veszi fel. Az elektronok az anódkamrából átdiffundáló protonokkal hidrogénné egyesülnek és az oxigénnel (vagy a ferricianidból keletkező ferrocianiddal) vizet képeznek. Becslések szerint a szennyvíz energetikai potenciálja eléri a kezelésére fordított energia közel tízszeresét – e mennyiség 1/20-ának előállítására már gazdaságos üzemeltetést tesz lehetővé. Az egységnyi felületre jutó teljesítmény egyelőre viszonylag kicsi, de igen gyors fejlődés jellemzi: a két évvel ezelőtti $0,1 \text{ W/m}^2$ értékhez képes a mai 72 W/m^2 komoly haladást jelent, a fejlesztők a közeljövőben az $500\text{--}1000 \text{ W/m}^2$ tartományt célozzák meg.

(*Inside R &D*, 33. k. 45. sz. 2004. nov. p. 3.)