

Główne ścieżki fermentacji metanowej: kontrola izotopowa

21.10.2008 Strzelin

Mariusz Orion Jędrysek i Adriana Trojanowska

*Pracownia Geologii Izotopowej i Geoekologii, Instytut Nauk Geologicznych,
Uniwersytet Wrocławski. Ul. Cybulskiego 30, 50-205 Wrocław
e-mail, mariusz.jedrysek@ing.uni.wroc.pl adriana.trojanowska@ing.uni.wroc.pl*

Fermentacja metanowa jest procesem beztlenowego rozkładu (mineralizacji) wysokocząsteczkowych związków organicznych. Produktami tego procesu są metan (CH₄) oraz dwutlenek węgla (CO₂).

Fermentacja jest procesem prowadzonym przez zespoły mikrobiologiczne złożone z bakterii hydrolizujących i fermentujących – prowadzi one hydrolizę polimerów na drodze enzymatycznej i uzyskane w ten sposób monomery poddają fermentacji uzyskując: alkohole, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, H₂ i CO₂. Zespoły te składają się z:

- bakterii redukujących H⁺ - wykorzystujących H⁺ jako akceptor elektronów i produkujące H₂ podczas utleniania pobieranych substratów do kwasu octowego i CO₂ (Dalfing, 1988)
- bakterii homoacetogennych – dosyć uniwersalnych, które zarówno utylizują cukry, alkohole, kwasy tłuszczowe, puryny oraz związki aromatyczne jak i H₂, CO₂, mrówczan oraz metanol by ostatecznie produkować kwas octowy jako produkt fermentacji (Dalfing 1988).
- bakterii metanowych przeprowadzających kwas octowy, CO₂, H₂ i metanol do metanu.

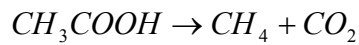
W zależności od warunków w jakich przebiega proces oraz dostępności substratów proces prowadzony jest przez inne grupy mikroorganizmów i mieszanina gazów powstających jako produkt końcowy fermentacji metanowej również będzie wykazywał różną zawartość metanu, dwutlenku węgla oraz pozostałych składowych towarzyszących.

Fermentacja: ścieżki przemian biochemicznych

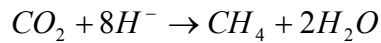
Ilość substratu dostępnego dla bakterii w największym stopniu decyduje o wydajności procesu fermentacji. W warunkach ograniczonej ilości prekursorów metanu, nawet wobec wysokiej liczebności metanogenów ich aktywność biologiczna i tempo procesu są znikome (Conrad, 1996).

Metan syntezowany jest z bardzo ograniczonej ilości rodzajów substratów: W procesach kontrolowanej fermentacji metanowej definiuje się dwie główne ścieżki syntezy metanu:

- biologiczny rozkład CH_3COOH poprzez bakterie heterotroficzne



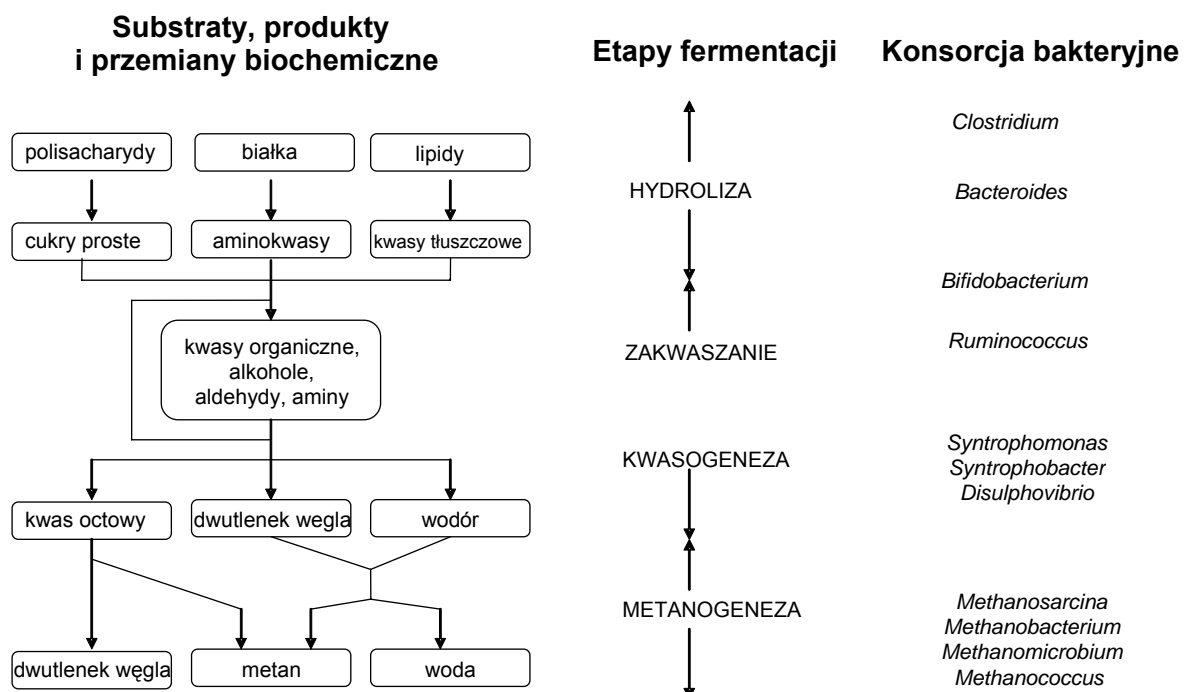
- redukcja CO_2 przez bakterie autotroficzne



W warunkach naturalnych ważnymi substratami dla metanogenów mogą być również: grupy metylowe innych składników takich jak metanol, metyloamina metylosiarczek (Oremland 1988, Burke, 1993).

Proces fermentacji obejmuje następujące przemiany: Faza 1: hydroliza wielkocząsteczkowych związków organicznych; Faza 2: rozkład zhydrolizowanych substancji do kwasów organicznych (acidogeneza); Faza 3: rozkład kwasów organicznych do kwasu octowego (octogeneza); Faza 4: rozkład octanów i kwasu octowego do metanu i dwutlenku węgla (metanogeneza) (Margel, 2002).

Dokładny schemat przemian substancji organicznych podczas fermentacji metanowej w układach technologicznych stosowanych w reaktorach został przedstawiony na Rys. 1.



Rys. 1. Schemat przemian biochemicznych na poszczególnych etapach fermentacji (za Margel, 2002).

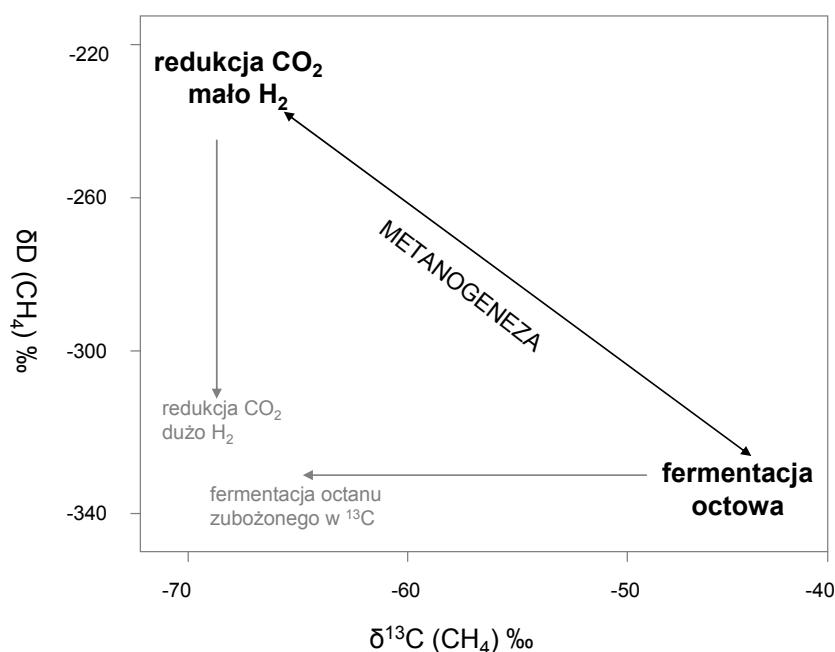
W większości środowisk naturalnych oraz w warunkach kontrolowanych przeważnie zachodzi fermentacja metanowa oparta na rozkładzie kwasu octowego lub redukcji CO₂ a udział pozostałych substratów organicznych jest znikomy (Phelps i Zeikus 1984, Jones i in. 1982, Corrad, 2005). Metanogeneza zachodząca na drodze redukcji CO₂ z udziałem H₂ jest bardziej wydajna dla mikroorganizmów, ponieważ wówczas metanogeny osiągają niemal dwukrotnie szybsze tempo wzrostu niż podczas fermentacji na drodze octowej (Vogel i in., 1988). Jednakże, z technologicznego punktu widzenia, gdy ilość wytworzonego metanu decyduje o ekonomicznej efektywności procesu, ta ścieżka metanogenezy jest niepożądana. Stąd istotnym elementem powinna być kontrola ścieżek przemian chemicznych podczas fermentacji w celu zoptymalizowania procesu.

Śledzenie ścieżek fermentacji metanowej

Śledzenie ścieżek metanogenezy na poziomie molekularnym oraz ocena udziału w produkcji metanu są możliwe dzięki zastosowaniu analizy składu izotopowego węgla i wodoru w substratach i produktach fermentacji. Głównymi czynnikami wywołującymi efekty izotopowe są temperatura oraz przemiany biologiczne. Metan powstający na drodze biologicznej wykazuje wzbogacenie w lekkie izotopy węgla i wodoru w porównaniu z metanem pochodzenia np. termogenicznego. Skład izotopowy węgla w metanie pochodzenia biologicznego waha się w granicach $\delta^{13}\text{C} = -60 \pm 5\text{‰}$, a w metanie pochodzenia termogenicznego $\delta^{13}\text{C} = -41 \pm 8\text{‰}$ (Quay i in. 1999). Metan powstający na drodze redukcji CO₂ i utleniania H₂ wykazuje niższe wartości $\delta^{13}\text{C}$, w zakresie od -110 do -60 ‰ (Blair i Carter 1992, Sugimoto i Wada 1993), natomiast powstający w wyniku fermentacji octowej od -60 do -33 (np. Jędrysek, 1995, 1999, Conrad 2005, Rys. 2). W przypadku warunków naturalnych, o bilansie mas substratów oraz metanotrofii (utlenianiu metanu) decyduje w dużym stopniu obecność światła i głębokość kolumny wody i osadu, w którym zachodzi fermentacja, oraz chemizm wód porowych (Jędrysek 1999, 2005, Szynkiewicz et al. 2008).

W środowisku naturalnym notuje się czasami bardzo duże zróżnicowanie wartości $\delta^{13}\text{C}$, które są efektem wahań w składzie izotopowym substratów (prekursorów), rodzaju ścieżki w jakiej metan został wytworzony, temperatury. Skład izotopowy substratów stanowi punkt odniesienia dla wyników analiz składu izotopowego metanu uzyskanego w procesie fermentacji i przy znanych współczynnikach frakcjonowania izotopowego. Umożliwia to obliczenia izotopowego bilansu mas oraz oszacowanie procentowego udziału poszczególnych ścieżek w generowaniu metanu.

Skład izotopowy węgla w metanie powstającym podczas redukcji CO₂ jest uzależniony zatem od składu izotopowego węgla nieorganicznego (węglanów, wodorowęglanów, rozpuszczonego CO₂) przetwarzanego przez mikroorganizmy. Frakcjonowanie izotopowe węgla zależy w tym wypadku głównie od temperatury i jest tym większe im niższa temperatura (Games i in. 1978), od ciśnienia parcjnego CO₂ oraz pH (Degens et al. 1968, Jedrysek 1999). Skład izotopowy kwasu octowego, będący odniesieniem do końcowej wartości $\delta^{13}\text{C}(\text{CH}_4)$, wykazuje związek ze składem izotopowym prekursorów, oraz równowagą pomiędzy syntezą i równoległą konsumpcją kwasu a także jego dostępności (Gelwicks, 1989). Współczynnik frakcjonowania izotopowego węgla może różnić się w przypadku konkretnych konsorcjów bakteryjnych prowadzących równoległe procesy syntezy i rozkładu kwasu octowego. Lekki izotopowo metan może być również wynikiem degradacji zubożonego w izotop ¹³C (do 50 ‰) kwasu octowego, który powstał w wyniku syntezy CO₂ i H₂. (Braun, 1981, Ry 2). Podobnie, brak produkcji kwasu octowego prowadzi do wzbogacenia nieprzereagowanego octanu w cięższe izotopy węgla a zatem powstający w takich warunkach metan również wykazuje wyższe wartości $\delta^{13}\text{C}$.



Rys. 2. Zmiany $\delta^{13}\text{C}$ i δD metanu w zależności od ścieżki fermentacji oraz dostępności substratu (za Burke, 1993)

Skład izotopowy wodoru w metanie także zależy od ścieżki metanogenezy oraz od temperatury. Metan powstający w wyniku redukcji CO₂ wykazuje wyższe wartości δD w zakresie od -150 do -250 ‰ niż ten wygenerowany z kwasu octowego przyjmujący wartości δD od -250 do -400 ‰ (Whiticar i in. 1986). Skład izotopowy wodoru w metanie jest

uzależniony od temperatury oraz szczególnie w przypadku redukcji CO₂ od dostępności jonów H⁺, gdzie w warunkach wysokiego stężenia akceptora elektronów obserwuje się przesunięcie δD w kierunku wartości niższych (Whiticar i in. 1986, Rys. 2). W przypadku fermentacji metanowej na drodze utylizacji kwasu octowego, δD wykazuje związek ze składem izotopowym wodoru w wodzie w bezpośrednim otoczeniu (Balabane i in., 1987).

Rozpoznane mechanizmy decydujące o wartości współczynników frakcjonowania izotopowego węgla i wodoru podczas fermentacji metanowej w różnych warunkach dostarczają bardzo precyzyjnego narzędzia umożliwiającego szczegółową kontrolę procesu fermentacji. Jest to pierwszy krok do zoptymalizowania warunków w jakich realizowana jest produkcja metanu na skalę przemysłową lub półprzemysłową, gdzie na podstawie informacji uzyskanych z analizy składu izotopowego metanu możliwe jest podejmowanie decyzji o modyfikacji warunków i przesunięcia równowagi procesu w kierunku umożliwiającym bardziej efektywne przetwarzanie substratu na biogaz o możliwie najwyższej zawartości procentowej metanu.

Podziękowania. Niniejsza praca powstała w oparciu o wsparcie w ramach projektu finansowanego przez MNiSzW R1205602 oraz grantów S i W (ZGSG, ING, U.Wr.).

Literatura:

- Balabane, M., Galimov, E., Hermann, M., Letolle R. 1987. Hydrogen and carbon isotope fractionation during experimental production of bacterial methane. *Organic Geochem.* 11:115-119/
- Blair N.E. i Carter W.D.K., 1992, the carbon isotope biogeochemistry of acetate from methanogenic sediment. *Geochim Cosmochim. Acta* 56:1247-1248.
- Burke, R.A., 1993. Possible influence of hydrogen concentration on microbial methane stable hydrogen isotopic composition. *Chemosphere* 26:55-67.
- Conrad R., 1998. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H₂, CO₂, CH₄, OCS, N₂O and NO) *Microbiological Reviews*, 60:609-640.
- Conrad R. 2005. Quantification of methanogenic pathways using stable carbon isotopic signatures a review and proposal. *Organic Geochemistry*. 36:739-752.
- Degens, E.T., Guillard, R.R.L., Sackett W.M., Hellebust J.A. 1968. Metabolic fractionation of carbon isotopes in marine plankton – I. Temperature and respiration experiments. *Deep Sea Res.* 15:1-9.
- Jędrysek M. O., 1995, Carbon isotope evidence for diurnal variations in methanogenesis in freshwater lake sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 59: 557-561.
- Jędrysek M. O., 1999, Spatial and temporal patterns in diurnal variations of carbon isotope ratio of early-diagenetic methane from freshwater sediments. *Chemical Geology* 159: 241-262.
- Jędrysek M.O., 2005, The S-O-C isotopic picture of sulphate-methane-carbonate system in freshwater lakes. *Environmental Chemistry Letters* 3(4) 100-122.
- Jones, J.G., Simon, B.M., Gardener, S. 1982. Factors affecting methanogenesis and associated anaerobic processes in the sediments of a stratified eutrophic lake. *J. General Microb.* 18:1-11.
- Margel L. 2002. Metodyka oceny efektywności procesu fermentacji metanowej wybranych osadów ściekowych. Wydawnictwo politechniki Białostockiej, Białystok, ss.118
- Oremland R. S., 1988. Biogeochemistry of methanogenic bacteria. [w:] Zelnder, A.J.B. (red.) *Biology of anaerobic microorganisms*. John Wiley & Son, New York, 641-705

Phelps T.J. i Zeikus J.G., 1984. Effect of fall turnover on terminal carbon metabolism in Lake Mendocino sediments. *Applied Environ. Microbiol.* 71:644-648.

Quay P.D., King S.L., Stutsman J., Wibur D.O., Steel L.P., Fung, I., Gamon R.H., Brown T.A., Farwell G. W., Grootes P., M., and Schmidt F.H., 1999. Carbon isotopic composition of atmospheric CH₄. Fossil and biomass burning source strength. *Coal Biogeochem Cycl.* 25-47.

Sugimoto, A. i Wada E., 1993. Carbon isotopic composition of bacterial methane in a soil incubation experiment. Contribution of acetate and CO₂/H₂. *Geochem. Cosmochem. Acta.* 57:4015-4027.

Szynkiewicz A., Jędrysek M.O., Kurasiewicz M., Mastalerz M., 2008, Influence of sulfate input on freshwater sediments: Insights from incubation experiments. *Applied Geochemistry* **23**: 1607–1622

Vogel, C.D., Keltjens, K.T., Van der Drift, C., 1988. Biochemistry of methane production. [w:] Zelder, A.J.B. (red.) *Biology of anaerobic microorganism.* John Wiley, New York, s. 707-770.