

Konkurrenz zwischen Methanogenen und Desulfurikanten bei der biochemischen Entsäuerung von Bergbauwässern bei Verwendung von Methanol als C- und Energiequelle

Volker Preuß

BTU Cottbus, Lehrstuhl Wassertechnik und Siedlungswasserbau, Siemens-Halske-Ring 8, 03046 Cottbus,
E-Mail: volker.preuss@tu-cottbus.de

Zur Behandlung bergbauversauerter Grund- und Oberflächenwässer der Lausitz wurden am LS Wassertechnik und Siedlungswasserbau Verfahren zur biochemischen Sulfatreduktion entwickelt. Für diese Behandlungsverfahren sind Substrate (Kohlenstoffquelle, Elektronenakzeptor), die vollständig durch die sulfatreduzierenden Bakterien (SRB) oxidiert werden können, zu bevorzugen, da eine organische Belastung des aufbereiteten Wassers minimiert bzw. dessen Nachbehandlung vermieden werden kann. Neben der Eignung für Desulfurikanten sind im Blick auf eine technische Anwendung auch die Kosten, Verfügbarkeit, konstante Qualität aber auch Bestimmungen zum Transport bzw. Lagerung der Substrate von besonderer Bedeutung. Deshalb wurde bisher bei den eigenen Versuchen hauptsächlich Methanol eingesetzt. Bei den für die Desulfurikation erforderlichen Milieuverhältnissen konkurrieren häufig methanproduzierende Bakterien (MPB) um die verfügbaren Substrate. Zu möglichen Stoffwechselwegen bei dem Umsatz von Methanol durch SRB und MPB werden in der Literatur verschiedene Varianten diskutiert.

Im Beitrag werden die Ergebnisse der Untersuchungen zur Konkurrenz zwischen SRB und MPB bei Verwendung von Methanol vorgestellt. Zur Klärung der Stoffwechselwege wurden die MPB spezifisch gehemmt.

1 Einleitung

Für die Behandlung bergbauversauerter Grund- und Oberflächenwässer werden durch verschiedenste Forschungsarbeiten Verfahren entwickelt, welche die mikrobielle Sulfatreduktion zur Entsäuerung und Verminderung der Sulfat- und Schwermetallkonzentrationen nutzen. Während durch Laborversuche deren grundsätzliche Anwendbarkeit hinreichend dokumentiert ist, bestehen derzeit Defizite bei der Übertragung der Ergebnisse auf größere Versuchsmaßstäbe bis hin zur Pilotierung technischer Aufbereitungsanlagen. Für den Eingang der biochemischen Verfahren in die Sanierungspraxis sind insbesondere Fragen zur Langzeitstabilität der biologischen Prozesse stärker zu untersetzen.

2 Grundlagen

2.1 Energie- und Kohlenstoffquellen für technische Anwendungen

Mit Blick auf eine technische Anwendung sind neben der Eignung einer Energie- und Kohlenstoffquelle für Desulfurikanten auch deren Kos-

ten, Verfügbarkeit, konstante Qualität sowie Bestimmungen zum Transport bzw. Lagerung von besonderer Bedeutung. Die bei Laborversuchen gern eingesetzten Lactate sind allein aus Kostengründen für technische Anwendungen wenig attraktiv. Dagegen können organisch belastete Abwässer, z. B. aus der Lebensmittelindustrie, als kostengünstige Substrate von Interesse sein. Jedoch ergeben sich häufig in Bezug auf deren Qualität und Verfügbarkeit im zeitlichen Ablauf größere Schwankungen. Darüber hinaus werden die meisten für Desulfurikanten geeigneten Substrate unvollständig oxidiert, so dass Acetat als Stoffwechselprodukt verbleibt und eine zusätzliche Nachreinigung erforderlich würde. Um diesen Nachteil zu vermeiden, sind die durch Desulfurikanten vollständig oxidierten Substrate für technische Anwendungen zu bevorzugen. Das mögliche Stoffspektrum engt sich damit auf Wasserstoff/Kohlendioxid (FOUCHER et al. 2001; VAN HOUTEN et al. 1994), Acetat (OMIL et al. 1997; STUCKI et al. 1993) oder Methanol (GLOMBITZA 2001; HANSELMANN et al. 1995, TSUKAMOTO & MILLER 1999) ein. Für die am Lehrstuhl Wassertechnik und Siedlungswasserbau der BTU Cottbus durchgeführten Versuche (PREUß 2004; SCHÖPKE & KOCH 2002) wurde

Methanol als vorteilhaftestes Substrat ausgewählt.

2.2 Konkurrenz zwischen Methanogenen und Desulfurikanten

Bei den für die Desulfurikation erforderlichen Milieuverhältnissen konkurrieren häufig Methanogene um die verfügbaren Substrate. Das für die Methanbildner nutzbare Spektrum an Energie- und Kohlenstoffquellen umfasst Wasserstoff/Kohlendioxid, Acetat, Methanol, Methylamine und Formiat (KUSCHK 1984).

Die Wechselwirkungen der verschiedenen Prozessgrößen (z. B. pH, Temperatur, Reaktorhydraulik, Sulfidkonzentration) auf die Konkurrenzbeziehung sind bisher nicht vollständig geklärt. CHOI & RIM (1991) konnten einen Einfluss der Substratkonzentration im Verhältnis zur Sulfatkonzentration feststellen. Bei geringen Substratkonzentrationen (Verhältnis CSB/Sulfat < 1,7) konnten die Sulfatreduzierer dominieren. Begründen lässt sich dieser Effekt mittels der Monod-Kinetik (Gleichung 1).

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{c_{\text{Substrat}}}{K_{\text{Substrat}} + c_{\text{Substrat}}} \quad (1)$$

Durch unterschiedliche Halbwertskonstanten K_{Substrat} wird bei geringen Substratkonzentrationen die maximale Differenz der Wachstumsraten erzielt. Mit Versuchsdaten von

VISSEER et al. (1993) verdeutlicht diesen Zusammenhang Abbildung 1. Prinzipiell scheint dieser Effekt auch bei den anderen Substraten vorzuliegen.

2.3 Symbiosen bei Mischkulturen

Für den Umsatz von Methanol werden in der Literatur verschiedene Stoffwechselwege diskutiert. Im einfachsten Fall kann Methanol direkt durch Sulfatreduzierer verwertet werden (Variante A in Abbildung 2; MEIER 2001).

Dagegen kamen PHELPS et al. (1985) bei Untersuchungen an einer Mischkultur aus *Methanocarcina barkeri* und *Desulfovibrio vulgaris* zu dem Ergebnis, dass der Methanolumsatz durch die Methanbildner erfolgte und die Sulfatreduzierer auf Wasserstoff, der von den MPB abgegeben wird, angewiesen sind (Variante B in Abbildung 2). Eine direkte Verwertung von Methanol war für *Desulfovibrio vulgaris* nicht möglich.

Die in Abbildung 2 dargestellte Variante C wurde von CORD-RUWISCH & OLLIVIER (1986) diskutiert. Bei deren Untersuchungen wurde Methanol vom Acetatbildner *Sporomusa acidovorans* verstoffwechselt, wobei als Zwischenprodukt Wasserstoff anfällt. In Co-Kultur mit SRB (*Desulfovibrio vulgaris*) und MPB (*Methanobacterium formicicum*, *Methanospirillum hungatei*) wurde das Zwischenprodukt Wasserstoff verbraucht. In Folge der größeren Wasserstoff-

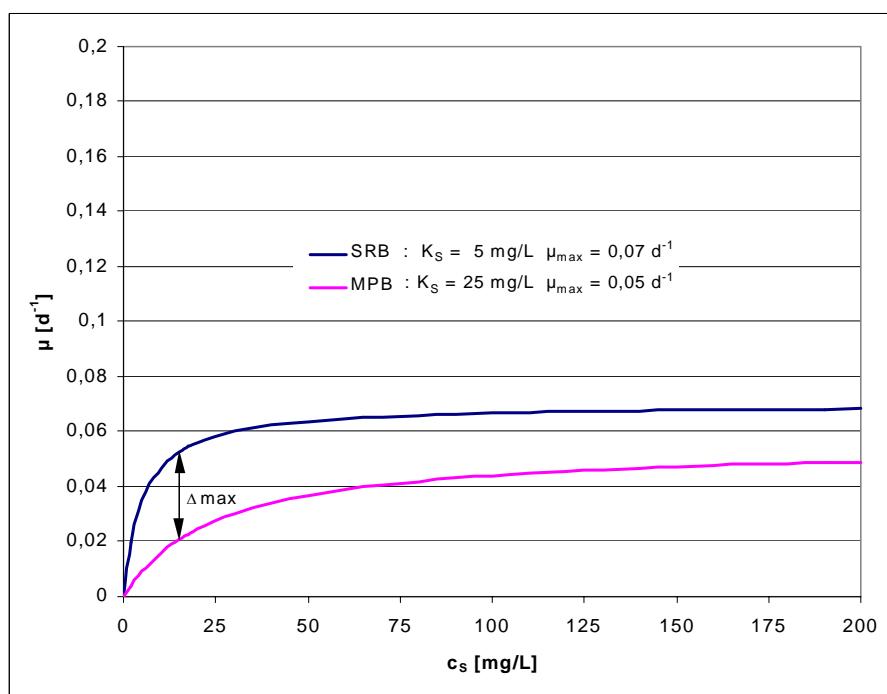


Abb. 1: Vergleich der Wachstumsraten von acetatverwertenden SRB und MPB (VISSEER et al. 1993).

Affinität von *Desulfovibrio vulgaris* war der Wasserstoffverbrauch vollständig, so dass kein Acetat mehr gebildet werden konnte. In Co-Kultur mit den MPB blieb eine geringe Acetatabbildung bestehen.

3 Methoden

Versuchsaufbau und –durchführung sind in PREUß (2004) ausführlich beschrieben. Es wurde Wasser aus dem Tagebausee 111 (bei Lauchhammer) verwendet. Das dreistufige Behandlungsverfahren umfasst die Prozessschritte:

- Eisenlösung und- reduktion,
- Sulfatreduktion mit simultaner Eisensulfidfällung,
- Fällung der restlichen Sulfide als Eisensulfid.

Die nachfolgenden Betrachtungen beziehen sich auf die zweite Stufe (Sulfatreduktion). Die dafür eingesetzten Festbettreaktoren wiesen ein Bettvolumen von 35 Litern bei 2 m Betthöhe auf. Alle Säulen wurden abwärts durchströmt. Die Beaufschlagung mit Wasser aus dem RL 111 und die Dosierung des Substrates erfolgten mit Schlauchpumpen.

Die verwendete Nährlösung wurde aus Methanol, Ammoniumchlorid und Diammonium-

hydrogenphosphat hergestellt, wobei das C : N : P-Verhältnis überwiegend bei 600 : 7 : 1 lag.

Zur Bewertung der Stoffumsätze wurden bei Erreichen quasi-stationärer Verhältnisse aus den Zu- und Abläufen der Reaktoren Proben auf die folgenden Parameter analysiert:

Säureverbrauch bis pH 4,3 ($K_{S4,3}$), Eisen(II), Gesamteisen, Mangan, Aluminium, Sulfat, Gesamtsulfid, gelöster organischer Kohlenstoff (DOC), gelöster anorganischer Kohlenstoff (DIC), gesamter organischer Kohlenstoff (TOC), gesamter anorganischer Kohlenstoff (TIC) sowie die Hauptan- und –kationen.

Bei der vom Reaktorkopf abgeführten Gasphase wurden die Parameter Methan, Kohlendioxid, Sauerstoff und Schwefelwasserstoff bestimmt. Die Messung des Gasvolumenstroms erfolgte mit Trommelgaszählern.

Die Versuche wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

4 Ergebnisse

Mit der Einarbeitung der Reaktoren wurde ein Umsatzniveau bezüglich Sulfat um 0,05 mmol/(L·h) erreicht, das im weiteren Versuchsverlauf stagnierte bzw. leicht rückläufig war. Begleitend entwickelte sich eine Gasbil-

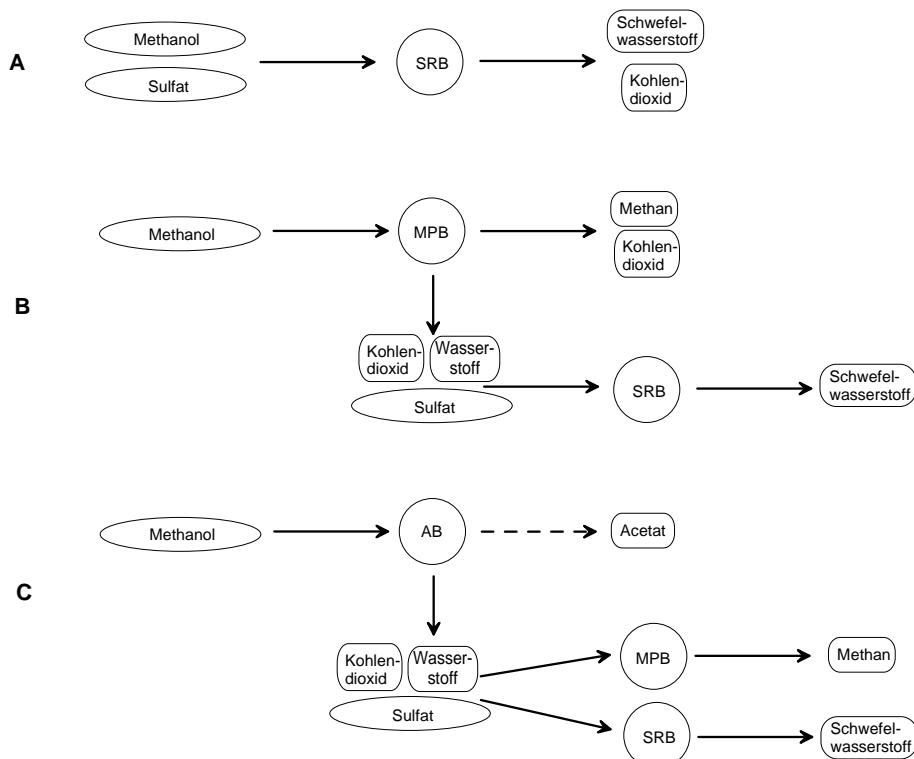


Abb. 2: Mögliche Stoffwechselwege bei dem Umsatz von Methanol.

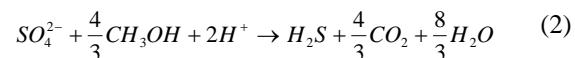
dung, die durchschnittlich einen Methangehalt von 70 % erreichte, was der zunehmenden Aktivität methanbildender Bakterien geschuldet war. Das ist insofern überraschend, da Methanogene eine sehr geringe Toleranz bezüglich des pH-Bereiches aufweisen. Allgemein wird ein Bereich von pH 6,8 bis 7,5 mit einer sehr starken Einschränkung der Stoffwechseltätigkeit bei pH-Werten unter 6,5 angegeben (BÖHNKE 1993 et al.). Das pH-Niveau im Versuchsbetrieb lag ständig unter 6,5, meist um 6,2. In der Literatur wird lediglich die Spezies *Methanosarcina barkeri* beschrieben, die bei pH-Werten unter 6,5 zur Methanbildung befähigt ist und Methanol verwerten kann (BÖHNKE 1993 et al.; KUSCHK 1984).

Das verzögerte Auftreten der Methanogenen lässt auf geringere Wachstumsgeschwindigkeiten im Vergleich zu den Sulfatreduzierern schließen. WEIJMA et al. (2002) schlagen deshalb vor, durch kurzzeitige Veränderung der Prozessbedingungen (z. B. Absenken des pH) den Wachstumsvorteil der SRB zu nutzen und dadurch die Methanbildung auf ein Mindestmaß zu reduzieren. Im Ergebnis der eigenen Versuche ist diese Strategie wenig zielführend, da in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von MEIER (2001) das Zellwachstum der Sulfatreduzierer erst bei pH-Werten > 6,0 einsetzte. Weiterhin erfordert die simultane Eisensulfidfällung in Folge der Dissoziation des Schwefelwasserstoffs ebenfalls pH-Werte über 6,0.

Durch die begrenzte Löslichkeit von Eisen(II)

erfolgte die Eisensulfidfällung in der zweiten Prozessstufe nur unvollständig. Die Restkonzentrationen an gelöstem Gesamtsulfid lagen meist im Bereich um $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, erreichten aber auch Werte bis zu $170 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Eine Hemmung der mikrobiellen Aktivitäten durch Schwefelwasserstoff/Sulfid konnte im gesamten Versuchszeitraum nicht festgestellt werden. Bei einer Prozessführung ohne simultane Eisensulfidfällung könnten bei dem verwendeten Rohwasser maximal Sulfidkonzentrationen um $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ erreicht werden. Ob in diesem Konzentrationsbereich eine Einflussnahme auf die Konkurrenzbeziehung möglich ist, kann auf Grundlage von Literaturangaben nicht sicher eingeschätzt werden und wurde im Versuch noch nicht überprüft.

Der Gesamtumsatz des organischen Kohlenstoffs konnte in guter Näherung entsprechend der Reaktionsgleichungen 2 und 3 bestimmt werden.



Eine Erhöhung der Nährstoffdosierung hatte keine Auswirkungen auf den Sulfatumsatz sondern wurde vorrangig durch die Methanogenen verbraucht. In der Umkehrung lies sich der Anteil der Methanbildung minimieren, wenn die Substratdosierung im stöchiometrisch erforderlichen Bereich der Desulfurikanten erfolgte.

Eine deutliche Steigerung des Sulfatumsatzes bewirkte die spezifische Hemmung der Methanogenen durch die Zugabe von 2-

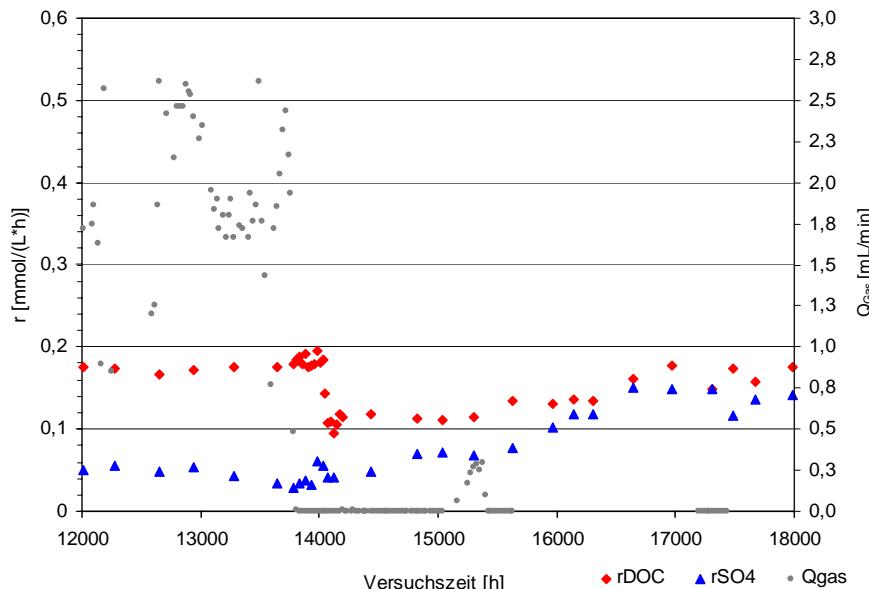


Abb. 3: Entwicklung von DOC- / Sulfatumsatzgeschwindigkeit und Gasbildung bei Zugabe von BES.

Bromethansulfonsäure (BES). Den Wirkungsmechanismus dieses spezifischen Inhibitors beschreiben OREMLAND & CAPONE (1988). BES stellt ein Strukturanalogen des Coenzym M dar, welches ausschließlich bei Methanogenen vorkommt.

Wie Abbildung 3 zeigt, kam mit der BES-Zugabe zum Zeitpunkt 13765 Versuchsstunden die Gasbildung schlagartig zum Erliegen. In unmittelbarer Folge sank der DOC-Umsatz und sukzessive stieg die Umsatzgeschwindigkeit für Sulfat an. Damit wurde ebenfalls deutlich, dass es sich im untersuchten System um keine symbiotische Beziehung gemäß Variante B in Abbildung 2 handelte.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Die Verwendung von Methanol als Energie- und Kohlenstoffquelle für die mikrobielle Sulfatreduktion ist in Bezug auf Kosten und Handhabung im Vergleich zu anderen Substraten als vorteilhaft zu bewerten. Die Aktivität der Desulfurikanten wurde bei den vorgestellten Versuchen durch methanbildende Bakterien deutlich beschränkt. Die Methanbildung lies sich durch Einsatz des spezifischen Inhibitors 2-Bromethansulfonsäure vollständig unterdrücken. Für eine technische Anlage dürfte der Einsatz von BES jedoch nicht genehmigungsfähig sein. Ob über die Konzentration an Schwefelwasserstoff die Aktivität der Methanogenen gesteuert werden kann, soll mit weiteren Untersuchungen überprüft werden.

Als Alternative bleibt der Einsatz von Substraten, die den Methanogenen nicht zugänglich sind. Eigene Versuche, z. B. mit Molke, verliefen in Bezug auf den Sulfatumsatz sehr erfolgreich. Allerdings wird dann eine Nachreinigung der nicht umgesetzten Nährstoffe erforderlich.

6 Danksagung

Die vorgestellten Untersuchungen sind ein Teilkomplex eines dankenswerter Weise von der Deutschen Bundesstiftung Umwelt geförderten Forschungsverbundes (AZ 19296) zwischen dem UFZ Leipzig/Halle, Sektion Gewässerforschung Magdeburg, dem GKSS-Forschungszentrum Geesthacht und dem Lehrstuhl Wassertechnik und Siedlungswasserbau der BTU Cottbus.

7 Literatur

- BÖHNKE B., BISCHOFSSBERGER W., SEYFRIED C.F. (1993): Anaerobtechnik. Berlin, Heidelberg (Springer-Verlag).
- CHOI E., RIM J.M. (1991): Competition and inhibition of sulfate reducers and methane producers in anaerobic treatment. – *Wat. Sci. Tech.*, **23**: 1259—1264.
- CORD-RUWISCH R., OLLIVIER B. (1986): Interspecific hydrogen transfer during methanol degradation by *Sporomusa acidovorans* and hydrogenophilic anaerobes. – *Arch. Microbiol.*, **144**: 163—165.
- FOUCHER S., BATTAGLIA-BRUNET F., IGNATIADIS I., MORIN D. (2001): Treatment by sulfate-reducing bacteria of Chessy acid-mine drainage and metals recovery. – *Chem. Eng. Sci.*, **56**: 1639—1645.
- GLOMBITZA F. (2001): Treatment of acid lignite mine flooding water by means of microbial sulfate reduction. – *Waste Management*, **21**: 197—203.
- HANSELMANN K.W., KAISER J.P., WENK M., SCHÖN R., BACHOFEN R. (1995): Growth on methanol and conversion of methoxylated aromatic substrates by *Desulfotomaculum orientis* in the presence and absence of sulfate. – *Microbiol. Res.*, **150**: 387—401.
- KUSCHK P. (1984): Die Methanbakterien. – *Wissenschaft und Fortschritt*, **34**: 288—291.
- MEIER J. (2001): Untersuchungen zum mikrobiellen Schwefelkreislauf in sauren Tagebau-Restseen der Niederlausitz (Brandenburg). – UFZ-Bericht Nr. 21/2001.
- OMIL F., OUDE ELFERINK S.J.W.H., LENS P., HULSHOFF POL L.W., LETTINGA G. (1997): Effect of the inoculation with *Desulforhabdus Amnigenus* and pH or O₂ shocks on the competition between sulphate reducing and methanogenic bacteria in an acetate fed UASB reactor. – *Biores. Technol.*, **60**: 113—122.
- OREMLAND R.S., CAPONE D.G. (1988): Use of “specific” inhibitors in biogeochemistry and microbial ecology. – *Advances in Microbial Ecology*, **10**: 285—383.
- PHELPS T.J., CONRAD R., ZEIKUS J.G. (1985): Sulfate-dependent interspecies H₂ transfer between *Methanosarcina barkeri* and *Desulfovibrio vulgaris* during coculture metabolism of acetate or methanol. – *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**(3): 589—594.
- PREUß V. (2004): Entwicklung eines biochemischen Verfahrens zur Aufbereitung sulfathaltiger Wässer am Beispiel der Entsäuerung schwefelsaurer Tagebausseen. – Cottbus, 2004. – (Schriftenreihe Siedlungswasserwirtschaft und Umwelt: Heft 9). Zugl.: Cottbus, Univ., Diss., 2004.

- SCHÖPKE R., KOCH R. (2002): Experimentelle und modellgestützte Entwicklung von Verfahren der geochemischen Grundwasser- und Untergrundbehandlung zur Gefahrenabwehr im Nordraum des Senftenberger Sees. – In: DENEKE R., NIXDORF B. (Hrsg.): Gewässerreport (Nr.7). – Cottbus, 2002. – (Aktuelle Reihe der BTU Cottbus Fak. Umweltwissenschaften und Verfahrenstechnik: Heft 3/2002).
- STUCKI G., HANSELMANN K.W., HÜRZELER R.A. (1993): Biological Sulfuric Acid Transformation: Reactor Design and Process Optimization. – *Biotechnol. Bioeng.*, **41**: 303—315.
- TSUKAMOTO T.K., MILLER G.C. (1999): Methanol as a carbon source for microbial treatment of acid mine drainage. – *Wat. Res.*, **33**(6): 1365—1370.
- VAN HOUTEN R.T., HULSHOFF POL L.W., LETTINGA G. (1994): Biological sulphate reduction using gas-lift reactors fed with hydrogen and carbon dioxide as energy and carbon source. – *Biotechnol. Bioeng.*, **44**: 586—594.
- VISSEER A., BEEKSMA I., VAN DER ZEE F., STAMS A.J.M., LETTINGA G. (1993): Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulphate concentrations. – *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **40**: 549—556.
- WEIJMA J., BOTS E.A.A., TANDLINGER G., STAMS A.J.M., HULSHOFF POL L.W., LETTINGA G. (2002): Optimisation of sulphate reduction in a methanol-fed thermophilic bioreactor. – *Wat. Res.*, **36**: 1825—1833.