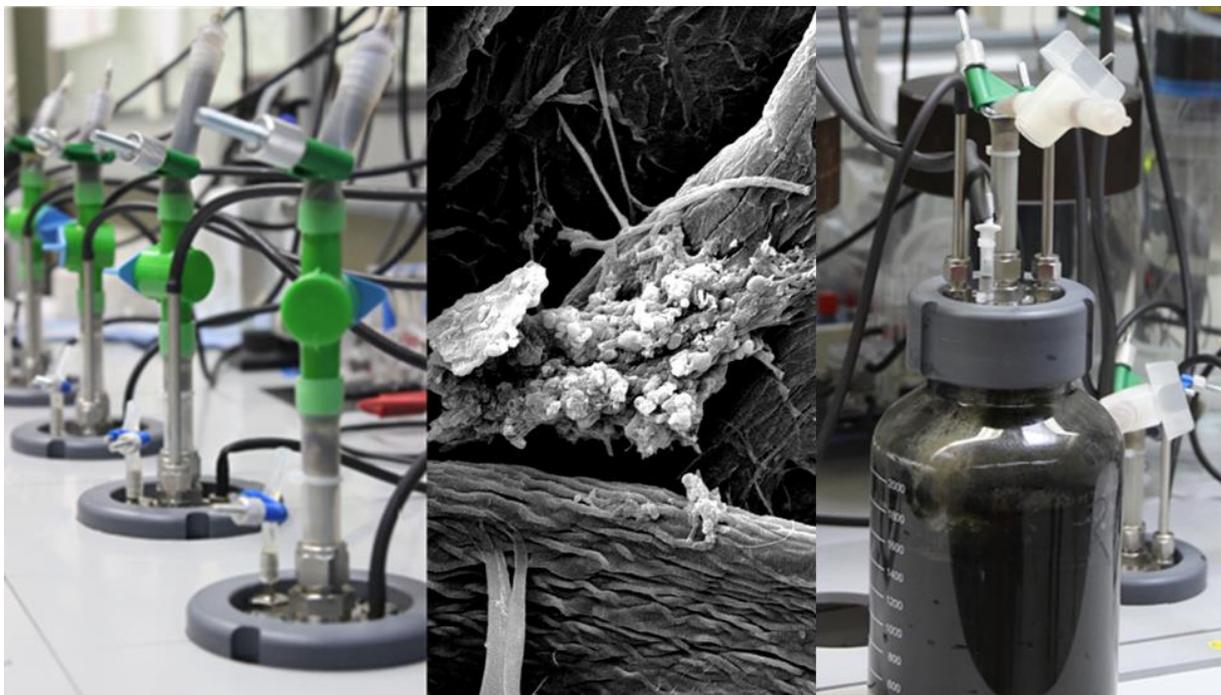


Projekt 2014-05

## ARTHYMES

(ARCHAEA TRANSFORM HYDROGEN TO METHANE FOR  
ENERGY STORAGE)

## Abschlussbericht



Prof. Dr. rer. nat. Christiane Zell  
Prof. Dr.-Ing. Ulrich Hochberg  
Annika Bauer, M.Sc.  
Katharina Haas, B.Sc.

Erstellungsdatum: Mai 2016

# Inhalt

<b>1. Zusammenfassung</b>	<b>4</b>
<b>2. Einführung</b>	<b>5</b>
2.1. Ausgangslage	5
2.2. Zielstellung	8
<b>3. Wissenschaftliche und technische Herausforderungen</b>	<b>9</b>
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>11</b>
<b>4.1. Entwickelte Reaktorsysteme</b>	<b>11</b>
4.1.1. Vorbedingungen und Vorgehensweise	11
4.1.2. Entwickelte Teststände	12
<b>4.2. Versuchsreihen zur biologischen Methanisierung</b>	<b>24</b>
4.2.1. Vorversuch zum Test verschiedener Begasungsarten	24
4.2.2. Entwicklung eines standardisierten Mediums für Biogasreaktoren	26
4.2.3. Biologische Methanisierung durch regulierte Membranbegasung im KTR	28
4.2.4. Biologische Methanisierung durch regulierte Membranbegasung im Laborteststand C	30
<b>5. Diskussion und Ausblick</b>	<b>37</b>
<b>6. Experimenteller Teil</b>	<b>40</b>
<b>6.1. Laborteststände und Versuchsdurchführungen</b>	<b>40</b>
Laborteststand R	40
Laborteststand C	40
KTR	41
Membranmodule	41
Ansetzen der Reaktoren	42
Medien	43
<b>6.2. Messtechnik</b>	<b>46</b>
Flüssigphase	46
Gasphase	55
<b>6. Öffentlichkeitsarbeit</b>	<b>57</b>
<b>2016</b>	<b>57</b>
Vorträge	57
Publikationen	57
Poster	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
<b>2015</b>	<b>57</b>
Publikationen	57
Abschlussarbeiten	57
Presse	57
<b>2014</b>	<b>58</b>
Publikationen	58

Abschlussarbeiten	58
<b>Literatur</b>	<b>59</b>
<b>Anlage A: Projekterkenntnisse</b>	<b>61</b>
<b>Anlage B: CD-Rom mit Originalmesswerten</b>	<b>62</b>

# 1. Zusammenfassung

Die Methanisierung von elektrolytisch aus Überschussstrom erzeugtem Wasserstoff ist von wesentlicher Bedeutung für den zukünftigen Einsatz von Power-to-Gas (PtG). Nur in Form von Methan kann die Überschussenergie unbegrenzt im derzeit einzigen für die Energiewende ausreichenden Speicher, dem Erdgasnetz, gespeichert (und sogar transportiert) werden. Bislang ist der Methanisierungsschritt jedoch wenig wirtschaftlich. Insbesondere bei der bisher kaum erforschten biologischen Methanisierung besteht noch erhebliches Potential zur Prozessoptimierung. Ziel von ARTHYMES war es daher, neue Ansätze für die biologische Methanisierung zu finden und diese in der Praxis zu testen.

Bei dem ausgewählten Projektansatz von ARTHYMES findet die biologische Methanisierung direkt in Biogasanlagen statt. Vorteilhaft ist hierbei, dass keine zusätzlichen Methanisierungseinheiten erforderlich sind. Zudem wird hier unmittelbar das im Biogasprozess entstehende und im konventionellen Prozess nicht umsetzbare Kohlendioxid verwendet. Somit fallen auch keine Kosten für Aufreinigung/Abtrennung und Transport von externem Kohlendioxid an. Des Weiteren reduziert die anfallende Abwärme der Methanisierungsreaktion den Heizbedarf der Biogasanlage.

Während der Projektlaufzeit wurden spezielle Biogasreaktorteststände für eine solche biologische in situ-Methanisierung entwickelt und für den geplanten Einsatz getestet. Dabei konnte durch Zufuhr von Wasserstoff über blasenfreie Membranbegasung eine Steigerung der Methankonzentration im Rohbiogas von 50 % auf 80-90 % problemlos erreicht werden. Im störungsfreien Betrieb wurde der eingebrachte Wasserstoff dabei nahezu vollständig umgesetzt und die Wasserstoffkonzentration im Produktgas blieb unter 3 %. Eine weiter gesteigerte Wasserstoffzufuhr führte zwar zu noch höheren Methangehalten von ca. 98 %, allerdings stieg dabei der pH-Wert durch den vollständigen Verbrauch des CO<sub>2</sub> auf Werte über 8,3, so dass es zu einer Inhibierung der Mikrobiologie kam.

Entscheidend für eine vollständige Umsetzung des Wasserstoffs bei Membranbegasung war ein blasenfreier Eintrag. Mit einer vorgegebenen Membranoberfläche konnte bei festgelegter Membrananordnung, Durchmischung und Mikroorganismenkonzentration nur eine definierte Menge an Wasserstoff ohne Blasenbildung eingetragen werden. Entsprechend der Stöchiometrie der Methanisierungsreaktion ergab sich hieraus die Kohlendioxidmenge und damit die maximal mögliche Raumbeladung für eine vollständige Umsetzung. Bei der Überschreitung eines Grenzwerts kam es zum Auftreten von Wasserstoff in der Gasphase.

Die Projektergebnisse zeigen das hohe Potential der biologischen in situ-Methanisierung durch Membranbegasung. Bereits die Erhöhung der Methankonzentration im Biogas auf 80-90 % stellt einen Mehrwert für die Biogaserzeugung dar. Konventionelles Substrat wird eingespart. Bei Einspeisung ins Erdgasnetz werden Aufreinigungskosten deutlich reduziert.

Mit pH-Regulation bzw. Pufferung sind auch stabil erzeugbare Methankonzentrationen von nahezu 100 % denkbar. Dies muss jedoch in weiterführenden Versuchsreihen getestet werden. Ein Ansatz hierfür ist z. B. die bedarfsgerechte Zufütterung von saurer Molke als Cosubstrat.

Weiter zu testen ist auch noch, inwieweit sich die benötigte Membranoberfläche durch bessere Verteilung der Membranen im Reaktor, eine bessere Durchmischung und eine Erhöhung der Mikroorganismenkonzentration reduzieren lässt.

Für die ersten Membranbegasungstests wurden zunächst hochgasdurchlässige, relativ teure Membranen eingesetzt. Unter Beachtung der Grenzen für die blasenfreie Begasung sind jedoch auch kostengünstigere Membranen geeignet. Da die Membranen kaum Biofilmbildung zeigten, sollte auch ein Langzeiteinsatz entsprechend robuster Membranen möglich sein. Daher sollten für die Realisierung eines wirtschaftlichen Einsatzes preisgünstige Membranen auch in Langzeituntersuchungen getestet werden.

Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse sollte ARTHYMES weitergeführt werden. In einem zweiten Projektteil können noch offenen Fragen geklärt und die biologische in situ-Methanisierung in Biogasanlagen zur Marktreife weiterentwickelt werden.

## 2. Einführung

### 2.1. Ausgangslage

Zu den wichtigsten Herausforderungen der globalen Energiesysteme zählen die Reduktion von Treibhausgasen und die Gewährleistung einer verlässlichen und dauerhaften Energieversorgung.

Um die Energie von erneuerbaren Energiequellen in vollem Umfang zu nutzen, müssen Produktion und Nachfrage aneinander angepasst werden. Gerade volatile Energieträger repräsentieren jedoch schwankende Energiequellen, die teilweise gegenläufig zu den Lasten durch die Konsumenten laufen (Abbildung 1).

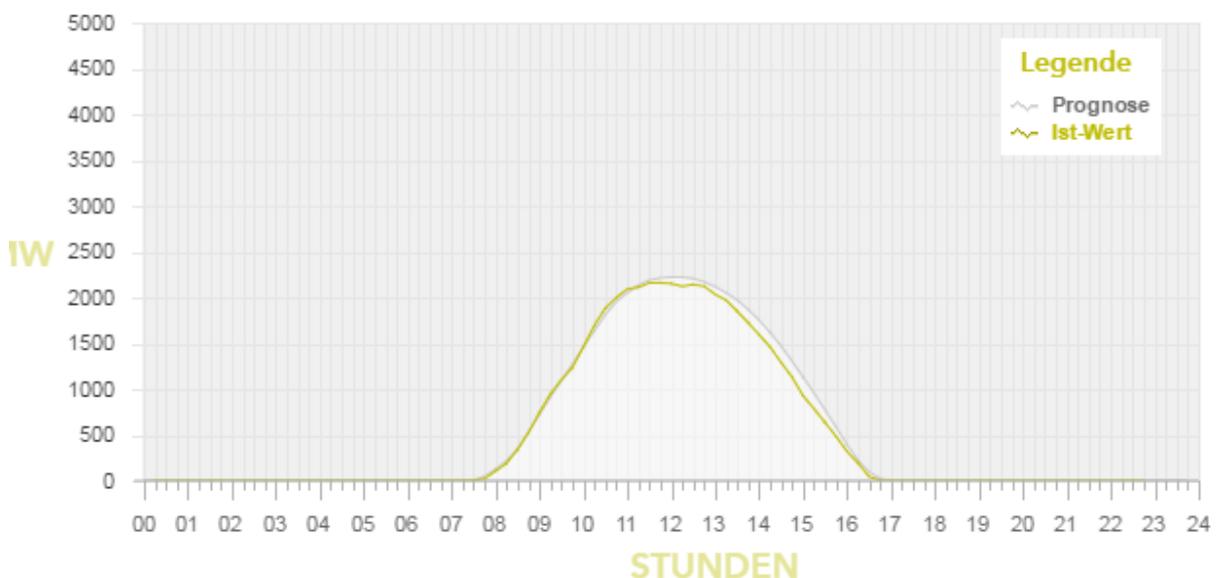


Abbildung 1 Fotovoltaik-Einspeisung und Prognose vom 10.11.2015 (TransnetBW, 2015).

Eine Lösung dieses Problems stellen Stromspeicher dar, die (saisonal anfallenden) Überschussstrom aufnehmen und bei Bedarf diesen Strom wieder ins Netz einspeisen können. Die derzeit verfügbaren Speicher sind dafür jedoch nicht ausreichend. Deutsche Pumpspeicherkraftwerke besitzen Kapazitäten zwischen 0,04 TWh und 0,06 TWh, 2,4 Millionen Elektroautos haben in etwa die gleiche Speicherkapazität. Benötigt werden aber bis 2050 15 TWh. Das Erdgasnetz mit seiner Speicherkapazität von 200 TWh stellt bereits zum heutigen Tage einen ausreichenden Speicher zur Verfügung (Bensmann, 2013).

Hier setzen die Power-to-Gas (PtG-) – Verfahren an. Dabei wird anfallender Überschussstrom zur elektrolytischen Wasserstoffproduktion verwendet und dieser dann nach Formel 1 **chemisch – katalytisch** über den Sabatier-Prozess oder **biologisch** in Methan umgewandelt.



Methan hat nicht nur eine ca. dreifach höhere volumetrische Energiedichte als Wasserstoff, sondern lässt sich – im Gegensatz zu Wasserstoff - unbegrenzt im Erdgasnetz speichern. Auf diese Weise steht die ganze Kapazität des Erdgasnetzes zur Speicherung von Überschussstrom zur Verfügung. Bei erhöhter Stromnachfrage kann das gespeicherte Methan jederzeit wieder verstromt werden. Ansonsten kann es auch als Wärmequelle oder als Kraftstoff genutzt werden. Zudem kann die Energie in dieser Form auch über das Erdgasnetz transportiert werden.

Der Entwicklungsstand und ein Vergleich der verschiedenen Verfahren zur Methanisierung findet sich bei Frank Graf et al. (2014).

Die **chemisch-katalytische Methanisierung** von Wasserstoff und CO<sub>2</sub> zu Methan findet in einem Temperaturbereich von 300-550°C und bei Drücken höher als 10 bar statt. Es werden relativ reine CO<sub>2</sub>-Gasströme benötigt, da die verwendeten Katalysatoren (meist Nickel) nur eine geringe Toleranz gegenüber Spurenstoffen (z. B. Schwefelverbindungen, Siloxane) aufweisen. Die Toleranz gegenüber Lastwechseln wird als gering beschrieben. Dafür können vergleichsweise hohe Methanbildungsraten erreicht werden. Da die Abwärme auf einem hohen Temperaturniveau anfällt, kann sie z. B. zur Deckung des Strombedarfs oder zur CO<sub>2</sub>-Abscheidung genutzt werden.

Bei der **biologischen Methanisierung** erfolgt die Methanisierung mit Hilfe von verschiedenen wasserstoffverwertenden Mikroorganismen meist im mesophilen Temperaturbereich zwischen 40 und 70°C und bei Umgebungsdruck, wodurch der Energiebedarf deutlich geringer ist. Insbesondere die hohe Flexibilität gegenüber Lastwechseln ist im Hinblick auf einen Einsatz für die Stromspeicherung günstig. Die Abwärme, die hier auf einem geringeren Temperaturniveau anfällt, kann z. B. zur Heizung der Biogasfermenter genutzt werden.

Im Vergleich zur chemisch - katalytischen Methanisierung, die bereits kommerziell eingesetzt wird, befindet sich die biologische Methanisierung noch in einem früheren Entwicklungsstadium.

Die bislang **größte Herausforderung bei der biologischen Methanisierung** liegt im Phasenübergang des gasförmigen Wasserstoffs in die flüssige Fermentationsbrühe. Aufgrund der schlechten Löslichkeit des Wasserstoffs in wässrigen Medien sind konventionelle Verfahren zur Begasung hier ungeeignet, da der Wasserstoff dabei nur in geringem Maße für die Mikroorganismen verfügbar ist und zu einem erheblichen Teil ungenutzt mit dem Prozessgas ausgetragen wird.

Daher steht bei den verschiedenen Forschungs- und Entwicklungsansätzen der biologischen Methanisierung insbesondere auch diese Problematik im Fokus. Burkhardt et al. (2015) sowie Dröge et al. (2015) untersuchten Rieselbettreaktoren. Bei diesem Reaktortyp muss das Gas mehrfach zirkuliert werden, um hohe Methankonzentrationen zu erhalten. Demnach müssen mehrere Reaktoren parallel betrieben werden, um eine nach außen kontinuierliche Betriebsweise zu gewährleisten. Bei Rührreaktoren kommen verschiedene Konzepte zum Einsatz. Bei Electrochaea GmbH (Hafenbrandl, 2015) wird ein 9 Meter hoher, schmaler Rührreaktor mit einem Fassungsvermögen von 3300 Litern genutzt, um die biologische Methanisierung mit Hilfe einer Reinkultur von methanogenen Archaeen zu realisieren. Auf diese Weise konnten  $850 \text{ m}^3/(\text{m}^3\text{d})$  Biogas mit einer Methankonzentration von 98 % hergestellt werden.

Nur in wenigen Forschungsprojekten wird das  $\text{CO}_2$  **direkt am Entstehungsort (in situ)** für die Methanisierung genutzt. Da hierbei keine Kosten für  $\text{CO}_2$ -Aufreinigung, Transport, Speicherung, Zufuhr etc. anfallen, sollten sich erhebliche Vorteile im Vergleich zu ex situ – Verfahren ergeben.

Insbesondere Biogasanlagen bieten sich für eine in situ-Methanisierung an. Konventionelles Rohbiogas besteht noch aus ca. 50 % Rest- $\text{CO}_2$ , das während des normalen anaeroben Abbaus nicht zu Methan umgesetzt wird.  $\text{H}_2$  hingegen tritt nur in geringeren Konzentrationen auf und ist daher – als essentielles Molekül für die Methanisierung – limitierend für die Methanausbeute.

Andererseits ist zu beachten, dass eine direkte Weiterverwertung des Wasserstoffs gewährleistet ist, da die ansonsten hohe Wasserstoffkonzentration die Energiegewinnung für die am anaeroben Abbau beteiligten syntrophen Bakterien thermodynamisch unmöglich macht (Schink 1997).

Die **biologische in situ-Methanisierung** wird beschrieben bei (Busch und Großmann 2010), (Bo et al. 2014; Tartakovsky und Serge 2011, Luo und Angelidaki 2013a, 2013b; Luo et al. 2012). Der Eintrag von Wasserstoff stellt auch hier erwartungsgemäß eine der größten Herausforderungen dar. Lösungsansätze stellen z. B. der Einsatz von Rieselbettreaktoren (Busch und Großmann 2010), eine in situ - Elektrolyse direkt im Biogasfermenter (Tartakovsky und Serge 2011) oder von Metallhydriden zum Wasserstoffeintrag (Graf 2011) dar. Insbesondere vielversprechend ist die blasenfreie Begasung über Hohlfasermembranen (Luo und Angelidaki 2013b).

Während die Einbringung des Wasserstoffs keinen erkennbaren Hemmeffekt auf den anaeroben Abbau zu haben scheint, könnte der bei der Methanisierung auftretende (und erwünschte)  $\text{CO}_2$ -Verbrauch ohne weitere Maßnahmen eine biologische Grenze für die Methanausbeute darstellen. Es kommt hierdurch zu einem pH-Anstieg, der ab Werten von 8,3 den mikrobiologischen Abbau hemmen kann (Luo und Angelidaki 2013a, 2013b; Luo et al. 2012). (Luo und Angelidaki 2013a) stabilisierten daher den pH-Wert auf  $< 8$  durch Co-Vergärung von saurer Molke.

Die Versuche zur biologischen in situ – Methanisierung beschränken sich alle bisher nur auf den Labormaßstab und es besteht noch erheblicher Entwicklungsbedarf.

## 2.2. Zielstellung

Aufbauend auf den vielversprechenden Ansätzen in der Literatur und eigenen Vorversuchen, sollte in dem durchgeführten Forschungsprojekt die biologische Methanisierung in situ in Biogasanlagen im Labormaßstab weiterentwickelt und in ersten technischen Anlagen getestet werden.

Die Methanisierung direkt in Biogasanlagen beinhaltet mehrere Vorteile:

- Als  $\text{CO}_2$  – Quelle dient unmittelbar das Rest- $\text{CO}_2$  des anaeroben Abbauprozesses. Es muss daher kein externes  $\text{CO}_2$  zugeführt werden. Im Gegensatz zu ex situ und/oder chemisch-katalytischen Verfahren fallen daher keine Transport- und Aufreinigungskosten für  $\text{CO}_2$  an.
- Am herkömmlichen Biogasprozess sind bereits wasserstoffverwertende (hydrogenotrophe) Archaeen beteiligt, welche die gewünschte Reaktion durchführen. Es sind keine speziellen Kulturen/Katalysatoren oder zusätzliche Prozessschritte notwendig.
- Durch die Nutzung des beim anaeroben Abbau entstehenden Rest -  $\text{CO}_2$  entsteht ein Produktgas mit hohem Methan- und nur noch geringem  $\text{CO}_2$ -Anteil. Die für eine Netzeinspeisung notwendige, aufwändige  $\text{CO}_2$ -Abtrennung in separaten Aufbereitungsanlagen kann (größtenteils) entfallen.
- Mit der bei der biologischen Methanisierung anfallenden Abwärme wird der Heizbedarf der Biogasanlage reduziert.
- Indem durch Wasserelektrolyse mit Überschussstrom Wasserstoff als Co - Substrat in Biogasanlagen eingesetzt wird, kann somit nicht nur die Überschussenergie in Form von Methan auch langfristig in der vorhandenen Erdgasinfrastruktur gespeichert werden, sondern es kommt gleichzeitig auch zu einer Verringerung des Bedarfs an konventionellen Substraten für die Biogaserzeugung. Die Emissionen des Treibhausgases  $\text{CO}_2$  werden minimiert.

Da sich die biologische in situ-Methanisierung bisher weltweit nur auf wenige Forschungsprojekte und Versuchsanlagen beschränkt, musste ein Verfahrenskonzept entwickelt werden, das die Besonderheiten der Mikrobiologie des anaeroben Abbaus (v. a. langsame Wachstumsraten der wasserstoffverwertenden Archaeen, mögliche Inhibierung des anaeroben Abbaus durch hohe Wasserstoffpartialdrücke) und der Verfahrenstechnik (geringe Wasserlöslichkeit des Wasserstoffs) bei der Verwendung von Wasserstoff als Co - Substrat berücksichtigt. In allen Phasen der Entwicklung sollten zudem Aspekte für einen möglichst wirtschaftlichen Anlagenbetrieb einfließen.

### 3. Wissenschaftliche und technische Herausforderungen

Für die Projektdurchführung mussten zunächst geeignete Teststände konstruiert werden. Anschließend sollten dann Versuchsparameter und -bedingungen in Testreihen optimiert werden. Die Umsetzung gliederte sich daher in die Teilabschnitte Entwicklung der Reaktorsysteme (Kapitel 4.1) und die eigentlichen Testreihen (Kapitel 4.2.).

Insbesondere standen folgende Aufgabenstellungen und Herausforderungen im Focus:

Substrat:

- Um den Einfluss der Wasserstoffzugabe eindeutig bestimmen zu können, sollten die Versuche unter Standardbedingungen durchgeführt werden. Anstelle von relativ stark in der Zusammensetzung variierenden Realsubstraten sollte daher zunächst ein möglichst genau definiertes, standardisiertes Substrat eingesetzt werden. Eine Herausforderung dabei war, dass die genauen Nährstoffbedürfnisse der Biogasmikrobiologie für einen stabilen Langzeitbetrieb bisher nicht bekannt sind. In einem Vorversuch vor Projektbeginn konnten mit einem in der Literatur für die Herstellung von Fettsäuren aus Wasserstoff und Kohlendioxid verwendeten, genau definierten Substrat die Biogasreaktoren nur temporär stabil betrieben werden. Für die geplanten Versuchsreihen zur biologischen Methanisierung musste daher erst ein für den Langzeitbetrieb besser geeignetes, standardisiertes Medium entwickelt werden.

Automatisierung:

- Da der manuelle Betrieb von Biogasreaktoren sehr zeit- und personalaufwändig ist, sollten die Reaktorteststände so weit als möglich automatisiert sein.

Analytik:

- Für die geplanten, teilweise speziellen Analysen in Gas- und Flüssigphase mussten entsprechende Methoden neu etabliert bzw. weiterentwickelt werden:
  - o In der Gasphase sollten Gasvolumenströme und Gaszusammensetzungen bestimmt werden. Hierbei musste die Querempfindlichkeit von Wasserstoff mit anderen zu messenden Gasen berücksichtigt werden, so dass übliche Standardverfahren zur Messung der Biogaszusammensetzung nur begrenzt eingesetzt werden konnten.
  - o In der Flüssigphase sollten zur Prozessüberwachung standardmäßig Flüchtige Organische Säuren (FOS), Totaler Anorganischer Kohlenstoff (TAC) und pH gemessen werden. Zu Beginn jedes Versuchsansatzes sollten zudem die Trockensubstanz (TS) sowie die organische Trockensubstanz (oTS) bestimmt werden. Redoxpotential, pH-Wert und Gelöstwasserstoff sollten zur Verfahrensvereinfachung möglichst automatisch und online gemessen werden.

Zudem sollte mit Hilfe mikrobiologischer Analysen der Einfluss der Wasserstoffzugabe auf die Gesamtarchaenpopulation, insbesondere aber auf die wasserstoffverwertenden Archaeen untersucht werden.

#### Wasserstoffeintragungssystem

- Wie bereits unter 2.1. ausgeführt, stellt die schlechte Löslichkeit von Wasserstoff in wässrigen Medien eine besondere Herausforderung bei der biologischen Methanisierung dar. Bei zu geringen Verweilzeiten des Wasserstoffs in der flüssigen Phase kann keine ausreichende Umsetzung durch die Mikrobiologie erfolgen und der Wasserstoff wird ungenutzt mit dem Produktgas ausgetragen. Ein Schwerpunkt des Projekts lag daher auch auf der Entwicklung eines geeigneten Wasserstoffeintragungssystems.

## 4. Ergebnisse

Im Rahmen des zweijährigen Projektes wurde eine Vielzahl an Untersuchungen durchgeführt und umfangreiche Messdaten erhoben. Im Ergebnisteil sind nur die wichtigsten projektrelevanten und auswertbaren Ergebnisse dargestellt. Weitere Versuchsergebnisse und Messdaten können der Anlage entnommen werden.

### 4.1. Entwickelte Reaktorsysteme

#### 4.1.1. Vorbedingungen und Vorgehensweise

##### Beschaffung und Bau von geeigneten Testständen

Im Projekt ARTHYMES wurden drei verschiedene Teststände eingesetzt. Ein Reaktorteststand, (Reaktorteststand R) mit 6 x 2 L Glasreaktoren war bereits vor Projektbeginn vorhanden und wurde zur Bearbeitung der Fragestellung entsprechend umgebaut. Zwei weitere Teststände, Laborteststand C mit 6 x 2 L Glasreaktoren und ein kleiner Technikumsreaktor (KTR) mit einem 1 x 5 L – Kunststoffreaktor, wurden selbst gebaut und automatisiert.

##### Substrat

Aus den in Kapitel 3 beschriebenen Gründen sollte ein möglichst genau definiertes Standardsubstrat verwendet werden. Da sich in Vorversuchsreihen gezeigt hatte, dass mit einem in der Literatur beschriebenen definierten Substrat ein Betrieb von Biogasreaktoren nur temporär ohne Wachstumslimitierung möglich ist, wurden in einer Versuchsreihe verschiedene definierte Medien auf Eignung für den Langzeitbetrieb getestet (vgl. 4.2.2.).

##### Optimierung der Wasserstoffbegasung

Wie in Kapitel 2 und 3 ausgeführt, stellt die Wasserstofflöslichkeit einen limitierenden Faktor für die gesamte biologische Methanisierung dar. Aufgrund der vielversprechenden Literaturrecherche zur Membranbegasung und weiterführender Überlegungen wurden verschiedene Optionen zur Membranbegasung getestet. Parallel dazu wurde Wasserstoff feindispers eingebracht und das gebildete Produktgas zirkuliert.

##### Analytik

Für die Analytik konnten einige gängige Standardverfahren eingesetzt werden, zusätzlich mussten aber auch spezielle Messmethoden entwickelt werden.

Aufgrund der Querempfindlichkeiten von Wasserstoff zu Methan und CO<sub>2</sub> bei den bereits vorhandenen IR-Messgeräten musste für die Bestimmung der Gaszusammensetzung ergänzend eine gaschromatographische Messmethode etabliert werden.

Für die Bestimmung der Konzentrationen methanbildender Archaeen sowie von hydrogenotrophen und acetoklastischen Untergruppen konnten bereits vor Projektbeginn etablierte DNA-basierte Messmethoden (Taqman Realtime PCR) eingesetzt werden.

## 4.1.2. Entwickelte Teststände

### 4.1.2.1. Laborteststand R

Dieser Biogasreakorteststand mit den Reaktoren R1-R6 (Abbildung 2) wurde bereits vor Projektbeginn erworben (Firma Bioprocess Control AB, Lund, Schweden) und für ARTHYMES modifiziert (Abbildung 2, Abbildung 3). Er wurde nicht weiter automatisiert.

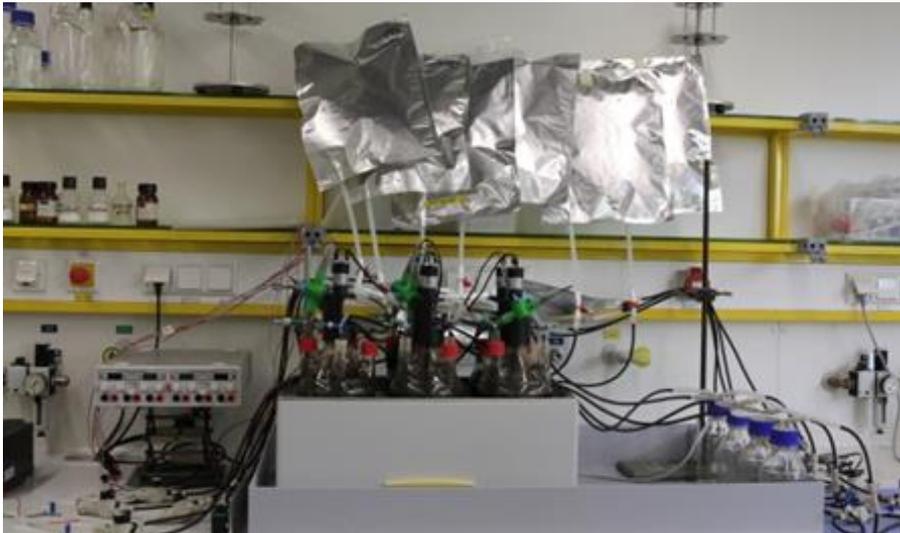


Abbildung 2 Biogasteststand mit Biogasreaktoren R1-R6.

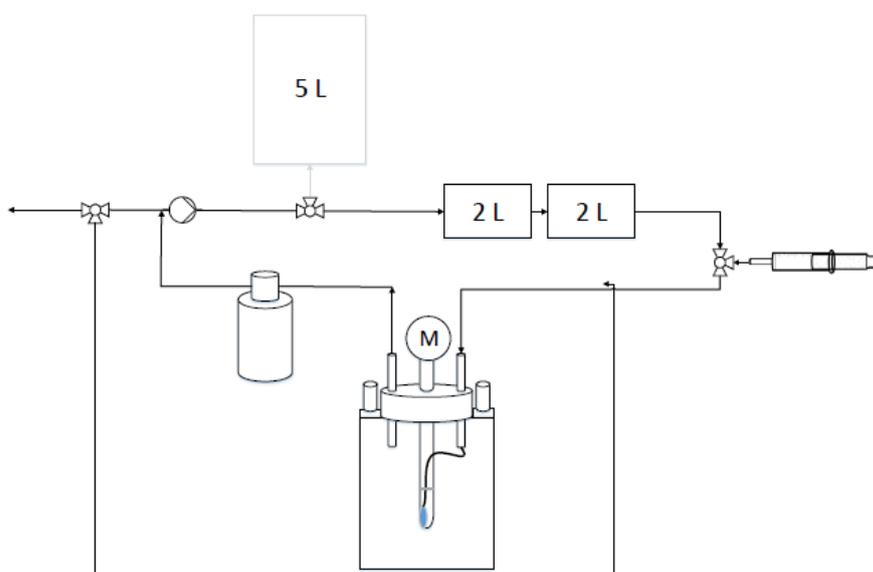


Abbildung 3 Schematischer Aufbau eines R-Reaktors.

Laborteststand R besteht aus sechs 2 L-Glasreaktoren, die in ein beheizbares Wasserbad eingelassen sind und kontinuierlich betrieben werden können. Die Motoren sind am Deckel über jedem Reaktor angebracht und bewegen einen leicht gebogenen Rührstab .

Für verschiedene Versuche wurden die Reaktoren optional um eine Zirkulationseinheit mit Kondensatflaschen und Membranpumpen ergänzt (Abbildung 3). Auf diese Weise kann Wasserstoff über Injektionspritzen (Kolbenprober) eingebracht werden und Produktgas (mit gegebenenfalls enthaltenem, nicht umgesetztem Wasserstoff) zirkuliert werden. Zwei 2 L-Gassäcke sind in Reihe geschaltet und fungieren als Gasspeicher. Der 5 L-Gassack wird nur bei größeren Gasmengen, die bei längeren Messpausen anfallen, als Erweiterung benötigt. Nach ca. 2-3 Tagen wird das gebildete Biogas manuell in einen weiteren Gassack gepumpt und die gebildete Gasmenge und die Gaszusammensetzung bestimmt. Nach der Gasentnahme kann frischer Wasserstoff in das System eingebracht werden.

Die Fütterung erfolgt hier manuell.

Die Menge an produziertem Biogas wird mit einem Eudiometerrohr bestimmt. Die Gaszusammensetzung kann optional über ein IR-Analysegerät oder einen Gaschromatographen bestimmt werden.

#### 4.1.2.2. Laborteststand C

Laborteststand C mit den Reaktoren C1-C6 wurde vollständig in Eigenarbeit an der Hochschule gebaut und ist teilweise automatisiert betreibbar (Abbildung 4-6).

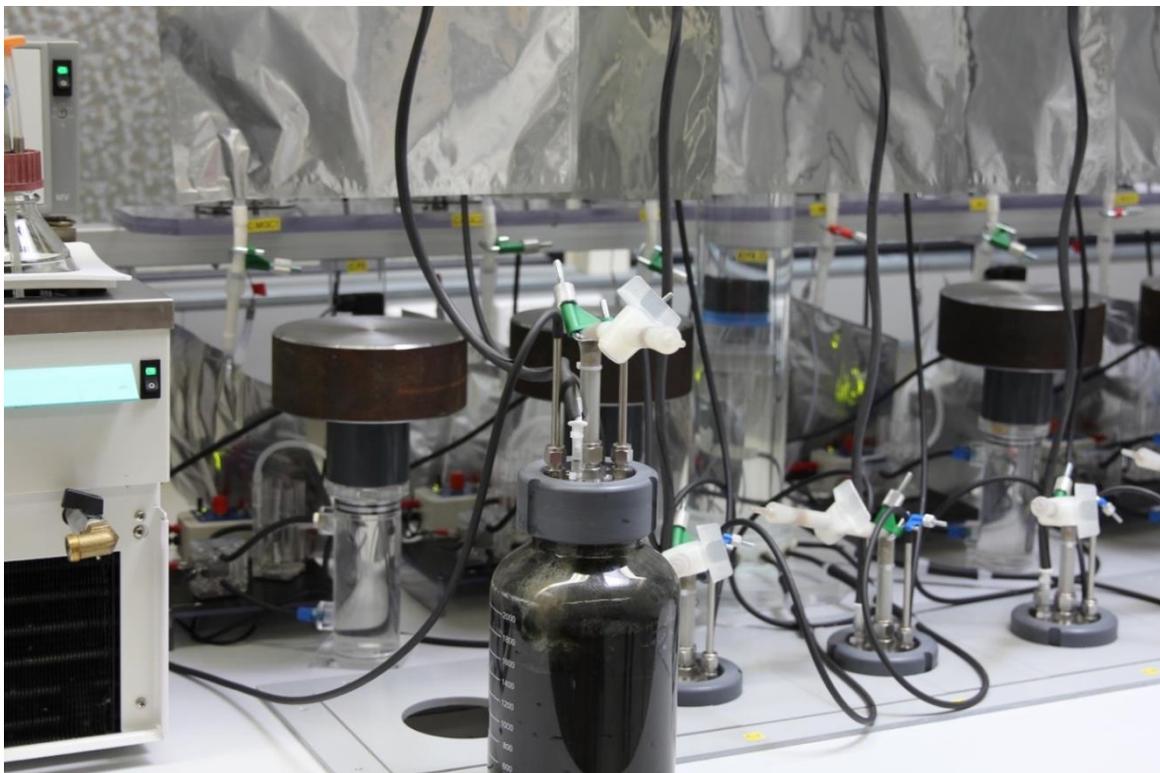


Abbildung 4 Laborteststand C – Einzelner Reaktor.

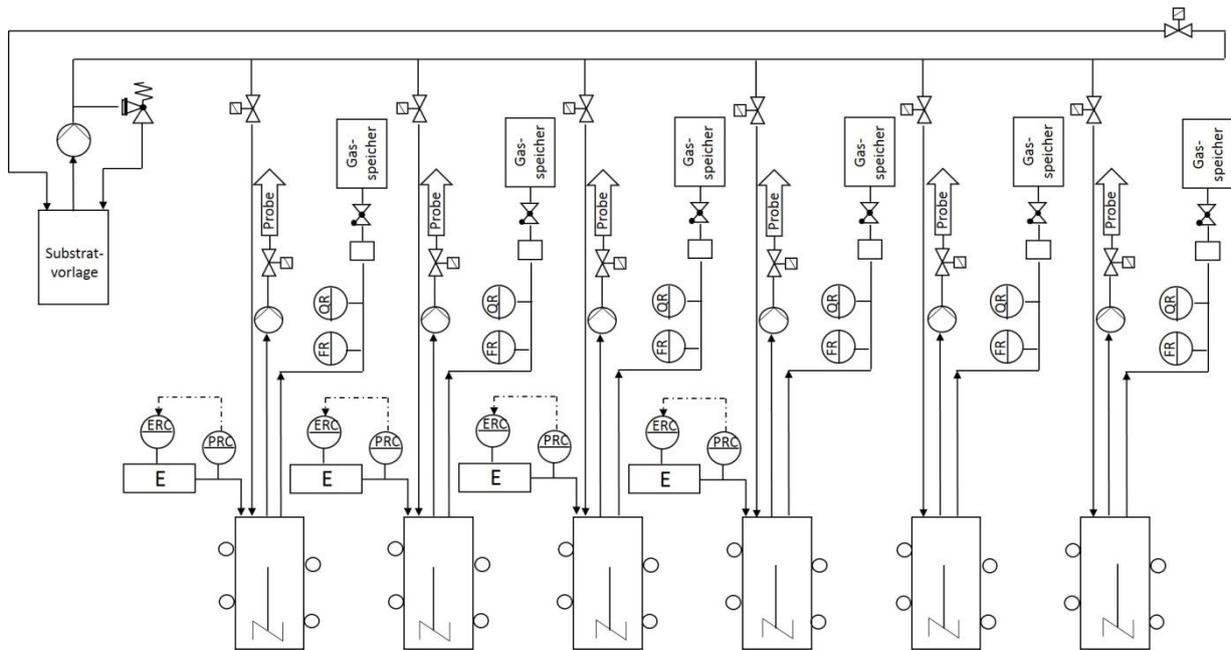


Abbildung 5 Laborteststand C – Fließbild.



Abbildung 6 Laborteststand C – Membranmodul.

Laborteststand C besteht aus sechs identischen Glasreaktoren mit einem Fassungsvermögen von jeweils 2 Litern. Sie sind mit einem flexibel nutzbaren Deckel ausgestattet. Die Wasserstoffzufuhr erfolgte hier blasenfrei über Membranmodule (Abbildung 6), es können jedoch auch andere Begasungsarten realisiert werden.

Die Reaktortemperatur wird über ein abgedecktes Wasserbad konstant gehalten. Über ein Pumpen-Ventil-System wird automatisch in regelmäßigen Zeitabständen flüssiges Substrat gefüttert. Das Substrat wird in einem Vorlagebehälter auf 3,5°C gekühlt und kontinuierlich im Kreislauf durch die Leitungen gepumpt. Innerhalb dieser Fütterungsstrecke befindet sich ein Kreislaufventil, das dauerhaft geöffnet ist und nur zur Fütterung schließt. Zeitgleich öffnet sich dann eines der Fütterungsventile zu einem jeweiligen Reaktor, die im Normalzustand geschlossen sind. Auf diese Weise kann eine definierte Menge an Substrat dem Reaktor zugegeben werden. Ein eingebautes Überdruckventil verhindert das Abplatzen von Schläuchen beim Auftreten von Überdrücken und pumpt das Substrat in einen weiteren Vorlagebehälter. Um die zugeführte Menge an Substrat während des laufenden Versuchs zu überprüfen, wurde ein Messzylinder als Position 7 eingebaut. Anhand dieses Messzylinders kann direkt die Menge an gefüttertem Substrat abgelesen werden.

Die Durchmischung erfolgt mit Magnetrührstäben und Magnetrührern unterhalb der Reaktoren.

Die Menge an produziertem Biogas wird mit einem Mikro-Volumenstrom-Gaszähler gemessen. Dieser ist mit einem Rückschlagventil versehen, um das Rücklaufen der säurehaltigen Sperrflüssigkeit in den Reaktor während Unterdruckphasen bei den Probenahmen zu vermeiden. Zusätzlich sind zwei Drei-Wege-Ventile installiert, um den Mikro-Volumenstrom-Gaszähler während der Probenahme komplett zu entkoppeln.

Das produzierte Biogas wird in zwei Gassäcken temporär gespeichert. Der große Gassack besitzt ein Fassungsvermögen von 10 L, während der kleine Gassack ungefähr 600 ml Gas speichern kann. Der kleine Gassack soll eine aktuell produzierte Gasprobe repräsentieren, die für die Gasanalyse verwendet wird. Die beiden Gassäcke sind mit einem Rückschlagventil voneinander getrennt, so dass kein „altes“ Biogas aus dem großen Gassack zurück in den kleinen fließen kann.

Die Zusammensetzung des Biogases wird automatisch alle 8 h gaschromatographisch gemessen.

Die Kapillare zur Gasmessung ist unmittelbar vor dem kleinen Gassack installiert. Der Gaschromatograph saugt das benötigte Biogas direkt aus dem Gassack heraus. Für eine Gasanalyse werden ca. 4,45 ml benötigt. Um das Kondensieren von Wasserdampf zu verhindern, wird das Biogas vor der Messung auf 100°C erhitzt.

Die Wasserstoffversorgung erfolgt über Elektrolyseure. Das produzierte Gas wird durch die Hohlfasermembranmodule eingeleitet, welche in einem Membrankorb im Reaktor fixiert sind. Der Druck in der Membran wird mit Drucksensoren gemessen. Zudem werden die Drucksensoren dazu benötigt, um Wasserstoff druckabhängig zu produzieren. Auf diese Weise kann der Druck in der Membran konstant gehalten werden. Alternativ kann der Wasserstoff auch stromgeregelt produziert werden. Die Menge an produziertem Wasserstoff wird über den vorgegebenen Strom theoretisch berechnet und in der Softwareoberfläche (PCS7) angezeigt. Die eingesetzten Hohlfasermembranen sind durch eine Wassersäule oder Gewichte nach außen verschlossen. Bei einem Überdruck von 1 bar wird Wasserstoff in die Atmosphäre abgegeben.

Die Automatisierung ist unter 4.1.2.4. dargestellt.

### 4.1.2.3. Kleiner Technikumsreaktor (KTR)

Der Kleine Technikums Reaktor (KTR) (Abbildung 77, Abbildung 8) mit einem Arbeitsvolumen von 5 L wurde in Eigenarbeit gebaut und analog zu Laborteststand C teilweise automatisiert.

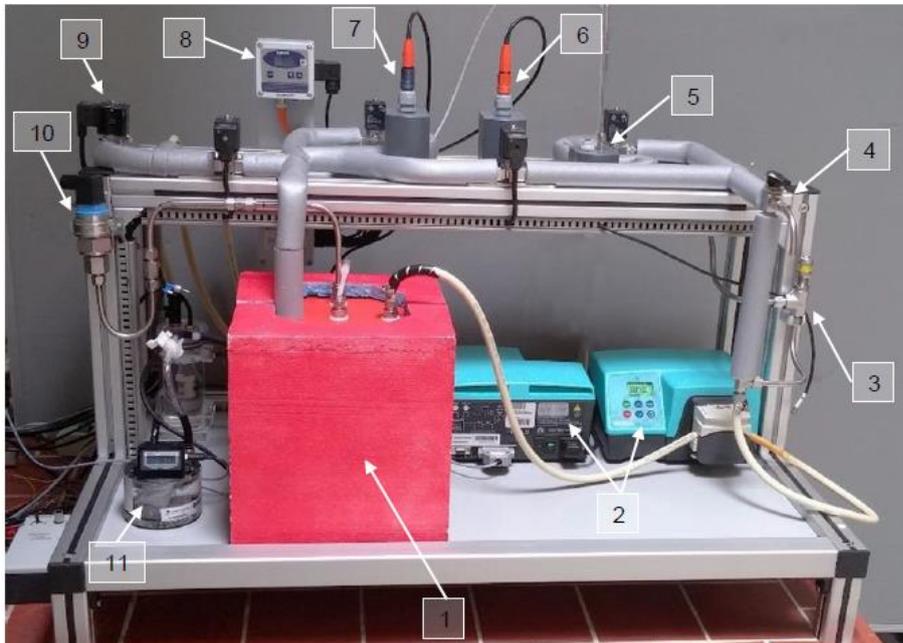


Abbildung 7 Kleiner Technikumsreaktor (KTR).

1: Fermenter unter der Wärmeisolierung, 2: Pumpen: Substratpumpe (links), Pumpe zum Umpumpen des Reaktorinhalts (rechts), 3: Überdruckventil zum Schutz der Pumpe, 4: 3-Wege-Kugelhahn-Ventil zur Probenentnahme, 5: Temperatursensor, 6: pH-Elektrode, 7: Redoxsensor, 8: Anzeige pH-Wert, 9: Eines von mehreren Magnetventilen, 10: Drucksensor zur Messung des Drucks im Membranmodul, 11: Mikro-Volumenstrom-Gaszähler zur Messung des produzierten Biogassvolumens

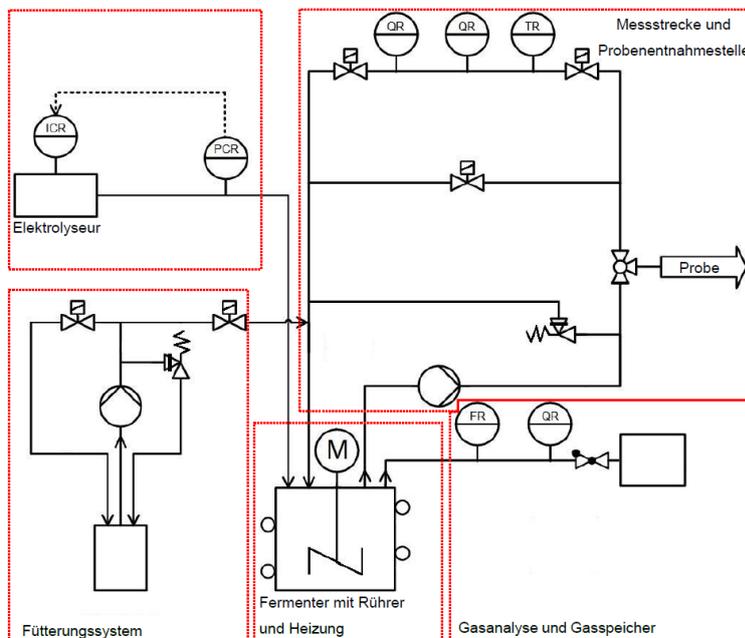


Abbildung 8 KTR - Vereinfachtes Fließbild.

Der KTR wird mit einem Magnetrührer sowie einem Umpumpsystem durchmischt und über eine Schlauchhülle, die mit heißem Wasser durchspült wird, temperiert. Zusätzlich kann die Flüssigphase durch eine Messstrecke gepumpt werden. Über diese erfolgt auch die Probenahme. Der Reaktor wird über ein Pumpen-Ventil-System automatisiert alle 2 Stunden mit Flüssigsubstrat gefüttert, das in einem gekühlten Vorlagebehälter (3,5 °C) gespeichert wird. Bestimmung der gebildeten Gasmenge, der Gaszusammensetzung, die Wasserstoffbereitstellung und Automatisierung erfolgen wie bei Laborteststand C.

#### 4.1.2.4. Automatisierung

Die Automatisierung (Laborteststand C, KTR) ist hier exemplarisch für Laborteststand C dargestellt.

Es wurde folgende Hierarchie angewandt:

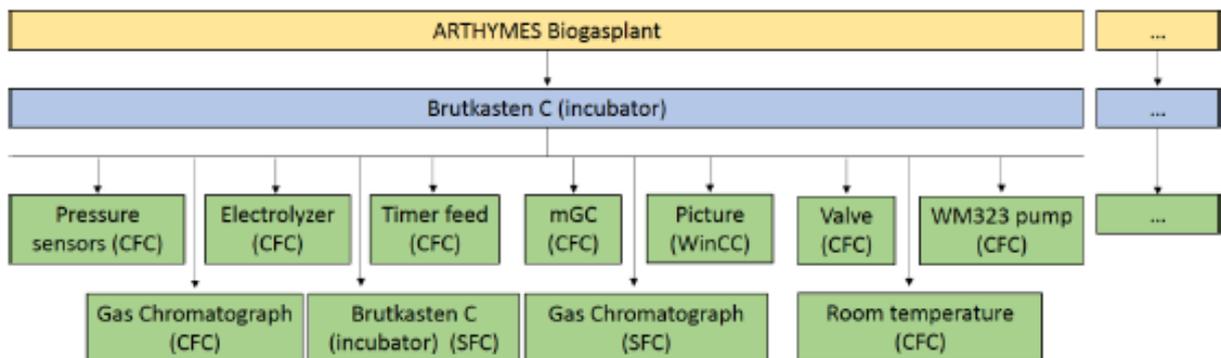


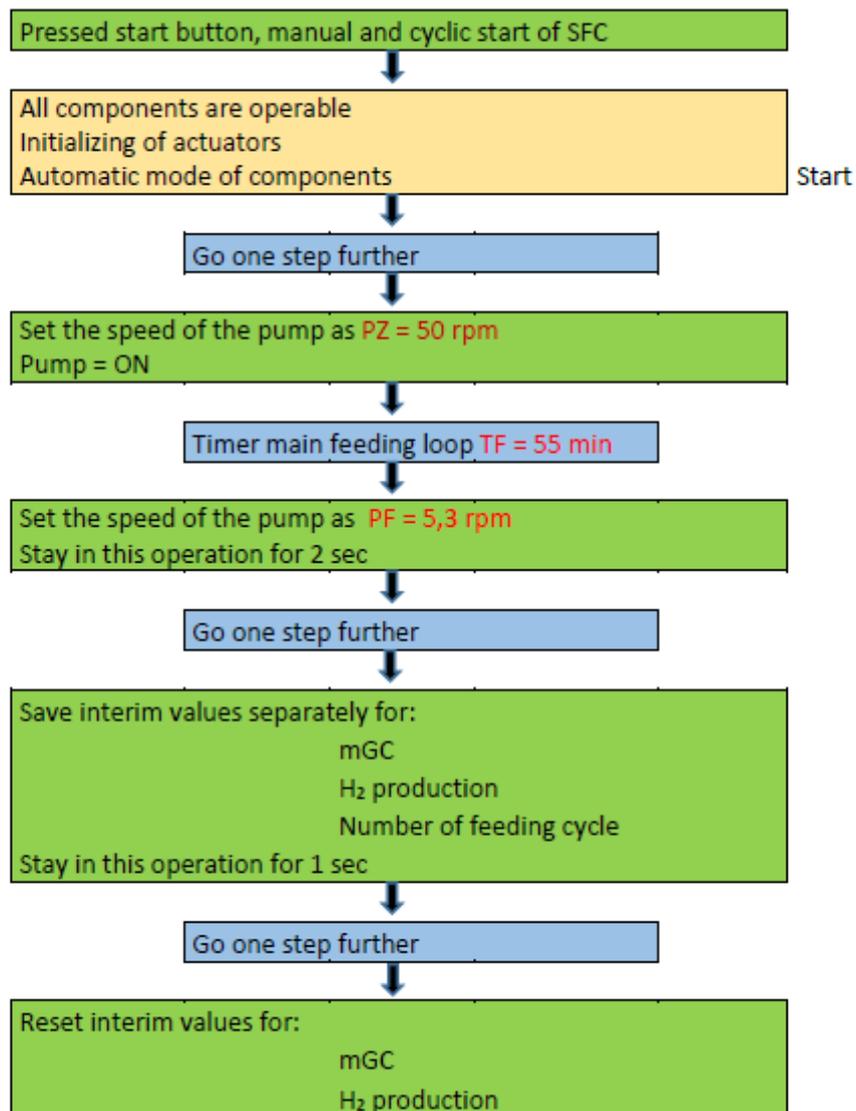
Abbildung 9 Laborteststand C - Hierarchieebenen der Automatisierung.

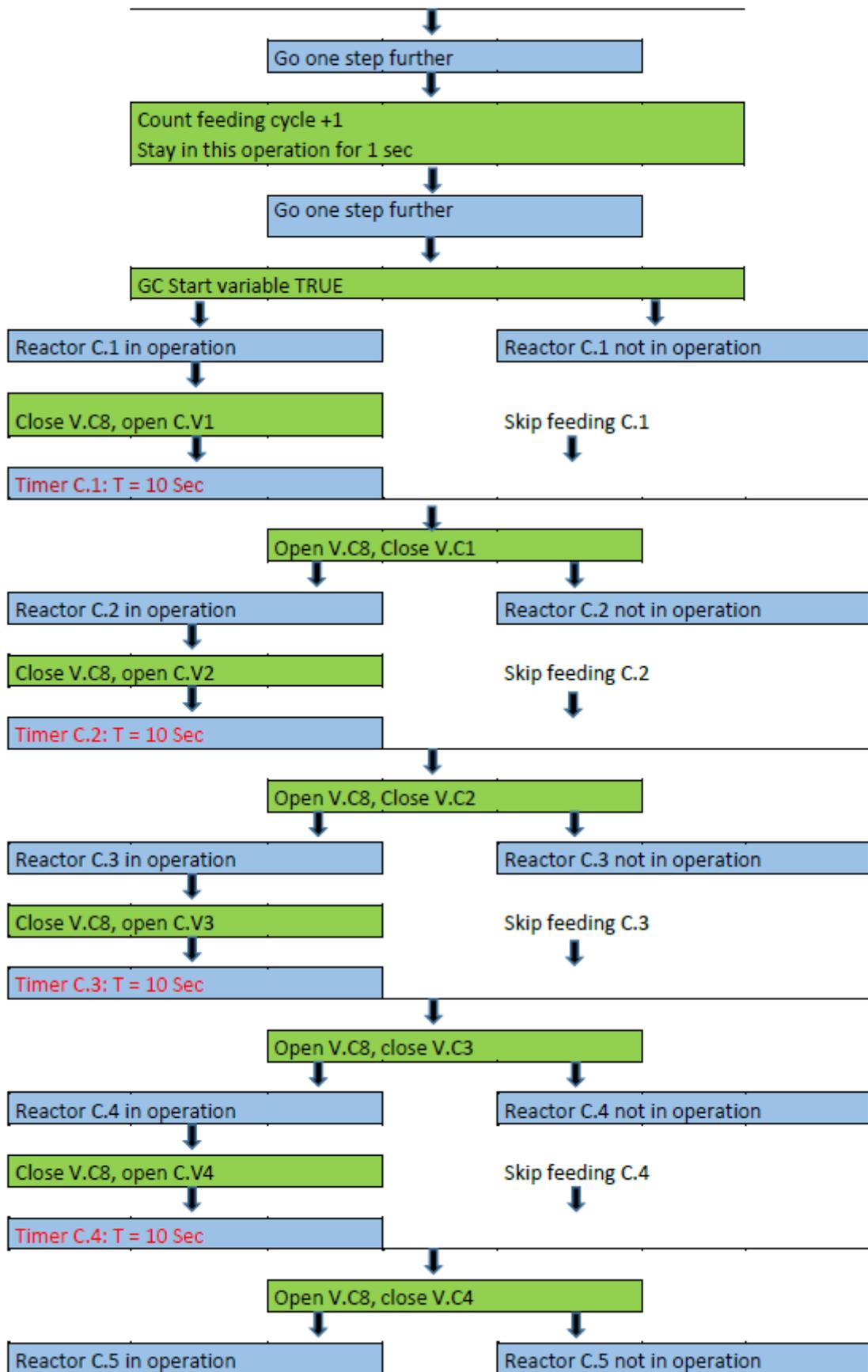
CFC = Continuous Function Charts

SFC = Sequential Function Charts

## Fütterung

Folgender Ablaufplan wurde zur Fütterung genutzt:





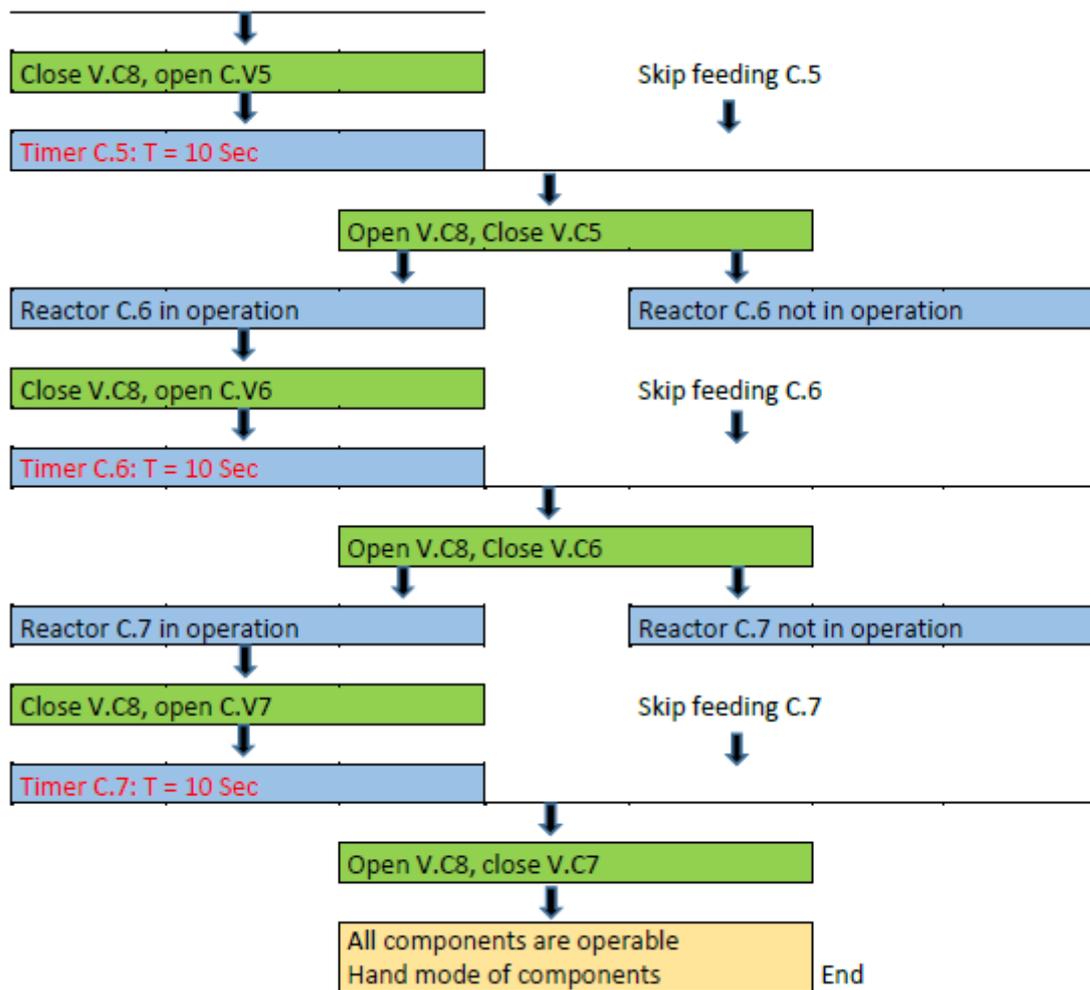


Abbildung 10 Ablaufplan Fütterung.

### Automatische Quantifizierung des produzierten Biogases

Für die Erfassung der Menge an produziertem Biogas wurde jeder Reaktor mit einem separaten Mikro-Volumenstrom-Gaszähler ausgestattet. Das Biogas wird hier nach Auffangen eines definierten Volumens anhand einer Kippbewegung im Mikro-Volumenstrom-Gaszähler gezählt. Diese Kippung wird am „Reed Kontakt“ abgefasst und als Input Signal für den PLC (Programmable Logic Controller) genutzt.

Für die Umrechnung in Normliter wurde zusätzlich ein Korrektur-Faktor einbezogen:

$$V_N = \left( \frac{(p_a - p_w) \cdot T_0}{p_0 \cdot T} \right) \text{ in [L]}$$

$p_a$  = ambient pressure

$p_w$  = vapor pressure of water in dependence of temperature and room temperature

$T_0$  = Norm temperature  $T_0 = 273 \text{ K}$

$p_0$  = Norm pressure  $p_0 = 1013 \text{ hPa}$

$T$  = actual temperature of gas or the surrounding room

Diese Formel wurde im PLC implementiert. Der korrigierte Wert wurde für die weitere Auswertung des Prozesses herangezogen.

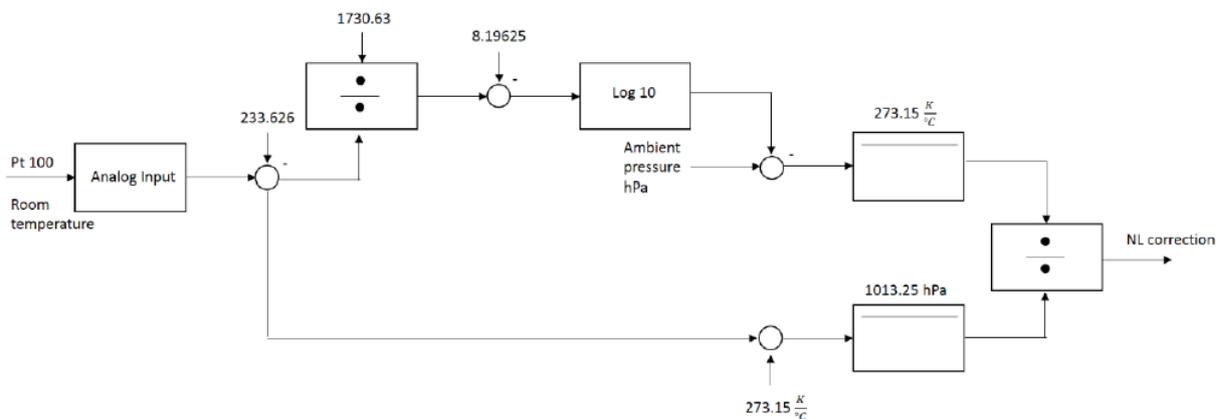


Abbildung 11 Normliter Korrektur.

## Automatisierung der Gasanalyse

Die Zusammensetzung des produzierten Biogases erfolgt automatisch mit einem Gaschromatographen (GC). Der GC wird von dem PLC angetriggert und folgt dann einer zuvor programmierten und festgelegten SFC.

Die Gasmessung wird nach jedem vierten Fütterungsschritt angetriggert (alle 8 Stunden). Dies wird mit einem Zähler auf Basis des Modulo-Prinzips realisiert.

## Automatisierung der Wasserstofffütterung

Wasserstoff kann bedarfsgerecht mit angeschlossenen Elektrolyseuren hergestellt werden und gelangt über Membranmodule (oder optional andere Eintragungssysteme) in die Reaktoren. Die Menge an produziertem Wasserstoff korreliert mit der eingestellten Stromstärke.

Der Druck innerhalb der Membran dient als ein möglicher Regelparameter. Alternativ kann stromgeregelt konstant Wasserstoff produziert werden. Für beide Varianten wurde eine Kaskadenregelung angewandt (Abbildung 12). Die Drucksensoren decken einen Messbereich von 0-1000 mbar ab.

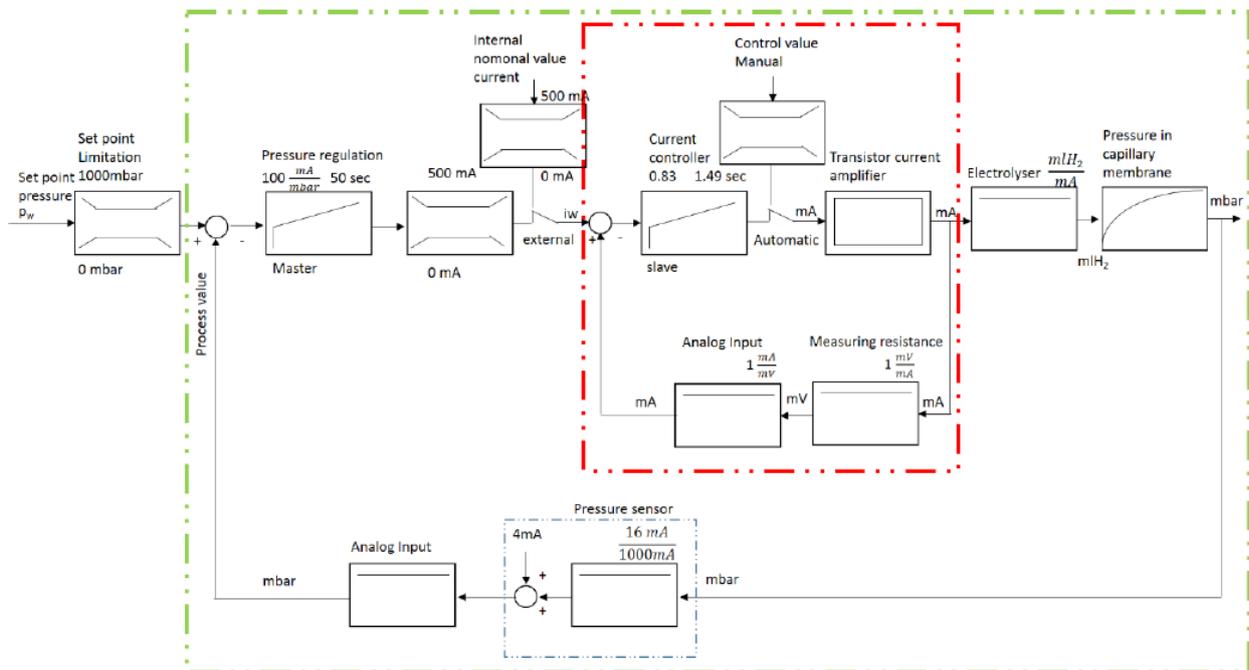
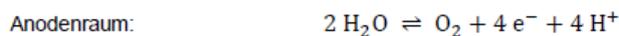
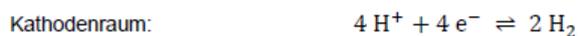


Abbildung 12 Kaskadenregelung zum Betrieb des Elektrolyseurs.

Die Menge an produziertem Wasserstoff wurde theoretisch anhand der eingestellten bzw. benötigten Stromstärke wie folgt berechnet:

Um zwei Wassermoleküle in zwei Wasserstoffmoleküle und ein Sauerstoffmolekül zu spalten werden vier Elektronen benötigt. Unter STP-Bedingungen entsteht pro Ampere und pro Sekunde ein Wasserstoffvolumen von  $1,1618 \cdot 10^{-7} \text{ m}^3/(\text{s} \cdot \text{A})$ . Da der Elektrolyseur E102 von H-TEC Education zwei in Reihe geschaltete Elektrolysezellen besitzt wird pro Ampere die doppelte Menge Wasserstoff produziert  $2,3236 \cdot 10^{-7} \text{ m}^3/(\text{s} \cdot \text{A})$ .



Reaktionsgleichung der Elektrolyse von Wasser in einer sauren Lösung

$$\frac{\dot{V}}{I} = \frac{R \cdot T}{F \cdot p} = \frac{8,3145 \frac{\text{J}}{\text{mol} \cdot \text{K}} \cdot 273,15 \text{ K}}{9,64853399 \cdot 10^4 \frac{\text{C}}{\text{mol}} \cdot 101325 \text{ Pa} \cdot 2} = 1,1618 \cdot 10^{-7} \frac{\text{m}^3}{\text{s} \cdot \text{A}}$$

- $\dot{V}$  Volumenstrom
- $F$  Faraday-Konstante
- $p$  Druck
- $T$  Temperatur
- $R$  Gaskonstante
- $I$  Strom

Es besteht die Möglichkeit sowohl ein- als auch zweizellige Elektrolyseure anzuschließen. Der Korrekturfaktor von 0,985 wurde empirisch bestimmt. Er korreliert mit dem Erwärmen des Resistors.

### **Datenaufnahme**

Die experimentellen Daten werden jede Sekunde vom PCS7 erfasst und langzeitarchiviert. Sie sind jederzeit zugänglich und exportierbar. Zusätzlich wurde ein Excel-Sheet mit Visual Basic programmiert, das auf die langzeitarchivierten Daten von PCS7 zurückgreift. Bei jeder Antriggerung der Fütterung und der GC-Messung werden die archivierten Daten abgegriffen und im Excel-Sheet dargestellt.

Folgende Messwerte werden aufgenommen:

- Produziertes Biogas in mL
- Produziertes Biogas in NmL
- Angelegte Stromstärke am Elektrolyseur in mA
- Wasserstoffproduktion in NmL
- Druck in der Hohlfasermembran in mbar
- Zahl an durchgeführten Fütterungsschritten
- Umgebungsdruck in hPa

## 4.2. Versuchsreihen zur biologischen Methanisierung

In den unter 4.1.2. beschriebenen Testständen wurden insgesamt 4 verschiedene Versuchsreihen durchgeführt.

Versuchsreihe 4.2.1. stellt einen Vorversuch zur Abschätzung der besten Begasungsart dar.

Die Messreihen für die Entwicklung eines standardisierten Substrats sind in 4.2.2 dargestellt.

4.2.3. und 4.2.4. zeigen Versuchsreihen zur biologischen Methanisierung, die aufbauend auf die Erkenntnisse aus 4.2.1. mit Membranbegasung durchgeführt wurden.

### 4.2.1. Vorversuch zum Test verschiedener Begasungsarten

In einem Vorversuch wurden zunächst die entwickelten Laborteststände C und R in Betrieb genommen und dabei verschiedene Begasungsarten getestet.

In Laborteststand R wurde wie unter 4.1.2.1 beschrieben Wasserstoff mit einem Kolbenprober in das System eingebracht und über einen Begasungsstein in die Flüssigphase des Bioreaktors geleitet. Das entstandene Biogas mit dem enthaltenen, nicht umgesetzten Wasserstoff wurde über eine Kondensatflasche geführt und für 25 Tage im Kreislauf gepumpt. Während der Versuchsdauer wurde dreimal pro Woche Wasserstoff zugegeben (R2 jeweils 400 mL, R1 jeweils 800 mL). R5 und R6 dienten als Kontrolle. Nach jeweils 2-3 Tagen wurde das gebildete Biogas aus der Zirkulationsleitung in einen weiteren Gassack gepumpt und die gebildete Gasmenge sowie die Gaszusammensetzung bestimmt. Nach der Gasentnahme wurde frischer Wasserstoff in das System eingebracht. Die Rührerdrehzahl lag bei  $60 \text{ min}^{-1}$ .

In Laborteststand C wurde Wasserstoff über Membranmodule eingeleitet. Abweichend zu der Beschreibung unter 4.1.2.2. wurde der eingeleitete Wasserstoff jedoch durch jeweils zwei gleiche Reaktoren (C1 und C2 sowie C3 und C4) hindurchgeleitet und dann in die Atmosphäre abgegeben.

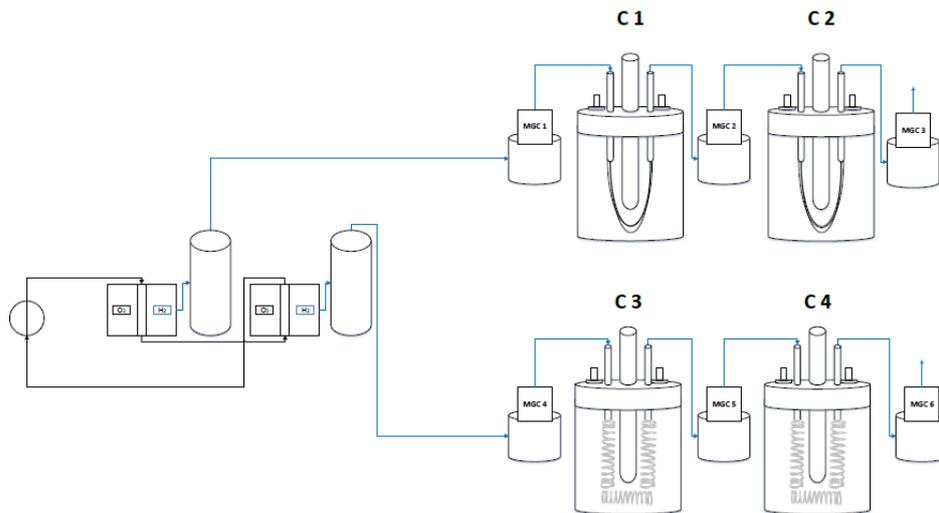


Abbildung 13 Laborteststand C- Versuchsaufbau Vorversuch zum Test verschiedener Begasungsarten.

Die Reaktoren C1 und C2 waren mit einem Oxyplus-Membranmodul ausgestattet, in C3 und C4 befanden sich Silikon-Membranmodule. Zwei weitere Reaktoren (C5 und C6) dienen als Referenz. Täglich wurden 800 ml Wasserstoff elektrolytisch produzierter Wasserstoff eingeleitet. Die Rührerdrehzahl lag bei ca.  $50 \text{ min}^{-1}$ .

Alle Reaktoren wurden mesophil bei  $37^\circ \text{ Celsius}$  betrieben.

Die Tabelle 1 und 2 zeigen die Ergebnisse dieses Vorversuchs.

Tabelle 1. Vergleich verschiedener Wasserstoffbegasungsarten: Biogaszirkulation nach Wasserstoffinjektion, Wasserstoffbegasung mit Membran Oxyplus, Wasserstoffbegasung über Silikon-Membran. Bei den Reaktoren C1 und C2 sowie C3 und C4 durchströmte der Wasserstoff die Membranmodule hintereinander und wurde dann an die Atmosphäre abgegeben.

Reaktor	H <sub>2</sub> - Einspeisung	Betriebsweise	Steigerung des Methangehalts gegenüber der Referenz in %
R1*	Biogaszirkulation	400 ml H <sub>2</sub> /d (Am Wochenende 300 ml H <sub>2</sub> /d)	17 ± 7
R2	Biogaszirkulation	200 ml H <sub>2</sub> /d (Am Wochenende 166 ml H <sub>2</sub> /d)	27 ± 13
C1 1. Reaktor	Oxyplus-Membran (298,5 cm <sup>2</sup> )	800 ml/Tag	37 ± 9
C2 2. Reaktor	Oxyplus-Membran (298,5 cm <sup>2</sup> )	800 ml/Tag	28 ± 11
C3 1. Reaktor	Silikon-Membran (301,6 cm <sup>2</sup> )	800 ml/Tag	43 ± 14
C4 2. Reaktor	Silikon-Membran (301,6 cm <sup>2</sup> )	800 ml/Tag	18 ± 8

\*Begasungsstein löste sich während der Versuchsreihe

**Tabelle 2 Vergleichende Wasserstoffbilanz von zwei verschiedenen Begasungsarten. Erläuterungen s. Text.**

Reaktor*	R1** Grobdispersiver Gas-Eintrag	R2 Feindispersiver Gas-Eintrag	C1 Diffusiver H <sub>2</sub> -Eintrag über Oxyplus-Membran
H <sub>2</sub> -Zugabe	400 ml/d bzw. 300ml/d	200 ml/d bzw. 166ml/d	209 ± 48 ml/d
H <sub>2</sub> -Umsatz in %	~ 53 %	~ 75 %	~ 94 %

\*Dargestellt sind nur bilanzierbare Reaktoren

\*\*Begasungsstein löste sich während der Versuchsreihe

Wie in Tabelle 1 zu sehen ist, ergibt die Membranbegasung im Vergleich (jeweils die ersten der in Reihe geschalteten Reaktoren) die höheren Steigerungen der Methankonzentrationen, wobei die Silikon-Membran etwas bessere Werte aufweist. Bei der Biogaszirkulation zeigt Reaktor R1 trotz doppelter injizierter Wasserstoffmenge eine geringere Steigerung der Methankonzentration. Dies ist darauf zurückzuführen, dass sich hier der Begasungsstein gelöst hatte und das zirkulierende Gas daher grobdispers in den Reaktor eingetragen wurde. In Reaktor R2 wurde das Gas hingegen durch den angeschlossenen Begasungsstein feindispers eingebracht.

Die Wasserstoffbilanz der Reaktoren R1, R2 und C1 (Tabelle 2) zeigt ebenfalls die Überlegenheit des diffusiven Wasserstoffeintrags. Hier wurden ca. 94 % des eingebrachten Wasserstoffs umgesetzt. Der H<sub>2</sub>-Umsatz bei der Biogaszirkulation ist deutlich schlechter, wobei sich erwartungsgemäß die größere Gesamtoberfläche der feindispers eingebrachten Gasblasen vorteilhaft auswirkt.

Die Biogaszirkulation ist verfahrenstechnisch aufwändiger und nur bedingt für einen kontinuierlichen Betrieb geeignet. Sehr hohe Methankonzentrationen sind nur bei langen Kontaktzeiten des Gases in der Flüssigkeit und gegebenenfalls mit Gastrennsystemen erreichbar.

In den folgenden Versuchen zur biologischen Methanisierung wurde daher die Membranbegasung als Wasserstoffeintragsmethode ausgewählt.

## 4.2.2. Entwicklung eines standardisierten Mediums für Biogasreaktoren

Während eines Vorversuchs mit Reaktorteststand R ohne Wasserstoffzugabe hatte sich gezeigt, dass Biogasreaktoren mit einem in der Literatur beschriebenen Medium (Zhang et al. 2013) nur eine begrenzte Zeit stabil betrieben werden konnten. Nach jeweils ca. 3-4 Monaten Betriebsdauer stiegen die FOS/TAC-Werte stark an und die Reaktoren übersäuerten. Ein typischer Verlauf von pH-Wert und FOS/TAC ist in Abbildung 14 exemplarisch für Reaktor R6 dargestellt.

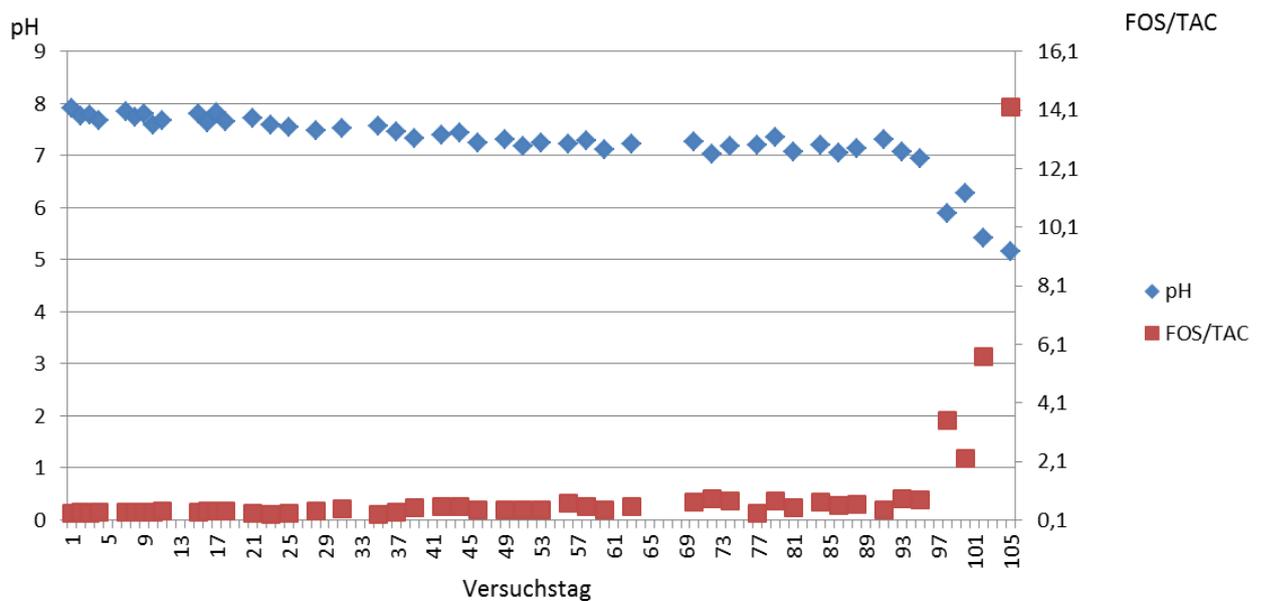


Abbildung 14 Verlauf von pH und FOS/TAC in Reaktor R6 bei Verwendung des Mediums nach Zang et al (2013). Der Reaktor wurde mesophil (37 °C) ohne Wasserstoffzugabe betrieben.

Der in der Abbildung erkennbare Anstieg des FOS/TAC-Werts und die Versäuerung nach einer Betriebsdauer von ca. 90 Tagen sind wahrscheinlich auf fehlende essentielle Medienkomponenten für das mikrobielle Wachstum zurückzuführen. Vermutlich sind diese im eingebrachten Inoculum vorhanden und werden im kontinuierlichen Betrieb aufgebraucht bzw. ausgewaschen.

Um die Reaktoren auch langfristig stabil führen zu können, wurden daher weitere Medien getestet. Hierfür wurde wieder Laborteststand R ohne Wasserstoffzugabe und ansonsten wie unter 4.1.2.1. und 6.1. beschrieben verwendet. Die Reaktoren wurden mesophil bei 37 °C betrieben.

Als Testmedium wurde Methanogenium Medium 141 der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) als Basismedium eingesetzt. Anstelle von CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> im Originalmedium wurden jedoch Cellulose bzw. Glukose als C-Quelle verwendet. Auf Resazurin als Indikator wurde verzichtet. Medium 141 wurde ausgewählt, da es als eines der Kultivierungsmedien für hydrogenotrophe, methanogene Archaeen von der DSMZ angegeben ist und diese für die biologische Methanisierung von Wasserstoff und CO<sub>2</sub> verantwortlich sind.

Es wurden 6 Reaktoren parallel betrieben, drei mit Glukose und drei mit Cellulose als C-Quelle. Aufgrund der Annahme, dass wichtige, aber nicht genauer bekannte Komponenten aus dem Inoculum im Laufe der Fermentation verbraucht werden, wurde auch pro verwendeter C-Quelle ein Ansatz mit Faulschlammzusatz getestet (Tabelle 3). Der Versuch wurde ansonsten wie im experimentellen Teil beschrieben durchgeführt.

Tabelle 3 Test verschiedener synthetischer Medienvarianten für den Langzeitbetrieb von Biogasreaktoren.

Reaktor	Medium	C- Quelle		Weitere Zusätze
R1	DSMZ 141	Cellulose	-	-
R2	DSMZ 141	Cellulose	-	-
R3	DSMZ 141	Cellulose	-	Faulschlamm
R4	DSMZ 141	-	Glukose	-
R5	DSMZ 141	-	Glukose	-
R6	DSMZ 141	-	Glukose	Faulschlamm

Die Reaktoren konnten mit allen eingesetzten Medien über einen Zeitraum von 10 Monaten kontinuierlich und stabil betrieben werden. Das Medium DSMZ 141 ermöglicht einen kontinuierlichen Langzeitbetrieb ohne Chargenschwankungen. Auf Grund der besseren Dosierbarkeit von Glukose (gut wasserlöslich) und der einfacheren Berechnung der entstehenden Gaszusammensetzung wurden alle weiteren Versuche mit Glukose als C-Quelle durchgeführt. Auf den Zusatz von Faulschlamm wurde in weiteren Versuchen verzichtet, da er keine Verbesserung der Prozessstabilität brachte.

### 4.2.3. Biologische Methanisierung durch regulierte Membranbegasung im KTR

In diesem Versuchsteil wurde eine Messreihe zur biologischen Methanisierung durch Membranbegasung mit einem Oxyplus-Membranmodul (Membranfläche: 0,12 m<sup>2</sup>/L) im KTR durchgeführt.

Ansetzen des Reaktors, Reaktorbetrieb und Analysen erfolgten wie unter 4.1.2.3. und 6.1.3. beschrieben. Der Reaktor wurde mesophil bei 37 °C betrieben. Der Volumenstrom beim Umpumpen betrug 0,14 L/min, die Rührerdrehzahl 220 min<sup>-1</sup>.

Sieben Tage nach dem Ansetzen des Reaktors wurde mit der Fütterung des in Kapitel 4.2.2. entwickelten Substrats (OLR 1 kg/(m<sup>3</sup>\*d) und der Datenaufnahme begonnen.

Nachdem sich die Gaszusammensetzung auf einen stabilen Wert eingependelt hatte (Tag 4), wurde die Wasserstoffeinspeisung gestartet. Der Wasserstoffvolumenstrom wurde dabei schrittweise von 1000 ± 30 ml/d auf 4000 ± 120 ml/d gesteigert.

Die Abbildungen 15 - 17 zeigen die Messergebnisse über den Versuchszeitraum.

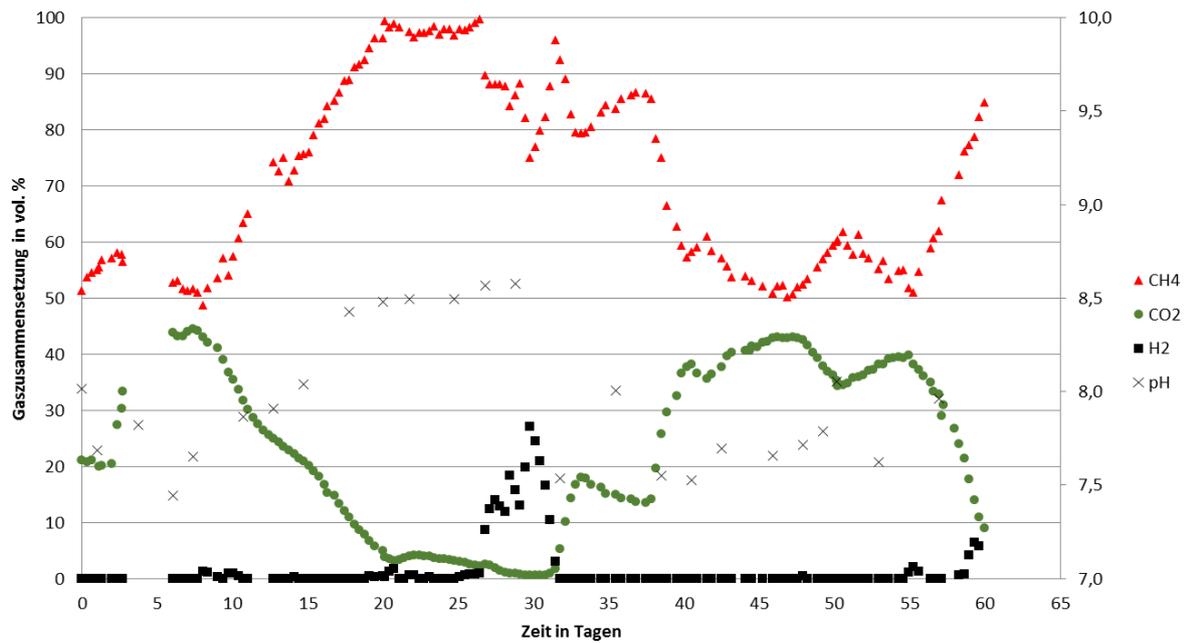


Abbildung 15 Biogaszusammensetzung und pH im KTR. An Tag 33 ereignete sich ein Stromausfall. Erläuterungen s. Text.

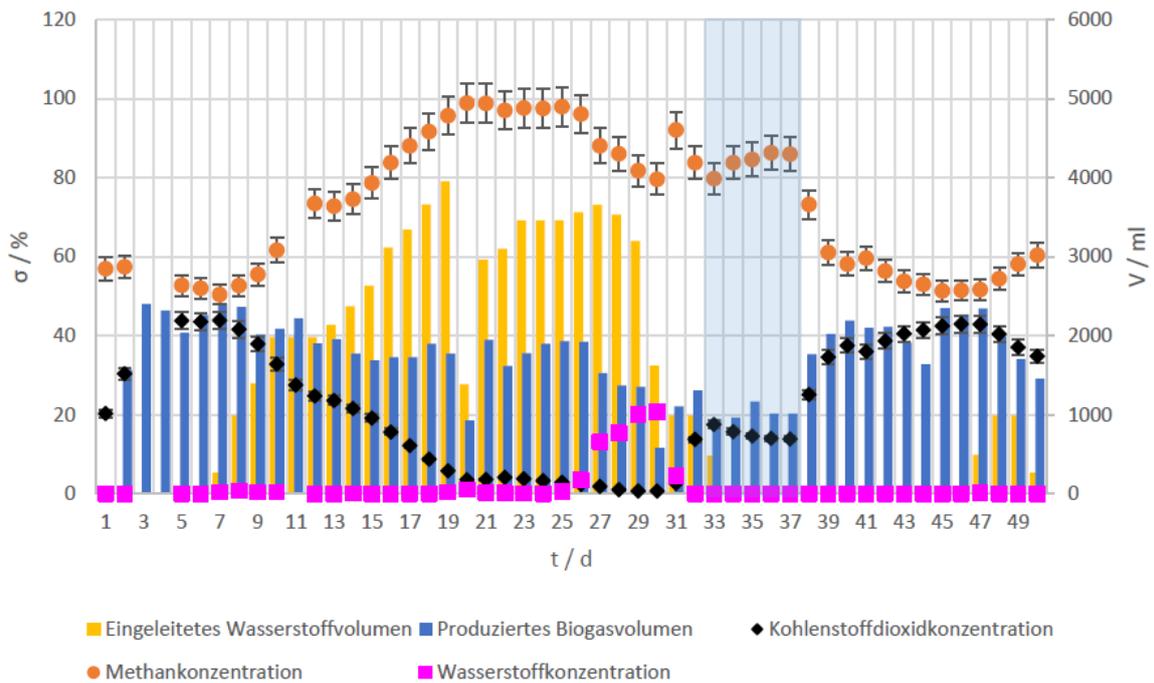


Abbildung 16 Biogaszusammensetzung, eingetragene Wasserstoffmenge und produzierte Biogasmenge im KTR. An Tag 33 ereignete sich ein Stromausfall. Erläuterungen s. Text.

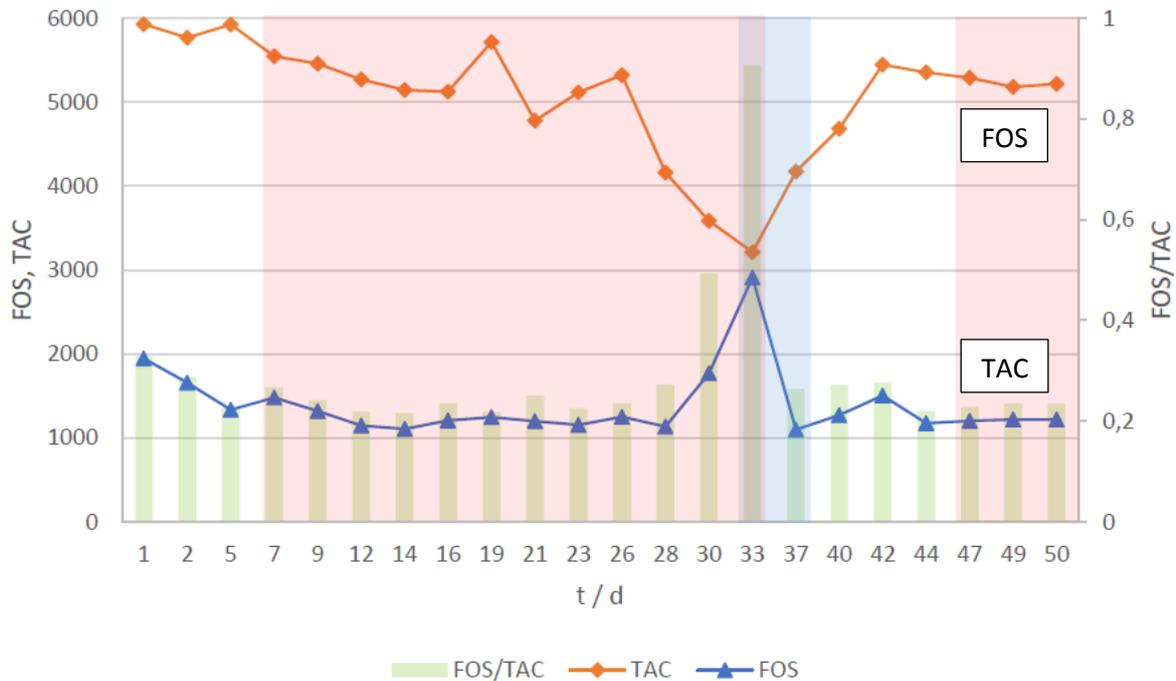


Abbildung 17 FOS/TAC-Analyse im KTR. Erläuterungen im Text. An Tag 33 ereignete sich ein Stromausfall.

In den Abbildungen 15 und 16 ist erkennbar, dass mit Beginn der Wasserstoffeinleitung am 7. Versuchstag zunächst die Methankonzentration im Biogas stetig auf bis zu  $99 \pm 5 \%$  Methan ansteigt. Die Kohlendioxidkonzentration sinkt entsprechend bis auf  $3,5 \pm 0,2 \%$ . Bis zu Tag 25 wird der eingeleitete Wasserstoff nahezu vollständig verwertet und es sind nur geringe Konzentrationen an Wasserstoff in der Gasphase messbar. Die gebildete Biogasmenge nimmt nur leicht ab. Mit der Methankonzentration steigt gleichzeitig jedoch auch der pH-Wert bis auf Extremwerte von 8,5 an. Die FOS/TAC-Analyse zeigt parallel eine Abnahme des TAC bei etwas verringertem FOS. In der Folge kommt es zum Auftreten von Wasserstoff in der Gasphase. Daher wurden ab Versuchstag 33 Wasserstoffeinleitung und Fütterung gestoppt. Die Methankonzentration im Biogas blieb jedoch zunächst hoch, da auch kaum neues Biogas produziert wurde. Erst am 38. Versuchstag mit dem Wiederbeginn der Fütterung sank die Methankonzentration ab.

Der Wiederbeginn der Wasserstoffzugabe im letzten Versuchszeitraum (ab Tag 47) zeigt erneut die Korrelation von Wasserstoffzufuhr und Methankonzentration.

#### 4.2.4. Biologische Methanisierung durch regulierte Membranbegasung im Laborteststand C

In diesem Versuchsteil wurde in Laborteststand C ein Versuch zur biologischen Methanisierung mit Membranbegasung in 6 parallel laufenden Reaktoren durchgeführt. Zwei Reaktoren dienten als Referenz, zwei Reaktoren waren mit einem Oxyplus-Membranmodul mit einer Membranoberfläche von  $0,016 \text{ m}^2/\text{L}$  (C1, C2) und zwei Reaktoren mit einer Membranoberfläche von  $0,063 \text{ m}^2/\text{L}$  (C3, C4)

ausgestattet. Aufgrund einer Undichtigkeit im Membranmodul konnte Reaktor 4 jedoch nicht ausgewertet werden.

Ansetzen der Reaktoren, Reaktorbetrieb und Analysen erfolgten wie im experimentellen Teil beschrieben. Die Versuche wurden bei 37 °C durchgeführt. Die Rührerdrehzahl lag bei ca.50 min<sup>-1</sup>

Nach sieben Tagen wurden die automatisierte Fütterung alle zwei Stunden mit dem unter 4.2.2. entwickelten standardisierten Substrat und die Datenaufnahme gestartet. Die Biogaszusammensetzung wurde ab dem Zeitpunkt des Fütterungsstarts gemessen.

Nach Erreichen eines stabilen Betriebszustands wurde mit der Einleitung von Wasserstoff begonnen.

In Tabelle 4 sind die Betriebsbedingungen der einzelnen Versuchsphasen, in Abbildung 8 die Biogaszusammensetzung und der pH-Wert von Reaktor C3 im Versuchszeitraum dargestellt.

**Tabelle 4 Biologische Methanisierung durch regulierte Membranbegasung im Laborteststand C - Betriebsbedingungen. Erläuterungen s. Text.**

Tag	Fütterung	H <sub>2</sub> -Einspeisung (druck- oder stromreguliert)	H <sub>2</sub> Produktionsrate [ml/h]
I	0-23	1.0 kg/(m <sup>3</sup> d)	-
II	23-26	1.0 kg/(m <sup>3</sup> d)	120 mbar Überdruck
	26-37		140 mbar Überdruck
III	37-48	1.0 kg/(m <sup>3</sup> d)	200 mbar Überdruck
	48-56		300 mbar Überdruck
	56-63		250 mbar Überdruck
	63-65		275 mbar Überdruck
IV	65-70	1.0 kg/(m <sup>3</sup> d)	160 mA
	70-72		180 mA
V	72-83	0.45 kg/(m <sup>3</sup> d)	125 mA
	83-89		100 mA
	89-93		80 mA

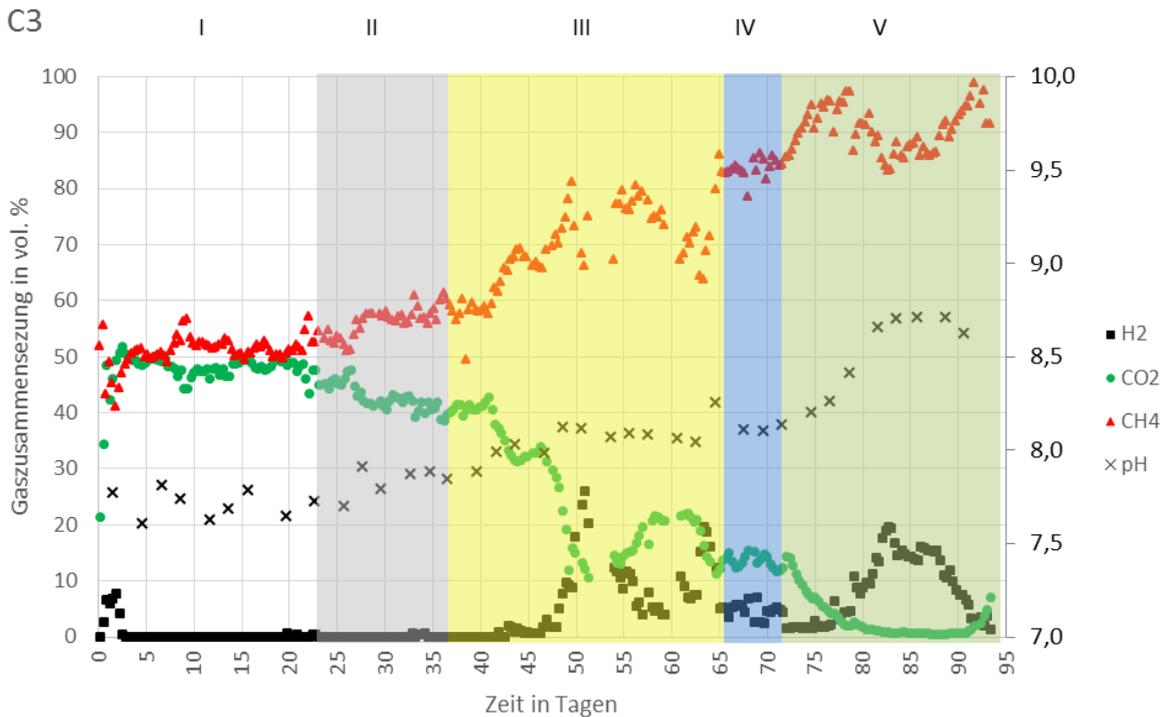


Abbildung 78 Biogaszusammensetzung und pH-Wert Reaktor von Reaktor C5, Laborteststand C. Betriebsweise in den einzelnen Phasen s. Tabelle 4. Erläuterungen s. Text.

In Phase I (Tag 0-23) ist der Versuchsstart bis zum Erreichen eines stabilen Zustands mit konstanter Biogaszusammensetzung dargestellt.

Phase II war eine erste Testphase. Hier wurde Wasserstoff druckregelt eingeleitet. Durch Rückdiffusion von Biogas in die Membran wurde der Messbereich der Drucksensoren (0-100 mbar) überschritten. Die Drucksensoren wurden daraufhin ausgetauscht.

In Phase III wurde Wasserstoff druckregelt (125-300 mbar Überdruck) eingeleitet. Zunächst konnte eine deutliche Verbesserung des Methangehaltes festgestellt werden. Bis Tag 47 wurde auch nahezu kein Wasserstoff in der Gasphase detektiert. Durch das Einstellen von 300 mbar Überdruck stieg jedoch die Wasserstoffkonzentration im Produktgas sprunghaft auf bis zu 27 % an. Ebenfalls deutlich war auch die stark schwankende Biogaszusammensetzung. Zwar war der Methangehalt erheblich höher als ohne Wasserstoffeinleitung, zeigte aber keinen konstanten Konzentrationsbereich. Dies ist vermutlich auf die fütterungszeitpunktabhängige Menge an produziertem Biogas zurückzuführen. In der Folge ergeben sich Schwankungen bei der Rückdiffusion in die Hohlfasermembranen, die sich ungünstig auf die druckregelte Wasserstoffzugabe auswirken.

In Phase IV wurde daher Wasserstoff stromreguliert (160 mA und 180 mA) zugegeben. Hierdurch wurde eine nahezu konstante Methankonzentration von ca. 83 % erreicht. Die Kohlendioxidkonzentration wurde gleichzeitig auf ca. 13 % reduziert. Der Wasserstoffgehalt lag konstant unter 5 %. Der pH-Wert lag bei ca. 8,2.

In Phase V wurde die Stromstärke auf 125 mA erhöht. Daraufhin stieg die Methankonzentration vorübergehend auf nahezu 100 %, bei zunächst niedrigen CO<sub>2</sub>- und H<sub>2</sub>-Werten im Produktgas. Ab ca.

Tag 76 steigt jedoch der pH-Wert weiter auf über 8,6 an. Zeitgleich steigt die Wasserstoffkonzentration im Produktgas. Aufgrund der Vermutung, dass dies auch durch Überschreitung eines Grenzdrucks mit Blasenbildung des Wasserstoffs bedingt sei, wurde die Beladungsrate ab Tag 72 von 1 kg Glukose /( $m^3d$ ) auf 0,45 kg Glukose /( $m^3d$ ) gesenkt. Bei geringeren Beladungsraten wird weniger Kohlendioxid gebildet und somit wird auch weniger Wasserstoff für dessen vollständige Methanisierung benötigt. Der Wasserstoffeintrag wurde daher durch Verringerung der Stromstärke wieder reduziert. Durch diese Maßnahme konnte die Wasserstoffkonzentration im Produktgas wieder auf Werte < 5 % reduziert werden. Die Methankonzentration stieg wieder auf ca. 98 %. Der pH-Wert blieb mit > 8,5 jedoch im nicht tolerierten Bereich und führte zum Absterben von Mikroorganismen. Dies zeigen auch die Untersuchungen zu den Konzentrationen an hydrogenotrophen und acetoklastischen Archaeen (Abbildung 22).

Die mit Membranmodulen mit geringerer Oberfläche ausgestatteten und ansonsten gleich betriebenen Reaktoren C1 und C2 (Abbildung 19, Abbildung 20) scheinen sich tendenziell ähnlich zu verhalten, jedoch tritt hier bereits bei geringerer stromgeregelter  $H_2$ -Zugabe Wasserstoff in der Gasphase auf. In Reaktor C1 verlief zudem die druckregulierte Phase stabil, was möglicherweise an der günstigeren Membranverteilung im Reaktor liegt.

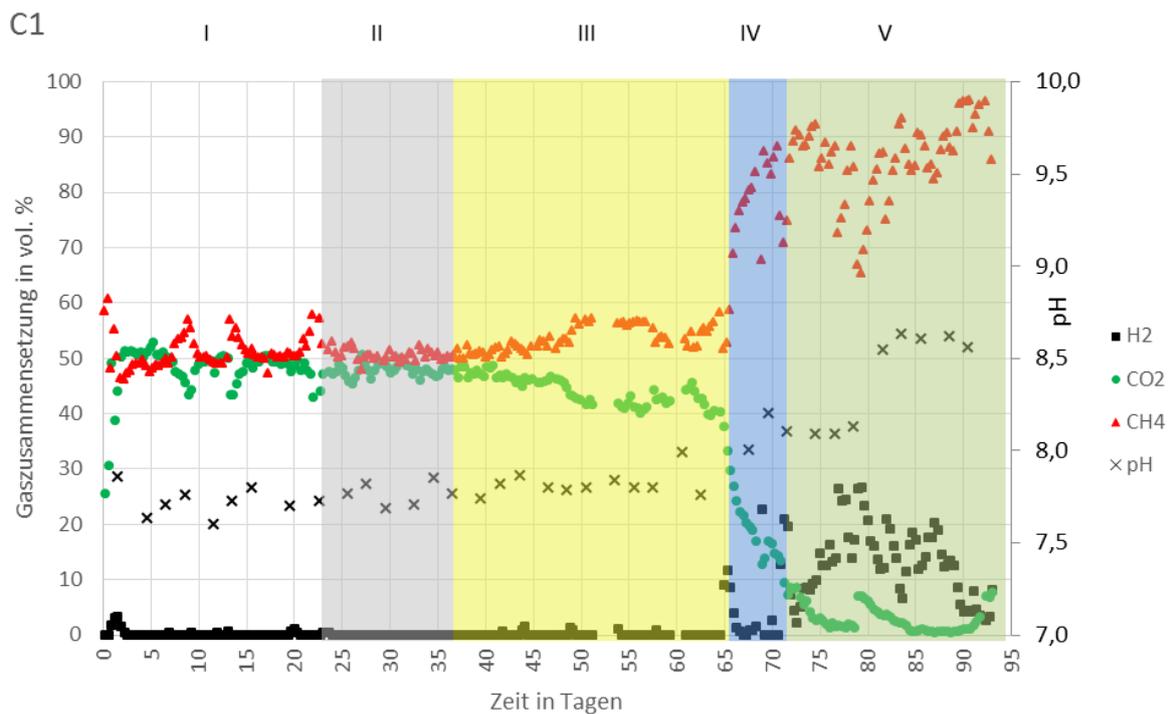


Abbildung 89 Biogaszusammensetzung und pH-Wert Reaktor von Reaktor C1, Laborteststand C. Betriebsweise in den einzelnen Phasen s. Tabelle 4 Erläuterungen s. Text.

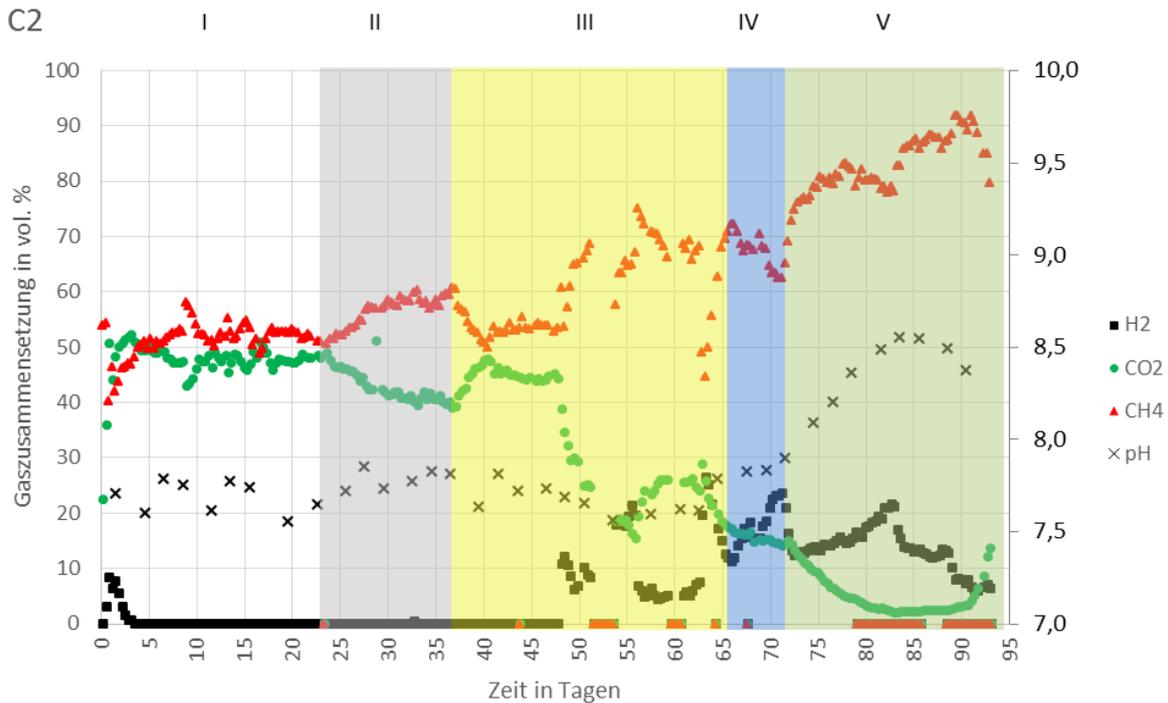


Abbildung 20 Biogaszusammensetzung und pH-Wert Reaktor von Reaktor C2, Laborteststand C. Betriebsweise in den einzelnen Phasen s. Tabelle 4 Erläuterungen s. Text.

Zum Vergleich ist in 21 exemplarisch Referenzreaktors C5 dargestellt. Referenzreaktor C6 zeigte einen ähnlichen Verlauf (Werte s. Anlage). Die Gaskonzentrationen im Biogas waren bis zum Versuchstag 67 konstant bei ca. 50 % Methan und 50 % Kohlendioxid. Anschließend stieg die Methankonzentration temporär etwas an, was möglicherweise auf die Verwendung einer neuen Aminosäurecharge zurückgeführt werden kann. Der pH blieb in C5 über den gesamten Versuchszeitraum relativ konstant zwischen 7,5 und 7,8.

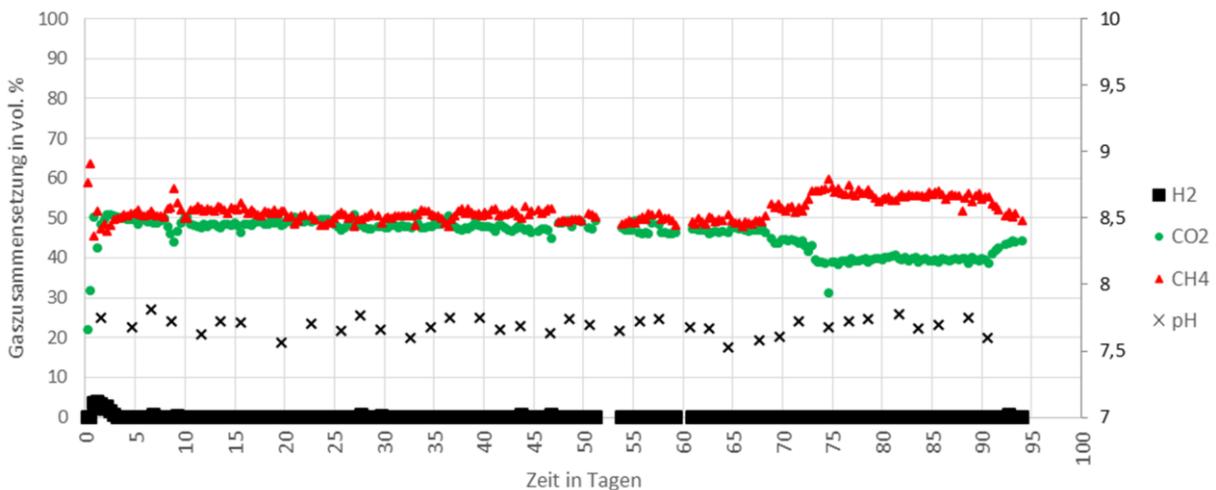
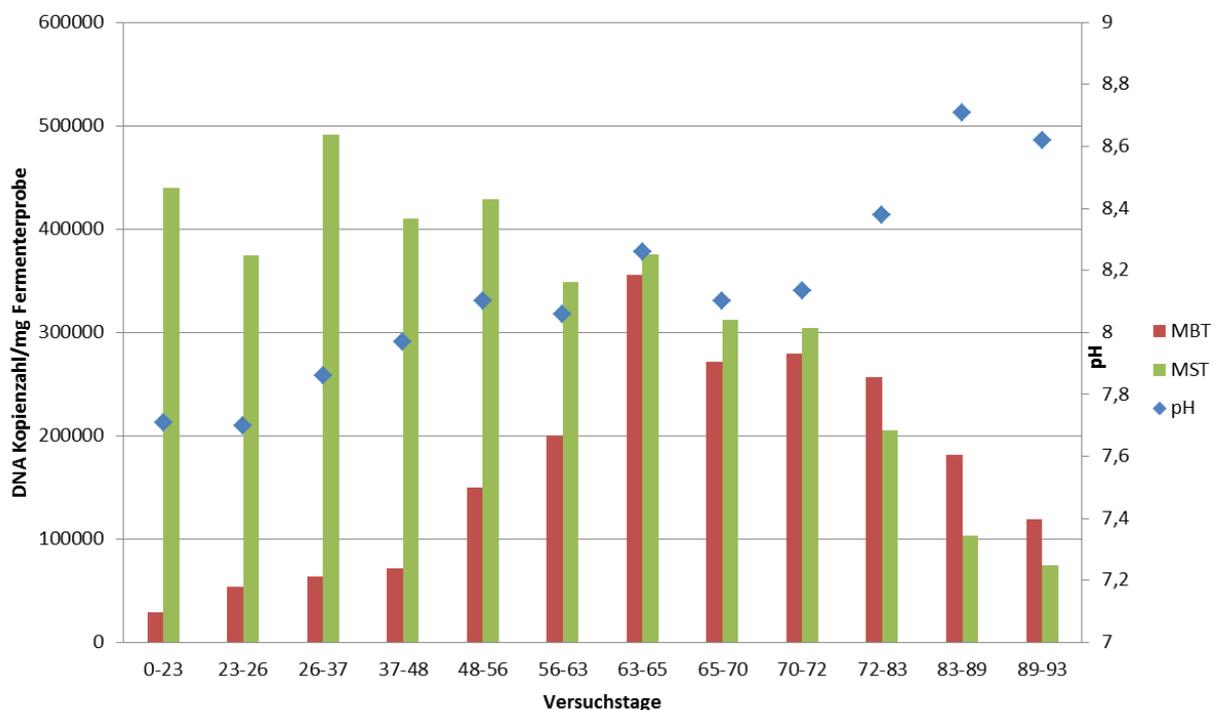


Abbildung 21 Biogaszusammensetzung und pH-Wert des Referenzreaktors C5, Laborteststand C.

Bis zum Zeitpunkt der Erstellung dieses Berichts wurden nur Untersuchungen zu Konzentrationen von Archaeen und -subpopulationen aus den Labortestständen C3 und Referenzreaktor C5 durchgeführt. Die Messungen sollten mögliche Prozessstörungen auf der Ebene der Mikroorganismen sowie Verschiebungen der Biozönose in Richtung wasserstoffverwertender Mikroorganismen bei Wasserstoffeinleitung zeigen. Neben der Gesamtarchaeenpopulation wurden jeweils repräsentative Vertreter acetoklastischer (Methanosaetaceae (MST)) und hydrogenotropher (Methanobacteriales (MBT)) Archaeen mit quantitativer Taqman Real time PCR bestimmt.

In Abbildung 22 sind die Konzentrationen von MST und MBT sowie die pH-Werte des Reaktors C3 dargestellt. Weitere Messergebnisse s. Anlage. Die dargestellten Werte wurden in Zeiträumen identischer Parameterführung zusammengefasst.



**Abbildung 22** Konzentrationen von Methanobacteriales (MBT), Methanosaetaceae (MSC) und pH-Wert in Reaktor C3. Erläuterungen s. Text.

Das Diagramm zeigt erwartungsgemäß einen Anstieg der hydrogenotrophen und eine Abnahme der acetoklastischen Archaeen durch die Wasserstoffeinleitung.

Mit dem Anstieg des pH-Wertes über 8,3 werden die Mikroorganismen geschädigt. Sowohl die Konzentration an MBT als auch an MST nimmt ab.

In Abbildung 23 sind zum Vergleich die entsprechenden Werte eines Referenzreaktors (C5) dargestellt. Ohne Wasserstoffeinleitung bleiben der pH-Wert sowie die Konzentrationen von MBT über den gesamten Versuchszeitraum weitgehend konstant. Die Konzentrationen von MST sind etwas weniger stabil und zeigen eine leichte Zunahme zum Ende des Versuchszeitraums hin.

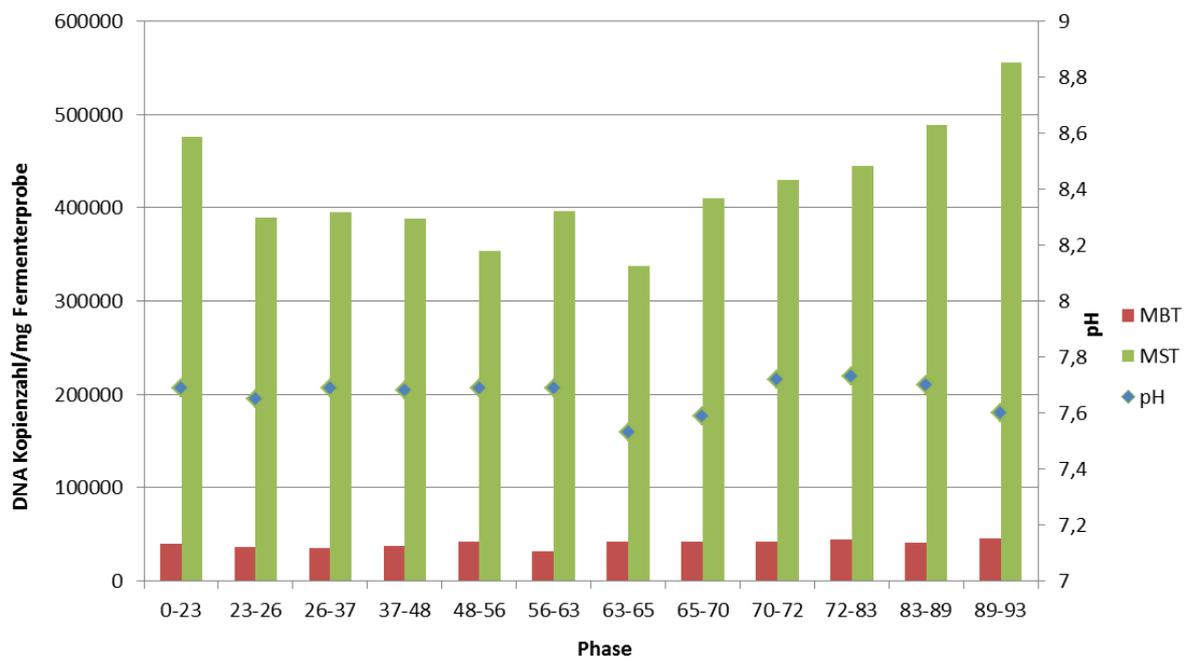


Abbildung 23 Kopienzahlen von Methanobacteriales (MBT), Methanosaetaceae (MSC) und pH-Wert in Reaktor C5. Erläuterungen s. Text.

## 5. Diskussion und Ausblick

### Reaktorentwicklung

Eine wesentliche Teilaufgabe des Projekts ARTHYMES bestand in der Entwicklung von geeigneten Reaktoren für die biologische in situ-Methanisierung. Da keine geeigneten Systeme kommerziell erhältlich waren, wurde ein vorhandener Teststand modifiziert und zwei weitere selbst konstruiert. Dabei waren verschiedene systemspezifische Herausforderungen zu lösen (vgl. 3.). Insbesondere bestand auch der Anspruch eines weitgehend automatisierten Betriebs, um den Personalaufwand möglichst klein zu halten. Es entstanden in aufwändiger Entwicklungsarbeit ein manuell betriebener (Laborteststand R) sowie zwei (teilautomatisierte) Testsysteme (Laborteststände C und KTR) für die biologische Methanisierung, die für unterschiedliche Einsatzzwecke geeignet sind. Hiermit konnten und können zukünftig parallelisiert und flexibel Tests zur Verbesserung der biologischen in situ - Methanisierung durchgeführt werden. Dies ist insbesondere vorteilhaft, da Biogasversuche i. d. R. sehr langwierig sind und aufgrund der Komplexität oft unerwartete Effekte auftreten, die einen monatelangen Verzug bedeuten können. Durch den parallelen Betrieb ist auch bei Ausfall einzelner Reaktoren ein Weiterführen des Gesamtversuchsansatzes möglich. Aufbauend auf den Erfahrungen bei der Entwicklung der ARTHYMES-Reaktorteststände sollen bei Fortführung des Projekts Anlagen im Technikumsmaßstab und Umbauten industrieller Biogasanlagen erfolgen.

### Versuche zur biologischen Methanisierung

Der durchgeführte Vorversuch zum Test verschiedener Begasungsarten zeigt, dass der Wasserstoffeintrag über Begasungseinrichtungen mit Biogaszirkulation für die biologische Methanisierung weniger geeignet ist. Zum Erreichen höherer Methankonzentration und geringem Restwasserstoffanteil in der Gasphase ist eine ausreichende Kontaktzeit und –oberfläche der Gasblasen mit der Flüssigphase notwendig. Dies ist nur erreichbar bei möglichst feindispersivem Gaseintrag, einer günstigen Reaktorgeometrie und einer ausreichenden Zirkulationsdauer. Sehr hohe Methankonzentrationen bei niedrigen Wasserstoffkonzentrationen im Produktgas, wie sie für eine Direkteinspeisung gefordert sind, können mit dieser Methode nicht ohne Weiteres erreicht werden. Die Methode ist zudem verfahrenstechnisch aufwändig und für einen kontinuierlichen Betrieb nur bedingt einsetzbar.

Die blasenfreie Membranbegasung scheint für die biologische Methanisierung besser geeignet zu sein und besitzt ein hohes Potential. Die Methankonzentration im Produktgas kann hiermit relativ einfach erhöht werden. Dabei steigt mit zunehmender Wasserstoffzufuhr auch die Methankonzentration, durch den damit einhergehenden Verbrauch des Kohlendioxids steigt jedoch auch der pH-Wert an. Dadurch ergibt sich unreguliert ein biologisches Limit für die Methanisierung von ca. 80-90 % Methan im Produktgas, da ansonsten der pH-Wert auf so hohe Werte (> 8,3) ansteigt, dass die Mikrobiologie geschädigt wird. Ähnliche Ergebnisse lieferten auch die Untersuchungen von Luo und Angelidaki (2013). Auch hier konnten durch Wasserstoffbegasung mit Hohlfasermembranen Methankonzentrationen von 90,2 % erreicht werden. Bei höheren H<sub>2</sub>-Flussraten lag zwar die erreichbare Methankonzentration mit 96,1 % höher, der pH-Wert stieg jedoch auf 8,3 und hemmte den anaeroben Prozess. Steigerung von Methangehalt und pH und die

gleichzeitige Abnahme an Bicarbonat korrelierten in diesen Versuchen mit der Steigerung der H<sub>2</sub>-Flussrate.

Der durch den Verbrauch des sauren und puffernd wirkenden Kohlendioxids bedingte pH-Anstieg wird auch theoretisch vorhergesagt in einem von Bensmann et al. (2014) entwickelten Modell für die biologische Methanisierung in Biogasanlagen.

In zukünftigen Versuchen sollte daher zum Erreichen hoher Methankonzentrationen von mehr als 90 % der pH-Wert konstant gehalten werden, um eine Wachstumshemmung der am anaeroben Abbau beteiligten Mikroorganismen (methanogene Archaeen ab ca. pH 8,0 (O'Flaherty et al. 1998)) zu verhindern. Dies könnte z. B. durch Fütterung saurer Substrate, wie Molke bzw. eine geeignete Pufferung erreicht werden. Die Molkefütterung zur Reduzierung des pH-Werts wurde im Labormaßstab bereits erfolgreich durch Luo & Angelidaki (2013b) getestet.

Bei Versuch 4.2.3. zeigt die Unterbrechung der Wasserstoffeinleitung bei hohem pH-Wert eine schnelle Erhöhung des CO<sub>2</sub>-Gehalts, eine gleichzeitige Erhöhung des pH-Werts und eine Stabilisierung des Betriebs. Dies zeigt die Bedeutung des CO<sub>2</sub> und deutet auch auf eine gewisse Anpassungsfähigkeit des Systems hin.

Bei Versuch 4.2.4. wurde temporär druckgeregelt begast. Wasserstoff diffundiert jedoch nicht nur aus dem Innern der Membran in die Flüssigphase des Reaktors, sondern es kommt auch zu einer Rückdiffusion von gebildetem Biogas in den Innenraum der Membran. Es zeigte sich, dass trotz der kurzen Fütterungsintervalle von zwei Stunden die Biogasbildung stark vom Zeitpunkt der Fütterung abhängt. Dadurch kommt es zu unterschiedlich starken Rückdiffusionsströmen in die Membran und zu entsprechenden Schwankungen der druckgeregelter Wasserstoffversorgung. Eine stromgeregelter Wasserstoffversorgung ist daher besser geeignet. Hiermit konnte eine konstante Wasserstoffzufuhr mit stabiler zusätzlicher Biogasproduktion erreicht werden. Bei Spitzenwerten der Wasserstoffzufuhr während der druckgeregelter Wasserstoffversorgung stieg zudem der Wasserstoffanteil im Produktgas, auch wenn noch genügend CO<sub>2</sub> zur Methanisierung zur Verfügung stand. Mit einem festen System in einem bestimmten stationären Zustand (Membranoberfläche/ Mikroorganismenkonzentration) lässt sich daher offensichtlich nur eine festgelegte Menge an Wasserstoff in für die Mikroorganismen verwertbarer Form (blasenfrei) einbringen. Bei Überschreiten einer Grenzkonzentration geht der Wasserstoff schnell ins Produktgas über und kann daher nicht vollständig von den Mikroorganismen verwertet werden. Daraus ergibt sich die maximal umsetzbare CO<sub>2</sub>-Konzentration in einem definierten System. Da die Reaktorkonfiguration im laufenden Betrieb nicht änderbar war, wurde zur Steigerung der erreichbaren Methankonzentration die Menge an gebildetem CO<sub>2</sub> durch Anpassung der Fütterungsrate reduziert. Auf diese Weise konnte die Methankonzentration auf bis zu 98 % erhöht werden. In weiteren Versuchen sollen Membrananordnung und Mikroorganismenkonzentration für das Erreichen eines maximalen CO<sub>2</sub>-Umsatzes optimiert werden.

Eine Inhibierung der Acetogenese durch die Einleitung von Wasserstoff wurde in den Versuchsreihen nicht festgestellt, da Biogas auch bei Wasserstoffeinleitung stabil weiterproduziert wurde. Wie weiter oben erläutert, scheint lediglich der pH-Wert einen limitierenden Faktor darzustellen.

Die Einleitung von Wasserstoff bewirkte, so lange der pH-Wert im tolerierten Bereich lag, wie erwartet eine Verschiebung der Archaeenpopulation in Richtung hydrogenotropher Untergruppen (vgl 4.2.4.). Dieser Trend könnte sich im stabilen pH-regulierten Langzeitbetrieb fortsetzen und sich weiter positiv auf die Methanbildungsrate auswirken.

Das Projekt ARTHYMES konnte zeigen, dass sich durch biologische - Methanisierung, bevorzugt mit Membranbegasung, der Methanertrag einer Biogasanlage deutlich steigern lässt. Eine moderate Erhöhung der Methankonzentration wurde schon unter suboptimalen Bedingungen erreicht. Bereits hierin liegt ein Mehrwert für die Biogasproduktion. Es werden nicht nur Substrate, sondern - bei einer Einspeisung ins Erdgasnetz- auch Kosten gespart. Das Ziel eines direkteinspeisefähigen Biogases ohne CO<sub>2</sub>-Abtrennung erfordert hingegen Anpassungen, da der pH-Wert reguliert werden muss. Beide Zielstellungen zeigen jedoch ein so hohes Verbesserungspotential für Biogasanlagen auf, dass in einem Folgeprojekt weitere Entwicklungsarbeiten durchgeführt werden sollten.

## 6. Experimenteller Teil

### 6.1. Laborteststände und Versuchsdurchführungen

#### Laborteststand R

##### Verwendete Materialien:

Beschreibung	Firma
Begasungssteine	Landefeld (IQSSD 40)
Gassäcke (5L; 2L)	Tesseraux
IR Gasmessgerät	Pronova
Kolbengasprober mit Kapillarhahn	Roth GmbH&Co.KG (HT31.1)
Laborteststand R	Bioprocess Control, erweitert um Gasstrecke
Membranpumpen	Gardner Denver Thomas GmbH (14100302)
SSM 6000 Labor C	Pronova
Micro GC 490 Biogas Analyzer	Agilent
Probenahme-Set	Carl Roth (C005.1)
Wasserstoff aus Gasflasche	Basi Schöberl GmbH & Co. KG

##### Versuchsaufbau und Betriebsweise:

Vgl. 4.1.2.1.

#### Laborteststand C

##### Verwendete Materialien:

Beschreibung	Firma
Gassäcke (5L; 2L)	Tesseraux
Laborteststand C	Eigenbau HS Offenburg
Micro GC 490 Biogas Analyzer	Agilent
Probenahme-Set	Carl Roth (C005.1)
Elektrolyseur E102	H-TEC Education

##### Versuchsaufbau und Betriebsweise:

Vgl. 4.1.2.2.

## KTR

### Verwendete Materialien:

Beschreibung	Firma
Gassäcke (5L; 2L)	Tesseraux
Micro GC 490 Biogas Analyzer	Agilent
Probenahme-Set	Carl Roth (C005.1)
Wasserstoff aus Gasflasche	Basi Schöberl GmbH & Co. KG
Elektrolyseur E102	H-TEC Education

### Versuchsaufbau und Betriebsweise:

Vgl. 4.1.2.3.

## Membranmodule

### Oxyplus-Membranmodul

#### Verwendete Materialien:

Beschreibung	Firma
2-K Kleber	UHU GmbH & Co. KG
Oxyplus® Kapillarmembran	Membrana GmbH

#### Herstellung des Membranmoduls:

Die Hohlfasermembran Oxyplus wird üblicherweise in Oxygenatoren eingesetzt. Diese sind Teil von Herz-Lungen-Maschinen und dienen der Anreicherung von Sauerstoff und der Reduktion von Kohlendioxid in Blut (Membrana GmbH 2015a). Die Membran hat für den Langzeitbetrieb der Oxygenatoren eine sehr dünne gaspermeable Schicht, die die Flüssigkeit nicht in die Hohlfaser eindringen lässt.

Für den Einbau in den Reaktor wurden 50 Membranen entsprechender Länge gebündelt und an den Enden in ein circa 50 mm langes Polyamid-Schlauchstück mit einem Innendurchmesser von 4 mm geklebt. Für das Kleben des Membranmoduls wurde ein 2-Komponenten-Epoxidharz verwendet. Die gebündelten Membranen wurden mit dem Klebstoff bestrichen und mit einem Drahtstück durch einen Polyamidschlauch gezogen. Das obere und untere Ende des Schlauchstückes wurde zusätzlich mit Klebstoff bestrichen. Nachdem der Kleber getrocknet war, wurde das obere Ende glatt aufgeschnitten, oder nach leichtem Einschneiden aufgebrochen. Die Kanten, an denen die Membranen aus dem Schlauch ragten, mussten dicht verklebt sein ohne die Kapillaren zu beschädigen. Die Dichtigkeit wurde getestet, indem das geklebte Membranmodul mit dem pneumatischen Anschluss des Wasserstoffteststandes verbunden und H<sub>2</sub> durch den Schlauch

geleitet. wurde. Das komplette Modul befand sich hierbei unter Wasser – aufsteigende Blasen zeigten die undichten Stellen auf.

Die Membran hatte einen Innendurchmesser von 200  $\mu\text{m}$  und eine Wanddicke von circa 90  $\mu\text{m}$ , der Außendurchmesser betrug 380  $\mu\text{m}$  (Membrana GmbH, 2015b).

## Silikonmembranmodul

### Verwendete Materialien:

Beschreibung	Firma
Silikonmembran (Innendurchmesser 1,6 mm, Außendurchmesser 4,8 mm)	Roth GmbH&Co.KG (CH 25.1)

### Herstellung des Membranmoduls:

Um eine möglichst große Membranoberfläche zu gewährleisten, wurde der Silikonschlauch mit Hilfe von 0,7 mm starkem Edelstahldraht stabilisiert und aufgewickelt. Anschluss und Dichtigkeitsprüfung erfolgten wie bei dem Oxyplus-Membranmodul.

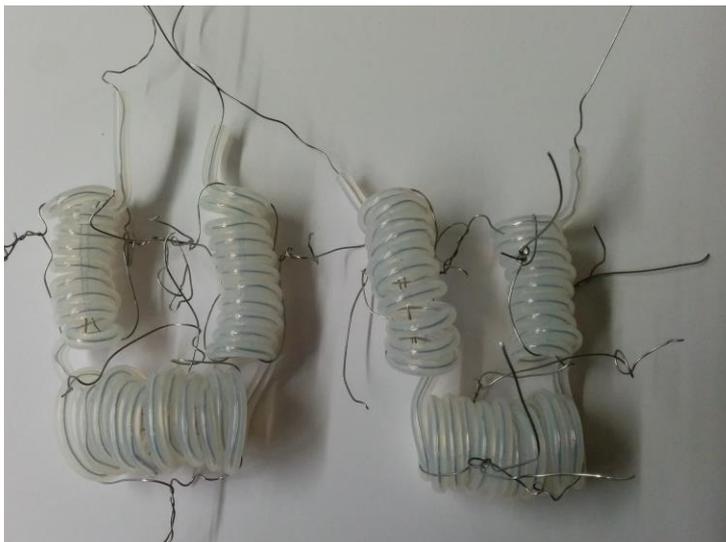


Abbildung 24 Gewickelter Silikonschlauch.

## Ansetzen der Reaktoren

Als Inokulum wurde für alle Reaktoren Klärschlamm aus dem Faulturm 2 der kommunalen Kläranlage in Griesheim Offenburg mit einem TS-Gehalt von ca. 3 % genutzt. Der oTS betrug ca. 2 %.

Die R- und C-Reaktoren wurden mit 1,8 - 1,9 L, der KTR mit 4 L Inokulum befüllt, inertisiert und einem Dichtigkeitstest unterzogen. Dazu wurde Stickstoff durch die Probenahmestelle in die Flüssigphase eingeleitet und alle Zu- und Ausgänge des Reaktors verschlossen. Das Aufsteigen von Gasblasen beim Eintauchen in Wasser zeigte zu behebbende Undichtigkeiten an. Der im Reaktor verbliebene Sauerstoff wurde anschließend durch Inertisieren mit Stickstoff ausgestrippt. Dazu

wurden alle Leitungen aus und in den Reaktor geöffnet, mit Stickstoff gespült und der Reaktor dann verschlossen. Der Reaktorbetrieb wurde zunächst ohne Substratzufuhr (zum Verbrauch der Nährstoffe aus dem Inoculum) gestartet. Nach 7 Tagen wurde mit der Fütterung begonnen und die Datenaufnahme gestartet.

## Medien

### Bezugsquellen:

Bezeichnung	Hersteller
Aluminiumchlorid-Hexahydrat	Merck KGaA
Ammoniumchlorid	Fluka AG
Borsäure	J.T. Baker
Calciumchlorid-Dihydrat	Roth GmbH & Co. KG
Cobalt(II)-chlorid-Hexahydrat	Riedel-de Haen AG
Dinatrium-EDTA-Dihydrat	Fluka AG
Eisen(II)-sulfat-Heptahydrat	Riedel-de Haen AG
Glukose Monohydrat	Roth GmbH & Co. KG
Kaliumchlorid	Merck KGaA
Kaliumdihydrogenphosphat	Roth GmbH & Co. KG
Kupfer(II)-chlorid-Dihydrat	Roth GmbH & Co. KG
Magnesiumchlorid-Hexahydrat	Merck KGaA
Mangan(II)-chlorid-Dihydrat	Merck KGaA
Natriummolybdat-Dihydrat	Merck KGaA
Natriumsulfat	Merck KGaA
Nickel(II)-chlorid	Merck KGaA
Zinksulfat-Heptahydrat	TH GEYER GmbH & Co. KG

## Medium nach Zang et al. (2013)

### Bestandteile des Mediums/L destilliertes Wasser:

Bestandteile	Menge/L
NH <sub>4</sub> Cl	500 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	200 mg
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	40 mg
KCl	50 mg
CaCl <sub>2</sub>	10 mg
MgCl <sub>2</sub> * 6H <sub>2</sub> O	70 mg
MnCl <sub>2</sub> * 4H <sub>2</sub> O	0,8 mg
CoCl <sub>2</sub> * 2 H <sub>2</sub> O	1,2 mg
FeSO <sub>4</sub> * 7H <sub>2</sub> O	3,2 mg
AlCl <sub>3</sub>	0,5 mg
NaMO <sub>4</sub> * 2 H <sub>2</sub> O	0,1 mg
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,2 mg
NiCl <sub>2</sub> * 6H <sub>2</sub> O	0,5 mg
CuCl * 2H <sub>2</sub> O	1,1 mg
ZnSO <sub>4</sub> * 2H <sub>2</sub> O	3,2 mg
EDTA (Na <sup>+</sup> )	3 mg

Als Kohlenstoffquelle diente Glukose. Alle Medienbestandteile wurden in destilliertem Wasser gelöst.

## Methanogenium Medium, modifiziert nach DSMZ 141

### 141. METHANOGENIUM MEDIUM (H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>)

KCl	0.34	g
MgCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O	4.00	g
MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	3.45	g
NH <sub>4</sub> Cl	0.25	g
CaCl <sub>2</sub> x 2 H <sub>2</sub> O	0.14	g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.14	g
NaCl	18.00	g
Trace elements (see below)	10.00	ml
Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O	2.00	mg
Na-acetate	1.00	g
Yeast extract (Oxoid)	2.00	g
Trypticase peptone (BD BBL)	2.00	g
Resazurin	1.00	mg
NaHCO <sub>3</sub>	5.00	g
Vitamin solution (see below)	10.00	ml
L-Cysteine-HCl x H <sub>2</sub> O	0.50	g
Na <sub>2</sub> S x 9 H <sub>2</sub> O	0.50	g
Distilled water	1000.00	ml

#### *Trace element solution:*

Nitrilotriacetic acid	1.50	g
MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	3.00	g
MnSO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O	0.50	g
NaCl	1.00	g
FeSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	0.10	g
CoSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	0.18	g
CaCl <sub>2</sub> x 2 H <sub>2</sub> O	0.10	g
ZnSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	0.18	g
CuSO <sub>4</sub> x 5 H <sub>2</sub> O	0.01	g
KAl(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> x 12 H <sub>2</sub> O	0.02	g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.01	g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> x 2 H <sub>2</sub> O	0.01	g
NiCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O	0.03	g
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> x 5 H <sub>2</sub> O	0.30	mg
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> x 2 H <sub>2</sub> O	0.40	mg
Distilled water	1000.00	ml

First dissolve nitrilotriacetic acid and adjust pH to 6.5 with KOH, then add minerals. Final pH 7.0 (with KOH).

#### *Vitamin solution:*

Biotin	2.00	mg
Folic acid	2.00	mg
Pyridoxine-HCl	10.00	mg
Thiamine-HCl x 2 H <sub>2</sub> O	5.00	mg
Riboflavin	5.00	mg
Nicotinic acid	5.00	mg
D-Ca-pantothenate	5.00	mg
Vitamin B <sub>12</sub>	0.10	mg
p-Aminobenzoic acid	5.00	mg
Lipoic acid	5.00	mg
Distilled water	1000.00	ml

Anstelle von CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> wurden Cellulose oder Glukose als C-Quelle eingesetzt. Auf Resazurin als Indikator wurde verzichtet.

Die Konzentrationen für jeweils 1 L wurden in 500 ml destilliertem Wasser angesetzt und anschließend mit der entsprechenden Menge an Glukoselösung gemischt. Cellulose wurde in 15 ml destilliertem Wasser suspendiert und 15 ml Medium hinzugegeben.

In der Versuchsreihe zur Entwicklung des standardisierten Substrats wurde in den Reaktoren R3 und R6 das Medium mit Faulschlamm ergänzt. Hierzu wurde eine homogenisierte Faulschlammprobe abzentrifugiert, aliquotiert und eingefroren. Nach Bedarf wurden die Proben aufgetaut und dem Medium zugeben.

## 6.2. Messtechnik

### Flüssigphase

#### FOS/TAC Wert Bestimmung

FOS (Flüchtige Organische Säuren) und TAC (Totales Anorganisches Carbonat) wurden entsprechend DIN 38409 H21 und DIN 38409 H7 durchgeführt.

#### Verwendete Materialien:

Material/Gerät	Hersteller
0,05 molare Schwefelsäure	Carl Roth
Bechergläser	Diverse Beschaffungsquellen
Destilliertes Wasser	HS Offenburg
Pufferlösungen (pH4 und pH7)	Carl Roth
Rührfisch	Carl Roth
SI Analytics TitroLine 6000 Titrator	SI Analytics

#### Durchführung:

Der FOS/TAC-Wert wurde titrimetrisch mit einem SI Analytics TitroLine 6000 Titrator bestimmt. Dazu wurden 10 mL Faulschlamm mit 40 mL destilliertem Wasser verdünnt und mit 0,05 molarer Schwefelsäure titriert. Der TAC-Wert wurde über das Volumen der verbrauchten Schwefelsäure bei der Titration bis zu einem pH-Wert von 5,0 berechnet. Der FOS-Wert wurde über das Volumen der verbrauchten Schwefelsäure bei der Titration derselben Probe von pH 5,0 auf pH 4,4 errechnet. Vor jeder Bestimmung wurde die pH-Elektrode des Titrators mit Pufferlösungen (pH: 4,0 und 7,0) kalibriert.

Die eingesetzte Elektrode war zusätzlich in der Lage den pH Wert zu messen. Dieser wurde zu Beginn der Messung erfasst und notiert.

## TS/oTS Bestimmung

Die Bestimmung der Trockensubstanz und der organischen Trockensubstanz erfolgten nach DIN EN 12880 und DIN EN 12879.

### Verwendete Materialien:

Material/Gerät	Hersteller
Exsikkator NS 24/29	Lenz
Muffelofen	Heraeus
Tiegel 459-0208 DIN	VWR
Trockenschrank	Memmert
Waage	Acculab

### Durchführung:

Die Proben wurden in getrocknete und gewogene Tiegel gefüllt und bei 105°C im Trockenschrank getrocknet. Nach ausreichender Abkühlung im Exsikkator wurden die Proben rückgewogen. Die Probe wurde so lange getrocknet, bis das Gewicht konstant blieb.

Der Anteil an organischer Trockensubstanz wurde durch die Verbrennung der getrockneten Probe im Muffelofen bei 550°C ermittelt. Als oTS bezeichnet man dann den Wert, der nach Abzug des Ascheanteils vom TS-Gehalt errechnet werden kann.

## Online pH-Analyse im KTR

Diese Analyse wurde nur im KTR probeweise durchgeführt.

### Verwendete Materialien:

Material/Gerät	Hersteller
PHEX-112-SE pH Elektrode	Prominent GmbH

### Durchführung:

Der pH-Wert sollte im KTR während der Fermentation kontinuierlich überwacht werden. Dazu wurde die PHEX-112-SE pH-Elektrode der Firma Prominent in die Messkette des Versuchsstandes eingebaut, so dass der Faulschlamm während der Fermentation kontinuierlich um die Elektrode gepumpt wurde. Bei der pH-Elektrode handelte es sich um eine Elektrode mit einem Feststoffelektrolyt, welcher laut Hersteller für den Einsatz in Suspensionen, Emulsionen und Schlämmen geeignet ist (Prominent GmbH, 2015).

Nach einer Woche Einsatz im Faulschlamm war die pH-Elektrode bereits nicht mehr funktionsfähig und es musste auf die pH-Wertbestimmung bei der FOS/TAC-Analyse zurückgegriffen werden.

## Online Redoxpotential-Analyse im KTR

Diese Analyse wurde nur im KTR probeweise durchgeführt.

### Verwendete Materialien:

Material/Gerät	Hersteller
Redox-Sensor RHEX-Pt-SE	Prominent GmbH

### Durchführung:

Das Redoxpotential sollte während der Fermentation kontinuierlich mit einer Elektrode überwacht werden. Dazu wurde der Redox-Sensor RHEX-Pt-SE der Firma Prominent in die Messkette des Versuchsstandes eingebaut, sodass der Faulschlamm während der Fermentation kontinuierlich um die Elektrode gepumpt wurde. Bei der Redoxpotential-Elektrode handelte es sich um eine Elektrode mit einem Feststoffelektrolyt, welche laut Hersteller für den Einsatz in Suspensionen, Emulsionen und Schlämmen geeignet ist (Prominent GmbH, 2015).

Nach ca. einer Woche Betriebsdauer zeigte auch die Redoxelektrode keine korrekten Werte mehr an. Beim Abgleich mit einer Referenz Lösung mit einem Redoxpotential von 220 mV wurde ein Wert von 187 mV gemessen, zu Beginn der Fermentation war der Abgleich beider Werte korrekt. Ein Reinigungsversuch mit einer Pepsinlösung blieb erfolglos.

## Bestimmung der Wasserstoffkonzentration der Flüssigphase im KTR

Diese Analyse wurde nur im KTR probeweise durchgeführt.

### Verwendete Materialien:

Material/Gerät	Hersteller
Amperometrischer Wasserstoff-Mikrosensor	AMT GmbH

### Durchführung:

Der angeschaffte Sensor konnte die Menge an gelöstem Wasserstoff nur in Wasser bestimmen. Der Mikrosensor wurde zur Charakterisierung der Membran verwendet.

## Mikrobiologische Analysen

### Verwendete Materialien:

#### Kits:

Methode	Herstellerbezeichnung	Hersteller
DNA-Aufreinigung	GeneMatrix Stool DNA Purification Kit	ROBOKLON GMBH
DNA-Konzentration	Qubit dsDNA BR Assay Kit	Life Technologies

#### Geräte:

Gerät	Herstellerbezeichnung	Hersteller
Autoklav	Tuttnauer Autoklav Steam Sterilizer 3850 EL	Tuttnauer Europe B.V.
Labdancer	Vortex Mixer	Labnet International
Laminar-Flow-Werkbank	Mikrobiologische Sicherheitswerkbank Klasse II nach EN 12469	Luft- und Reinraumtechnik GmbH
PCR Gerät	Eppendorf realplex Mastercycler ep gradient S	Eppendorf
Pipetten (diverse)	Eppendorf research	Eppendorf
Tischzentrifuge	Heraeus Fresco 17, 16R	Thermo Scientific®
Waage	ATL-623-I (d = 0,001 g)	Sartorius®
Wasserbad	Memmert Typ W200	Memmert GmbH + Co. KG
Fluorometer	Qubit 2.0	Life Technologies
Gasmessung	ProNova SSM 6000	Pronova Analysetechnik GmbH & Co. KG

#### Verbrauchsmaterialien:

Verbrauchsmaterial	Hersteller
Pipettenspitzen (diverse)	Eppendorf
Masterclear real-time PCR Film adhesive	Eppendorf
Reaktionsgefäß (1,5 und 2 mL), Safe Lock	Eppendorf
Twin. – Tec PCR Plate 96, unskirted	Eppendorf
Latex-Untersuchungshandschuhe Gr. L	Geyer
Ethanol	Geyer

Master Mix:

Herstellerbezeichnung	Hersteller
RealMasterMix Probe 2,5X-200Rxn	5Prime

Alle Primer und Sonden wurden von APARA-BIOSCIENCE hergestellt. Die jeweiligen Sequenzen beruhen dabei auf publizierten Veröffentlichungen von (Nettmann, et al. 2008) und bereits durchgeführten Arbeiten von M. Armbruster (Armbruster, 2012), K. Haas (Haas, 2011) und S. Roth (Roth, 2014).

Real-Time qPCR Sets mit Primer- und Sondensequenzen:

Art	Name Set	Forward Primer (5'–3') Reverse Primer (5'–3') Sonde (5'–3')	Amplifikationslänge
16SrDNA Archaeen	Arch	Archfw: ATTAGATACCCSBGTAGTCC Archrev: GCCATGCACCWCCTCT ArchTaqman: AGGAATTGGCGGGGAGCAC	~ 273
16SrDNA Methanobacteriales	MBT	Mbacfw: CGWAGGGAAGCTGTTAAGT Mbacrev: TACCGTCGTCCACTCCTT MbacTaqman: AGCACCACAACGCGTGGA	~ 343
16SrDNA Methanomicrobiales	MMB	Mmicfw: ATCGRTACGGGTTGTGGG Mmicrev: CACCTAACGCRCATHGTTTAC MmicTaqman: TYCGACAGTGAGGRACGAAAGCTG	~ 506
16SrDNA Methanosarcinaceae	MSC	Mscfw: GAAACCGYGATAAGGGGA Mscrev: TAGCGARCATCGTTTACG MscTaqman: TTAGCAAGGGCCGGGCAA	~ 408
16SrDNA Methanosaetaceae	MST	Msaetfw: TAATCCTYGARGGACCACCA Msaetrev: CCTACGGCACCRCMAC MsaetTaqman: ACGGCAAGGGACGAAAGCTAGG	~ 164

Alle Standards der Archaeenuntergruppen enthalten auch die Sequenzen für die Gesamtarchaeen. Für die hier durchgeführten Messreihen zur Bestimmung der Gesamtarchaeenkonzentrationen wurde zunächst der MMB-, später der MST- Standard verwendet.

Für die Herstellung der Standard-DNA wurden die relevanten DNA-Abschnitte durch Vergleich mit den entsprechenden Sequenzen der Datenbank GenBank ermittelt. Die DNA-Abschnitte wurden anschließend von EUROFINS in Plasmide von E. coli inkloniert.

Verwendete Arten für die Archaeen-Standards:

Standard	Ordnung/Familie	Art	DSM
MMB	O: Methanomicrobiales	Methanoculleus bourgensis	3045
MBT	O: Methanobacteriales	Methanobacterium formicium	1535
MST	F: Methanosaetaceae	Methanosaeta concilii	2139
MSC	F: Methanosarcinaceae	Methanosarcina bakeri	800

## Durchführung:

### DNA-Aufreinigung:

In dieser Arbeit wurde das GeneMatrix Stool DNA Purification Kit von ROBOKLON verwendet. Das Kit beinhaltet alle benötigten Puffer, sowie alle speziellen Gefäße, wie „spin-binding column“ und „bead tubes“. Des Weiteren werden 1,5 bzw. 2 mL Reaktionsgefäße und mind. 98 % reines Ethanol benötigt. Bei der Aufreinigung wurde nach der Anleitung in Abbildung 25 vorgegangen, wobei die DNA im letzten Schritt mit 100 µL Elutionspuffer von der Säule getrennt wurde. Jede Probe wurde doppelt aufgereinigt, um eine Doppelbestimmung durchzuführen.

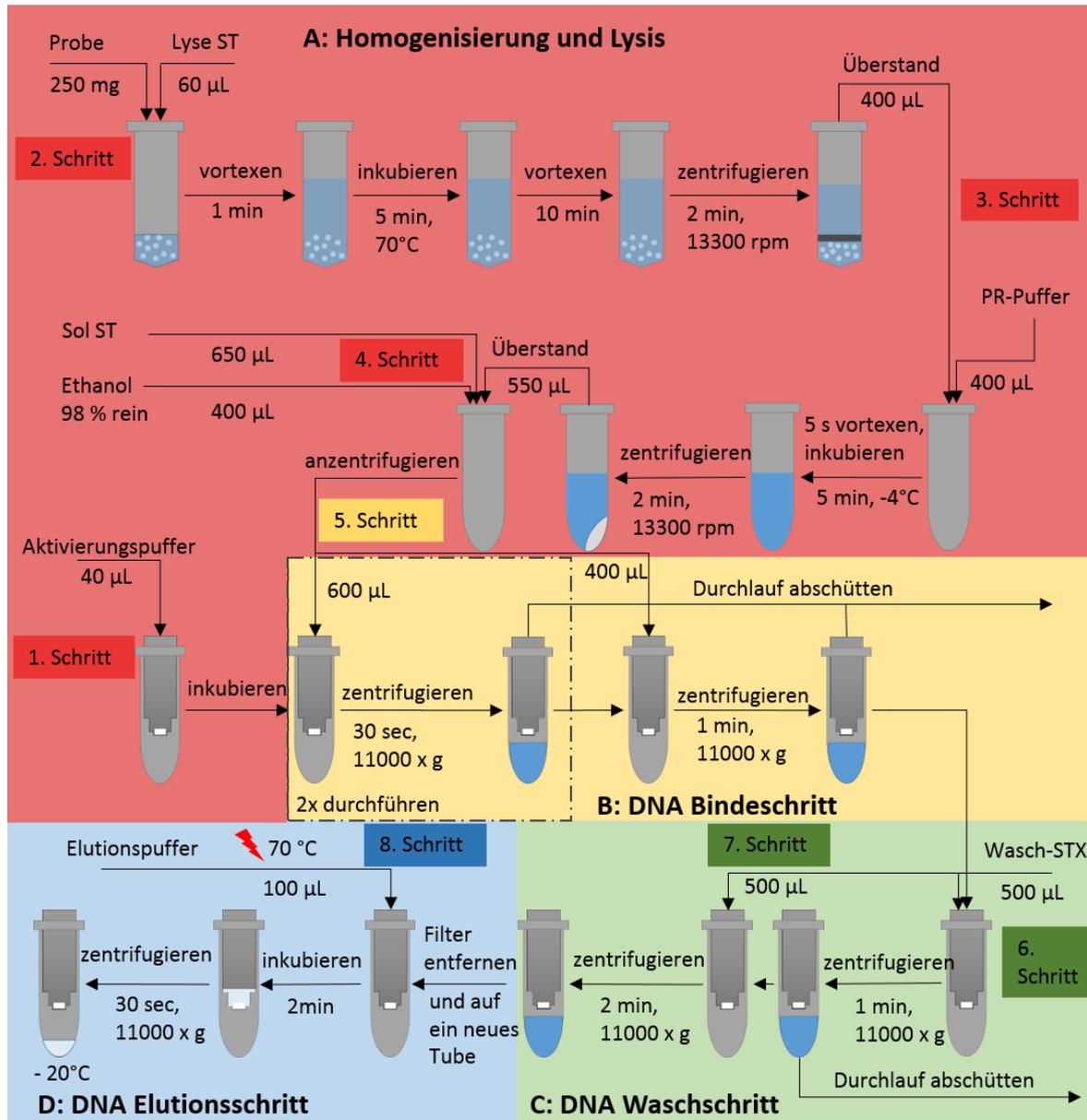


Abbildung 25 Aufreinigung von DNA mit dem GeneMatrix Stool DNA Purification Kit (Roboklon, 2008).

## DNA-Konzentrationsmessung und Verdünnung:

Die Konzentration an DNA wurde mit dem Qubit Assay Kit für doppelsträngige DNA (Broad-range) gemessen. Es wurde eine Kalibrationsgerade mit Hilfe der beiden mitgelieferten Standards erstellt.

Alle Proben wurden anschließend mit autoklaviertem, vollentsalztem Wasser auf 1 ng/ $\mu$ L verdünnt.

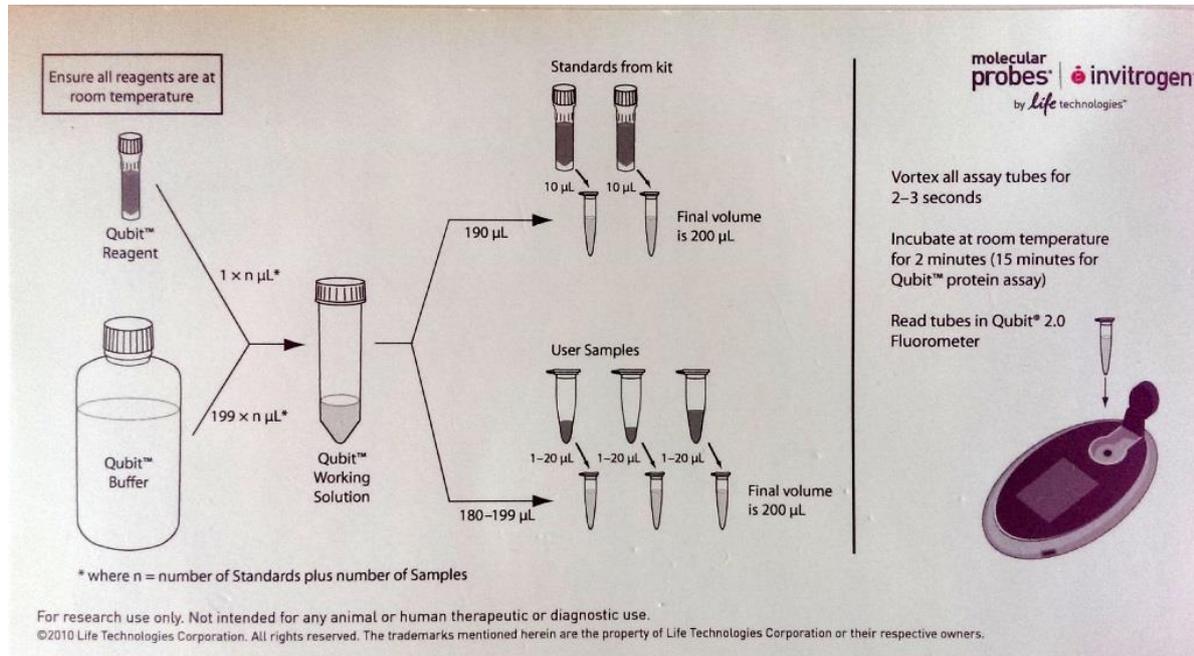


Abbildung 26 Anleitung für die Messung der DNA-Konzentration mit dem Qubit Assay Kit (Invitrogen).

## Übersicht über die Konzentrationen der Standardreihen:

Konzentration	Konzentration	Kopien im Ansatz
Standard 0	$1,5 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$
Standard 1	$1,5 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$
Standard 2	$1,5 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$
Standard 3	$1,5 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^3$
Standard 4	$1,5 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^2$
Standard 5	$1,5 \cdot 10^1$	$3 \cdot 10^1$

### PCR:

Auf jeder PCR-Platte wurden drei Standards und eine Negativprobe jeweils dreimal bestimmt. Jede aufgereinigte Probe wurde doppelt bestimmt. Durch die doppelte Aufreinigung ergibt sich eine Vierfachbestimmung je Probe.

### Pipettierschema:

Komponente	Vorliegende Konzentration	Zu pipettierende Menge	Endkonzentration im Ansatz
Forward Primer	10000 nM	1,8 µL	720 nM
Reverse Primer	10000 nM	1,8 µL	720 nM
TaqMan-Sonde	5000 nM	1 µL	200 nM
RealMasterMix Probe	2,5X	10 µL	1X
Dest. Wasser		8,4 µL	
Probe	1 ng/µL	2 µL	0,08 ng

### PCR-Programme:

Zu Beginn jeder PCR wurde der Block für 2 Minuten auf 95°C gehalten, bevor der erste Zyklus startete.

Real-Time qPCR Temperatur- und Zyklen-Programme der jeweiligen Sets (Nettmann et al. 2008), (Armbruster, 2012), (Haas, 2011):

Primerset	Denaturierung	Annealing	Elongation	Zyklenzahl
Archaeen	15 s / 95°C	-	60 s / 60°C	45
Methanobacteriales	15 s / 95°C	30 s / 54°C	60 s / 60°C	45
Methanomicrobiales	15 s / 95°C	-	60 s / 60°C	45
Methanosarcinaceae	15 s / 95°C	30 s / 50°C	60 s / 60°C	45
Methanosaetaceae	15 s / 95°C	30 s / 50°C	60 s / 60°C	45

# Gasphase

## Verwendete Materialien:

Material/Gerät	Hersteller
12 Port Selction Valve	Teckso
Argon 5.0	Basi Schöberl GmbH & Co. KG
Helium 5.0	Basi Schöberl GmbH & Co. KG
Micro GC 490 Biogas Analyzer CP-Molsieve 5A Säule CP-PoraPLOT U Säule	Agilent Technologies
Mikro-Volumenstrom-Gaszähler	Ritter
SSM 6000 Labor	Pronova

## Durchführung:

### Gasvolumenstrom

Die Ermittlung des Gasvolumenstroms wurde mit Mikro-Volumenstrom-Gaszählern nach Herstellerangaben bestimmt und in Normliter umgerechnet.

### Gaszusammensetzung

Beim Laborteststand R wurde die Gaszusammensetzung IR-basiert mit einem Messgerät der Firma Pronova entsprechend der Herstellerangaben gemessen. Aufgrund bestehender Querempfindlichkeiten wurden bei Versuchen mit Wasserstoffzugabe zusätzliche Messungen mit GC durchgeführt.

Bei Laborteststand C und KTR wurde die Gaszusammensetzung gaschromatographisch bestimmt. Zur Auftrennung der verschiedenen Gasbestandteile besitzt der Gaschromatograph zwei verschiedene Trennsäulen. Zur Trennung von Methan, Sauerstoff, Stickstoff und Wasserstoff wurde die CP-Molsieve 5A Säule verwendet, als Trägergas wurde Argon genutzt. Zur Abtrennung von Kohlenstoffdioxid aus dem Gasgemisch wurde die Säule CP-PoraPLOT U mit dem Trägergas Helium verwendet. Bevor das Biogas analysiert wurde, mussten die Säulen bei 180°C ausgeheizt werden. Das Biogas wurde mit einer Temperatur von 110°C in die Säulen injiziert, bei 80°C aufgetrennt und anschließend detektiert. Die Auswertung des Chromatogramms erfolgte mit der Software „OpenLAB ControlPanel“. Die aktuelle Gaszusammensetzung der Biogasreaktoren wurde alle acht Stunden bestimmt. Für die ermittelten Werte wird ein systembedingter Fehler von  $\pm 5\%$  angenommen. Dieser Fehler resultiert aus dem Aufbau des GC's. Jede Säule besitzt ein eigenes Ventil, dessen Öffnungszeit die Injektionsmenge bestimmt. Deshalb kann es zu leichten Abweichungen in der injizierten Menge an Probe kommen. Außerdem wurde ein externer Standard genutzt, der weitere Ungenauigkeiten verursacht.

Für die Messung wurden zwei verschiedene Methoden benötigt. Die Regenerationsmethode wurde genutzt um mögliche Verunreinigungen der Säule in Form von Kondenswasser auf der Säule (hauptsächlich der CP-Molsieve) zu entfernen. Die Messmethode wurde bei niedrigeren Temperaturen gefahren und ausschließlich zum Messen benötigt. Die genauen Daten sind Tabelle 4 zu entnehmen.

**Tabelle 4. Parameter für die Messung der Gaszusammensetzung über GC**

	Measuring		Regeneration	
	Channel 1	Channel 2	Channel 1	Channel 2
Injector temp.	110 °C	110 °C	110 °C	110 °C
Injection time	40 ms	40 ms	40 ms	40 ms
Backflush time	5.5 s	8.0 s	5.5 s	8.0 s
Column temp.	80 °C	80 °C	180 °C	180 °C
Pressure mode	Static	Static	Static	Static
Initial pressure	200 kPa	150 kPa	200 kPa	150 kPa
Detector state	✓	✓	X	X
TCD temp. limit check	✓	✓	✓	✓
Invert signal	✓	X	✓	X
Sensitivity	Auto	Auto	Auto	Auto
Acquire channel	✓	✓	✓	✓
Sampling frequency	100 Hz	100 Hz	100 Hz	100 Hz
Run time	180 s	180 s	180 s	180 s

Die Messmethode wurde direkt von dem GC geladen und die Messung automatisch ausgeführt. Der Ablauf war in einer Messsequenz verankert. Separat davon wurde ein Multipositionsventil betrieben, welches die Messstelle auswählt.

## 6. Öffentlichkeitsarbeit

### 2016

#### Vorträge

1. Zell, C.: Biogas Upgrading by In situ Methanation of Hydrogen in a Membrane Biogas Reactor. Annual World Congress of Industrial Biotechnology, 16.-18. März 2016, Seoul (Südkorea)

#### Publikationen

1. Hochberg, U., Zell, C. (2016): Biologische Methanisierung von Wasserstoff in Biogasanlagen. Forschung im Focus, Ausgabe 19, Hochschule Offenburg

### 2015

#### Publikationen

1. Zell, C.; Hochberg, U., Martini, M. (2015): ARTHYMES (ARchaea Transform Hydrogen to Methane for Energy Storage) - Einfluss unterschiedlicher Begasungstechniken auf die biologische Methanisierung von Wasserstoff. Forschung im Focus, Ausgabe 18, Hochschule Offenburg, S. 38-39

#### Abschlussarbeiten

1. Martini, M. (2015): Biologische Methanisierung von Wasserstoff in Biogasreaktoren. Bachelor Thesis Hochschule Offenburg
2. Geara, S. (2015): Inbetriebnahme und Test eines Technikumversuchsstandes zur kontinuierlichen in situ-Methanisierung. Bachelor Thesis Hochschule Offenburg
3. Bauer, A. (2015): The Application of Pressurized Hollow Fiber Membranes for In situ Methanation of Hydrogen in an Automated Biogas Test Bench. Master Thesis Hochschule Offenburg

#### Presse

1. Power to gas – Biologische Methanisierung. Rundfunkbeitrag SWR Mai 2015, Interview mit Dr. Michael Seidel, Leiter Hörfunk SWF

# 2014

## Publikationen

1. Zell, C.; Hochberg, U. (2014): ARTHYMES – Ein Ansatz zur Methanisierung von Wasserstoff. Forschung im Focus, Ausgabe, 17, Hochschule Offenburg, S. 36-38
2. Zell, C.; Hochberg, U.; Noguera, S. Haas, K. (2014): ARTHYMES (Archaea Transform Hydrogen to Methane for Energy Storage). Chem. Ing. Tech. 86 (9) 1359

## Abschlussarbeiten

1. Noguera, Santiago (2014): Methanation of hydrogen and carbon dioxide as a means for direct methane productivity enhancement in biogas digester. Master Thesis Hochschule Offenburg.
2. Brucker, M.; Frietsch, M.; Graf, P. V.; Haberstroh, M.; Heck, M.; Jurdt, T.; Martin, D.; Singler, J.; Witos, Y. A.; Zimmermann, J. (2014): Archaea Transform Hydrogen to Methane for Energy Storage (ARTHYMES). Studienarbeit Hochschule Offenburg, unveröffentlicht.

# Literatur

- Bensmann, M. (2013). Biomethan: Wind- und Sonnenstrom um Gasnetz parken. . *BIOGAS Journal* , 16 ff.
- Bensmann, A., Hanke-Rauschenbach, R., Heyer, R., Kohrs, F., Benndorf, D., Reichl, U., Sundmacher, K. (2014). Biological methanation of hydrogen within biogas plants: A model-based feasibility study. *Applied Energy* 134, S. 413-425.
- Burkhardt, M., Koschack, T., & Busch, G. (2015). Biocatalytic methanation of hydrogen and carbon dioxide in an anaerobic three-phase system. *Bioresource Technology* 178, S. 330-333.
- Dröge, S., Kreubel, J., & König, H. (2015). Biologische Methansierung im Rieselstrom-Reaktor unter thermophilen Bedingungen . *Biologische Methanisierung* (S. 47-57). Regensburg : Otti .
- FNR e. V. (2007). "Messen, Steuern, Regeln bei der Biogaserzeugung." . *Gülfower Fachgespräche, Band 27*.
- EPEX. (2013). Abgerufen am 21. 10 2013 von <http://www.epexspot.com/en/market-data/intraday/intraday-table/3013-10-03/DE>
- GmbH, M. (2015b). Datenblatt OXYPLUS Capillary membrane Type PMP 90/200.
- GmbH, M. (kein Datum). *OXYPLUS*. Abgerufen am 16. 02 2015a von <http://www.membrana.com/index.php/blood-oxygenation-products/oxyplus>
- GmbH, P. (2015). Mess-, Regel- und Sensortechnik: Produktkatalog .
- Graf, W. (2013). *Patentnr. DE 10 2009 053 593 B4*.
- Hafenbrandl, D. (2015). Energiespeicherung mit Archaeen - der Weg vom Labor zum Verbraucher . *Biologische Methanisierung* (S. 71-74). Regensburg : Otti.
- Karlsson, A., & Ejlertsson, J. (2012). Addition of HCl as a means to improve biogas production from protein-rich food industry waste. . *Biochemical Engineering Journal* 61, S. 43-48.
- Krajete, A. (2012). *Patentnr. WO 2012/110256 A1*.
- Luo, G., & Angelidaki, I. (2013). Hollow fiber membrane based H<sub>2</sub> diffusion for efficient in situ biogas upgrading in an anaerobic reactor . *Appl Microbiol Biotechnol* 97, S. 3739-3744.
- Luo, G., & Angelidaki, I. (2013b). Co- digestion of manure and whey for in situ biogas upgrading by the addition of H<sub>2</sub>: process performance and microbial insights. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, S. 1373-1381.
- Mörs, F., Götz, M., Graf, F., & Bär, K. (2015). Vergleich von biologischen und katalytischen Methansierungskonzepten. *Biologische Methansierung* (S. 21-30). Regensburg : Otti.

- O'Flaherty, V., Mahony, T. O., & Colleran, E. (1998). Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria. . *Process Biochem.* 33, Vol 5 , S. 555-569.
- Rutz, D., Mergner, R., & Janssen, R. (2012). Nachhaltige Wärmenutzung von Biogasanlagen. . *WIP Renewable Energies* 978-3-936338-30-0.
- Schink, B. (1997) Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61 (2), S. 262-280.
- Schmack, D. (2013). Bio-Charge - Umwandlung elektrischer Energie direkt in der Biogasanlage. . *Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.* .
- TransnetBW. (10. 11 2015). Abgerufen am 25. 11 2015 von <https://www.transnetbw.de/de/kennzahlen/erneuerbare-energien/fotovoltaik?app=solar&activeTab=graph&auswahl=day&date=10.11.2015&selectMonat=0&selectJahr=2015>
- Vogel, A. (2012). Herausforderungen und Innovationen der Energiespeicherung - Fokus Power to Gas. . *gwf-Gas/Erdgas* 3, S. 658-664.
- Zhang, F.; Ding, J.; Zhang, Y.; Chen, M.; Ding, Z.; Van Loosdrecht, M.; Zeng, R. (2013) Fatty acids production from hydrogen and carbon dioxide by mixed culture in the membrane biofilm reactor. *SciVerse ScienceDirect, Water research* 47. Seiten 6122-6129.

# Anlage A: Projekterkenntnisse

**Darstellung drei wesentlicher Erkenntnisse aus dem Projekt.**

1.	Durch Einbringen von Wasserstoff über blasenfreie Membranbegasung in Biogasanlagen kann ohne pH-Regulation die Methankonzentration im Rohbiogas auf 80-90 % gesteigert werden. Dabei steigt der pH-Wert an, wird aber noch von der Mikrobiologie toleriert. Die Wasserstoffkonzentration im Produktgas liegt bei wenigen Prozent. Der eingespeiste Wasserstoff wird nahezu vollständig umgesetzt.
2.	Methankonzentrationen von nahezu 100 % werden ohne pH-Regulation nur temporär erreicht, da der durch den CO <sub>2</sub> -Verbrauch auftretende extreme pH-Wert zu Schädigungen der Mikrobiologie führt. Ein Langzeitbetrieb mit solch hohen Methankonzentrationen ist jedoch bei pH-Regulation/Pufferung denkbar.
3.	Neben hochgasdurchlässigen, relativ teuren Membranen scheinen unter Berücksichtigung der Grenzwerte für die blasenfreie Begasung auch preisgünstigere Membranmaterialien geeignet zu sein. Die im Projekt getesteten Membranen zeigten kaum Biofilmbildung, so dass sie bei ausreichender Stabilität vermutlich auch längerfristig eingesetzt werden können.

## **Anlage B: CD-Rom mit Originalmesswerten**