

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg
Fakultät Life Sciences

**Einfluss der verzögerten Substratzugabe (Refeed)
zu lyophilisierten anaeroben Inokula auf die
Methangasbildung**

Bachelor Thesis

Biotechnologie

vorgelegt von

Pawel Pasternak



Hamburg

30. August 2019

Erster Gutachter: Prof. Dr. Gesine Cornelissen (HAW Hamburg)
Zweiter Gutachter: Dr.-Ing. Nils Wieczorek (TUHH)

Die Bachelor Thesis wurde betreut und erstellt im Labor des Instituts für Umwelttechnik und Energiewirtschaft der Technischen Universität Hamburg
Betreuer: Dipl.-Ing. Jörn Heerenklage

Inhaltsverzeichnis

| | |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| Formeln | |
| Abkürzungsverzeichnis..... | |
| Abbildungsverzeichnis | |
| Tabellenverzeichnis..... | |
| 1 Einleitung..... | 1 |
| 2 Theorie..... | 2 |
| 2.1 Biogas- und Methangasbildung | 2 |
| 2.2 Archaeen..... | 3 |
| 2.3 Konservierung..... | 4 |
| 2.4 Der biochemische Methanpotentialtest BMP | 5 |
| 2.5 Testsystem..... | 5 |
| 2.6 Vergleichbarkeit | 6 |
| 2.7 Modellierung nach Gompertz..... | 6 |
| 3 Aktuelle Forschungen..... | 7 |
| 4 Material und Methoden | 8 |
| 4.1 Inokulum | 8 |
| 4.2 Nährmedium und Pufferkapazität..... | 8 |
| 4.3 Substrate..... | 9 |
| 4.4 Konservierung mittels Lyophilisierung..... | 9 |
| 4.5 Durchführung des BMP-Tests | 10 |
| 4.6 Feststellung der Biogaszusammensetzung mittels Gaschromatographie | 11 |
| 4.7 Auswertungsgrundlage: VDI4630 | 11 |
| 4.7.1 Berechnung des Trockenrückstandes..... | 12 |
| 4.7.2 Berechnung des organischen Trockenrückstandes | 12 |
| 4.7.3 Berechnungen der Biogaswerte | 13 |
| 4.7.4 Berechnungen der Methanwerte | 15 |
| 4.7.5 Abbruchkriterien des Versuchs | 15 |
| 5 Ergebnisse..... | 16 |
| 5.1 Ergebnisse der Refeed-Untersuchung | 16 |
| 5.1.1 Blindproben..... | 17 |

| | | |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1.2 | Referenzproben | 20 |
| 5.2 | Ergebnisse - Vergleich der Voruntersuchung nach Graage und des Refeeds mit Gompertz (Biogasentwicklung) | 25 |
| 5.3 | Ergebnisse im direkten Vergleich..... | 30 |
| 6 | Diskussion..... | 31 |
| 7 | Zusammenfassung und Ausblick..... | 35 |
| 8 | Literatur- und Quellenverzeichnis | 36 |
| 9 | Eidesstattliche Erklärung..... | 38 |

Formeln

- (0-1) Modellierung nach Gompertz, S. 6
- (0-2) Berechnung des Trockenrückstandes, S. 12
- (0-2) Berechnung der organischen Trockenmasse, S. 12
- (0-3) Berechnung der organischen Trockenmasse, S. 12
- (0-4) Berechnung des Brutto-Normvolumen (Druckkorrektur) , S. 13
- (0-5) Magnus-Formel: Dampfdruck des Wassers, S. 13
- (0-6) Berechnung des Netto-Normvolumens, S. 14
- (0-7) Berechnung des spezifischen-Normvolumens, S. 14
- (0-8) Kopfraumkorrektur des Methananteils, S. 15

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------|----------------------------------------------|
| BG | Biogas |
| Daten A | ermittelte Werte aus der Voruntersuchung |
| Daten P | ermittelte Werte aus der Refeed-Untersuchung |
| FM | Feuchtmasse |
| MBRK | Minibioreaktor |
| M | Methan |
| mL | Milliliter |
| oTM | organische Trockenmasse |
| oTR | organischer Trockenrückstand |
| TM | Trockenmasse |
| TR | Trockenrückstand |
| VDI | Verein Deutscher Ingenieure |

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1 schematische Darstellung der Biogasproduktion, S. 2
- Abbildung 2 Phasendiagramms des Wassers, S. 4
- Abbildung 3 Biogasproduktionsverläufe, S. 5
- Abbildung 4 schematische Darstellung eines Kurvenverlaufs nach Gompertz,
S. 6
- Abbildung 5 spezifische, netto Biogas- und Methanvolumina, Blindproben,
S. 17
- Abbildung 6 druckkorrigierte, spezifische Biogas-Tagesproduktion,
Blindproben, S. 18
- Abbildung 7 kopfraumkorrigierte, spezifische Methanvolumen-
Tagesproduktion, Blindproben, S. 19
- Abbildung 8 spezifische, netto Biogas- und Methanvolumina, Cellulose, S. 20
- Abbildung 9 spezifische, netto Biogas- und Methanvolumina, DDGS, S. 21
- Abbildung 10 spezifische, netto Biogas- und Methanvolumina, Substrat C, S. 22
- Abbildung 11 spezifische, netto Biogas- und Methanvolumina, Substrat D, S. 24
- Abbildung 12 Biogas-Verlaufvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, Iyo.,
Cellulose, S. 25
- Abbildung 13 Biogas-Verlaufvergleich: Gompertz und Refeed, Iyo., Cellulose,
S. 25
- Abbildung 14 Biogas-Verlaufvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, pos.,
Cellulose, S. 25
- Abbildung 15 Biogas-Verlaufvergleich: Gompertz und Refeed, pos., Cellulose,
S. 25
- Abbildung 16 Biogas-Verlaufvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, Iyo.,
DDGS, S. 25
- Abbildung 17 Biogas-Verlaufvergleich: Gompertz und Refeed, Iyo., DDGS, S. 26
- Abbildung 18 Biogas-Verlaufvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, pos.,
DDGS, S. 26
- Abbildung 19 Biogas-Verlaufvergleich: Gompertz und Refeed, pos., DDGS, S. 26
- Abbildung 20 Biogas-Verlaufvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, Iyo.,
Substrat C, S. 26

- Abbildung 21 Biogas-Verlaufsvergleich: Gompertz und Rafeed, Iyo., Substrat C,
S. 26
- Abbildung 22 Biogas-Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, pos.,
Substrat C, S. 26
- Abbildung 23 Biogas-Verlaufsvergleich: Gompertz und Rafeed, pos., Substrat C,
S. 26
- Abbildung 24 Biogas-Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, Iyo.,
Substrat D, S. 27
- Abbildung 25 Biogas-Verlaufsvergleich: Gompertz und Rafeed, Iyo., Substrat D,,
S. 27
- Abbildung 26 Biogas-Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, pos.,
Substrat D, S. 27
- Abbildung 27 Biogas-Verlaufsvergleich: Gompertz und Rafeed, pos., Substrat D,
S. 27
- Abbildung 28 Methan-Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, Iyo.,
Cellulose, S. 28
- Abbildung 29 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Rafeed, Iyo., Cellulose,
S. 28
- Abbildung 30 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, pos.,
Cellulose, S. 28
- Abbildung 31 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Rafeed, pos., Cellulose,
S. 28
- Abbildung 32 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, Iyo.,
DDGS, S. 28
- Abbildung 33 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Rafeed, Iyo., DDGS, S. 28
- Abbildung 34 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, pos.,
DDGS, S. 28
- Abbildung 35 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Rafeed, pos., DDGS, S.
28
- Abbildung 36 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, Iyo.,
Substrat C, S. 29
- Abbildung 37 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Rafeed, Iyo., Substrat C,
S. 29
- Abbildung 38 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, pos.,
Substrat C, S. 29

Abbildung 39 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed, pos., Substrat C, S. 29

Abbildung 40 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, lyo., Substrat D, S. 29

Abbildung 41 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed, lyo., Substrat D, S. 29

Abbildung 42 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Voruntersuchung, pos., Substrat D, S. 29

Abbildung 43 Methan -Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed, pos., Substrat D, S. 29

Abbildung 44 Darstellung der Ergebnisse aus der 70-tägigen Voruntersuchung nach Graage, S. 30

Abbildung 45 Darstellung der Ergebnisse aus dem Refeed, S. 30

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Übersicht der eingewogenen Substratmengen, S. 9

Tabelle 2 Übersicht: Trockenrückstände und organische Trockenrückstände aller Substrate, S. 16

Tabelle 3 Übersicht aller Ergebnisse aus der Voruntersuchung und dem Refeed, S. 30

1 Einleitung

Im Zuge der stetig bedeutsameren erneuerbaren Energien verstärkt sich das Interesse an der Erforschung der Energiegewinnung aus Biomasse. Da in organischen Substanzen Energie gespeichert ist, gilt die optimale Nutzbarmachung als Forschungsziel. Möglich wird die Energiegewinnung durch die Vergärung von organischen Substanzen mit Hilfe von Mikroorganismen in einem anaeroben Milieu, da die freigesetzte Energieform, das Methan, eine Biogaskomponente, zugleich transport- und lagerfähig ist. Methan ist ein Produkt aus der Metabolisierung von organischen Material, wie zum Beispiel Bioabfällen aus privaten Haushalten und dem Agrarbereich, und hat eine enorme wirtschaftliche und energetische Bedeutung. Es gilt als Ausgangsstoff für eine Vielzahl von synthetischen Erzeugnissen, kann als Heizgas und zum Betreiben von Verbrennungsmotoren diverser Art genutzt werden.

Besonderes Augenmerk gilt dem Inokulum. Da das Auslegen von Biogasanlagen und der Prozess technisch normiert und standardisiert werden kann, ist es um so bemerkenswerter, dass es keine standardisierte und auf andere Systeme übertragbare Inokula gibt. Angelidaki und Ahring bemängeln diesen Umstand und stellen die Unmöglichkeit der Übertragung von Ergebnissen und Prozessdaten, aufgrund spezifischer, individueller Zusammensetzungen von Materialien und Methoden in Untersuchungen fest (ANGELIDAKI und AHRING 1993; AHRING 1995).

In dieser Untersuchung wird die Wiederverwendbarkeit und Regenerationsfähigkeit eines zuvor lyophilisierten und bereits zu Anfang gefütterten Inokulum geprüft, das 70 Tage lang analysiert wurde. Da Untersuchungen über den langfristigen, wiederholten Einsatz eines, durch die Konservierung strapazierten, Inokulums und dem Einfluss eines Refeeds auf das biogas- und methanbildende Potential fehlen, sind weiterführende Erkenntnisse von großem Interesse.

2 Theorie

2.1 Biogas- und Methangasbildung

Biogas und Methan entsteht bei einer anaeroben Verstoffwechslung organischen Materials. Hauptproduzenten sind methanogene Archaeen und acetogene Bakterien, die Zwischenprodukte bilden und somit den Gesamtprozess unterstützen. Die Bildung von Biogas bzw. Methan kann in vier Stufen unterteilt werden:

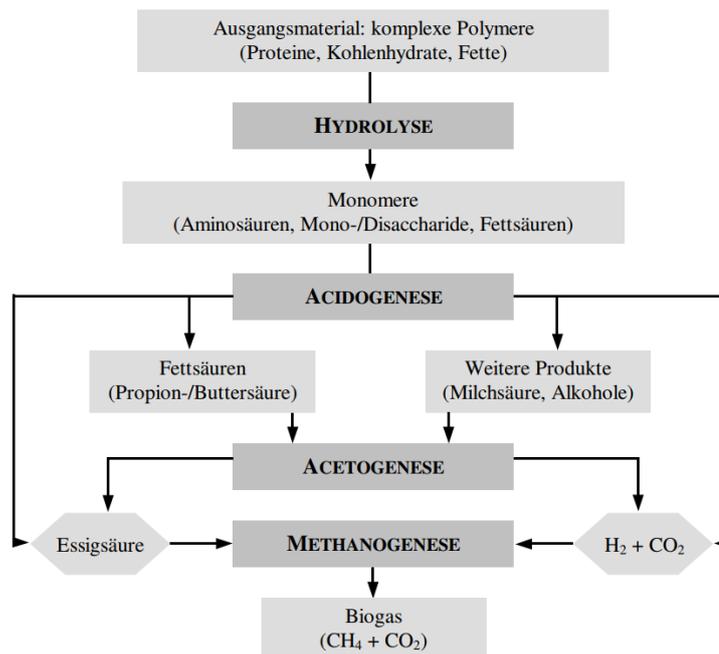


Abbildung 1 schematische Darstellung der Biogasproduktion und Zwischenstufen (HECHT, MELANIE 2008)

1. **Hydrolyse:** Enzyme hydrolisieren langkettige Verbindungen, wie Kohlenhydrate, Fette und Proteine in kleinere Moleküle, wie *einfachere* Zucker, Fettsäuren und Aminosäuren
2. **Acidogenese:** säurebildende Bakterien vergären die entstandenen Spaltprodukte aus der Hydrolyse zu Essig-, Propion-, Butter- und Milchsäure
3. **Acetogenese:** die Metaboliten aus den vorigen Schritten werden weiter zu Essigsäure, Wasserstoff und Kohlenstoffdioxid verarbeitet; anzumerken ist, dass ein hohe Konzentration von Essigsäure hemmend auf die Methanbildner wirkt

4. **Methanogenese:** Archaeen und acetogene Bakterien verstoffwechseln den entstandenen Wasserstoff und Kohlenstoffdioxid zu Methan und Wasser (Hecht

2.2 Archaeen

Archaeen, oder auch Urbakterien genannt, werden aufgrund ihrer guten Anpassungsfähigkeit temperaturspezifisch in psychrophil, mesophil und thermophil unterschieden. Psychrophile Bakterien bevorzugen Temperaturen unter 25 °C, wobei diese eine geringe Gasausbeute aufweisen und wirtschaftlich nicht für technische Prozesse geeignet sind. Mesophile Bakterien bevorzugen Temperaturen zwischen 37 °C und 42 °C, zeichnen sich durch eine relativ hohe Gasproduktion und Prozess- und Temperaturstabilität aus. Thermophile Bakterien bevorzugen hingegen Temperaturen von über 43 °C und sind aufgrund des enormen Wärmeeintrags wirtschaftlich ungeeignet. Darüberhinaus verringert die vermehrte Häufigkeit von Hemmstoffen, wie Sauerstoff und Säuren, die Prozessstabilität.

Carbonsäuren, wie die Essigsäure, sind Begleitprodukte, die bei der Acidogenese entstehen, wobei gleichzeitig essentieller Wasserstoff und Kohlenstoffdioxid gebildet wird; hindern aber die Methanogenese, wenn es in relativ höherer Konzentration produziert wird. Die Essigsäure mindert den pH, wobei methanogene Archaeen einen neutralen bis alkalischen pH Wert zwischen 6,5 und 8 bevorzugen. Gleiches gilt für Kohlenstoffdioxid, welches gelöst mit Kohlensäure im Gleichgewicht und pH-mindernd ist. Schwefelwasserstoff und Ammoniak sind weitere hemmende Begleitprodukte (HECHT, MELANIE 2008).

Grundvoraussetzung für die Biogas- und Methanbildung ist die Abwesenheit von Sauerstoff. Archaeen produzieren Biogas nur unter anaerobe Bedingungen in relevanter Menge, wobei geringste Mengen Sauerstoff prozesshemmend bzw. für obligatorisch anaerobe Archaeen toxisch wirken. Die Verwendung solcher Mikroorganismen zur Erzeugung von Biogas und Methan in technischen Prozessen werden mit Hilfe von Starterkulturen, dem Inokulum, realisiert. Die dauerhafte Haltbarmachung ist, wirtschaftlich und laboranalytisch, zur Erzeugung reproduzierbarer Ergebnisse vom großen Interesse.

2.3 Konservierung

FrISCHE, unbehandelte Inokula aus unterschiedlichen Quellen weisen aufgrund ihrer variierenden Zusammensetzung und Qualität unterschiedliche Methanausbeuten auf (KOCH 2017). Temperatur- und Nährstoffschwankungen verstärken zudem die Unmöglichkeit vorhersehbare Aussagen zu treffen. Außerdem erschwert das Fehlen einer allgemeinen Erfassung eingesetzter Inokula in Laboratorien und in der Wirtschaft die Vorhersehbarkeit (VDI 4630 2016; MÖLLER und MÜLLER 2012).

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es daher einen Beitrag zur Herstellung eines lager- und transportfähigen Inokulum zu leisten, welches gleichbleibende, reproduzierbare, hohe Methanausbeuten ermöglicht. Eine Möglichkeit Inokula lagerfähig zu machen ist die, im Rahmen dieser Untersuchung angewandte Lyophilisierung. Die Lyophilisierung ist eine Art der Konservierung, die die wässrige Phase vom Produkt entfernt, indem das Produkt erst zügig tiefgefroren wird und dann durch Anlegen eines Vakuums durch Herabsenken des Drucks bei gleichbleibender Temperatur das gefrorene Wasser durch Sublimation entfernt [1]. Das für biologische Präparate schädliche Kristallwachstum wird unter Berücksichtigung der stoffspezifischen Flüssigkeitseigenschaft thermodynamisch umgangen.

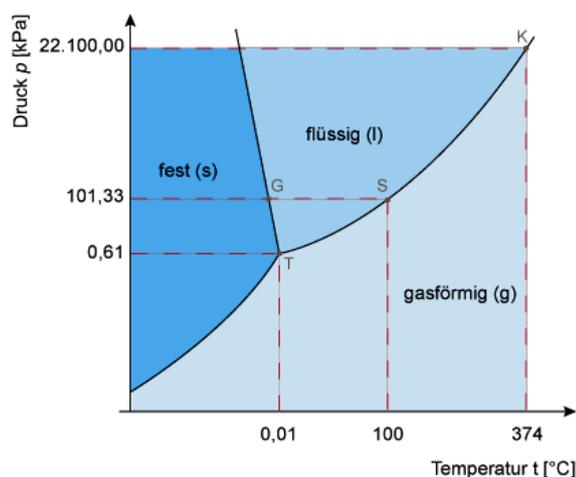


Abbildung 2 Phasendiagramms des Wassers; am Tripelpunkt T sind alle Phasen vorhanden; es gilt bei der Lyophilisierung über Anpassung von Druck und Temperatur die Flüssigkeit von fest zu gasförmig zu überführen [2]

Eine gleichbleibende Qualität des Inokulums wird mit diesem Verfahren angestrebt. Ob die Mikroorganismen hinreichend geschont und ein verändertes Methanbildungs-Potential aufweisen muss untersucht werden.

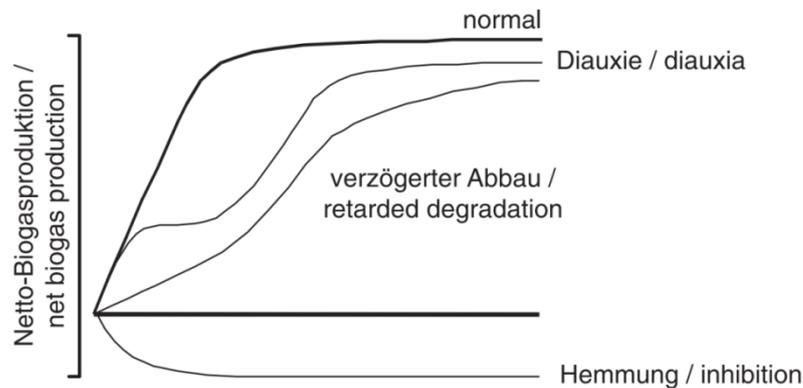


Abbildung 3 Biogasproduktionsverläufe unter normalen und gestörten Bedingungen; angestrebt wird ein normaler Verlauf mit hoher Netto-Methanausbeute [3]

2.4 Der biochemische Methanpotentialtest BMP

Mit der Anwendung eines BMP-Tests ist es möglich das Methanpotential aus der Vergärung von organischen Substanzen durch methanogene Archaeen in einem definierten Testsystem zu ermitteln (HOLLIGER 2017). In dieser Untersuchung wird der Einfluss eines verzögerten Refeeds auf einen seit 70-Tagen sich im Einsatz befindenden, lyophilisierten Inokulums untersucht. Das Methanpotential wird aus dem produzierten Biogas, dem Methananteil und dem eingesetzten Substrat ermittelt (LINKE 2006).

2.5 Testsystem

Die Untersuchung des Inokulums wird in Minibioreaktoren mit einem Volumen von 33 mL durchgeführt, bestehend aus einem dem Glas und mit einem Schraubverschluss mit integrierten Septum. Durch regelmäßige Entnahme mit einer Kanüle durch das Septum werden die Biogasvolumina und Komponenten des Biogases ermittelt. Die Wahl die Untersuchung in einem kleinen Testsystem durchzuführen erbringt den Vorteil, da aufgrund der geringen verwendeten Probenmenge eine größere Probenanzahl mit einem übersichtlichen, relativ geringen Gesamtaufwand möglich ist (KUCHTA, HEERENKLAGE, 2018).

2.6 Vergleichbarkeit

Um eine Vergleichbarkeit der Aktivität von lyophilisierten zu nicht lyophilisierten Inokula zu ermöglichen, wurde ein Vierfachansatz beider durchgeführt. Es wurden 4 unterschiedliche Substrate und die Eigengasproduktion ohne Substratzugabe untersucht, sodass es durch den gewählten Vierfachansatz 20 lyophilisierte und 20 nicht-lyophilisierte Proben gibt.

2.7 Modellierung nach Gompertz

Gompertz liefert mit seiner Funktion die Möglichkeit den Verlauf der Biogas- und Methanbildung grafisch abzubilden und durch Anpassung der Koeffizienten die Kinetik nährungsweise nachzustellen. Die Koeffizienten, wie Steigung und Verschiebung auf den Achsen, können zur Vergleichbarkeit unterschiedlich verwendeten Substrate genutzt werden. Die Gasproduktionskinetik kann mit folgender Formel nährungsweise beschrieben werden:

$$BP_{(t)} = BP_{\infty} \cdot e^{-e^{\frac{PR \cdot e}{BP_{\infty}} \cdot (\lambda - t) + 1}} \quad (2-1)$$

dabei ist

BP_{∞} biochemisches Potential / Biogas oder Methan, $mL \cdot g \text{ oTM}^{-1}$

PR Gas-Produktionsrate, $mL \cdot g \text{ oTM}^{-1} \cdot d^{-1}$

λ lag-Dauer, d

t Zeitpunkt, d

Es ist zu erkennen, dass zunächst ein positives exponentielles Wachstum stattfindet. Ab dem Wendepunkt nähert sich der Verlauf mit einer negativ fallenden exponentiellen Kurve einer Sättigung bzw. einer Asymptote an.

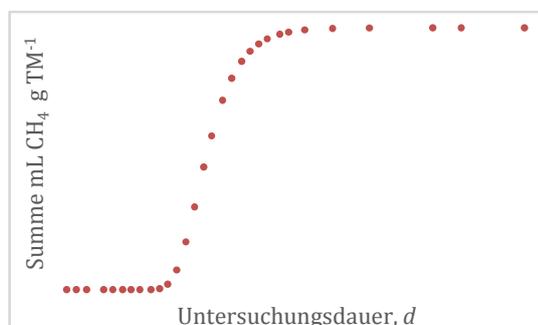


Abbildung 4 schematische Darstellung eines Kurvenverlaufs nach Gompertz

In *Abbildung 4* ist ein schematischer Produktionsverlauf dargestellt, der mit der Formel (2-1) nach Gompertz erstellt wurde. Mit der nährungsweisen Anpassung der Koeffizienten BP_{∞} , λ , PR und t kann ein reeller Verlauf beschrieben werden. Anhand der ermittelten Koeffizienten ist ein direkter Vergleich weiterer Verläufe möglich.

3 Aktuelle Forschungen

2015 untersuchte Bieler die Gefriertrocknung an zwei Inokula, bei dem er feststellte, dass die gefriergetrockneten eine Lag-Phase von 7-14 Tagen aufwiesen. Bieler schlussfolgerte, dass die Lyophilisierung die methanogenen Bakterien soweit schädigte, sodass sie trotz des Substratüberschusses (Essigsäure, pH 7) sich erst regenerieren mussten und sich erst ab Tag 7 der Untersuchung Methan in erwartetem Ausmaße sich bildete. Entgegen der Erwartung wurde mehr Methan produziert, als in den positiven, nicht lyophilisierten Blindproben. Plausibel führte Bieler auf, dass die regenerierten, lyophilisierten Bakterien zusätzlich den Inhalt der aufgeschlossenen Bakterien verstoffwechseln (BIELER 2015).

2017 untersuchte Moretta vier Pufferkonzentrationen des Natriumhydrogencarbonats, hergestellt nach Angelidaki, welches in dieser Untersuchung verwendet wird. Pufferkonzentrationen von 2,6 g/L, 5,2 g/L, 10,4 g/L und 20,8 g/L in jeweiliger Kombination eines Inokulum-Substratverhältnis *ISR* von 1:1, 2:1 und 4:1 waren Gegenstand der Analyse. Aus den Untersuchungen von Moretta ging hervor, dass ein *ISR* von 2:1 und Pufferkonzentrationen von 5,2 g/L und 10,4 g/L optimale Ergebnisse liefern. Für kleinere Testsysteme, wie dem MBRK, riet Moretta jedoch ein *ISR* von 4:1 (MORETTA 2017).

Bei Untersuchungen über den Einfluss der Lyophilisierung auf Inokula aus Hamburger Klärschlamm INHH, dem standardisierten mesophilen INDS37 und thermophilen INDS55 am Forschungsinstitut der TUHH geht hervor, dass das biogas- und methanbildende Potential gegenüber unbehandelten Inokula erhöht wird. Eine anschließende Analyse über den Anteil methanogener Archaeen in

den Inokula weist jedoch eine starke Schädigung in den behandelten, gefriergetrockneten Proben auf (ZIMMERMANN 2018).

Ähnliches beobachtete Graage in ihren Untersuchungen. Sie untersuchte das biochemische Methanpotential frisch lyophilisierter Inokula. Der Untersuchungszeitraum betrug 70 Tage. Der Verlauf der Methanproduktion ist von der Lyophilisierung stark geprägt - es findet erst eine 10 tägige Lag-Phase statt, gefolgt von einem unruhigen Verlauf, unterhalb der idealisierten Kurve, die Gompertz liefert. Nichtsdestotrotz erfüllte diese Untersuchung die 80 % des von der VDI vorgeschriebenen Kriterium für ein standardisiertes Inokulum. Auf Graages Untersuchung basierend wird im Rahmen dieser Untersuchung die Wiederverwendbarkeit des eingesetzten Inokulums durch die verzögerte Substratzugabe geprüft (GRAAGE 2019).

4 Material und Methoden

4.1 Inokulum

Das verwendete Inokulum ist ein Klärschlamm aus mesophilen Organismen, welches aus der Biogasanlage aus Reitbrook entnommen wurde und seit 2014 unter standardisierten Bedingungen am Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft der TUHH kultiviert wird.

4.2 Nährmedium und Pufferkapazität

Bei der Metabolisierung von Substrat zu Biogas und Methan, entstehen in der Zwischenstufe, der Acidogenese, organische Fettsäuren. Wenn der anaerobe Gärprozess durch Hemmstoffe, wie Ammoniak, eingeschränkt wird und die gebildeten Zwischenstufen nicht zu CH_4 weiterverarbeitet werden, reichern sich die organischen Säuren im Bioreaktor an. Dadurch kann der pH-Wert soweit herabgesetzt werden, dass weitere Zwischenprozesse, wie die Acetogenese gestört werden (MCCARTY 1964; BOONE 1980; PULLAMMANAPPALLIL 2001). Damit liegt eine Acidose des Reaktors vor und stoppt den Gesamtprozess. Um die Prozessstabilität zu wahren und der Anreicherung von Säuren entgegenzuwirken wird dem Medium ein Puffer hinzugefügt. In dieser Untersuchung wurde ein *Natriumhydrogencarbonat-Puffer* nach ANGELIDAKI und

SANDERS mit einer Konzentration von 2,6 g/L eingesetzt (ANGELIDAKI und SANDERS 2004).

4.3 Substrate

In der Voruntersuchung nach Graage, als auch in der Fortsetzung, um den Einfluss des verzögerten Refeeds zu untersuchen, wurden vier Referenzsubstrate eingesetzt. Mikrokristalline *Cellulose* von der Firma *Merck*, Trockenschlempe (*Dried Distillers Grains with Solubles*, kurz: *DDGS*), Tierfutter (nachfolgend als *Substrat C* bezeichnet) und Stroh (nachfolgend als *Substrat D* bezeichnet).

Einwaagen:

Tabelle 1 Übersicht der eingewogenen Substratmengen in der Voruntersuchung und dem Refeed, als auch die theoretischen Biogas- und Methanvolumina

| Substrat | Voruntersuchung Graage, Mittelwert aus Vierfachansatz, <i>m</i> | Refeed, Mittelwert aus Vierfachansatz, <i>m</i> | theoretisches BMP, Biogas, <i>ml · g oTM⁻¹</i> | theoretisches BMP, Methan, <i>ml · g oTM⁻¹</i> |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Cellulose | 0,0246 | 0,0248 | 830 | 415 |
| DDGS | 0,0287 | 0,0287 | 722 | 406,49 |
| Substrat C | 0,0288 | 0,0288 | 1000 | 608 |
| Substrat D | 0,0275 | 0,0272 | 765 | 382,5 |

Das Inokula-Substratverhältnis beträgt 4:1. Aus Untersuchungen geht hervor, dass ein Mangel an Substrat zu höheren bzw. schnelleren Abbauraten führt und ein hoher Gasdruck in den Minibioreaktoren vermieden werden kann (MORETTA 2017).

4.4 Konservierung mittels Lyophilisierung

Der Versuch wurde mit 40 Minibioreaktoren ("MBRK") durchgeführt - 20 für die positiven Kontrollproben und 20 für die Lyophilisierten. Die 40 MBRKs wurden zunächst gewogen und mit jeweils 19 g FM Inokulum *INDS37* befüllt. Anschließend wurden diese bei 4000 Umdrehungen pro Minute für 20 Minuten zentrifugiert, sodass sich zwei Phasen bildeten. Die flüssige Phase wurde mit

einer Kanüle mit Stickstoff ausgespült und verworfen. Die 20 zu lyophilisierenden Proben wurden für 22 Stunden bei 1 *mbar* in den Gefriertrockner gestellt. Um den Austritt der sublimierten Flüssigkeit zu ermöglichen wurden die drei Öffnungen am Septum mit Kanülen versehen. Nach Abschluss der Lyophilisierung wurde ein Stickstoffbeutel am Gefriertrockner angeschlossen, damit die Proben sauerstoffeintragsfrei auf Umgebungsdruck angepasst werden konnten.

Sämtliche Proben, sowohl lyophilisierte, als auch die positiven, wurden anschließend mit anaeroben Nährmedium resuspendiert. Darauf folgend wurden die Substrate hinzugefügt, die Lösung durchmischt und 20 Sekunden lang mit Stickstoff gespült. Auf dem Kopf bzw. Verschluss stehend, wurden diese anschließend in einem Klimaraum mit konstanten 37 °C gestellt.

4.5 Durchführung des BMP-Tests

Das produzierte Biogasvolumen in den Minibioreaktoren wird mittels eines Eudiometers gemessen. Das Eudiometer ist eine Säule oder Standzylinder, das mit einer Verdrängungssubstanz, in vorliegendem Fall Glycol, gefüllt ist, und mit einem Schlauch und einer Kanüle mit dem Minibioreaktor verbunden wird. Die Kanüle wird durch das Septum des MBRK gestochen, damit das produzierte Gas aus dem MBRK in den Eudiometer strömen kann und verdrängt aufgrund des angestrebten Druckgleichgewichts, äquivalent zur produzierten Gasmenge, die Verdrängungssubstanz. Durch Anheben der Pipette, mit der das Biogas in den Standzylinder geleitet wird, nivelliert man den Flüssigkeitsstand in der Pipette mit der Flüssigkeit im Standzylinder und kann anhand einer Skala auf dem Zylinder das Volumen in *mL* abgelesen werden.

Verwendete Geräte: Eudiometer 5 mL Glaspipette (Fa. *Hirschmann*),
Standzylinder, Sperrflüssigkeit Silox (Fa. *Ritter*)

Dieser Vorgang wird für jeden MBRK durchgeführt. Es werden für die Beobachtung des Prozesses und für weitere Berechnungen Datum, Uhrzeit, Luftdruck, Temperatur und die abgelesenen Ergebnisse notiert.

Anzumerken ist, dass das Kohlenstoffdioxid, welches in dem Inokulum gelöst ist, durch leichtes Schütteln in den Kopfraum des MBRK freigesetzt werden kann und gemessen werden sollte.

4.6 Feststellung der Biogaszusammensetzung mittels Gaschromatographie

Um die Zusammensetzung des produzierten Biogases festzustellen wird die Gasphase im Kopfraum des MBRKs mit Hilfe der Gaschromatographie bestimmt. Es werden mit der gaschromatischen Spritze zunächst 0,1 mL Probe entnommen und in die Umgebung abgegeben, um die Spritze zu spülen und gegebenenfalls konditionieren. Darauf werden 1,1 mL Probe entnommen und mit dem Gaschromatographen analysiert. Aufgrund des enormen Temperatursprunges von 36 °C im Klimaraum, in denen die MBRKs kultiviert werden, auf Umgebungstemperatur von etwa 20 °C außerhalb des Klimaraumes, kann sich das entnommene Gas stark zusammenziehen und einen Unterdruck in der Spritze verursachen, welches Sauerstoff bzw. Luft in die Spritze ziehen würden. Daher wird beim Transport der Spritze zum Gaschromatographen das Spritzenende mit einem Pfropfen verstopft und mit einem vorgeheizten, sich im Klimaraum befindenden Wärmepad umhüllt. Das tatsächliche Probenvolumen, welches in den Gaschromatographen eingespritzt wird, beträgt 1 mL, sodass 0,1 mL zur erneuten Spülung direkt vor dem Auftrag genutzt werden. Die Analyse erfasst den Kohlenstoff-, Sauerstoff-, Stickstoff- und Methananteil des Gases und wird für den ersten MBRK eines jeweiligen Vielfachansatzes der Blind- und Referenzproben durchgeführt.

Verwendete Geräte: Gaschromatograph HP6890 Series GC Systems (Fa. *Hewlett Packard*) (Methode: Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD) mit 25 mL Probenschleife) und Probenspritze *Gastight* #1001 (Fa. *Hamilton Company*)

4.7 Auswertungsgrundlage: VDI4630

Um reproduzierbare und für weitere Untersuchungen vergleichbare Ergebnisse zur Substratcharakterisierung, Probenahme und Stoffdatenerhebung zu erhalten, werden sämtliche ermittelten Werte nach Berechnungen aus der VDI 4630 analysiert. Die Berechnungen unterliegen dem Technischen Regelwerk.

4.7.1 Berechnung des Trockenrückstandes

Um die tatsächliche organische bzw. umsetzbare Substratmenge zu bestimmen werden die Referenzsubstrate zunächst für 48 Stunden bei 105 °C in einem Ofen getrocknet. Aus der Gewichts Differenz wird der Trockenrückstand errechnet.

$$TR_{\%} = \frac{m_{tr} - m_T}{m_f - m_{tr}} \cdot 100 \% \quad (4-1)$$

dabei ist

| | |
|-----------|------------------------------------------------------|
| $TR_{\%}$ | Trockenrückstand, % |
| m_f | Masse des Tiegels und Substrats (vor Trocknung), g |
| m_{tr} | Masse des Tiegels und dem getrockneten Substrat, g |
| m_T | Masse des leeren Tiegels, g |

4.7.2 Berechnung des organischen Trockenrückstandes

Das Substrat wird zunächst in einem Glühofen bei 550 °C verascht. Aus dem Gewichtsverlust kann der organische Anteil des Trockenrückstandes ermittelt werden.

$$oTM = (m_{tr} - m_T) - (m_g - m_T) \quad (4-2)$$

dabei ist

| | |
|----------|-------------------------------------------------------|
| oTM | organische Trockenmasse, g |
| m_{tr} | Masse des Tiegels und des getrockneten Substrats, g |
| m_g | Masse des Tiegels und des ausgeglühten Substrats, g |
| m_T | Masse des leeren Tiegels, g |

Den Trockenrückstand auf die organischen Trockenmasse bezogen ergibt den organischen Trockenrückstand

$$oTR_{\%} = \frac{(m_{tr} - m_T)}{oTM} \cdot 100\% \quad (4-3)$$

dabei ist

| | |
|----------|-------------------------------------------------------|
| m_{tr} | Masse des Tiegels und des getrockneten Substrats, g |
| m_T | Masse des leeren Tiegels, g |
| oTM | organische Trockenmasse, g |

4.7.3 Berechnungen der Biogaswerte

Die gemessenen Biogasvolumina wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten, Temperatur- und Druckverhältnissen gemessen und beinhalten einen Eigenproduktionsanteil an Biogas, den die Mikroorganismen in einem anaeroben Milieu auch ohne Zugabe von Substrat produzieren würden. Um aussagekräftige, vergleichbare Einzelergebnisse zu erhalten werden die erhobenen Daten zunächst standardisiert und auf Normverhältnisse umgerechnet, der Eigenproduktionsanteil an Biogas subtrahiert und die Ergebnisse auf Inokula- und Substrateinwaagen bezogen.

4.7.3.1 Brutto-Biogas-Normvolumen (Druckkorrektur)

Es wird zunächst, wie in der VDI 4630 vorgeschrieben, eine Druckkorrektur vorgenommen. Unterschiedliche Umgebungsdrücke und Temperaturschwankungen wirken sich auf die Minibioreaktoren und die abzulesenden Messwerten aus. Laut VDI 4630 können diese Abweichungen korrigiert werden, indem der Wasserdampfgehalt des Biogases herausgerechnet wird und die Messwerte somit in einem vergleichbaren Normzustand überführt werden.

$$V_{tr,N} = V \cdot \frac{(p - p_w) \cdot T_N}{p_N \cdot T} \quad (4-4)$$

dabei ist

$V_{tr,N}$ Volumen des trockenen Gases im Normzustand, mL_N

V abgelesenes Volumen des Gases, mL

p Druck der Gasphase zum Zeitpunkt der Ablesung, hPa

p_w Dampfdruck des Wassers in Abhängigkeit von der Temperatur des umgebenden Raums, hPa

T_N Normtemperatur; $T_N = 273 K$

p_N Normdruck; $p_N = 1013 hPa$

T Temperatur des Biogases oder des umgebenden Raums, K

Der Dampfdruck des Wassers p_w wird mit der *Magnus-Formel* ermittelt.

$$p_w = 6,11231 \cdot e^{(17,5043 \cdot T_c / 241,2 + T_c)} \quad (4-5)$$

dabei ist

T_c Temperatur des Gases am Volumenmessgerät, °C

4.7.3.2 Netto-Biogas-Normvolumen (Blindwert-Mittelwert abgezogen)

Die Netto-Gasproduktion bzw. der Anteil des Biogases, der ausschließlich aufgrund der Substratzugabe erzeugt wird, wird aus der Differenz des druckkorrigierten Biogas-Normvolumens und dem Mittelwert der Blindwerte ermittelt.

$$V_{BG\text{netto}} = V_{gesBG} - \frac{\sum V_{Blind}}{n_{Blind}} \quad (4-6)$$

dabei ist

V_{gesBG} Mittelwert aus produzierten Gasvolumen eines Probenansatzes

$\sum V_{Blind}$ Summe der Blindwertvolumina

n_{Blind} Anzahl der Blindwertproben

Das spezifische Netto-Biogas-Normvolumen wird mit Hilfe der Einwaage aus Inokulum, g oTM und dem Substrat, g oTM berechnet. Dafür sind Kenntnisse über den Trockenrückstand, % und die organischen Trockenrückstand, %

4.7.3.3 spezifisches Netto-Biogas-Normvolumen, kumuliert

$$oTR = FM \cdot \frac{TR\%}{100} \cdot \frac{oTR\%}{100} \quad (4-7)$$

dabei ist

oTR organischer Trockenrückstand des Substrats, g

FM Feuchtmasse / eingewogenes Substrat, g

$TR\%$ Trockenrückstand, prozentual, %

$oTR\%$ organischer Trockenrückstand, prozentual, %

Um das produzierte Biogas mit dem eingesetzten Material spezifisch abzubilden wird das Biogasvolumen in mL auf das eingesetzte Inokulum g oTM und auf die organischer Trockenrückstand g oTR des jeweiligen Substrats bezogen.

Um den Gesamtverlauf beurteilen zu können werden im Verlaufe der Untersuchung die produzierten spezifischen Volumina für den jeweiligen Tag mit der Summe des Vortages kumuliert.

4.7.4 Berechnungen der Methanwerte

Aus der gaschromatografischen Analyse des Biogases aus der jeweiligen ersten Probe eines Ansatzes gehen die Methan-, Kohlenstoffdioxid-, Sauerstoff- und Stickstoffanteile hervor. Die VDI schreibt vor dem gemessenen Methananteilstwert einer Kopfraumkorrektur zu unterziehen, wenn der Kopfraum des MBRKs verhältnismäßig groß gegenüber dem gebildetes Biogasvolumens ist. Die Begründung liegt in der Verdünnung des gebildeten Gases mit dem Inertgas aus dem Kopfraum.

4.7.4.1 Kopfraumkorrektur des Methananteils

$$c_{tr,korr} = c_{tr,t2} + (c_{tr,t2} - c_{tr,t1}) \cdot \frac{V_K}{V_{BG}} \quad (4-8)$$

dabei ist

| | |
|---------------|---------------------------------------------------------------|
| $c_{tr,korr}$ | korrigierter Volumenanteil des Methans im trockenen Gas in % |
| c_{tr} | gemessene Volumenanteil der Biogaskomponente im trock. Gas, % |
| V_K | Kopfraumvolumen, mL |
| V_{BG} | Volumen des produzierten Biogases, mL |
| t | Messzeitpunkt ($t_2 > t_1$) |

Mit Hilfe der genannten Formel werden kopfraumkorrigierte, brutto-Methanvolumina gebildet.

4.7.4.2 Netto-Methanvolumen und spezifisches Methanvolumen

Analog zu den netto-Biogasvolumina und der, auf das eingesetztes Inokulum und Substrat, spezifischen Berechnung aus Kapitel 4.7.3.2 und 4.7.3.3 werden die netto-Methanvolumina und spezifische Methanvolumina gebildet.

4.7.5 Abbruchkriterien des Versuchs

Die VDI4630 schreibt vor, dass die Dauer einer Untersuchung mindestens 25 Tage betragen muss und erst als abgeschlossen gilt, wenn die prozentuale

Biogasrate von 0,5 % drei Tage lang, gegenüber dem gebildeten Biogasgesamtvolumen, unterschritten wird. (VDI 4630 2016).

5 Ergebnisse

5.1 Ergebnisse der Refeed-Untersuchung

Tabelle 2 Übersicht der ermittelten Trockenrückstände und organischen Trockenrückstände aller Substrate aus Trocknung und Veraschung

| Substrat | Trockenrückstand (TR), % (m/m) | organischer Trockenrückstand (oTR), % (m/m) |
|-----------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Cellulose | 96,41 | 99,80 |
| DDGS | 91,90 | 93,89 |
| Substrat C | 91,68 | 88,08 |
| Substrat D | 90,26 | 93,72 |

Es wurden Messungen für das Biogasvolumen mit dem Eudiometer und die Zusammensetzung des Gases mittels Gaschromatographie durchgeführt. Die erhobenen Daten wurden Weiterführend nach den beschriebenen Formeln analysiert, die aus der VDI 4360 entnommen wurden. Es wurde je Probe (1x Blind, 4x Referenzsubstrate) ein Vierfachansatz angesetzt. Aufgrund der Entnahme der Gasphase der ersten Probe des jeweiligen Vielfachansatzes für die gaschromatografischen Analyse, wurde für die Ermittlung des Mittelwertes ausschließlich die restlichen 3 Proben berücksichtigt. Trotz der Zurechnung der entnommenen Volumina und der gleichbleibenden Konzentration der Gasphase wirkt sich das Auslassen der Probe, in der der Eingriff für die Analyse notwendig ist, positiv bei der Ermittlung des Mittelwertes und der jeweiligen Abweichungen aus.

5.1.1 Blindproben

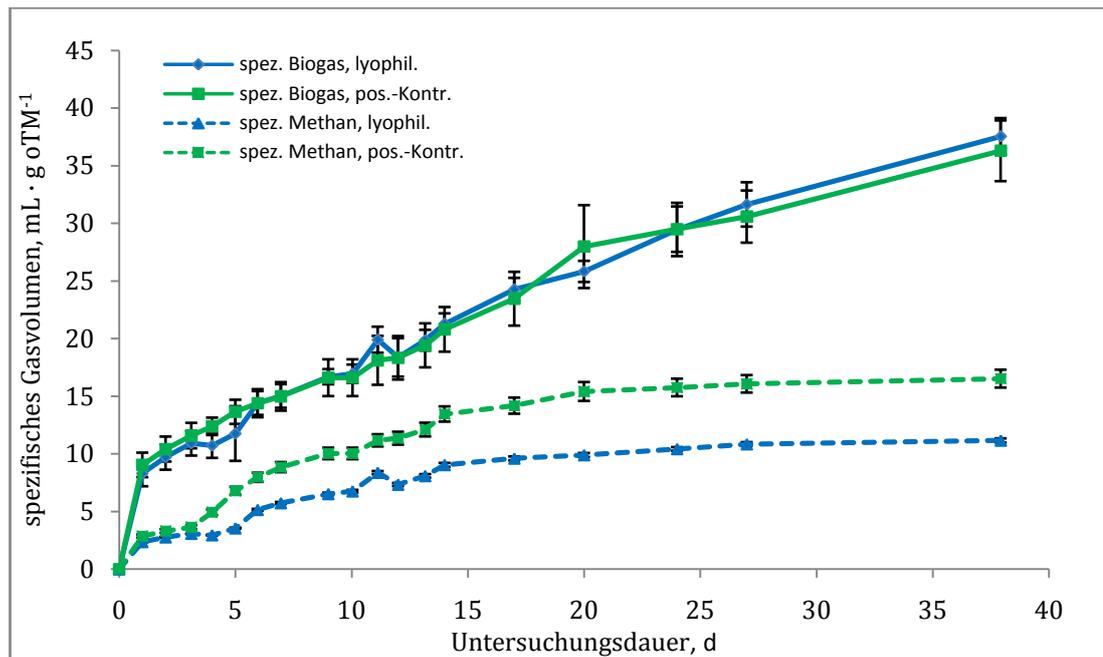


Abbildung 5 spezifische, netto Biogas- und Methanvolumina, lyophilisiert (blau) und pos.-Kontrolle (grün) im Vergleich, Mittelwerte, Blind (kein Substrat)

Der Verlauf der Eigengasproduktion der lyophilisierten und der positiv-Kontroll-Proben decken sich nahezu über die gesamte Untersuchungsdauer. Abgesehen von vereinzelnden Tagesschwankungen verlaufen beide Kurven ab dem zweiten Tag annähernd stetig linear. Die Biogas-Gesamtproduktion der lyophilisierten Proben beträgt $37,54 \text{ mL BG} \cdot \text{g oTM}^{-1}$, die der positiven, nicht-lyophilisierten Proben $36,29 \text{ mL BG} \cdot \text{g oTM}^{-1}$.

Im Vergleich zur korrespondierenden Methanproduktion der jeweiligen Proben fällt ein gravierender Unterschied auf. Die Methan-Gesamtproduktion der positiven Kontrollgruppe beträgt $16,52 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1}$, die der lyophilisierten Proben $11,16 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1}$ und damit 32,44 % geringer gegenüber den positiven, nicht behandelten Proben. Der Produktionsunterschied wird im Kapitel 6 erklärt.

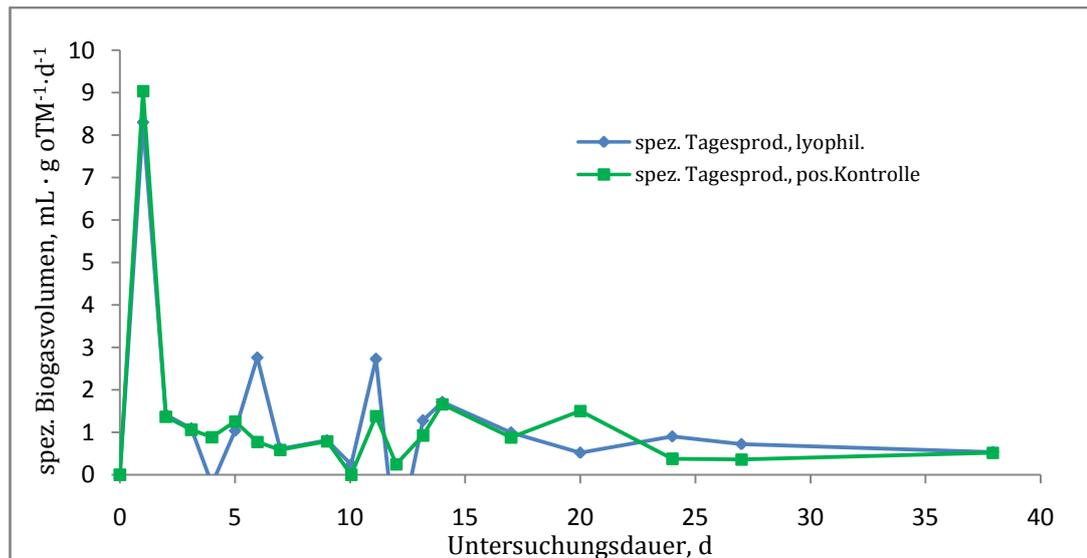


Abbildung 6 druckkorrigierte, spezifische Biogas-Tagesproduktion; Mittelwerte aus lyophilisierten und positiv-Kontroll-Proben; Blind (MBRK 2-4 und 25-27)

Aus der grafischen Überlagerung der Tagesproduktionen der lyophilisierten und positiv Kontroll-Proben ist zu entnehmen, dass der tagesspezifische Verlauf beider Proben über den gesamten Untersuchungszeitraum sehr ähnlich ist. Gleich zu Beginn der Untersuchung haben beide Proben ihr Maximum von $8,3 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (lyophilisiert) und $9,04 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (positive Kontrollgruppe). Danach fällt die Tagesproduktion beider rapide ab und nähert sich, je länger die Untersuchung dauert, einer Asymptote nahe Null an. Weitere Maxima der lyophilisierten Blindprobe sind am sechsten Tag mit $2,76 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ und am elften Tag mit $2,73 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ zu erkennen. Bei der positiven Kontrollprobe sind hingegen verzögert am elften, vierzehnten und zwanzigsten Tag leichte Steigerungen von $1,39 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ bis $1,51 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ zu erkennen. Nach dem zwanzigsten Tag nähern sich beide Verläufe wieder immer stärker an, bis sie beim Untersuchungsabbruch gleich viel Biogas produzieren.

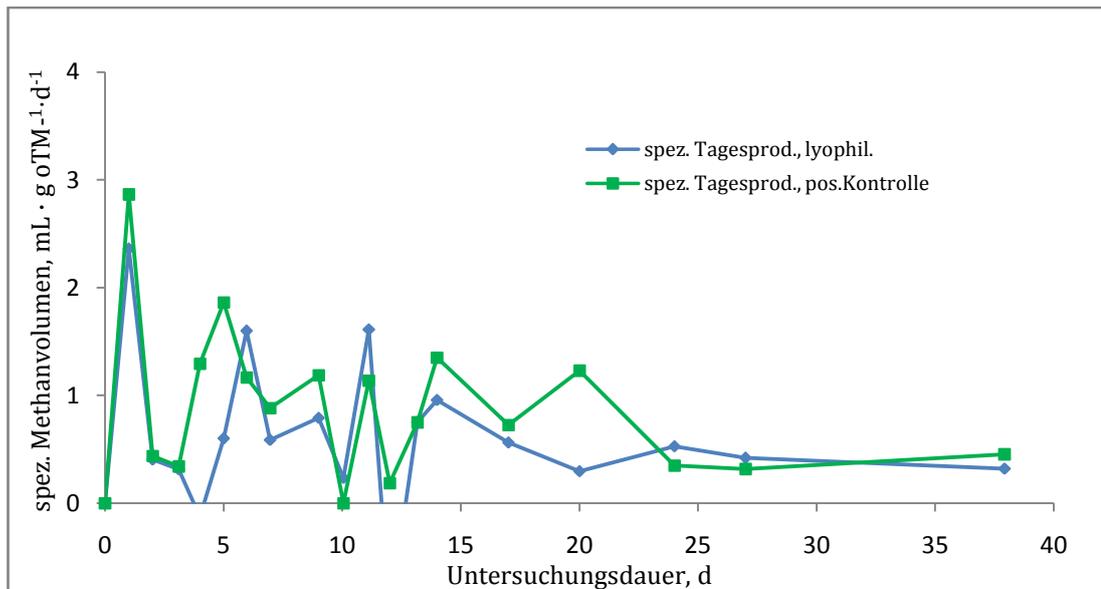


Abbildung 7 kopfraumkorrigierte, spezifische Methanvolumen-Tagesproduktion; Mittelwerte aus lyophilisierten und positiv-Kontroll-Proben; Blind (MBRK 2-4 und 25-27)

Die überlagerten Verläufe der Tagesproduktionen spezifischer Methanvolumina der lyophilisierten und positiven-Kontroll-Proben zeigen eine ähnliche Verlaufscharakteristik, mit einer leicht höheren Dynamik, gegenüber der Biogasproduktion. Es sind bei der positiven Kontrollproben sechs Maxima zu erkennen, die früher auftreten, als die Maxima bei der Biogastagesproduktion. Die sechs Ausschläge, beginnend am ersten Tag mit $2,86 \text{ mL } CH_4 \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, treten im Abstand von zwei bis vier Tagen auf und fallen immer geringer aus - bis zu letzt am zwanzigsten Tag mit $1,23 \text{ mL } CH_4 \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Ab dem einundzwanzigsten Tag fällt die Tagesproduktionsrate stetig geringer aus. Die lyophilisierten Proben haben vier markante Ausschläge, die analog zu den positiven Kontrollproben, am ersten Tag am stärksten mit $2,36 \text{ mL } CH_4 \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, zu Letzt am vierzehnten Tag mit $0,96 \text{ mL } CH_4 \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ am schwächsten ausfallen. Danach nähern sich beide Verläufe in etwa an. Auffällig ist, dass die lyophilisierte Methantagesproduktionsrate tendenziell geringer als die Produktionsrate der positiven Kontrollproben ausfällt, mit Ausnahme der Tagen, in denen die markanten Ausschläge höhere Produktionsraten aufweisen, als die der positiven Proben.

5.1.2 Referenzproben

Folgend werden kumulierte Verläufe der Biogas- und Methanproduktion dargestellt, bei der die zuvor erläuterte Eigengasproduktion ("Blind"; keine Substratzugabe) heraus gerechnet wurde. Dadurch wird der Anteil dargestellt, der ausschließlich durch die Substratzugabe hervorgebracht wurde. Dieser Anteil wird nachfolgend als Netto-Anteil betrachtet, dessen eigentliche Interesse dieser Untersuchung zugrunde liegt. Als Substrate wurden Cellulose, DDGS, Substrat C (Tierfutter) und Substrat D (Stroh) untersucht.

5.1.2.1 Cellulose

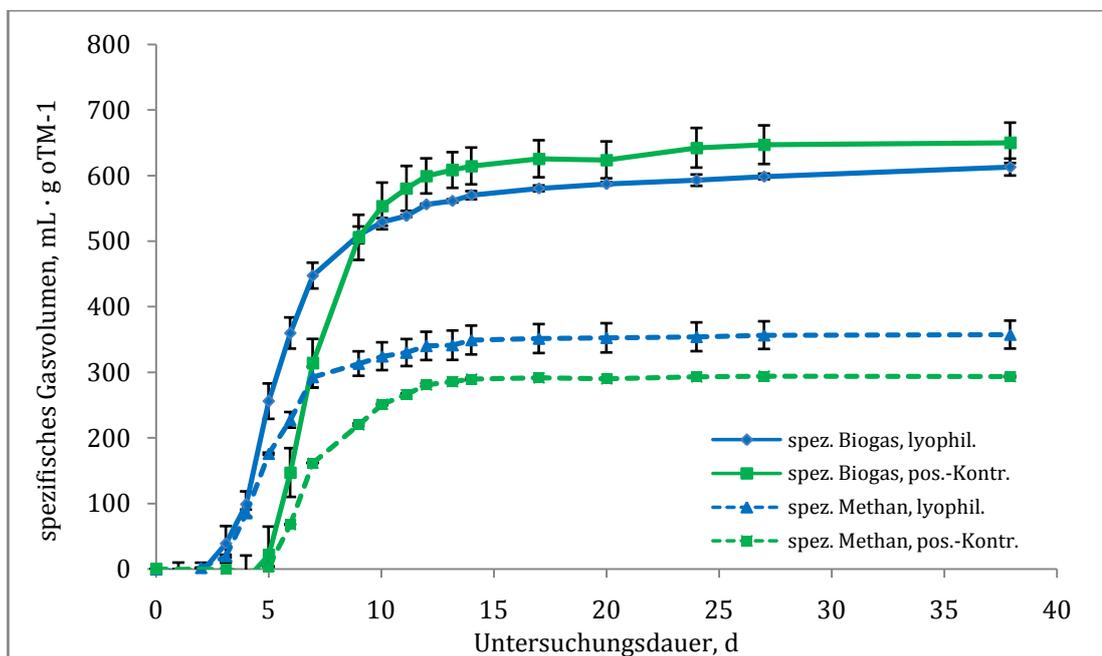


Abbildung 8 spezifische, netto Biogas- und Methanvolumina, lyophilisiert (blau) und pos.-Kontrolle (grün) im Vergleich, Mittelwerte aus MBRK 6-8, Substrat: **Cellulose**

Beginnend mit der Betrachtung der Biogasproduktion durch die Zugabe von Cellulose sind sigmoidale Kurvenverläufe zu erkennen. Nach zwei (lyophilisierte Proben) beziehungsweise fünf (positive Kontrollproben) Tagen lag-Phase beginnen die Verläufe exponentiell, verlangsamen nach dem Wendepunkt wieder exponentiell und streben gegen Asymptoten. Auffällig ist, dass dieser Prozess bei den lyophilisierten drei Tage früher und weniger stark stattfindet, als der positiven Kontrollproben. Etwa am neunten Tag, an denen die lyophilisierten Proben $507,8 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$ und die positiven

Kontrollproben $505,95 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$ produzieren, ergibt sich ein Schnittpunkt, an dem die positiven Kontrollproben erstmalig mehr Biogas insgesamt produzierten. Gegen Versuchsende produzierten die positiven Kontrollproben $650,10 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$, die lyophilisierten Proben hingegen $607,11 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$ und damit 6,61 % weniger.

Die Methanproduktion verläuft nicht nach der beschriebenen Charakteristik beim Biogas. Der Prozess der lyophilisierten Proben startet ebenfalls sigmoidal etwa drei Tage früher, als die der positiven Kontrollproben, doch zieht sogleich stark an und es wird stets, über den gesamten Untersuchungszeitraum betrachtet, mehr Methan gegenüber den positiven Proben produziert. Einen Wendepunkt gibt es nicht - gegen Versuchsende produzieren die lyophilisierten Proben $357,64 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1}$ und damit 21,67 % mehr, als die positiven Kontrollproben mit $293,94 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1}$.

5.1.2.2 DDGS

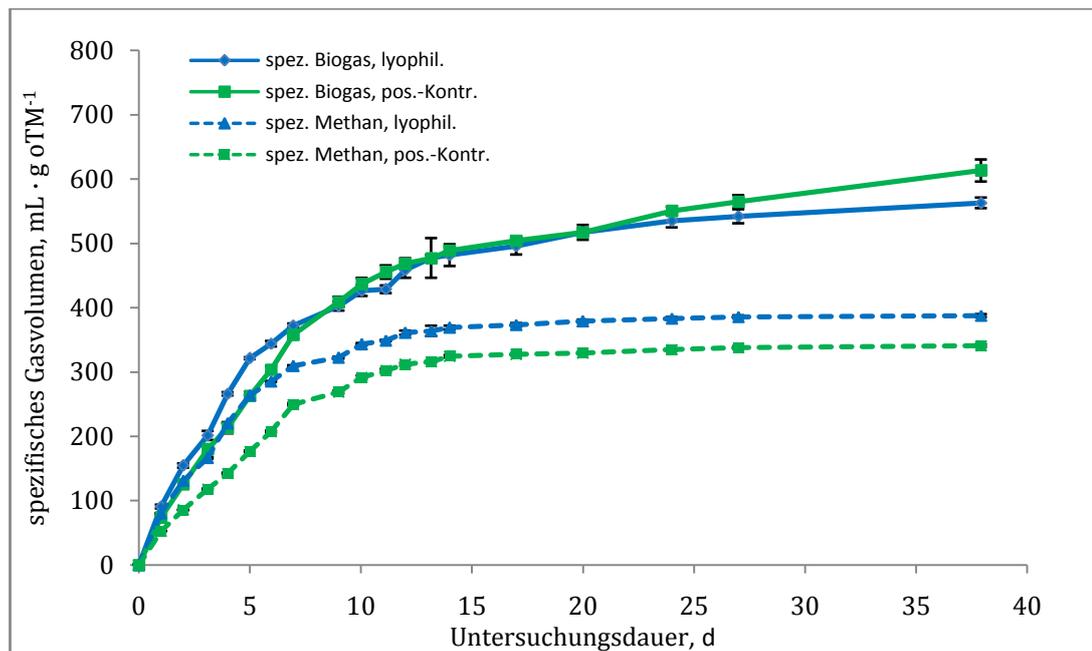


Abbildung 9 spezifische, netto Biogas- und Methanvolumina, lyophilisiert (blau) und pos.-Kontrolle (grün) im Vergleich, Mittelwerte, Substrat: DDGS

Die spezifischen Biogasvolumenverläufe beider Proben (lyophilisierte Proben, positive Kontrollproben) ähneln sehr. Die Prozesse beginnen zeitgleich, ziehen ähnlich stark an und verlaufen in ähnlicher Größenordnung negativ

logarithmisch. Genau betrachtet produzieren die lyophilisierten Proben bis zum neunten Tag geringfügig mehr - etwa am neunten Tag gibt es ein Schnittpunkt, ab dem die positiven Kontrollproben dann geringfügig mehr produzieren. Gegen Versuchsende produzieren die lyophilisierten Proben $562,99 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$, die positiv-Kontrolle $613,27 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$, was 8,93 % mehr entspricht.

Die Methanproduktion der lyophilisierten Proben verläuft in den ersten sieben Tagen negativ logarithmisch und mit einer größeren Steigung, als die der positiven Proben, dessen Steigung als linear beschrieben werden kann. Es wurde zum Versuchsende hin $387,73 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1}$ von den lyophilisierten Proben und $341,15 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1}$ von den positiven Kontrollproben hergestellt - prozentual 4,61 % weniger.

Verglichen mit den lyophilisierten Mikroorganismen, die die Cellulose verstoffwechseln, wurde mit DDGS als Substrat am Versuchsende 8,41 % mehr Methan hergestellt.

5.1.2.3 Substrat C

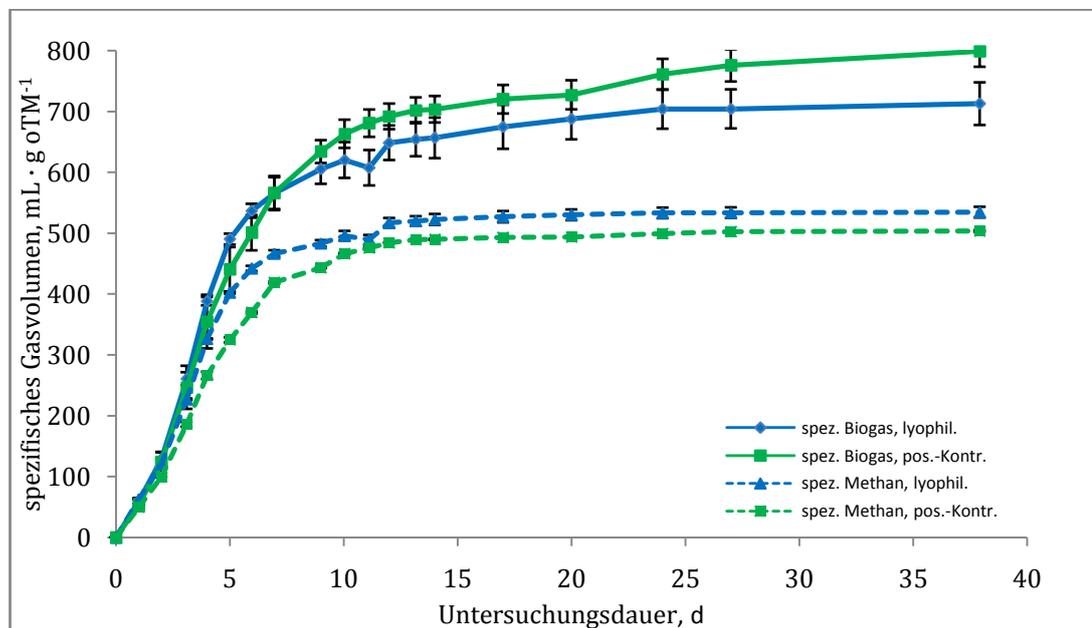


Abbildung 10 spezifische, netto Biogas- und Methanvolumina, lyophilisiert (blau) und pos.-Kontrolle (grün) im Vergleich, Mittelwerte, Substrat: Substrat C

Ähnlich der Kinetik bei der Produktion von Eigengas, ohne Zugabe eines Substrats, verlaufen beim Substrat C sämtliche Verläufe sigmoidal. Die Biogasproduktionen beider Proben verlaufen ab Beginn der Untersuchung bis zum fünften Tag ähnlich stark an, wobei die lyophilisierten Proben geringfügig produktiver sind. Um den siebten Tag herum ergibt sich ein Schnittpunkt, an dem die Produktionsrate der positiven Kontrollproben die Produktionsrate der Lyophilisierten überholt und weiter ansteigt. Der lyophilisierte Verlauf hingegen geht in die Plateauphase über und endet am Versuchsabbruch mit einer Biogasproduktion von $712,90 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$, was 14,84 % mehr gegenüber den Cellulose verstoffwechselnden Proben und sogar 21,03 % gegenüber den DDGS verstoffwechselnden Proben entspricht. Die positiven Kontrollproben stellten gegen Ende der Untersuchung $798,97 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$ her.

Die Methanproduktion der lyophilisierten Proben fällt gegenüber den positiven Proben stets größer aus. Es ist zu erkennen, dass nicht nur die Steigung der lyophilisierten Proben zu Beginn größer ist, beim Versuchsende produzierten diese auch 6,13 % mehr Methan ($534,65 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1}$), als die Kontrollproben ($503,76 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$).

5.1.2.4 Substrat D

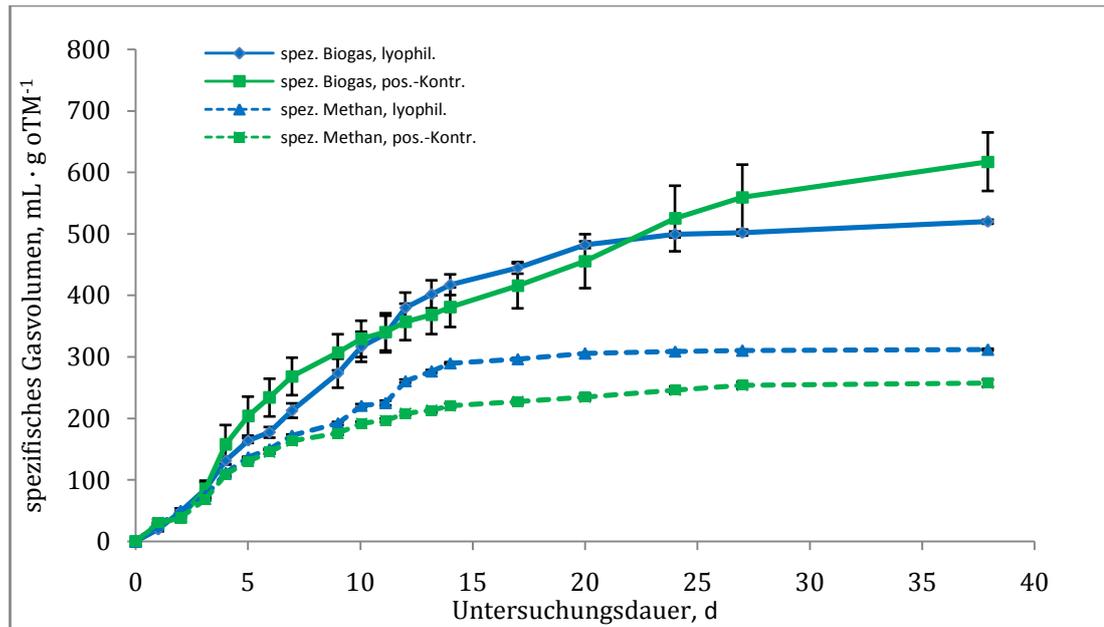


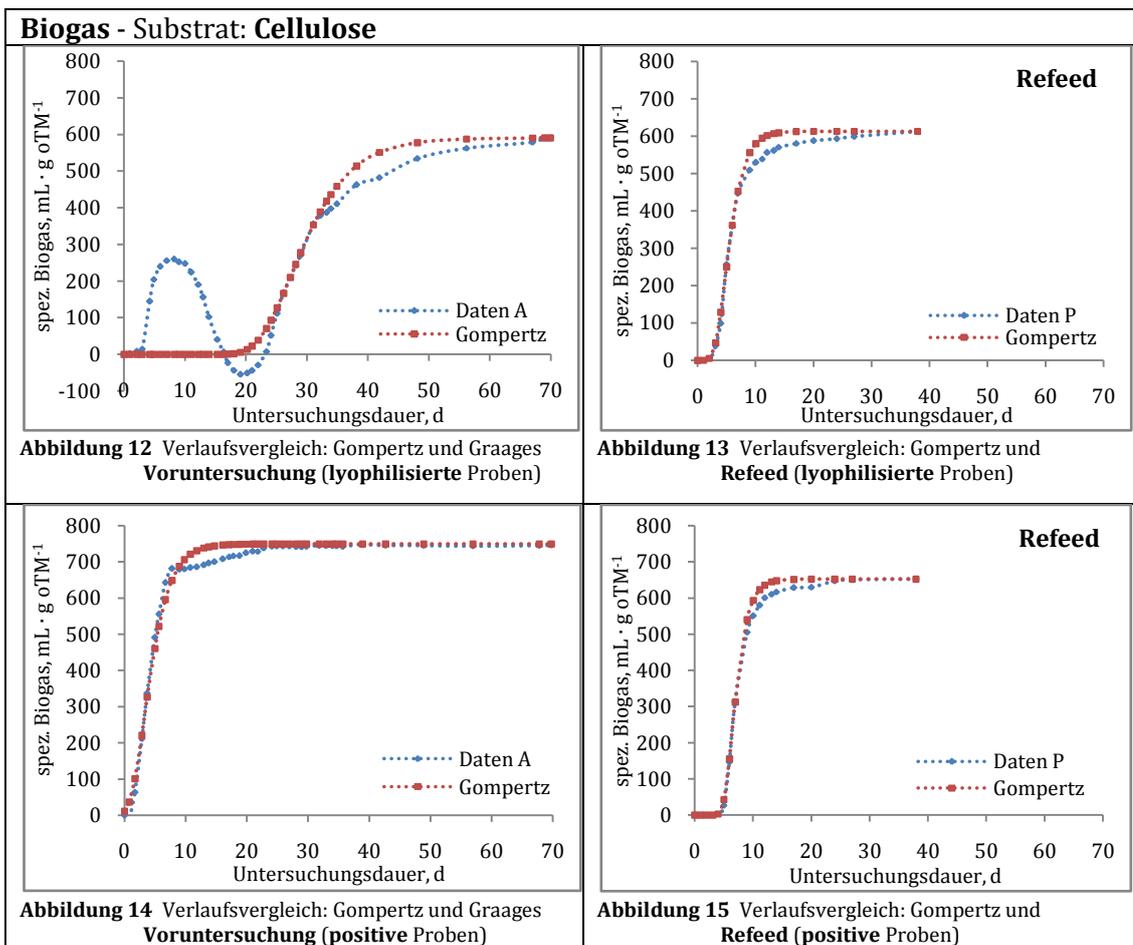
Abbildung 11 spezifische, netto Biogas- und Methanvolumina, lyophilisiert (blau) und pos.-Kontrolle (grün) im Vergleich, Mittelwerte, Substrat: Substrat D

Die Verläufe der Biogasproduktionen beider Proben unterscheiden sich im Lauf der Untersuchungszeit. Die positiven Kontrollproben starten sigmoidal und gehen ab dem neunten Tag in eine lineare über, die bis zum siebenundzwanzigsten Tag andauert. Am Versuchsabbruchstag beträgt die Produktionsrate $617,35 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$. Der lyophilisierte Verlauf startet bereits zu Beginn nahezu linear und geht ab dem zwölften Tag in eine negative logarithmische Tendenz über. Mit einer Produktionsrate von $519,83 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$ und damit um 15,8 % geringer gegenüber der positiven Kontrollproben endet der Versuch.

Bis zum siebten Tag gleicht die Methanproduktionsrate beider Proben, doch im Verlauf der Zeit stellt sich auch hier eine höhere Produktivität der lyophilisierten Proben heraus, wie bei allen analysierten Substraten. Die Methanproduktion beträgt gegen Ende der Untersuchung $311,88 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1}$ und damit 21,16 % höher gegenüber der positiv-Kontrolle, bei der $257,41 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1}$ produziert wurde.

5.2 Ergebnisse - Vergleich der Voruntersuchung nach Graage und des Refeeds mit Gompertz (Biogasentwicklung)

Folgende Darstellungen sind eine Gegenüberstellung der Ergebnisse aus der Voruntersuchung bei erstmaliger Substratzugabe nach Graage (linke Spalte) und aus dem Refeed (rechte Spalte) mit dem ideellen Kurvenverlauf nach Gompertz. Die Verläufe aus beiden Untersuchungen sind jeweils identisch skalierte spezifische-netto-Biogasvolumenentwicklungen, um eine direkte Vergleichbarkeit zu ermöglichen.



Biogas - Substrat: DDGS

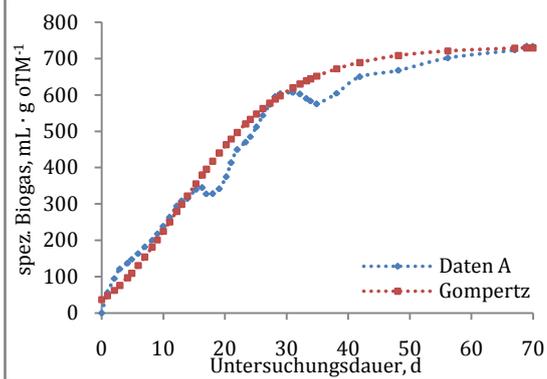


Abbildung 16 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (lyophilisierte Proben)

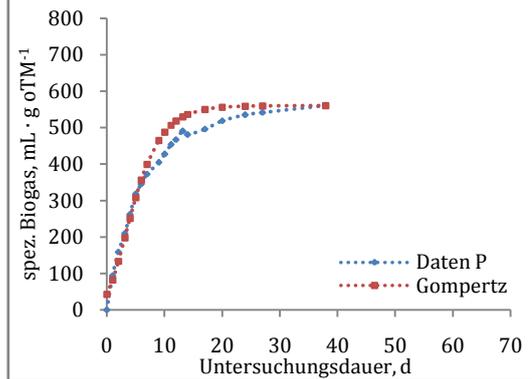


Abbildung 17 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (lyophilisierte Proben)

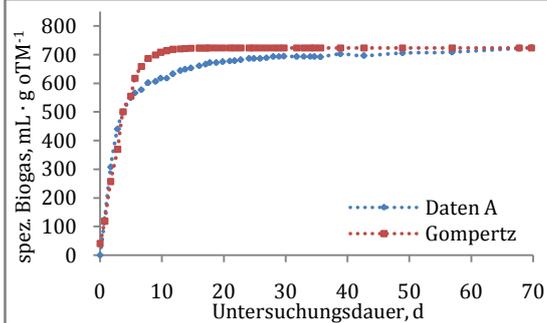


Abbildung 18 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (positive Proben)

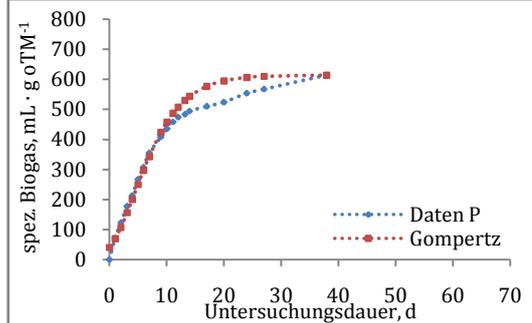


Abbildung 19 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (positive Proben)

Biogas - Substrat: Substrat C

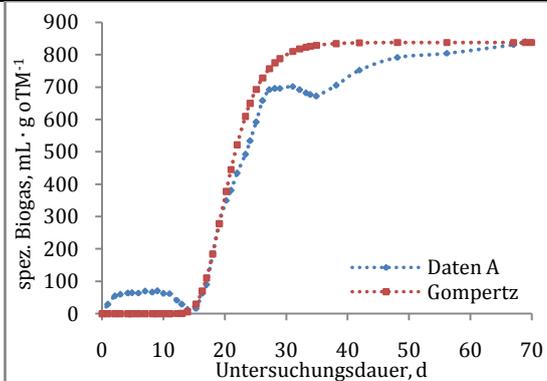


Abbildung 20 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (lyophilisierte Proben)

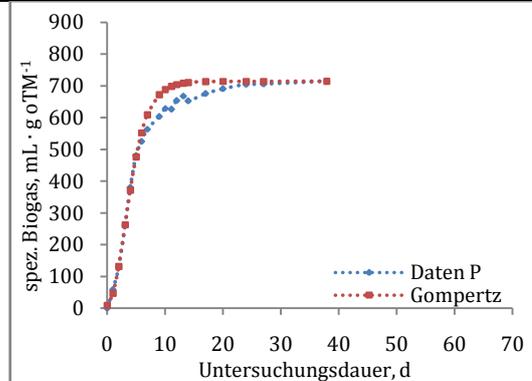


Abbildung 21 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (lyophilisierte Proben)

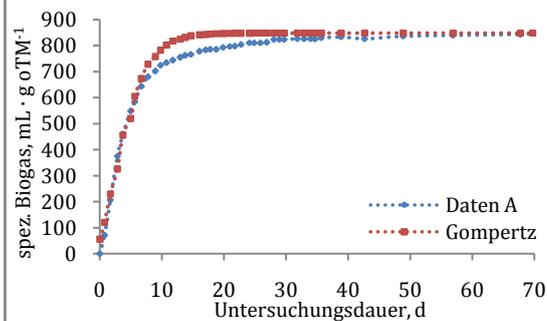


Abbildung 22 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (positive Proben)

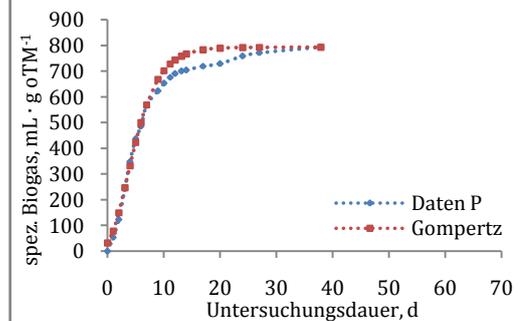


Abbildung 23 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (positive Proben)

Biogas - Substrat: Substrat D

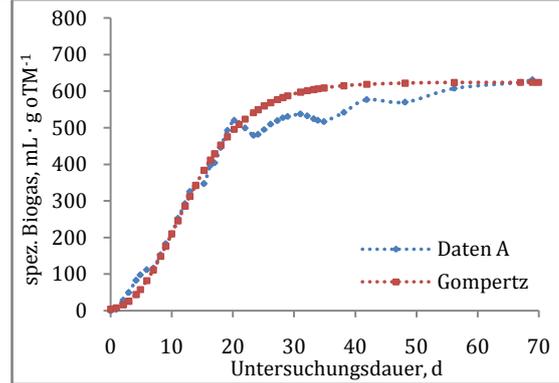


Abbildung 24 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (lyophilisierte Proben)

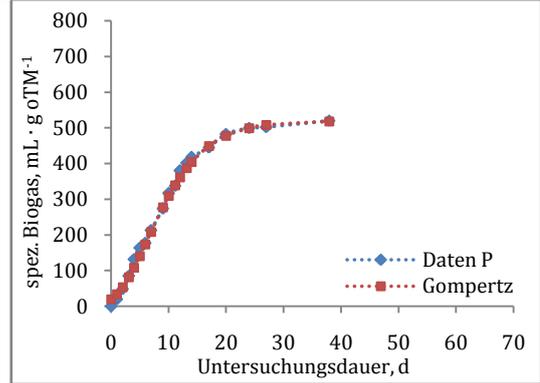


Abbildung 25 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (lyophilisierte Proben)

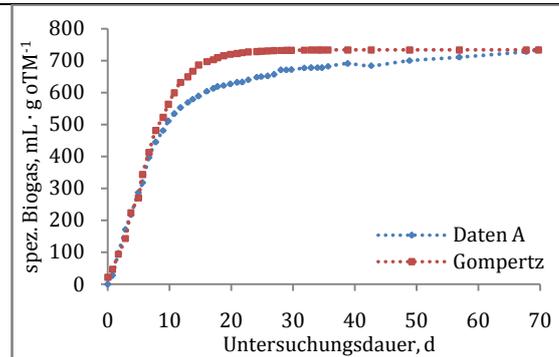


Abbildung 26 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (positive Proben)

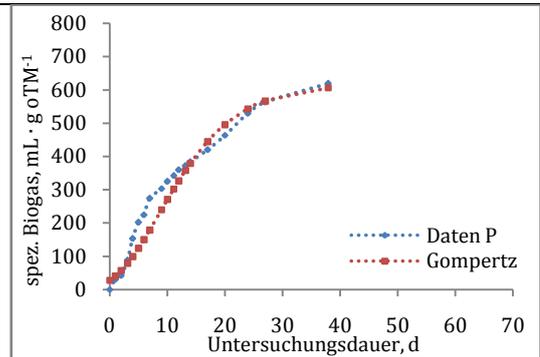


Abbildung 27 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (positive Proben)

Analog zu den Ergebnissen, die zu Anfang des Kapitels dargestellt wurden, in denen die Biogasentwicklungen aus der Voruntersuchung und dem Refeed mit Gompertz verglichen wurden, werden nachfolgend die Methanentwicklungen auf gleicher Darstellungsgrundlage abgebildet.

Methan - Substrat: Cellulose

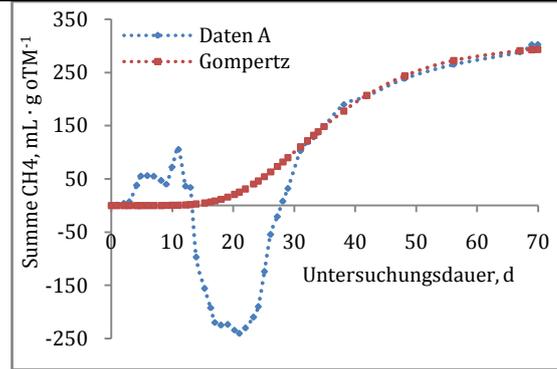


Abbildung 28 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (lyophilisierte Proben)

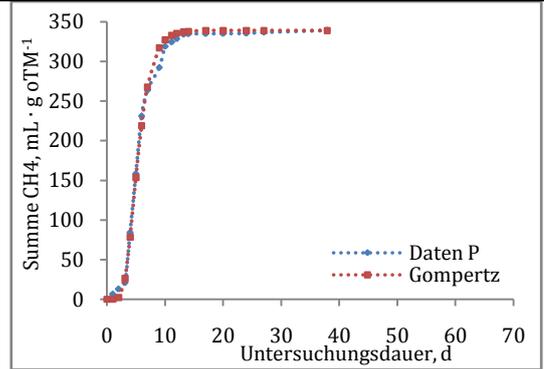


Abbildung 29 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (lyophilisierte Proben)

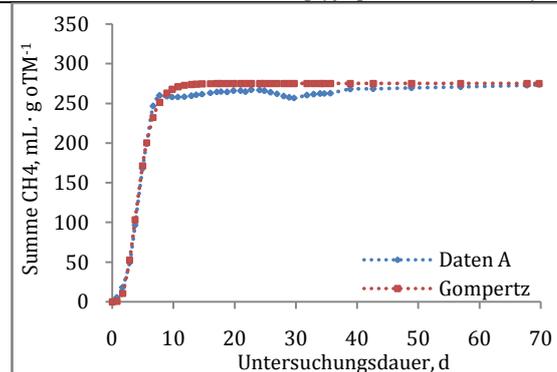


Abbildung 30 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (positive Proben)

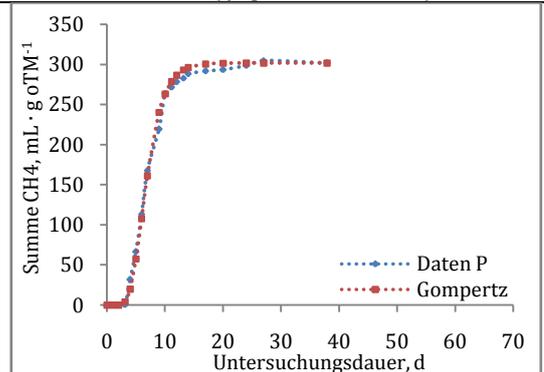


Abbildung 31 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (positive Proben)

Methan - Substrat: DDGS

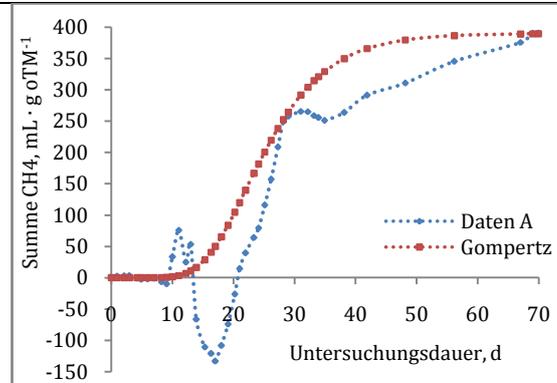


Abbildung 32 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (lyophilisierte Proben)

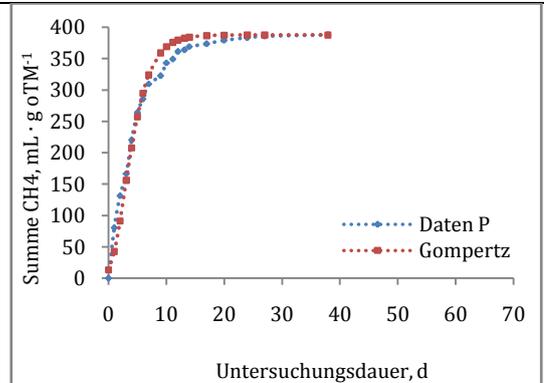


Abbildung 33 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (lyophilisierte Proben)

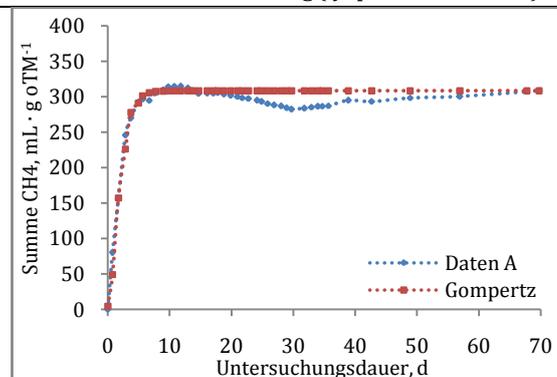


Abbildung 34 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (positive Proben)

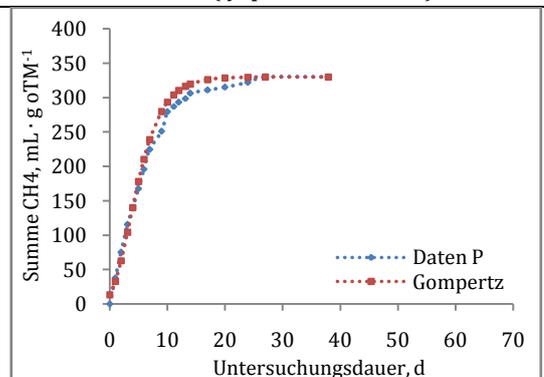


Abbildung 35 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (positive Proben)

Methan - Substrat: Substrat C

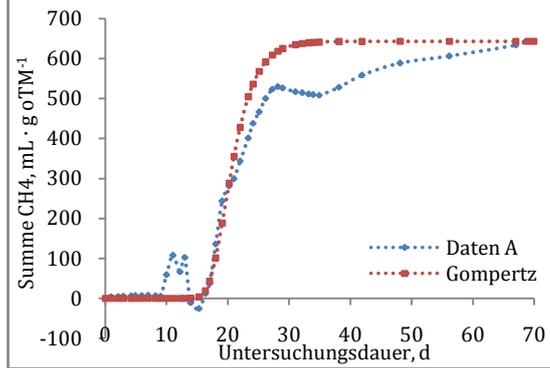


Abbildung 36 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (lyophilisierte Proben)

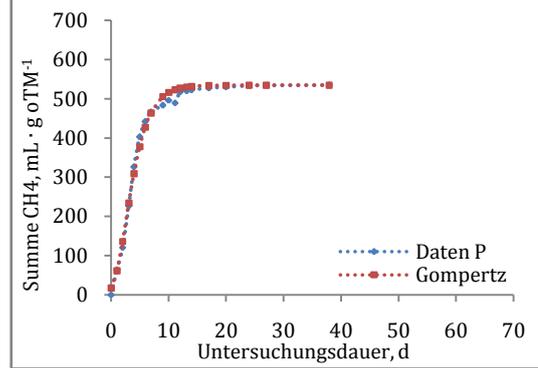


Abbildung 37 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (lyophilisierte Proben)

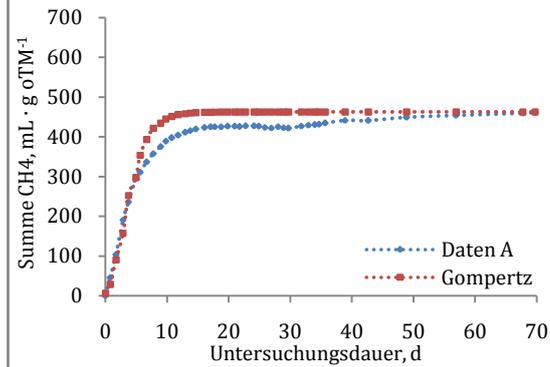


Abbildung 38 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (positive Proben)

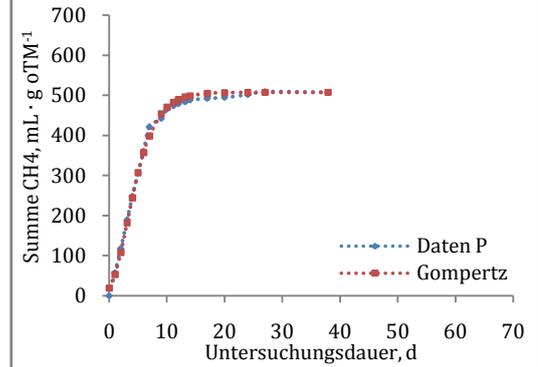


Abbildung 39 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (positive Proben)

Methan - Substrat: Substrat D

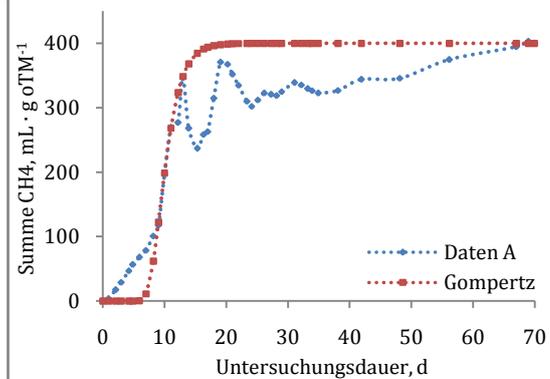


Abbildung 40 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (lyophilisierte Proben)

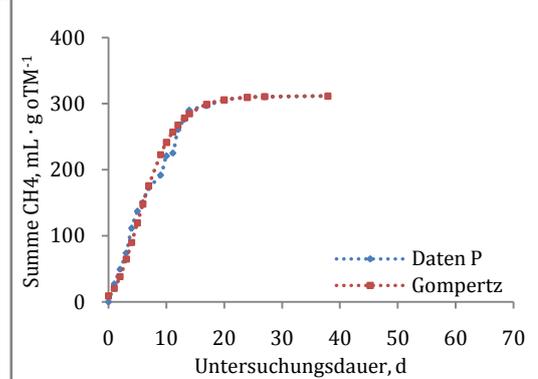


Abbildung 41 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (lyophilisierte Proben)

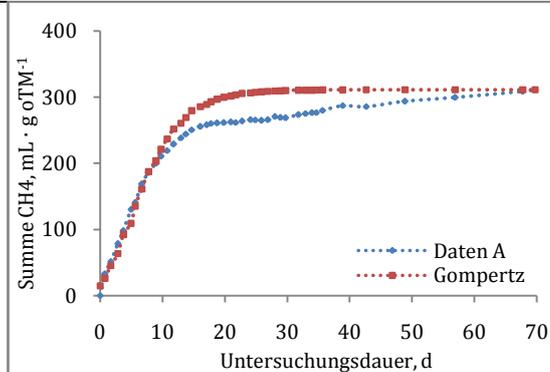


Abbildung 42 Verlaufsvergleich: Gompertz und Graages Voruntersuchung (positive Proben)

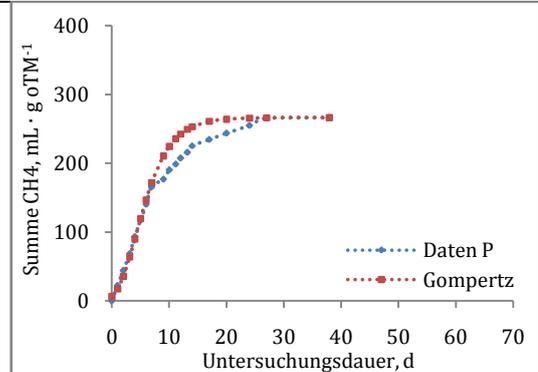


Abbildung 43 Verlaufsvergleich: Gompertz und Refeed (positive Proben)

Tabelle 3 Übersicht aller Ergebnisse aus der Voruntersuchung und dem Refeed, einschließlich der Gasproduktionsrate PR und der lag-Dauer λ ; farbliche Markierung verdeutlichen eine positive bzw. negative Differenz zu Refeed-Ergebnissen

| Biogas | | | | | | | | | | | | |
|--------------|--------------------------------------------|--------|------------|---------|------------------------------------------------|--------|------------|---------|--------------|--------|-------|--|
| | $BP_{\infty}, ml \cdot g \text{ oTS}^{-1}$ | | | | $PR, ml \cdot g \text{ oTS}^{-1} \cdot d^{-1}$ | | | | λ, d | | | |
| | Vorunt. | Refeed | abs.-Diff. | %-Diff. | Vorunt. | Refeed | abs.-Diff. | %-Diff. | Vorunt. | Refeed | Diff. | |
| L-Cellulose | 590,86 | 613,14 | 22,28 | 3,77 | 40,00 | 125,00 | 85,00 | +312,5 | 22,00 | 3,00 | 19,00 | |
| L-DDGS | 733,33 | 562,99 | -170,35 | -23,23 | 25,00 | 60,00 | 35,00 | +240 | 1,00 | 0,00 | 1,00 | |
| L-Substrat C | 838,00 | 712,90 | -125,10 | -14,93 | 90,00 | 125,00 | 35,00 | +138,89 | 16,00 | 1,00 | 15,00 | |
| L-Substrat D | 624,33 | 519,83 | -104,50 | -16,74 | 35,00 | 35,00 | 0,00 | +100 | 4,00 | 1,00 | 3,00 | |
| P-Cellulose | 749,65 | 650,10 | -99,56 | -13,28 | 120,00 | 160,00 | 40,00 | +33,33 | 1,00 | 5,00 | -4,00 | |
| P-DDGS | 723,67 | 613,27 | -110,40 | -15,26 | 130,00 | 50,00 | -80,00 | -61,54 | 0,10 | 0,00 | 0,10 | |
| P-Substrat C | 849,16 | 798,97 | -50,19 | -5,91 | 110,00 | 110,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,00 | -1,00 | |
| P-Substrat D | 733,98 | 617,35 | -116,64 | -15,89 | 70,00 | 30,00 | -40,00 | -42,86 | 1,00 | 1,00 | 0,00 | |

| Methan | | | | | | | | | | | | |
|--------------|--------------------------------------------|--------|------------|---------|------------------------------------------------|--------|------------|---------|--------------|--------|-------|--|
| | $BP_{\infty}, ml \cdot g \text{ oTS}^{-1}$ | | | | $PR, ml \cdot g \text{ oTS}^{-1} \cdot d^{-1}$ | | | | λ, d | | | |
| | Vorunt. | Refeed | abs.-Diff. | %-Diff. | Vorunt. | Refeed | abs.-Diff. | %-Diff. | Vorunt. | Refeed | Diff. | |
| L-Cellulose | 302,67 | 357,64 | 54,98 | 18,16 | 10,00 | 77,00 | 67,00 | +670 | 20,00 | 3,00 | 17,00 | |
| L-DDGS | 390,11 | 387,73 | -2,38 | -0,61 | 20,00 | 60,00 | 40,00 | +200 | 15,00 | 0,50 | 14,50 | |
| L-Substrat C | 643,26 | 534,65 | -108,60 | -16,88 | 90,00 | 90,00 | 0,00 | 0,00 | 17,00 | 0,50 | 16,50 | |
| L-Substrat D | 400,08 | 311,88 | -88,19 | -22,04 | 80,00 | 30,00 | -50,00 | -62,50 | 7,50 | 1,00 | 6,50 | |
| P-Cellulose | 275,02 | 293,94 | 18,93 | 6,88 | 60,00 | 80,00 | 20,00 | +33,33 | 2,00 | 5,00 | -3,00 | |
| P-DDGS | 308,57 | 341,15 | 32,57 | 10,56 | 100,00 | 40,00 | -60,00 | -60 | 0,50 | 0,50 | 0,00 | |
| P-Substrat C | 462,85 | 503,76 | 40,91 | 8,84 | 80,00 | 70,00 | -10,00 | -12,5 | 1,00 | 0,50 | 0,50 | |
| P-Substrat D | 311,24 | 257,41 | -53,83 | -17,29 | 25,00 | 30,00 | 5,00 | +20 | 0,50 | 1,00 | -0,50 | |

5.3 Ergebnisse im direkten Vergleich

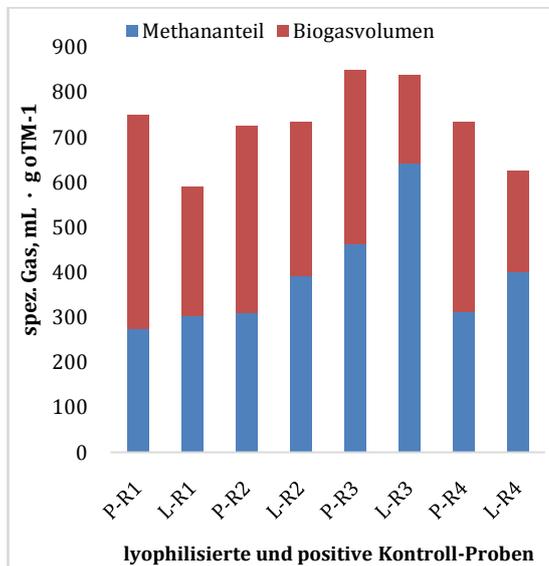


Abbildung 444 Darstellung der Ergebnisse aus der 70-tägigen Voruntersuchung nach Graage; dargestellt sind spezifische Biogasvolumina und der spezifische Methananteil, $mL \text{ Gas} \cdot g \text{ oTM}^{-1}$

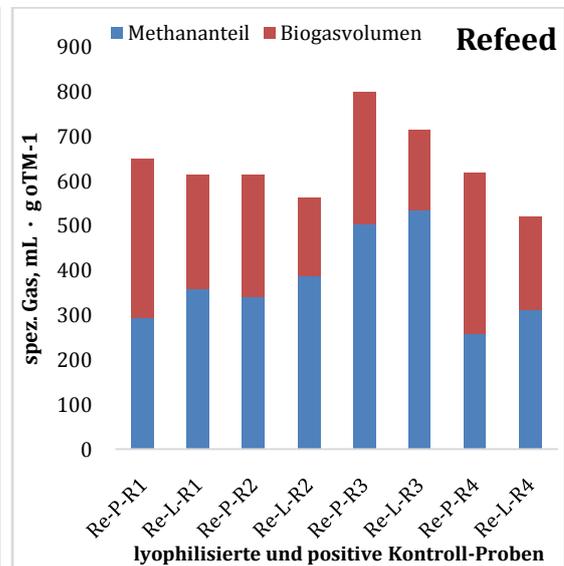


Abbildung 455 Darstellung der Ergebnisse aus dem Refeed; dargestellt sind spezifische Biogasvolumina und der spezifische Methananteil der jeweiligen Probenansätzen, $mL \text{ Gas} \cdot g \text{ oTM}^{-1}$

6 Diskussion

Aus der Untersuchung gehen vielfach neue Erkenntnisse hervor. Grundsätzlich betrachtet ist erkennbar, dass die Lyophilisierung langfristig einen großen Einfluss auf die Produktion und dem Potential nimmt, Biogas und Methan zu bilden. Die Auswirkungen unterscheiden sich im verwendeten Substrat in unterschiedlichen Ausmaßen. Darüberhinaus ist aus dem Vergleich der Ergebnisse die zeitlich bedingte Regenerations- und gesteigerte Methanproduktionsfähigkeit der Mikroorganismen zu beobachten.

In den *Abbildungen 8-11* ist zu erkennen, dass die lyophilisierten Proben nach Zugabe der Substrate schneller mit der Verstoffwechslung beginnen, als die positiven Kontrollproben. Besonders bei Cellulose, DDGS und Substrat C wird die schnellere Reaktion auf die Zugabe deutlich. Bei Substrat D ist in den ersten drei Tagen die Produktion bei beiden Proben nahezu identisch, wobei die positiven Proben darauffolgend höhere Gasausbeuten verzeichnen. Bemerkenswert ist, dass bei Untersuchungsende die Biogasausbeuten bei allen positiven Proben höher (P-Cellulose mit $650 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$: +6,03 %, P-DDGS mit $613,27 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$: +8,93 %, P-Substrat C mit $798,97 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$: +12,1 %, P-Substrat D mit $617,35 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$: +18,8 %) gegenüber den lyophilisierten Proben ausfallen. Betrachtet man in diesem Kontext jedoch die Methananteile aller lyophilisierten Proben fallen diese höher aus (*L-Cellulose*: 58 %, *P-Cellulose*: 45 %; *L-DDGS*: 69 %, *P-DDGS*: 56 %; *L-Substrat C*: 75 %, *P-Substrat C*: 63 %; *L-Substrat D*: 60 %, *P-Substrat*: 42 %), was auf die Lyophilisierung zurückgeführt und als Vorteil betrachtet werden kann, da im wesentlichen die Methanproduktion von Interesse ist. Dabei wurde mit Substrat C die größten Gasausbeuten erzielt - sowohl Biogas mit $712,90 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1}$, als auch Methan mit $534,65 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1}$ fallen größer aus, als bei Cellulose, DDGS und Substrat D. Darüberhinaus ist der Methananteil am Biogas mit 75 % der Höchste, als bei den weiteren Substraten. Damit ist Substrat C insgesamt am produktivsten in der Refeed-Untersuchung, doch zugleich ist hierbei die zweitgrößte Methanproduktionseinbuße gegenüber der Voruntersuchung nach Graage zu verzeichnen. In der Voruntersuchung waren die Biogas- und Methanausbeuten gleichfalls die Höchsten, was eine, relativ betrachtet, ausgezeichnete Anpassung und Verstoffwechslung des Substrats bedeutet. Die

Einbußen sind daher höchstwahrscheinlich mit dem schnellen Abbauraten des Substrats zu erklären, da die Mikroorganismen erst nach 70 Tagen den Refeed erfahren haben und ein gewisser Anteil abgestorben ist. Bei langfristiger Verwendung oder einem kontinuierlichen Prozess des Inokulums *INDS37* in lyophilisierter Form, müssen daher die Sterberaten, die nicht Gegenstand dieser Untersuchung waren, berücksichtigt werden. Überaus bemerkenswert ist jedoch die Regenerations- und Überlebensfähigkeit der Mikroorganismen.

Betrachtet man die Biogas- und Methan-Verläufe der lyophilisierten Proben aus der Voruntersuchung nach Graage die stark von der Lyophilisierung geprägt sind, korrelieren diese nicht mit den Verläufen der positiven Kontrollproben (siehe *Abbildungen 12-43*, linke Spalte). Die lange Untersuchungsdauer und die Sterberate zudem betrachtet, könnten zu der Annahme führen, dass langfristige oder irreversible Schädigungen auftreten, die die Verwendung des Inokulums *INDS37* langfristig unmöglich machen. Die ist jedoch nicht der Fall, da im Refeed, abgesehen von den relativen Differenzen bzw. Einbußen innerhalb einer Probe mit einem bestimmten Substrat, die lyophilisierten und positiven Kontrollproben sehr ähnlich verlaufen und grob übereinstimmen. In der Betrachtung mit der Formel von Gompertz ist die Regenerationsfähigkeit aus dem Vergleich der Koeffizienten deutlich erkennbar.

Gompertz liefert mit der im *Kapitel 2.7* beschriebenen Formel eine hervorragende Möglichkeit natürliches Wachstum zu analysieren und mit anderen Verläufen mathematisch zu vergleichen. Durch die Annäherung des Verlaufs nach Gompertz mit den jeweiligen zu vergleichenden Verläufen aus der Untersuchung sind die biochemischen Gasbildungspotentiale BP_{∞} , die Produktionsraten PR und lag-Phasen λ ermittelbar.

Aus den *Abbildungen 12-15* und *28-31*, bei der Cellulose als Substrat verwendet wurde, ist erkennbar, dass das biochemische Biogaspotential lyophilisierter Proben in der Refeed Untersuchung, dem aus der Voruntersuchung annähernd identisch ist, doch weitaus höhere Produktionsraten von $125 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (+312,5 %) und eine geringere lag-Phase von 19-Tagen aufweisen. Bei der Produktionsrate von Methan sind das sogar $77 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ und damit

670 % mehr, verglichen mit den lyophilisierten Proben aus der Voruntersuchung.

Anzumerken ist, dass die positiven Proben aus der Refeed Untersuchung $160 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, und damit $35 \text{ mL Biogas} \cdot \text{g oTM}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ mehr Biogas, als bei den lyophilisierten Refeed Proben bilden, doch die Methanbildungsrate höher (+22%) ist (Vergleich *Abbildungen 29* und *31*). Darüberhinaus kann geschlussfolgert werden, dass die Sterberate der Mikroorganismen durch das Aushungern nach 70 Tagen größer ist, als durch die Lyophilisierung, da die Differenz des biochemischen Biogaspotentials bei den positiven weitaus größer ist, verglichen mit den lyophilisierten Proben aus der Vor- und der Refeed-Untersuchung (Vergleich *Abbildungen 12* und *13* mit *14* und *15*). Das ist mit der relativ schlechten Verstoffwechslung von Cellulose durch die Mikroorganismen zu erklären. Ein großer Teil der Cellulose, das erst gegen Ende in der Voruntersuchung verstoffwechselt wurde, wirkte wie ein Nährstoffdepot, und somit das Sterben durch Aushungern nicht so stark gewichtet ist, wie bei allen weiteren Substraten (Vergleiche: *Abbildungen 12* und *13* (Cellulose), *16* und *17* (DDGS), *20* und *21* (Substrat C), *24* und *25* (Substrat D)).

Die auffällig ähnlichen Produktionsraten PR , sowohl des Biogases, als auch des Methans, und lag-Phasen λ der lyophilisierten und der positiven Kontrollproben in der Refeed-Untersuchung, belegt eine nahezu vollständige Regeneration von der Lyophilisierung. Die geringen Differenzen zwischen den Kennzahlen PR und λ bei dem Vergleich der Proben gleichen Substrats und die relativ großen Differenzen der genannten Kennzahlen substratübergreifend, verstärken hierbei die Annahme (siehe Tabelle 3). Der markanteste Unterschied, der durch die Lyophilisierung hervorgebracht wurde und in der Refeed-Untersuchung erkennbar ist, ist das herabgesetzte Biogasbildungspotential, mit zugleich gesteigerten Methananteilen bei allen Substraten, gegenüber den positiven Kontrollproben

Auf Grundlage der Beobachtungen des Einflusses des Refeeds und dem Vergleich der Ergebnisse aus der Voruntersuchung, kann geschlussfolgert werden, dass die Lyophilisierung großen Einfluss auf die biochemischen

Prozesse nimmt, doch vorteilhaft eingesetzt werden kann, da höhere Methananteile erzielt werden können. Da das Inokulum *INDS37* mit Dünnschlempe als Substrat (Basis des DDGS) kultiviert wurde, ist aus der Refeed-Untersuchung zu entnehmen, dass die Mikroorganismen sich auch auf andere Substrate einstellen und sogar höhere Methanausbeuten erzielen können. Die besten Ergebnisse sind hierbei mit Substrat C erzielt worden. Darüberhinaus ist die Erkenntnis über die Notwendigkeit einer Konditionierungszeit bei frisch lyophilisierten Inokula und deren langfristigen Verwendung gewonnen. Ein sofortiger Einsatz direkt aus dem gekühlten Zustand ergibt eine Instabilität des Gasbildungsprozesses und hohe lag-Phasen, wie aus den Vergleichen nach Gompertz und des Refeeds entnehmbar, die verhindert werden können, wenn die methanogene Organismen ausreichend Zeit haben die notwendigen substratspaltenden Enzyme zu bilden. Die Notwendigkeit einer Adaption an Substrat, Nährmedium und an normalen Prozessbedingungen, wie Temperatur und Druck und den hierbei Vorteilen lyophilisierter Inokula wurden aus Refeed-Untersuchung beobachtet und bestätigt.

7 Zusammenfassung und Ausblick

Es wurde ein biochemischer Methanpotentialtest an einem, durch Lyophilisierung strapazierten, Inokulum durchgeführt, welchem erst nach 70 Tagen erneut Substrat hinzugeben wurde. Aus den Ergebnissen der Refeed-Untersuchung wurden weitreichende Erkenntnisse gewonnen, die dazu dienen könnten, ein standardisiertes Inokulum herzustellen, welches in der Wirtschaft, als auch in Laboranalysen bedeutsam wäre. Es wurden erniedrigte Biogasvolumina, bei gleichzeitig erhöhten Methananteilen (Reinheit) und absoluten Methanproduktionsvolumina festgestellt; darüberhinaus wurde ebenfalls erhöhte Produktionsraten von Methan beobachtet, die das unbehandelte Inokulum nicht erreicht hatte. Diese Erkenntnisse sind für das Inokulum *INDS37*, das am Forschungsinstitut kultiviert wird, noch unbekannt gewesen und könnten hilfreich sein das Inokulum zu optimieren.

Es wäre von großer Bedeutung festzustellen, ob die erhöhten Methan-Produktionsraten und Methananteilen lyophilisierter Mikroorganismen, gegenüber den positiv Kontrollproben, in einem, beispielsweise zeitlich optimierten, semikontinuierlichen Prozess, permanent aufrechterhalten werden können.

8 Literatur- und Quellenverzeichnis

- (ANGELIDAKI und SANDERS 2004): Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology*, S. 117–129
- (ANGELIDAKI und AHRING 1993): Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. *Applied Microbiology and Biotechnology*, S. 560-564
- (AHRING 1995): Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, S. 559-565
- (BIELER 2015): Vergleichende anaerobe Untersuchungen verschiedener Inokula nach der Lyophilisierung, Bachelorarbeit
- (BOONE 1980): Terminal reactions in the anaerobic digestion of animal waste. *Applied and Environmental Microbiology*, S. 57-64
- (GRAAGE 2019): BMP-Untersuchungen im Minibioreaktor Testsystem - Qualitätskontrolle im Rahmen der Entwicklung standardisierter und lagerfähiger Inokula, Bachelorarbeit, TUHH
- (HECHT, MELANIE 2008): Die Bedeutung des Carbonat-Puffersystems für die Stabilität des Gärprozesses landwirtschaftlicher Biogasanlagen. Inaugural-Dissertation, Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, S. 3-4; S. 10-11
- (HOLLIGER 2017): Methane Production of Full-scale anaerobic Digestion Plants calculated from substrate's Biomethane Potentials compares Well with the One Measured On-site
- (KOCH 2017): The role of inoculum's origin on the methane yield of different substrates in biochemical methane potential (BMP) tests, Technical University of Munich, S. 457-462
- (KUCHTA, HEERENKLAGE 2018): Entwicklung standardisierter Inokula für die Durchführung von Biogasbildungspotentialbestimmungen,

Technische Universität Hamburg, Institut für Umwelttechnik und
Energiewirtschaft

(LINKE 2006): Grundlagen und Verfahren der Biogasgewinnung. Biogas in der
Landwirtschaft. Leitfaden für Landwirte und Investoren im Land
Brandenburg, Potsdam, S. 13–25

(MÖLLER und MÜLLER 2012): Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient
availability and crop growth: a review. Engineering in Life Sciences, S.
242-257

(VDI 4630 2016): VDI-Richtlinien: Vergärung organischer Stoffe.
Substratcharakterisierung, Probenahme, Gärversuch, S. 49

(MCCARTY 1964): Anaerobic waste treatment fundamentals. S. 91-126

(MORETTA 2017): Investigation of standardised Inocula under mesophilic and
thermophilic milieu conditions for anaerobic batch tests, Masterarbeit

(PULLAMMANAPPALLIL 2001): Stable performance of anaerobic digestion in the
presence of a high concentration of propionic acid. S. 165-169

(ZIMMERMANN, JULIUS (2018): Untersuchungen zum Einfluss der Lyophilisierung
anaerober Inokula unter besonderer Berücksichtigung der
methanbildenden Archaeen und der organischen Säuren in anaeroben
Batchversuchen, Bachelorarbeit

QUELLEN

[1] William J. Thieman, Michael A. Palladino: Biotechnologie. ISBN 978-3-
8273-7236-9, Pearson Studium, S. 140

[2] Abbildung 2: Phasendiagramm des Wassers:
http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/11/aac/vorlesung/kap_7/vlu/phasendiagramme_reiner_stoffe.vlu/Page/vsc/de/ch/11/aac/vorlesung/kap_7/kap7_2/kap7_2a.vscml.html

[3] Biogasproduktionsverläufe unter normalen und gestörten Bedingungen:
VDI4630, 2016, Seite 69

9 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe, dass alle Ausführungen, die anderen Schriften wörtlich oder sinngemäß entnommen wurden, kenntlich gemacht sind und dass die Arbeit in gleicher oder ähnlicher Fassung noch nicht Bestandteil einer Studien- oder Prüfungsleistung war.

Hamburg, den 29.08.2019

Unterschrift