

BioDME

Maßgeschneiderte Inhaltstoffe-Verbundvorhaben:

**“Nachhaltige Synthese des Energieträgers Dimethylether
aus Abwasser“**

Abschlussbericht

Zeitraum: 01.09.2019 - 31.12.2023

Förderkennzeichen: 02WER1528C

Ausführende Stelle:

Technische Universität Hamburg (TUHH), Institut für Technische Mikrobiologie
(TMI), 21073 Hamburg

Inhaltsverzeichnis

I Kurze Darstellung.....	4
II. Eingehende Darstellung.....	5
II.1. Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele	5
AP2.1: Isolierungskampagne zur Identifikation von neuen Biokatalysatoren für den Betrieb mit Brauereiabwasser (KIT) – Status (100%)	5
AP2.2: Korrelation von Biofilmstruktur und Stromdichte (KIT/TUHH)	11
AP2.3: Langzeitstabilität und Einfluss der Zulaufkonzentrationen auf die Biofilmaktivität (KIT/TUHH) – Status (100%).....	25
Literaturverzeichnis	31
II.2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises.....	32
II.3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	33
II.4. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans.....	34
II.5. Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen	35
II.6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses.....	36
Folgende Publikationen sind aus den Projekten hervorgegangen:	36
Publikationen in Vorbereitung:.....	36
III. Erfolgskontrollbericht.....	37
1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen	37
2. Wissenschaftlich-technisches Ergebnis, erreichte Nebenergebnisse, und gesammelte wesentliche Erfahrungen.....	37
3. Fortschreibung des Verwertungsplans	37

I Kurze Darstellung

Der Teil I des Schlussberichts wird vom Projektkoordinator im Abschlussbericht zu Teilprojekt 1 02WER1528A aufgeführt werden.

II. Eingehende Darstellung

II.1. Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

AP2.1: Isolierungskampagne zur Identifikation von neuen Biokatalysatoren für den Betrieb mit Brauereiabwasser (KIT) – Status (100%)

Start	Ende	Dauer
Monat 1	Monat 12	12 Monate
Involvierte Mitarbeiter: AG Gescher, KIT, wiss. Mitarbeiter I (10 PM; 50% TV-L-E13)		

Zielsetzung:

Die isolierten Organismen sollen als elektroaktive Biokatalysatoren zu einem Biofilm zusammengesetzt werden, der spezifisch auf das Brauereiabwasser als Substrat hin entwickelt werden soll.

Erreichte Ergebnisse:

Brauereiabwasserproben wurden von der Brauerei Hoepfner (Karlsruhe) gesammelt, neutralisiert, anaerobisiert und dann autoklaviert. Die Proben wurden unmittelbar nach der Neutralisationsanlage im Unternehmen entnommen. Es waren drei Probenahmen erforderlich, um den Untersuchungszeitraum abzudecken, und Tabelle 1 zeigt ihre Hauptmerkmale. Wie unten dargestellt, wurden zwei Arten der Bakterien-Isolierung durchgeführt, und zwar unter Verwendung des bioelektrochemischen Systems (BES) und der konventionellen Flüssigkeits- und Plattierungsisolierungstechnik (mit Fe(III) als externem Elektronenakzeptor).

(a) Isolierung durch Anreicherung in einem bioelektrochemischen System

Für die Anreicherung wurde ein BES mit einem anodischen Arbeitsvolumen von 270 mL verwendet, wie in Abb. 2.1.1 dargestellt. Als Arbeitselektrode wurde ein Graphitfilz von 36 cm² verwendet, während ein Platinnetz von 0,5 cm² als Gegenelektrode diente. Als Referenzelektrode wurde Ag/AgCl



Abb. 2.1.1 Das verwendete bio-elektrochemische System

verwendet, und das Potential wurde mit Hilfe eines Potentiostaten auf -199 mV gegen Ag/AgCl (0 V gegen SHE) eingestellt. Die BESs wurden kontinuierlich gerührt und bei 30°C inkubiert;

außerdem wurde der Kopfraum kontinuierlich mit N_2/CO_2 gespült. Aus den Brauereiabwasserproben wurde durch Sedimentation und Zentrifugation Biomasse extrahiert (d.h. BW-Kultur), die dann im System angeimpft wurde. Außerdem wurde ein weiteres Inokulum (dominiert mit *Geobacter*), das zuvor im Perkolat angereichert wurde, im Vergleich zur BW-Kultur untersucht. Die Anreicherung begann mit einer Batch-Fütterung mit sterilem Brauereiabwasser. Es wurden fünf Zyklen durchgeführt, um stabile Strömungsdichten zu erreichen und stabile Biofilme aufzubauen. Die Ergebnisse in Abb. 2.1.2 zeigen die verbesserte Leistung der BW-Kultur im Laufe der Zeit, wobei eine maximale Stromdichte von $\sim 45 \mu A/cm^2$ mit einer coulombischen Effizienz von $\sim 40\%$ erreicht wurde. Ähnliche Werte wurden bei Verwendung der anderen *Geobacter*-dominierten Kultur beobachtet, allerdings mit schnellerer Adaption. Um anschließend die Stabilität des BES-Betriebs unter der kontinuierlichen Fütterung zu untersuchen, wurde eine Peristaltikpumpe an die beiden Systeme angeschlossen (Abb. 2.1.3), beginnend mit einer langsamen Flussrate von $27 \mu L/min$. Die in Abb. 2.1.4 dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die BW-Kultur einen etwas stabileren Strom erreicht, der bei einer Flussrate von $54 \mu L/min$ (entspricht ~ 3 d-HRT) seinen Höhepunkt erreicht ($30-35 \mu A/cm^2$).

Tabelle 2.1. Merkmale des Brauereiabwassers (gesammelt nach der Neutralisation von der Brauerei Hoepfner, Karlsruhe) und des Abwassers aus der Zelluloseproduktion (gesammelt vor der Neutralisation von der Firma Credia, Freiburg), die in dieser Studie verwendet wurden.

Parameters	Concentrations (mM)	
	Cellulose-production wastewater	Brewery wastewater
pH (value)	2.42	9.96-6.73
DOC	124.1	20.1-13.6
Carbohydrates ^a	25.2	0.44-0.46
Acetate	103.8-39,2	7,61-0.88
Propionate	ND	3,16-0.37
Butyrate	9.42-1,57	ND-1,97
Lactate	ND	2,21
IC	17.4	11.8-5.59
TN	21.7	1.24-0.70
SO ₄ ⁻	2.24	0.19-0.21
PO ₄ ⁻	ND	ND-0.28
NO ₃ ⁻	ND	ND



^a Die Kohlenhydrate wurden kolorimetrisch mit der Phenol-Schwefel-Methode und unter Verwendung von Glucose als Standard bestimmt; ND, nicht nachgewiesen

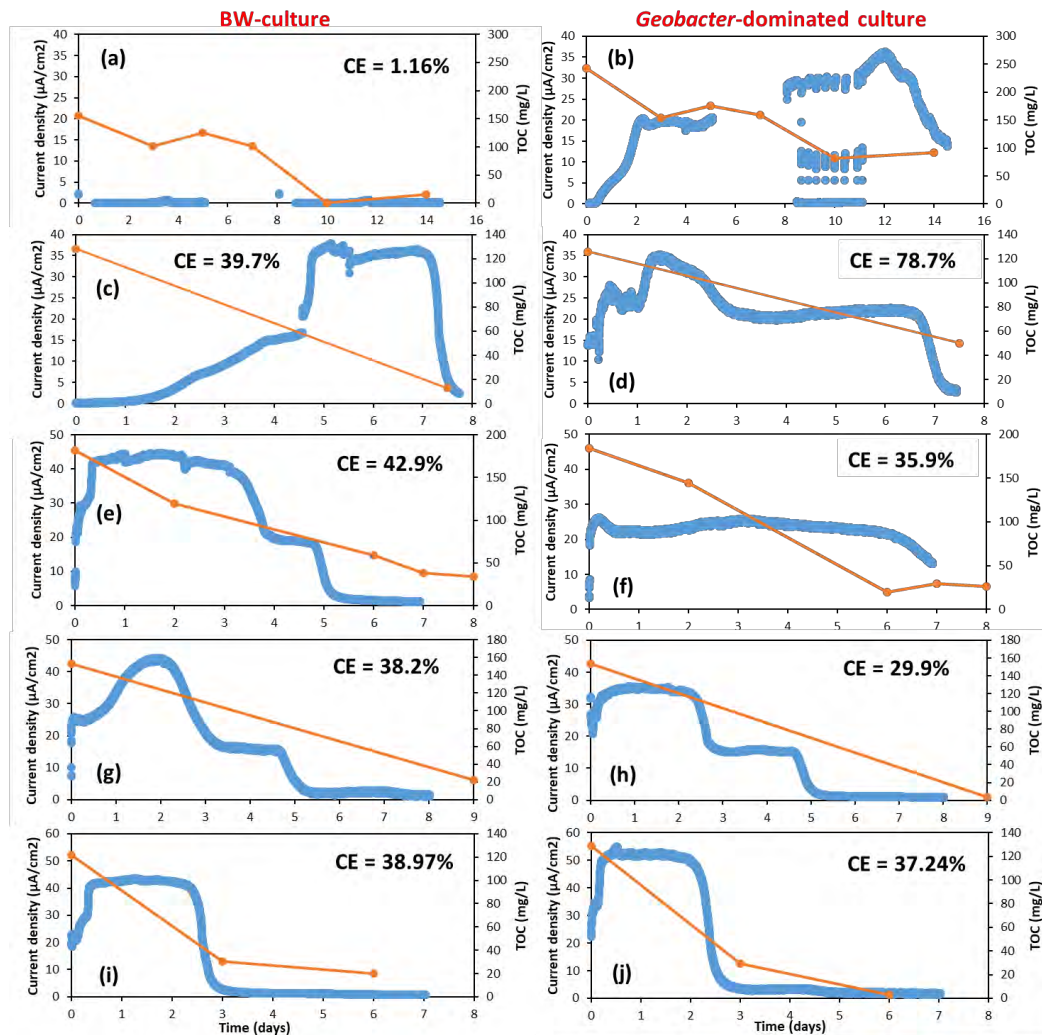


Abb. 2.1.2. Generierte Stromdichten und TOC-Entfernung während fünf aufeinanderfolgender Batch-Zyklen unter Verwendung von aus Brauereiabwasser extrahierter Biomasse (BW-Kultur) (jeweils a, c, e, g und i) und einer von *Geobacter* dominierten adaptierten Kultur (jeweils b, d, f, h und j). CE bezieht sich auf die coulombische Effizienz (%), berechnet nach dem entfernten TOC.

Um die angereicherten Mikroorganismen in den beiden Systemen zu identifizieren, wurde eine 16S rRNA-Analyse mittels Illumina-Amplikon-Sequenzierung durchgeführt. Die in Abb. 2.1.5 zusammengefassten Ergebnisse zeigen die signifikante Verschiebung der mikrobiellen Gemeinschaft der *Geobacter*-dominierten Kultur in Richtung der Gemeinschaft, die in den Proben der BW-Kultur gefunden wurde. Dies könnte auf die Komplexität des Abwassers und den geringen Gehalt an Säuren zurückzuführen sein, sowohl zu Beginn als auch während der Stromerzeugung. Eindeutig wurde die Gattung *Azospira* dominant in den adaptierten anodischen und planktonischen Proben gefunden (bei t2 [am Ende des Dauerbetriebs von 27 μL/min]). Obwohl über *Azospira* als elektroaktive denitrifizierende Bakterien berichtet wurde, wurde ihre Aktivität nur bei der Reduktion von Nitrat an einer Biokathode beobachtet. In der

Zwischenzeit ist es immer noch nicht klar, ob es der Schlüsselspieler in der aktuellen Stromproduktion ist oder nicht. Darüber hinaus haben wir durch Subtraktion der Gattungen auf der Bioanode von denen in der planktonischen Phase festgestellt, dass elektroaktive Gattungen wie *Desulfovibrio* im adaptierten Biofilm bei t2 gefunden wurden. In der Zwischenzeit wurde bereits eine metagenomische Analyse mittels Nanopore-Sequenzierung durchgeführt, und die Analyse der Rohdaten ist in Arbeit. Dies wird uns mehr Informationen über die reichlich vorhandenen Funktionen geben, sowohl für die Bioanode als auch für die planktonische Gemeinschaft.

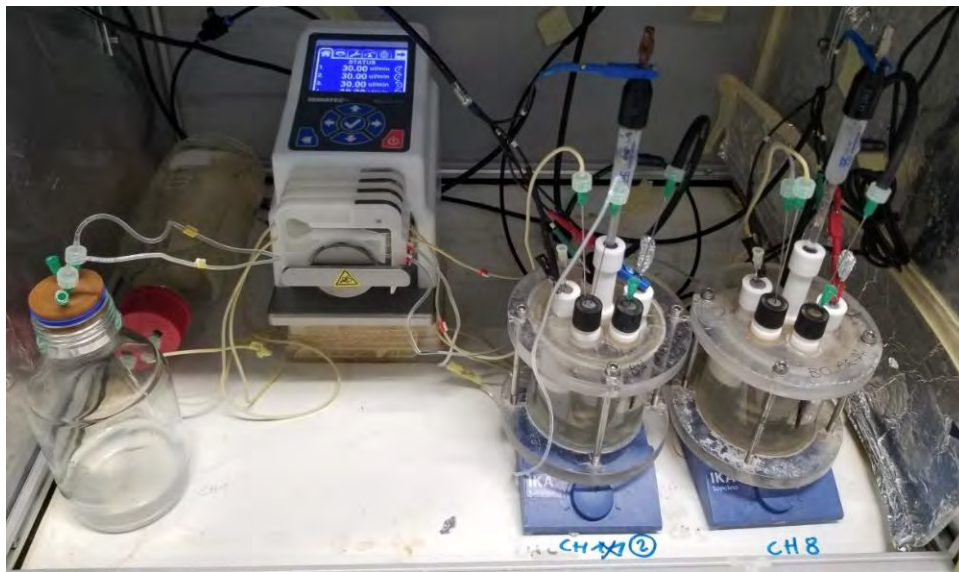


Abb. 2.1.3. Der Versuchsaufbau im Dauerbetrieb

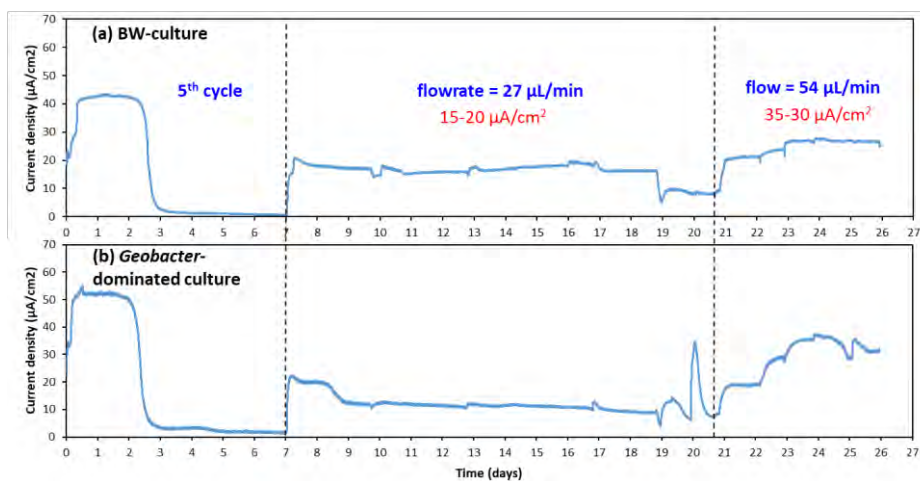


Abb. 2.1.4. Stromdichten während des kontinuierlichen Betriebs von zwei bioelektrochemischen Systemen mit Brauereiabwasser-Kultur (BW-Kultur) (a), und Geobacter-dominierte adaptierter Kultur (b)

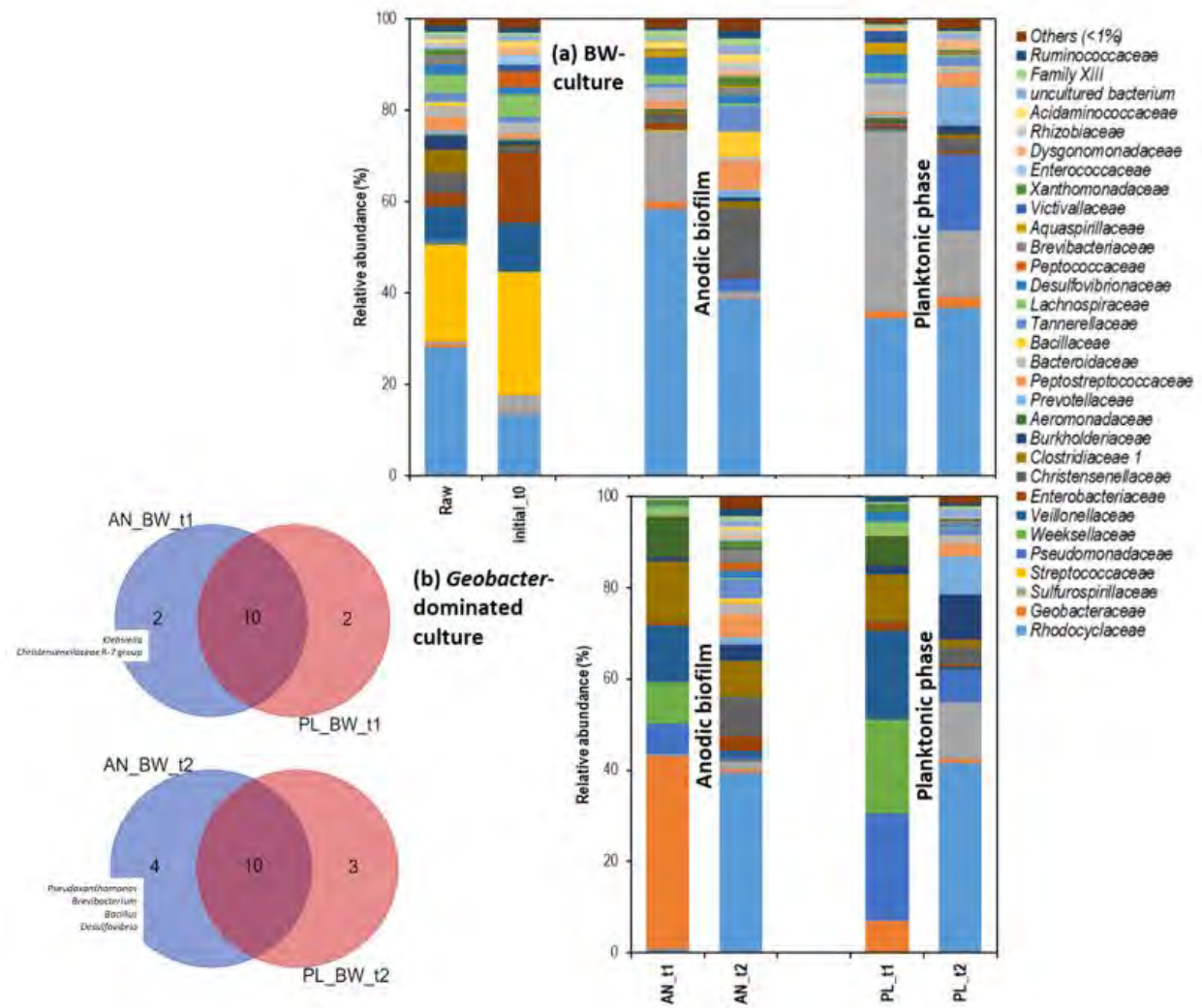


Abb. 2.1.5. Relative Häufigkeit von Mikroben, die aus dem anodischen Biofilm und der planktonischen Phase gesammelt wurden, auf Familienebene für die beiden bioelektrochemischen Systeme, die mit einer aus Brauereiabwasser stammenden Kultur (BW-Kultur) (a) und einer von *Geobacter* dominierten Kultur (b) beimpft wurden. Die Proben wurden zu zwei Zeitpunkten entnommen, d. h. t1 (am Ende des zweiten Zyklus in der Batch-Fütterungsphase) und t2 (am Tag 20 nach dem ersten kontinuierlichen Fütterungslauf). Unter Berücksichtigung von Gattungen mit einer Abundanz von >0,5% sind auch Venn-Diagramme zwischen anodischen und planktonischen Proben aus der BW-Kultur dargestellt.

(b) Direkte Isolierung über Fe(III) als Elektronenakzeptor

Abb. 2.1.6 zeigt die durchgeführte Strategie zur Isolierung von Eisenreduzierern aus der BW-Kultur. Als Fe(III)-Quelle wurde Eisen(III)-Citrat (40 mM) aus Brauereiabwasserproben verwendet. Flüssig- und Agar-Platten-Inkubationen (2% Agar wurde dem Medium zugesetzt) wurden ebenfalls bei 30°C durchgeführt. Ferrozin-Assays wurden regelmäßig durchgeführt,

um die Reduktion von Fe(III) zu überprüfen, indem Fe(II) kolorimetrisch gemessen wurde. Schließlich zeigten die Sequenzierungsergebnisse der Isolate das Vorhandensein von *Klebsiella* sp., was sich von dem unterscheidet, was auf der Bioanode in BES adaptiert wurde.

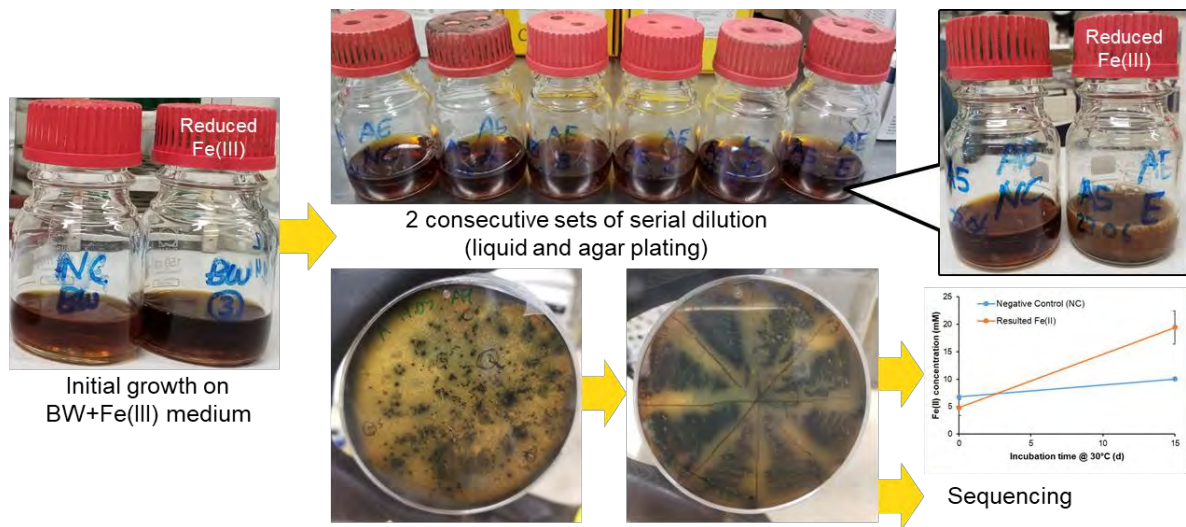


Abb. 2.1.6. Schematisches Diagramm zur Veranschaulichung des in dieser Studie durchgeführten direkten Isolierungsverfahrens unter Verwendung von Brauereiabwasser und Fe(III) als Elektronenakzeptor (unter Verwendung von Eisen(III)-Citrat)

AP2.2: Korrelation von Biofilmstruktur und Stromdichte (KIT/TUHH)

Start	Ende	Dauer
Monat 1	Monat 21	21 Monate
Involvierte Mitarbeiter: AG Gescher, KIT/TUHH, wiss. Mitarbeiter I (10 PM; 50% TV-L-E13)		

Ziel: Die gewonnenen Daten sollen eine optimale Entwicklung des Demonstrationsreaktors in Bezug auf das Fluidsystem auf der Anodenseite ermöglichen.

Erreichte Ergebnisse:

Um eine Korrelation zwischen der Biofilmstruktur und der Stromdichte unter Verwendung der OCT-Bildgebungstechnik sowohl für die BW- als auch für die CW-relevanten mikrobiellen Gemeinschaften herzustellen, wurde zunächst die Verbesserung der Prozesseffizienz untersucht. Dies ist von besonderem Interesse, da die erreichte coulombische Effizienz (CE) sowie die beobachtete Stromdichte von ~38% bzw. 300-500 mA/m² im Fall von BW weiter verbessert werden können. Zu diesem Zweck wurde die Bioaugmentation mit dem elektroaktiven Modell-Mikroorganismus *Geobacter sulfurreducens* mit den beiden unterschiedlichen Abwässern untersucht. Zunächst konnte für das BW und nach zwei Fed-Batch-Zyklen durch die Zugabe von *Geobacter sulfurreducens* der CE von 38 auf 80% und die Stromdichte um das 4,7-fache (~2 A/m²) erhöht werden, wie in Abb. 2.2.1 dargestellt. Die Analyse des DOC und der wichtigsten organischen Säuren zeigte, dass durch die Zugabe von *Geobacter sulfurreducens* nicht nur eine schnelle und effizientere Oxidation von Acetat an der Anode erreicht wurde, sondern auch die Fermentation und anschließend die Oxidation anderer Säuren, z. B. Propionat, verbessert wurde. Dies könnte auf die syntrophe Interaktion mit anderen Mikroorganismen sowie den leitfähigeren Biofilm auf der Anode zurückzuführen sein, der aus *Geobacter sulfurreducens* und der ursprünglichen angepassten Gemeinschaft besteht.

Zweitens zeigen die in Abb. 2.2.2 dargestellten Ergebnisse für den CW, dass *Geobacter sulfurreducens* der hauptverantwortliche Organismus für die Stromproduktion zu sein scheint, was mit dem hohen Acetatgehalt des Substrats übereinstimmt. Mit der bioaugmentierten Gemeinschaft wurde eine hohe CE von 62,5 % erreicht. Des Weiteren wurde eine lineare Sweep-Voltammetrie (LSV) durchgeführt, um die potenzielle

Stromproduktion bei verschiedenen Arbeitselektrodenpotenzialen (im Bereich von -0,3 bis 0,4 V gegen SHE) zu überprüfen. Unterhalb des Wertes von -0,2 V wurde kein Strom beobachtet, während die Stromdichte bis zum Erreichen eines Potenzials von 0,2 V (gegen SHE) anstieg. Dieser Wert wird dann in weiteren Experimenten zur Untersuchung der Biofilmstruktur verwendet. Ein weiteres Experiment wurde durchgeführt, um sowohl die Aktivität der im CW vorhandenen Biomasse als auch die biologische Abbaubarkeit der im CW vorhandenen organischen Stoffe zu prüfen. Ein Methanpotentialtest für den rohen CW, CW und Inokulum (aus einem stabilen anaeroben Fermenter im Labor) und nur Inokulum wurde in 250 mL-Serumflaschen und bei 30°C durchgeführt. Die in Abb. 2.2.3 dargestellten Ergebnisse zeigen, dass in CW (ohne externes Inokulum) eine unbedeutende Bioaktivität beobachtet wurde. Die hohe Methanausbeute von "CW+Inokulum" nach weniger als 30 Tagen deutet auf das hohe biologische Abbaupotenzial dieser Art von Abwasser hin.

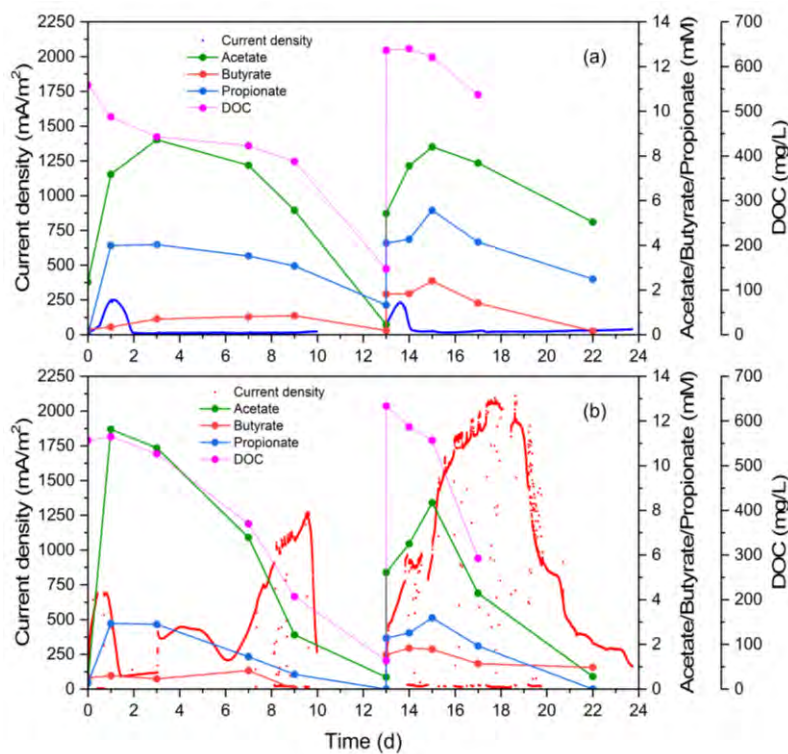


Abb. 2.2.1. Die Stromdichte und die Schwankungen der verschiedenen organischen Kohlenstoffverbindungen in BW für die adaptierten (a) und die mit *Geobacter sulfurreducens* bioaugmentierten Gemeinschaften (b).

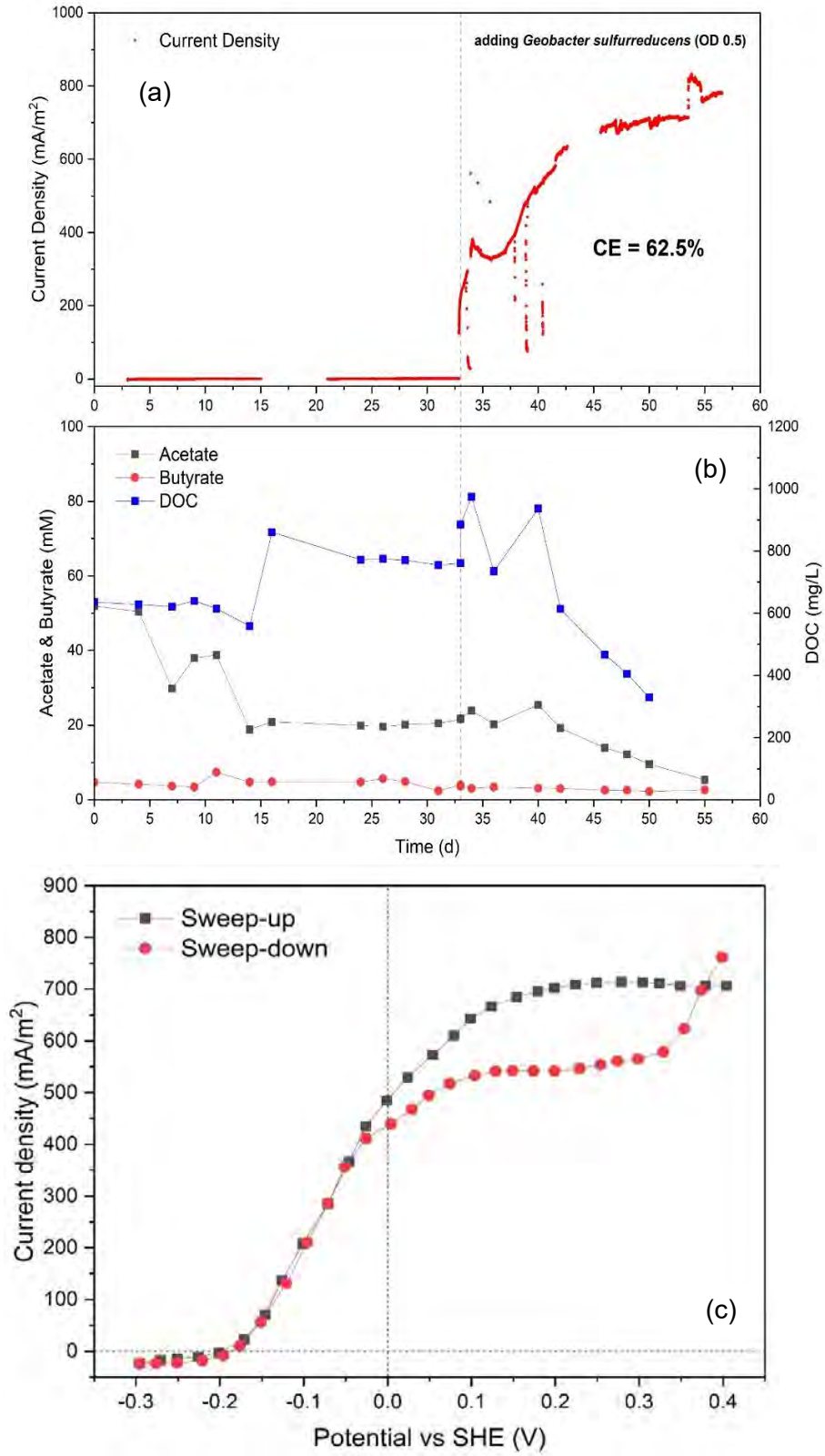


Abb. 2.2.2. Stromdichte (a), Veränderung der organischen Verbindungen (b) und lineare Sweep-Voltammetrie (c) während des Betriebs des bioelektrochemischen Systems mit Abwasser aus der Zelluloseproduktion vor und nach Zugabe von *Geobacter*

sulfurreducens (OD von 0,5).

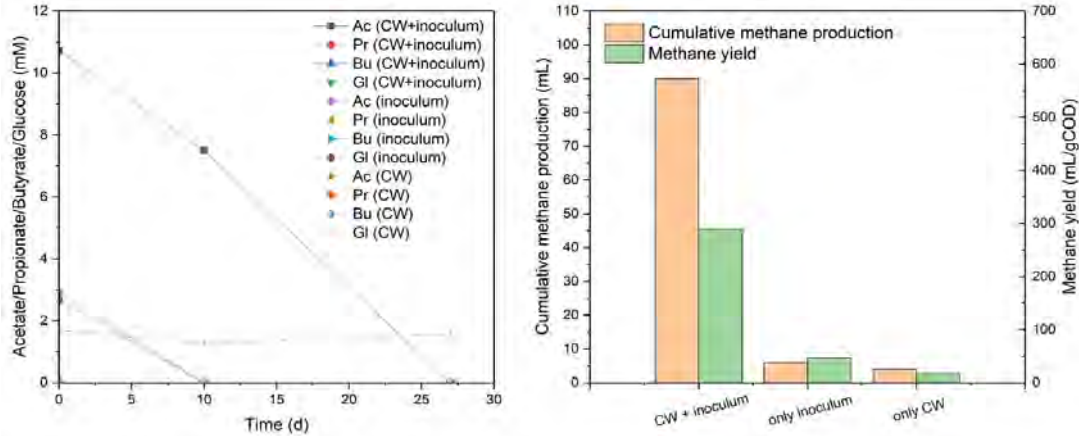


Abb. 2.2.3. Die Methanproduktion/-ausbeute (rechts) und der damit verbundene Verbrauch an organischen Verbindungen (links) während eines Methanpotentialtests für das Abwasser aus der Zelluloseproduktion.

Die angepasste Kultur wurde dann in eine andere BES-Konfiguration übertragen, nämlich in eine Durchflusszelle, die mit einem optischen Kohärenztomographen (OCT) verbunden ist, um Biofilme über einen längeren Zeitraum und auf nicht-invasive Weise abzubilden, wie in Abbildung 2.2.4 dargestellt. Die Abbildung zeigt auch das Strömungsmuster durch die Durchflusszelle, die mit einer Durchflussrate von 100 ml/min rezirkuliert wurde, sowie die ausgewählten Bildgebungspositionen, um die gesamte Länge der Bioanode besser darzustellen. Außerdem ist ein Beispiel für 3D- und 2D-Bilder zu sehen, die (mit der Fiji-Software) zu zwei verschiedenen Zeitpunkten erzeugt und verarbeitet wurden. Das 3D-Bild kann aus 1000 2D-Bildern (mit einer Breite von 6 mm und einer Pixelgröße von 4 µm) gewonnen werden. Parallel dazu wurde eine Probe aus derselben adaptierten Kultur für eine Lebend-Tot-Färbung (mit Propidiumjodid und Syto9) verwendet, um die Lebensfähigkeit der Zellen im Biofilm zu überprüfen.

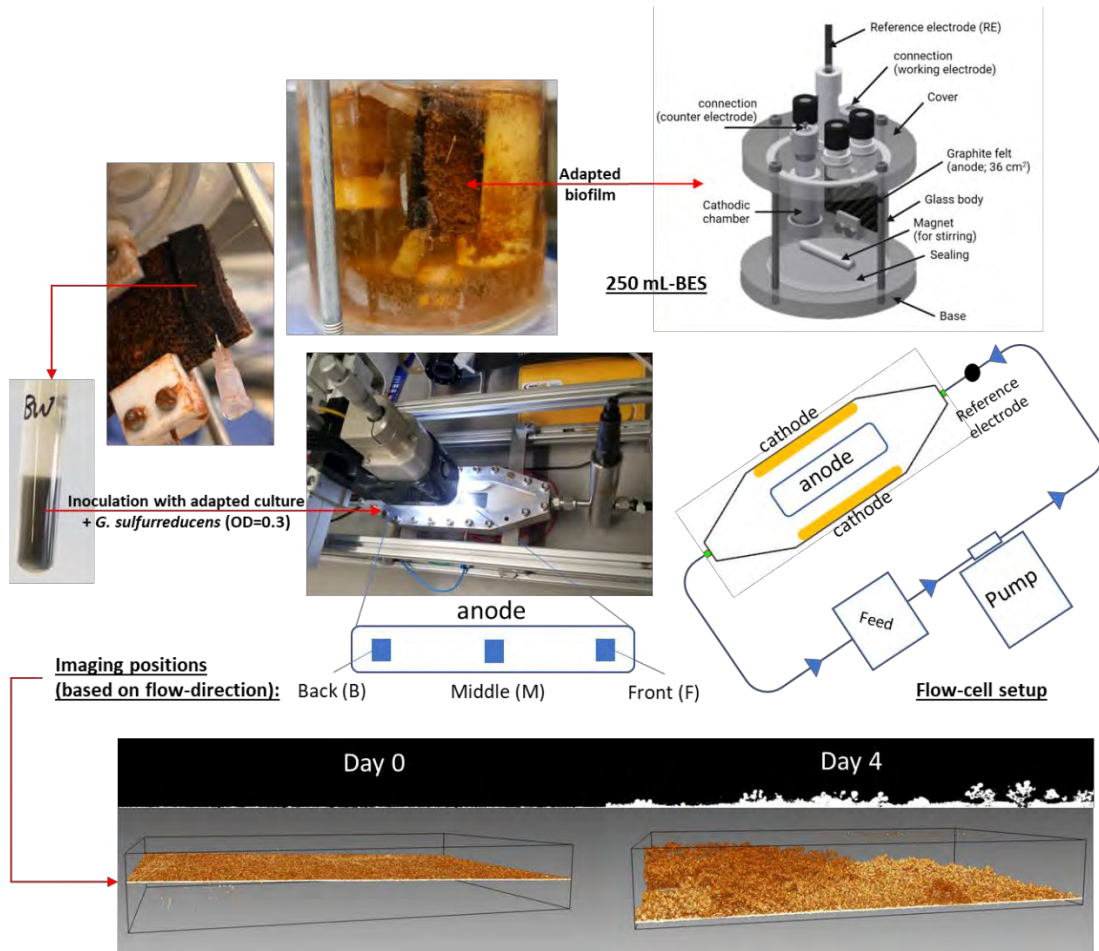


Abb. 2.2.4. Versuchsaufbau (Fließzelle) und Überlegungen zur Bildgebung (mit Probenbildern) für eine nicht-invasive Online-Überwachung des Biofilms mittels optischer Kohärenztomographie (OCT) bei der Behandlung von Brauereiabwasser mit der angereicherten elektroaktiven Gemeinschaft.

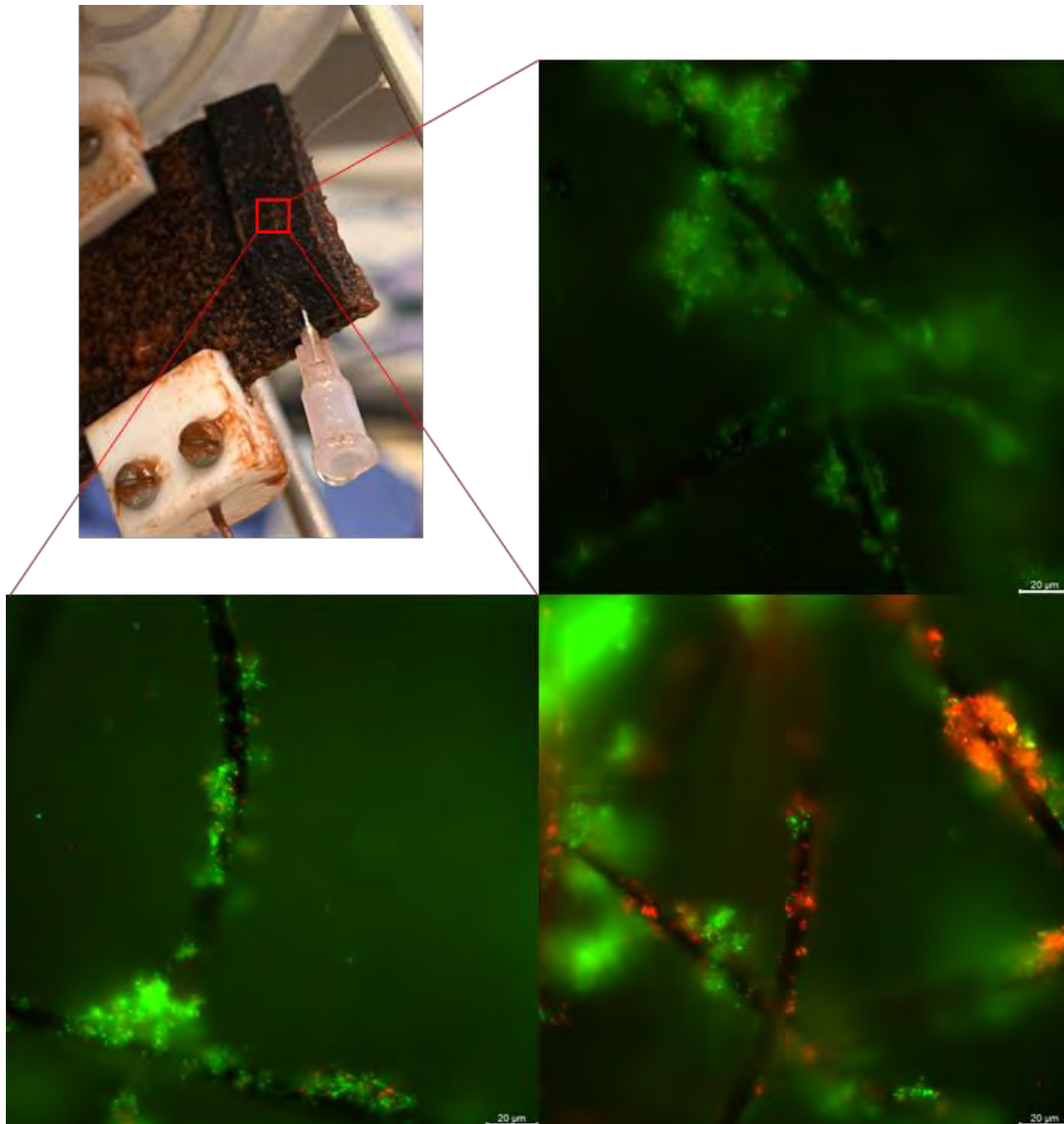


Abb. 2.2.5. Lebend-Tot-Färbung des angereicherten Biofilms in einem bioelektrochemischen System zur Behandlung von Brauereiabwässern; grüne und rote Farben stehen für lebende bzw. tote Zellen.

Abbildung 2.2.6 zeigt die Ergebnisse von drei aufeinanderfolgenden Fütterungszyklen (jeweils ~1 Woche). Abbildung 2.2.6a zeigt, dass eine Verzögerungsphase von ca. 2 Tagen ausreichte, damit der Biofilm anfing, Strom zu erzeugen, der nach weiteren 2 bis 3 Tagen seinen Höhepunkt erreichte. Die maximale Stromdichte lag im Bereich von 250-400 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$, was 2-3 mal höher ist als die Werte, die mit der für die Anreicherung verwendeten 250-mL-BES erzielt wurden. Dies kann auf das andere Strömungsmuster zurückgeführt werden, das einen besseren Kontakt zwischen Substrat und Anode ermöglicht. Betrachtet man die Biofilmbildung, so zeigt Abbildung 2.2.6a, dass das

Biofilmvolumen mit dem anfänglichen Anstieg des Stroms deutlich zunimmt. Wenn der Strom jedoch aufgrund von Substratverarmung abfällt (wie im 1. und 2. Zyklus gezeigt), wurde eine langsame Ablösung des Biofilms beobachtet. Dieser Ablösungs-/Aushungerungsschritt war wahrscheinlich positiv, da unmittelbar danach eine schnelle Entwicklung der Stromstärke beobachtet wurde. Daraus lässt sich ein effektives Biofilmvolumen von $100\text{-}150\ \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ für die schnelle und effiziente Behandlung einer frischen Charge Brauereiabwasser ableiten. Die Konzentrationen der wichtigsten flüchtigen Fettsäuren (VFAs) wurden mittels HPLC gemessen und sind in Abbildung 2.2.6b dargestellt, wo die Ergebnisse eine frühe Acetatproduktion zeigen. Diese Produktion, die größtenteils auf die Oxidation von Laktat und anderen im Abwasser vorhandenen vergärbaren Kohlenstoffverbindungen zurückzuführen ist, folgte genau dem Muster der aktuellen Erzeugung. Dies deutet darauf hin, dass eine schnelle und gleichzeitige Stromerzeugung durch Acetatoxidation stattfand. Abbildung 2.2.6c zeigt das Biofilmvolumen an jeder Aufnahmeposition, das zur Berechnung des durchschnittlichen anodischen Biovolumens verwendet wurde. Abbildung 2.2.6d zeigt das mittlere Höhenprofil des Biofilms, das sich relativ stark vom Verhalten des Biofilmvolumens unterscheidet, was auf eine sich ändernde Biofilmporosität hinweist.

In Bezug auf die Biofilmeffizienz und durch die Kombination aller Ergebnisse ist es interessant, darauf hinzuweisen, dass sie wahrscheinlich hauptsächlich mit der Acetatkonzentration und nicht mit dem Biovolumen oder der Höhe korreliert ist. Weitere Untersuchungen mit kontinuierlicher Fütterung wären von Vorteil, um zu klären, inwieweit eine solche Korrelation besteht. Das in Abbildung 2.2.6e dargestellte Porositätsprofil zeigt eine negative Korrelation mit dem Biofilmvolumen, was auf eine gute Substratdiffusion in den Biofilm hindeutet, die eine Verringerung seiner Porosität ermöglicht. Die früh beobachtete hohe Porosität von $>40\%$ (vor jedem Fütterungszyklus) unterstützt diese Hypothese. Abbildung 2.2.7a zeigt außerdem, dass eine negative Korrelation zwischen Porosität und Biovolumen an allen Positionen besteht. Darüber hinaus wurde eine multivariate Analyse unter Verwendung der Hauptkomponentenanalyse (PCA) durchgeführt, um die Beziehungen zwischen Biovolumen, mittlerer Höhe und Stromdichte zu veranschaulichen (Abbildung 2.2.7b). Es wurde eine starke positive Korrelation zwischen der mittleren Höhe und dem Biovolumen festgestellt, während schwache positive Korrelationen mit

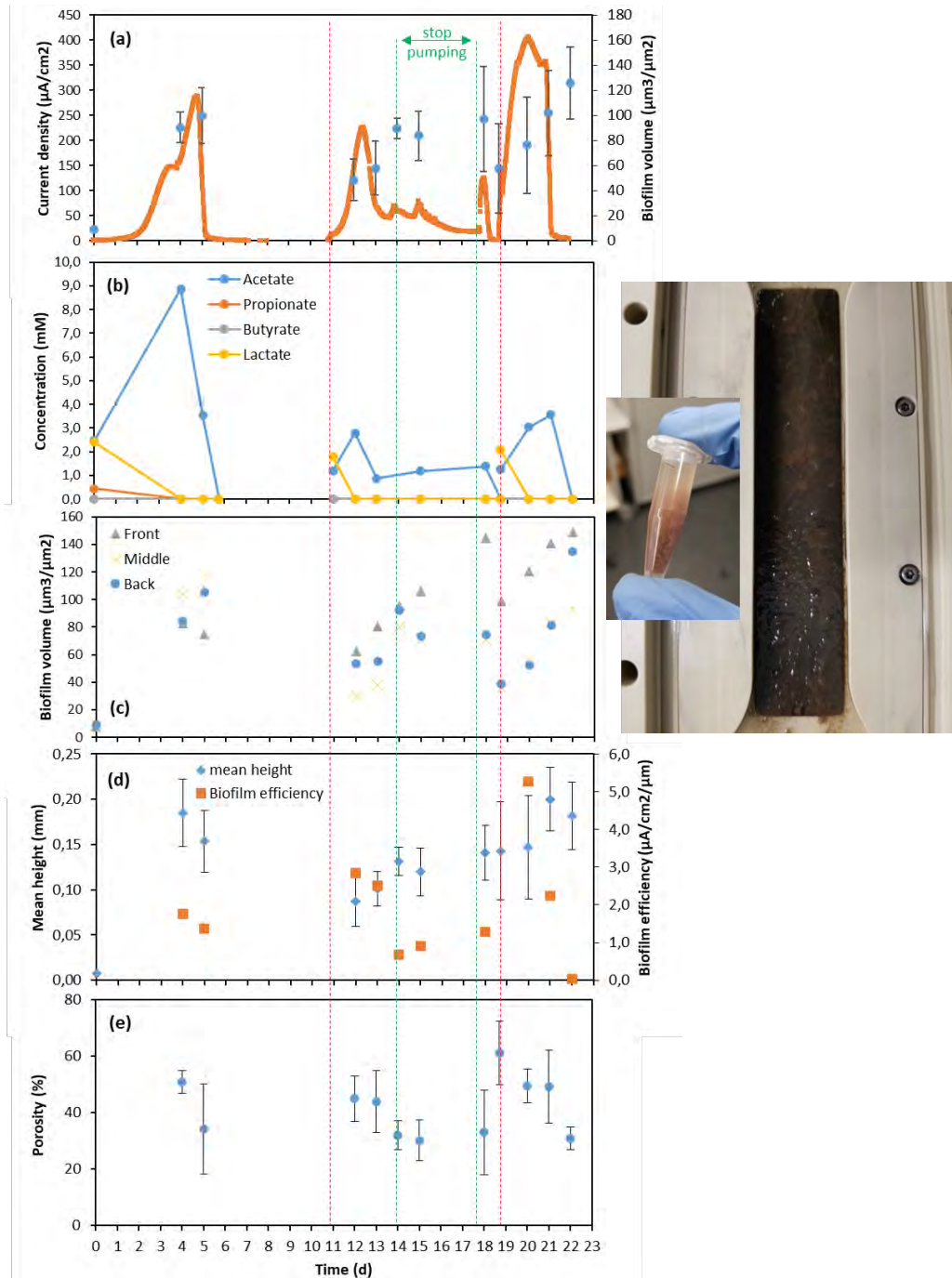


Abb. 2.2.6. Zeitlicher Verlauf der Stromdichte und des durchschnittlichen Biofilmvolumens (BV) (a), der Konzentrationen flüchtiger Fettsäuren (VFA) (b), des BV an verschiedenen Positionen entlang der Bioanodenlänge (c), der mittleren Biofilmhöhe und -effizienz (basierend auf der Stromerzeugung) (d) und der Porosität (e) für die als BES betriebene Durchflusszelle zur Behandlung von Brauereiabwasser.

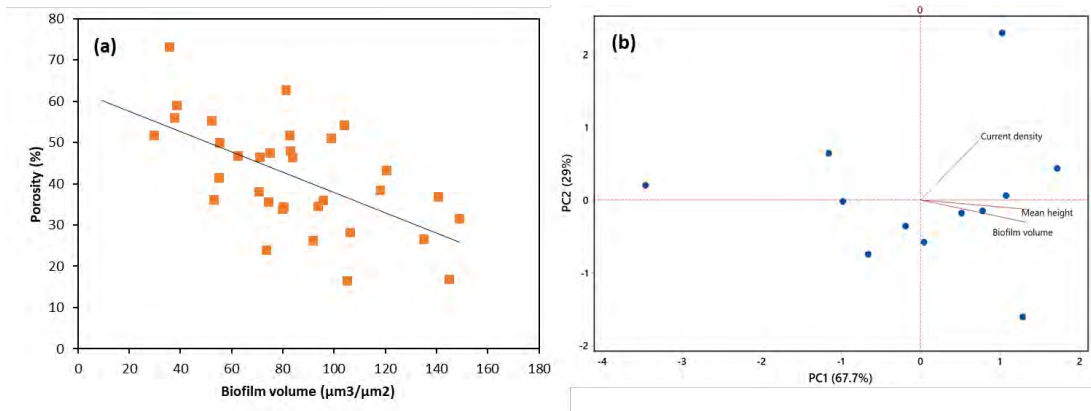


Abb. 2.2.7. (a) Korrelation zwischen Porosität und Biofilmvolumen. (b) Multivariate Analyse unter Verwendung der Hauptkomponentenanalyse (PCA) zur Darstellung der Beziehungen zwischen dem Biofilmvolumen, der mittleren Biofilmhöhe und der Stromdichte.

Zur Validierung der ausgewählten vorderen, mittleren und hinteren Positionen zur Berechnung des repräsentativen Biofilmvolumens auf der Elektrodenoberfläche wurden außerdem zwei Gruppen von Bildern bewertet. Zunächst wurden zu zwei verschiedenen Zeitpunkten Bilder entlang des Abstands zwischen den Standardpositionen aufgenommen, deren Durchschnittswerte mit denen der Standardpositionen verglichen wurden (Abbildungen 2.2.8a und 2.2.8b). Die Abbildungen zeigen, dass sich zu beiden Zeitpunkten vergleichbare Durchschnittswerte und Standardabweichungen ergaben. Zweitens wurden vier Bilder lokal um jede Standardposition herum aufgenommen, bei denen die Durchschnittswerte ebenfalls vergleichbar waren (Abbildung 2.2.8c). Dabei muss betont werden, dass unter diesen experimentellen Bedingungen die Durchschnittswerte (und Standardabweichungen) als repräsentativ für die gesamte Bioanodenoberfläche angesehen werden können, obwohl die Biofilmwerte und das Verhalten zwischen den drei ausgewählten Positionen unterschiedlich sind.

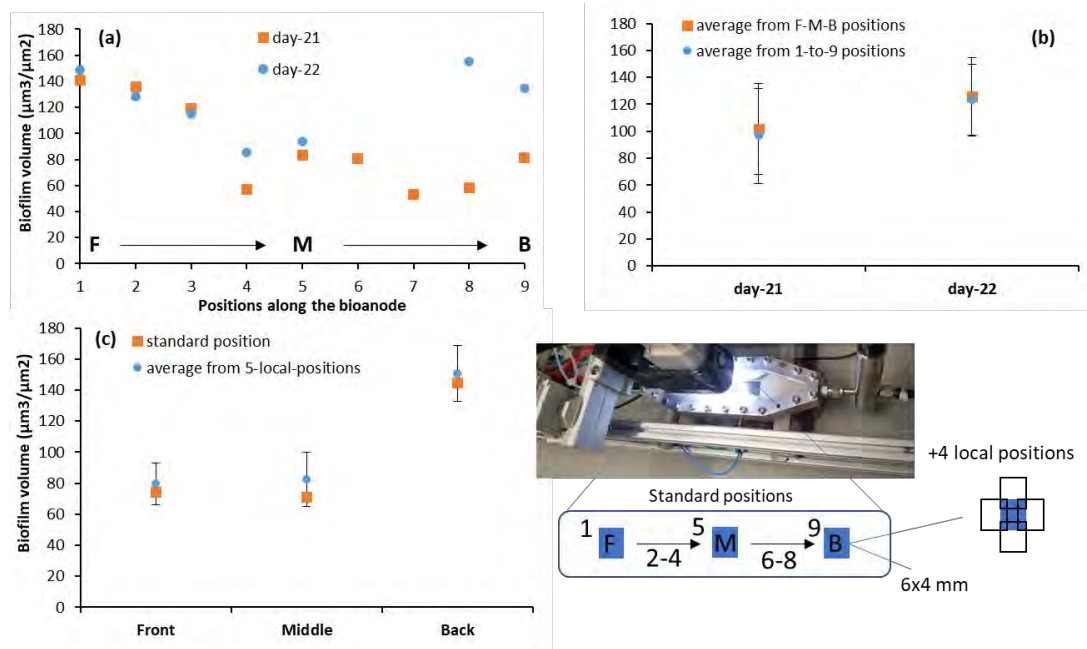


Abb. 2.2.8. Biofilmanalyse zur Auswahl einer repräsentativen Bildgebungsposition entlang der Bioanodenlänge; die Längsvariation (a und b) und die lokale Variation (c).

Um die Auswirkungen der Strömungsgeschwindigkeit auf die Biofilmbildungsrate und -struktur besser zu verstehen, wurde eine CFD-Simulation mit ANSYS entsprechend der in Abb. 2.2.9 dargestellten Geometrie der BES durchgeführt. Abb. 2.2.10 zeigt das Geschwindigkeitsverteilungsprofil entlang der Anodenlänge in Abhängigkeit von der Strömungsrichtung (die hier als von links nach rechts angenommen wird). Die Ergebnisse zeigen auch, dass in beiden Richtungen der Anode ein starker Geschwindigkeitsgradient besteht. Der Gradient wird bei niedrigeren Anfangsgeschwindigkeiten sowie in der Nähe der stromabwärtigen Positionen schwächer.

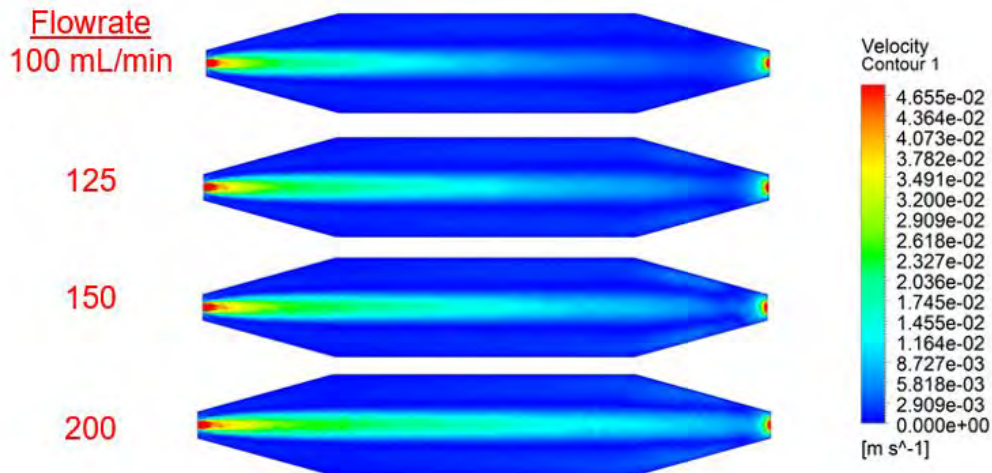


Abb. 2.2.9. Die Geschwindigkeitsverteilung in der bioelektrochemischen Durchflusszelle, die zur Untersuchung der Kinetik der Biofilmbildung verwendet wurde. Die Analyse wurde mittels CFD-Simulation über ANSYS durchgeführt.

Aufbauend auf diesen Daten wurde ein weiteres Experiment durchgeführt, um die Auswirkungen der Fließgeschwindigkeit auf die Biofilmbildung zu untersuchen und die Korrelation mit der erzeugten Stromdichte aufzuzeigen. Abbildung 2.2.10 zeigt, dass die allmähliche Erhöhung der Fließgeschwindigkeit zu einem Anstieg der Stromerzeugungsrates führte, was besonders nach Tag 20 deutlich wurde, als eine plötzliche Verringerung der Fließgeschwindigkeit getestet wurde. Die Unterbrechung der Durchflussrate wurde auch am 25. Tag getestet, um die Substratabhängigkeit des Stroms zu zeigen. Die maximal beobachtete Stromdichte betrug $\sim 250\ \mu A/cm^2$. Es wurde auch festgestellt, dass ein Absinken des pH-Werts (auf $\sim 6,5$) die BES-Leistung erheblich beeinträchtigte. Abbildung 2.2.10b zeigt das Biofilmvolumen an jeder Position im Laufe der Zeit. Die vordere Position, die einer höheren Geschwindigkeit und Scherkraft ausgesetzt ist, wies im Vergleich zur mittleren und hinteren Position ein geringeres Biofilmvolumen auf. Diese Schwankung nahm im Laufe der Zeit ab, als die Biofilmstruktur kompakter wurde, wie auch in den erhaltenen Biofilmbildern in Abbildung 2.2.11 zu sehen ist.

Das Profil des durchschnittlichen Biofilmvolumens für die drei Positionen im Zeitverlauf ist in Abbildung 2.2.10c dargestellt, wobei der höchste beobachtete Wert $\sim 175\ \mu m^3/\mu m^2$ betrug. Es wurde festgestellt, dass die Biofilmbildungsrate mit zunehmender Durchflussrate einen steigenden Trend aufweist. Betrachtet man jedoch die Biofilmproduktivität, so stellt man fest, dass die höchste Effizienz bei einem Biofilmvolumen von $\sim 100\ \mu m^3/\mu m^2$ erreicht wird. Die Produktivität nimmt mit

zunehmendem Biofilmvolumen ab, da das Substrat nicht mehr bis zu den Mikroorganismen in der Nähe der Anodenoberfläche diffundieren kann und die Leitfähigkeit des Biofilms abnimmt. Abbildung 2.2.10e zeigt ein ähnliches Verhalten wie zuvor, wobei Acetat der Hauptmetabolit und die Quelle der Elektronen ist, die durch Oxidation an die Anode abgegeben werden.

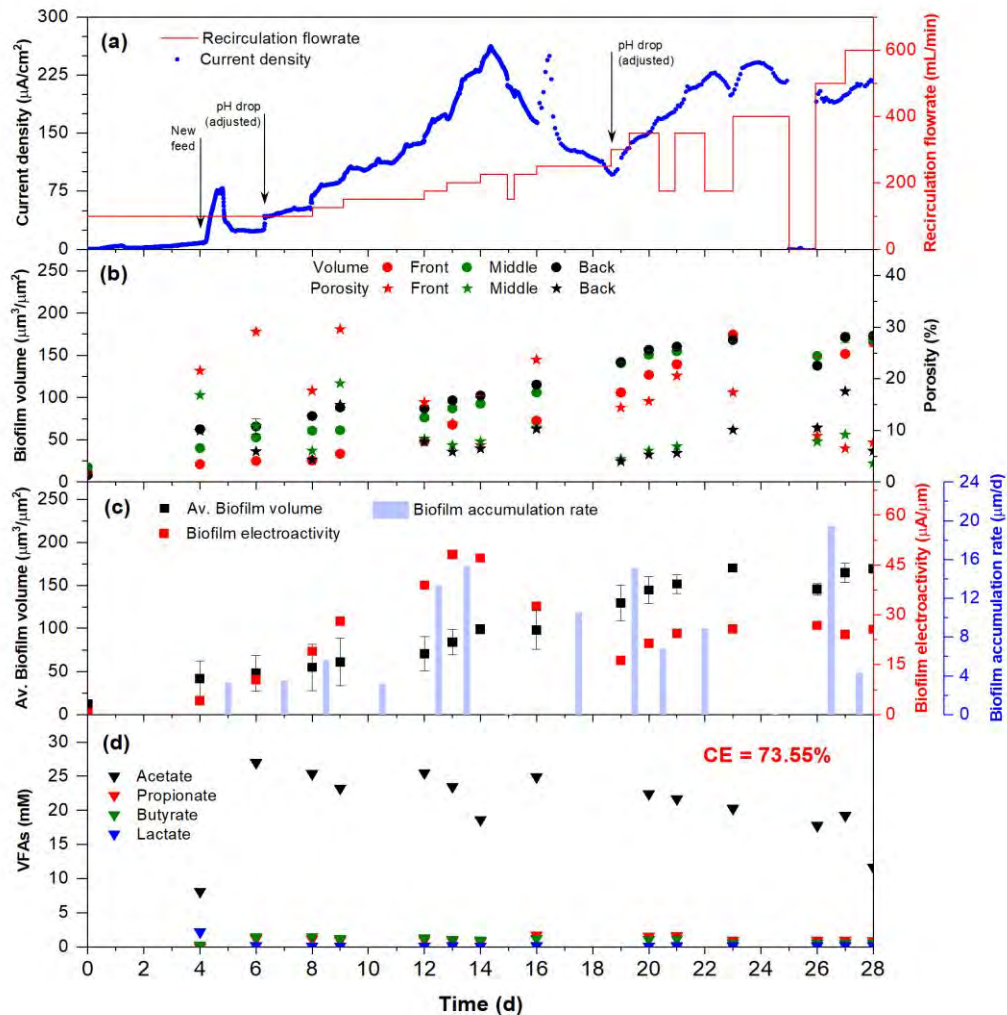


Abb. 2.2.10. Die Ergebnisse der BES-Strömungszelle, die zur Untersuchung der Kinetik der Biofilmbildung bei verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten verwendet wurde: (a) Stromdichteprofil und Rezirkulationsflussrate, (b) Biofilmvolumen an verschiedenen Positionen, (c) durchschnittliches Biofilmvolumen (der drei Positionen) und Biofilmbildungsrate, (d) Biofilmproduktivität und Porosität und (e) Profil der wichtigsten VFAs.

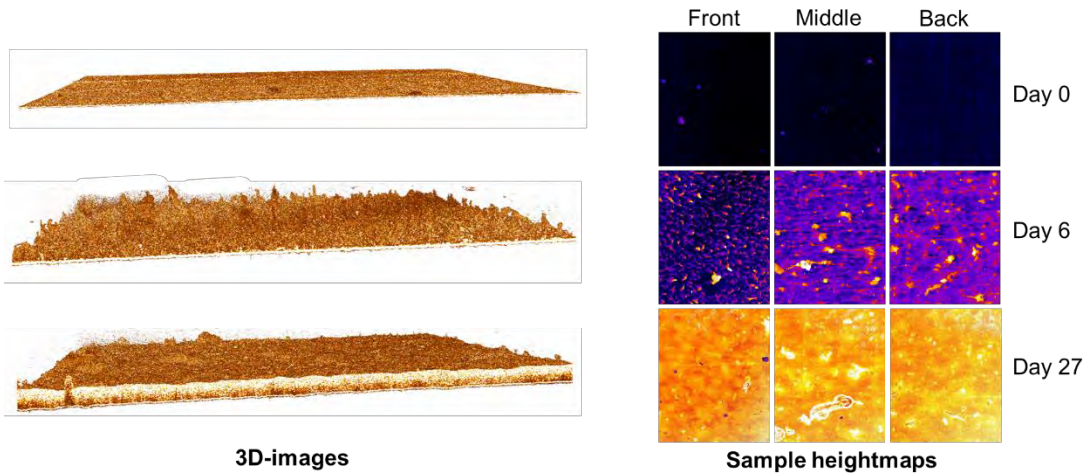


Abbildung 2.2.11. Beispiele für die 3D-Bilder und Höhenkarten der OCT-Bildgebungstechnik, die zur Beobachtung der Biofilmbildung im Laufe der Zeit verwendet wurde. Die Bilder zeigen, wie sich die Biofilmstruktur mit der Zeit verdichtet und die Fließgeschwindigkeit zunimmt.

Anschließend wurden weitere Fütterungszyklen durchgeführt, um die Langzeitleistung des Biofilms bei der höchsten Durchflussrate (600 ml/min) zu testen. Abbildung 2.2.12 zeigt, dass die Stromdichte leicht auf $\sim 220 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ abnahm. Im zweiten Zyklus wurde dann ein 2-fach höheres SA/Volumen-Verhältnis getestet, indem die Hälfte des Abwasservolumens umgewälzt wurde. Es wurde eine vergleichbare maximale Stromdichte beobachtet, allerdings mit einem schnelleren Abfall. Das Biofilmvolumen nahm weiter zu und erreichte $\sim 400 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2$ mit ähnlichen Werten an den verschiedenen Positionen entlang der Elektrodenlänge. Vor dem Start des nächsten Zyklus wurde 1 Stunde lang ein negatives Potenzial von $-1,3 \text{ V}$ angelegt, um Wasserstoffblasen zu bilden und Teile des Biofilms zu entfernen. Dies kann dazu beitragen, das Substrat in die Nähe der Anodenoberfläche zurückzubringen und einen gesünderen Biofilm wieder aufzubauen. Diese Hypothese wurde durch die Ergebnisse bestätigt, bei denen eine höhere maximale Stromdichte beobachtet wurde ($\sim 650 \mu\text{A}/\text{cm}^2$). Dies war ähnlich wie im folgenden Zyklus, als wir zum ursprünglichen SA-Volumen-Verhältnis zurückkehrten. Es ist auch festzustellen, dass ein höheres SA-Volumen-Verhältnis dazu beitrug, den sonst auftretenden pH-Abfall zu vermeiden. Letztendlich kommen wir zu dem Schluss, dass die Anwendung einer höheren Geschwindigkeit dazu beitragen kann, die Anlaufzeit der BES zu verkürzen und eine hohe Biofilmeffizienz bei dicken Biofilmen ($>100 \mu\text{m}$) zu erhalten. Darüber hinaus erwies sich die Anwendung eines hohen negativen Potenzials als effizient für die Entfernung des Biofilms und das anschließende erfolgreiche Nachwachsen, was nützliche Auswirkungen

auf den langfristigen Betrieb der entsprechenden BES haben kann.

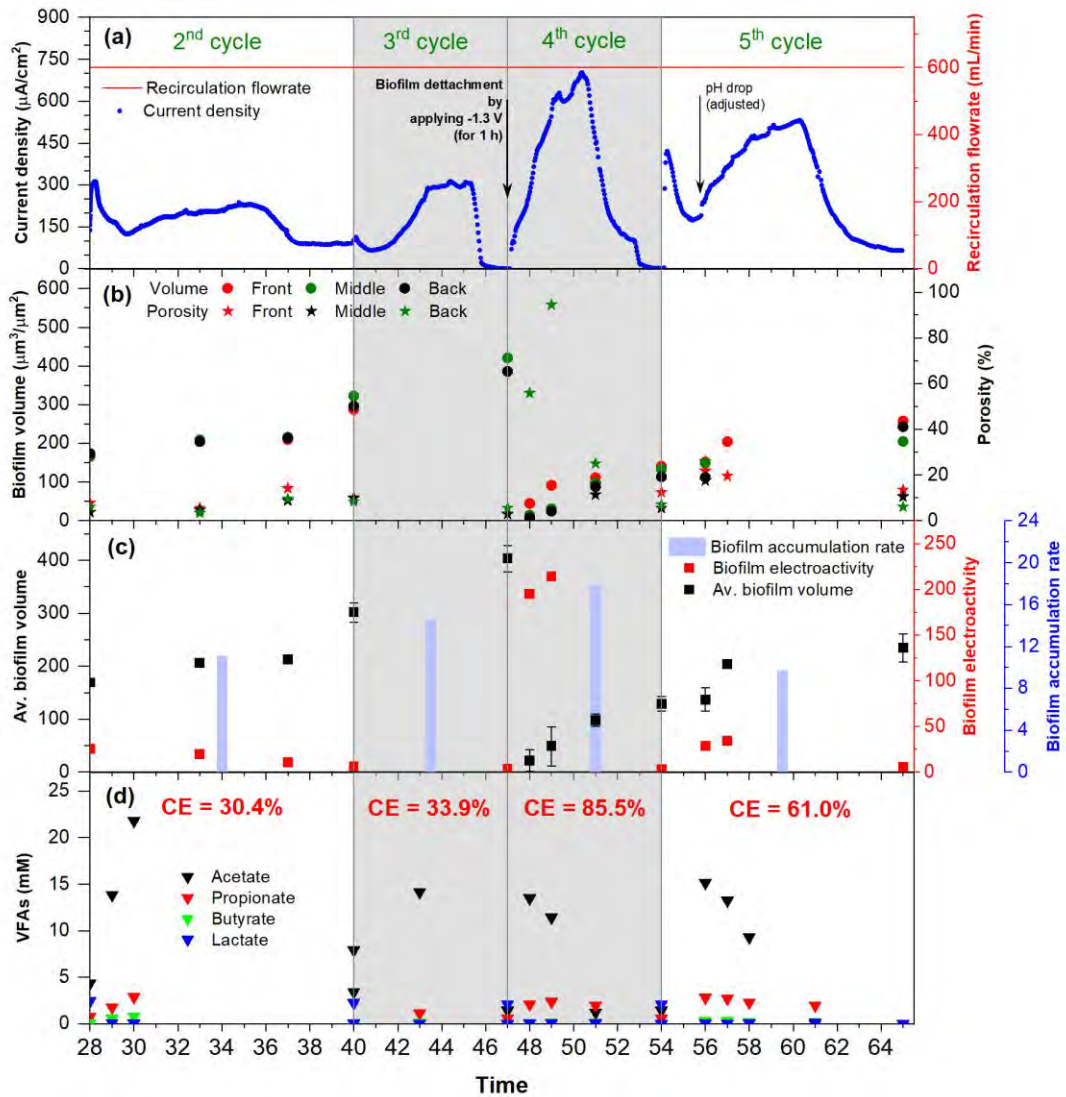


Abbildung 2.2.12. Langzeitergebnisse der BES-Durchflusszelle, die zur Untersuchung der Kinetik der Biofilmbildung bei verschiedenen Zufuhrzyklen verwendet wurde: (a) Stromdichteprofil und Rezirkulationsflussrate, (b) Biofilmvolumen an verschiedenen Positionen, (c) durchschnittliches Biofilmvolumen (der drei Positionen) und Biofilmbildungsrate, (d) Biofilmproduktivität und Porosität und (e) Profil der wichtigsten VFAs.

AP2.3: Langzeitstabilität und Einfluss der Zulaufkonzentrationen auf die Biofilmmaktivität (KIT/TUHH) – Status (100%)

Start	Ende	Dauer
Monat 16	Monat 42	26 Monate
Involvierte Mitarbeiter: AG Gescher, KIT/TUHH, wiss. Mitarbeiter I (20 PM; 50% TV-L-E13)		

Ziel: Industrielle Prozesse brauchen Sicherheit in Bezug auf die Prozessstabilität. In diesem Arbeitspaket soll die Resilienz von Anodenbiofilmen untersucht werden. Daneben soll untersucht werden, ob es möglich ist durch kurzzeitige Umstellung der Prozessbedingungen Biofilme zurück zu ihrem Optimum hin zu entwickeln. Dies wäre zum Beispiel durch das Abscheren von wenig kompakten Aggregaten auf der Biofilmoberfläche durch Variation der Scherkräfte möglich.

Erreichte Ergebnisse:

Um mit der erhaltenen BW-angepassten Gemeinschaft effizient umzugehen und die damit verbundene Stabilität zu bewerten, ist es notwendig zu verstehen, wie der extrazelluläre Elektronentransfer zur Anode zustande kommt, um potenzielle Verbesserungen und Auswirkungen zu erkennen. Aus diesem Grund wurde eine metagenomische Analyse mittels Nanopore MinION Sequenzierung durchgeführt. Für die Analyse wurden anodische und planktische Proben gesammelt. Das Verfahren der zugehörigen Bioinformatik und die wichtigsten Statistiken im Zusammenhang mit der Analyse sind in Abb. 2.3.1 dargestellt. Die erzielte Abdeckung der Contigs/Scaffolds bestätigt die Zuverlässigkeit der durchgeführten Sequenzierung. Die sich daraus ergebende taxonomische Verteilung, die in Abb. 2.3.2 dargestellt ist, stimmt mit der 16S rRNA-Amplikon-Sequenzierungsanalyse überein, die im ersten Arbeitspaket (2.1) durchgeführt wurde. Anodische und planktische Proben zeigten, dass die Gattung *Azospira* mit einer relativen Häufigkeit von 90,6 bzw. 67,5 % dominierte. Die hohe Häufigkeit von *Azospira* in der anodischen Probe unterstreicht ihre mögliche Rolle beim extrazellulären Elektronentransfer zur Anode. Die Gattung *Pseudomonas* trat ebenfalls mit einer hohen Häufigkeit von 30,2% nur in der planktonischen Probe auf. Durch das Erreichen einer signifikanten Anzahl von erfolgreich annotierten Genen wurden diejenigen, die möglicherweise an den potentiellen Elektronentransportwegen beteiligt sind, beginnend mit den inneren Membranproteinen, in Tabelle 2.3.1 aufgenommen. In Anbetracht der

Tatsache, dass Acetat und Propionat anfänglich mit weiterem Verbrauch während des Prozesses nachgewiesen wurden, wurden die wichtigsten relevanten Gene, die für Acetat- und Propionatkinasen (*ackA* und *pduW*) kodieren, unter den *Azospira*-bezogenen Contigs/Scaffolds gefunden. Es wurden jedoch nicht genügend Informationen darüber gefunden, wie der direkte extrazelluläre Elektronentransfer möglich ist, mit Ausnahme der entdeckten Gene für Typ IV Pili, z. B. PilY1 (Abb. 2.3.3). Eine weitere Möglichkeit wurde in Betracht gezogen, als ein Gen gefunden wurde, das für eine Sulfitreduktase kodiert (z. B. Sir) (Tabelle 2.3.1). Experimente, bei denen eine zusätzliche Dosis SO_4^{2-} (0,2 mM ähnlich der ursprünglichen Konzentration im BW) vor und nach dem Verbrauch des verfügbaren organischen Kohlenstoffs im BW injiziert wurde, zeigten jedoch keinen signifikanten Beitrag zur Stromproduktion (Abb. 2.3.4a). Der letzte potentielle Pfad, der aus der funktionellen Genanalyse abgeleitet werden konnte, ist die Verwendung des selbstsezernierten Phenazin-Mediators von *Pseudomonas*, um Elektronen zur Anode zu übertragen (Abb. 2.3.3). In Übereinstimmung damit wurde ein verantwortliches Gen *phzM* nur in der planktonischen Probe gefunden, in der die Gattungen *Pseudomonas* und *Azospira* dominierten.

Um die Effizienz zu optimieren und die Stabilität der BW-angepassten Gemeinschaft zu bewerten, wurde ein Langzeitbetrieb eingeleitet (Abb. 2.3.4a). Wie zuvor im Arbeitspaket 2.1 wurde der pH-Wert während der ersten 45 Tage regelmäßig mit NaOH kontrolliert und angepasst, wobei eine ähnliche maximale Stromdichte von $\sim 300 \text{ mA/m}^2$ reproduzierbar war. Ab dem 47. Tag wurde zunächst das Puffermittel NaHCO_3 ($\sim 1,5 \text{ g/L}$) zugegeben, um die Auswirkungen eines pH-Abfalls zu vermeiden. Allmählich stieg die maximale Stromdichte an, bis sie nach 4 Fütterungszyklen 700 mA/m^2 (das 2-fache) erreichte. In einem Parallelexperiment wurde die Zeit ermittelt, die diese angepasste Gemeinschaft benötigt, um einen stabilen Biofilm aufzubauen und die bereits erreichte maximale Stromdichte zu erreichen. Zu diesem Zweck wurde ein Stück Elektrode aus der ursprünglichen BES (d. h. BES-1) entnommen und auf eine neue Elektrode in BES-2 geklebt, beginnend mit Tag 53 (Abb. 2.3.4a). Die Ergebnisse zeigen, dass 30 Tage nicht ausreichen, um die ursprüngliche Stromdichte zu erreichen, was die Bedeutung der Anlaufphase unterstreicht. Darüber hinaus wurden an Tag 77 lineare Sweep-Voltammetrie-Experimente für BES-1 und BES-2 durchgeführt (Abb. 2.3.4b), um das optimale anodische Potenzial (gegen SHE) zu ermitteln. Die Ergebnisse zeigen, dass bereits bei einem Potenzial von $-0,25$ elektrischer Strom erzeugt werden kann, und eine Erhöhung des angelegten Potenzials von 0 auf 0,1 zeigt einen deutlichen Anstieg der

Stromdichte. Dementsprechend zeigte der am Tag 77 begonnene Zyklus einen Anstieg der maximalen Stromdichte auf $\sim 800 \text{ mA/m}^2$. Zukünftige Experimente werden dann die Reproduzierbarkeit dieser Effizienz und die Kombination der Bio-Augmentierungsstrategie mit *Geobacter sulfurreducens* umfassen, um die potenziell gewonnene Stromdichte von BW weiter zu steigern.

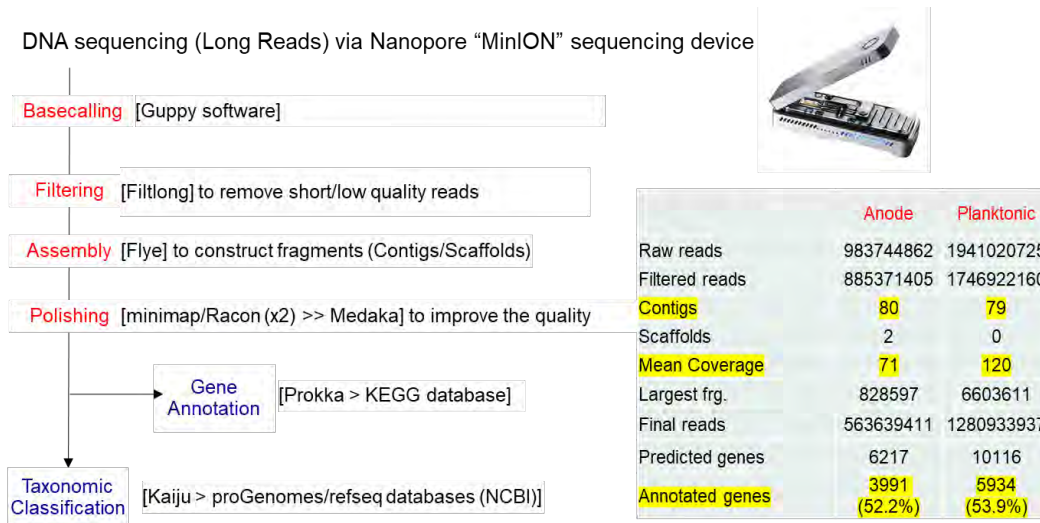


Abb. 2.3.1. Die Pipeline zur Analyse der Sequenzier-Rohdaten (mit MinION, Oxford Nanopore Technologie) und die damit verbundenen Hauptmerkmale.

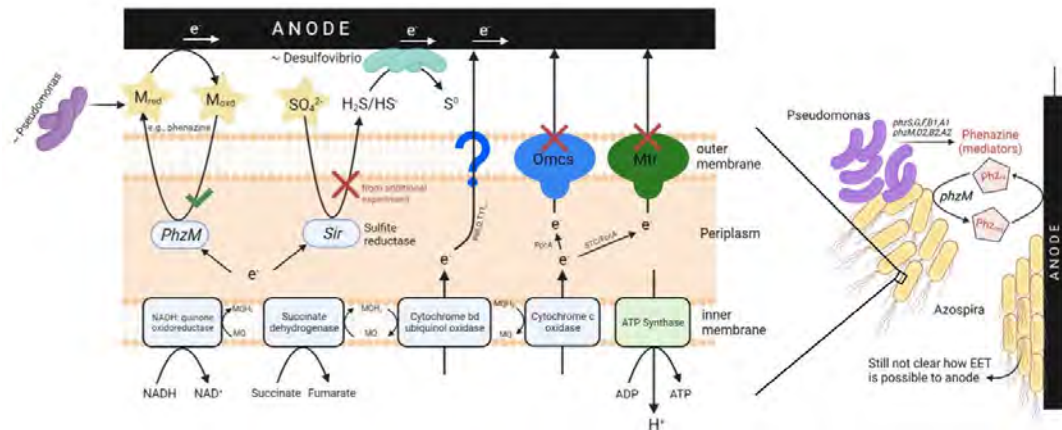


Abb. 2.3.3. Schematische Darstellungen der potenziellen extrazellulären Elektronenübertragungswege, hauptsächlich durch die dominante Gattung *Azospira*. Ausgeschlossene Pfade (mit dem Symbol **x**) sind entsprechend dem Fehlen von Schlüsselgenen oder durchgeführten Experimenten dargestellt.

Tabelle 2.3.1: Kommentierte Gene aus der metagenomischen Analyse von anodischen und planktonischen Proben (nur für die dominanten Gattungen) aus dem bioelektrochemischen System, das mit Brauereiabwasser gespeist wird. Gene, die möglicherweise an extrazellulären Elektronentransferwegen beteiligt sind, werden erwähnt. Rote Schrift wird verwendet, wenn sich die annotierten Gene für dieselbe Gattung in der anodischen und der planktonischen Probe unterscheiden.

Genus	Detected genes with potential related-functions	No. of relevant contigs/scaffolds	Relative abundance of relevant contig/scaffold (%)	EC (or KEGG) number	Function (or product)
<i>Azospira</i> (90,6%) [in anodic sample]	<i>cydA,B</i>	2	2,42; 0,35	1.10.3.-; 7.1.1.7	Cytochrome bd ubiquinol oxidase subunit 1,2
	<i>ccoP,N1</i>	1	2,54	1.9.3.1	Cbb3-type cytochrome c oxidase subunit CcoP,N1
	<i>ctaE</i>	1	1,85	1.9.3.1	Cytochrome c oxidase subunit 3
	<i>sdhA,B,C,D</i>	1	2,44	1.3.5.1	Succinate dehydrogenase
	<i>nuoB,D,F,H,I,J,K,L,M; nqa2,3;</i>	2	1,85; 2,44	7.1.1.-;	NADH-quinone oxidoreductase subunit B,D,2,3,F,H,I,J,K,L,M,B
	<i>nqrF</i>	1	2,43	7.2.1.1	Na(+)-translocating NADH-quinone reductase subunit F
	<i>PilT, Y1</i>	2	6,64; 2,47	K02669; K02674	Twitching mobility protein; Type IV pilus biogenesis factor PilY1
	<i>Sir</i>	1	1,35	1.8.7.1	Sulfite reduction to H ₂ S
	<i>ackA</i>	1	1,85	2.7.2.1	Acetate kinase
<i>pduW</i>	1	6,17	2.7.2.15	putative propionate kinase	
<i>Azospira</i> (67,5%) [in Planktonic sample]	<i>cydA,B</i>	1	24,31	1.10.3.-; 7.1.1.7	Cytochrome bd ubiquinol oxidase subunit 1,2
	<i>ccoP,N1</i>	1	2,97	1.9.3.1	Cbb3-type cytochrome c oxidase subunit CcoP,N1
	<i>sdhA,B,C,D</i>	1	24,31	1.3.5.1	Succinate dehydrogenase
	<i>nuoB,D,F,H,I,J,K,L,M; nqa1,2,3</i>	1	24,31	7.1.1.-	NADH-quinone oxidoreductase subunit B,D,1,2,3,F,H,I,J,K,L,M,B
	<i>PilE,T</i>	2	0,07; 26,31	K02669; K02655	Fimbrial protein; Twitching mobility protein
	<i>Sir</i>	1	24,31	1.8.7.1	Sulfite reduction to H ₂ S
	<i>phzM</i>	1	0,24	2.1.1.327	Phenazine biosynthesis
	<i>ackA</i>	1	24,31	2.7.2.1	Acetate kinase
	<i>pduW</i>	1	1,65	2.7.2.15	putative propionate kinase
<i>Pseudomonas</i> (30,2%) [in Planktonic sample]	<i>phzS,G,F,D2,B1,A1,M,G,B2,A2</i>	1	30,17	2.1.1.327; 5.3.3.17; 3.3.2.15; 1.14.13.218	Phenazine biosynthesis
	<i>Sir</i>	1	30,17	1.8.7.1	Sulfite reduction to H ₂ S
	<i>PilY1,Q,T</i>	1	30,17	K02674; K02666; K02669	Type IV pilus biogenesis factor PilY1; Type IV pilus biogenesis and competence protein PilQ; Twitching mobility protein
	<i>ackA</i>	1	30,17	2.7.2.1	Acetate kinase

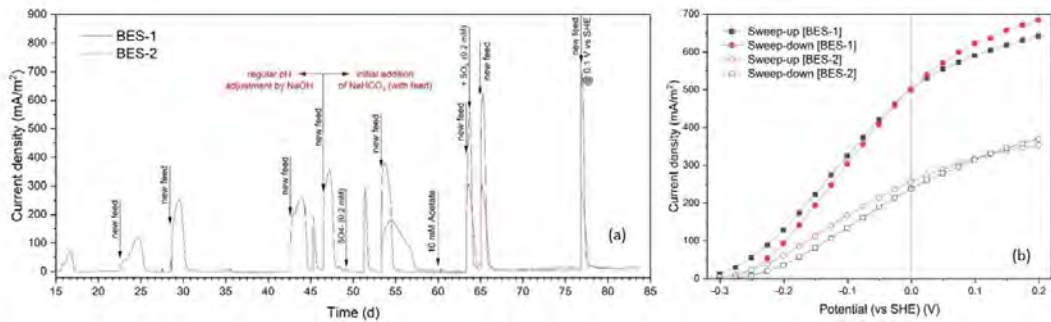


Abb. 2.3.4. Langzeitbetrieb des bioelektrochemischen Systems (BES), das mit Brauereiabwässern im Feed-Batch-Verfahren gespeist wird, mit verschiedenen Betriebsoptimierungen (a) und linearem Sweep-Voltammtrie-Experiment nach Erreichen der höchsten Effizienz (letzter Zyklus) (b). BES-1 bezieht sich auf den ursprünglichen Aufbau, während BES-2 sich auf einen neuen Reaktor bezieht, der mit einem aus BES-1 entnommenen Elektrodenstück beimpft wurde, um die Effizienz bis zum Erreichen eines BES stabilen Biofilms und einer stabilen Stromdichte zu bewerten.

Ähnliche Experimente wurden im folgenden auch für Abwässer aus der Cellulose-Acetat-Produktion durchgeführt. Die in Abbildung 2.3.5a dargestellten Ergebnisse zeigen, dass sich die Zeit bis zum Erreichen der maximalen Stromdichte von $\sim 1,2 \text{ A/m}^2$ über die Zyklen hinweg erheblich verkürzt hat, was auf das Erreichen eines stabilen Biofilms hindeutet. Darüber hinaus wurde das anodische Potenzial auf der Grundlage eines LSV-Experiments (Linear Sweep Voltammetry) von 0 auf +0,2 V gegen SHE angehoben, was zu einem deutlichen Anstieg der entsprechenden Stromerzeugung führte. Um Einblicke in das mikrobielle Oxidationsverhalten zu erhalten, wurde der BES nach der Substratverarmung im zweiten Zyklus eine konzentrierte Dosis Acetat in einer Konzentration von 20 mM zugeführt. Die in Abbildung 2.3.5b gezeigte höhere Stromerzeugung und der schnellere Acetatverbrauch (mit einem CE von $\sim 107 \%$) zeigen, dass störende organische Verbrauchsstoffe wahrscheinlich diese hohe potenzielle Stromerzeugung aus Acetat, das jedoch die vorherrschende Kohlenstoffquelle in diesem Abwasser ist, reduziert haben.

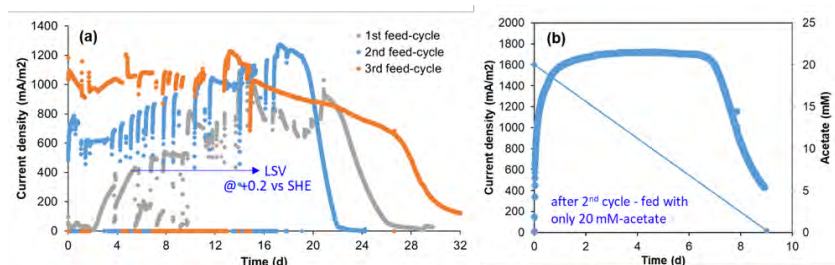


Abb. 2.3.5. Langzeitvalidierung innerhalb von drei Feed-Batch-Zyklen unter Verwendung von Abwasser aus der Zelluloseindustrie als Substrat (a), gefolgt von der Zugabe von 20 mM-Acetat am Ende des zweiten Zyklus (b), in einer 250-mL-BES, die mit einer *Geobacter sulfurreducens*-augmentierten Kultur geimpft wurde.

Literaturverzeichnis

- [1] J. Streeck, C. Hank, M. Neuner, L. Gil-Carrera, M. E. Kokko, S. Pauliuk, **A. Schaadt, S. Kerzenmacher**, R. J. White: *Bio-electrochemical Conversion of Industrial Wastewater combined with downstream Methanol Synthesis—An Economic-and Life Cycle Assessment*. *Green Chemistry* (2018), 20, 2742-2762-.
- [2] K. W. Jun, W. J. Shen, K. W. Lee, *Bull. Korean Chem. Soc.* 1999, 20, 993-998
- [3] M. Hirano, T. Imai, T. Yasutake, K. Kuroda, *J. Japan Petro. Inst.* 2004, 47, 1, 11-18.
- [4] a) W.-H. Chen, C.-L. Hsu, X.-D. Wang, *Energy* 2016, 109, 326; b) F. Pontzen, W. Liebner, V. Gronemann, M. Rothaemel, B. Ahlers, *Catalysis Today* 2011, 171, 242; c) Z. Azizi, M. Rezaeimanesh, T. Tohidian, M. R. Rahimpour, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 2014, 82, 150.
- [5] a) G. Bonura, C. Cannilla, L. Frusteri, F. Frusteri, *Applied Catalysis A, General* 2017, 544, 21–29; b) F. Frusteri, G. Bonura, C. Cannilla, G. Drago Ferrante, A. Aloise, E. Catizzone, M. Migliori, G. Giordano, *Applied Catalysis B: Environmental* 2015, 176-177, 522, c) F. Frusteri, M. Cordaro, C. Cannilla, G. Bonura, *Applied Catalysis B: Environmental* 2015, 162, 57.
- [6] M. Kokko, F. Bayerköhler, J. Erben, R. Zengerle, Ph. Kurz, **S. Kerzenmacher**: *Molybdenum sulphides on carbon supports as electrocatalysts for hydrogen evolution in acidic industrial wastewater*. *Appl. Energy* 190 (2017) 1221-1233.
- [7] L. Gil-Carrera, S. Epple, **J. Gescher, S. Kerzenmacher**: *A novel inoculation and adaptation procedure to improve the performance of microbial anodes operated with complex industrial wastewater*. The 24th International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, Lyon, France, 2017.
- [8] D. Morse: *Optimal wastewater for high current densities at the anode in Microbial Electrolysis Cells*, Master Thesis, Universität Freiburg, 2016.
- [9] a) D. Johnson, 2012, Global Methanol Market, IHS. Abgerufen bei: http://www.ptq.pemex.com/productosyservicios/eventosdescargas/Documents/Foro%20PEMEX%20Petroqu%C3%ADmica/2012/PEMEX_DJohnson.pdf; b) Mark Berggren, Managing Director, MMSA 3rd Methanol Technology and Policy Commercial Congress, 29.11.-1.12.2016, Frankfurt.
- [10] I. Rivera, U. Schröder, S. A. Patil: *Microbial Electrolysis for Biohydrogen Production: Technical Aspects and Scale-Up Experiences*. In: S.V. Mohan, S. Varjani, A. Pandey (Eds.): *Microbial Electrochemical Technology*, Elsevier, 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64052-9.00036-4>

II.2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Der größte Posten, der im Projekt verbrauchten Mittel, sind die Personalmittel. Diese waren nötig um die erforderlichen Forschungs- und Entwicklungsarbeiten innerhalb des Projekts erfolgreich durchzuführen. Die Mittel wurden zum größten Teil für die Finanzierung von Doktoranden eingesetzt. Im Schlussbericht wurde immer wieder darauf verwiesen, welche Experimente mit den beschafften Investitionen durchgeführt wurden. Das HPLC-Gerät und der Potentiostat waren fast dauerhaft zu 100% ausgelastet. Die Notwendigkeit der Beschaffung ist damit klar dargestellt.

II.3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

In diesem Projekt wurden eine detaillierte Bewertung und Verbesserungsstrategien für die Leistung und Stabilität einer mikrobiellen Elektrolysezelle zur Erzeugung von Wasserstoff aus realen Industrieabwässern erarbeitet. Es wurden ehrgeizige Ziele verfolgt, zumal es noch wenige Referenzen und Erfahrungen für die Arbeit mit realen Abwässern an der Schnittstelle von Bioelektrochemie, Mikrobiologie und Abwasserbehandlung gibt. Dies führte zu einem allgemein erhöhten Aufwand bei der Bearbeitung der Fragestellungen. Die eingesetzten Mittel und der Aufwand müssen daher als absolut notwendig angesehen werden, um die jeweilige Anwendung mit wichtigen betrieblichen Überlegungen zu einer effizienten und stabilen Leistung zu führen. Der erfolgreiche Abschluss des Projekts zeigt, wie gut die Ressourcen genutzt wurden.

II.4. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

In diesem Projekt haben wir völliges Neuland in der Forschung und Entwicklung betreten und konnten viele herausragende Ergebnisse erzielen. Im Rahmen einer Prozess- und Lebenszyklusanalyse konnten wir zeigen, dass die Herstellung von Dimethylether (DME) mit dem von uns entwickelten Verfahren wirtschaftlich realisiert werden kann. Bei der Herstellung von Wasserstoff und Kohlendioxid aus Industrieabwässern sind fast alle bioelektrochemischen Systeme auf die Aktivität von Mikroorganismen angewiesen, die in Biofilmen organisiert sind. Daher besteht in bioelektrochemischen Systemen ein Konflikt zwischen der Nutzung der Elektrodenoberfläche durch elektroaktive Mikroorganismen und der mikrobiellen Oberflächenpassivierung durch andere Organismen, die sich lediglich an die Oberfläche anlagern und den Elektronentransfer nicht katalysieren. Unsere Arbeit zeigt, dass eine systematische Isolierung, Anpassung und optimierte Arbeitsweise zu einer deutlichen Steigerung der Leistung und Stabilität führen kann. Darüber hinaus sind die entwickelten Biofilme optimal an die realen Industrieabwässer angepasst und konkurrenzfähig hinsichtlich der Oberflächenbesiedlung im Vergleich zu anderen Mikroorganismen, die die Elektrode nicht als Elektronenakzeptor nutzen. Wir gehen davon aus, dass die hier entwickelten Verfahren zum Standard bei der Entwicklung von industriellen bioelektrochemischen Anwendungen werden.

II.5. Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Während der Projektlaufzeit sind keine Ergebnisse von dritter Seite bekannt geworden, die die Durchführung des Vorhabens entscheidend beeinflusst hätten.

II.6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

Folgende Publikationen sind aus den Projekten hervorgegangen:

Publikationen in Vorbereitung:

1. Assessment of performance and anodic biofilm formation in bioelectrochemical systems fed with brewery wastewater
2. Efficiency and dynamics of different anodic biofilms in response to varying surface flow velocity

III. Erfolgskontrollbericht

1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen

Die von uns geleisteten Arbeiten haben klar zum Ziel des Projektes hochskalierte bioelektrochemische Reaktorlösungen zu entwickeln beigetragen. Wir haben sowohl Routinen für die Optimierung der mikrobiellen Gemeinschaft etablieren können, als auch klar zeigen können, wie die Prozessbedingungen eine optimale Leistungsfähigkeit des mikrobiellen Katalysators ermöglichen können.

2. Wissenschaftlich-technisches Ergebnis, erreichte Nebenergebnisse, und gesammelte wesentliche Erfahrungen

Die hier erzielten Ergebnisse zeigen, dass: (1) das Oberflächenströmungsmuster ermöglichen kann eine höhere Stromdichte von bis zu 6 A/m^2 im Vergleich zur statischen Durchmischung zu erreichen, (2) die allmähliche Erhöhung der Durchflussrate (von 100 bis 600 ml/min) einen robusten und effizienten Biofilm ergibt und die Substratdiffusion verbessert, (3) das Biofilmvolumen mit der Stromerzeugung bis zu einer bestimmten Biofilmdicke ($<150 \text{ }\mu\text{m}$) korreliert, (4) die Porosität des Biofilms mit der Zunahme des Biofilmvolumens abnimmt, was die Substratdiffusion im Laufe der Zeit einschränkt, (5) das Anlegen eines negativen Potentials an den Anoden für kurze Zeit in der Lage ist, den dichten Biofilm zu entfernen und eine schnelle Wiederherstellung der CE ermöglicht (von 34 bis 86%).

3. Fortschreibung des Verwertungsplans

3.1 Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen

Keine.

3.2 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont)

Unsere Arbeiten haben dazu beigetragen hochskalierte bioelektrochemische Systeme zu entwickeln. Wir gehen davon aus, dass diese Technologie innerhalb der nächsten drei Jahre marktreife erreichen kann.

3.3 Wissenschaftliche und technische Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont)

Die wissenschaftlichen und technischen Erfolgsaussichten sind vielversprechend. Eine Publikation wurde eingereicht und befindet sich in Begutachtung und eine weitere ist in Planung. Viele Erkenntnisse aus dem Projekt haben erfolgreich in weitere Projekte Eingang gefunden und werden hier auf ihre wirtschaftliche Umsetzung hin getestet.

3.4 Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Die wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit ist aus meiner Sicht eindrücklich durch die Anzahl erreichter Publikation, Publikationen in Vorbereitung und Drittmittel-geförderte Anschlussprojekte dargestellt. Aus dem Projekt sind viele spannende und technische relevante Anschlussfragen entstanden denen wir allein oder in Kooperation nachgehen.

3.5 Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

Keine

3.6 Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer

Entfällt

3.7 Einhaltung der Zeit- und Ausgabenplanung

Das Projekt musste kostenneutral verlängert werden. Dies lag daran, dass *die Höherskalierung länger als geplant gedauert hat.*