

Der Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger in der Biogasproduktion

vorgelegt von

Dipl.-Ing.

Patrice Ramm

geb. in Berlin

von der Fakultät III – Prozesswissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Ingenieurwissenschaften

– Dr.-Ing. –

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzender: Prof. Dr.-Ing. Sven-Uwe Geißen

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Ulrich Szewzyk

Gutachter: Prof. Dr. agr. habil. Dipl.-Ing. Bernd Linke

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 05. November 2015

Berlin 2015

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei allen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. Bernd Linke vom Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) möchte ich für die Betreuung dieser Dissertation, die fachliche Unterstützung und die stets vorhandene Bereitschaft zur konstruktiven Diskussion danken. Bei ihm und Herrn Dr. Jan Mumme möchte ich mich auch für das Entstehen der Forschungs Kooperation, in dessen Rahmen diese Dissertation möglich war, bedanken. Herrn Prof. Dr. Ulrich Szewzyk danke ich für die Betreuung und das große Interesse an meiner Arbeit.

Weiterhin gilt allen Kollegen am ATB mein besonderer Dank, ohne dessen Hilfe diese Dissertation nicht möglich gewesen wäre. Vor allem möchte ich mich bei den Mitarbeitern des chemischen Labors und des molekularbiologischen Labors der Abteilung Bioverfahrenstechnik, der Zentralwerkstatt und des Biogastechnikums für ihren großen Einsatz bedanken. Frau Jacqueline Götze möchte ich besonders für die große Unterstützung bei den durchgeführten mikrobiologischen Untersuchungen danken.

Den an dieser Forschungs Kooperation beteiligten Partnern, die Firmen Clariant und Dennert Poraver, möchte ich für die Bereitstellung der erprobten magnetisierbaren Aufwuchsträger und das in das ATB gelegte Vertrauen danken.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Freunden und meiner Familie bedanken, die mich in jeder Phase dieser Arbeit bestmöglich unterstützt haben.

Inhalt

Abkürzungen und Formelzeichen.....	V
Kurzfassung	IX
Abstract	XI
 1 Einleitung	 1
1.1 Hintergrund	1
1.2 Aufgabenstellung	5
1.3 Grundkonzept	7
1.4 Theoretische Grundlagen	9
1.4.1 Anaerobtechnik.....	9
1.4.1.1 Mikrobiologische Prozesse.....	9
1.4.1.2 Unterschiedliche Verfahren zur Produktion von Biogas	12
1.4.2 Biofilmbildung.....	17
1.4.2.1 Ablauf der Ausbildung eines Biofilms auf Oberflächen	17
1.4.2.2 Einfluss der zu besiedelnden Oberfläche auf die Biofilmbildung.....	19
1.4.2.3 Einfluss der Eigenschaften der flüssigen Phase auf die Biofilmbildung	22
1.4.2.4 Einfluss der Eigenschaften der Mikroorganismen auf die Biofilmbildung	24
1.4.2.5 Effekt der Maskierung der Oberfläche	25
1.4.2.6 Geeignete Trägermaterialien für Biofilme	25
1.4.3 Magnetismus.....	26
1.4.3.1 Grundlagen der Magnetseparation	26
1.4.3.2 Biomasserückhaltung mit Hilfe magnetischer Kräfte.....	29
 2 Material und Methoden	 33
2.1 Konzeption der KTVA-Versuche.....	33
2.1.1 Versuchsplanung.....	33
2.1.1.1 Versuche zur Beurteilung der mikrobiellen Besiedlung	33
2.1.1.2 Versuche zur Beurteilung der (methanogenen) Leistung	35
2.1.2 Verwendete Materialien	40
2.1.2.1 Magnetisierbare Aufwuchsträger MFGPs	40
2.1.2.2 Inokulum und Substrate	44
2.1.2.3 Versuchsaufbau	47
2.1.3 Versuchsdurchführung	48
2.1.3.1 Betrieb der Versuchsanlage	48
2.1.3.2 Biogaserfassung und Analyse	49
2.1.3.3 Probenahme	50
2.2 Konzeption des CSTR-Versuchs	53
2.2.1 Versuchsplanung.....	53
2.2.2 Verwendete Materialien	57
2.2.2.1 Magnetisierbare Aufwuchsträger MFGPs.....	57
2.2.2.2 Inokulum, Substrat und Nährstoffergänzungen	57
2.2.2.3 Versuchsaufbau	58

2.2.3 Versuchsdurchführung	63
2.2.3.1 Betrieb der Versuchsanlage	63
2.2.3.2 Biogaserfassung und Analyse	67
2.2.3.3 Probenahme	67
2.3 Analytik	71
2.3.1 Chemische Analytik	71
2.3.2 Mikrobiologische Analytik (qPCR und Mikroskopie)	76
2.4 Berechnungen	83
 3 Ergebnisse	 93
3.1 KTVA-Versuche	93
3.1.1 KTVA-Besiedlungsversuch 1 – Adhäsion	93
3.1.1.1 pH-Wert und organische Masse auf den MFGPs	93
3.1.1.2 Mikrobiologische Untersuchungen – qPCR-Analyse	93
3.1.1.3 Mikrobiologische Untersuchungen – mikroskopische Analyse	95
3.1.2 KTVA-Besiedlungsversuch 2 – Einfluss des Substrats	96
3.1.2.1 Gasbildung und pH-Wert.....	96
3.1.2.2 Organische Masse auf den MFGPs	99
3.1.2.3 Mikrobiologische Untersuchungen – qPCR-Analyse	99
3.1.2.4 Mikrobiologische Untersuchungen – mikroskopische Analyse.....	101
3.1.3 KTVA-Besiedlungsversuch 3 – Kinetik der Biofilmbildung	103
3.1.3.1 Gasbildung und pH-Wert.....	103
3.1.3.2 Organische Masse auf den MFGPs	105
3.1.3.3 Mikrobiologische Untersuchungen – qPCR-Analyse	105
3.1.3.4 Entwicklung des Biofilms.....	107
3.1.3.5 Mikrobiologische Untersuchungen – mikroskopische Analyse.....	109
3.1.4 KTVA-Besiedlungsversuch 4 – Prozessleistung	111
3.1.4.1 Gasbildung und pH-Wert.....	111
3.1.4.2 Methanbildungskinetik.....	112
3.1.4.3 Organische Masse auf den MFGPs	114
3.1.4.4 Mikrobiologische Untersuchungen – qPCR-Analyse	115
3.1.4.5 Mikrobiologische Untersuchungen – mikroskopische Analyse.....	118
3.1.5 KTVA-Leistungsversuch 1 – Einfluss der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase	121
3.1.6 KTVA-Leistungsversuch 2 – Einfluss der Aufwuchsträgerkonzentration	124
3.2 CSTR-Versuch	127
3.2.1 Leistung der Versuchsreaktoren	127
3.2.1.1 Biogasproduktion	127
3.2.1.2 Chemische Zusammensetzung der flüssigen Phase	134
3.2.1.3 Nährstoffversorgung.....	142
3.2.2 Entwicklung der mikrobiellen Population im Reaktor	145
3.2.2.1 Mikroorganismenpopulation - Archaeen und Bakterien	145
3.2.2.2 Zusammensetzung der Archaea	148
3.2.2.3 Bilanzierung der Biozönose in den Reaktoren.....	150
3.2.3 Biofilmbildung auf den MFGPs	153
3.2.3.1 Entwicklung der organischen Masse auf den MFGPs	153
3.2.3.2 Entwicklung der mikrobiellen Biozönose auf den MFGPs.....	154

3.2.3.3 Zusammensetzung der Archaea im Biofilm	155
3.2.3.4 Vergleich der Biozönose auf den MFGPs und in der flüssigen Phase	156
3.2.3.5 Mikroskopische Analyse	159
3.2.3.6 oTS-Gehalt der MFGPs als Indikator für die mikrobielle Besiedlung	160
3.2.4 Erreichter Rückhaltegrad der MFGPs im Reaktor	162
4 Diskussion und Fazit.....	163
4.1 Diskussion der Ergebnisse.....	163
4.1.1 Vergleich unterschiedlicher Muster magnetisierbarer Aufwuchsträger hinsichtlich der Immobilisierung von Mikroorganismen	163
4.1.1.1 Mikroorganismenpopulation auf verschiedenen Aufwuchsträgermustern	163
4.1.1.2 Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm	167
4.1.1.3 Reproduzierbarkeit der durchgeführten Versuche	170
4.1.2 Kinetik der Ausbildung eines Biofilms auf den Aufwuchsträgern und der Entwicklung der mikrobiellen Biozönose im Biofilm	170
4.1.2.1 Entwicklung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm	170
4.1.2.2 Maximale Mikroorganismenpopulation im Biofilm	171
4.1.2.3 Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm	173
4.1.2.4 Struktur des Biofilms	177
4.1.3 Beurteilung der Wirkung der Biozönose auf den Aufwuchsträgern in einem offenen System.....	179
4.1.3.1 Wirkung unter moderaten Betriebsbedingungen	179
4.1.3.2 Wirkung in Stresssituationen.....	180
4.1.3.3 Reduzierung der Anlaufzeit.....	183
4.1.3.4 Anteil und Art der immobilisierten Mikroorganismen in Bezug zur Gesamtpopulation im Reaktor.....	184
4.1.4 Praktische Anwendung magnetisierbarer Aufwuchsträger.....	187
4.1.4.1 Immobilisierung von Mikroorganismen	187
4.1.4.2 Separation der Aufwuchsträger aus einem flüssigen Medium	190
4.1.4.3 Nutzen der praktischen Anwendung magnetisierbarer Aufwuchsträger.....	191
4.1.5 Vereinfachung der Untersuchung der Biofilmbildung auf verschiedenen Aufwuchsträgern	199
4.1.5.1 oTS-Gehalt als Parameter zur Beurteilung der Mikroorganismenpopulation	199
4.1.5.2 Kleintechnische Versuchsanlage (KTVA) als Alternative zur CSTR-Versuchsanlage	203
4.2 Fazit	207
4.2.1 Zum Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger in der Biogasproduktion ...	207
4.2.2 Ausblick.....	210
Literatur	213
Abbildungsverzeichnis	229
Tabellenverzeichnis	233
Anhang.....	235
Eidesstattliche Erklärung	269

Abkürzungen und Formelzeichen

Abkürzungen

AF	anaerobic filter
ARC	Archaea
ATB	Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V.
BAC	Bacteria
Ben	Referenzkorn mit Ca-Bentonit-Oberfläche (Aufwuchsträgermuster)
CR	Kontrollreaktor
CSTR	continuously stirred tank reactor
C-X	Chitosan-Xanthan-Überzug (Modifikation der Aufwuchsträger)
DIC	differential interference contrast
DMSO	Dimethylsulfit
DSMZ	Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen
EEG	Erneuerbare-Energien-Gesetz
EGSB	expanded granular sludge bed
EPS	extrazellulärer Polysaccharide
FBR	fluidised bed reactor
FM	Frischmasse
FNR	Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.
FOS	flüchtige organische Säuren
gew	Wäsche (Modifikation der Aufwuchsträger)
GL	Glucoselösung
HBT	Hohenheimer Biogasertragstest
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change
KTVA	kleintechnische Versuchsanlage
LF	elektrische Leitfähigkeit
LSC	Laserscanningmikroskopie

LVAT	Lehr- und Versuchsanstalt für Tierzucht und Tierhaltung e.V.
M bac	Methanobacteriales
M micr	Methanomicrobiales
M saet	Methanosaetaceae
M sc	Methanosarcinaceae
MFGP	magnetic foam glass particle (magnetisierbarer Aufwuchsträger)
MR	Magnetreaktor
MS	Milchsäure
n.b.	nicht bestimmt
n.n.	nicht nachweisbar
OLR	organic loading rate (oS-Raumbelastung)
oS	organische Substanz
PBS-Lösung	phosphatgepufferte Salzlösung
qPCR	quantitative real-time polymerase chain reaction
Ref	Referenzkorn (Aufwuchsträgermuster)
Ref red	Referenzkorn reduziert (Aufwuchsträgermuster)
RS	Zuckerrübensilage
SE	Spurenelemente, auch: Einschmelzen von Spurenelementen (Modifikation der Aufwuchsträger)
SYTO 13	Farbstoff der Fluoreszenzmikroskopie
TAC	totaler anorganischer Kohlenstoff
UASB	upflow anaerobic sludge blanket
UV	UV-Licht
VOR	Vorserienmuster (Aufwuchsträgermuster)
X	Xanthan-Überzug (Modifikation der Aufwuchsträger)

Formelzeichen

CSB	chemischer Sauerstoffbedarf ($\text{mg L}_{\text{FM}}^{-1}$)
Methan - y	oS-Methanausbeute der Versuchsansätze (L (kg oS)^{-1})
Methan - r	Methanbildungsrate ($\text{L L}^{-1} \text{d}^{-1}$)
$\text{N}_{\text{Kjeld.}}$	Stickstoffgehalt bestimmt nach der Methode von Kjeldahl ($\text{mg kg}_{\text{FM}}^{-1}$)
NH_4 - N	Ammoniumstickstoffgehalt ($\text{mg kg}_{\text{FM}}^{-1}$)
OLR	oS-Raumbelastung ($\text{g}_{\text{oS}} \text{L}^{-1} \text{d}^{-1}$)
oTS	analytisch bestimmter oTS-Gehalt (% TS) bzw. (% FM)
oTS_{MFGP}	analytisch bestimmter oTS-Gehalt einer frischen Probe besiedelter Aufwuchsträger ($\text{g oTS (g TM}_{\text{MFGP}}^{-1})$)
P_{ges}	Gesamtgehalt an Phosphor ($\text{mg kg}_{\text{FM}}^{-1}$)
TAC	totaler anorganischer Kohlenstoff
TS bzw. TS_{105}	analytisch bei einer Temperatur von 105 °C bestimmter Trockensubstanzgehalt (% FM)
TS_{korrr}	korrigierter Trockensubstanzgehalt ($\text{g kg}_{\text{FM}}^{-1}$)

Kurzfassung

Biomasse, inklusive Biogas, war im Jahr 2008 die am meisten genutzte regenerative Energiequelle. Am weltweiten Energieverbrauch in Höhe von 492 EJ lag der Anteil von Energie aus Biomasse bei 10,2 %. Bis zum Jahr 2050 könnte die Energieproduktion aus Biomasse auf 100 bis 300 EJ pro Jahr ausgebaut werden. In der Optimierung von Verfahren zur Produktion von Biogas liegt demnach ein großes Potential zur Erhöhung des Anteils regenerativer Energiequellen am Energieverbrauch. In der Biogasproduktion ist die Nutzung einfacher Rührkesselreaktoren (CSTRs) mit Abstand am weitesten verbreitet. Die Leistung dieser Reaktoren ist durch Ausspülen von Mikroorganismen begrenzt, da sie über keine Mechanismen zu deren Rückhaltung verfügen. Eine Möglichkeit, die Rückhaltung von Mikroorganismen auch beim CSTR zu erreichen, ist der Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger. Solche Aufwuchsträger können einfach mit Hilfe magnetischer Kräfte aus dem Ablauf des Reaktors abgetrennt und in den Reaktor zurückgeführt werden.

Ziel dieser Arbeit war der Vergleich verschiedener neuartiger magnetisierbarer Aufwuchsträger aus Schaumglas hinsichtlich der Immobilisierung von Mikroorganismen. Es sollten Rückschlüsse zur Kinetik der Ausbildung eines Biofilms auf den Aufwuchsträgern in einem kontinuierlich betriebenen CSTR gewonnen und der Nutzen des Einsatzes der Aufwuchsträger hinsichtlich der methanogenen Leistung eines CSTRs ermittelt werden.

Bei Aufwuchsträgern, die im CSTR inkubiert wurden, konnten bis zu $34626,0 \times 10^9$ 16s rRNA Genkopien (Archaeen und Bakterien) je g Aufwuchsträger festgestellt werden. Der Anteil methanogener Mikroorganismen (Archaeen) erreichte dabei bis zu 62,77 %, in der flüssigen Phase kam dieser Anteil nie über 3 % hinaus. Mit Hilfe der intensiv besiedelten Aufwuchsträger war es möglich, die hydraulische Verweilzeit des CSTRs auf bis zu 4,65 Tage zu reduzieren. Die Leistung des Reaktors wurde dabei kaum beeinflusst und erreichte übliche Werte: die Methanausbeute lag bei $0,344 \text{ Norm-L g}_{\text{OS}}^{-1}$ bei einer Raumbelastung in Höhe von $6,42 \text{ g}_{\text{OS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Die Leistung eines Kontrollreaktors ohne Aufwuchsträger ist dagegen bei einer hydraulischen Verweilzeit von 8,48 Tagen vollkommen zusammengebrochen. Die Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit wurde durch eine gezielte Verdünnung des eingesetzten Substrats Zuckerrübensilage erreicht, der oTS-Gehalt im Substrat wurde von 17,3 auf 3,0 % FM gesenkt. Es war ebenfalls möglich, einen CSTR nur mit Hilfe von auf magnetisierbaren Aufwuchsträgern eingebrachten Mikroorganismen mit einer Raumbelastung in Höhe von $3,66 \text{ g}_{\text{OS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ in Betrieb zu nehmen, eine Anlaufzeit war nicht notwendig. Dabei wurde eine Methanausbeute in Höhe von $0,378 \text{ Norm-L g}_{\text{OS}}^{-1}$ erreicht.

Diese Ergebnisse zeigen das hohe Potential der untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger. Durch die Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit und dem damit verbundenen

hohen Volumendurchsatz wird die Nutzung von Substraten mit einem geringeren Organikgehalt, z.B. Gülle, bei deutlich höheren Raumbelastungen möglich. Der Einsatz eines mit magnetisierbaren Aufwuchsträgern ausgestatteten CSTRs in der Abwasserbehandlung wäre ebenfalls vorstellbar. Die Verwendung der Aufwuchsträger in einer Pilotanlage könnte unmittelbar erfolgen und erscheint sehr erfolgsversprechend.

Abstract

With a share of 10.2 % in the total global primary energy supply (492 EJ) the use of bioenergy, including biogas, was the most important source of renewable energy in 2008. Until 2050 the annual production of energy from biomass might be enhanced up to 300 EJ. According to that, the improvement of technologies used for the production of biogas includes a high potential in increasing the share of renewable energy in total energy supply. The use of continuously stirred tank reactors (CSTRs) is mostly spread in the production of biogas. The performance of these reactor is limited by losses of microorganisms hence it does not possess installations for retention of microorganisms. A possible retention technique for the CSTR is the use of magnetic carriers for microorganisms. These carriers are easy to remove from reactor effluent by magnetic forces and can be put back into the reactor.

Aim of this work was to compare different kinds of novel magnetic carriers made of foam glass according to the retention of microorganisms. Furthermore kinetics of the formation of biofilm on magnetic carriers incubated in a continuously operated CSTR and the effect on the methanogenic performance of a CSTR caused by the use of magnetic carriers should be investigated.

Magnetic carriers incubated in a CSTR showed a microbial population (Archaea and Bacteria) up to 34626.0×10^9 16s rRNA gen copy numbers (g carrier)⁻¹. The share of methanogenic microorganisms (Archaea) increased up to 62.77 %, in the liquid phase of the reactor these share never exceeded 3 %. It was possible to decrease the hydraulic retention time of the CSTR up to 4.65 days by means of the carriers. The methanogenic performance was hardly influenced in that case and achieved usual values: the reactor reached methane yields of $0.344 \text{ Norm-L g}_{\text{os}}^{-1}$ at an organic loading rate of $6.42 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. The performance of a control reactor without magnetic carriers dropped to zero at a hydraulic retention time of 8.48 days. The reduction of the hydraulic retention time was realized by diluting the used substrate sugar beet silage, the organic dry matter content of the substrate was decreased from 17.3 to 3.0 % FM. Furthermore it was possible to start-up a CSTR with a microbial community only consisting of microorganisms immobilised on the carriers. The organic loading rate was $3.66 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ right from the start, there was no need for a start-up period. The methane yield reached a value of $0.378 \text{ Norm-L g}_{\text{os}}^{-1}$.

These results confirm a high potential of the magnetic carriers. By reducing the hydraulic retention time that is associated with a high volume flow the use of substrates showing lower organic solids contents, e.g. slurries, is possible at considerably higher organic loading rates.

The use of a CSTR equipped with magnetic carriers in wastewater treatment is conceivable, too. The application of the carriers in a pilot plant could follow immediately and seems to be very promising.

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Die Versorgung der Menschheit mit Energie ist neben der Versorgung mit Wasser und Nahrung eine der größten Herausforderungen der heutigen Zeit. Die Zunahme der Weltbevölkerung und der steigende Lebensstandard führen zu einem immer höheren Bedarf an Energie. Da die Menge nicht regenerativer Energieträger wie Kohle und Erdöl, die momentan den größten Teil der Energieversorgung abdecken, begrenzt ist, liegt ein hohes Konfliktpotential in der zukünftigen Versorgung mit Energie. Die Emission von Treibhausgasen, die mit der Nutzung nicht regenerativer Energieträger verbunden ist, stellt ebenfalls ein großes Problem dar.

Der Primärenergieverbrauch in Deutschland im Jahr 2013 betrug 13908 PJ und stammte zu 33,4 % aus Mineralöl, zu 24,5 % aus Kohle, zu 22,3 % aus Erdgas, zu 7,6 % aus Kernenergie, zu 11,5 % aus regenerativen Energien und zu 0,6 % aus sonstigen Energiequellen. Die Brutto-Stromerzeugung in Deutschland im Jahr 2013 in Höhe von 633,6 TWh setzte sich zu 23,9 % aus regenerativen Energien zusammen, davon wurden 31,4 % durch Bioenergie gedeckt, zu der auch Biogas zählt. Bei der Wärmebereitstellung in Deutschland im Jahr 2013 in Höhe von 1462,5 TWh nahmen regenerative Energien einen Anteil von 9,1 % ein, davon wurden 88 % aus Bioenergie gewonnen. Aus Biogas wurden im Jahr 2013 in Deutschland 27,9 TWh Strom und 11,8 TWh Wärme produziert. Der Anteil von Biogas an der Brutto-Stromerzeugung und der Wärmebereitstellung lag demnach im Jahr 2013 bei 4,4 bzw. 0,8 %. (FNR, 2014) Nach Aussage des Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) ist Bioenergie weltweit im Moment die am stärksten genutzte regenerative Energiequelle. Laut dem IPCC-Bericht des Jahres 2012 (IPCC, 2012) setzte sich die weltweite Primärenergieversorgung im Jahr 2008 in Höhe von 492 EJ zu 34,6 % aus Erdöl, zu 28,4 % aus Kohle, zu 22,1 % aus Erdgas, zu 2,0 % aus Kernenergie und zu 12,9 % aus regenerativen Energien zusammen. Im Jahr 2008 wurden ca. 10 % (entspricht 50,3 EJ pro Jahr) des weltweiten Primärenergiebedarfs durch Bioenergie gedeckt. Bis zum Jahr 2050 könnte die Energieproduktion aus Biomasse auf 100 bis 300 EJ pro Jahr ausgebaut werden. Der Ersatz fossiler Energieträger würde dabei zu einer Reduzierung der Treibhausgase um 80 bis 90 % führen. Zur Nutzung dieses Potentials sind die Entwicklung nachhaltigerer Techniken zur Bereitstellung und energetischen Konversion der eingesetzten Biomasse, eine Erhöhung des Wirkungsgrades der energetischen Konversion und allgemein eine Optimierung der Prozeßketten erforderlich. (IPCC, 2012)

Auf dem Gebiet der Biogasproduktion wurden bereits viele Techniken entwickelt, die an den Einsatz sehr unterschiedlicher Biomasse angepasst sind. Für die anaerobe Vergärung eines breiten Spektrums an Substraten hat sich der Rührkesselreaktor (CSTR) bewährt. Der CSTR stellt eine vielseitige und bewährte Technologie dar, die deshalb weit verbreitet ist. In Deutschland wird in über 90 % aller Biogasanlagen dieser Reaktortyp verwendet. (Weiland, 2010) Neben der Vielseitigkeit liegt ein weiterer großer Vorteil dieses Reaktortyps im geringen maschinen- und steuerungstechnischen Aufwand (Bischofsberger, 2005).

Ein limitierender Faktor bei der anaeroben Vergärung ist die Konzentration mikrobieller Biomasse im Reaktor. Dieser Aspekt ist besonders für den Einsatz von Substraten mit einem geringen Organikgehalt von Bedeutung. Die erreichbaren Durchsätze und die damit verbundenen Leistungen sind in diesem Fall meistens relativ gering (Bischofsberger, 2005). Der hohe Volumendurchsatz der nötig ist, um eine bestimmte Organikkonzentration im Reaktor zu erreichen, führt zu kurzen hydraulischen Verweilzeiten (Wandrey, 1983) und damit zu einem starken Ausspülen an Mikroorganismen. Die starke Ausspülung führt zu einer Abnahme der Mikroorganismenkonzentration im Reaktor. Vor allem die Konzentration von Mikroorganismen der Domäne Archaea, die für die Methanbildung verantwortlich sind und lange Reproduktionszeiten aufweisen (Batstone, 2002), ist in diesem Fall gering (Wandrey, 1983). Die Nutzung dünnflüssiger Substrate, z.B. Gülle, wird deshalb oft nur in Co-Fermentation mit einem anderen Substrat durchgeführt. Der Einsatz von Gülle, die einen organischen Reststoff darstellt, soll mit der aktuellen Fassung des EEG (EEG, 2014) gefördert werden. Der Ersatz von Substraten mit hohen Organikgehalten durch Substrate mit geringen Organikgehalten, erfordert den Einsatz besonderer Techniken, die einen Erhalt der mikrobiellen Population im Reaktor ermöglichen.

Der Erhalt der mikrobiellen Population im Reaktor erfordert eine Entkopplung der Aufenthaltszeit der Mikroorganismen von der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors. Zu diesem Zweck können unterschiedliche Techniken zur Immobilisierung von Mikroorganismen angewendet werden (Nicoletta, 2000). Bei diesen Techniken kann es sich entweder um zusätzliche Komponenten außerhalb des Reaktors, z.B. Absetztanks oder Filtermembranen, oder besondere Typen von Reaktoren handeln, z.B. UASB- und EGSB-Reaktoren oder Anaerobfilter. Der Einsatz dieser Techniken ist oft mit bestimmten Nachteilen verbunden oder nur für bestimmte Substrate geeignet. Bei der Verwendung von Filtermembranen tritt das Risiko einer Verstopfung durch Biofouling auf (Yang, 2012). Die Filtration stellt außerdem eine hohe Belastung für die Mikroorganismen dar (Jeison, 2009). Ein Absetztank beansprucht viel Platz (Boutin, 1993). Anaerobfilter werden in der Regel für Substrate mit sehr geringen Organikgehalten, z.B. Abwasser verwendet (Singh, 2009). Das Einsatzgebiet

von EGSB- und UASB-Reaktoren wird durch die (hydrodynamischen) Bedingungen eingeschränkt, die von der Ausbildung von Zellaggregaten im Reaktor ausgehen (Nicolella, 2000).

Ein vergleichsweise neuer Ansatz zur Immobilisierung von Mikroorganismen ist der Einsatz magnetisierbarer Partikel, die als Aufwuchsträger für Mikroorganismen dienen. Diese Technik könnte einige Vorteile gegenüber den üblichen Verfahren aufweisen, da sie mit dem weit verbreiteten und vielseitigen CSTR problemlos kombinierbar ist. So könnten bei der Produktion von Biogas mit einem CSTR auch beim Einsatz von Substraten mit geringen Organikgehalten hohe Durchsätze realisiert werden, was gleichbedeutend mit einer hohen Energiedichte des Reaktors wäre. In der Abwasserbehandlung stellt der CSTR eine Alternative dar, wenn eine Entkopplung von hydraulischer Verweilzeit des Reaktors und Aufenthaltszeit der Mikroorganismen nicht möglich ist, z.B. bei der Behandlung stark feststoffhaltiger industrieller Abwässer. Aufgrund des geringen Organikgehalts dieser Substrate dient der CSTR dabei nur als Schwachlastreaktor, da wegen der hohen Ausspülung keine hohen Durchsätze möglich sind. (Bischofsberger, 2005) Der Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger könnte den Durchsatz und damit die Leistung in diesem Fall ebenfalls erhöhen.

1.2 Aufgabenstellung

Aufgabe dieser Arbeit ist die Untersuchung neuartiger magnetisierbarer Aufwuchsträger hinsichtlich eines Einsatzes in der Biogasproduktion. Dabei stehen die folgenden Fragestellungen im Vordergrund:

- **Kann auf den magnetisierbaren Aufwuchsträgern eine leistungsstarke mikrobielle Biozönose immobilisiert werden?**
- **Ist durch den Eintrag magnetisierbarer Aufwuchsträger in einen Rührkesselreaktor (CSTR) eine Entkopplung der Aufenthaltszeit der Mikroorganismen im Reaktor von der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors erreichbar?**
- **Kann durch den Eintrag magnetisierbarer Aufwuchsträger eine Leistungssteigerung und/oder eine Erweiterung des Anwendungsspektrums eines CSTRs erreicht werden?**

Zur Beantwortung dieser allgemeinen Fragestellungen wurden konkrete Untersuchungsziele definiert:

- **Vergleich unterschiedlicher Muster magnetisierbarer Aufwuchsträger hinsichtlich der Immobilisierung von Mikroorganismen**
- **Kinetik der Ausbildung eines Biofilms auf den Aufwuchsträgern und der Entwicklung der mikrobiellen Biozönose im Biofilm**
- **Beurteilung der Wirkung der Biozönose auf den Aufwuchsträgern in einem offenen System**
- **Praktische Anwendung magnetisierbarer Aufwuchsträger**
- **Vereinfachung der Untersuchung der Biofilmbildung auf verschiedenen Aufwuchsträgern**

1.3 Grundkonzept

Zum Erreichen der Untersuchungsziele wurden mehrere Versuchsreihen mit zwei verschiedenen Versuchsanlagen durchgeführt, siehe Abschnitt 2.1.1 und Abschnitt 2.2.1:

- **eine kleintechnische Versuchsanlage KTVA**
- **eine Versuchsanlage mit Rührkesselreaktoren CSTR**

Bei der kleintechnischen Versuchsanlage (KTVA) wurden Glasspritzen mit einem Nennvolumen von 100 mL zur Unterbringung der Versuchsansätze verwendet. Die Versuchsdurchführung orientierte sich am Hohenheimer Biogasertragstest (HBT) (Helffrich, 2003). Infolge der geringen Größe und des verhältnismäßig geringen Anspruchs des Versuchsaufbaus war der gleichzeitige Betrieb vieler verschiedener Versuchsansätze möglich. Die Variation einer größeren Anzahl von Versuchsparametern sowie die Durchführung von Parallelversuchen konnten somit realisiert werden. Durchgeführt wurden KTVA-Versuche mit den folgenden Zielstellungen:

- **Vergleich der Biofilmbildung bei zehn verschiedenen Mustern magnetisierbarer Aufwuchsträger**
- **Beurteilung der (methanogenen) Leistungsfähigkeit der auf den Aufwuchsträgern immobilisierten Mikroorganismen bei Eintrag in einem offenen System unter Variation der Aufwuchsträgerkonzentration und der Mikroorganismenpopulation in der umgebenden flüssigen Phase**
- **Beurteilung der Eignung der KTVA als einfaches System zur Untersuchung der Biofilmbildung auf verschiedenen Trägermaterialien und Optimierung der Betriebsweise (Einsatz verschiedener Substrate und Variation der hydraulischen Verweilzeit)**

Der Nachteil der batch-weise betriebenen KTVA-Versuche lag in der hohen Praxisferne, da sich die Betriebsweise teilweise stark von kontinuierlich betriebenen Biogasreaktoren unterschied. Außerdem waren die Versuchsansätze aufgrund der kleinen Volumina sehr anfällig gegenüber nicht immer vermeidbarer Schwankungen in der Qualität der eingesetzten Mikroorganismenkulturen und Substrate. Durch die kleinen Volumina waren die mögliche Anzahl von Probenahmen und der Umfang der Analytik der Proben ebenfalls eingeschränkt, wodurch detaillierte Untersuchungen erschwert wurden.

Die CSTR-Versuchsanlage arbeitete in einem weit größeren Maßstab. Es wurden kontinuierlich betriebene volldurchmischte Rührkesselreaktoren (CSTRs) mit einem Arbeitsvolumen von jeweils 40 L verwendet. Diese Versuchsanlage wies eine deutlich höhere Praxisnähe auf. Aufgrund des höheren Aufwands konnten nur zwei Versuchsplätze realisiert werden. Die Möglichkeit der Variation von Versuchsparametern war dadurch eingeschränkt und reduzierte sich auf die Raumbelastung und die hydraulische Verweilzeit. Eine Variation der Art und der Konzentration der Aufwuchsträger war nicht möglich. Die Anzahl der Probenahmen und der Umfang der Analytik der Proben konnten im Vergleich zur KTVA wesentlich umfangreicher ausfallen. Der CSTR-Versuch hatte die folgenden Zielstellungen:

- **detaillierte Erfassung der Kinetik der Biofilmbildung**
- **Beurteilung der (methanogenen) Leistungsfähigkeit der auf den Aufwuchsträgern immobilisierten Mikroorganismen in einem offenen System**
- **Einschätzung des Nutzens, der mit einem praktischen Einsatz der Aufwuchsträger in einem Rührkesselreaktor verbunden ist**

Bei allen durchgeführten Versuchen wurde die qPCR-Methode eingesetzt. Mit Hilfe dieser Methode konnte das Vorkommen von Mikroorganismen der Domänen Archaea und Bacteria zur Beurteilung der Entwicklung der mikrobiellen Biozönose auf den Aufwuchsträgern und in der umgebenden flüssigen Phase bestimmt werden. Mikroskopische Untersuchungen, Fluoreszenzmikroskopie und Laserscanningmikroskopie, dienten zur visuellen Beurteilung der Biofilmbildung auf den Aufwuchsträgern. Die methanogene Leistung wurde durch regelmäßige Bestimmung der gebildeten Biogasmenge und der Bestimmung des Methangehalts ebenfalls bei allen Versuchen ermittelt. Beim CSTR-Versuch wurde die Beurteilung der Prozessleistung durch regelmäßige umfangreiche chemische Analysen der flüssigen Phase ergänzt.

Die vorliegende Dissertation entstand im Rahmen eines Forschungsprojekts, das im Auftrag der Firmen Clariant (Clariant AG, Muttenz, Schweiz, vormals Süd-Chemie AG, München bzw. Research & Development Adsorbents and Additives, Moosburg) und Dennert Poraver (Dennert Poraver GmbH, Postbauer-Heng) vom Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) durchgeführt wurde.

1.4 Theoretische Grundlagen

1.4.1 Anaerobtechnik

Der Einsatz von Mikroorganismen in verfahrenstechnischen Prozessen ist weit verbreitet. Wichtige Anwendungen sind die stoffliche und energetische Konversion von Biomasse. Zur energetischen Konversion von Biomasse zählt die Produktion von Biogas aus organischen (Rest-)Stoffen. Im Folgenden werden einige Grundlagen zum Einsatz von Mikroorganismen zur Produktion von Biogas dargestellt.

1.4.1.1 Mikrobiologische Prozesse

Schematik des anaeroben Abbaus

Aerobe Mikroorganismen sind im Stande organische Stoffe simultan abzubauen. Bei anaeroben Abbauprozessen hingegen erfolgt die energetische Erschließung in nacheinander ablaufenden Stufen, siehe Abbildung 1. Bei einer Fermentation organischen Materials zum Endprodukt Methan sind es die vier Stufen Hydrolyse, Acidogenese, Acetogenese und Methanogenese. (Bryant, 1979) Dabei sind Gruppen von fakultativ und obligat anaeroben Mikroorganismen beteiligt. Die anfallenden Stoffwechselendprodukte der einen Gruppe stehen der folgenden als Substrat zur Verfügung. Der Biogasbildungsprozess beruht demnach auf einer komplexen syntrophen Lebensgemeinschaft aus fermentativen, acidogenen und acetogenen Bakterien sowie methanogenen Archaeen (Zhu, 1997) (Schnürer, 1999) (Leven, 2007).

Bei der Hydrolyse werden die Makromoleküle durch fermentative Mikroorganismen in ihre Spaltprodukte zerlegt. In der Acidogenese werden diese durch fermentative Mikroorganismen zu reduzierten Verbindungen wie Karbonsäuren, Alkoholen und Gasen umgewandelt. In der darauffolgenden Acetogenese wird daraus durch acetogene Mikroorganismen Essigsäure, Kohlendioxid und Wasserstoff gebildet. Die abschließende Methanogenese kann über zwei Reaktionswege erfolgen, entweder acetoklastisch (ca. 70 % der methanbildenden Mikroorganismen sind acetoklastisch) oder hydrogenotroph (ca. 30 % der methanbildenden Mikroorganismen sind hydrogenotroph). (Linke, 2003) Beim acetoklastischen Weg wird Acetat von den Mikroorganismen zu Methan abgebaut, beim hydrogenotrophen Weg werden H_2 und CO_2 zu Methan umgewandelt. (Hattori, 2008) Hydrogenotrophe methanogene Mikroorganismen gibt es z.B. in den Ordnungen Methanobacteriales und Methanomicrobiales, acetoklastische methanogene Mikroorganismen konnten bisher nur in den Familien Methanosaetaceae und Methanosarcinaceae der Ordnung Methanosarcinales festgestellt werden. In Biogasanlagen

dominieren in der Praxis bei der Vergärung von Gülle *Methanobacteriales* und *Methanosarcina*, in der anaeroben Abwasserbehandlung ist dagegen *Methanosaeta* dominant (Karakashev, 2006).

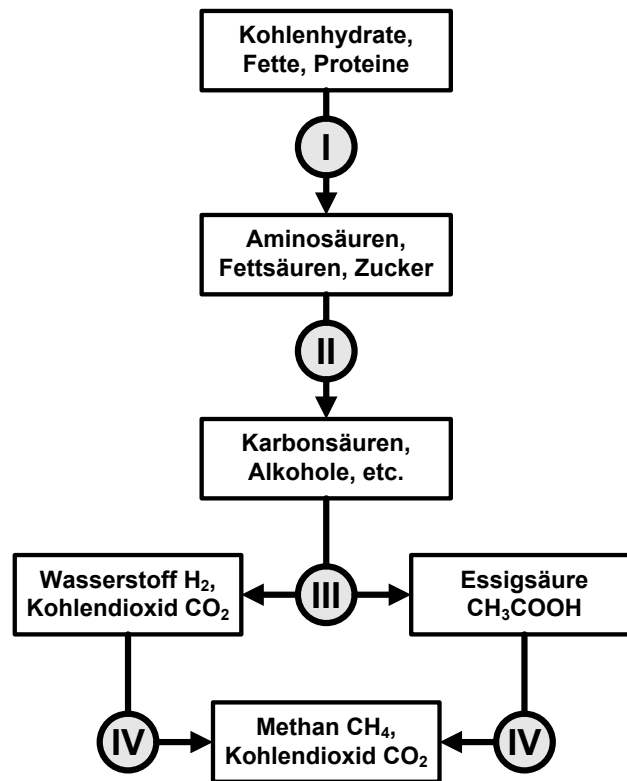


Abb. 1: Schema des anaeroben Abbaus (nach Schattauer, 2004)

I: Hydrolyse, II: Acidogenese, III: Acetogenese, IV: Methanogenese

Ein störungsfreier Abbau bis hin zum gewünschten Endprodukt Methan ist nur dann gewährleistet, wenn alle Teilschritte ungehindert nacheinander ablaufen können. Der langsamste ablaufende Teilschritt bestimmt die gesamte Abbaugeschwindigkeit. Den anaeroben Mikroorganismen steht nur eine sehr begrenzte Menge an Energie für ihren Stoffwechsel zur Verfügung. Daraus resultieren eine sehr geringe Wachstumsrate $\mu_{\max} \approx 0,1$ bis 7 d^{-1} und lange Generationszeiten (ca. 6 h bis 15 d). (Saake, 1986)

Die an den einzelnen Schritten des anaeroben Abbaus beteiligten Mikroorganismen haben oft spezielle Anforderungen an das Nährstoffangebot, die Prozesstemperatur, den pH-Wert usw. So liegt der optimale pH-Wert für die Hydrolyse und Acidogenese zwischen 5,2 und 6,3, für die Acetogenese und Methanogenese liegt das Optimum dagegen zwischen 6,7 und 7,5 (Weiland, 2001). Das Temperaturoptimum hydrolytischer und acidogener Mikroorganismen liegt bei 25 bis 35 °C. Methanbildende Mikroorganismen können im psychophilen, mesophilen und thermophilen Temperaturbereich auftreten, das Temperaturoptimum liegt dementsprechend bei 20 °C, zwischen 32 und 42 °C sowie 50 bis 58 °C (Weiland, 2001).

Idealerweise sollte eine praktische Anwendung des anaeroben Abbaus in voneinander getrennten Reaktionsräumen stattfinden, um die Bedingungen für die einzelnen Schritte unabhängig einstellen zu können. Im Folgenden werden allgemeine Einflussfaktoren und optimale Bedingungen für den anaeroben Abbau vorgestellt.

Optimale Milieubedingungen für den anaeroben Abbau

Wenn der anaerobe Abbau vollständig im selben Reaktionsraum stattfinden soll, ist ein Kompromiss hinsichtlich der optimalen Milieubedingungen der an den einzelnen Schritten beteiligten Mikroorganismen notwendig. Für den pH-Wert kann 7 als optimal angesehen werden (FNR, 2013). Bei der Temperatur orientiert man sich an den psychophilen, mesophilen und thermophilen Temperaturbereichen der methanogenen Mikroorganismen, siehe oben. Wichtig ist, die Temperatur konstant zu halten und sie bei Bedarf nur langsam und schrittweise zu erhöhen (FNR, 2013). Der Wassergehalt des Substrats ist ebenfalls von großer Bedeutung, bei volldurchmischten Systemen sollte der TS-Gehalt bei maximal 36 Massen-% liegen (Rivard, 1990).

Um eine optimale Versorgung mit Nährstoffen zu gewährleisten, sollte das C:N:P:S-Verhältnis im Substrat bei 600:15:5:3 liegen (VDI 1620, 2001). Dabei ist zu beachten, dass die Konzentration von Ammonium einen Höchstwert von $700 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$ bei nicht adaptierten methanogenen Mischpopulationen bzw. $3300 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$ bei methanogenen Reinkulturen nicht übersteigt (Grepmeier, 2002). Die Hemmkonzentration des mit der Ammoniumstickstoffkonzentration im Gleichgewicht stehenden und viel toxischer wirkenden undissoziierten Ammoniaks liegt bei $80 \text{ mg NH}_3 \text{ L}^{-1}$. Die Ammoniakkonzentration ist abhängig von der Prozesstemperatur und dem pH-Wert, mit einem Anstieg von Temperatur und pH-Wert steigt der Ammoniakanteil. Wenn sie bestimmte Konzentrationen im Reaktor überschreiten können auch Sauerstoff (ab $0,1 \text{ mg L}^{-1}$), Schwefelwasserstoff (ab 50 mg L^{-1}) flüchtige Fettsäuren (ab 2000 mg Essigsäureäquivalent L^{-1} , bei $\text{pH} = 7$) und Antibiotika (stoffspezifische Hemmkonzentration) stark hemmend wirken (Mumme, 2008).

Probleme bei der praktischen Anwendung

In einem volldurchmischten Fermenter sind die hydraulische Verweilzeit der Fermenterflüssigkeit und die Verweilzeiten der darin befindlichen suspendierten Stoffe und aktiven Biomasse miteinander gekoppelt. Die hydraulische Verweilzeit der Fermenterflüssigkeit beeinflusst wiederum die Leistung des Fermenters. Hohe Durchsätze an fermentierbarem Material führen zu einer Erhöhung der Leistung und einer Verkürzung der hydraulischen Verweilzeit der Fermenterflüssigkeit. Eine Verringerung der hydraulischen Verweilzeit unterhalb der Generationszeit der Mikroorganismen bewirkt aber auch einen Verlust mikrobieller Biomasse. Dieser Verlust kann zu einer Störung des

Fermentationsprozesses führen, bis hin zu seinem vollständigen Erliegen. Um eine hohe Leistung des Fermenters zu erzielen, ist es deshalb erforderlich, die Aufenthaltszeit der Mikroorganismen von der hydraulischen Verweilzeit zu entkoppeln. Dieses Ziel kann durch eine Biomasserückhaltung erreicht werden.

Die Definition der Phasentrennung soll hier im Zusammenhang mit der Biomasserückhaltung angeführt werden. Das wesentliche Ziel besteht darin, durch technische Maßnahmen die Aufenthaltszeit suspendierter Feststoffe, in Form von Biomasse, von der hydraulischen Durchflusszeit zu trennen. Dies geschieht durch die eine Trennung der Flüssig-, Fest- und Gasphase innerhalb oder außerhalb des Fermenters. (Saake, 1986)

1.4.1.2 Unterschiedliche Verfahren zur Produktion von Biogas

Verfahren zur Produktion von Biogas werden meist nach Art der Biomasserückhaltung untergliedert. Man unterscheidet grundsätzlich zwischen Verfahren ohne Rückhaltung der aktiven mikrobiellen Biomasse und Verfahren mit Rückhaltung der aktiven mikrobiellen Biomasse, siehe Abbildung 2.

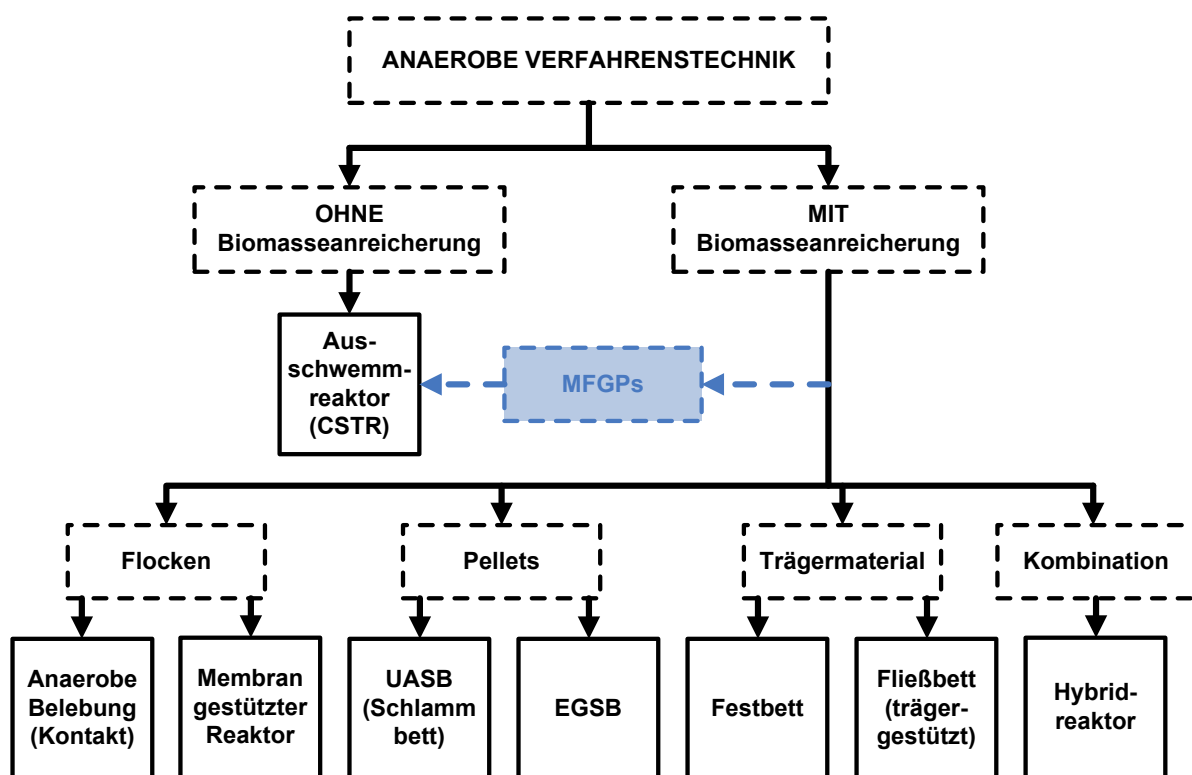


Abb. 2: Gliederung anaerober Verfahren zur Produktion von Biogas
(nach Bischofsberger, 2005)

Reaktoren ohne Anreicherung aktiver mikrobieller Biomasse werden als Ausschwemmreaktoren bezeichnet, dabei handelt es sich z.B. um volldurchmischte Rührkesselreaktoren (continuously stirred tank reactors = CSTRs).

Eine Leistungssteigerung der Fermentation durch Immobilisierung und Rückhaltung mikrobieller Biomasse ist bei kontinuierlich betriebenen Anlagen möglich. Die Verfahren zur Immobilisierung der aktiven mikrobiellen Biomasse unterteilt man meist anhand der Form in der die Biomasse im Fermenter vorliegt. Die mikrobielle Biomasse kann als flockige Biomassestruktur, pelletgebundene Biomasse und auf Trägermaterial anhaftende Biomasse auftreten. (Bischofsberger, 2005) Daraus ergeben sich unterschiedliche externe und interne technische Systeme zur Biomasserückhaltung.

Grundlegend für alle Verfahren zur Rückhaltung mikrobieller Biomasse ist die Fähigkeit von Mikroorganismen sich zu verbinden oder auf Materialien anzuhaften und diese zu besiedeln. Diese wird unter dem Begriff Immobilisierungsmechanismen zusammengefasst, siehe Abbildung 3. (Böhnke, 1993) Für die technische Nutzung zur Immobilisierung von Mikroorganismen werden die Prinzipien der Oberflächenimmobilisierung, der Immobilisierung in porösen Matrices, der Ausbildung mikrobieller Zellaggregate, der Einschlussimmobilisierung und der hydrodynamischen Zellrückhaltung verwendet. (Martienssen, 2001)

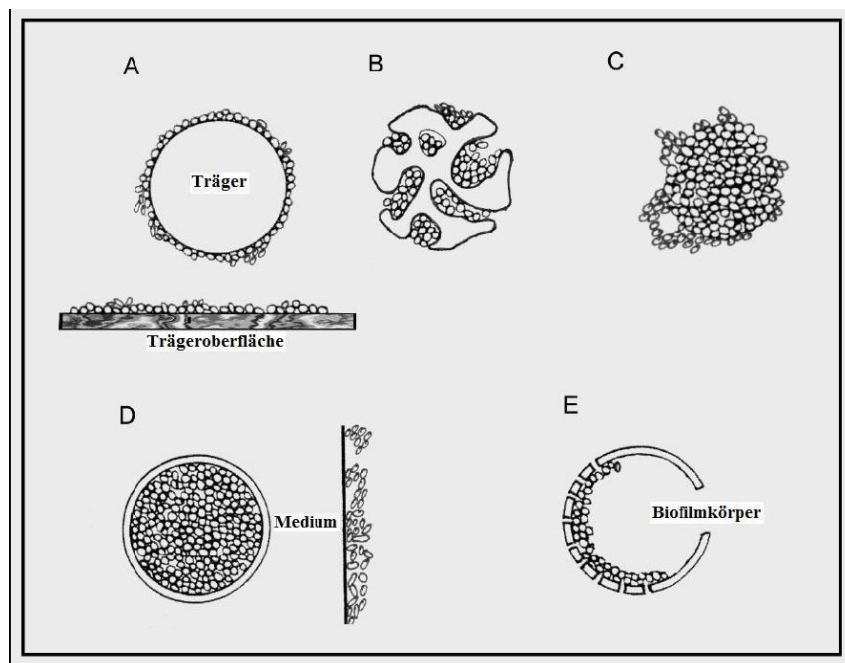


Abb. 3: Grundprinzipien der Immobilisierung von Mikroorganismen (Martienssen, 2001)
A: Oberflächenimmobilisierung B: Immobilisierung in porösen Matrices C: Mikrobielle Zellaggregate D: Einschlussimmobilisierung E: Hydrodynamische Zellrückhaltung

Bei der Oberflächenimmobilisierung wird der spontan ablaufende Prozess der Adsorption von Mikroorganismen an natürliche oder synthetische Oberflächen ausgenutzt. Der Nachteil der Oberflächenimmobilisierung besteht darin, dass die verwendeten Aufwuchskörper in ihrer Oberfläche stark begrenzt sind. Auch sind die Mikroorganismen an der Oberfläche mechanischen Belastungen direkt ausgesetzt.

Die Immobilisierung in porösen Matrices findet auf makroporösen Trägermaterialien wie Gläsern, Keramiken, Lava oder Kohlematerialien statt. In vielen Fällen ist damit eine Leistungssteigerung gegenüber der Oberflächenimmobilisierung möglich. Neben der deutlich größeren Oberfläche ermöglichen makroporöse Träger auch die Entwicklung von spezialisierten Mikrokonsortien, geschützt im Inneren der Makroporen. Jedoch ist durch die Abschirmung der Makroporen von der äußeren Oberfläche durch die zunehmende Besiedelung nur noch ein eingeschränkter Stoffaustausch mit der Umgebung möglich.

Eine weitere Form der Immobilisierung ist die Bildung mikrobieller Zellaggregate. Die Ausbildung von Flocken in Form der Anlagerung von Mikroorganismen aneinander folgt dabei im Wesentlichen den gleichen Mechanismen wie die Immobilisierung an inerten Oberflächen.

Die Einschlussimmobilisierung beruht auf der Einbettung von Mikroorganismen in eine Gelmatrix, Begrenzung eines Reaktionsraumes mittels permeabler Membranen oder durch Einbettung in stabilen Emulsionen. Die verwendeten Einbettungen können dabei einer gewissen Bioverfügbarkeit unterliegen oder widerstandsfähig gegenüber einem mikrobiellen Abbau sein. Verwendet wird die Einschlussimmobilisierung häufig dann, wenn besonders spezialisierte Mikroorganismen über längere Zeit in einem System gehalten werden sollen.

Die hydrodynamische Zellrückhaltung ist eine vergleichsweise selten angewandte Form der Immobilisierung, da die Trägergestaltung sehr aufwendig ist. Sie kommt vorrangig bei der Herstellung kostenintensiver mikrobieller Endprodukte zur Anwendung. Hohlkörperähnliche Mikropartikel mit unterschiedlich großen Öffnungen können je nach Größe sowohl von Mikroorganismen als auch vom Substrat passiert werden. (Martienssen, 2001)

Eine weitere Unterteilung von Verfahren zur Produktion von Biogas kann zwischen Prozessen mit überwiegend flüssigen Substraten und Prozessen mit überwiegend feststoffhaltigen Substraten erfolgen. Bei feststoffhaltigen Substraten ist die direkte Rückhaltung von Mikroorganismen nicht möglich, da sie nicht vom vergorenen Substrat abgeschieden werden können. Die Mikroorganismen werden mit dem vergorenen Substrat aus dem Fermenter ausgetragen. Eine Biomasserückhaltung kann in diesem Fall durch die

Abscheidung und Rückführung einer mikroorganismenreichen Fraktion aus dem vergorenen Substrat erreicht werden. (Kaltschmitt, 2009)

Technische Möglichkeiten der Biomasserückhaltung - Externe Systeme

Hierunter werden technische Einrichtungen außerhalb des Reaktors zusammengefasst, die der Phasentrennung dienen. Solche Einrichtungen bestehen aus einem Abscheider dem ein Verfahrensschritt zur Unterstützung der Phasentrennung vorgeschaltet sein kann, z.B. eine Flockung, eine Strippung oder eine Kühlung. Im Abscheider selbst kommt es zu einer Aufkonzentration von Feststoff, der anschließend dem Fermenter zugeführt wird. (Saake, 1986)

Prinzipiell lassen sich alle Verfahren zur Feststoff-Flüssig-Trennung im Abscheideverfahren einsetzen. Wichtig ist, bei der Aufkonzentration auf die Erhaltung der Pumpfähigkeit zu achten, die durch Scherkraftbeanspruchung oder Lufteinfluss stark beeinträchtigt werden kann. Technisch haben sich die Sedimentationsverfahren in vorwiegend horizontal oder vertikal durchströmten Absetzbecken durchgesetzt. Vereinzelt lassen sich auch Membranfiltrationsverfahren finden. (Saake, 1986)

Die Verfahren mit überwiegend flockiger Biomassestruktur unterteilen sich in den „Kontaktprozess“ und in „Membranprozesse“. Beim Kontaktprozess wird dem Fermenter eine zusätzliche Sedimentationsstufe zugeschaltet. In dieser Stufe erfolgt die Abtrennung der aktiven Biomasse mit anschließender Rückführung in den eigentlichen Fermenter. Durch dieses Verfahren erfolgt der Abbau der organischen Substanz im Fermenter ca. zwei- bis dreimal schneller als in einem herkömmlichen voll durchmischten Reaktor. (Kaltschmitt, 2009) Der Vorteil des Prozesses liegt in der geringen Störanfälligkeit, insbesondere besteht keine Gefahr von Verstopfungen. (Görner, 2002) Membranunterstützte Reaktoren bestehen im Wesentlichen aus einem vlldurchmischten Reaktor mit nachgeschalteter Membranfiltrationseinheit. Dieses Verfahren ist als „MARS-Verfahren“ bekannt. Das Permeat der Ultrafiltration stellt den gereinigten Ablauf dar, das Konzentrat wird in den Reaktor zurückgeführt und bewirkt damit eine Biomasseanreicherung. Der Nachteil dieses Verfahrens besteht neben den Kosten für die Membranen in der Abreinigung in einem sehr hohen Energiebedarf. Außerdem besteht eine erhöhte Belastung der anaeroben Mikroorganismen beim Filtrationsprozess. (Bischofsberger, 2005)

Technische Möglichkeiten der Biomasserückhaltung - Interne Systeme

Hierzu gehören alle technischen Anlagen bei denen der Rückhalt anaerober Biomasse bereits im Reaktorraum integriert ist. (Meyer, 2004) Reaktoren mit überwiegend auf

Trägermaterialien anhaftender Biomasse unterteilen sich in Festbettreaktoren und Fließbettreaktoren. (Bischofsberger, 2005)

In Festbettreaktoren, auch häufig als „Anaerobfilter“ (anaerobic filter AF) bezeichnet, befindet sich eine ortsfeste Schüttung inerten Trägermaterials, das einen Großteil des Fermentervolumens einnimmt. Die Ansiedelung der Mikroorganismen auf dem Trägermaterial hat eine Trennung der Aufenthaltszeit der Mikroorganismen im Fermenter von der hydraulischen Verweilzeit der Fermenterflüssigkeit zur Folge. Der Besiedelungsgrad hängt von der Oberfläche des Trägermaterials (Porengröße und Oberflächenstruktur) sowie der Scherkraftbeanspruchung durch den hydraulischen Fluss der Fermenterflüssigkeit und der Aufstiegsgeschwindigkeit gebildeter Gase ab. Als Trägermaterialien können z.B. Blähton, Lavaschlacke, Sintermaterial oder Kunststoffelemente verwendet werden. (Meyer, 2004) Dieser Reaktortyp ist für feststoffhaltige Substrate aufgrund der Gefahr einer Verstopfung des Trägermaterials ungeeignet. Sie werden meist nur zur Vergärung dünnflüssiger Substrate oder in mehrstufigen Reaktorsystemen in Kombination mit anderen Reaktortypen eingesetzt.

Bei einem „Fließbettreaktor“ (fluidised bed reactor FBR) befindet sich im Fermenterraum frei bewegliches Trägermaterial auf dem sich Mikroorganismen ansiedeln können, z.B. Sand, Bimssteingranulat, Sinterglas oder granuliert Aktivkohle. Dieser Reaktortyp zeichnet sich durch eine schlanke Bauform, die in Verbindung mit hohen Rezirkulationsraten und Aufstromgeschwindigkeiten für eine Bettexpansion sorgt, aus. Die Aufstromgeschwindigkeit richtet sich nach dem Trägermaterial und beträgt zwischen 5 bis 30 m h⁻¹. Für einen optimalen Expandierungsgrad sollte die Aufstromgeschwindigkeit so gewählt werden, dass das Trägermaterial in der Schwebe gehalten wird. Bei zu hohen Geschwindigkeiten kann es zu einem Ablösen des Biofilms oder zum Ausschwemmen des Trägermaterials kommen. Des Weiteren wird im deutschsprachigen Raum in Abhängigkeit von der Bettexpansion und Aufstromgeschwindigkeit zwischen Schwebebett- und Wirbelbettreaktoren differenziert. (Meyer, 2004) Fließbettreaktoren müssen zur Erzielung hoher Raumbelastungen mit einer möglichst konstanten Menge an feststofffreiem und ausreichend versäuertem Substrat beschickt werden. Aus diesem Grund werden diese Reaktoren großtechnisch zweistufig mit einer getrennten Versäuerungsstufe angewendet. (Bischofsberger, 2005)

Das Funktionsprinzip des „Schlammbedreaktors“ (upflow anaerobic sludge blanket UASB) basiert auf der Fähigkeit bestimmter anaerober Mikroorganismen Granules auszubilden. Bei den Schlammbedreaktoren wachsen die Bakterien entweder spontan in kleinen Granules oder auf Trägermaterialien auf. Wenn die Bakterien selbst zur Bildung von Granules neigen, spricht man von UASB-Reaktoren. (Kaltschmitt, 2009) Bei diesen Granules handelt es sich

um einige Millimeter große schwere feste Flocken, die sehr gute Absetzeigenschaften besitzen. Das (flüssige) Substrat wird von unten in den Fermenter eingespeist und sorgt zusammen mit dem gebildeten Gas für eine ausreichende Durchmischung im Fermenterraum. Im Kopf des Fermenters befindet sich eine Einrichtung zur Phasentrennung. Ihre spezielle Bauform sorgt für eine Beruhigung der flüssigen Phase und ermöglicht es aufgetriebenen Granules zurück in den Reaktorraum abzusinken. (Meyer, 2004)

Eine Weiterentwicklung des UASB-Reaktors durch Optimierung des Dreiphasenabscheiders sowie einem intensiveren Kontakt zwischen Substrat und aktiver Biomasse stellen „EGSB-Reaktoren“ (expanded granular sludge bed EGSB) dar. Erreicht wird dies durch schlankere und höhere Bauformen des Reaktors und eine Rezirkulation. Die erhöhte Raumbelastbarkeit resultiert daraus, dass auf das Gesamtvolumen bezogen mehr Biomasse im System vorhanden ist. Außerdem führen die Erhöhung der Aufstromgeschwindigkeit und die deutlich höhere Gasflächenbeschickung zu einer besseren Durchmischung und damit erhöhten Aktivität der Mikroorganismen. (Görner, 2002)

1.4.2 Biofilmbildung

Die Ausbildung eines Biofilms auf einer festen Oberfläche ist ein sehr komplexer Vorgang. Dieser Vorgang wird von vielen Faktoren beeinflusst. Die Einflussfaktoren gehen von den Eigenschaften der zu besiedelnden Oberfläche, der umgebenden flüssigen Phase und den beteiligten Mikroorganismen selbst aus. Oft gibt es gegenseitige Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Faktoren. Im Folgenden werden die Mechanismen der Biofilmbildung und wichtige Einflussfaktoren vorgestellt.

1.4.2.1 Ablauf der Ausbildung eines Biofilms auf Oberflächen

Biofilme bestehen aus Mikroorganismen, die an festen Oberflächen akkumuliert und immobilisiert sein können. Dabei sind sie in eine organische polymere Matrix mikrobieller Herkunft eingebettet. (Piyaprasit, 2005) Leben diese Mikroorganismen in biogenen Filmen, haben sie den Vorteil eines Schutzes vor hydraulischen Belastungen, pH-Schwankungen und osmotischem Stress. (Martienssen, 2001)

Der Aufbau eines Biofilms kann als Schalen- oder Schichtenmodell einzelner Biofilme mit verschiedenen Mikroorganismen angenommen werden, welches sich z.B. auf Vergärungsprozesse der Biogasgewinnung bezieht, siehe Abbildung 4. (Busch, 2006) In der der flüssigen Phase zugewandten Schicht siedeln sich nach diesem Modell hauptsächlich

acidogene, in der mittleren Schicht hauptsächlich acetogene Mikroorganismen an. Die innere Schicht beinhaltet die methanogenen Mikroorganismen. Ist dieser Biofilm ausreichend ausgebildet, besteht eine Schutzwirkung für die empfindlichen methanogenen Mikroorganismen gegenüber gering vom Toleranzbereich abweichende pH-Werte oder geringen Hemmstoffkonzentrationen. Durch den interzellulären Stoffaustausch ist für eine harmonische und verträgliche Zuführung von Essigsäure sowie Wasserstoff und Kohlendioxid für die methanogenen Mikroorganismen gesorgt. Die Abführung der Stoffwechselprodukte erfolgt ebenfalls interzellulär. (Busch, 2006) (Bischofsberger, 2005)

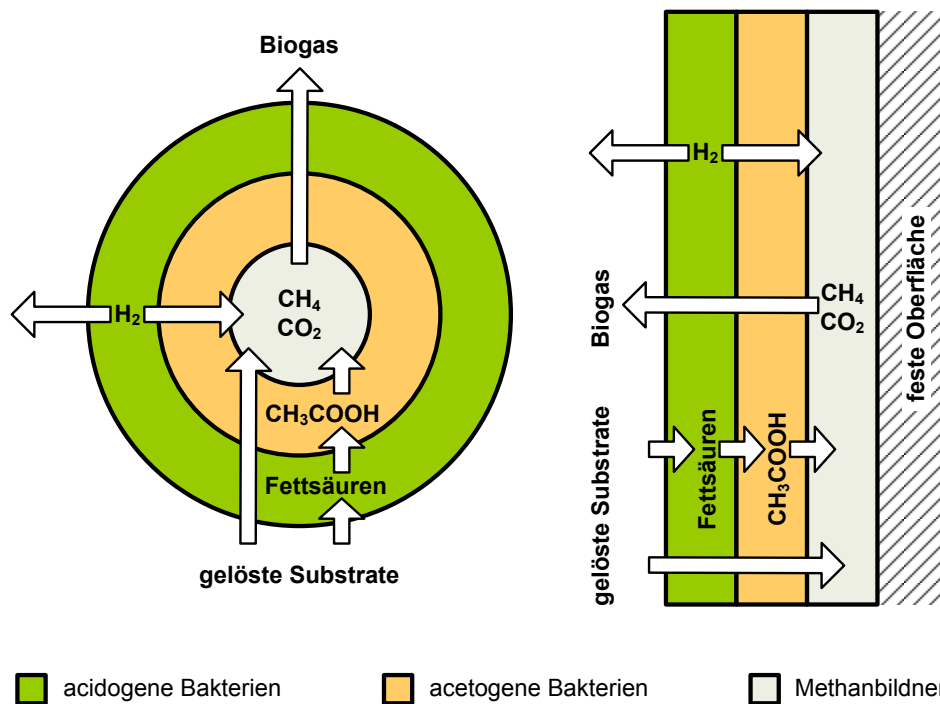


Abb. 4: Schalenmodell (Flocken oder Granules, links) und Schichtenmodell (z.B. auf Füllkörpern, rechts) gebildeter Biofilme (nach Busch, 2006)

Die komplexe Bildung von Biofilmen kann mit einem Vier-Phasen-Modell nach van Loosdrecht et al. beschrieben werden, siehe Abbildung 5 (Martienssen, 2001).

In der ersten Phase (transport) erfolgt der Transport der Mikroorganismen zur Oberfläche z.B. infolge der Brownschen Molekularbewegung durch Diffusion oder durch den wesentlich schnelleren konvektiven Transport infolge von Strömungen der flüssigen Phase. Die zweite Phase (initial adhesion) ist die initiale Adhäsion. Die initiale Anlagerung von Mikroorganismen ist ein wichtiger Schritt für die Ausbildung des Biofilms. (Sheng, 2008) Dem folgt in der dritten Phase (attachment) eine irreversible Anheftung von Mikroorganismenzellen an der Trägersoberfläche. Die anschließende Koloniebildung durch diese Mikroorganismen in der vierten Phase (colonization) macht den Biofilm aus. (Martienssen, 2001)

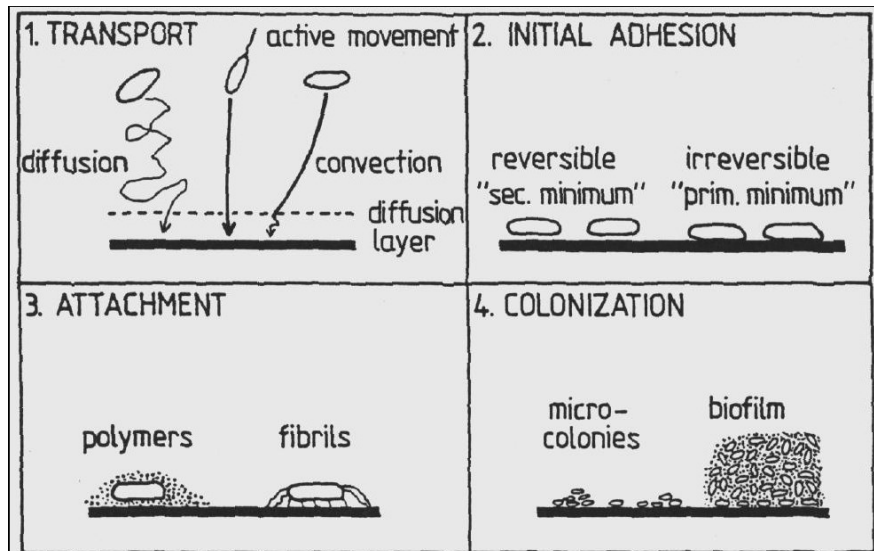


Abb. 5: Biofilmbildung nach van Loosdrecht et al. (Martienssen, 2001)

Für die Biofilmbildung ist eine Reihe von Faktoren entscheidend. Starken Einfluss üben die Eigenschaften der zu besiedelnden Oberfläche, die Milieubedingungen in der umgebenden flüssigen Phase und die Charakteristik der beteiligten Mikroorganismen.

1.4.2.2 Einfluss der zu besiedelnden Oberfläche auf die Biofilmbildung

Die physikalischen und chemischen Eigenschaften einer Oberfläche sind von entscheidender Bedeutung für die Bildung von Biofilmen und deren Zusammensetzung (Jian, 1992) (Picano, 2001) (Habouzit, 2011).

Hydrophobie der besiedelten Oberfläche

Die Beobachtungen zum Einfluss der Hydrophobie bzw. der Benetzbarkeit (dargestellt als Kontaktwinkel zwischen Flüssigkeit und Feststoff, ein Anstieg des Kontaktwinkels ist gleichbedeutend mit einer Abnahme der Benetzbarkeit) auf die Adhäsion von Mikroorganismen an Oberflächen sind nicht eindeutig. Bei Glas und verschiedenen keramischen Materialien (Wasser-Kontaktwinkel $44,1^\circ$ bis $86,6^\circ$) wurde kein signifikanter Einfluss festgestellt (Hauser-Gerspach, 2008). Bei hydrophilen Glasoberflächen (Wasser-Kontaktwinkel $9^\circ \pm 2^\circ$ bis $22^\circ \pm 3^\circ$) und durch einen Metalloxid-Film hydrophobierten Glasoberflächen (Wasser-Kontaktwinkel $52^\circ \pm 4^\circ$ bis $68^\circ \pm 5^\circ$) konnte ein signifikanter Anstieg der Adhäsion mit dem Anstieg der Hydrophobie der Oberfläche festgestellt werden (Li, 2004). Zhao et al. (Zhao, 2007) stellten bei verschiedenen hydrophoben Oberflächen mit Wasser-Kontaktwinkeln von $42,0^\circ$ bis $116,8^\circ$ (Edelstahl, Titan und Polyurethan sowie Ag-PTFE, Ni-Cu-P-PTFE, Ni-Cu-P und Silber basierende Überzüge) fast ausnahmslos eine Abnahme der Adhäsion mit zunehmender Hydrophobie der Oberfläche fest.

Diese Ergebnisse lassen die Vermutung zu, dass die höchste Adhäsion von Mikroorganismen bei einem bestimmten Bereich der Hydrophobie der Oberfläche auftritt. Dieser Bereich könnte bei Wasser-Kontaktwinkeln zwischen 50° und 100° liegen. Die Eigenschaften der ansiedelnden Mikroorganismen stellen dabei einen zusätzlichen Einflussfaktor da, siehe Abschnitt 1.4.2.4.

Oberflächenladung (Zeta-Potential)

Sheng et al. (Sheng, 2007) konnten feststellen, dass die Oberflächenladung einen großen Einfluss auf die Adhäsionskräfte ausübt, da durch sie die elektrostatischen Wechselwirkungen gesteuert werden. Li und Logan (Li, 2004) stellten dagegen keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Adhäsion von Bakterien und der Ladung der Oberfläche fest. Die Ladung der untersuchten Oberflächen lag in einem Bereich von $-9,3 \pm 0,4$ mV bis $-56,3 \pm 0,6$ mV (Glas) bzw. $-26,7 \pm 0,6$ mV bis $-50,2 \pm 0,9$ mV (Metalloxid-Filme). Jefábková et al. (Jefábková, 1999) konnten bei Versuchen zur Adsorption auf porösen Glaskugeln (3x3x3 mm, Porendurchmesser 16 bis 40 μm) eine Förderung der Adsorption von Bakterien um 76 % durch den Überzug der Glaskugeln mit Silan feststellen. Jefábková et al. führen diesen Effekt auf eine verstärkte Anziehung der negativ geladenen Bakterienzellen durch die positiv geladenen Silangruppen zurück.

Demnach sollte sich vor allem eine positive Oberflächenladung auf die Adhäsion von negativ geladenen Mikroorganismen auswirken. Archaeen und die meisten Bakterien weisen negative Oberflächenladungen auf (Munk, 2008) (Gottenbos, 2001).

Rauheit der besiedelten Oberfläche

Die vermehrte Adhäsion von Mikroorganismen bei einem Anstieg der Rauheit der Oberfläche von 15 auf 38 nm (Silikatperlen) wurde von Shellenberger und Logan (Shellenberger, 2002) beobachtet. Elektrostatische Abstoßung und van-der-Waals-Kräfte sind bei rauen Oberflächen durch eine Verminderung der Oberflächenenergie deutlich geringer als bei vergleichbaren glatten Oberflächen (Holm, 1992). Anaerobfilter, die Füllkörper mit einer hohen Porosität enthalten, zeigten eine höhere Effizienz als Reaktoren, die mit Füllkörper ohne Poren gefüllt sind (Ince, 1999). Li und Logan (Li, 2004) konnten bei der Untersuchung unbehandelter und mit Metalloxid-Filmen überzogener Glasoberflächen (Borsilikat-Glas) mit einer Rauheit im Bereich von $4,1 \pm 0,7$ bis $17,4 \pm 1,8$ nm keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Rauheit und der Adsorption feststellen. Die Adhäsion war aber immer höher bei den Oberflächen, die eine größere Rauheit als die Glasoberflächen ($6,2 \pm 0,6$ nm) aufwiesen, außerdem war die Adhäsion an den beiden glattesten Oberflächen nahezu identisch.

Diese Ergebnisse lassen die Vermutung zu, dass eine verstärkte Adhäsion von Mikroorganismen erst ab einer bestimmten Rauheit bzw. Porengröße einer Oberfläche auftritt. Denkbar wäre, dass eine Adsorption von Mikroorganismen durch das Vorhandensein von Poren, in die Mikroorganismen eindringen können, gefördert wird. Die durchschnittliche Größe von Mikroorganismen liegt bei 0,5 bis 1 µm bzw. ca. 1 µm für Bakterien und Archaeen (Souidi, 2008), die Porengröße sollte demnach über diesem Wert liegen.

Struktur der besiedelten Oberfläche und Form der Aufwuchsträger

Picanco et al. (Picanco, 2001) stellten einen direkten Zusammenhang zwischen der Abbauleistung von künstlichem Abwasser in Festbettreaktoren und der Struktur des zur Immobilisierung von Mikroorganismen eingesetzten Trägermaterials fest. Partikel aus Polyurethanschaum und Keramik wiesen ein höheres Potential zum Rückhalt anaerober Biomasse auf, als PVC und Schamottstein. Dieser Zusammenhang wird auf eine größere spezifische Oberfläche, die direkt von der Porosität des Trägermaterials abhängt, zurückgeführt. Die Diversität der Mikroorganismenpopulation wurde ebenfalls vom Trägermaterial beeinflusst. So konnten auf dem Schamottstein und der Keramik vor allem *Methanosaeta* und auf dem PVC und den Polyurethanschaumpartikeln *Methanosarcina*-artige Mikroorganismen nachgewiesen werden. Yang et al. (Yang, 2004) stellten fest, dass die Bakteriengemeinschaft, die sich auf Trägermaterial in Fließbettreaktoren ansiedelt, von der Struktur des Trägermaterials abhängt. Trägermaterialien mit poröser schwammartiger Struktur (Polyurethanschaum und Loofah-Schwamm) wiesen höhere Diversitäten auf, als Trägermaterialien mit faseriger Struktur (Kohlenstofffilz und Steinwolle), die Porosität (über 90 %) und das Arbeitsvolumen (über 20 Volumen-%) der Trägermaterialien waren vergleichbar. Die Leistung der Reaktoren konnte durch die porösen Materialien besser gesteigert werden als durch die faserigen.

Die Adhäsion von Mikroorganismen, die eine wichtige Rolle bei der Ausbildung stabiler Biofilme auf Oberflächen einnimmt (Martienssen, 2001), kann demnach durch die Eigenschaften der Oberfläche nicht nur hinsichtlich der Anzahl unselektiv angelagerter Mikroorganismen beeinflusst werden, vielmehr ist auch eine Steuerung der Adhäsion hinsichtlich der Art der Mikroorganismen möglich.

Verfügbarkeit von Nähr- und Schadstoffen an der besiedelten Oberfläche

Bei Jeřábková et al. (Jeřábková, 1999) führte eine starke Anlagerung der als Nährstoff eingesetzten waschaktiven Substanz Natriumdodecylsulphate an der Oberfläche zu einer deutlich schnelleren Zunahme der Zellproteinkonzentration auf den Aufwuchsträgern. Von Rege und Sand (von Rege, 1996) konnten einen negativen Einfluss verfügbarer toxischer Stoffe auf die Biofilmbildung feststellen. Auf legiertem Stahl wurde deutlich mehr EPS als auf

unlegiertem Stahl gebildet. Möglicherweise ist das auf eine (toxische) Wirkung von Chrom- und Nickel-Ionen zurückzuführen, die aus dem Stahl freigesetzt werden. Die metallbindenden Eigenschaften der EPS können zu einer Detoxifizierung durch Bindung dieser Metall-Ionen genutzt werden. Der Biofilm bestand auf unlegiertem Stahl fast vollständig aus Korrosionsprodukten, der auf legiertem Stahl setzte sich dagegen fast vollständig aus EPS und Zellen zusammen. Sheng et al. (Sheng, 2008) zeigten, dass die Adhäsionskraft zwischen Bakterien und einer Metalloberfläche (Edelstahl 316) durch die Anwesenheit von Nährstoffen im umgebenden Medium (künstliches Meerwasser) reduziert wird. Auf der Oberfläche hatte sich ein dünner organischer Film ausgebildet, der zu einer Verminderung der Benetzbarkeit der Metalloberfläche führte. Messungen ergaben, dass die zugesetzten Nährstoffe keine signifikanten Veränderungen des Zeta-Potentials der Bakterien- und der Edelstahloberfläche hervorriefen. Die Benetzbarkeit der Edelstahloberfläche wurde dagegen deutlich verändert (die Kontaktwinkel betrugen $60^\circ \pm 2^\circ$ bei Anwesenheit von Nährstoffen und $85^\circ \pm 3^\circ$ in reinem künstlichen Meerwasser). Die Abnahme der Hydrophobie der Metalloberfläche führte zu einer Schwächung der bakteriellen Adhäsion. Im Zusammenhang mit der Adhäsion an einer Oberfläche muss auch betrachtet werden, dass Mikroorganismen komplexe Oberflächenstrukturen besitzen können. Ein konditionierender Film auf einer Oberfläche kann zu sterischen Behinderungen der Adhäsion von Bakterien führen. (de Kerchove, 2007)

Die Anlagerung von Nährstoffen hat demnach eher einen negativen Effekt auf die Adhäsion von Mikroorganismen, da die Eigenschaften der Oberfläche nachteilig verändert werden, siehe auch Abschnitt 1.4.2.5.

1.4.2.3 Einfluss der Eigenschaften der flüssigen Phase auf die Biofilmbildung

Ionenstärke der umgebenden Flüssigkeit

Bei der Beurteilung des Einflusses der Ionenstärke muss berücksichtigt werden, dass eine Abnahme der Ionenstärke neben der Abnahme der Oberflächenladung eine Veränderung der Länge und eine Anpassung von Polymeren an der Oberfläche von Bakterien bewirkt. (Ong, 1999). Nach Li und Logan (Li, 2004) führt eine Erhöhung der Ionenstärke von 1 mM auf 100 mM bei allen untersuchten Oberflächen (Glasoberfläche und mit einem Metalloxidfilm überzogene Glasoberflächen) ungefähr zu einer Verdopplung der Adhäsion. Die durch die Ionenstärke hervorgerufene Veränderung der Adhäsion war allerdings viel geringer als der Einfluss der Oberflächeneigenschaften, die zu einer Veränderung der Adhäsion um einen Faktor bis zu 9,8 führten. Sheng et al. (Sheng, 2008) konnten feststellen, dass die Adhäsionskräfte zwischen Bakterien und einer Edelstahloberfläche in einer Lösung mit schwacher Ionenstärke (deionisiertes Wasser) geringer sind als in einer Lösung mit

hoher Ionenstärke (künstliches Meerwasser). Eine Erhöhung der Ionenstärke führte allgemein zu einer Erhöhung der Oberflächenladung und damit zu einer höheren Adhäsionskraft zwischen Bakterienzellen und Edelstahloberfläche. Die Adhäsion variierte mit der Ionenstärke um einen Faktor in Höhe von 2,1. Der Anstieg der Adhäsion mit steigender Ionenstärke wurde in einer Reihe weiterer Untersuchungen bestätigt (Camesano, 1998), (Gross, 1995), (Jewett, 1995).

Demnach wirkt sich eine Erhöhung der Ionenstärke der umgebenden Flüssigkeit positiv auf die Adsorption von Mikroorganismen an einer Oberfläche aus.

Substratangebot

Das Bakterienwachstum wird in Umgebungen mit Nährstoffüberschuss gehindert (Fletcher, 1996), (Marshall, 1996). Eine nährstoffarme flüssige Phase führt zu einer verstärkten Adhäsion an der festen Oberfläche, die eine stärkere Adsorption organischer Spurenelemente aufweist. Einige Bakterienarten weisen unter oligotrophen Bedingungen eine höhere Affinität für mineralische Oberflächen auf als unter eutrophen Bedingungen. (Lower, 2001), (Fletcher, 1996), (Marshall, 1996) Auch die Produktion extrazellulärer Polysaccharide (EPS), die zu hydrophoben Wechselwirkungen führen und die Anlagerung an der festen Oberfläche fördern, wird durch die Bakterien in nährstoffarmen Umgebungen erhöht (Bengtsson, 1991). Die Ausbildung komplexer Biofilme ist innerhalb eines breiten Spektrums der Konzentration an verfügbarem Kohlenstoff von $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (gering) bis 100g L^{-1} (hoch) möglich, dabei wird vor allem die Struktur des Biofilms von der Kohlenstoffkonzentration beeinflusst (Evans, 2005).

Demnach wird die Adsorption von Mikroorganismen an Oberflächen und die Biofilmbildung durch nährstoffarme Umgebungen gefördert.

pH-Wert

Sheng et al. (Sheng, 2008) konnten feststellen, dass der pH-Wert der flüssigen Phase die Wechselwirkung zwischen den Bakterienzellen und der Metalloberfläche stark beeinflusst. Die Adhäsionskraft erreichte den höchsten Wert, wenn der pH-Wert der flüssigen Phase nahe dem isoelektrischen Punkt der Bakterien lag. Bei einem pH-Wert von 3 zeigten die untersuchten Organismen (isoelektrischer Punkt 2,1; 3,5 bzw. 3,7) die höchste Adhäsionskraft. Bei einer Erhöhung des pH-Wertes nahmen die Adhäsionskräfte ab, die niedrigsten Adhäsionskräfte konnten beim pH-Wert 7 beobachtet werden. Bei einem pH-Wert in Höhe von 9 nahmen die Adhäsionskräfte wieder zu. Dieser Zusammenhang wird damit erklärt, dass die Konzentrationen negativ geladener COO-Gruppen der Zellen und positiv geladener Eisenoxiden an der Edelstahloberfläche bei höheren pH-Werten viel höher

sind. Die Variation des pH-Wertes führte zu einer maximalen Variation der Adhäsionskräfte um einen Faktor in Höhe von 4,8. Das Auftreten der höchsten Adhäsionskraft am isoelektrischen Punkt wurde auch von Ahimou et al. (Ahimou, 2002), Bowen et al. (Bowen, 2000) und Camesano und Logan (Camesano, 2000) beobachtet. Die Veränderung der Adhäsionskräfte in Abhängigkeit vom pH-Wert wird dort auf den Ionisierungszustand der an den Bakterienoberflächen befindlichen funktionellen Gruppen (wie Carboxyl- und Aminogruppen) zurückgeführt.

Der pH-Wert der flüssigen Phase ist demnach ebenfalls ein wichtiger Einflussfaktor auf die Adsorption von Mikroorganismenzellen an Oberflächen.

1.4.2.4 Einfluss der Eigenschaften der Mikroorganismen auf die Biofilmbildung

Biologische Eigenschaften

Nach Li und Logan (Li, 2004) sind vor allem die Länge der an den äußeren Hüllen der Mikroorganismen befindlichen Lipopolysaccharide (LPS) und die durch die Mikroorganismen produzierte Menge an extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) wichtige Einflussfaktoren auf das Adhäsionsverhalten der Mikroorganismen. Der maximale Faktor zwischen geringster und höchster Adhäsion betrug 34,3. Die Adhäsionszahlen des höchsten EPS-Produzenten und des Organismus mit der höchsten LPS-Länge sind ähnlich, die Organismen mit der höchsten EPS-Produktion wiesen die höchsten Adhäsionszahlen aller Mikroorganismenstämme auf. Lipopolysaccharide auf den Oberflächen gram-negativer Bakterien enthalten Bindestellen, die eine hohe Affinität für bivalente Kationen aufweisen (Simoni, 2000).

Die spezifische Struktur der Zelloberfläche von Mikroorganismen beeinflusst die Ausbildung von Biofilmen. Die Oberflächeneigenschaften der Organismen sind jedoch keine feste Größe, sondern variieren je nach Ernährungszustand, Wachstumsphase oder Wachstumsbedingungen durch das umgebende Medium. (Martienssen, 2001)

Elektrochemische Eigenschaften

Van Loosdrecht et al. (van Loosdrecht, 1990) konnten bei der Untersuchung der Adhäsion unterschiedlicher Bakterienstämme auf hydrophilen (Glas) und hydrophoben (sulfatierte Polystyren-Scheiben) Oberflächen feststellen, dass der Prozentsatz der an einer Oberfläche angelagerten Bakterien von der Hydrophobie der Bakterien, in Form des Wasser-Kontaktwinkels, und der Ladung der Bakterien, d.h. ihrem Zeta-Potential, abhängt. Wenn sich zwei Oberflächen stark in ihren Wasser-Kontaktwinkeln unterscheiden, kann eine Adhäsion von Bakterien anhand der Wasser-Kontaktwinkel der Bakterien beschrieben werden. Die Adhäsion von Bakterien steigt mit dem Wasser-Kontaktwinkel, also der

Hydrophobie, der Bakterien und sinkt wenn das Zeta-Potential der Bakterien steigt. Die gegenläufige Abhängigkeit zwischen der Adhäsion und dem Zeta-Potential der Bakterien wurde von Li und Logan (Li, 2004) bestätigt.

Um allgemeine Voraussagen für Unterschiede in der Adhäsion von verschiedenen Mikroorganismen an einer bestimmten Oberfläche zu treffen, genügt es zwei Eigenschaften der Oberfläche der Mikroorganismen zu kennen, den Wasser-Kontaktwinkel oder die Oberflächenenergie und das Zeta-Potential (Li, 2004).

1.4.2.5 Effekt der Maskierung der Oberfläche

Die Adsorption organischer Stoffe an Metalloxiden (Eisen- und Aluminiumhydroxide) kann zu einer Reduzierung der Adhäsion von Mikroorganismen führen, da positive Ladungen maskiert werden (Li, 2004). Bei Sheng et al. (Sheng, 2008) wurde die Adhäsion durch einen Film, der sich in einem nährstoffreichen Medium ausbildete, um einen Faktor in Höhe von bis zu 2,9 gesenkt. Dass es oft zu einer Veränderung der Grenzflächeneigenschaften einer Oberfläche aufgrund der Adsorption organischer Stoffe kommt, wenn diese einem nährstoffreichen flüssigen Medium ausgesetzt wird, wurde auch von anderen bestätigt (Fletcher, 1996), (Marshall, 1996).

Demnach ist es möglich, dass eine Maskierung der Oberfläche durch organische Stoffe, die sich in der flüssigen Phase befinden, auftritt. Diese Maskierung kann zu einer Veränderung bzw. einer Abschirmung der Eigenschaften der zu besiedelnden Oberfläche führen. Die Auswahl einer bestimmten Oberfläche für die Ausbildung eines Biofilms kann unter bestimmten Bedingungen, z.B. einem hohen Organikgehalt in der flüssigen Phase, erfolglos sein.

1.4.2.6 Geeignete Trägermaterialien für Biofilme

Hinsichtlich der Ausbildung von Biofilmen wurde bis heute eine Vielzahl unterschiedlicher Materialien untersucht. Als gut geeignet können die Oberflächen von (porösem) Glas (Krauß, 2006), (Li, 2004), (Movassagh, 2010), Keramik (Silva, 2006), (Yue, 2009), Metalloxiden und Edelstahl (Li, 2004), (Sheng, 2008), (Zhao, 2007), (Picanco, 2001), magnetischem Magnetit (Hellman, 2010), Kunststoff (Muñoz, 1997), (Silva, 2006), (Yang, 2004) sowie natürlichen Materialien wie z.B. Loofah-Schwamm (Yang, 2004) oder Stroh (Andersson, 2002) angesehen werden.

1.4.3 Magnetismus

1.4.3.1 Grundlagen der Magnetseparation

Separationssysteme, die auf der Nutzung magnetischer Kräfte basieren, werden unter anderem in der Lebensmittelindustrie, z.B. zur Abtrennung metallischer Störstoffe, und bei der Bioproduktaufbereitung, z.B. um Proteine zu gewinnen, angewendet. Magnetisierbare Aufwuchsträger kommen bereits seit längerer Zeit erfolgreich in der Medizin, z.B. in der Krebsforschung zur Immobilisierung krankhafter Zellen (Zhou, 2007) oder als Träger medizinischer Wirkstoffe (Chen, 1983), (Wang, 2007) zum Einsatz. Die Abtrennung von Mikroorganismen aus Flüssigkeiten (Diler, 2011) oder die Kultivierung bestimmter Mikroorganismen (Aurich, 1998) ist mit Hilfe magnetisierbarer Aufwuchsträger ebenfalls möglich.

Auch im Bereich der Anaerobtechnik sind magnetisierbare Aufwuchsträger verbreitet. Die Eignung magnetischer Trägermaterialien in der Abwasserbehandlung wurde bereits mehrfach untersucht. Allerdings muss unterschieden werden, ob es sich um Träger für Mikroorganismen oder Träger für Schadstoffe im Abwasser handelt. An Trägermaterial adsorbierte Stoffe können mit Hilfe magnetischer Kräfte einfach aus dem Abwasser abgetrennt werden (Sun, 2010), (Karapinar, 2003), (Hamid, 2006). Eine Steigerung der Abbauleistung organischer Bestandteile in Abwasser ist durch den Einsatz magnetischer Aufwuchsträger erreichbar (Zhou, 2010). Auf dem Gebiet der Biogaserzeugung gab es bis jetzt dagegen nur sehr wenig Forschungsarbeit zur Einsatzmöglichkeit magnetisierbarer Aufwuchsträger, siehe Abschnitt 1.4.3.2.

Physikalische Grundlagen

Die grundlegenden Prinzipien der Magnetseparation lassen sich auf die Immobilisierung und Rückhaltung mikrobieller Biomasse auf magnetischen Aufwuchsträgern übertragen.

Magnetseparation beruht auf der Eigenschaft magnetischer Felder, auf Materie eine Magnetkraft F_m auszuüben. Für ein Partikel gilt:

$$F_m = \mu_0 \cdot V_P \cdot M_P \cdot \nabla H$$

F_m Magnetkraft (N)

μ_0 Permeabilitätskonstante des Vakuums, $\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7} \text{ (Vs A}^{-1} \text{ m}^{-1}\text{)}$

V_P	Partikelvolumen (m^3)
M_P	Magnetisierung des Partikels ($A\ m^2\ kg^{-1}$) bzw. ($A\ m^{-1}$)
∇	Nabla-Operator bzw. Gradient
H	Magnetische Feldstärke ($A\ m^{-1}$)

Die Partikelmagnetisierung M_P kann über die magnetische Volumenssuszeptibilität χ ausgedrückt werden:

$$M_P = \chi \cdot H$$

M_P	Magnetisierung des Partikels ($A\ m^2\ kg^{-1}$) bzw. ($A\ m^{-1}$)
χ	Volumenssuszeptibilität ($m^3\ kg^{-1}$) oder ($mS\ cm^{-1}$)
H	Magnetische Feldstärke ($A\ m^2\ kg^{-1}$) bzw. ($A\ m^{-1}$)

Die magnetische Volumenssuszeptibilität χ stellt für dia- und paramagnetische Substanzen, siehe unten, im interessierenden Feldbereich eine Konstante dar. Bei ferri- und ferromagnetischen Stoffen ist sie nicht konstant, in diesem Fall ist die magnetische Volumenssuszeptibilität von der Partikelform und Partikelgröße sowie der Feldstärke abhängig. Da jedoch in der Regel Art und Größe der abzutrennenden Partikel vorgegeben sind, bilden die vorherrschende Feldstärke und deren Gradient die eigentlichen Einflussgrößen auf die vom Separator erzielbare Magnetkraft. (Franzreb, 2003)

Von wesentlicher Bedeutung für die magnetische Rückgewinnung sind Fanghöhe und Transportgeschwindigkeit der Aufwuchsträger. Jedes nicht magnetisierbare Medium stellt einen guten magnetischen Isolator dar. Es ist deshalb erforderlich, den Abstand zwischen den abzuscheidenden Aufwuchsträgern und dem Magneten möglichst gering zu halten. Schon bei geringen Abständen nehmen die Haftkraft und damit die effektive Fangfeldtiefe der Aufwuchsträger stark ab. Eng mit der Fanghöhe verknüpft ist die Transportgeschwindigkeit. Je höher die Transportgeschwindigkeit des zu reinigenden Fluids ist, desto höher muss die Leistung des Separationssystems ausgelegt sein. Weiterhin müssen Reibungswiderstände überwunden werden. Um eine ausreichende Leistung zu realisieren, wird entweder die Magnetkraft pro Raumeinheit oder die effektive Wirkstrecke des Magneten in Form der Fangstrecke für das Separationsgut erhöht. (www.genoma.de, 2009)

Magnetische Werkstoffe

Diamagnetische, paramagnetische sowie ferro- und ferrimagnetische Materialien gehören zu den drei wichtigsten magnetischen Stoffgruppen. Der Unterschied aller drei Gruppen spiegelt sich in stark unterschiedlichen Größenordnungen der Suszeptibilität und Magnetisierung wider. In Tabelle 1 werden aus allen drei Stoffgruppen Beispiele für Suszeptibilitätswerte angeführt, um die oben erwähnte Besonderheit zu veranschaulichen. Durch die Abhängigkeit der Suszeptibilität von der magnetischen Feldstärke H im Falle der ferro- und ferrimagnetischen Stoffe werden die Maximalwerte bei einer magnetischen Sättigung des Stoffes in Höhe von $J_s = 1 \text{ Tesla}$ angeführt. (Hoffmann, 2003) Bei der Auswahl eines geeigneten Trägermaterials ist die Suszeptibilität von großer Bedeutung, wenn eine einfache magnetische Separation möglich sein soll.

Tab. 1: Beispiele für Werte der magnetischen Massensuszeptibilität verschiedener Stoffgruppen (Hoffmann, 2003)

Diamagnetische Stoffe			
	Cu	NaCl	H ₂ O
$\chi_v \cdot 10^6$	-9,61	-14,1	-9,03
Paramagnetische Stoffe			
	Al	Pt	Dy
$\chi_v \cdot 10^6$	20,7	279	64860
Ferro- und ferrimagnetische Stoffe			
	Eisen (99,91 %)	Eisen (99,95 %)	Magnetit
χ_v (1 Tesla)	2,15	2,15	0,61

Systeme auf Basis von Permanentmagneten werden mit sogenannten dauermagnetischen Kernen ausgestattet. Diese Dauermagnete können in AlNiCo-, Hartferrit- und Selten-Erden-Magnete unterteilt werden. (Franzreb, 2003) In Tabelle 2 sind die Eigenschaften einiger Magnetwerkstoffe dargestellt.

AlNiCo-Magnete sind die ältesten verwendeten Magnetwerkstoffe. Ihre Magnetkraft ist im Vergleich zu den anderen verwendeten Materialien relativ schwach. Ihren Einsatz finden sie aber weiterhin aufgrund des größeren Temperatureinsatzbereiches.

Hartferrite bestehen aus ca. 80 % Eisenoxid und 20 % Barium- oder Strontiumferrit. Sie sind die weltweit noch immer am häufigsten eingesetzten Magnetmaterialien, da sie aufgrund der großen Verfügbarkeit der zugrundeliegenden Rohstoffe sehr kostengünstig sind. Sofern keine erhöhten Anforderungen an das Magnetmaterial gestellt werden, kommen Hartferrite zum Einsatz. Hartferrite sind als keramische Werkstoffe spröde und schlagempfindlich, dafür allerdings unempfindlich gegenüber Oxidation und Witterungseinflüssen. (Franzreb, 2003)

Selten-Erden-Magnete werden aus Legierungen von Samarium und Kobalt oder von Neodym, Eisen und Bor hergestellt. Gegenüber anderen verwendeten Magnetwerkstoffen weisen sie ein deutlich höheres Energieprodukt auf. Dadurch sind wesentlich kleinere technische Lösungen bei gleicher Magnetleistung oder bei gegebenem Volumen deutlich höhere Magnetkräfte realisierbar. (www.genoma.de, 2009)

Tab. 2: Eigenschaften eingesetzter Dauermagnetwerkstoffe (Franzreb, 2003)

Magnetwerkstoff	Energieprodukt (kJ m ⁻³)	Remanenz (mT)	Koerzitivfeldstärke (kA m ⁻¹)	max. Einsatztemp. (°C)
Bariumferrit	25,5	365	175	≈ 200
AlNiCo	30 - 40	900 - 1200	50 - 130	450
SmCo	180	950	1200 - 2000	250
NdFeB	300	1100 - 1300	800 - 1100	100

1.4.3.2 Biomasserückhaltung mit Hilfe magnetischer Kräfte

Ein neuer Ansatz in der Biomasserückhaltung stellt die Rückhaltung mit Hilfe magnetischer Kräfte dar. Eine magnetische Biomasserückhaltung kann nach dem Prinzip der Oberflächenimmobilisierung, der Immobilisierung in porösen Matrices und dem Prinzip der Bildung mikrobieller Zellaggregate, siehe Abschnitt 1.4.1.2, erfolgen. Bei der Oberflächenimmobilisierung und der Immobilisierung in porösen Matrices wird die Ausbildung eines Biofilms auf magnetisierbaren Aufwuchsträgern genutzt, bei der Bildung mikrobieller Zellaggregate können magnetisierbare Partikel in die Aggregate eingelagert werden.

Bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträgern wird das Prinzip der Oberflächenimmobilisierung verfolgt. Dieses Verfahren könnte eine Vereinfachung der bisherigen Verfahren zur Biomasserückhaltung, siehe Abschnitt 1.4.1.2, darstellen oder Lücken in dessen Anwendungsgebieten schließen. Die Abtrennung und Rückführung der mikrobiellen Biomasse ist mit Hilfe magnetischer Kräfte vergleichsweise einfach und wenig störanfällig. Verfahrenstechnische Vorteile gegenüber den bisherigen Verfahren können unter anderem in der Erhöhung der Prozesssicherheit durch eine Verringerung der Verstopfungsgefahr im Gegensatz zu AF, FBR oder membranunterstützten Reaktoren, in einer Verringerung des Energieverbrauchs im Vergleich zu EGSB- und UASB-Reaktoren und in einem geringeren konstruktiven Aufwand als beim Kontaktverfahren zu finden sein.

Der größte Vorteil dieses Systems besteht aber darin, dass es einfach in bestehende Anlagen integriert werden kann. Es erfordert keinen nachträglichen oder unter Umständen nicht möglichen Einbau interner Systeme zur Immobilisierung von Mikroorganismen. Das notwendige Rückhaltesystem kann sehr leicht nachgerüstet werden, da es extern ist. Vor allem zur Modifikation des weit verbreiteten und vielfältig einsetzbaren Rührkesselreaktors (CSTR), der in Deutschland mit über 90 % den Hauptanteil aller in Biogasanlagen verwendeten Reaktoren ausmacht (Weiland, 2010), ist dieses System ideal geeignet.

Die beiden grundlegenden Schritte dieses Verfahrens sind die

- **Immobilisierung von Mikroorganismen auf den Aufwuchsträgern**

in Form eines Biofilms auf den Oberflächen der Aufwuchsträger und die

- **Separation der Aufwuchsträger aus einem flüssigen Medium**

mit Hilfe magnetischer Kräfte. Die wesentlichen technischen Komponenten dieses Verfahrens sind demnach magnetisierbare Aufwuchsträger, die für eine Biofilmbildung und eine magnetische Separation geeignet sind, und ein System zur Abscheidung dieser Aufwuchsträger aus flüssigen Medien, dem Magnetseparator.

Auf dem Gebiet der Biogaserzeugung wurde der Einsatz magnetisierbarer Partikel in geringem Umfang bereits erprobt, die Ergebnisse waren unterschiedlich. Mumme et al. haben ein Verfahren zur Steigerung der Leistung eines CSTRs auf Basis einer magnetischen Biomasserückhaltung erprobt (Mumme, 2007). Dabei konnte ein deutlicher Anstieg der Biogasbildungsrate von 1,75 auf 3 Liter Biogas pro Liter Reaktorvolumen und Tag erzielt werden (Mumme, 2007). Allerdings erfolgte die magnetische Rückhaltung dort nach einem anderen Immobilisierungsprinzip. Statt einer Oberflächenimmobilisierung in Form einer Anlagerung von Mikroorganismen auf magnetisierbaren Aufwuchsträgern, wurden magnetisierbare Partikel (pulverförmiges Ferrit) eingesetzt, die sich in Zellaggregate eingelagert haben, dadurch wurde eine Immobilisierung aufgrund der Bildung mikrobieller Zellaggregate erreicht. Der Ansatz einer magnetischen Biomasserückhaltung nach dem Prinzip der Oberflächenimmobilisierung wurde von Hellman et al. verfolgt (Hellman, 2010). Aus biologischer Sicht waren die dort eingesetzten Aufwuchsträger, Magnetit, Eisen und Polystyren, gut geeignet, sie wurden als Besiedlungsfläche angenommen und es kam zur Ausbildung eines ausgeprägten Biofilms. Allerdings konnte die Leistung der Biogasproduktion nicht signifikant gesteigert werden. Hellman et al. führen den geringen Effekt der magnetischen Biomasserückhaltung auf das von ihnen verwendete Substrat, eingedickter Schlamm aus der Nykvarn Abwasserbehandlungsanlage in Linköping,

Schweden, zurück. Vermutlich waren die verwendeten Aufwuchsträger hinsichtlich der magnetischen Rückführbarkeit nicht gut geeignet. Sie waren mit 10; 50 bzw. 80 µm sehr klein. Der negative Einfluss einer zu geringen Partikelgröße auf den erreichbaren magnetischen Abtrenngrad lässt sich aus den physikalischen Grundlagen (Franzreb, 2003) ableiten und wurde von Thomas (Thomas, 2009) bestätigt.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen den oben angeführten vorherigen Studien zum Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger in der Biogasproduktion und der hier vorliegenden Arbeit stellen die eingesetzten Aufwuchsträger dar. Bei Mumme et al. (Mumme, 2007) und Hellman et al. (Hellman, 2010) wurden handelsübliche Materialien eingesetzt, die aus anderen Prozessen stammen oder für andere Anwendungen gedacht waren. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden dagegen Aufwuchsträger erprobt, die speziell für die Anwendung in einem Rührkesselreaktor zur Biogasproduktion entwickelt wurden. Diese Aufwuchsträger wurden von der Firma Dennert Poraver (Dennert Poraver GmbH, Postbauer-Heng) hergestellt. Bei der Herstellung können das Ausgangsmaterial, die Größe, die Form und die Oberflächenstruktur sowie die magnetischen Eigenschaften der Aufwuchsträger variiert werden, zusätzlich sind nachträgliche Modifikationen möglich. Anhand von Erfahrungen aus vorherigen Untersuchungen mit ersten Mustern magnetisierbarer Aufwuchsträger (Ramm, 2014) wurden die Größe, die Form und die magnetischen Eigenschaften der Aufwuchsträger an den geplanten Einsatz in einem Rührkesselreaktor zur Biogasgewinnung angepasst, siehe Abschnitt 2.1.2.1. Für diese Arbeit standen demnach sehr spezielle Aufwuchsträger zur Verfügung.

2 Material und Methoden

2.1 Konzeption der KTVA-Versuche

2.1.1 Versuchsplanung

Die im Rahmen dieser Arbeit unter Verwendung einer kleintechnischen Versuchsanlage (KTVA) durchgeführten Versuche können hinsichtlich ihrer Zielstellung in zwei Gruppen unterteilt werden:

- **Versuche zur Beurteilung der mikrobiellen Besiedlung verschiedener Aufwuchsträgermuster**
- **Versuche zur Beurteilung der (methanogenen) Leistung der auf Aufwuchsträgern befindlichen Biozönose**

Eine Übersicht der durchgeführten KTVA-Versuche sowie der gewählten Versuchsparameter zeigt Tabelle 3, der Umfang der durchgeführten Analysen sowie die Probenahmeintervalle können Tabelle 11 in Abschnitt 2.1.3.3 entnommen werden.

2.1.1.1 Versuche zur Beurteilung der mikrobiellen Besiedlung

Bei den Versuchen zur Beurteilung der mikrobiellen Besiedlung von verschiedenen Aufwuchsträgermustern standen die Ausbildung eines Biofilms auf den Oberflächen unbesiedelter Aufwuchsträger sowie die Charakteristik dieses Biofilms im Vordergrund. Verschiedene Aufwuchsträgermuster, siehe Abschnitt 2.1.2.1, wurden für einen bestimmten Zeitraum in flüssiger Phase inkubiert. Die Versuchsansätze wurden quasikontinuierlich betrieben, d.h. sie wurden einmal in der Woche mit frischem Substrat beschickt, mit Ausnahme des KTVA-Besiedlungsversuchs 1. Die Zugabemenge des Substrats wurde auf das effektive Nutzvolumen der Ansätze (30 mL) bezogen und so eingestellt, dass alle Ansätze über die gesamte Versuchslaufzeit mit der gleichen Menge an organischer Substanz versorgt wurden, siehe Abschnitt 2.1.3.1. Weiterhin wurden zu allen Versuchsansätzen äquivalente nicht beschickte Ansätze geführt, um den Nullwert der Gasbildung abziehen zu können.

Die vier verschiedenen KTVA-Versuche, die zur Beurteilung der mikrobiellen Besiedlung von verschiedenen Aufwuchsträgermustern durchgeführt wurden, werden im Folgenden vorgestellt. Es wurden immer frische, d.h. unbesiedelte Aufwuchsträger direkt aus der Produktion, eingesetzt. Als flüssige Phase wurde eine speziell zu diesem Zweck

angezüchtete Mikroorganismenkultur, dem in Abschnitt 2.1.2.2 beschriebenen Inokulum, verwendet.

KTVA-Besiedlungsversuch 1 – Adhäsion

Der KTVA-Besiedlungsversuch 1 diente zur Beurteilung des ersten Schritts der Biofilmbildung, der Adhäsion, auf den Oberflächen der unterschiedlichen Aufwuchsträgermustern. Dazu wurden entsprechend der in Abschnitt 2.1.3.1 beschriebenen Prozedur Versuchsansätze aus Inokulum und den entsprechenden Aufwuchsträgern angesetzt. Die Ansätze wurden nach kurzer Inkubationszeit (2,5 h) beprobt und mikrobiologisch und chemisch analysiert. Es wurde jeweils ein Ansatz je Aufwuchsträgermuster geführt.

KTVA-Besiedlungsversuch 2 – Einfluss des Substrats

Die Aufwuchsträger, hier wurde nur das Muster „Ref“, siehe Abschnitt 2.1.2.1, betrachtet, wurden in drei Parallelansätzen getestet. Es wurden zwei verschiedene Substrate verwendet, Zuckerrübensilage als natürliches Substrat und Glucoselösung als künstliches Substrat, jeweils mit und ohne Ergänzung von Spurenelementen. Neben dem Substrat wurde die hydraulische Verweilzeit der Ansätze variiert. Sie wurde durch die Zugabe von Leitungswasser während der Beschickung von 133 Tagen auf 29 Tage reduziert. Die Ergebnisse dieser Versuche dienten zur Orientierung bei der Auswahl der Versuchsparameter „Substrat“ und „Verweilzeit“ für die KTVA-Besiedlungsversuche 3 und 4, sowie der Gewinnung von Erfahrungen bei der Besiedlung von Aufwuchsträgern mit Hilfe der KTVA.

Im Lauf der Inkubationszeit erfolgten drei Probenahmen, zwei im laufenden Versuch und eine zum Versuchsende (141 d), jeweils aus einem der drei Parallelansätze. Neben Ansätzen, die Aufwuchsträger enthielten, gab es Ansätze, die nur aus der flüssigen Phase bestanden, um die Wirkung der Partikel beurteilen zu können. Die beprobten Ansätze wurden nach der Probenahme nicht weitergeführt. Die mikrobiologischen Untersuchungen beschränkten sich hier auf die Aufwuchsträger, die bei der letzten Probenahme entnommen wurden. Die chemischen Untersuchungen beinhalteten die Bestimmung des TS- und oTS-Gehalts der Aufwuchsträger und der wöchentlichen Bestimmung des pH-Werts der flüssigen Phase. Die Analyseintervalle sowie das Analyseprogramm können Tabelle 11 in Abschnitt 2.1.3.3 entnommen werden.

KTVA-Besiedlungsversuch 3 – Kinetik der Biofilmbildung

Der KTVA-Besiedlungsversuch 3 diente zur Beurteilung der Kinetik der Ausbildung eines Biofilms auf den Oberflächen unterschiedlicher Aufwuchsträgermuster. Die Ansätze wurden über einen Zeitraum von 84 Wochen inkubiert, als Substrat wurde Zuckerrübensilage ohne

weitere Zusätze verwendet. Es erfolgten vier Probenahmen in regelmäßigen Abständen, die Analyseintervalle sowie das Analyseprogramm können Tabelle 11 in Abschnitt 2.1.3.3 entnommen werden.

Um ein detailliertes Bild hinsichtlich der Ausbildung des Biofilms auf den verschiedenen Aufwuchsträgermustern und der Entwicklung der Biozönose in diesem Biofilm zu gewinnen erfolgten zu jedem Probenahmezeitpunkt mikrobiologische Untersuchungen ausgewählter Aufwuchsträgermuster („Ref“, „Ref SE“, „Ref gew“ sowie „VOR“, siehe Abschnitt 2.1.2.1) sowie der dazugehörigen flüssigen Phase dieser Ansätze.

KTVA-Besiedlungsversuch 4 – Prozessleistung

Ziel dieses Versuchs war die Verifizierung des Einflusses, den die verschiedenen Aufwuchsträgermuster auf die Prozessleistung der Versuchsansätze ausüben. Dazu wurden jeweils drei Parallelansätze über einen bestimmten Zeitraum (112 d) inkubiert, als Substrat wurde Zuckerrübensilage ohne weitere Zusätze verwendet. Im letzten Beschickungsintervall wurde die Biogasbildung der Ansätze ausführlich dokumentiert (nach 1,5; 3; 6 sowie 12 h, danach tägliche Erfassung). Weiterhin erfolgte zum Versuchsende eine umfangreiche chemische Analyse der flüssigen Phase der Versuchsansätze, siehe Tabelle 11 in Abschnitt 2.1.3.3. Für die abschließenden Analysen zum Versuchsende standen hier drei Parallelen zur Verfügung. Ausgewählte Aufwuchsträgermuster („Ref“, „Ref SE“, „Ref gew“ und „VOR“) wurden analog zu den KTVA-Besiedlungsversuchen 1 bis 3 mikrobiologisch untersucht, die qPCR-Analyse der Aufwuchsträger und der flüssigen Phase wurde hier bei allen drei Parallelen durchgeführt.

2.1.1.2 Versuche zur Beurteilung der (methanogenen) Leistung

Die Leistungsfähigkeit eines Versuchsansatzes wird durch die in ihm enthaltene mikrobielle Biozönose definiert. Bei den Versuchen zur Beurteilung der (methanogenen) Leistung der auf den Aufwuchsträgern befindlichen Biozönose sollte die Leistungsgrenze der Biozönose im Biofilm auf den Aufwuchsträgern ermittelt werden. Im Vordergrund standen dabei die Fragestellungen, wie hoch die Konzentration der besiedelten Aufwuchsträger sein sollte, um einen maximalen Leistungszuwachs des Versuchsansatzes zu erreichen, und unterhalb welcher Mikroorganismenpopulation der flüssigen Phase ein positiver Einfluss der Aufwuchsträger auf die Gesamtleistung des Versuchsansatzes erkennbar ist. Zur Klärung dieser Fragestellungen wurden intensiv besiedelte Aufwuchsträger für bestimmte Zeiträume in einer flüssigen Phase inkubiert. Da die Entwicklung der Biozönose im Versuchsansatz nicht das Untersuchungsziel dieser Versuche war, erfolgten keine mikrobiologischen Untersuchungen zum Versuchsende. Die Untersuchungen der zum Versuchsbeginn

eingesetzten besiedelten Aufwuchsträger und der flüssigen Phase erfolgten im Rahmen des CSTR-Versuches, siehe Abschnitt 2.2.3.3. Eine Übersicht des Analyseprogramms dieser Versuche kann Tabelle 11 in Abschnitt 2.1.3.3 entnommen werden.

Es wurden zwei KTVA-Versuche zur Beurteilung der (methanogenen) Leistung durchgeführt, siehe unten. Die Versuchsdurchführung war im Wesentlichen analog zu den Versuchen zur Beurteilung der mikrobiellen Besiedlung, das Ansetzen der Versuche, die Inkubation, die Beschickung und die Probenahme waren identisch. Unterschiede bestanden hinsichtlich des Beschickungsintervalls und der Menge und Art des verwendeten Substrats. Die Versuchsansätze des KTVA-Leistungsversuchs 1 wurden quasikontinuierlich betrieben, d.h. sie wurden einmal in der Woche mit frischem Substrat beschickt. Die Versuchsansätze des KTVA-Leistungsversuchs 2 wurden batch-weise betrieben, d.h. sie wurden nur einmal am Anfang der Versuchsreihe mit Substrat beschickt. Als Substrat wurde Zuckerrübensilage, die mit einer Spurenelementlösung sowie Nährstoffergänzungen versetzt wurde, verwendet, siehe Abschnitt 2.2.2.2. Dieses Substrat wurde auch bei den Rührkesselversuchen verwendet. Die Zugabemenge des Substrats wurde im Gegensatz zu den KTVA-Besiedlungsversuchen nicht auf das effektive Nutzvolumens der Ansätze, sondern auf den Gehalt an organischer Substanz im Ansatz bezogen. Die Substratmenge wurde so eingestellt, dass in allen Ansätzen ein bestimmtes Verhältnis zwischen der organischen Substanz des Versuchsansatzes (bestehend aus der flüssigen Phase und den Aufwuchsträgern) und der organischen Substanz des zugegebenen Substrats vorlag, siehe Abschnitt 2.1.3.1. Dieses Vorgehen war notwendig, da die flüssige Phase hier unterschiedlich stark verdünnt wurde und verschiedene Konzentrationen an Aufwuchsträgern gewählt wurden, siehe unten. Dadurch ergaben sich hier im Gegensatz zu den Versuchen zur Beurteilung der mikrobiellen Besiedlung von verschiedenen Aufwuchsträgermustern sehr unterschiedliche Konzentrationen an organischer Substanz im Ansatz. Geringere Konzentrationen organischer Substanz sind im Allgemeinen mit einer geringeren Mikroorganismenpopulation gleichzusetzen und erfordern nach VDI 4630 (VDI 4630, 2006) eine Verringerung der Substratzugabe, um eine Überlastung des Ansatzes zu verhindern.

Eingesetzt wurde hier nur das Aufwuchsträgermuster „Ref“, siehe Abschnitt 2.1.2.1, das im Rührkesselreaktor während des CSTR-Versuchs inkubiert wurde, siehe Abschnitt 2.2.1. Diese Aufwuchsträger waren intensiv von Mikroorganismen besiedelt, siehe Abschnitt 3.2.3.2. Als flüssige Phase wurde Prozessflüssigkeit verwendet, die ebenfalls den Rührkesselreaktoren entnommen wurde. Charakteristika der verwendeten Aufwuchsträger und der flüssigen Phase werden in den Tabellen A3 bis A8 im Anhang dargestellt. Neben Ansätzen, die Aufwuchsträger enthielten, gab es Ansätze, die nur aus der flüssigen Phase

bestanden, um die Wirkung der Aufwuchsträger vergleichen zu können. Weiterhin wurden zu allen Versuchsansätzen äquivalente nicht beschickte Ansätze geführt, um den Nullwert der Gasbildung abziehen zu können. Alle Versuche wurden in drei Parallelansätzen durchgeführt.

KTVA-Leistungsversuch 1 – Einfluss der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase

Ziel dieses Versuchs war die Beurteilung der Wirkung der Zugabe einer definierten Mikroorganismenpopulation (in Form einer bestimmten Menge besiedelter Aufwuchsträger) zu einer flüssigen Phase, die unterschiedlich starke Populationen an Mikroorganismen enthält. Dazu wurde immer die gleiche Massenkonzentration an gut besiedelten Aufwuchsträgern zu unterschiedlich stark mit Leitungswasser verdünnter flüssiger Phase gegeben und inkubiert. Als Konzentration der Aufwuchsträger wurden 6 Massen-% gewählt, bezogen auf die trockene Aufwuchsträgermasse. Die dafür notwendige Frischmasse an besiedelten Aufwuchsträgern wurde mit Hilfe des TS- und oTS-Gehalts der besiedelten Aufwuchsträger bestimmt. Es wurden für jede Verdünnungsstufe der flüssigen Phase Ansätze mit und ohne Zugabe von Aufwuchsträgern geführt. Der Anteil des Leitungswassers in der flüssigen Phase wurde auf 0; 50 sowie 75 % eingestellt. Als Kriterium zur Beurteilung der Wirkung der Aufwuchsträger auf die Methanbildungsleistung des Versuchsansatzes wurden die Methanausbeute aus dem zugegebenen Substrat sowie die Geschwindigkeit der Methanbildung gewählt.

Die Versuchsansätze wurden nur einmal zum Versuchsbeginn beschickt. Die Zugabemenge wurde mit zunehmender Verdünnung der flüssigen Phase verringert, um die geringere oTS-Menge im Ansatz zu kompensieren, siehe Abschnitt 2.1.3.1 und Tabelle 11 in Abschnitt 2.1.3.3.

Als einziger aller durchgeführten KTVA-Versuche wurden die Ansätze bei diesem Versuch nicht parallel betrieben sondern stammten aus drei verschiedenen Versuchsreihen. Dadurch ergaben sich Unterschiede hinsichtlich der eingesetzten besiedelten Aufwuchsträger und der verwendeten flüssigen Phase, siehe Tabelle A3 bis A8 im Anhang. Die Ansätze mit und ohne Aufwuchsträger, die zu einer Verdünnungsstufe der flüssigen Phase gehören, entstammen dabei aber immer der gleichen Versuchsreihe. Eine Beurteilung der Wirkung der Zugabe der Aufwuchsträger bei der jeweiligen flüssigen Phase ist demnach uneingeschränkt möglich. Der Vergleich der verschiedenen Verdünnungsstufen sollte dagegen unter Vorbehalt erfolgen.

KTVA-Leistungsversuch 2 – Einfluss der Aufwuchsträgerkonzentration

Ziel dieses Versuchs war die Beurteilung der Wirkung der Zugabe bestimmter Mengen besiedelter Aufwuchsträgern zur flüssigen Phase der Versuchsansätze. Um die Leistungsfähigkeit der Biozönose auf den Aufwuchsträgern hervorzuheben, wurde die eingesetzte flüssige Phase, siehe Tabelle A4 und A8 im Anhang, zu 75 % mit Leitungswasser verdünnt, um die Mikroorganismenpopulation darin zu senken. Die Zugabe der Aufwuchsträger erfolgte in den Konzentrationen 0; 2; 4 bzw. 6 Massen-%, bezogen auf die trockene Aufwuchsträgermasse. Die dafür notwendige Frischmasse an besiedelten Aufwuchsträgern wurde mit Hilfe des TS- und oTS-Gehalts der besiedelten Aufwuchsträger bestimmt, siehe Tabelle A6 im Anhang. Als Kriterium zur Beurteilung der Wirkung der Aufwuchsträger auf die Methanbildungsleistung wurden die Methanausbeute aus dem zugegebenen Substrat sowie die Geschwindigkeit der Methanbildung gewählt.

Insgesamt wurden die Versuche vier Mal beschickt, nach der letzten Beschickung wurde eine Abklingphase von vier Wochen eingehalten, bis die Ansätze beprobt wurden. Die Zugabemenge an Substrat war bei allen Ansätzen gleich.

Tab. 3: Übersicht der durchgeführten KTVA-Versuche

	Besiedlungsv. 1 - Adhäsion	Besiedlungsv. 2 - Substrat	Besiedlungsv. 3 - Kinetik	Besiedlungsv. 4 - Leistung	Leistungsv. 1 - Mikroorganismen Konzentration	Leistungsv. 2 - MFGP Konzentration
Konz. der Aufwuchs-träger (Massen-%)	16,7	16,7	16,7	16,7	6,0	2,0 / 4,0 / 6,0
eingesetzte Aufwuchsträgerart (-)	alle Muster	nur "Ref"	alle Muster	alle Muster	nur "Ref" #	nur "Ref" #
eingesetzte Substrate (-)	-	Zuckerrübensilage und Glucose-Lsg.	Zuckerrübensilage	Zuckerrübensilage	Zuckerrübensilage *	Zuckerrübensilage *
Zugabe von Spurenelementen (-)	-	"mit" und "ohne"	"ohne"	"ohne"	"mit" *	"mit" *
weitere Nährstoff- ergänzungen (-)	-	keine	keine	keine	Anpassung C:N:P:S- Verhältnis *	Anpassung C:N:P:S- Verhältnis *
Raumbelastung OLR ($g_{os} L^{-1} d^{-1}$)	-	0,63 bis 0,98 (Zielwert 0,75)	0,75	0,75	13,6 (unverdünnt) 7,1 (50% Wasser) 3,4 (75% Wasser) 2,4 (100% Wasser)	3,40
Beschickungsintervall (d)	-	7	7	7	-	7
hydraulische Verweilzeit (d)	-	29 bis 133	133	133	(batch-weise betrieben)	(keine Gärrestentnahme)
Laufzeit (d)	2,5 h	141	84	112	33	54
Anzahl der Parallelen der Versuchsansätze	1	(eine Parallele für jede Probenahme)	4 (eine Parallele für jede Probenahme)	4	3	3

* bei dem Substrat handelte es sich um das gleiche, das beim CSTR-Versuch verwendet wurde

es wurden besiedelte Aufwuchsträger aus dem CSTR-Versuch eingesetzt

2.1.2 Verwendete Materialien

2.1.2.1 Magnetisierbare Aufwuchsträger MFGPs

Die untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger stellen ein neuartiges Produkt dar, das in einer Kooperation zwischen den Firmen Clariant (Clariant AG, Muttenz, Schweiz, vormals Süd-Chemie AG, München bzw. Research & Development Adsorbents and Additives, Moosburg) und Dennert Poraver (Dennert Poraver GmbH, Postbauer-Heng) sowie dem ATB entwickelt wurde.

Es handelt sich dabei um ein Blähglasgranulat, das antiferromagnetisches „Bayoxid E AB 21“ (Bayer AG, Leverkusen) enthält. Bayoxid E AB 21 wird in der Industrie überwiegend als Farbmittel (Pigment und Farbstoff) verwendet, es ist pulverförmig und enthält 97,5 % Fe_2O_3 (Hämatit). Ungefähr 20 Massen-% des Bayoxids sind im Blähglasgranulat enthalten, um ihm antiferromagnetischen Eigenschaften zu verleihen. Die Aufwuchsträger aus diesem antiferromagnetischen Blähglasgranulat sollen hier als „magnetisierbar“ bezeichnet werden, um das Funktionsprinzip der magnetischen Biomasserückhaltung besser zu verdeutlichen. Die magnetisierbaren Aufwuchsträger werden von magnetischen Kräften angezogen, weisen aber keine nennenswerte Remanescenz auf, wenn sie dem Einfluss der magnetischen Kräfte wieder entzogen werden. Diese Eigenschaft ist wichtig, da die Aufwuchsträger bei starker Remanescenz aneinander haften würden und keine gleichmäßige Verteilung der Aufwuchsträger im Reaktorraum möglich wäre. Das Blähglasgranulat besitzt eine sehr poröse Oberfläche, die gut für eine mikrobielle Besiedlung geeignet sein sollte.

Herstellungsprozess

Der Rohstoff, Kalk-Natron-Silikatglas aus Recycling-Glas, wird zu Glaspulver zermahlen und mit Wasser, Binde- und Blähmittel sowie dem Bayoxid vermengt. In einem Granulierungsprozess werden aus dieser Masse kugelförmige Agglomerate hergestellt. Durch eine Trocknung bei 900 °C im Drehrohrföfen wird ein Blähprozess initiiert, der die feinporige poröse Oberfläche der Aufwuchsträger bewirkt. Abschließend werden die Aufwuchsträger gesiebt und nach Korngröße sortiert.

Die Aufwuchsträger, bis auf das Vorserienmuster „VOR“, wurden nach dem Herstellungsprozess gebrochen, um eine inhomogenere Form und Oberflächenstruktur zu erhalten. Dadurch sollte die Besiedlung durch Mikroorganismen gefördert werden.

Verschiedene Aufwuchsträgermuster

Von der Firma Clariant wurden mehrere Varianten von magnetisierbaren Aufwuchsträgern zur Erprobung bereitgestellt, Tabelle 4 zeigt hierzu eine Übersicht.

Tab. 4: Verschiedene Aufwuchsträgermuster

Abkürzung	Grundart	Modifikation	interne Chargen-Nr.
"Ref"	Ref	-	V110308, SD 464
"Ref red"	Ref red	-	V110414, SD 464, Red
"Ref SE"	Ref	SE	V101208 Pilotrohr, SD 403
"Ref red SE"	Ref red	SE	V110307, SD 441, SE+Red
"Ref gew"	Ref	gew	V110616, bewässert
"Ben"	Ben	-	V110608, trocken
"Ben gew"	Ben	gew	V110608, bewässert
"Ref X"	Ref	X	nicht vergeben
"Ref C-X"	Ref	C-X	nicht vergeben
"VOR"	Vorserie (0,1-0,3 mm)	-	V 091125 2

Die beiden Variationsebenen „Grundart“ und „Modifikation“ werden im Folgenden basierend auf Angaben von Clariant erläutert.

„**VOR**“ Vorserienmuster: magnetisches „Poraver“, Durchmesser etwa 0,1 bis 0,3 mm. Das erste Aufwuchsträgermuster, dieses Muster wurde in einem vorherigen Forschungsprojekt untersucht (Ramm, 2014).

Bei den Grundarten „Ref“, „Ref red“ und „Ben“ handelt es sich um neue Arten von Aufwuchsträgern, die auf Basis des ersten Musters „VOR“ entwickelt wurden.

„**Ref**“ Referenzkorn: schwarzes, reduzierendes Korn, Magnetit ohne Calcium. Dieses Muster stellt das Referenzmuster der neu entwickelten Aufwuchsträger dar.

„**Ref red**“ Referenzkorn reduziert: wie „Ref“ mit Calcium.

„**Ben**“ Referenzkorn mit Ca-Bentonit-Oberfläche: wie „Ref“ mit Ca-Bentonit-Oberfläche. Da es sich bei allen Grundarten um Bruchkorn handelte, lag beim Bentonit keine gleichmäßige Beschaffenheit der Oberfläche vor.

„**SE**“ Einschmelzen von Spuren-Elementen: während des Herstellungsprozesses wurden Spurenelemente in die Aufwuchsträger eingeschmolzen, die Spurenelemente sollen in der flüssigen Phase wieder freigesetzt werden.

„**gew**“ Wäsche: die Aufwuchsträger wurden nach der Herstellung einem Waschschrift unterzogen, diese Behandlung führte zu einer Erhöhung ihrer Alkalität und verursachte eine starke Korrosion der Oberfläche.

„**X**“ bzw. „**C-X**“ Oberflächenbeschichtung: die Aufwuchsträger wurden nach der Herstellung mit einem Überzug aus Xanthan versehen, bei „C-X“ wurde zur besseren Haftung zunächst

eine Zwischenschicht aus Chitosan aufgebracht; die Beschichtung erfolgte durch die Firma Surflay Nanotec GmbH, Berlin.

Eigenschaften der Aufwuchsträger

Die verwendeten Aufwuchsträger wurden von der Firma Clariant bzw. in dessen Auftrag hinsichtlich ihrer charakteristischen Eigenschaften untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden dem ATB zur Verfügung gestellt und sind in den Tabellen 5 bis 7 dargestellt.

Die Porosität, die BET-Oberfläche und die Partikelgrößenverteilung der Aufwuchsträger wurde von der Firma Clariant mit Hilfe der Messgeräte „Pascal 440“ (Thermo Electron Corporation, Waltham, USA), „ASAP 2020“ (micromeritics, Aachen, Germany) bzw. „Mastersizer 2000“ mit „Scirocco 2000“ (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) nach DIN 66133 (DIN 66133, 1993), DIN 66131 (DIN 66131, 1993) bzw. ISO 13320-1 (ISO 13320-1, 2009) bestimmt. Das Zeta-Oberflächenpotential wurde von der Firma Surflay Nanotec GmbH, Berlin, mit Hilfe eines „Zetasizer 3000 HSA“ (Malvern Instruments, Worcestershire, UK) bestimmt. Die Suszeptibilität wurde am Fachgebiet Agrartechnik der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät an der HU Berlin von Dr. Rainer Tölle mit einem Messgerät „FMA 5000“ (Forgenta Forschungstechnik- und Geräte-Entwicklung, Berlin, Germany) bestimmt.

Tab. 5: Zeta-Oberflächenpotential und Suszeptibilität der Aufwuchsträger

Abkürzung	Zeta-Oberflächenpotential in 1mM TRIS-Puffer pH 7 (mV) Toleranz +/- 4 mV	spezifische Volumensuszeptibilität κ (-)	magnetische Suszeptibilität ($\text{m}^3 \text{kg}^{-1}$)	Einwaage für Suszeptibilitätsmessung (g) (V = 5 ml)
"Ref"	-48,6	1,7E-02	3,0E-05	2,8
"Ref red"	-53,2	1,6E-02	3,5E-05	2,3
"Ref SE"	-58,0	1,6E-02	3,4E-05	2,4
"Ref red SE"	-64,0	1,7E-02	3,2E-05	2,6
"Ref gew"	-51,4	1,5E-02	3,1E-05	2,5
"Ben"	-60,5	1,2E-02	3,0E-05	2,0
"Ben gew"	-59,9	1,1E-02	2,8E-05	2,0
"Ref X"	-65,8 (Wert der Xanthan-	1,5E-02	3,3E-05	2,2
"Ref C-X" *	Beschichtung)*	1,4E-02	3,2E-05	2,1
"VOR"	-60,3	5,3E-03	1,1E-05	2,5

*nach der ersten Beschichtung mit Chitosan stellte sich ein Zeta-Oberflächenpotential in Höhe von +3,3 mV ein

Tab. 6: Porosität der Aufwuchsträger

Abkürzung	kumuliertes Gesamt volumen (mm ³ g ⁻¹)	spezifische Gesamt oberfläche (m ² g ⁻¹)	mittlerer Porendurch messer (nm)	Gesamt porosität (%)	Schütt dichte (g cm ⁻³)	Roh dichte (g cm ⁻³)	BET-Ober fläche (m ² g ⁻¹)
"Ref"	125,02	8,76	125,22	22,68	1,81	2,35	0,3035
"Ref red"	221,69	16,74	90,66	32,47	1,46	2,17	0,2181
"Ref SE"	315,56	20,88	119,36	39,78	1,26	2,09	0,3854
"Ref red SE"	154,87	10,18	104,87	22,02	1,42	1,82	0,1034
"Ref gew"	340,70	12,10	328,16	34,20	1,00	1,53	4,7804
"Ben"	360,90	14,99	158,12	46,04	1,28	2,36	0,3172
"Ben gew"	389,37	8,60	510,46	47,44	1,22	2,32	2,9628
"Ref X"	302,12	20,15	122,34	29,38	0,97	1,38	0,3092
"Ref C-X"	302,42	18,98	155,76	40,89	1,35	2,29	0,2110
"VOR"	649,92	35,08	72,37	57,15	0,88	2,05	0,9636

Tab. 7: Partikelgröße der Aufwuchsträger

Abkürzung	d ₁₀ (µm)	d ₅₀ (µm)	d ₉₀ (µm)	d ₁₀₀ (µm)
"Ref"	377,12	867,85	1482,67	1999,45
"Ref red"	437,64	930,41	1530,07	1999,55
"Ref SE"	403,28	753,64	1281,86	1998,11
"Ref red SE"	429,92	925,55	1525,26	1999,54
"Ref gew"	630,90	1050,28	1540,98	1999,54
"Ben"	167,49	833,70	1471,40	1999,43
"Ben gew"	174,06	756,28	1388,60	1999,22
"Ref X"	398,57	924,06	1525,66	1999,54
"Ref C-X"	515,04	991,91	1564,43	1999,61
"VOR"	17,18	159,45	285,05	438,28

In Abbildung 6 sind das ursprüngliche Muster „VOR“ sowie das Muster „Ref“ als Repräsentant der neu entwickelten Aufwuchsträgermuster dargestellt.

Korrektur des oTS-Gehaltes

Die Aufwuchsträger können große Mengen Wasser aufnehmen. Die dabei entstehenden Bindungen zum Wasser sind teilweise so stark, dass es bei der Bestimmung des TS-Gehaltes nicht vollständig entfernt wird. Erst bei einer anschließenden Bestimmung des oTS-Gehaltes wird auch das restliche Wasser entfernt. Dadurch kommt es zu einer Verfälschung des ermittelten oTS-Gehaltes. Deshalb wurde der Nullwert des oTS-Gehalts der verwendeten Aufwuchsträger bestimmt. Für die KTVA-Versuche wurden trockene Proben aller Aufwuchsträger hinsichtlich TS- und oTS-Gehalt untersucht, siehe Tabelle 8.

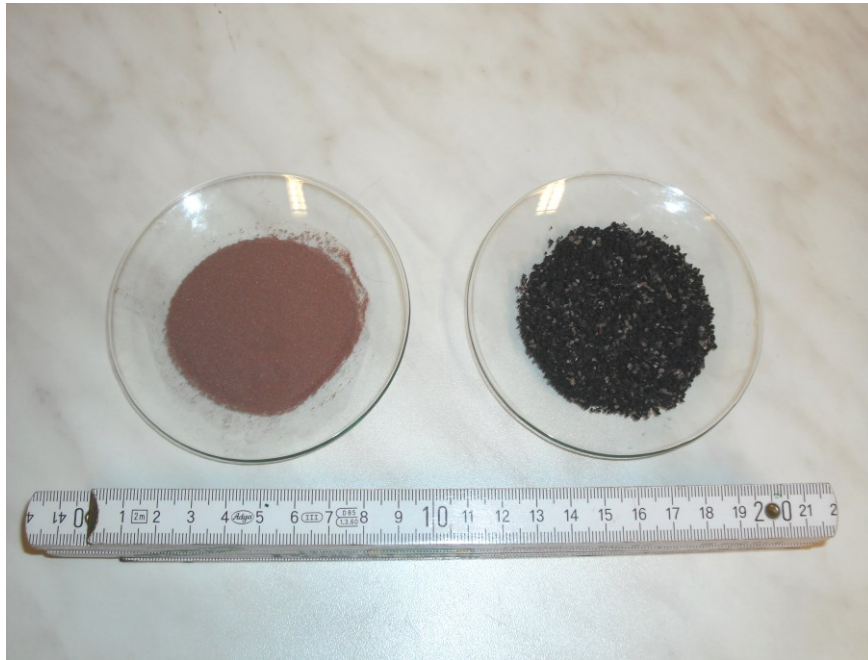


Abb. 6: Magnetisierbare Aufwuchsträger: „VOR“ (links) und „Ref“ (rechts)

Im Rahmen des CSTR-Versuchs wurde das Muster „Ref“ über einen Zeitraum von 231 Tagen bzw. 33 Wochen in Leitungswasser inkubiert und regelmäßig beprobt. Es wurden Werte in Höhe von $30,98 \pm 1,40$ % FM bzw. $0,59 \pm 0,34$ % TS für den TS- bzw. den oTS-Gehalt ermittelt. Diese Werte wurden bereits nach einem Tag Inkubationszeit erreicht.

Diese „Schein“-oTS Gehalte wurde vom ermittelten oTS-Gehalt besiedelter Aufwuchsträger abgezogen.

Tab. 8: TS- und oTS-Gehalt unbesiedelter MFPGs, ermittelt im Rahmen der KTVA-Versuche

Aufwuchsträgermuster	"Ref SE"	"Ref red"	"Ref"	"Ref red SE"	"Ref gew"	"Ben"	"Ben gew"	"Ref X"	"Ref C-X"	"VOR"
TS-Gehalt (% FM)	99,95	99,97	99,96	99,95	98,37	99,96	99,37	99,94	99,93	99,96
oTS-Gehalt (% TS)	0,02	0,00	0,04	0,00	3,04	0,02	2,07	0,10	0,42	0,02

2.1.2.2 Inokulum und Substrate

Inokulum

Für die Erstbefüllung der Versuchsansätze der KTVA-Besiedlungsversuche wurde methanogenes Inokulum verwendet. Dieses Inokulum wurde einem Laborfermenter entnommen, der unter ähnlichen Bedingungen wie die Versuchsansätze betrieben wurde. Dieser Fermenter wurde bei seiner Inbetriebnahme mit einer Mischung aus etwa 1,5 Litern Fermentationsflüssigkeit aus bei Clariant durchgeführten Versuchen (Gärrest aus

Langzeitversuchen mit magnetisierbaren Aufwuchsträgern) und 6,5 Litern gesammeltem mesophilen Gärrest aus Fermentationsversuchen die im Biogastechnikum des ATB durchgeführt wurden befüllt. Nach einer Betriebsdauer von 50 Tagen wurde zum ersten Mal Inokulum aus diesem Reaktor entnommen. Daten der chemischen Analyse der verwendeten Inokula enthält Tabelle A2 im Anhang, die jeweils enthaltene Mikroorganismenpopulation im Inokulum wird bei den Versuchsergebnissen dargestellt.

Das Inokulum wurde auch dazu verwendet, um einige Versuchsansätze des KTVA-Besiedlungsversuchs 2 zu stabilisieren, wenn sich ein kritischer pH-Wert zeigte.

Bei den KTVA-Leistungsversuchen wurde für die Erstbefüllung der Versuchsansätze Prozessflüssigkeit aus dem Magnetreaktor des CSTR-Versuchs verwendet. Zum Zeitpunkt der Entnahme der Prozessflüssigkeit war der Magnetreaktor während Versuchsphase 3 des CSTR-Versuchs im Betrieb, siehe Abschnitt 2.2.1. Die Eigenschaften der Prozessflüssigkeit, die jeweils als Inokulum diente, sind in den Tabellen A3, A4, A7 und A8 im Anhang dargestellt. Die bei den KTVA-Leistungsversuchen eingesetzten besiedelten MFGPs wurden dem Magnetreaktor zum gleichen Zeitpunkt wie die Prozessflüssigkeit entnommen. Die Eigenschaften der jeweils verwendeten besiedelten MFGPs sind in Tabelle A5 bis A8 im Anhang dargestellt.

Substrate

Im Rahmen dieser Arbeit wurden unterschiedliche Substrate eingesetzt, Zuckerrübensilage und Glucoselösung. Die Zuckerrübensilage wurde von der Firma Clariant bereitgestellt, während die Glucoselösung nach dem Rezept in Tabelle 9 selbst hergestellt wurde. Die Zuckerrübensilage wird in den Tabellen A1a und A1b im Anhang charakterisiert.

Um mit Glucoselösung und Zuckerrübensilage beschickte Ansätze vergleichen zu können, wurde die Zuckerrübensilage mit Leitungswasser verdünnt. Dadurch wurde der Gehalt an organischer Substanz von 200 auf 100 g kg⁻¹ reduziert, um den Wert der Glucoselösung zu erreichen.

Tab. 9: Glucose-Mineralsalz-Nährlösung geeignet für Bakterien nach Bast (Bast, 2001)

Bestandteil	Konz. nach Bast (g L ⁻¹)	*angepasste Konz. (g L ⁻¹)
K ₂ HPO ₄	0,5	5,0
NH ₄ Cl	1,0	10,0
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,2	2,0
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	0,0	0,1
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,0	0,1
Glucose	10,0	100,0
Spurenelementelösung	1,0 ml	#siehe Tab. 10
pH	7,0	7,0

*Die ursprüngliche Mixtur wurde 10fach aufkonzentriert.

#Die von Bast (Bast, 2001) angegebene Spurenelementelösung wurde nicht verwendet. Stattdessen wurde eine Spurenelementelösung nach Abdoun (2009) eingesetzt, die sich in vorherigen Versuchen für eine Vergärung des Substrats Rübensilage als gut geeignet erwiesen hatte.

Spurenelementelösung

Zur Nährstoffergänzung wurde eine Spurenelementelösung verwendet, die bereits erfolgreich bei der Vergärung von Maissilage und Roggensilage getestet wurde (Abdoun, 2009). Die Zusammensetzung dieser Lösung mit der Bezeichnung DSMZ 144 wird in Tabelle 10 dargestellt.

Die Spurenelementelösung wurde nach der Empfehlung von Abdoun und Weiland (Abdoun, 2009) 5-fach aufkonzentriert und in einer auf das Substrat bezogenen Dosierung von 0,01 mL je g oS zugegeben.

Tab. 10: Spurenelementelösung basierend auf DSMZ 144 (Abdoun, 2009)

Verbindung	Einwaage (g)
Nitritotrieessigsäure	64
Eisen(III)-chlorid-4-hydrat	1
Mangan(II)-chlorid-4-hydrat	0,5
Kobalt(II)-chlorid-6-hydrat	0,9
Calcium(II)-chlorid-2-hydrat	0,5
Zinkchlorid	0,5
Kupfer(II)-chlorid	0,1
Borsäure	0,1
Dinatriummolybdat (-2-hydrat)	0,1
Nickel(II)-chlorid-6-hydrat	0,1
Natriumchlorid	5
Natriumselenit-5-hydrat	0,1
Summe	73

Lösung auf 1000 mL mit deionisiertem Wasser verdünnt

2.1.2.3 Versuchsaufbau

Die Grundlage der kleintechnischen Versuchsanlage (KTVA) stellte ein Fermentationsversuchsstand nach dem Vorbild des Hohenheimer Biogasertragstests (HBT) dar (Helffrich, 2003).

Die Kernstücke der Versuchsanlage waren Reaktionsgefäße in Form von Spritzen aus Glas „Fortuna Optima 100 mL“ (Poulten und Graf GmbH, Wertheim), siehe Abbildung 7, und eine Vorrichtung zur Aufbewahrung dieser Spritzen, dem Drehgestell, siehe Abbildung 8.

Die Spritzen besaßen ein Füllvolumen von 100 mL und waren mit einem Drei-Wege-Hahn (Distler Medizintechnik GmbH, Mörfelden-Walldorf) ausgestattet. Im Drehgestell, ein Eigenbau aus PVC-Scheiben mit einem Durchmesser von 96 cm der von der Zentralwerkstatt des ATB angefertigt wurde, konnten die Spritzen waagerecht gelagert werden. Das Drehgestell war mit einem regelbaren Antrieb ausgestattet, der eine Rotation um die Längsachse der darin gelagerten Spritzen ermöglichte. Die Rotation konnte mit einer Drehzahl im Bereich von 0,5 bis 50 min⁻¹ erfolgen.

Das Drehgestell und der Fermenter mit dem Inokulum, siehe Abschnitt 2.1.2.2, waren in einer beheizbaren Kammer ($T_{\text{Soll}} = 40^{\circ}\text{C}$) untergebracht.



Abb. 7: Glasspritze mit Drei-Wege-Hahn, Füllvolumen 100 mL

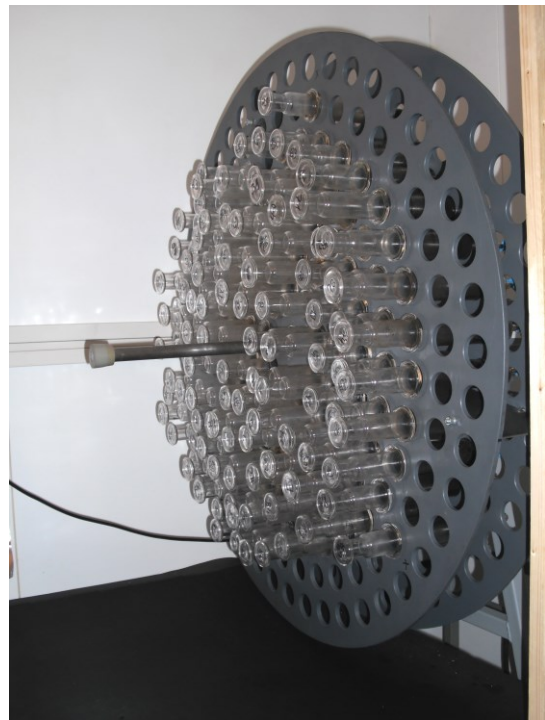


Abb. 8: Drehgestell mit Glasspritzen

2.1.3 Versuchsdurchführung

2.1.3.1 Betrieb der Versuchsanlage

In den Spritzen wurden Versuchsansätze inkubiert, die aus Inokulum und jeweils einem Muster der magnetisierbaren Aufwuchsträger bestanden. Daneben wurden Kontrollansätze ohne Aufwuchsträger geführt. Identische Ansätze, die nicht beschickt wurden, dienten dazu, die Nullwerte der Gasbildung zu bestimmen. Die jeweiligen Nullwerte wurden bei der Auswertung von der Gasbildung der beschickten Versuchsansätze abgezogen. Das Volumen der Ansätze in den Spritzen und die Massenkonzentration der Aufwuchsträger im Ansatz wurden innerhalb einer Versuchsreihe konstant gehalten. Das Volumen der Ansätze musste dabei deutlich unterhalb des maximalen Füllvolumens der Spritze liegen, da noch Restvolumen für das vom Ansatz gebildete Biogas benötigt wurde. Um die bei der Erstbefüllung eingetragene Umgebungsluft zu entfernen, wurde der Drei-Wege-Hahn geöffnet und der Kolben der Spritze bis zum Volumen, das vom Ansatz eingenommen wurde, hereingedrückt. Die mit den Versuchsansätzen gefüllten Spritzen wurden über die Gesamtdauer einer Versuchsreihe im Drehgestell gelagert. Zur Einhaltung der Prozesstemperatur wurde die Klimakammer auf 40° C temperiert. Der Umfang und die Zeitpunkte der durchgeführten Analysen sind in Tabelle 9 dargestellt.

Um einen quasikontinuierlichen Betrieb zu erhalten, wurden die Ansätze bei den KTVA-Besiedlungsversuchen einmal pro Woche mit frischem Substrat beschickt. Die Höhe der wöchentlichen Substratzugabe wurde auf das Volumen der Versuchsansätze bezogen. Als Zielwert wurde eine theoretische Raumbelastung in Höhe von $0,75 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ gewählt, um die Bedingungen im Anzuchtreaktor nachzustellen aus dem das verwendete Inokulum stammte, siehe Abschnitt 2.1.2.2. Bei den KTVA-Leistungsversuchen wurde die Höhe der Substratzugabe in Anlehnung an die VDI 4630 (VDI 4630, 2006) auf den oTS-Gehalt in den jeweiligen Kontrollansätzen, die keine MFGPs enthielten, bezogen. Die oTS-Menge in der flüssigen Phase dieser Ansätze wurde berechnet. Die Substratmenge wurde so gewählt, dass das Kriterium $(\text{oTS Substrat} / \text{oTS im Versuchsansatz}) \leq 0,5$ nach VDI 4630 (VDI 4630, 2006) eingehalten wurde. Da bei den KTVA-Leistungsversuchen die flüssige Phase teilweise verdünnt wurde, ergaben sich unterschiedliche theoretische Raumbelastungen, siehe Tabelle 3 in Abschnitt 2.1.1.

Die verwendeten Substrate besaßen keine bzw. nur sehr feine Partikel. Deshalb konnte die Beschickung über den Drei-Wege-Hahn der Spritzen erfolgen, die Spritzen mussten nicht komplett geöffnet werden. Um das Volumen der Ansätze in den Spritzen bei den KTVA-Besiedlungsversuchen konstant zu halten, wurde direkt vor der Zugabe des Substrats

flüssiger Gärrest aus den Spritzen entnommen. Die Entnahme erfolgte ebenfalls über den Drei-Wege-Hahn. Das Volumen des entnommenen Gärrests entsprach dem Volumen des zugegebenen Substrats. Die magnetisierbaren Aufwuchsträger wurden während der Gärrestentnahme in den Spritzen zurückgehalten indem starke Magneten von außen an den Spritzenkörper gehalten wurden.

Vor der Beschickung der Versuchsansätze wurde der pH-Wert im Ansatz bestimmt. Dafür wurde etwas Flüssigkeit über den Drei-Wege-Hahn entnommen und ihr pH-Wert gemessen. Abschließend wurde die Flüssigkeit über den Drei-Wege-Hahn wieder in die Spritze gesaugt indem der Kolben der Spritze herausgezogen wurde.

Nach der Beschickungsprozedur wurde der Kolben der Spritze bis zum Volumen, das vom Ansatz eingenommen wurde, hereingedrückt.

2.1.3.2 Biogaserfassung und Analyse

Durch die Fermentation des zugegebenen Substrats wurde von den Versuchsansätzen Biogas gebildet. Das Biogas wurde innerhalb der Spritze des jeweiligen Ansatzes gesammelt. Dazu diente das restliche Nutzvolumen der Spritze, das neben dem Volumen des Ansatzes noch vorhanden war. Durch die Bildung von Biogas wurde der Kolben der Spritze herausgedrückt. Da das Nutzvolumen der Spritze begrenzt war, musste das Biogas in regelmäßigen Abständen über den Drei-Wege-Hahn entnommen werden. Es wurde dabei mit Hilfe eines Gasanalysegeräts „Advanced Gasmitter“ (Sensors Europe GmbH, Erkrath), siehe Abbildung 9, hinsichtlich seines Methangehalts analysiert. Zur Bestimmung des Methangehalts war eine Mindestmenge von 20 mL Biogas notwendig. Die Entnahme- bzw. Analyseintervalle können Tabelle 11 in Abschnitt 2.1.3.3 entnommen werden. Über die Länge, die der Kolben der Spritze durch das Biogas herausgedrückt wurde, konnte das Volumen des gebildeten Biogases bzw. Methans berechnet werden.

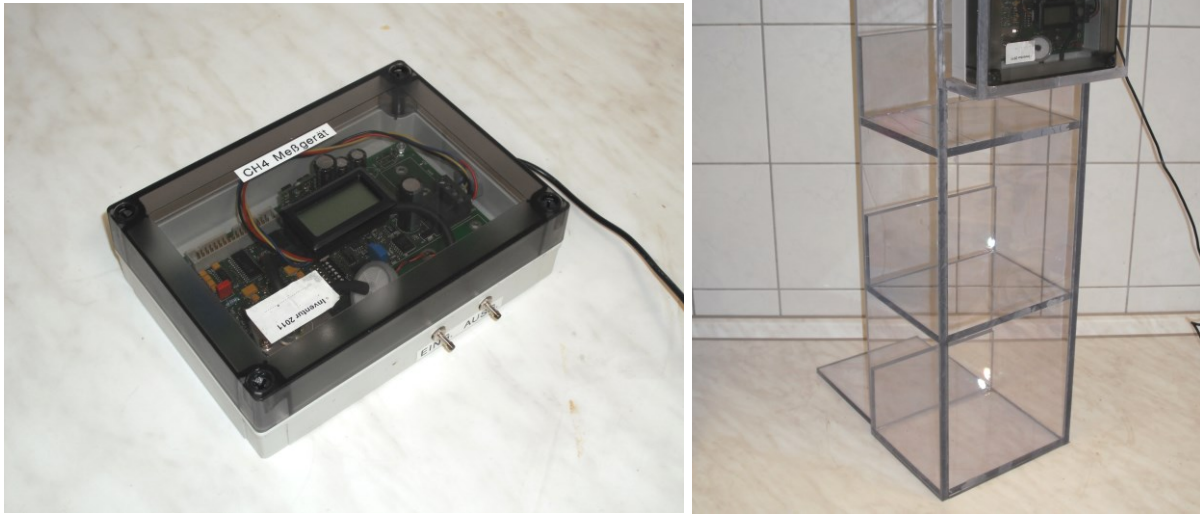


Abb. 9: Gasanalysator „Advanced Gasmitter“

2.1.3.3 Probenahme

Zu festgelegten Zeitpunkten erfolgte eine Beprobung jedes Versuchsansatzes. Die Probenahmeprozedur sah folgendermaßen aus:

Der Kolben der Spritze wurde komplett herausgezogen. Die Aufwuchsträger wurden mit Hilfe eines Laborlöffels entnommen und in Gefäße mit frischer phosphatgepufferte Salzlösung (PBS-Lösung) überführt, die Konzentration betrug ca. 0,1 g Aufwuchsträger (Nassgewicht) je mL PBS-Lösung. Die Gefäße wurden mehrmals leicht geschwenkt und gedreht um anhaftende Fermenterflüssigkeit abzuspielen. Abschließend wurden die Aufwuchsträger in Probegefäße für die chemische und die mikrobiologische Analytik überführt.

PBS-Lösung ist eine Pufferlösung, die isotonisch und für Zellen nicht schädlich ist. Sie wird unter anderem zur Reinigung von Zellkulturen verwendet (Sambrook, 2001).

Die flüssige Phase wurde direkt in Probegefäße für die chemische und die mikrobiologische Analytik abgefüllt.

Probenahme für mikroskopische Untersuchungen

Für eine zeitnahe Laserscanningmikroskopie wurde zusätzlich eine Spatelspitze der bewachsenen Aufwuchsträger aus der geöffneten Spritze entnommen und direkt, d.h. ungewaschen, auf eine Kunststoff-Petrischale mit einem Durchmesser von 60 mm (Carl Roth

GmbH & Co. KG, Karlsruhe) gegeben, mit PBS-Lösung übergossen und bei einer Temperatur von 40 °C bis zur Durchführung der mikroskopischen Untersuchung ein bis vier Tage gelagert.

Die Entnahme von Proben, die mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie untersucht wurden, erfolgte nach der oben beschriebenen Probenahmeprozedur, diese Prozedur wurde an die Bedingungen der Fluoreszenzmikroskopie angepasst. Die entnommenen Aufwuchsträger wurden in Leitungswasser überführt, da die in der PBS-Pufferlösung enthaltenen fluoreszenten Phosphorverbindungen das Ergebnis der Fluoreszenzmikroskopie negativ beeinflussen. Weiterhin erfolgte eine intensive Wäsche der entnommenen Aufwuchsträger in Form von vier Waschschritten. Die Konzentration betrug bei den ersten drei Waschschritten 0,1 g Aufwuchsträger (Nassgewicht) je mL Leitungswasser, anschließend wurden ca. 0,5 mL MFPGs in ein 2 mL Mikroreaktionsgefäß („Safelock-Eppendorfgefäß“) überführt und mit Leitungswasser aufgefüllt. Der letzte Waschschriff erfolgte im Reaktionsgefäß mit einer Konzentration von 0,25 g Aufwuchsträger (Nassgewicht) je mL Leitungswasser. Durch die intensive Wäsche konnten sämtliche lockere Anlagerungen von den Oberflächen der Aufwuchsträger entfernt werden, die sich störend auf das Mikroskopieverfahren ausgewirkt hätten. Die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen erfolgten am Tag der Probenahme.

Durchgeführte Analysen

Die Zeitpunkte und der Umfang der bei den KTVA-Versuchen durchgeführten chemischen und mikrobiologischen Analysen können dem Analyseplan in Tabelle 11 entnommen werden.

Tab. 11: Analyseplan der KTVA-Versuche

	Besiedlungsv. 1 - Adhäsion	Besiedlungsv. 2 - Substrat	Besiedlungsv. 3 - Kinetik	Besiedlungsv. 4 - Leistung	Leistungsv. 1 - Mikroorganismen Konzentration	Leistungsv. 2 - MFGP Konzentration
Ableseintervall der Kolbenlänge (d)	-	1 bis 3	1 bis 3	1,5 h bis 3 d	0,25 bis 3	0,5 bis 3
Analyseintervall des Biogases (d)	-	1 bis 3	1 bis 3	1 bis 3	0,25 bis 33	0,5 bis 32
Probenahmeintervall (d)	2,5 h	40; 89 und 141	14; 28; 56; 84	112	33	54
chemische Analytik	alle Ansätze zum Versuchsende (MFGPs: TS und oTS-Gehalt; flüssige Phase: pH)	alle Ansätze der jeweiligen Probenahme (MFGPs: TS und oTS-Gehalt); alle Ansätze einer Parallele (flüssige Phase: pH)	alle Ansätze der jeweiligen Probenahme (MFGPs: TS und oTS- Gehalt); alle Ansätze einer Parallele (flüssige Phase: pH)	alle Ansätze zum Versuchsende (MFGPs: TS und oTS-Gehalt; flüssige Phase: TS- Gehalt, oTS-Gehalt, N _{Kjeld.} , organische Säuren (C ₂ -C ₆), Ethanol und Propanol); alle Ansätze einer Parallele (flüssige Phase: pH)	alle Ansätze zum Versuchsende (flüssige Phase: TS- Gehalt, oTS-Gehalt, N _{Kjeld.} , organische Säuren (C ₂ -C ₆), Ethanol und Propanol); alle Ansätze einer Parallele (flüssige Phase: pH)	
Mikroskopie	alle Ansätze (nur MFGPs)	alle Ansätze der jeweiligen Probenahme (nur MFGPs)	alle Ansätze der jeweiligen Probenahme (nur MFGPs)	alle Ansätze (nur MFGPs)	keine Untersuchungen	keine Untersuchungen
qPCR	alle Ansätze (MFGPs und flüssige Phase)	alle Ansätze der letzten Probenahme (nur MFGPs)	alle Ansätze der letzten Probenahme (MFGPs und flüssige Phase); ausgewählte Ansätze zu jeder Probenahme (VOR, Ref, Ref SE, Ref gew, nur MFGPs)	alle Ansätze (MFGPs und flüssige Phase)	zum Versuchsbeginn (im Rahmen des CSTR-Versuchs, MFGPs und flüssige Phase)	zum Versuchsbeginn (im Rahmen des CSTR-Versuchs, MFGPs und flüssige Phase)

2.2 Konzeption des CSTR-Versuchs

2.2.1 Versuchsplanung

Der mit den Rührkesselreaktoren (CSTRs) durchgeführte Fermentationsversuch hatte eine Laufzeit von 549 Tagen bzw. 78 Wochen.

Er bestand aus fünf aufeinanderfolgenden Phasen. Phase 1: Anlaufphase der Reaktoren, Phase 2: Eintrag und Besiedlung der Aufwuchsträger, Phase 3: erster Belastungstest, schnelle Steigerung der Raumbelastung, Phase 4: zweiter Belastungstest, starke Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit und Phase 5: Neustart mit immobilisierter Biozönose.

Die Tabelle 12 und die Tabelle 13, im Abschnitt 2.2.3.3, enthalten eine Übersicht der Versuchsphasen und einen Analyseplan des CSTR-Versuchs.

Phase 1: Anlaufphase der Reaktoren

In Phase 1 wurden beide Reaktoren unter gleichen Bedingungen in Betrieb genommen. Die Inbetriebnahme wird in Abschnitt 2.2.3.1 ausführlich erläutert.

Ziel war in beiden Reaktoren eine möglichst ähnliche leistungsstarke und an das Substrat Zuckerrübensilage gut angepasste mikrobielle Biozönose anzuzüchten. Zum Ende dieser Phase nach 141 Tagen bzw. 20 Wochen lag die Raumbelastung bei $1,5 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Phase 2: Eintrag und Besiedlung der Aufwuchsträger

Nach Ablauf der Inbetriebnahme wurde in Phase 2 einer der beiden Reaktoren, der Magnetreaktor (MR), mit trockenen unbesiedelten magnetisierbaren Aufwuchsträgern in einer Konzentration von 2 Massen-% versetzt. Der andere Reaktor, der Kontrollreaktor (CR), erhielt keine MFGPs. Bis auf den Einsatz der MFGPs waren alle Betriebsbedingungen bei beiden Reaktoren vergleichbar. Ab Tag 28 der Phase 2 wurde die Raumbelastung täglich in Schritten von $0,036 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ gesteigert, bis eine Raumbelastung von ca. $4,0 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ an Tag 101 erreicht wurde. Diese Raumbelastung wurde bis zum Ende der Phase nach 127 Tagen bzw. 18 Wochen beibehalten.

Ziel war die Untersuchung der Kinetik der Biofilmbildung auf den MFGPs unter praxisnahen Bedingungen.

Phase 3: erster Belastungstest, schnelle Steigerung der Raumbelastung

Nach erfolgreicher Besiedlung der MFGPs in Phase 2 sollte in Phase 3 ein erster Belastungstest der Biozönose der beiden Reaktoren erfolgen. Ausgehend vom Wert $4,0 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ wurde die Raumbelastung jetzt schneller und in einem höheren Maß gesteigert. Die Raumbelastung wurde im Abstand von einer Woche zwei Mal nacheinander um einen Wert von $0,5 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ gesteigert. Nach der zweiten Steigerung wurde diese Raumbelastung drei Wochen beibehalten. Dieses Vorgehen wurde insgesamt vier Mal wiederholt, bis zum Ende der Versuchsphase nach 126 Tagen bzw. 18 Wochen eine Raumbelastung von $8,0 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ vorlag.

Ziel war die biologische Stabilität der Reaktoren hinsichtlich der Substratzufuhr zu ermitteln. Vor allem die eventuelle Erhöhung der biologischen Stabilität durch die MFGPs war dabei von Interesse.

Phase 4: zweiter Belastungstest, Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit

Als zweiter Belastungstest wurde die hydraulische Verweilzeit unabhängig von der Raumbelastung schrittweise reduziert. Die am Ende von Phase 3 erreichte Raumbelastung von $8,0 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ wurde beibehalten. Die Absolutmasse des zugeführten Substrats wurde über die gesamte Versuchsphase konstant gehalten.

Durch die Zugabe von Leitungswasser, einmal täglich direkt in die Reaktoren, wurde das tägliche Zugabevolumen und damit die hydraulische Verweilzeit angepasst. Die Zugabe des Leitungswassers erfolgte nach der Gärrestentnahme, dadurch kam es zu einer Erhöhung des genutzten Reaktorvolumens. Die Erhöhung des Reaktorvolumens führte zu einer Verringerung der auf das Reaktorvolumen bezogenen Raumbelastung, da die Absolutmenge des zugeführten Substrats konstant gehalten wurde. Vor allem bei der hydraulischen Verweilzeit von 4,5 Tagen ist dieser Effekt erkennbar. Der Zielwert der hydraulischen Verweilzeit wurde in Phase 4 bis Tag 41 auf ca. 15 d (Phase 4-1), bis Tag 97 auf ca. 8,5 d (Phase 4-2) und danach auf ca. 4,5 d (Phase 4-3) eingestellt und bis zum Ende der Versuchsphase nach 127 Tagen bzw. 18 Wochen beibehalten. Die täglichen Zugabemengen lagen je Reaktor bei 1689,8 g Zuckerrübensilage FM und 643,5; 2977,0 bzw. 8000 g Leitungswasser.

Ziel war die biologische Stabilität der Reaktoren hinsichtlich der hydraulischen Verweilzeit zu ermitteln. Vor allem die eventuelle Erhöhung der biologischen Stabilität durch die MFGPs war dabei von Interesse.

Phase 5: Neustart mit immobilisierter Biozönose

In der letzten Phase des CSTR-Versuchs wurden alle MFGPs aus dem Magnetreaktor entnommen. Der Magnetreaktor wurde danach unter den gleichen Versuchsbedingungen wie zum Ende von Phase 4 weiter betrieben.

Der Kontrollreaktor wurde entleert, gereinigt und bis zum Soll-Füllstand von 40 L mit Leitungswasser gefüllt. Die dem Magnetreaktor entnommenen MFGPs wurden in den mit Leitungswasser gefüllten Kontrollreaktor gegeben. Der Kontrollreaktor wurde mit einer Raumbelastung von $4,0 \text{ g}_{\text{OS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ohne Reduzierung der Verweilzeit bis zum Ende der Versuchsphase nach 28 Tagen bzw. 4 Wochen betrieben.

Ziel war die Beurteilung der Leistungsfähigkeit der mikrobiellen Biozönose, die sich in den Biofilmen auf den MFGPs im bisherigen Verlauf des CSTR-Versuchs ausgebildet hatte. Von Interesse war vor allem der Vergleich der Leistungsfähigkeit der Biozönosen, die sich im Reaktorinhalt des Magnetreaktors und auf den MFGPs im Magnetreaktor ausgebildet hatte.

Tab. 12: Übersicht der Versuchsphasen des CSTR-Versuchs

	Phase 1: Anlaufphase der Reaktoren	Phase 2: Eintrag und Besiedlung der Aufwuchsträger	Phase 3: erster Belastungstest, schnelle Steigerung der Raumbelastung	Phase 4: zweiter Belastungstest, Reduzierung der hy draulischen Verweilzeit	Phase 5: Neustart mit immobilisierter Biozönose
Konz. der Aufwuchs-träger (Massen-%)	-	- (CR) / 2,0 (MR)	- (CR) / 2,0 (MR)	- (CR) / 2,0 (MR)	0,55 (CR) / - (MR)
eingesetzte Aufwuchsträgerart (-)	-	"Ref"	"Ref"	"Ref"	"Ref" #
eingesetzte Substrate (-)	Zuckerrübensilage	Zuckerrübensilage	Zuckerrübensilage	Zuckerrübensilage	Zuckerrübensilage
Zugabe von Spurenelementen (-)	"mit"	"mit"	"mit"	"mit"	"mit"
weitere Nährstoff- ergänzungen (-)	Anpassung C:N:P:S- Verhältnis	Anpassung C:N:P:S- Verhältnis	Anpassung C:N:P:S- Verhältnis	Anpassung C:N:P:S- Verhältnis	Anpassung C:N:P:S- Verhältnis
Raumbelastung OLR ($g_{os} L^{-1} d^{-1}$)	Steigerung von 0,50 auf Zielwert 1,50	Steigerung von 1,50 auf Zielwert 4,00 (Steigerung um 0,036 pro Tag)	Steigerung von 4,00 auf Zielwert 8,00 (Steigerung um 0,50 alle 14 Tage)	6,15 bis 8,1 (abhängig von der gewählten Verweilzeit)	Zielwert 4,00
Beschickungsintervall (h)	2,5	2,0 bis 2,5	2,0	2,0	2,0
hydraulische Verweilzeit (d)	95 bis 311 (abhängig von der Raumbelastung)	36 bis 148 (abhängig von der Raumbelastung)	21 bis 36 (abhängig von der Raumbelastung)	Einstellung auf Zielwerte: 4,5; 8,5 und 17,0	50
Laufzeit (d)	141	127	126	127	28
Anzahl der Parallelen der Versuchsansätze	2	1	1	1	1

es wurden besiedelte Aufwuchsträger, die am Ende von Phase 4 vorlagen, verwendet

2.2.2 Verwendete Materialien

2.2.2.1 Magnetisierbare Aufwuchsträger MFGPs

Während des CSTR-Versuchs wurde nur ein Muster der MFGPs verwendet. Dabei handelte es sich um das Referenzmuster „Ref“. Die MFGP-Konzentration im Magnetreaktor (MR) wurde auf 2 Massen-% (Trockenmasse der Aufwuchsträger) eingestellt. Bezogen auf ein Reaktorvolumen von 40 L ergab sich eine Zugabemenge von 800 kg trockener MFGPs. Der Kontrollreaktor CR enthielt keine MFGPs.

Eine detaillierte Beschreibung der MFGPs befindet sich in Abschnitt 2.1.2.1.

2.2.2.2 Inokulum, Substrat und Nährstoffergänzungen

Inokulum

Zur Erstbefüllung der Rührkesselreaktoren im CSTR-Versuch wurde der Ablauf der Praxisbiogasanlage in Schuby eingesetzt. In dieser Anlage fand zum Zeitpunkt der Beschaffung des Ablaufs (Mai 2013) Biogasproduktion in Form einer Monovergärung von Zuckerrübensilage statt, dafür wurden täglich 1300 t Zuckerrüben zu Silage verarbeitet. Die Anlage wurde im November 2010 in Betrieb genommen, die angestrebte Leistung dieser Anlage lag bei 100 GWh Biomethan pro Jahr. Die Eigenschaften des Ablaufs sind in den Tabellen A22a und A22b im Anhang dargestellt.

Während der Anlaufphase der CSTRs wurde die flüssige Phase der Reaktoren mit Rindergülle angereichert. Die Rindergülle wurde von der Lehr- und Versuchsanstalt für Tierzucht und Tierhaltung e.V. (LVAT) in Groß-Kreutz bezogen, die Eigenschaften der Rindergülle sind in den Tabellen A22a und A22b im Anhang dargestellt.

Substrat

Als alleiniges Substrat wurde beim CSTR-Versuch die gleiche Zuckerrübensilage wie bei den KTVA-Versuchen verwendet. Das Substrat wurde immer mit einer Spurenelementelösung angereichert. Detaillierte Angaben zur Zuckerrübensilage und der verwendeten Spurenelementelösung enthält Abschnitt 2.1.2.2.

Nährstoffergänzungen

Abweichend zu den KTVA-Versuchen wurde die Zuckerrübensilage beim CSTR-Versuch mit weiteren Nährstoffen angereichert, um ein ausgewogenes C:N:P:S-Verhältnis zu erreichen. Ein ausgewogenes C:N:P:S-Verhältnis ist für eine kontinuierliche Biogasproduktion über

einen längeren Zeitraum unverzichtbar (Weiland, 2010), es sollte bei 600:15:5:3 liegen (VDI 1620, 2001).

Die Stoffe Ammoniumcarbonat (verwendet wurde eine Mischung die zu gleichen Teilen aus Ammoniumbicarbonat (NH_4HCO_3) und Ammoniumcarbamate ($\text{NH}_4\text{COONH}_2$) bestand, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe), Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4 , Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) und Kaliumsulfat (K_2SO_4 , Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) wurden in den Konzentrationen 2,68; 1,93; bzw. 1,28 g pro kg FM mit der Zuckerrübensilage gemischt.

Bezogen auf die gemittelten Gehalte an den Elementen C, N, P und S in der Zuckerrübensilage, siehe Tabelle A1a im Anhang, ergab sich dadurch ein C:N:P:S-Verhältnis von 600:14,76:4,88:3,32 das sehr nahe am Soll-Verhältnis liegt.

2.2.2.3 Versuchsaufbau

Reaktor

Die Grundlage des durchgeführten CSTR-Versuchs stellten zwei identische Rührkesselreaktoren dar, siehe Abbildung 10.

Die Reaktoren wurden von der Zentralwerkstatt des ATB aus dem Material Edelstahl (V2A) angefertigt. Ein Reaktor hatte ein Gesamtvolumen von 55 L, bei einer Gesamthöhe von 590 mm (Hauptkörper 515 mm, Bodensegment 75 mm) und einem Innendurchmesser von 344 mm, das Nutzvolumen lag bei ca. 40 L. Der Reaktorboden wurde als Klöpperboden ausgeführt. Der Hauptkörper des Reaktors war doppelwandig ausgeführt, der innere Abstand der Doppelwand betrug 15 mm. Innerhalb der Doppelwand konnte Wasser zirkulieren, das mit Hilfe eines Heizbades „Lauda E200“ (Dr. R. Wobser GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen), siehe Abbildung 12, auf eine bestimmte Temperatur erwärmt wurde. Weiterhin war der Reaktor mit einem Sichtfenster aus Acrylglas und vier mit Kugelhähnen versehenen Abläufen ausgestattet. Das Sichtfenster reichte fast über die gesamte Höhe des Hauptkörpers und war 50 mm breit. Die Abläufe des Reaktors befanden sich seitlich am Hauptkörper (Innendurchmesser 1“) sowie zentral am Reaktorboden (Innendurchmesser 2“). Die drei seitlichen Abläufe befanden sich in Höhen von 5 mm, 125 mm sowie 345 mm, gemessen vom tiefsten Punkt des Reaktors. Zur Aufnahme des Sichtfensters und der seitlichen Abläufe waren gerade Platten mit einer Breite von 105 bzw. 70 mm eingesetzt, die über die gesamte Höhe des Hauptkörpers reichten. Diese Platten waren nicht doppelwandig ausgeführt. Der Reaktordeckel war mit fünf Stützen versehen, ein Stützen war zentral, die anderen waren symmetrisch darum mit einem Abstand von 105 mm angeordnet. Diese

Stutzen dienen zur Aufnahme des Rührwerks (zentral angeordnet, Innendurchmesser 56 mm), zur Aufnahme der pH- und der Temperatursonde (Innendurchmesser 36 mm), zur Substratzugabe (Innendurchmesser 36 mm) und als Gasausgang (Innendurchmesser 11 mm). Ein Stutzen war nicht belegt und wurde als manueller Zulauf genutzt (Innendurchmesser 36 mm). Die Stutzen, die zur Aufnahme des Rührwerks und der Sonden dienen, sowie der unbelegte Stutzen waren als Tauchrohr ausgeführt und ragten 310 mm (entsprach einem Füllstand von 27 L) in den Reaktor. Zur Überwachung des pH-Werts und der Temperatur des Reaktorinhalts im laufenden Reaktorbetrieb wurden das Messgerät „pH 340i“ (WTW, Weilheim) und die Sonde „HA405-DXK-S8/425 combination pH“ (Mettler-Toledo GmbH, Gießen) bzw. das Messgerät „Hamster ET 2“ (Elpro Messtechnik GmbH, Schorndorf) mit einem Temperaturfühler PT1000, L 400 mm, verwendet.



Abb. 10: für den CSTR-Versuch verwendeter Rührkesselreaktor

Die weiteren Komponenten, die zum Betrieb des Reaktors benötigt wurden, waren das Rührwerk, das System zur Substratzugabe sowie das System zur Biogaserfassung und Analyse.



Abb. 11: Rührwerk „RZR 2102 control“

Abb. 12: Heizbad „Lauda E200“

Rührwerk

Zur Durchmischung des Reaktorinhalts diente ein ebenfalls von der Zentralwerkstatt des ATB aus Edelstahl (V2A) angefertigtes Rührwerk, siehe Abbildung 13. Die Paddel des Rührwerks hatten eine Breite 135 mm und eine Höhe von 170 mm. Beide Paddel waren um einen Winkel von 45° verdreht und um einen Winkel von 180° versetzt zueinander auf der seitlichen Achse des Rührwerks montiert. Die seitliche Achse befand sich in einer Höhe von 85 mm über dem Reaktorboden. Als Antrieb für das Rührwerk wurde ein „RZR 2102 control“ (Heidolph instruments GmbH & Co. KG, Schwabach), siehe Abbildung 11, verwendet. Die Form und die Anordnung der Paddel wurden anhand der positiven Ergebnisse durchgeführter Vorversuche ausgewählt.

System zur Substratzugabe

Zur Substratzugabe wurden die Waage „FKB 16 K 0.1“ (Kern & Sohn GmbH, Balingen), siehe Abbildung 15, sowie die Pumpe „Watson-Marlow 323du Drive 400 RPM EU“ (Spirax-Sarco Engineering group, Falmouth Cornwall, England), siehe Abbildung 14, verwendet. Ein Vorlagegefäß für das Substrat war auf der Waage platziert, siehe Abbildung 15. Die Pumpe war über Schläuche (Silikon-Schlauch Durchmesser 8/12,8 mm) mit dem Ablauf des Vorlagegefäßes und dem entsprechenden Stutzen am Reaktordeckel verbunden. Die Substratzugabe erfolgte über ein Acrylglasrohr (Durchmesser 12/16 mm) das durch den Stutzen geführt wurde und im Reaktor bis knapp unter den Flüssigkeitsspiegel des Reaktorinhalts reichte.



Abb. 13: Rührwerk der Rührkesselreaktoren

Die Zugabepumpe wurde im Verlauf des Versuchs an ein rechnergestütztes Steuerprogramm angeschlossen (die Programmierung erfolgte durch einen Mitarbeiter des ATB), das einen sekundengenauen Betrieb der Pumpe erlaubte.



Abb. 15: Waage „FKB 16 K 0.1“ und Substratvorlagebehälter



Abb. 14: Pumpe „Watson-Marlow 323du“

System zur Biogaserfassung und -analyse

Die im Reaktor gebildete Biogasmenge wurde zur Volumenerfassung durch einen Trommelgaszähler „TG 05/5“ (Dr.-Ing. Ritter Apparatebau GmbH & Co. KG, Bochum), siehe Abbildung 16, geleitet. Der Gaszähler war direkt mit dem Reaktor verbunden. Hinter dem Trommelgaszähler war ein Gassammelbeutel „Tecobag Gasanalysebeutel 20 Liter“ (Tesseraux Spezialverpackungen GmbH, Bürstadt) angeschlossen. Durch eine Überdrucksicherung war dieser Gassammelbeutel immer gefüllt, so stand ausreichend Biogas für eine Analyse der Zusammensetzung zur Verfügung. Die Analyse des im Gassammelbeutel gesammelten Biogases erfolgte mit Hilfe des Gasanalysators „SSM 6000“ (Pronova Analysentechnik GmbH & Co. KG, Berlin), siehe Abbildung 17. Es konnten die Konzentrationen an Methan, Kohlenstoffdioxid, Sauerstoff, Wasserstoff und Schwefelwasserstoff bestimmt werden.



Abb. 16: Trommelgaszähler „TG 05/5“



Abb. 17: Gasanalysator „SSM 6000“

2.2.3 Versuchsdurchführung

2.2.3.1 Betrieb der Versuchsanlage

Die beiden Rührkesselreaktoren (CSTRs) wurden unter möglichst identischen Versuchsbedingungen betrieben.

Inbetriebnahme der Reaktoren

Beide Reaktoren wurden am ersten Tag der Phase 1 (Anlaufphase der Reaktoren) mit 40 L Inokulum aus der Biogasanlage in Schuby, siehe Abschnitt 2.2.2.2, gefüllt. Nach einer Pause von 7 Tagen, die zur Erholung der mikrobiellen Biozönose dienen sollte, erfolgten drei Substratzugaben an aufeinanderfolgenden Tagen. Die Zugabemenge entsprach einer Raumbelastung von ca. $1,5 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und wurde auf einmal manuell direkt in die Reaktoren gegeben. Nach einer weiteren Pause von drei Tagen ohne Beschickung wurde der reguläre Reaktorbetrieb an Tag 14 der Phase 1 mit einer Raumbelastung von ca. $1,5 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ aufgenommen.

Die Raumbelastung wurde entsprechend DIN 4630 (DIN 4630, 2006) in Stufen von $0,5 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ alle zwei Wochen erhöht. Dieses Vorgehen konnte bis zur Steigerung der Raumbelastung auf $2,5 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ an Tag 36 beibehalten werden. Danach kam es zu einem Zusammenbruch der Leistung beider Reaktoren. Eine Wiederherstellung der Reaktorleistung konnte nur durch den Austausch von 10 kg Reaktorinhalt gegen 10 kg Rindergülle (Filtrat), siehe Abschnitt 2.2.2.2, an Tag 107 erreicht werden. Im restlichen Verlauf der Anlaufphase wurde die Raumbelastung konstant bei einem Wert von $1,5 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ gehalten, damit sich die mikrobielle Biozönose erholen konnte.

In Phase 2 (Eintrag und Besiedlung der Aufwuchsträger) erfolgte aufgrund der in Phase 1 gewonnenen Erfahrungen eine viel schonendere Steigerung der Raumbelastung als sie in DIN 4630 (DIN 4630, 2006) empfohlen wird. Der Steigerungsschritt der Raumbelastung um $0,5 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ innerhalb von zwei Wochen wurde beibehalten. Allerdings wurde die Raumbelastung nicht am letzten Tag der zwei Wochen schlagartig um diesen Wert erhöht, sondern die Erhöhung wurde auf jeden Tag innerhalb der zwei Wochen aufgeteilt. Mit diesem Vorgehen konnte ab Tag 28 der Versuchsphase 2 eine problemlose Steigerung der Raumbelastung auf ca. $4,0 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ an Tag 101 erfolgen. Die durch dieses Vorgehen erzielte mikrobielle Biozönose war stark genug, um die in Phase 3 wieder entsprechend DIN 4630 (DIN 4630, 2006) durchgeführten Steigerungen der Raumbelastung in Stufen von $0,5 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bis zu einer Raumbelastung von ca. $8,0 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ problemlos zu vertragen.

Betriebstemperatur

Die gewählte Betriebstemperatur lag im mesophilen Temperaturbereich und betrug ca. 41°C.

Durchmischung

Es erfolgte eine kontinuierliche Durchmischung des Reaktorinhalts mit Hilfe des oben vorgestellten Rührwerks. Die Drehzahl des Rührwerkantriebs wurde während des gesamten Versuchs nicht verändert, sie lag bei beiden Reaktoren bei 35 min⁻¹. Die Drehrichtung der Welle des Rührwerks war im Uhrzeigersinn.

Substratzugabe

Die Substratzugabe erfolgte quasikontinuierlich, im regulären Betrieb wurde jeden Tag Substrat in die Reaktoren gegeben.

Ab Versuchstag 14 in Phase 1 (Anlaufphase der Reaktoren) erfolgte die tägliche Substratzugabe automatisiert. Als gut geeignet erwies sich eine Aufteilung der täglichen Zugabemenge auf neun Zugaben, das Zugabeintervall wurde auf 2,5 h festgelegt. Die ersten acht Zugaben erfolgten automatisiert, gesteuert über eine Zeitschaltuhr. Für die letzte Zugabe wurde die Pumpe manuell bedient, die Zugabemenge konnte dadurch angepasst werden. Die letzte manuelle Zugabe erlaubte eine Korrektur der täglichen Zugabemenge, wenn die automatisierte Zugabemenge nicht korrekt war. Nach der manuellen Zugabe erfolgte eine Pause von 4h, bis die automatisierte Zugabe wieder begann.

Ab Tag 106 in Phase 2 (Eintrag und Besiedlung der Aufwuchsträger) wurde ein rechnergestütztes Steuerprogramm verwendet. Das Zugabeintervall wurde auf 2h herabgesetzt, die letzte Zugabe erfolgte weiterhin manuell, die Pause nach der letzten Zugabe wurde auf 2h vereinheitlicht. Dieses Verfahren wurde bis zum Ende des CSTR-Versuchs beibehalten.

Die Drehzahl der Zugabepumpe lag immer bei 50 min⁻¹. Das frische Substrat wurde täglich auf den verbliebenen Substratrete vom Vortag in die Vorlagegefäße gefüllt. Einmal in der Woche wurden die Vorlagegefäße und die Schlauchleitungen zum Reaktor gereinigt und alle Substratrete entfernt.

Einstellung der NH₄-N-Konzentration im Reaktor

Zusätzlich zur Anpassung des C:N-Verhältnis im verwendeten Substrat, wurde die NH₄-N-Konzentration im Reaktor auf bestimmte Werte eingestellt. Diese Sollwerte wurden während Phase 1 (Anlaufphase der Reaktoren) von 300 mg L⁻¹ bis auf 1000 mg L⁻¹, gesteigert und während Phase 2 (Eintrag und Besiedlung der Aufwuchsträger) wieder auf 550 mg L⁻¹ gesenkt. In den Phasen 3 (erster Belastungstest, schnelle Steigerung der Raumbelastung)

und 4 (zweiter Belastungstest, starke Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit) wurde dieser Sollwert beibehalten, in Phase 5 (Neustart mit immobilisierter Biozönose) noch er weiter auf 300 mg L^{-1} gesenkt. Durch die Erhöhung der $\text{NH}_4\text{-N}$ -Konzentration im Reaktor sollte vor allem in der Anlaufphase eine ausreichende Versorgung mit $\text{NH}_4\text{-N}$ gesichert und ein hohes Mikroorganismenwachstum gefördert werden.

Die notwendige Zugabemenge an Ammoniumcarbonat wurde durch Bilanzierung mit der wöchentlich bestimmten realen $\text{NH}_4\text{-N}$ -Konzentration im Reaktor, siehe Abschnitt 2.2.3.3, stöchiometrisch errechnet. Die Zugabe erfolgte aufgeteilt auf ein bis vier Zugaben pro Woche, je nach Höhe des auszugleichenden Defizits. Zum Ende von Versuchsphase 4 erfolgte eine tägliche Zugabe, um die hohen Verluste aufgrund der kurzen Verweilzeit zu kompensieren. Die entsprechende Menge Ammoniumcarbonat (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) wurde mit entnommenem Reaktorinhalt gemischt und über den nicht belegten Zugabestutzen direkt in den Reaktor gegeben.

Die gewählten Sollwerte, sowie die Zugabemengen an Ammoniumcarbonat und die resultierenden $\text{NH}_4\text{-N}$ -Konzentrationen in den Reaktoren werden in Abbildungen 71 und 72 in Abschnitt 3.2.1.3 dargestellt.

Entschäumer

Die Verwendung von Zuckerrübensilage ist aufgrund des geringen pH-Werts der Silage mit einer starken Schaumbildung verbunden. Um der Schaumbildung entgegenzuwirken, die zu einer Verstopfung des Gasausgangs und damit zu einem Überlaufen des Reaktors führen kann, wurde ab Tag 112 der Phase 1 Silicon-Antischaumemulsion (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) in die Reaktoren gegeben. Die Konzentration lag im Durchschnitt bei 0,017; 0,047; 0,242; 0,189 sowie $0,129 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ in den Phasen 1 bis 5. Die Zugabe erfolgte ab Versuchstag 83 der Phase 2 täglich, davor lag das Zugabeintervall bei ein bis drei Zugaben pro Woche.

Gärrestentnahme

Die Reaktoren wurden im Aufstau betrieben. Die Entnahme von Gärrest in Form von Reaktorinhalt erfolgte nicht simultan zur Substratzugabe, sondern wurde in festgelegten Intervallen von bis zu sieben Tagen durchgeführt. In den einzelnen Versuchsphasen lagen die Intervalle der Gärrestentnahme bei: Phase 1 einmal pro Woche (in der Regel alle sieben Tage), Phase 2 ein bzw. drei Mal pro Woche (bis Tag 107 der Versuchsphase in der Regel alle sieben Tage, danach alle zwei bis drei Tage), Phase 3 drei bis sieben Mal pro Woche (alle ein bis drei Tage, ab Tag 85 der Versuchsphase täglich), Phase 4 täglich, Phase 5 einmal pro Woche (in der Regel alle sieben Tage).

Es wurde immer so viel Reaktorinhalt entnommen, bis der Soll-Füllstand des Reaktors in Höhe von 40 L wieder erreicht war. Die Entnahme erfolgte am mittleren seitlichen Ablauf des Reaktors. Der entnommene Reaktorinhalt wurde verworfen, zu bestimmten Zeitpunkten erfolgte vorher eine Probenahme, siehe Abschnitt 2.2.3.3. Zur Gärrestentnahme gehörte immer die Rückführung der im entnommenen Reaktorinhalt enthaltenen MFGPs, siehe unten.

Rückführung der MFGPs

Bei jeder Entnahme von Reaktorinhalt erfolgte eine Abtrennung der im Reaktorinhalt befindlichen MFGPs bevor der Reaktorinhalt entsorgt oder der chemischen und mikrobiologischen Analytik zugeführt wurde. Dazu war die zusätzliche Entnahme von ca. 750 mL Reaktorinhalt notwendig, der als Reinigungsflüssigkeit diente. Mit Hilfe eines Handmagnetstabs „SMN9-HM-0300“ mit einem Durchmesser von 25 mm und einer Länge von 665 mm (S+S Separation and Sorting Technology GmbH, Schönberg), siehe Abbildung 18, wurden die MFGPs aus dem zu entsorgenden Reaktorinhalt abgetrennt. Der Handmagnetstab wurde dazu durch den Reaktorinhalt geführt, die an ihm anhaftenden MFGPs wurden in der Reinigungsflüssigkeit abgespült. Wenn kaum noch MFGPs am Handmagnetstab anhafteten, wurde die Abtrennung beendet. Die Reinigungsflüssigkeit mit den in ihr enthaltenen MFGPs wurde über den nicht belegten Stutzen am Reaktordeckel wieder in den Reaktor gegeben.



Abb. 18: Handmagnetstab (S+S, Separation and Sorting Technology GmbH, Schönberg)

2.2.3.2 Biogaserfassung und Analyse

Der am Reaktor angeschlossene Trommelgaszähler wurde in der Regel täglich abgelesen. Das täglich gebildete Biogasvolumen wurde aus der Differenz zum Zählerstand am Vortag berechnet und anschließend auf Normbedingungen bezogen, siehe Abschnitt 2.4. Die Analyse des Biogases, das im Gassammelbeutel aufgefangen wurde, erfolgte in der Regel ebenfalls täglich.

2.2.3.3 Probenahme

Die Probenahme von Reaktorinhalt und MFGPs erfolgte bei beiden Reaktoren zu den gleichen Zeitpunkten. In der Regel lag das Probenahmeintervall bei einer Woche und erfolgte zusammen mit einer Gärrestentnahme. Bei den Gärrestentnahmen wurde immer so viel Reaktorinhalt entnommen, dass ausreichende Mengen für die chemische (2 x 100 mL Reaktorinhalt je Probe) und die mikrobiologische Analytik (3 x 2 mL Reaktorinhalt je Probe) zur Verfügung standen. Proben der MFGPs wurden aus der Reinigungsflüssigkeit, siehe Abschnitt 2.2.3.1, entnommen. Die entnommenen MFGPs wurden vor der weiteren Analytik gereinigt, um anhaftenden Reaktorinhalt zu entfernen.

MFGP-Proben, die für die chemische Analytik und die qPCR dienten, wurden in ein Gefäß mit frischer phosphatgepufferte Salzlösung (PBS-Lösung) gegeben, die Konzentration betrug ca. 0,1 g Aufwuchsträger (Nassgewicht) je mL PBS-Lösung. Das Gefäß wurde mehrmals leicht geschwenkt und gedreht, um anhaftenden Reaktorinhalt von den MFGPs abzulösen. Danach wurden die gereinigten MFGPs in Probegefäße für die chemische Analytik (2 g frische MFGPs je Probe) und qPCR (2 x 2 g frische MFGPs je Probe) überführt.

Die Proben wurden direkt nach Abschluss der Probenahme der chemischen Analytik zugeführt. Proben für die qPCR wurden bis zur Durchführung der Analyse bei -20 °C gelagert.

Probenahme für mikroskopische Untersuchungen

Für die Laserscanningmikroskopie (LSC) wurde eine kleine Probe ungewaschener MFGPs auf eine mit PBS-Lösung gefüllte Kunststoff-Petrischale mit einem Durchmesser von 60 mm (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) gegeben.

Proben für die Fluoreszenzmikroskopie wurden statt in PBS-Puffer in Leitungswasser gewaschen, da sich die im PBS-Puffer enthaltenen fluoreszenten Phosphorverbindungen störend ausgewirkt hätten. Die Proben wurden vier Mal nach der im Abschnitt 2.1.3.3

beschriebenen Methode gewaschen und in ein 2 mL Mikroreaktionsgefäß („Safelock-Eppendorfgefäß“) überführt. Die Fluoreszenzmikroskopie erfolgte am Tag der Probenahme.

Durchgeführte Analysen

Die Zeitpunkte und der Umfang der während des CSTR-Versuchs durchgeführten chemischen und mikrobiologischen Analysen können dem Analyseplan in Tabelle 13 entnommen werden.

Tab. 13: Analyseplan des CSTR-Versuchs

	Phase 1: Anlaufphase der Reaktoren	Phase 2: Eintrag und Besiedlung der Aufwuchsträger	Phase 3: erster Belastungstest, schnelle Steigerung der Raumbelastung	Phase 4: zweiter Belastungstest, Reduzierung der hy- draulischen Verweilzeit	Phase 5: Neustart mit immobilisierter Biozönose
Ableseintervall der Gasuhr	i.d.R. täglich	i.d.R. täglich	i.d.R. täglich	i.d.R. täglich	i.d.R. täglich
Analyseintervall des Biogases	i.d.R. täglich	i.d.R. täglich	i.d.R. täglich	i.d.R. täglich	i.d.R. täglich
Probenahmeintervall (d)	flüssige Phase: 7	flüssige Phase und MFGPs: i.d.R. 7	flüssige Phase: 7; MFGPs: 14	flüssige Phase: i.d.R. 7; MFGPs: 14	flüssige Phase und MFGPs: i.d.R. 7
chemische Analytik	jede Probenahme: TS, oTS, pH, LF, NH4-N, N _{Kjeld.} , FOS/TAC, organische Säuren (C ₂ -C ₆), Ethanol, Propanol und Diol, Milchsäure				
flüssige Phase	zusätzlich zum Ende der Versuchsphase: CSB und Konzentrationen an N, C, S, H, P, Zucker, Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, V, Zn, Ti, Tl				
chemische Analytik Aufwuchsträger MFGPs	-	jede Probenahme: TS, oTS	jede Probenahme: TS, oTS	jede Probenahme: TS, oTS	jede Probenahme: TS, oTS
Mikroskopie	-	zum Ende der Versuchsphase (nur MFGPs)	zum Ende der Versuchsphase (nur MFGPs)	zum Ende der Versuchsphase (nur MFGPs)	zum Ende der Versuchsphase (nur MFGPs)
qPCR	alle 4 Wochen: ARC, BAC, Methanogene (flüssige Phase)	1 bis 4 Wochen: ARC, BAC, Methanogene (MFGPs und flüssige Phase)	1 bis 3 Wochen: ARC, BAC, Methanogene (MFGPs und flüssige Phase)	1 bis 3 Wochen: ARC, BAC, Methanogene (MFGPs und flüssige Phase)	1 bis 2 Wochen: ARC, BAC, Methanogene (MFGPs und flüssige Phase)

2.3 Analytik

2.3.1 Chemische Analytik

Ammoniumstickstoff $\text{NH}_4\text{-N}$

Die Konzentration an Ammoniumstickstoff ($\text{NH}_4\text{-N}$) wurde gemäß VDLUFA Methodenbuch Band 3, Kapitel 4.8.2 bestimmt (VDLUFA, 2006). Dabei wurde das in der Probe enthaltene Ammonium durch Magnesiumoxid (MgO) zu Ammoniak (NH_3) umgesetzt und mit Hilfe einer Wasserdampfdestillation in eine Vorlage aus Borsäure überführt. Durch eine anschließende Rücktitration mit Schwefelsäure bis auf einen Farbumschlag (bei Einsatz von pH-Indikatoren) oder bis auf den Ausgangs-pH-Wert konnte der Gehalt an Ammonium bestimmt werden. Die Konzentration des enthaltenen $\text{NH}_4\text{-N}$ wurde daraus berechnet.

Chemischer Sauerstoffbedarf CSB

Bei Proben der flüssigen Phase wurde der chemische Sauerstoffbedarf durch Absorption (Farbstoffumschlag) gemäß DIN ISO 15705 (DIN ISO 15705, 2002) bestimmt, dafür wurden Testküvetten vom Typ „LCK 014“ (Hach Lange GmbH, Düsseldorf) verwendet. Die Küvetten wurden nach Zugabe der Probe für zwei Stunden bei 148 °C temperiert und anschließend mit Hilfe eines Spektralphotometers „CADAS 200“ (Hach Lange GmbH, Düsseldorf) analysiert.

Bei Proben der Zuckerrübensilage wurde der chemische Sauerstoffbedarf nach der klassischen Methode mit Kaliumdichromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) bestimmt, wie in DIN 38409-41:1980-12 (DIN 38409, 1980) beschrieben. Alle in der Probe enthaltenen oxidierbaren Stoffe wurden in einem Aufschluss bei 105 °C in schwefelsaurem Medium an Cr(III) oxidiert. Cr(III) entsteht aus $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ durch Reduzierung von Cr(VI). Bei einer anschließenden Titration mit 0,1N Eisensulfatlösung bis auf einen Farbumschlag (bei Einsatz von Ferroin-Indikator) wurde der in der Probe verbliebene Rest an $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ bestimmt. Aus dem Verbrauch an $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ konnte auf den chemischen Sauerstoffbedarf der Probe zurückgeschlossen werden.

Dichte besiedelter MFGPs

Die Dichte im Lauf des CSTR-Versuchs frisch aus dem Reaktor entnommener besiedelter MFGPs wurde gravimetrisch nach einer hausinternen Methode bestimmt. Es wurde ein Pyknometer „Superior, 20 C°“ (Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen) mit einem Volumen von 50 mL verwendet. Die besiedelten MFGPs wurden in das Pyknometer gegeben, es wurde zuvor mit auf 20 °C temperiertem, deionisiertem Wasser gefüllt. Aus der Verdrängung des im Pyknometer enthaltenen Wassers konnte die Dichte der MFGPs berechnet werden. Dafür wurden die Massen der MFGPs, des Pyknometers, des komplett

mit Wasser gefüllten Pyknometern und des mit Wasser und MFGPs gefüllten Pyknometers bestimmt. Aus diesen Werten wurde die Massendifferenz des Wassers im Pyknometer berechnet, nachdem die MFGPS dazu gegeben wurden. Mit dem Wert der Dichte von Wasser (die Dichte beträgt $0,998203 \text{ g cm}^{-3}$ bei einer Temperatur von 20 °C) konnte das verdrängte Volumen berechnet werden. Aus dem verdrängten Volumen und der Masse der MFGPs wurde das Volumen der MFGPs berechnet.

FOS/TAC-Wert

Das Verhältnis von flüchtigen organischen Säuren zum Gesamtgehalt an anorganischem Kohlenstoff (FOS/TAC) wurde durch Titration mit 0,05 molarer Schwefelsäure gemäß der am Institut für Technologie und Biosystemtechnik der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig (FAL) entwickelten Methode bestimmt (Rieger, 2006).

Makroelemente (N, C, S, H)

Der Gehalt der Makroelemente N, C, S und H erfolgte nach der Dumas-Methode, wie im VDLUFA Methodenbuch Band 3, Kapitel 4.1.2 (VDLUFA, 2006) beschrieben. Verwendet wurde ein Elementaranalysator „Elementar vario EL III“ (Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau). Eine homogenisierte Probe wurde in Zinnfolie verpackt, gewogen und in den Teller des Probengebers des Analysators eingesetzt. Die Messung und Auswertung der Messdaten erfolgte automatisiert durch das Gerät und die geräteinterne Software. Im Messgerät fand eine katalytische Rohverbrennung unter Sauerstoffzufuhr und hohen Temperaturen statt. Die Verbrennungsgase wurden von störenden Fremdgasen gereinigt, Stickoxide (NO_x) und Schwefeloxide (SO_2/SO_3) wurden zu N_2 bzw. SO_2 reduziert, überschüssiger Sauerstoff wurde gebunden, flüchtige Halogenverbindungen wurden entfernt. Der Reaktionsgasstrom enthielt anschließend nur noch die Komponenten CO_2 , H_2O , SO_2 und N_2 im Trägergas Helium. Die jeweils gewünschten Messkomponenten wurden mit Hilfe von spezifischen Adsorptionssäulen voneinander getrennt und nacheinander mit einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor erfasst. Als Spül- und Trägergas diente Helium.

Mikroelemente (Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, V, Zn, Ti, Tl)

Die Konzentration der Mikroelemente (Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, V, Zn, Ti, Tl) wurde nach VDLUFA, Methodenbuch Band 3, Kapitel 10.8.2 (VDLUFA, 2006) mit Hilfe der ICP-OES-Methode bestimmt. Die Bestimmung erfolgte mit einem Messgerät vom Typ „iCAP 6000 Series, Typ: 1Cap 6300 Duo“ (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) und einem Autosampler „ASX – 520“ (Teledyne Cetac Technologies Inc., Omaha, USA), verwendet wurde der Pumpenschlauch-Typ Tygon Orange/ White. Für den Probenaufschluss, ein Nassaufschluss unter Druck nach VDLUFA,

Methodenbuch Band 3, Kapitel 10.8.1 (VDLUFA, 2006), wurde die Probe mit Hilfe einer Kugelmühle fein gemahlen. Anschließend wurde die Probe mit 69 %-iger Salpetersäure (HNO_3) versetzt und unter Druck in einer Hochdruck-Mikrowelle vom Typ „ultraClave-IV“ (MWS Mikrowellensysteme-Vertriebs GmbH, Leutkirch) behandelt. Die Feststoffe wurden danach gemäß VDLUFA, Methodenbuch Band 3, Kapitel 10.8.1 (VDLUFA, 2006) bei 4500 rpm für 5 Minuten abzentrifugiert. Die anschließende Messung erfolgte mit den Einstellungen: Spülpumprate und Analysepumprate des Mess- und Spülgases (Alphagz 1 Ar, Argon 99.999%) lagen bei 25 min^{-1} , die Stabilisierungszeit betrug 0s. Die Plasmabedingungen wurden wie folgt gewählt: Wellenbereich UV und Vis, HF-Leistung von 1250 W, Hilfsgasstrom von $1,5 \text{ L min}^{-1}$ und Zerstäubergasstrom von $0,5 \text{ L min}^{-1}$.

Milchsäure

Bei Proben der flüssigen Phase wurde die Konzentration an Milchsäure nach einer hausinternen Methode mit Hilfe der Hochleistungsflüssigchromatographie bestimmt, dafür wurde ein „DIONEX ULTIMATE 3000“ (Thermo Scientific Inc., Sunnyvale, USA) mit einer Säule vom Typ „Eurokat H“, Länge 300 mm, Durchmesser 8 mm, Filmdicke $10 \mu\text{m}$ (Knauer Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin), einem Detektor vom Typ „SHODEX RI-101“ (Showa Denko Inc., Tokio, Japan) und einem Autosampler „WPS-3000TSL Analytical“ (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) verwendet. Nach Filtration durch einen Einmalfilter „ $0,22 \mu\text{m}$ Glasfaser-Celluloseacetat, unsteril“ (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) wurde die Konzentration an Milchsäure bei einem Volumenstrom der mobilen Phase, $0,01 \text{ N H}_2\text{SO}_4$, von $0,8 \text{ mL min}^{-1}$, einem Druck von 65 bar, einer Temperatur von 35°C und einem Injektionsvolumen von $10 \mu\text{L}$ bestimmt. Messung und Auswertung der Messwerte erfolgten automatisiert durch die geräteinterne Software.

Proben der Zuckerrübensilage wurden mit Hilfe der gleichen Methode bestimmt, nur war hier vorab eine Kaltwasserextraktion notwendig. 50 g Probe wurden mit 200 mL destilliertem Wasser und 1 mL Toluol versetzt und über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt. Danach wurde die Probe wie oben beschrieben filtriert und gemessen.

Organische Säuren ($\text{C}_2\text{-C}_6$) und Alkohole (Methanol, Ethanol)

Die Konzentrationen an organischen Säuren ($\text{C}_2\text{-C}_6$) und Alkoholen (Methanol, Ethanol) sowie des Summenparameters Essigsäureäquivalent wurden gaschromatographisch nach einer hausinternen Methode bestimmt. Verwendet wurde ein Gerät vom Typ „VARIAN GC 8300“ mit Flammen-Ionisations-Detektor (FID) (Bruker Corporation, Billerica, USA) sowie eine Säule vom Typ „Permabond –FFAP“, Länge 30 m, Durchmesser $0,32 \text{ mm}$, Filmdicke $0,5 \mu\text{m}$ (spezielle Charge auf Anfrage bei Machery-Nagel GmbH & Co. KG, Düren) und ein Injektorsystem „Glasliner 4 mm“ mit silanisierter Glaswolle und ein Autosampler „CP –8400“

(Varian, Inc. Palo Alto USA; jetzt Agilent, Inc., Santa Clara, USA). Zur Probenvorbereitung wurden 5 g Probe mit 1 mL Carrez-Lösung 1, 1 mL Carrez-Lösung 2, 0,5 mL Phosphorsäure (H_3PO_4) und 2,5 mL H_2O gemischt, der entstehende Niederschlag wurde bei 4500 rpm für 10 Minuten abzentrifugiert. Die anschließende gaschromatographische Messung erfolgte mit den folgenden Einstellungen: der Trägergasstrom der mobilen Phase (He ECD Reinheit 99,999 %) lag bei 15 PSI, die Volumenströme der Brenngase (synthetische Luft und Wasserstoff ECD) und des Makeup Gases (Stickstoff ECD) wurden auf 300; 30 bzw. 25 mL min^{-1} eingestellt, die Temperaturen von Detektor und Injektor lagen bei 220 bzw. 240 °C, das Injektionsvolumen betrug 1 μL bei einem Split von 1:20. Das Injektionsprogramm bestand aus: 2 x Vorspülen mit 5 μL Wasser, 3 x Spülen mit 5 μL Probe, dem Injizieren von 1 μL Probe mit 1 μL Luft und 4 x Nachspülen mit 5 μL Wasser. Das Heizprogramm wurde wie folgt gewählt: die Starttemperatur betrug 60 °C mit einer Haltezeit von 0 min, mit einer Heizrate 5 °C min^{-1} wurde die Temperatur auf 160 °C erhöht und anschließend eine Haltezeit von 2 min eingehalten, danach wurde die Temperatur mit einer Heizrate von 15 °C min^{-1} auf 200 °C erhöht, die abschließende Haltezeit betrug 0 min. Die Berechnung der Konzentrationen an organischen Säuren und Alkoholen in der Probe erfolgte mit Hilfe eines Faktors der aus der gaschromatographischen Analyse einer Standardlösung bestimmt wurde.

pH-Wert und Leitfähigkeit LF

Der pH-Wert und die Leitfähigkeit (LF) der Proben wurden gemäß DIN 38 404-C5 und C8 (DIN 38 404-C5, 2009), (DIN 38 404-C8, 2009) mit Hilfe eines kombinierten Messgeräts „WTW pH/Cond 340i“ (WTW GmbH, Weilheim) bestimmt. An das Messgerät waren eine pH-Elektrode „WTW pH Electrode SenTix41“ (WTW GmbH, Weilheim) und eine Leitfähigkeitselektrode „WTW TetraCon 325“ (WTW GmbH, Weilheim) angeschlossen.

Gesamtgehalt an Phosphor P_{ges}

Der Gesamtgehalt an Phosphor wurde photometrisch mit einem Spektralphotometer „Cadas 200“ (Hach Lange GmbH, Düsseldorf) bestimmt. Vorab erfolgte eine Probenaufbereitung durch einen schwefelsauren Aufschluss auf Basis des Kjeldahl-Aufschluss, siehe unten. Die aufgeschlossene Probe wurde in Einmalküvetten pipettiert und mit konzentrierter Schwefelsäure (verdünnt im Verhältnis 1:10) und einer Phosphorsäurereagenz, bestehend aus 0,25 %-iger Ammoniumvanadatlösung und 10 %-iger Ammoniummolybdatlösung im Volumenverhältnis 1:1, versetzt. Anschließend wurde destilliertes Wasser dazugegeben und die Probe über Nacht im Dunkeln inkubiert. Während der Inkubationszeit kam es zur Umsetzung der Probe mit Molybdat-Vanadat in der salpetersauren, ammoniumhaltigen Lösung. Die photometrische Messung der Probe erfolgte im Anschluss an die Inkubationszeit.

Mit dieser Methode wurde der Gehalt an Phosphat (PO_4) bestimmt, die in der Probe enthaltene Konzentration an Phosphor wurde daraus stöchiometrisch berechnet.

Stickstoffgehalt nach Kjeldahl $N_{\text{Kjeld.}}$

Der Stickstoffgehalt nach der Methode von Kjeldahl ($N_{\text{Kjeld.}}$) wurde gemäß VDLUFA Methodenbuch Band 3, Kapitel 4.1.1 (VDLUFA, 2006) und DIN EN 25663 (DIN EN 25663, 1993) bestimmt. Bei der Bestimmung des Stickstoffgehalts nach dieser Methode wurden alle in der Probe vorhandenen Bindungsformen des Stickstoffs als Summe aus dem organisch gebundenen Stickstoff, dem Ammoniumstickstoff (nur gering, da sehr flüchtig) sowie dem Nitrat-Stickstoff ermittelt. Diese Methode bestand aus einem Büchi-Aufschluss (Zugabe von Schwefelsäure und stufenweises Erhitzen der Proben auf 400 °C) und einer Wasserdampfdestillation. Durch den Aufschluss wurde Stickstoff aus Eiweißen, Harnstoff, Amiden, Aminen, Ammoniumsalzen, Nitraten usw. in Ammoniumsulfat umgewandelt. Der Stickstoff wurde nach einer Wasserdampfdestillation überführt und titrimetrisch bestimmt. Für den Aufschluss und die Wasserdampfdestillation wurden teilautomatisierte Geräte der Firma Büchi (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Schweiz) verwendet.

Trockensubstanz TS, organische Trockensubstanz oTS

Die Gehalte an Trockensubstanz (TS) und organischer Trockensubstanz (oTS) wurden gravimetrisch gemäß VDLUFA Methodenbuch Band 3, Kapitel 3.5 (VDLUFA, 2006) und DIN EN 12880 S 2a (DIN EN 12880 S 2a, 2001) bestimmt. Für die Bestimmung des TS-Gehalts wurden die Proben bis zur Gewichtskonstanz, mindestens 15 Stunden bei 105 °C in einem Trockenschrank getrocknet. Zur Bestimmung des oTS-Gehalts wurden die Proben anschließend im Muffelofen bei 550 °C verascht, der Rückstand (Asche) wurde danach ausgewogen. Der Rückstand wurde vom TS-Gehalt abgezogen, um den oTS-Gehalt zu erhalten.

Zuckergehalt

Die Bestimmung der Konzentration von Mono- und Disacchariden erfolgte nach einer hausinternen Methode. Die Mono- und Disaccharide Fructose, Glucose und Saccharose wurden zunächst mit Carrez-Lösung aus der getrockneten Probe ausgefällt. Die mit Reinstwasser verdünnten Proben wurden anschließend über einen Einmalfilter „0,22 µm Glasfaser-Celluloseacetat, unsteril“ (Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen) gedrückt und über eine Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC) mit einem Gerät vom Typ „ULTIMATE 3000“ (ThermoFisher Scientific Inc., Waltham, USA) analysiert. Das Gerät war mit einer Säule vom Typ „Eurokat H“, Länge 300 mm, Durchmesser 8 mm, Filmdicke 10 µm (KNAUER Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin), einem Detektor vom Typ „SHODEX RI-101“ (Showa Denko Inc., Tokio, Japan) und einem Autosampler „WPS-3000TSL Analytical“

(Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) ausgestattet. Die Messung erfolgte bei einem Volumenstrom der mobilen Phase (0,01 N Schwefelsäure (H_2SO_4)) von $0,8 \text{ mL min}^{-1}$, einem Druck von 65 bar, einer Temperatur von $35 \text{ }^\circ\text{C}$ und einem Injektionsvolumen von $10 \text{ }\mu\text{L}$. Messung und Auswertung der Messwerte erfolgten automatisiert durch die geräteinterne Software.

2.3.2 Mikrobiologische Analytik (qPCR und Mikroskopie)

Die mikrobiologische Analytik bestand aus einer molekularbiologischen Analyse mit Hilfe der qPCR-Methode und mikroskopischer Analysen. Für die mikroskopischen Analysen wurden zwei unterschiedliche Verfahren verwendet, die Fluoreszenzmikroskopie und die Laserscanningmikroskopie.

qPCR

Die molekularbiologische Analyse erfolgte mit Hilfe der quantitative real-time polymerase chain reaction (q-PCR) Methode. Es wurde das Vorkommen der Domänen Archaea (*Methanosarcina barkeri* diente als Referenz) und Bacteria (*Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* diente als Referenz) bestimmt. Die Domäne der Archaea konnte durch die Quantifizierung hinsichtlich der hydrogenotrophen Ordnungen Methanobacteriales (M bac) und Methanomicrobiales (M micr), sowie der acetoklastischen Familie Methanosaetaceae (M saet) und der fakultativ hydrogenotrophen oder acetoklastischen Familie Methanosarcinaceae (M sc) aus der Ordnung Methanosarcinales untergliedert betrachtet werden. Die Vorbereitung für die qPCR-Methode bestand aus den folgenden Teilschritten: die Isolation der DNA aus der flüssigen Phase bzw. aus dem Biofilm auf den magnetisierbaren Aufwuchsträgern (MFGPs), die Herstellung und Isolation eines Standard-Plasmids und die DNA-Vorquantifizierung. Betrachtet wurden charakteristische Fragmente des 16S rRNA-Gens, diese wurden in Form der Anzahl der vorhandenen Genkopien pro g FM bestimmt. Die Anzahl der Genkopien kann mit dem Vorkommen verschiedener Mikroorganismen in der Probe in Relation gesetzt werden.

Zur Isolation der DNA aus den zu analysierenden Proben wurde ein „PowerSoil – DNA Isolation Kit“ (MOBIO Laboratories, Inc., Carlsbad, USA) sowie das Gerät „FastPrep 24“ (MP-Biomedicals Inc., Santa Ana, USA) verwendet. Es wurden $200 \text{ }\mu\text{L}$ der flüssigen Phase eines Versuchsansatzes bzw. 200 mg besiedelte MFGPs in die Reaktionsgefäße („PowerBead Tubes“) des Kits gegeben. Das Verfahren bestand aus der Freilegung der DNA durch Zerstörung der in der Probe enthaltenen Zellen und Aufreinigung der DNA durch

Zentrifugation unter Verwendung der im Kit enthaltenen Chemikalien. Die Durchführung erfolgte entsprechend der vom Hersteller beigefügten Anleitungen.

Die Plasmidherstellung und -isolation diente zur Erstellung einer Kalibriergeraden. Für jede 16S rRNA-Gensequenz, die detektiert werden sollte, mussten entsprechende Plasmide, die das Zielgen enthalten, hergestellt werden. Die Aufreinigung der Plasmide erfolgte nach dem Macherey-Nagel Protokoll, mit der einzigen Ausnahme, dass im Elutionsschritt 30 µL Buffer AE statt der empfohlenen 50 µL eingesetzt wurden. Die Linearisierung der Plasmide erfolgte nach einem von Nettmann et al. (Nettmann, 2008) am ATB erarbeiteten Linearisierungsprotokoll. Zur abschließenden Aufreinigung der linearisierten Plasmide wurde das Kit „Plasmid DNA Purification NucleoSpin Plasmid“ (Qiagen N.V., Venlo, Niederlande) entsprechend der beigefügten Anleitung verwendet.

Für die DNA-Vorquantifizierung wurden ein „Nanodrop ND-3300 Fluorospectrometer“ (Thermo Scientific Inc., Sunnyvale, USA) und der in die DNA interkalierende Farbstoff „Pico Green“ (Invitrogen/Life Technologies Inc., Carlsbad, USA) verwendet. Die Berechnung der Kopienzahl der Plasmide (in Moleküle je L) erfolgte mit Hilfe des durch die Nanodropanalyse ermittelten DNA-Gehalts. Dafür wurde der ermittelte DNA-Gehalt (in g L^{-1}) durch die Molekülmasse des Plasmids (in g mol^{-1}) geteilt und anschließend mit der Avogadro-Konstante ($6,022 \times 10^{23} \text{ L mol}^{-1}$) multipliziert. Die Molekülmasse ergab sich aus der Länge des Moleküls (Länge des PCR-Produkts des Zielgens plus Vektorlänge) in Basenpaaren multipliziert mit der durchschnittlichen Molmasse eines Basenpaares (660 g mol^{-1}). Die Plasmide wurden danach für den Einsatz in der qPCR auf eine Konzentration von 10^9 Molekülen je µL eingestellt.

Bei der qPCR wurden der cycler „Q-PCR ABI 7300“ (Applied Biosystems/Life Technologies Inc., Carlsbad, USA) und TaqMan-Sonden sowie forward und reverse Primer (Eurofins MWG Synthesis GmbH, Ebersberg) verwendet. Die Auswahl der verwendeten Primer-Sets und Sonden erfolgte nach Yu et al. (2005) und Yu et al. (2006), im Folgenden werden die Sequenzen der Primer und Sonden aufgelistet.

Bacteria

Bac fw	ACTCCTACGGGAGGCAG
Bac Taqman	TGCCAGCAGCCGCGGTAATAC
Bac rev	GACTACCAGGGTATCTAATCC

Archaea

Arch fw	ATTAGATACCCSBGTAGTCC
Arch Taqman	AGGAATTGGCGGGGGAGCAC
Arch rev	GCCATGCACCCWCCTCT

Methanobacteriales

Mbac fw	CGWAGGGAAGCTGTTAAGT
Mbac Taqman	AGCACCACAACGCGTGGA
Mbac rev	TACCGTCGTCCACTCCTT

Methanosaetaceae

Msaet fw	TAATCCTYGARGGACCACCA
Msaet Taqman	ACGGCAAGGGACGAAAGCTAGG
Msaet rev	CCTACGGCACCRCMAC

Methanosarcinaceae

Msc fw	GAAACCGYGATAAGGGGA
Msc Taqman	TTAGCAAGGGCCGGGCAA
Msc rev	TAGCGARCATCGTTTACG

Methanomicrobiales

Mmicr fw	ATCGRTACGGGTGTGGG
Mmicr Taqman	TYCGACAGTGAGGRACGAAAGCTG
Mmicr rev	CACCTAACGCRCATHGTTTAC

Der qPCR-Ansatz (jeweils 25 µL) bestand aus 5,5 µL destilliertem Wasser, 12,5 µL „TaqMan Universal PCR Master Mix“ (Applied Biosystems/Life Technologies Inc., Carlsbad, USA), 2,25 µL forward Primer, 2,25 µL reverse Primer und 0,5 µL Taqman. Diese Zusammensetzung entsprach der von Nettmann et al. (Nettmann, 2008) am ATB erarbeiteten Methodik. Die qPCR-Ansätze wurden auf eine 96-Well-Mikrotiterplatte gegeben. Zu einem qPCR-Ansatz wurden je 2 µL destilliertes Wasser (als Nullwert) bzw. 2 µL (entspricht 500 pg) Proben-DNA oder 2 µL Plasmid gegeben. Das Standard-Plasmid wurde in Konzentrationen von 10^1 bis 10^9 Molekülen bzw. Genkopien je Liter verdünnt. Jede Analyse wurde in dreifacher Parallelausführung durchgeführt. Nach einer Anzentrifugation für 2 Minuten bei

360 rpm wurde die Mikrotiterplatte in das qPCR-System übertragen und der Lauf gestartet. Dabei wurden die im Folgenden dargestellten Temperaturprogramme gewählt, entsprechend der von Nettmann et al. (Nettmann, 2008) am ATB erarbeiteten Methodik.

Bacteria

2 min 50 °C, 10 min 95 °C und 50 Zyklen aus: 15 sec 95 °C, 30 sec 57 °C und 1 min 60 °C

Archaea

2 min 50 °C, 10 min 95 °C und 45 Zyklen aus: 15 sec 95 °C und 1 min 60 °C

Methanobacteriales

2 min 50 °C, 10 min 95 °C und 45 Zyklen aus: 15 sec 95 °C, 30 sec 54 °C und 1 min 60 °C

Methanosaetaceae

2 min 50 °C, 10 min 95 °C und 50 Zyklen aus: 15 sec 95 °C, 30 sec 50 °C und 1 min 60 °C

Methanosarcinaceae

2 min 50 °C, 10 min 95 °C und 50 Zyklen aus: 15 sec 95 °C, 30 sec 50 °C und 1 min 60 °C

Methanomicrobiales

2 min 50 °C, 10 min 95 °C und 45 Zyklen aus: 15 sec 95 °C, 30 sec 57 °C und 1 min 60 °C

Zur Auswertung der Ergebnisse der qPCR wurde das Programm „7300 Real-Time PCR System Sequence Detection Software, Version 1.3“ (Applied Biosystems/Life Technologies Inc., Carlsbad, USA) verwendet. Um die Qualität der qPCR-Analyse sicherzustellen, sollten die Parameter Slope und Reaction Efficiency (Reaction Efficiency = $(10^{-1/\text{Slope}} - 1) \times 100 \%$) der Standardkurven Werte im Rahmen von -3,9 bis -3,0 bzw. 80,5 bis 115,5 % aufweisen. Das Bestimmtheitsmaß sollte über 0,95 liegen. (Bergmann et al., 2010) Diese Bedingungen wurden bei allen durchgeführten Analysen erfüllt.

Fluoreszenzmikroskopie

Bei der Fluoreszenzmikroskopie erfolgte eine indifferente Anfärbung von Mikroorganismenzellen mit Hilfe des grün fluoreszierenden Farbstoffs „SYTO13“ (Molecular Probes, Oregon, USA), außerdem wurde die blau (tlw. grün) erscheinende Autofluoreszenz methanogener Mikroorganismen (Archaeen) genutzt. Die ursprüngliche 5 mM Stammlösung des SYTO 13 Farbstoffs wurde vor Gebrauch im Verhältnis 1/10 mit Dimethylsulfit (DMSO) (Fluka/Sigma-Aldrich, St. Louis, USA,) verdünnt, um eine 500 µM SYTO 13 Gebrauchslösung zu erhalten. Der SYTO 13 Farbstoff weist ein Anregungsspektrum von 470 bis 495 nm und ein Emissionsspektrum von 510 bis 550 nm auf. Die Autofluoreszenz wurde durch Anregung des

von bestimmten Archaeen produzierten fluoreszierenden Coenzym F_{420} (Rosenwinkel, 2015) durch Licht mit einer Wellenlänge von 330 bis 385 nm erreicht.

Die Anfärbung der entnommenen und gewaschenen MFGPs, siehe Abschnitt 2.1.3.3 und 2.2.3.3, erfolgte in einem 2 mL Mikroreaktionsgefäß („Safelock-Eppendorfgefäß“). Dieses Gefäß war mit ca. 0,5 mL MFGPs und Leitungswasser gefüllt. In das randvoll gefüllte Reaktionsgefäß wurden 4,64 μ L der SYTO 13 Gebrauchslösung gegeben, die Endkonzentration des Farbstoffs entsprach demnach 1 μ M (unter Einbeziehung des maximalen Füllvolumens des Eppendorfgefäßes von 2,32 mL). Die Probe wurde nach Zugabe des Farbstoffs durch Schwenken durchmischt und 10 Minuten im Dunkeln inkubiert. Nach Ablauf der Färbezeit wurden die MFGPs im Reaktionsgefäß zwei Mal mit Leitungswasser gewaschen, um überschüssigen Farbstoff zu entfernen. Die MFGPs wurden dabei mit Hilfe eines Magneten im Reaktionsgefäß zurück gehalten.

Die Mikroskopie der gefärbten MFGPs erfolgte in Kammerobjektträgern „Micro Life“ (Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co. KG, Sondheim). Bei den verwendeten Objektträgern handelte es sich um eine Sonderanfertigung mit einer Kammertiefe von 1,5 mm. Eine Abdeckmaske aus mit einem speziellen schwarzen Lack behandeltem Stahlblech, eine Eigenanfertigung im Auftrag von Frau Elisabeth Neitmann (Neitmann, 2011), verhinderte eine Störung der mikroskopischen Analyse durch Streulicht. Die gefärbten MFGPs wurden in den Objektträger überführt, der Objektträger wurde anschließend mit Leitungswasser aufgefüllt, mit der Maske abgedeckt und mikroskopiert.

Die Mikroskopie erfolgte mit Hilfe eines „Olympus BX 51“ (Olympus Corporation, Tokio, Japan) mit der Lichtquelle „X-Cite Series 120 Q“ (Lumen Dynamics Group Inc., Mississauga, Kanada) und der Software „cell[^]F Version 3.4“ (Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Münster). Die Mikroskopie erfolgte in der Reihenfolge: differential interference contrast (DIC), Anregung der Autofluoreszenz und Anregung des SYTO 13 Farbstoffs. Die Anregung erfolgte mit Hilfe einer Quecksilberdampflampe, das Spektrum dieser Lampe konnte mit der Filtereinheit des Mikroskops geteilt werden.

Laserscanningmikroskopie

Bei der Laserscanningmikroskopie (LSC) wurden eine Anfärbung von extrazellulärer polymerer Substanzen (EPS) mit Hilfe des Lectin-gebundenem Farbstoffs „AlexaFluor 488“ (Invitrogen/Life Technologies Inc., Carlsbad, USA) und eine indifferente Anfärbung von Mikroorganismenzellen mit Hilfe des DNA-Farbstoffs „SYTO 60“ (Invitrogen/Life Technologies Inc., Carlsbad, USA) durchgeführt. AlexaFluor488 erschien bei den mikroskopischen Untersuchungen grün, SYTO 60 rot. Der verwendete Farbstoff AlexaFluor

488 musste vor Gebrauch an das Protein „*Auleria Aurantia* Lectin“ (Axxora/Enzo Life Sciences Inc., Farmingdale, USA) gebunden werden, damit eine Anlagerung des Farbstoffs an EPS möglich ist. Die Anbindung bzw. das Labeling des Farbstoffes an das Lectin erfolgte durch das molekularbiologische Labor des ATB. Die fertige Gebrauchslösung sollte eine Konzentration von 0,4 bis 0,9 mol AlexaFluor 488 je mol Lectin aufweisen. Beim Labeling wurden unterschiedliche Qualitäten erreicht. Der gelabelte Farbstoff wurde deshalb vor Gebrauch entsprechend mit Leitungswasser verdünnt, um eine Gebrauchslösung mit der Soll-Konzentration zu erhalten. Die ursprüngliche 5 mM Stammlösung des verwendeten SYTO 60 Farbstoffs wurde im Verhältnis 1:1000 mit Leitungswasser verdünnt, um eine SYTO 60 Gebrauchslösung zu erhalten. Die verwendeten Farbstoffe wiesen Anregungswellenlängen von 488 nm (AlexaFluor 488) bzw. 633 nm (SYTO 60) auf, die Emission lag bei 519 nm bzw. 681 nm.

Mit Hilfe der Laserscanningmikroskopie wurden in der Regel drei MFGPs je Probenahme analysiert. Die MFGPs wurden mit Hilfe einer Silikonpaste „SCRINTEC Silikonkautschuk RTV-1K“ (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) auf dem Boden einer Kunststoff-Petrischale mit einem Durchmesser von 60 mm (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) fixiert. Auf die fixierten MFGPs wurden jeweils 20 µL der AlexaFluor 488 Gebrauchslösung gegeben, anschließend erfolgte eine Inkubation über 20 Minuten im Dunkeln. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde der Farbstoff entfernt und die Aufwuchsträger wurden vier Mal mit jeweils 50 µL Leitungswasser gewaschen, das Leitungswasser wurde direkt auf die MFGPs pipettiert. Nach der Wäsche wurden jeweils 50 µL der SYTO 60 Gebrauchslösung auf die MFGPs gegeben und sie wurden für weitere 20 Minuten im Dunkeln inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die MFGPs in der Petrischale mit Leitungswasser übergossen.

Die Mikroskopie der MFGPs erfolgte direkt in der Petrischale. Die Petrischale konnte dafür in eine passende Aussparung des Mikroskoptischs gestellt werden, durch die Verwendung eines Eintauchobjektivs konnte das Leitungswasser in der Petrischale verbleiben. Es wurden ein konfokales Laserscanningmikroskop vom Typ „Leica DM 6000 CS“ (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar) und die Software „LAS AF (Leica Application Suite Advanced Fluorescence) Version 2.3.1“ (Leica Microsystems CMS GmbH, Mannheim) verwendet. Zur Anregung dienten der Argon-Laser (488 nm) und der He/Ne-Laser (633 nm) des Mikroskops, die Intensität der Laser wurde auf 11 % eingestellt. Die Aufnahmen erfolgten in Form eines Z-Stapels.

2.4 Berechnungen

Im Folgenden werden die Berechnungen erläutert, die zur Auswertung der Ergebnisse verwendet wurden. Einige Berechnungen waren dabei speziell an die jeweiligen Versuche (KTVA-Versuche bzw. CSTR-Versuch) angepasst.

Korrektur des TS-Gehaltes TS_{korr}

Das verwendete Substrat Zuckerrübensilage enthält einen bestimmten Anteil an leicht flüchtigen organischen Substanzen. Diese werden im analytisch bestimmten Trockensubstanzgehalt (TS) des Substrats nicht erfasst. Da die leicht flüchtigen organischen Substanzen im anaeroben Abbauprozess ebenfalls umgesetzt werden, kann der TS-Gehalt ohne Korrektur der leicht flüchtigen Bestandteile eine verfälschte Bezugsgröße darstellen (Weißbach, 2008).

Wenn das eingesetzte Substrat einen hohen Gehalt an leicht flüchtigen organischen Substanzen aufweist, sollte der Trockensubstanzgehalt nach der folgenden Formel korrigiert werden:

$$TS_{\text{korr}} = TS + 0,95 \cdot \sum \text{FFS - Säuren} + 1,00 \cdot \sum \text{Alkohole} + 0,08 \cdot MS \quad (1)$$

TS_{korr}	korrigierter TS-Gehalt des Substrats ($\text{g kg}_{\text{FM}}^{-1}$)
TS	analytisch bestimmter TS-Gehalt des Substrats (% FM), umgerechnet in ($\text{g kg}_{\text{FM}}^{-1}$)
$\sum \text{FFS - Säuren}$	Summe der im Substrat enthaltenen flüchtigen Fettsäuren FFS ($\text{g kg}_{\text{FM}}^{-1}$)
$\sum \text{Alkohole}$	Summe der im Substrat enthaltenen Alkohole Ethanol und Propanol ($\text{g kg}_{\text{FM}}^{-1}$)
MS	Milchsäuregehalt des Substrats ($\text{g kg}_{\text{FM}}^{-1}$)

Raumbelastung OLR

Definiert wird die Raumbelastung (organic loading rate OLR) als täglich zugeführte Menge an organischer Substanz bezogen auf das Reaktorvolumen, siehe Gl. (2).

$$OLR = \frac{\dot{m}_{oS}}{V_R} \quad (2)$$

OLR oS-Raumbelastung ($\text{kg}_{oS} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$)

$\dot{m}_{oS}$ oS-Zulaufmassenstrom ($\text{kg}_{oS} \text{ d}^{-1}$)

V_R wirksames Volumen des Versuchsansatzes (m^3)

Der oS-Zulaufmassenstrom kann mit Gl. (3) berechnet werden:

$$\dot{m}_{oS} = \dot{m}_{FM} \cdot oS \quad (3)$$

$\dot{m}_{oS}$ täglicher oS-Zulaufmassenstrom ($\text{kg}_{oS} \text{ d}^{-1}$)

$\dot{m}_{FM}$ täglicher Zulaufmassenstrom der Frischmasse ($\text{kg}_{FM} \text{ d}^{-1}$), siehe Gl. (5)

oS Gehalt der organischen Substanz des Substrats, berechnet mit Hilfe des TS_{korrr} ($\text{kg}_{oS} \text{ kg}_{FM}^{-1}$), siehe Gl. (4).

$$oS = oTS \cdot \frac{TS_{\text{korrr}}}{100} \quad (4)$$

oTS analytisch bestimmter oTS-Gehalt des Substrats (% TS),
umgerechnet in (g kg_{TS}^{-1})

Zulaufmassenstrom der Frischmasse

Die als Regelgröße dienende Substratzugabemenge ergibt sich aus dem angestrebten Wert der Raumbelastung, dem Reaktorvolumen und dem oS-Wert des eingesetzten Substrats, siehe Gl. (5).

$$\dot{m}_{FM} = \frac{V_R \cdot OLR}{oS} \quad (5)$$

$\dot{m}_{FM}$ täglicher Zulaufmassenstrom der Frischmasse ($\text{kg}_{FM} \text{ d}^{-1}$)

V_R wirksames Nutzvolumen des Versuchsansatzes (m^3)

OLR	oS-Raumbelastung ($\text{kg}_{\text{oS}} \text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$)
oS	Gehalt der organischen Substanz des Substrats berechnet mit Hilfe des $\text{TS}_{\text{kor}}^{\text{r}}$ nach Gl. (4) ($\text{kg}_{\text{oS}} \text{kg}_{\text{FM}}^{-1}$)

Wenn die Beschickung nicht täglich, sondern in einem anderen Intervall erfolgen soll, muss der Wert der täglichen Substratzugabemenge mit der Dauer des Beschickungsintervalls multipliziert werden, um die jeweilige Substratzugabemenge für das Beschickungsintervall zu berechnen, siehe Gl. (6).

$$m_{\text{FM},\text{D}} = \frac{V_{\text{R}} \cdot \text{OLR}}{\text{oS}} \cdot D \quad (6)$$

$m_{\text{FM},\text{D}}$	Frischmassezugabe in einem Beschickungsintervall (kg_{FM})
--------------------------	--

V_{R}	wirksames Volumen des Versuchsansatzes (m^3)
----------------	---

OLR	oS-Raumbelastung ($\text{kg}_{\text{oS}} \text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$)
-----	--

oS	Gehalt der organischen Substanz des Substrats berechnet mit Hilfe des $\text{TS}_{\text{kor}}^{\text{r}}$ nach Gl. (4) ($\text{kg}_{\text{oS}} \text{kg}_{\text{FM}}^{-1}$)
----	---

D	Dauer des Beschickungsintervalls (d)
---	--------------------------------------

Die oS-Zugabe $m_{\text{oS},\text{D}}$ im Beschickungsintervall kann durch Multiplikation von $m_{\text{FM},\text{D}}$ mit dem oS-Gehalt (% FM) berechnet werden.

mittlere hydraulische Verweilzeit t_{r}

Die Aufenthaltsdauer des zugeführten Substrats im Versuchsansatz wird durch die mittlere hydraulische Verweilzeit charakterisiert, siehe Gl. (7).

$$t_{\text{r}} = \frac{V_{\text{R}}}{\dot{V}_{\text{E}}} \quad (7)$$

t_{r}	mittlere hydraulische Verweilzeit (d)
----------------	---------------------------------------

V_{R}	wirksames Volumen des Reaktors bzw. des Versuchsansatzes (m^3)
----------------	---

$\dot{V}_{\text{E}}$	Volumenstrom des entnommenen Gärrests ($\text{m}^3 \text{d}^{-1}$)
----------------------	--

Volumen des gebildeten Biogases V_{Biogas} (KTVA-Versuche)

Das Volumen des in einem bestimmten Analyseintervall Δt gebildeten Biogases wird folgendermaßen bestimmt. Die Länge, die der Kolben aus dem Zylinder der Spritze herausragt, wird am Anfang und am Ende des Zeitintervalls gemessen. Die Längendifferenz multipliziert mit der inneren Querschnittsfläche des Spritzenzylinders ergibt das Volumen des vom Versuchsansatz in der Spritze gebildeten Biogases, siehe Gl. (8).

$$V_{\text{Biogas}, \Delta t} = (l_{t2} - l_{t1}) \cdot ASZ_i \quad (8)$$

$V_{\text{Biogas}, \Delta t}$	in einem bestimmten Analyseintervall gebildetes Biogasvolumen (mm ³)
l_{t1}	Länge, die der Kolben der Spritze aus dem Zylinder der Spritze am Anfang des Analyseintervalls Δt herausragt (mm)
l_{t2}	Länge, die der Kolben der Spritze aus dem Zylinder der Spritze am Ende des Analyseintervalls Δt herausragt (mm)
ASZ_i	innere Querschnittsfläche des Zylinders der Spritze (mm ²) = 913,27 mm ²

Volumen des gebildeten Biogases V_{Biogas} (CSTR-Versuch)

Beim CSTR-Versuch wurde zur Erfassung der Biogasbildung ein Trommelgaszähler verwendet, siehe Abschnitt 2.2.2.3. Dieser wurde einmal täglich abgelesen. Das Volumen des im Analyseintervall, hier ein Tag, gebildeten Biogases $V_{\text{Biogas}, \Delta t}$ (Einheit hier: L) kann direkt aus der Differenz der Zählerstände des Trommelgaszählers berechnet werden.

Volumen des gebildeten Methans V_{CH_4}

Das Volumen des in einem bestimmten Analyseintervall Δt gebildeten Methans wird aus dem Volumen des in diesem Intervall gebildeten Biogas, bei KTVA-Versuchen berechnet nach Gl. (8), und dem ermittelten Methangehalt des Biogases berechnet, siehe Gl. (9).

$$V_{\text{CH}_4, \Delta t} = \frac{V_{\text{Biogas}, \Delta t}}{100} \cdot c_{\text{CH}_4} \quad (9)$$

$V_{\text{CH}_4, \Delta t}$	in einem bestimmten Analyseintervall gebildetes Methanvolumen (mm ³) bzw. (L)
-----------------------------	--

$V_{\text{Biogas}, \Delta t}$	in einem bestimmten Analyseintervall gebildetes Biogasvolumen (mm^3) bzw. (L)
c_{CH_4}	am Ende des Analyseintervalls gemessener Methangehalt des gebildeten Biogases (%)

Methangehalt gemittelt über Beschickungsintervall $c_{\text{CH}_4, D}$ (nur bei KTVA-Versuchen)

Bei den KVTa-Versuchen war ein Beschickungsintervall (eine Woche) in mehrere Analyseintervalle unterteilt, siehe Tabelle 11 in Abschnitt 2.1.3.3. Bei der Messung des Methangehalts zu den einzelnen Analyseintervallen treten Schwankungen auf. Um diese Schwankungen auszugleichen, wird der Methangehalt des in den Versuchsansätzen gebildeten Biogases auf das gesamte Beschickungsintervall bezogen, siehe Gl. (10). Die Vergleichbarkeit der Methangehalte der verschiedenen Versuchsansätze kann somit erhöht werden. Der auf diese Weise gemittelte Methangehalt wird nicht zur Berechnung weiterer Ergebnisse sondern nur zum Vergleich der Versuchsansätze verwendet.

Zur Berechnung des Mittelwerts über das Beschickungsintervall werden die erfassten Daten jedes Analyseintervalls Δt innerhalb des Beschickungsintervalls addiert. Das über dem Beschickungsintervall gebildete Methanvolumen nach Gl. 9 wird auf das gebildete Biogasvolumen nach Gl. 8 bezogen.

$$c_{\text{CH}_4, D} = \frac{(V_{\text{CH}_4, t_2-t_1}) + (V_{\text{CH}_4, t_3-t_2}) + \dots + (V_{\text{CH}_4, t(X+1)-tX})}{(V_{\text{Biogas}, t_2-t_1}) + (V_{\text{Biogas}, t_3-t_2}) + \dots + (V_{\text{Biogas}, t(X+1)-tX})} \cdot 100\% \quad (10)$$

$c_{\text{CH}_4, D}$	Mittelwert des Methangehalts des in den Versuchsansätzen über dem Beschickungsintervall gebildeten Biogases (%)
$V_{\text{CH}_4, \Delta t}$	in einem bestimmten Analyseintervall gebildetes Methanvolumen ($\text{mm}^3 \text{ d}^{-1}$)
$V_{\text{Biogas}, \Delta t}$	in einem bestimmten Analyseintervall gebildetes Biogasvolumen ($\text{mm}^3 \text{ d}^{-1}$)

Bei den CSTR-Versuchen war das Beschickungsintervall wesentlich kürzer, das Analyseintervall war größer als das Beschickungsintervall, siehe Tabelle 13 in Abschnitt 2.2.3.3. Eine Mittelung des gemessenen Methangehalts über das Beschickungsintervall war

deshalb nicht möglich und zur Auswertung wurde der täglich gemessene Methangehalt verwendet.

Methanausbeute im Beschickungsintervall Methan-y (KTVA-Versuche)

Die Methanausbeute wird auf die im Beschickungsintervall, hier eine Woche, zugegebene oS-Menge bezogen. Die Methanausbeute kann nach Gl. (11) berechnet werden. Die im Beschickungsintervall gebildete Methanmenge wird aus der Aufsummierung der in allen Analyseintervallen innerhalb des Beschickungsintervalls ermittelten Methanvolumina bestimmt.

$$\text{Methan - y} = \frac{(V_{\text{CH}_4, t_2-t_1}) + (V_{\text{CH}_4, t_3-t_2}) + \dots + (V_{\text{CH}_4, t(X+1)-tX})}{m_{\text{oS}, D}} \quad (11)$$

Methan - y oS-Methanausbeute in den Versuchsansätzen über dem Beschickungsintervall (hier eine Woche) (L (kg oS)^{-1})

$V_{\text{CH}_4, \Delta t}$ in einem bestimmten Analyseintervall gebildetes Methanvolumen (L) nach Gl. (9)

$m_{\text{oS}, D}$ oS-Zugabe im Beschickungsintervall (kg_{FM}) nach Gl. (6)

Methanausbeute Methan-y (CSTR-Versuch)

Die Methanausbeute wird beim CSTR-Versuch ähnlich wie bei den KTVA-Versuchen berechnet. Als Beschickungsintervall wird ein Tag gewählt, da die Erfassung des gebildeten Biogasvolumens und die Bestimmung des Methangehalts des Biogases ebenfalls täglich erfolgten. Im Beschickungsintervall gibt es hier nur ein Analyseintervall, daraus ergibt sich die folgende Formel zur Berechnung der Methanausbeute, siehe Gl. (12).

$$\text{Methan - y} = \frac{(V_{\text{CH}_4, D})}{m_{\text{oS}, D}} \quad (12)$$

Methan - y oS-Methanausbeute über dem Beschickungsintervall (L (kg oS)^{-1})

$V_{\text{CH}_4, D}$ im Beschickungsintervall gebildetes Methanvolumen (L d^{-1}),
entspricht $V_{\text{CH}_4, \Delta t}$ nach Gl. (9)

$m_{\text{oS}, D}$ oS-Zugabe im Beschickungsintervall (kg_{FM}) nach Gl. (6)

Methanbildungsrate Methan-r (nur beim CSTR-Versuch)

Die Methanbildungsrate wird aus dem Verhältnis des Methanvolumenstroms im Analyseintervall und dem Reaktorvolumen zum Analysezeitpunkt berechnet, siehe Gl. (13).

$$\text{Methan - r} = \frac{V_{\text{CH}_4, \Delta t}}{\Delta t} \cdot \frac{1}{V_R} \quad (13)$$

Methan - r Methanbildungsrate (L L⁻¹ d⁻¹)

V_{CH₄,Δt} in einem bestimmten Analyseintervall gebildetes Methanvolumen (L)

Δt Dauer des Analyseintervalls (d)

V_R wirksames Volumen des Versuchsansatzes (m³)

Vereinheitlichung auf ein bestimmtes Zeitintervall

Für die Auswertung ist die Einhaltung eines konstanten Analyseintervalls bei der Datenerfassung notwendig, um die zeitliche Entwicklung der ermittelten Daten bzw. der daraus abgeleiteten Kenngrößen zu bestimmen.

Die genaue Einhaltung des gleichen Analyseintervalls ist bei der Datenermittlung nicht immer möglich, in diesem Fall können die ermittelten Daten auch nachträglich auf ein bestimmtes Standardzeitintervall Δt₀ bezogen werden. Die Daten können z.B. auf ein Standardzeitintervall von 24 Stunden bezogen werden, siehe Gl. (14).

$$X_{\Delta t, 0} = \frac{\Delta t, 0}{\Delta t} \cdot X_{\Delta t} \quad (14)$$

X_{Δt,0} Wert einer Messgröße, der innerhalb eines definierten
Standardzeitintervalls erreicht wurde

X_{Δt} Wert einer Messgröße, der innerhalb eines beliebigen Zeitintervalls
erreicht wurde

Δt Zeitintervall der Datenerfassung (h)

Δt, 0 Standardzeitintervall, z.B. 24 h

Mit Hilfe der Gl. (14) können alle zeitabhängigen Daten auf Standardzeitintervalle bezogen werden, Δt und Δt_0 müssen dabei immer in der gleichen Einheit angegeben sein.

Normierung des Gasvolumens

Die durchgeführten Versuche fanden nicht in einem abgeschlossenen System statt. Innerhalb der Laufzeit eines Versuchs waren die Umgebungsbedingungen (Luftdruck und Temperatur) deshalb nie konstant. Um die während des Versuchs ermittelten Gasvolumen vergleichen zu können, ist eine Normierung notwendig. Die Normierung dient auch dazu, Vergleiche mit den Ergebnissen aus anderen Versuchen zu ermöglichen. Das Gasvolumen wird dabei auf eine Temperatur von 0 °C bzw. 273,15 K und einen Luftdruck von 1013,25 mbar bezogen, siehe Gl. (15).

$$V_{\text{Norm,tr}} = V \cdot \frac{(p - p_{\text{H}_2\text{O}}) \cdot 273,15}{1013,25 \cdot (273,15 + T)} \quad (15)$$

$V_{\text{Norm,tr}}$	Volumen des trockenen Gases unter Normbedingungen (Norm-L)
V	Volumen des Gases unter Versuchsbedingungen (L)
p	Umgebungsluftdruck während der Bestimmung des Gasvolumens (mbar)
$p_{\text{H}_2\text{O}}$	Wasserdampfpartialdruck nach Gl. (16) (mbar)
T	Umgebungstemperatur während der Bestimmung des Gasvolumens (°C)

Der im Gas enthaltene Gehalt an Wasserdampf wird in Form des Wasserdampfpartialdrucks abgezogen, siehe Gl. (16) (Linke, 2006).

$$p_{\text{H}_2\text{O}} = -4,3965 + 9,7962 \cdot e^{0,0521 \cdot (T - 273,15)} \quad (16)$$

Trockenmasse der MFGPs TM_{MFGP}

Zum Ende der durchgeführten Versuche befanden sich auf den eingesetzten Aufwuchsträgern Mikroorganismen, die in einem Biofilm leben. Um verschiedene Aufwuchsträgermuster hinsichtlich der Biofilmbildung vergleichen zu können, wird als gemeinsame Bezugsgröße die Trockenmasse gewählt, die die MFGPs zum Ende des jeweiligen Versuchs aufwiesen. Durch den Bezug auf die Trockenmasse sind auch praktische Aussagen dazu möglich, welche Menge an trockenen unbesiedelten

Aufwuchsträgern zum Versuchsbeginn in ein System eingesetzt werden muss, um eine Mikroorganismenpopulation in einer bestimmten Höhe zu immobilisieren. Die Trockenmasse der MFGPs wurde nach der folgenden Gleichung berechnet:

$$TM_{MFGP} = (100 - (oTS_{MFGP} - \text{"Schein"} - oTS_{MFGP})) \cdot \frac{TS_{MFGP}}{100} \quad (17)$$

TM_{MFGP} Massenanteil trockener MFGPs in einer frischen Probe
besiedelter MFGPs ($g\ kg_{FM}^{-1}$)

oTS_{MFGP} oTS-Gehalt einer frischen Probe besiedelter MFGPs ($g\ kg_{TS}^{-1}$)

"Schein"- oTS_{MFGP} „Schein“-oTS Gehalt der MFGPs, siehe Abschnitt 2.1.2.1
(% TS) bzw. ($g\ kg_{TS}^{-1}$)

TS_{MFGP} TS-Gehalt einer frischen Probe besiedelter MFGPs ($g\ kg_{FM}^{-1}$)

Rückhaltegrad der MFGPs RG_{MFGP} (nur beim CSTR-Versuch)

Der Rückhaltegrad der MFGPs im Reaktor wird aus dem Verhältnis aus der am Ende des Versuchs noch im Reaktor befindlichen Menge an MFGPs zur ursprünglich in den Reaktor eingebrachten Menge an MFGPs berechnet, siehe Gl. (18).

$$RG_{MFGP} = \frac{m_{MFGP, \Delta t}}{m_{MFGP, 0}} \cdot 100\% \quad (18)$$

RG_{MFGP} Rückhaltegrad der MFGPs im Reaktor über die Laufzeit
des Versuchs (%)

$m_{MFGP, \Delta t}$ Masse trockener MFGPs zum Versuchsende (g)

$m_{MFGP, 0}$ Masse trockener MFGPs zum Versuchsbeginn (g), hier 800 g

Während der Laufzeit des Versuchs wurde der Reaktorinhalt durch die Zufuhr von neuem Substrat und die dafür notwendige Entnahme von Gärrest mehrere Male ausgetauscht. Die Anzahl wie oft der Reaktorinhalt ausgetauscht wurde ($n_{Austausch}$) kann nach Gl. (19) berechnet werden.

$$n_{Austausch} = \frac{\sum V_{Gärrest, \Delta t}}{V_{R, MW \Delta t}} \quad (19)$$

$n_{\text{Austausch}}$	Anzahl des Austauschs des Reaktorinhalts während der Laufzeit des Versuchs (-)
$\sum V_{\text{Gärrest}, \Delta t}$	Gesamt volumen der Gärrestentnahme aus dem Reaktor während der Laufzeit des Versuchs (L)
$V_{\text{R}, \text{MW } \Delta t}$	Nutzvolumen des Reaktors, gemittelt über die Laufzeit des Versuchs (L)

Die im Reaktorinhalt enthaltenen MFGPs wurden entsprechend der Gärrestentnahme ebenfalls mehrere Male aus dem entnommenen Reaktorinhalt abgetrennt und in den Reaktor zurückgeführt. Die Anzahl der einzelnen Separationsvorgänge während der Versuchslaufzeit entspricht $n_{\text{Austausch}}$. Bei jedem Separationsvorgang gehen MFGPs verloren, so dass die im Reaktor befindliche Menge an MFGPs mit zunehmender Laufzeit immer weiter abnimmt. Der Abtrenngrad eines einzelnen Separationsvorgangs (AG_{MFGP}) kann demnach in Abhängigkeit von der Versuchslaufzeit deutlich höher als der Rückhaltegrad über der gesamten Laufzeit sein. Der Abtrenngrad jedes einzelnen Separationsvorgangs wird nach Gl. (20) berechnet.

$$AG_{\text{MFGP}} = n_{\text{Austausch}} \sqrt{\frac{RG_{\text{MFGP}}}{100\%}} \quad (20)$$

Wochenmittel (nur beim CSTR-Versuch)

Beim CSTR-Versuch werden die täglich erfassten bzw. berechneten Werte der Raumbelastung, der Biogasbildung, der Methanbildung, der Methanausbeute und der Methanbildungsrate über einen Zeitraum von einer Woche gemittelt. Zur Berechnung der arithmetischen Mittelwerte und der jeweiligen Standardabweichung wird das Programm Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, USA) verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 KTVA-Versuche

3.1.1 KTVA-Besiedlungsversuch 1 – Adhäsion

3.1.1.1 pH-Wert und organische Masse auf den MFGPs

Die Zugabe der Aufwuchsträger, mit Ausnahme der gewaschenen Varianten „gew“, bewirkte einen Anstieg des pH-Werts der flüssigen Phase um ungefähr 0,5 bis 1,0 Einheiten. Bei den gewaschenen Aufwuchsträgermustern stieg der pH-Wert um mehr als 3 Einheiten.

Die Masse der angelagerten organischen Trockensubstanz ist in Tabelle 14 dargestellt. Sie war bei allen Aufwuchsträgermustern, mit Ausnahme der gewaschenen Varianten „gew“, ähnlich und schwankte um einen Wert von 0,5 g oTS je g TM_{MFGP} . Bei den gewaschenen Varianten „gew“ wurden 3 bis 4-mal höhere Werte erreicht.

Tab. 14: oTS-Gehalt unterschiedlicher MFGPs nach der Adhäsion von Mikroorganismen

<i>Besiedlungsversuch 1 Adhäsion</i>	Ref SE	Ref red	Ref	Ref red SE	Ref gew	Ben	Ben gew	Ref X	Ref C-X	VOR
oTS Gehalt (g oTS (g TM_{MFGP})⁻¹)	0,005	0,002	0,005	0,006	0,015	0,008	0,021	0,005	0,006	0,006

Alle zum Ende des Versuchs ermittelten pH-Werte und die Konzentration organischer Masse auf den verschiedenen Aufwuchsträgermustern können Tabelle A9 im Anhang entnommen werden.

3.1.1.2 Mikrobiologische Untersuchungen – qPCR-Analyse

In den Abbildungen 19 und 20 werden die Ergebnisse der durchgeführten qPCR-Analysen der flüssigen Phase und der Aufwuchsträger dargestellt. Die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) sowie die Population der Archaeen sind in 10^9 16S rRNA Genkopien je g FM der flüssigen Phase bzw. je g TM der Aufwuchsträger ausgedrückt. Abbildung 19 beinhaltet auch die Werte des Inokulums.

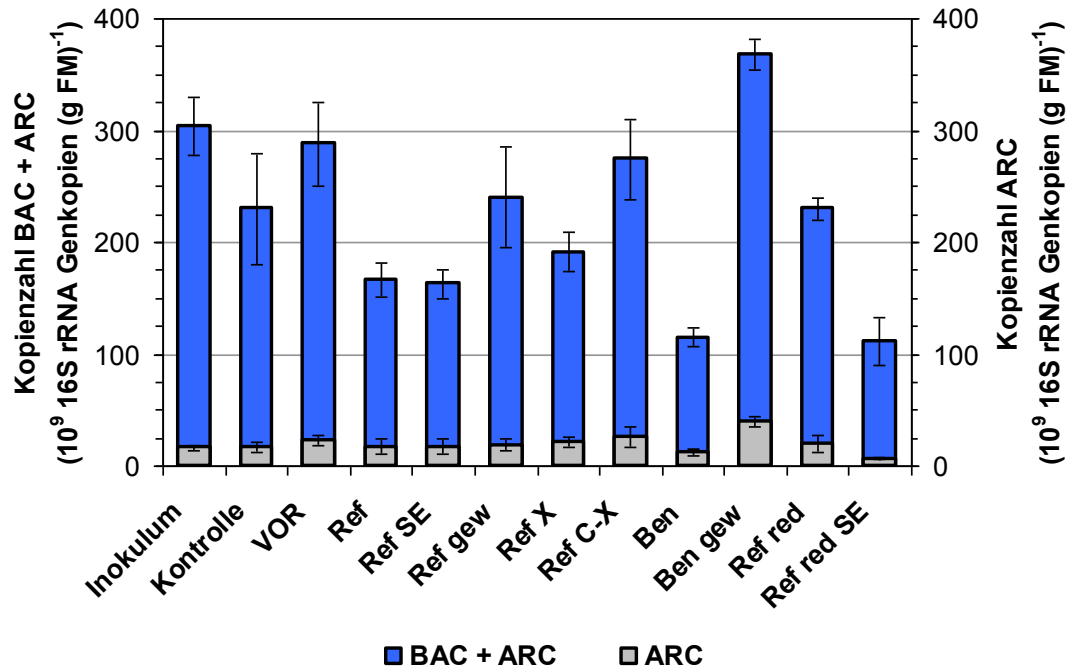


Abb. 19: Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase nach 2,5 h Inkubation

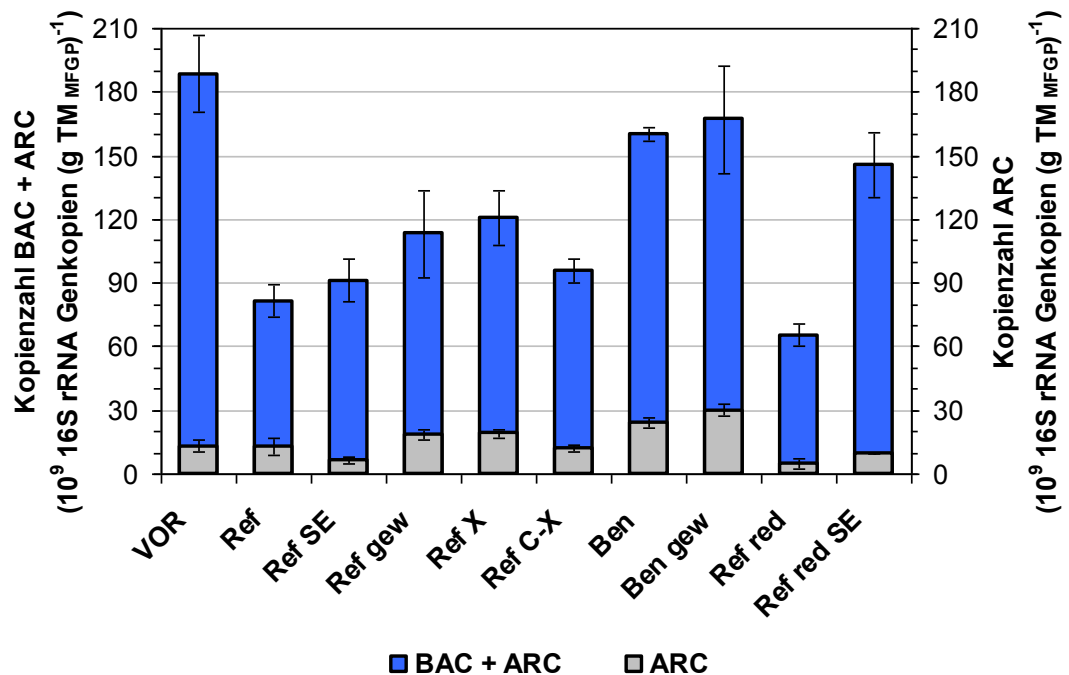


Abb. 20: Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs nach 2,5 h Inkubation

Bei der Beurteilung der dargestellten Mikroorganismenpopulation fällt zunächst auf, dass die Mikroorganismenkonzentration in der jeweiligen flüssigen Phase bei allen Ansätzen geringer war als im Inokulum, außer bei „Ben gew“. Dieser Effekt wurde höchstwahrscheinlich vom Stress hervorgerufen, dem die Organismen in der flüssigen Phase bei der Befüllung der Versuchsansätze ausgesetzt waren.

Die für die unterschiedlichen Aufwuchsträgermuster ermittelten Genkopienzahlen waren sehr ähnlich. Die starken Unterschiede, die beim oTS-Gehalt erkennbar waren, traten nicht auf.

Der Anteil der Archaeen an der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) entsprach bei den Aufwuchsträgermustern „VOR“, „Ref red“ und „Ref red SE“ der flüssigen Phase, bei „Ref SE“ lag sie unterhalb dem Wert der dazugehörigen flüssigen Phase. Demnach fand bei diesen Aufwuchsträgermustern keine selektive Anlagerung methanogener Mikroorganismen statt. Die restlichen Muster, „Ref“, „Ref gew“, „Ref X“, „Ref C-X“, „Ben“ und „Ben gew“, wiesen dagegen teilweise eine deutliche Erhöhung des Anteils der Archaeen im Vergleich zur flüssigen Phase auf.

Mit Ausnahme von „Ben“ und „Ref red SE“ schienen die Aufwuchsträger eine Förderung der Archaeen in der flüssigen Phase zu bewirken. Da die Kontrolle dem Inokulum sehr ähnelte, kann man davon ausgehen, dass die Unterschiede der Mikroorganismenpopulation in der jeweiligen flüssigen Phase den Auswirkungen der Aufwuchsträger zuzuschreiben sind.

Das Muster „Ben gew“ bewirkte die größte Steigerung der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase und wies die größte Menge an Archaeen auf.

3.1.1.3 Mikrobiologische Untersuchungen – mikroskopische Analyse

Mit Hilfe der mikroskopischen Analysen konnte die Anlagerung von Mikroorganismen auf der Oberfläche der Aufwuchsträger visualisiert werden, die Abbildungen 21 und 22 sind repräsentative Aufnahmen des Aufwuchsträgermusters „Ref“.

Die vorhandenen Mikroorganismen waren gut erkennbar, EPS lag kaum vor. Lange Ketten von Mikroorganismen wiesen auf die Aktivität von Organismen hin, die vermutlich der Familie Methanosaetaceae zugeordnet werden können. Vor allem in den Senken und Poren der Oberflächen der Aufwuchsträger trat eine verstärkte Ansammlung von Mikroorganismen auf. Eine Autofluoreszenz war nicht erkennbar.

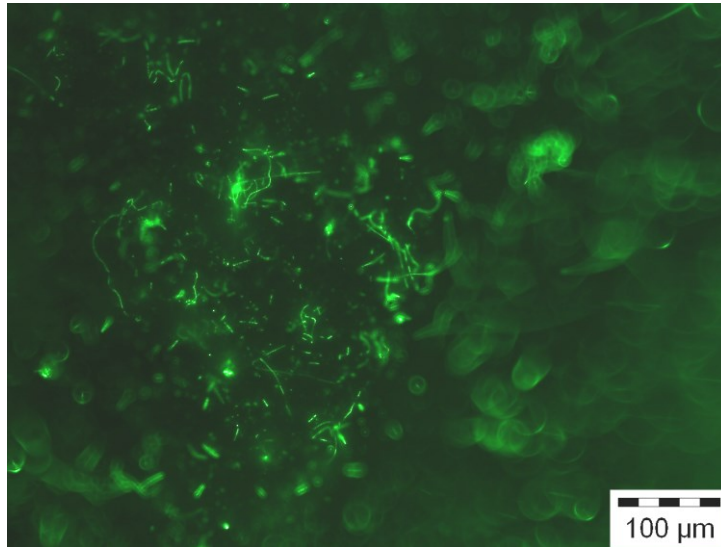


Abb. 21: Oberfläche eines Aufwuchsträgers („Ref“) nach 2,5 h Inkubationszeit
– SYTO13-Färbung

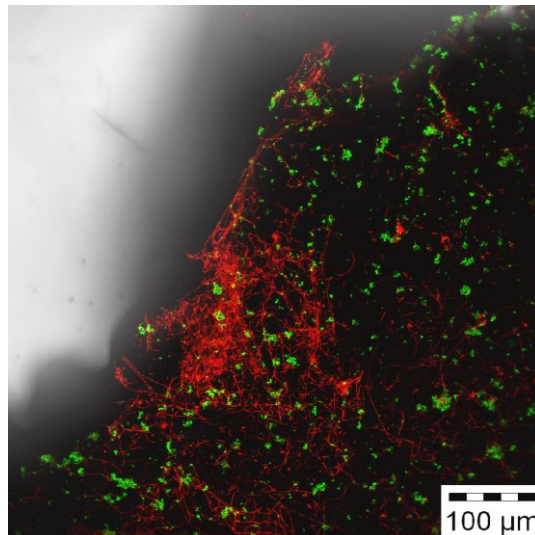


Abb. 22: Oberfläche eines Aufwuchsträgers („Ref“) nach 2,5 h Inkubationszeit
– LSC, Z-Stapel

3.1.2 KTVA-Besiedlungsversuch 2 – Einfluss des Substrats

3.1.2.1 Gasbildung und pH-Wert

In Abbildung 23 sind die während des KTVA-Besiedlungsversuchs 2 ermittelten Werte der Messgrößen pH-Wert, Methanausbeute (Methan-y) und Methangehalt dargestellt. Methanausbeute und Methangehalt sind Mittelwerte aus drei Parallelen (bis Woche 6), aus zwei Parallelen (Woche 7 bis 13) bzw. Einzelwerte (ab Woche 14).

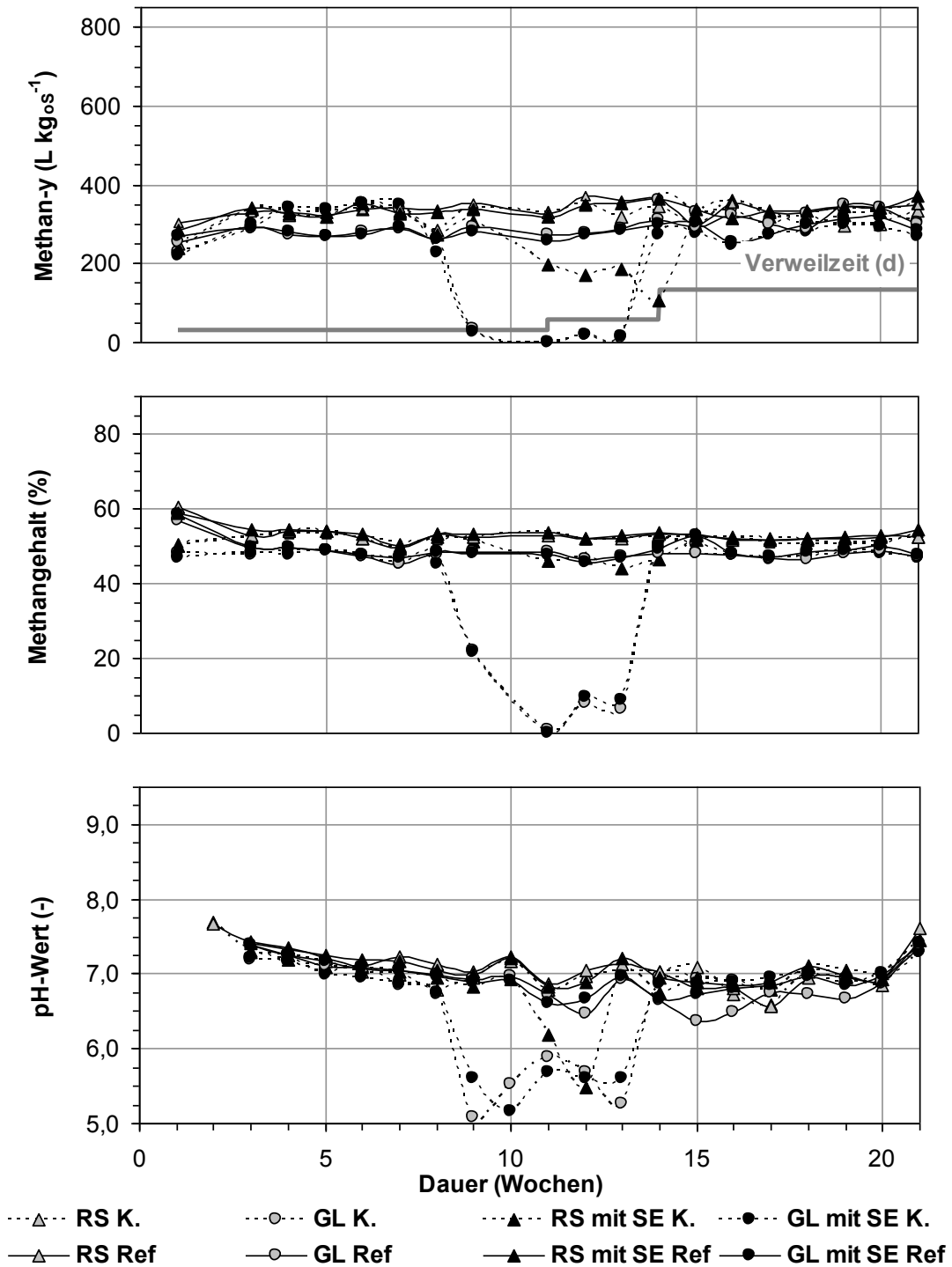


Abb. 23: pH-Wert, Methangehalt im gebildeten Biogas und Methanausbeute
– KTVA-Besiedlungsversuch 2

Bei einigen Versuchsansätzen, die einen starken Abfall des pH-Werts zeigten, erfolgte eine Stabilisierung durch Zugabe von Inokulum. Die Zeitpunkte können Tabelle 15 entnommen werden.

Um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten, erfolgte die Zugabe von Inokulum immer für alle Parallelen einer Versuchsvariante, auch wenn nur einzelne Versuchsansätze ein kritisches Verhalten aufwiesen.

Tab. 15: Nachträgliches Stabilisieren der Versuchsansätze mit Inokulum

Zugabe von Inokulum (% V _{Nutz} des Ansatzes)				
Substratart	Zuckerrübensilage			
SE-Zugabe	ohne SE		mit SE	
Ansätze	Kontrolle	Versuchsans.	Kontrolle	Versuchsans.
Tag 76 (Woche 12)	0	0	0	0
Tag 83 (Woche 13)	21	21	21	21
Tag 90 (Woche 14)	0	0	100	0

Zugabe von Inokulum (% V _{Nutz} des Ansatzes)				
Substratart	Glucose-Lösung			
SE-Zugabe	ohne SE		mit SE	
Ansätze	Kontrolle	Versuchsans.	Kontrolle	Versuchsans.
Tag 76 (Woche 12)	19	0	19	0
Tag 83 (Woche 13)	19	19	19	19
Tag 90 (Woche 14)	100	0	100	19

Die Versuchsansätze mit Aufwuchsträgern zeigten während der gesamten Laufzeit des Versuchs keinen Leistungseinbruch, siehe Abbildung 23. Bei den Kontrollansätzen ohne Aufwuchsträger kam es dagegen bei allen Substraten, außer der Zuckerrübensilage ohne Ergänzung von Spurenelementen, zu einem starken Abfall des pH-Werts und der Methanbildungsleistung. Diese Leistungseinbrüche traten bei der Glucoselösung in der neunten Woche der Versuchslaufzeit auf, unabhängig von der Ergänzung von Spurenelementen. Bei der Zuckerrübensilage mit Ergänzung von Spurenelementen trat der Leistungseinbruch ab der 11. Versuchswoche auf.

Durch die Zugabe von Inokulum, siehe Tabelle 15, und eine Erhöhung der Verweilzeit auf 133 Tage ab der 14. Versuchswoche konnten alle Ansätze bis zum Versuchsende stabilisiert werden.

Die Ergebnisse weisen die Kontrolle ohne Aufwuchsträger als instabiler aus. Ein positiver Effekt der magnetisierbaren Aufwuchsträger auf die Stabilität der Methanbildung ist deutlich erkennbar. Von den Substraten scheint Zuckerrübensilage im Vergleich zu Glucoselösung einen stabileren Prozess zu ermöglichen, eine Ergänzung von Spurenelementen bewirkte keinen positiven Effekt.

3.1.2.2 Organische Masse auf den MFGPs

In der Abbildung 24 werden die nach 40, 89 und 141 Tagen ermittelten oTS-Gehalte der besiedelten Aufwuchsträger dargestellt.

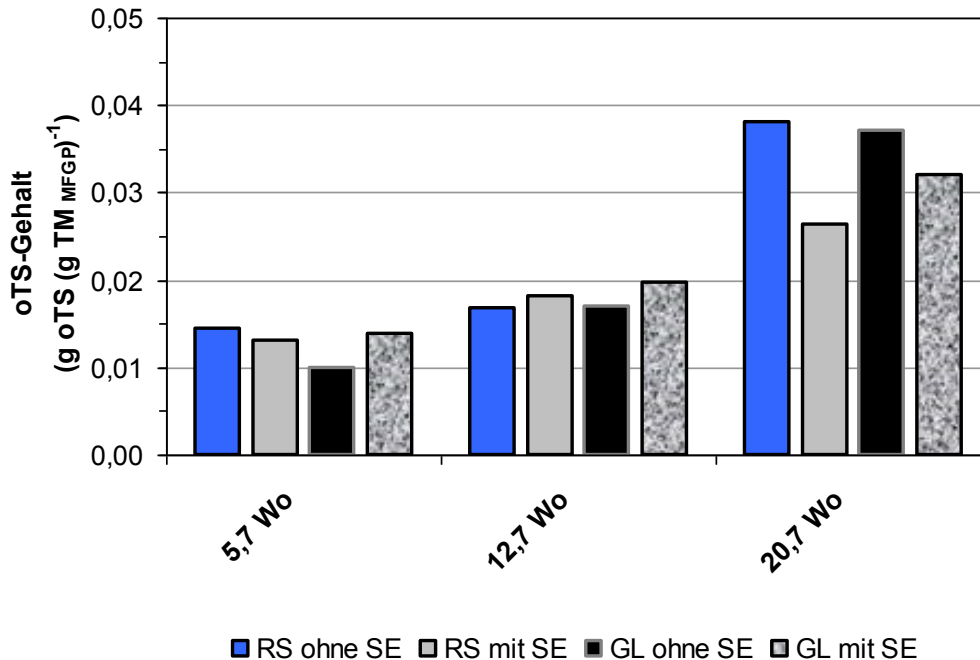


Abb. 24: oTS-Gehalt über einen Zeitraum von 20,7 Wochen, verschiedene Substrate

Bei Betrachtung des Diagramms fällt auf, dass die Konzentration der organischen Trockensubstanz vor allem von der Inkubationszeit bestimmt wurde. Das Substrat und die Zugabe von Spurenelementen hatten dagegen einen geringeren Einfluss. Die Zugabe von Spurenelementen wirkte sich mit zunehmender Inkubationszeit eher negativ auf die Konzentration an organischer Substanz auf den Oberflächen der Aufwuchsträger aus.

3.1.2.3 Mikrobiologische Untersuchungen – qPCR-Analyse

In den Abbildungen 25 und 26 werden die Ergebnisse der durchgeführten qPCR-Analysen dargestellt. Abbildung 25 kann die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) sowie die Population an Archaeen entnommen werden, dargestellt als 10^9 16S rRNA Genkopien je g TM der Aufwuchsträger. Die Gesamtpopulation sowie die Population der Archaeen des Inokulums lagen bei 74,82 bzw. 3,76 16S rRNA Genkopien je g FM. Abbildung 26 stellt das Vorkommen der vier betrachteten Ordnungen bzw. Familien methanogener Organismen (Archaeen) dar.

Bei der Beurteilung der dargestellten Mikroorganismenpopulation kann zunächst festgehalten werden, dass die für die verschiedenen Substrate ermittelten Genkopienzahlen sehr ähnlich waren. Bei der Betrachtung der Abbildung 25 fällt weiterhin auf, dass die in Abbildung 24 dargestellten Werte des oTS-Gehalts teilweise nicht mit der Mikroorganismenpopulation übereinstimmten. Die Verwendung der Glucoselösung ermöglichte im Vergleich zur Zuckerrübensilage mit zunehmender Laufzeit des Versuchs etwas höhere Mikroorganismenpopulationen im Biofilm auf den Aufwuchsträgern. Die Ergänzung von Spurenelementen führte ebenfalls fast immer zu einer Erhöhung der Population. Diese Ergebnisse passen zur oben dargestellten Entwicklung der methanogenen Leistung. Die Leistungseinbrüche bei Verwendung der Glucoselösung lassen auf schlechte Milieubedingungen im Versuchsansatz schließen. Diese Bedingungen führten zu einer bevorzugten Ansiedlung von Mikroorganismen in Form eines schützenden Biofilms.

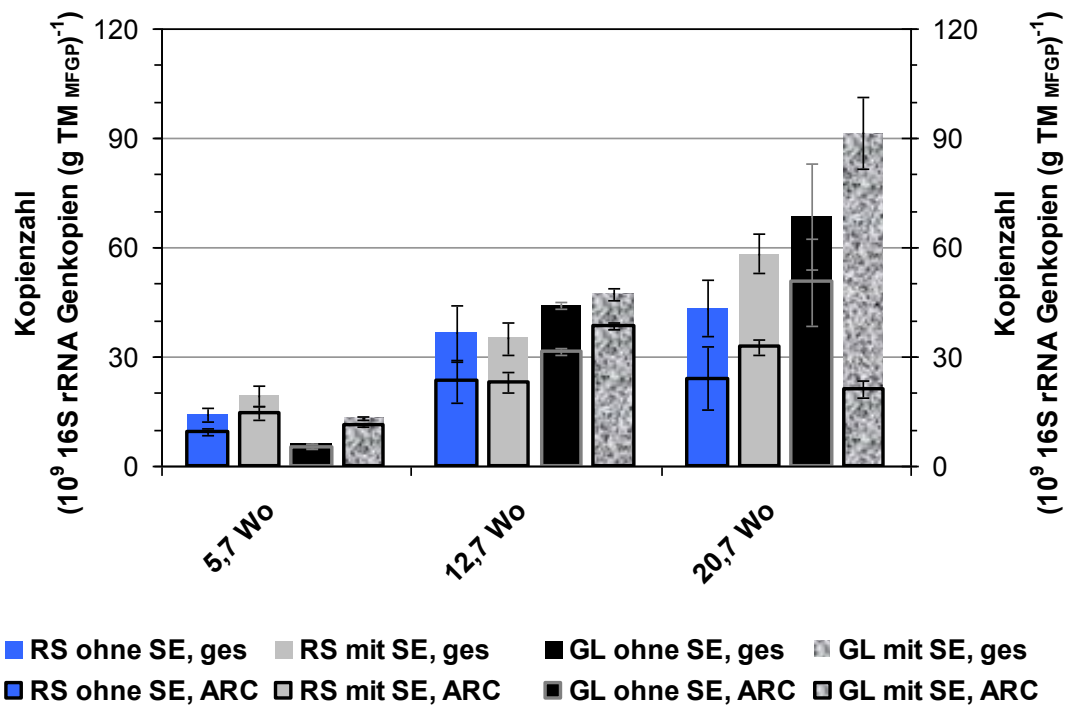


Abb. 25: Entwicklung der Mikroorganismenpopulation auf der MFGPs über einen Zeitraum von 20,7 Wochen

Die Zusammensetzung der Archaea war ebenfalls sehr ähnlich. Die Diversität methanogener Organismen wurde vom Substrat scheinbar kaum beeinflusst. Auffällig ist lediglich, dass das Vorkommen der Familie Methanosarcinaceae bei Verwendung der Zuckerrübensilage gegen Null ging und bei Verwendung der Glucoselösung im geringen Maß erkennbar war.

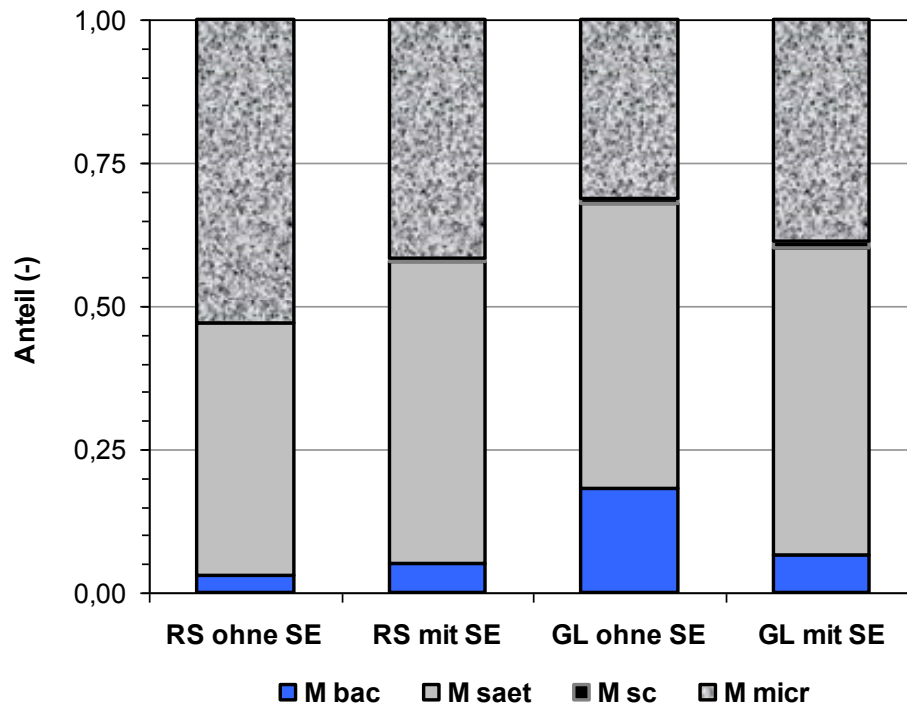


Abb. 26: Zusammensetzung der Mikroorganismengruppe ARC auf den Aufwuchsträger nach 20,7 Wochen

3.1.2.4 Mikrobiologische Untersuchungen – mikroskopische Analyse

Anhand der durchgeführten mikroskopischen Untersuchungen war erkennbar, dass alle Aufwuchsträger zum Ende der Inkubationszeit großflächig mit Mikroorganismen besiedelt waren, siehe Abbildung 27 und 28. Die Besiedlung war inselartig und wies teilweise große Lücken auf, wo sich auf der Oberfläche der Aufwuchsträger keine Mikroorganismen befanden. Wahrscheinlich stellt die inselartige Struktur eine bevorzugte Besiedlung der Senken und Poren der Aufwuchsträgeroberfläche dar, bei den unbesiedelten Lücken könnte es sich um die Ränder dieser Senken und Poren handeln. Die Form der Besiedlung war scheinbar unabhängig vom Substrat und ähnelte sich bei allen Substraten sehr.

Bei jedem der untersuchten Aufwuchsträger trat in allen anhand der SYTO13-Färbung nachgewiesenen Mikroorganismenkolonien auch Autofluoreszenz auf, siehe Abbildung A2 und A3 im Anhang. Demnach waren methanogene Organismen (Archaeen) in allen Mikroorganismenkolonien des Biofilms vertreten.

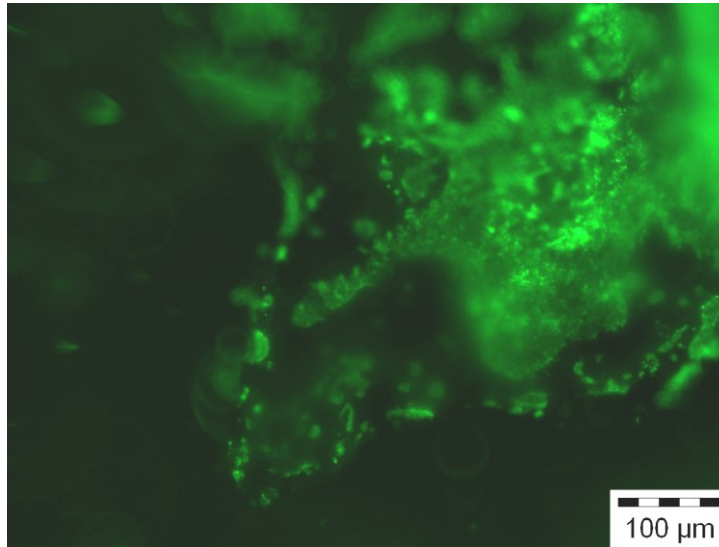


Abb. 27: „Ref“, Inkubationszeit 141 Tage
– Zuckerrübensilage ohne SE-Zugabe, SYTO13-Färbung

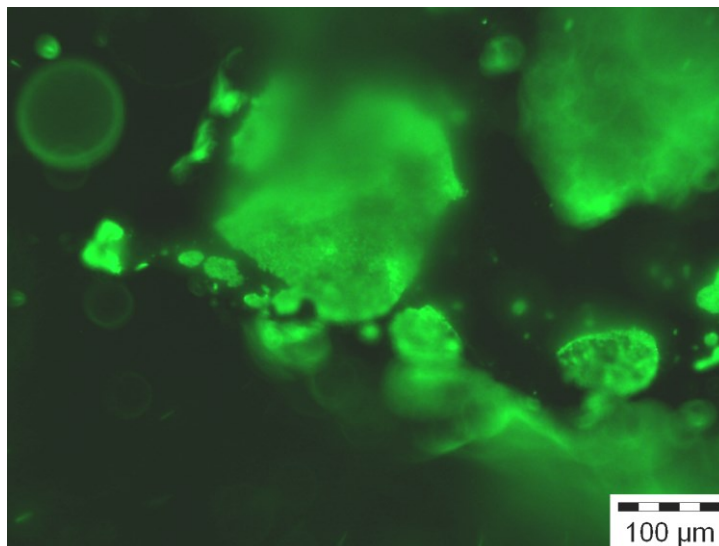


Abb. 28: „Ref“, Inkubationszeit 141 Tage
– Glucose-Lsg. ohne SE-Zugabe, SYTO13-Färbung

Die mikroskopischen Aufnahmen erlauben nur subjektive Beurteilungen aufgrund des geringen Probenumfangs, der Schädigung des Farbstoffs während der Mikroskopie durch Bestrahlung der Probe mit sehr intensivem Licht, der schwankenden Qualität des verwendeten Farbstoffs, dem Zeitraum zwischen Probenahme und Mikroskopie usw. Auf Basis dieser Aufnahmen getroffene Rückschlüsse sollen deshalb nur unter Vorbehalt bewertet werden. Die Aufnahmen stellen lediglich eine qualitative Bestätigung der anderen Analysen zur mikrobiellen Besiedlung, qPCR-Analyse und Bestimmung des oTS-Gehalts der Aufwuchsträger, dar.

3.1.3 KTVA-Besiedlungsversuch 3 – Kinetik der Biofilmbildung

3.1.3.1 Gasbildung und pH-Wert

In Abbildung 29 sind die über der Laufzeit des KTVA-Besiedlungsversuchs 3 ermittelten Werte der Messgrößen pH-Wert, Methanausbeute (Methan-y) und Methangehalt dargestellt. Methanausbeute und Methangehalt sind Mittelwerte aus vier Parallelen (bis Woche 2), aus drei Parallelen (Woche 3 bis 4), aus zwei Parallelen (Woche 5 bis 8) bzw. Einzelwerte (ab Woche 9).

Mit Ausnahme der gewaschenen Aufwuchsträgermuster „gew“ wiesen alle Versuchsansätze über der gesamten Versuchsdauer einen sehr ähnlichen stabilen Verlauf von Methanausbeute, Methangehalt und pH-Wert auf.

Der Einsatz der gewaschenen Varianten „gew“ führte im Vergleich zu den anderen Mustern zu deutlich höheren pH-Werten (vor allem bei „Ref gew“), die innerhalb der beiden ersten Wochen schnell abnahmen. Danach lag der pH-Wert bis zu 8 Wochen („Ref gew“) etwas über dem Wert der anderen Versuchsansätze. Die hohen pH-Werte bewirkten zunächst eine starke Hemmung der Methanproduktion. Der Abbau des während der Hemmung aufkonzentrierten Substrats führte zu einer erhöhten Methanproduktion in den Wochen 2 bis 5. Danach war die Methanproduktion vergleichbar mit den anderen Ansätzen.

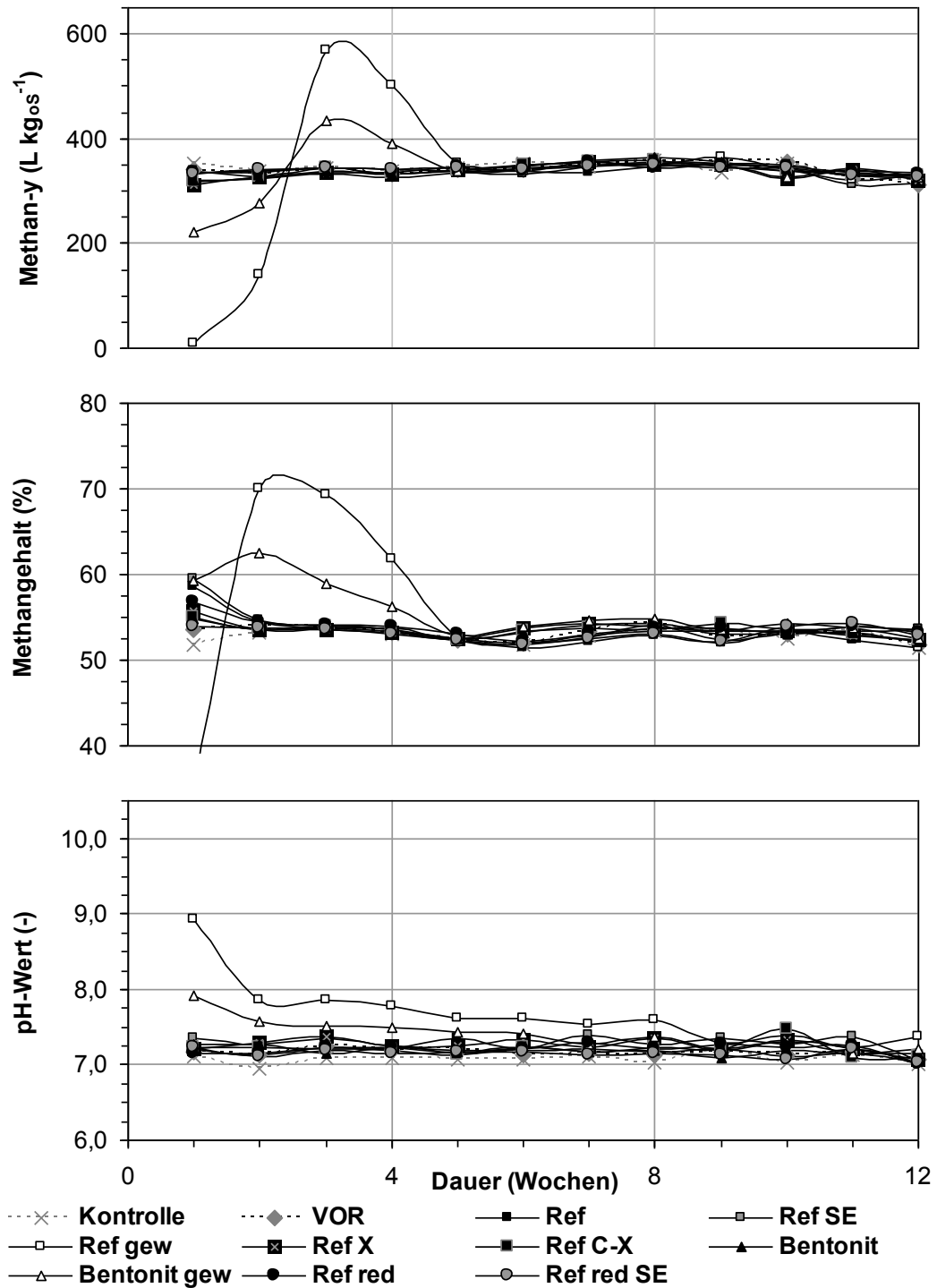


Abb. 29: pH-Wert, Methangehalt im gebildeten Biogas und Methanausbeute
– KTVA-Besiedlungsversuch 3

3.1.3.2 Organische Masse auf den MFGPs

In Abbildung 30 wird der nach 2 Wochen und zum Ende des Versuchs (12 Wochen) ermittelte oTS-Gehalt der besiedelten Aufwuchsträger dargestellt.

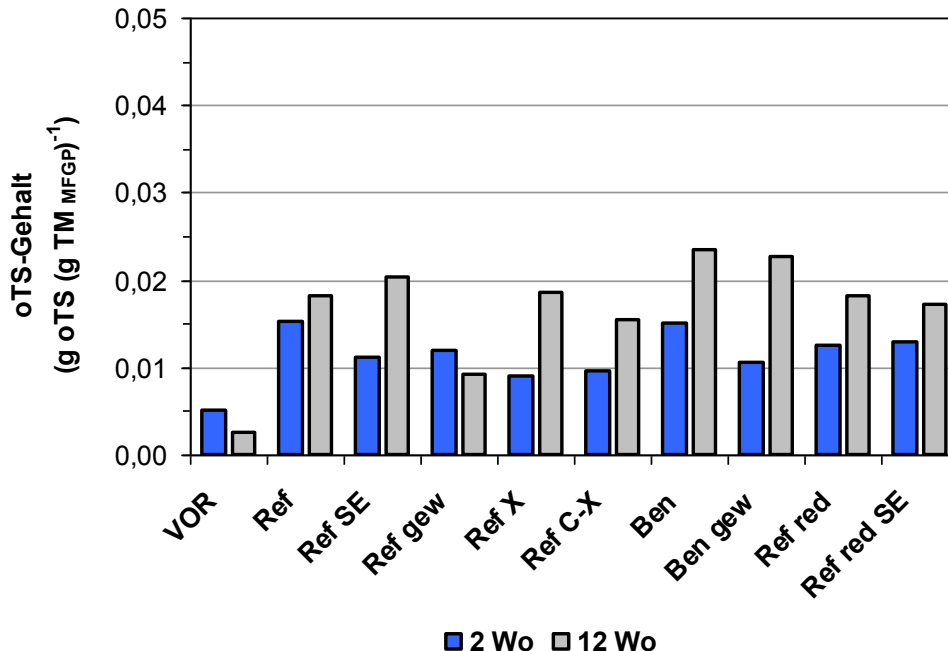


Abb. 30: oTS-Gehalt bei verschiedenen Aufwuchsträgern nach 2 bzw. 12 Wochen Inkubation

Der Gehalt an organischer Substanz war bei den neu entwickelten Aufwuchsträgermustern auf einem vergleichbaren Niveau, das Vorserienmuster „VOR“ lag deutlich darunter.

Nach längerer Inkubationszeit kam es bei allen Mustern, außer „VOR“ und „Ref gew“, zu einer Zunahme der organischen Trockensubstanz. Die Abnahme des oTS-Gehalts bei „VOR“ und „Ref gew“ deutet auf ein Ablösen des Biofilms hin. Die Ursachen für das Ablösen könnten in einer zu geringen Haftung zwischen Aufwuchsträgeroberfläche und Biofilm („VOR“) oder einer zu starken Zunahme der Biofilmmasse auf der Oberfläche („Ref gew“) liegen.

3.1.3.3 Mikrobiologische Untersuchungen – qPCR-Analyse

In den Abbildungen 31 und 32 werden die Ergebnisse der durchgeführten qPCR-Analysen der Aufwuchsträger und der flüssigen Phase in 10^9 16S rRNA Genkopien je g TM der Aufwuchsträger bzw. in 10^9 16S rRNA Genkopien je g FM der flüssigen Phase dargestellt. Die Abbildung 32 beinhaltet ebenfalls die Werte des Inokulums.

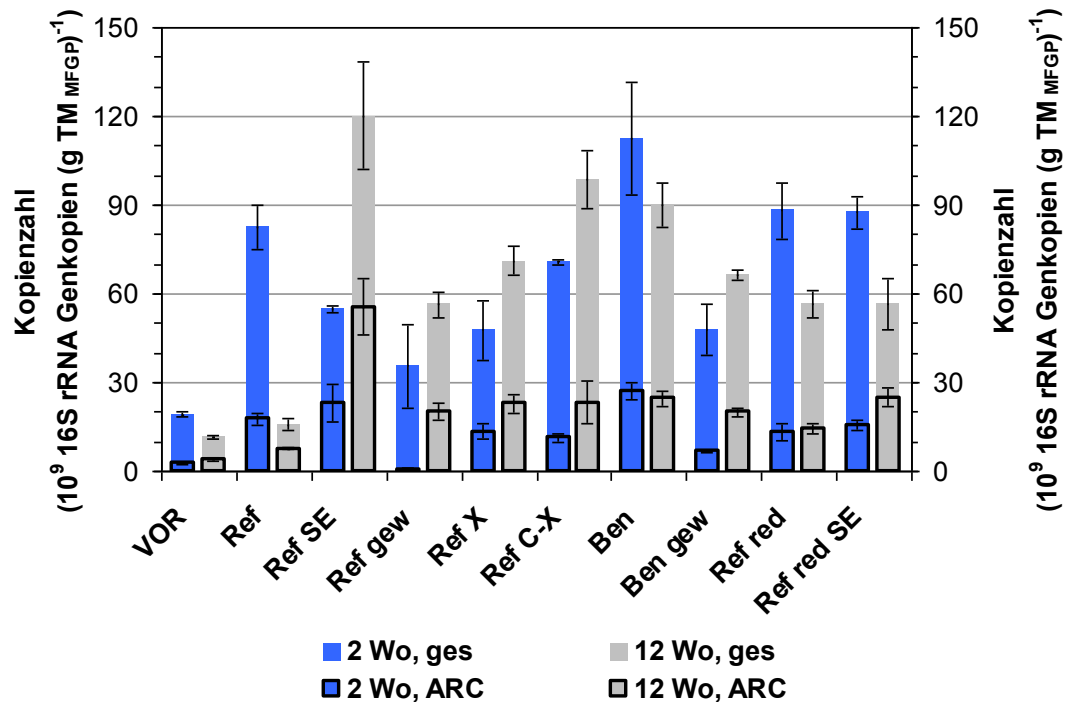


Abb. 31: Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs nach 2 und 12 Wochen Inkubation

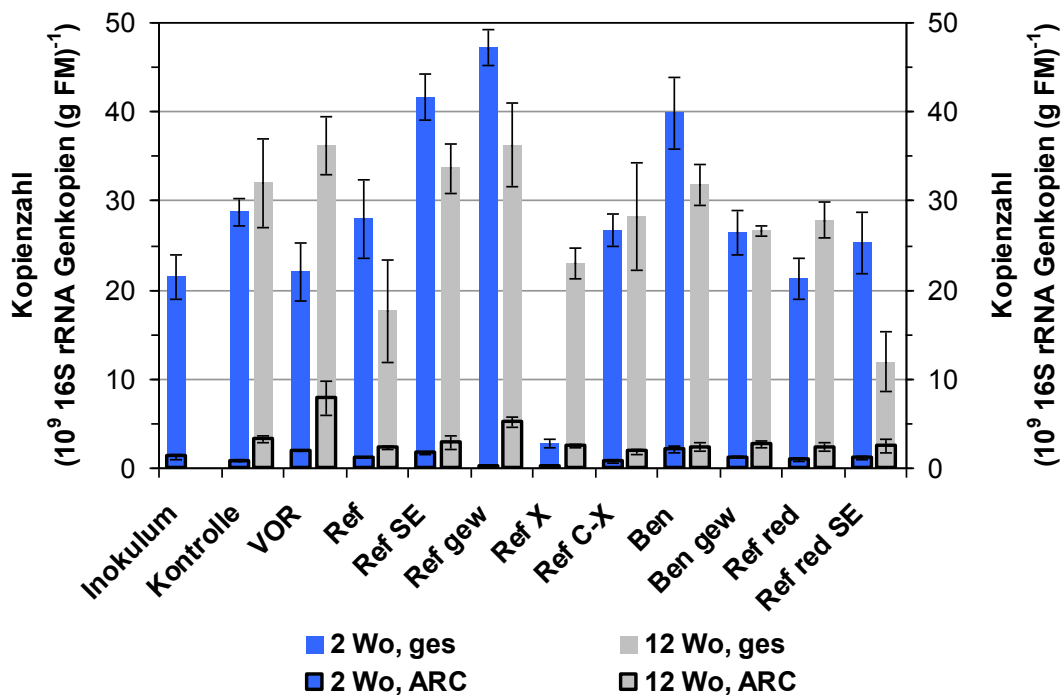


Abb. 32: Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase nach 2 und 12 Wochen Inkubat.

Die Anzahl der Genkopien lag bei fast allen Aufwuchsträgermustern in der gleichen Größenordnung, nur das Muster „VOR“ wies deutlich geringere Werte auf. Die neuen Aufwuchsträgermuster können demnach hinsichtlich der Mikroorganismenpopulation als annähernd gleich gut geeignet betrachtet werden. Mit zunehmender Inkubationszeit stieg die

Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) bei den Aufwuchsträgermustern „Ref SE“, „Ref gew“, „Ref X“, „Ref C-X“ und „Ben gew“ an. Die Population an Archaeen nahm bei fast allen Mustern mit der Inkubationszeit zu, außer bei „Ref“ und „Ben“. Der Anteil der Archaeen an der Gesamtpopulation erhöhte sich bei allen Aufwuchsträgermustern deutlich. Beim Aufwuchsträgermuster „Ref SE“ trat die stärkste Zunahme der Mikroorganismenpopulation mit der Inkubationszeit auf, vor allem bei der Population an Archaeen. Die starke Abnahme der Mikroorganismenpopulation bei „Ref“ könnte auf eine Ablösung des Biofilms von der Oberfläche der Aufwuchsträger hinweisen. Eindeutige Zusammenhänge zwischen dem oTS-Gehalt und der Mikroorganismenpopulation konnten nicht festgestellt werden.

In der flüssigen Phase trat eine andere Entwicklung der Mikroorganismenpopulation auf. Mit zunehmender Inkubationszeit näherte sich die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) einer bestimmten Höhe an, der große Unterschied zum Vorserienmuster „VOR“, wie er beim Biofilm auf den Aufwuchsträgern auftrat, war nicht erkennbar. Bei den Aufwuchsträgermustern „Ref“, „Ref X“ und „Ref red SE“ war die Population in der flüssigen Phase am geringsten. Bei allen Versuchsansätzen stiegen die Population der Archaeen und der Anteil der Archaeen an der Gesamtpopulation in der flüssigen Phase mit der Laufzeit des Versuchs. Eine Förderung methanogener Organismen (Archaeen) in der flüssigen Phase durch den Einsatz der Aufwuchsträger konnte nicht erkannt werden.

3.1.3.4 Entwicklung des Biofilms

In den Abbildungen 33 und 34 sind die zeitliche Entwicklung des oTS-Gehalts der besiedelten Aufwuchsträger und die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) sowie die Population von Archaeen im Biofilm auf den Aufwuchsträgern zu verschiedenen Zeitpunkten des Versuchs für die Aufwuchsträgermuster „VOR“, „Ref“, „Ref SE“ und „Ref gew“ dargestellt.

Die Entwicklung der Mikroorganismenpopulation unterschied sich stark von der Entwicklung des oTS-Gehalts. Die organische Substanz auf den Aufwuchsträgern erreichte nach wenigen Wochen einen Maximalwert und blieb dann annähernd konstant oder sank wieder etwas ab. Die Gesamtpopulation an Mikroorganismen (Archaeen und Bakterien) wies dagegen einen ganz anderen Verlauf sowie eine viel stärkere Fluktuation auf. Auffällig sind die Unterschiede zwischen den Mustern „VOR“ und „Ref“ sowie den modifizierten Varianten „Ref SE“ und „Ref gew“. „VOR“ und „Ref“ wiesen zum Ende des Versuchs einen starken Abfall der Gesamtpopulation auf, die modifizierten Varianten nicht. Die Entwicklung der Population an Archaeen war ähnlich, aber nicht so stark ausgeprägt, das Erreichen des Maximalwerts war noch nicht erkennbar. Der Anteil methanogener Organismen war zunächst sehr hoch, außer

bei „Ref gew“, fiel dann stark ab und stieg im weiteren Verlauf des Versuchs wieder ebenso stark an.

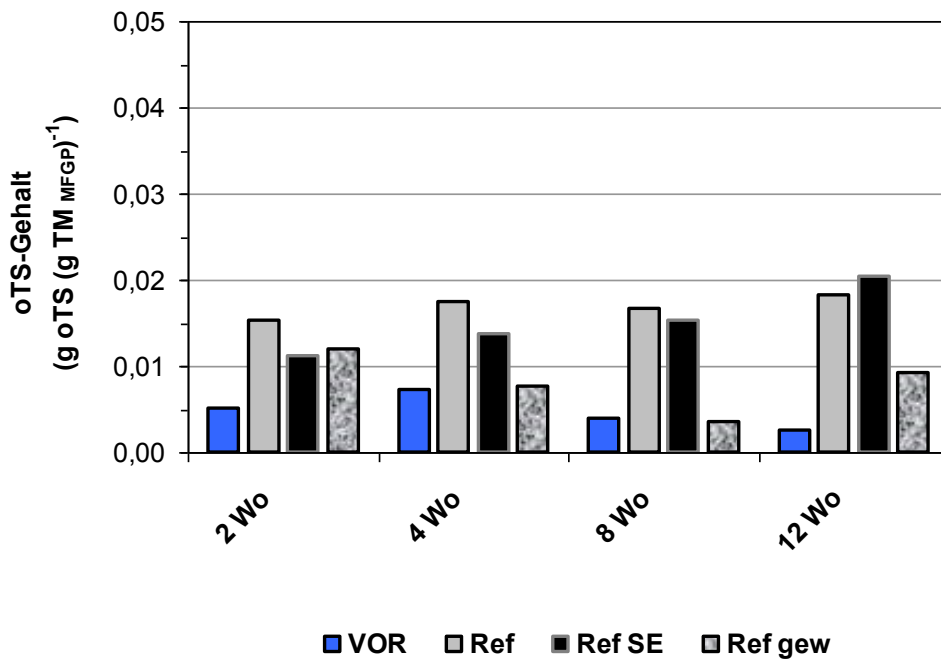


Abb. 33: Entwicklung des oTS-Gehaltes bei unterschiedlichen MFGPs

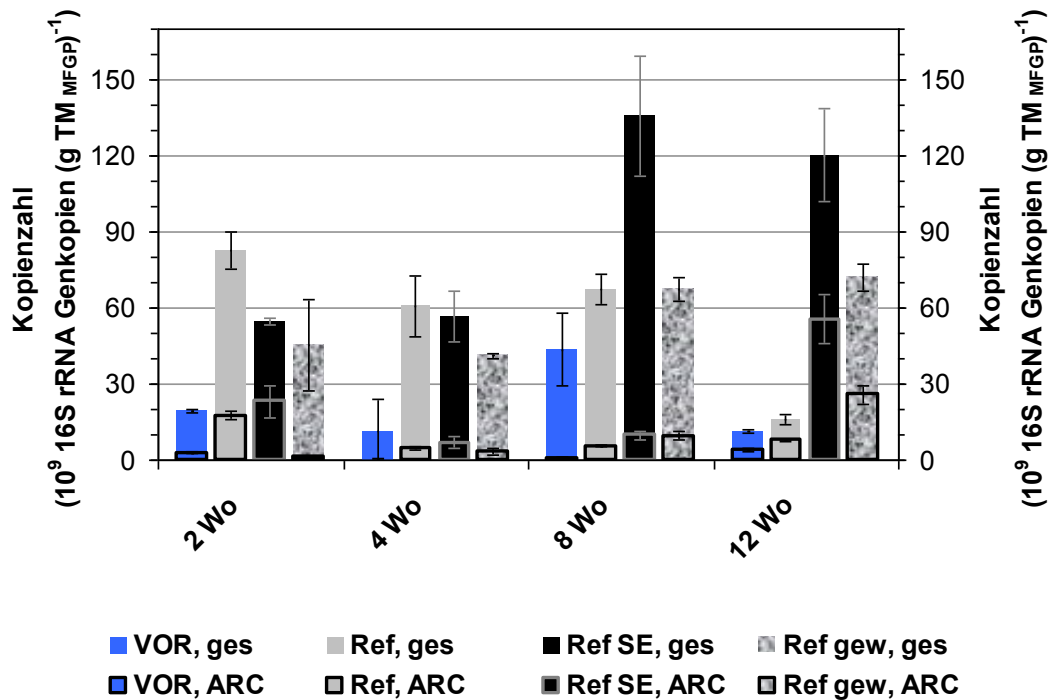


Abb. 34: Entwicklung der Mikroorganismenpopulation bei unterschiedlichen MFGPs

„VOR“ war hinsichtlich der Entwicklung des Biofilms deutlich schlechter geeignet als die neu entwickelten Aufwuchsträgermuster. Die erreichten Werte an oTS-Gehalt, Gesamtpopulation

der Mikroorganismen und Population an methanogenen Organismen (Archaeen) waren bei diesem Muster am geringsten. Die Entwicklung lief am langsamsten ab. Die Modifikationen „gew“ und „SE“ schienen sich hinsichtlich der Mikroorganismenpopulation positiv auszuwirken. Die schnellste und kontinuierlichste Zunahme der Gesamtpopulation an Mikroorganismen und der Population an Archaeen wurde beim Muster „Ref SE“ erreicht.

3.1.3.5 Mikrobiologische Untersuchungen – mikroskopische Analyse

Bereits zum ersten Probenahmezeitpunkt nach 14 Tagen Inkubationszeit war ein ausgeprägter Biofilm erkennbar, siehe Abbildung 35 bis 37. Alle Kolonien wiesen Autofluoreszenz auf. Der Charakter dieses Biofilms entsprach dem Biofilm, der zum Ende des KTVA-Besiedlungsversuchs 2 nach 141 Tagen Inkubation vorlag. Die Laserscanningmikroskopie und die Fluoreszenzmikroskopie lieferten ähnliche Ergebnisse. Anhand der Laserscanningmikroskopie war erkennbar, dass es zur Bildung von extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) kam, ein größerer Teil der Mikroorganismen war aber nicht in der EPS-Struktur eingebettet.

Weitere Aufnahmen zu späteren Probenahmezeitpunkten innerhalb der Laufzeit des Versuchs waren den Abbildungen 35 bis 37 sehr ähnlich, Aussagen zur Kinetik der Biofilmbildung waren mit Hilfe der durchgeführten mikroskopischen Analysen nicht möglich. Bei den mikroskopischen Analysen zeigten die verschiedenen Aufwuchsträgermuster hinsichtlich Intensität und Zusammensetzung des Biofilms nahezu identische Ergebnisse.

Anhand der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen war auch ein Vergleich der Struktur der verschiedenen Aufwuchsträgermuster möglich. Alle neuen Muster, bis auf Bentonit „Ben“, wiesen eine ähnliche inhomogene Form mit rauen scharfkantigen Rändern auf, Abbildung 38 zeigt repräsentativ das Muster „Ref“. „Ben“ war deutlich poröser, die Ränder waren scharfkantiger, siehe Abbildung 39.

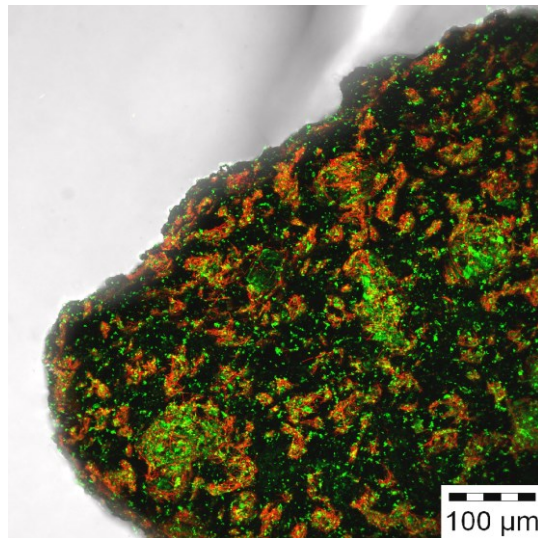


Abb. 35: „Ref“, 14 Tage Inkubationszeit – LSC, Z-Stapel

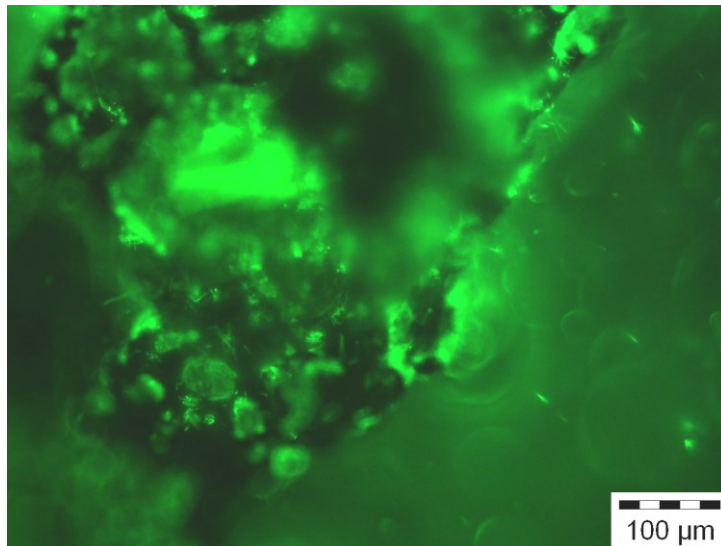


Abb. 36: „Ref“, 14 Tage Inkubationszeit – SYTO13-Färbung

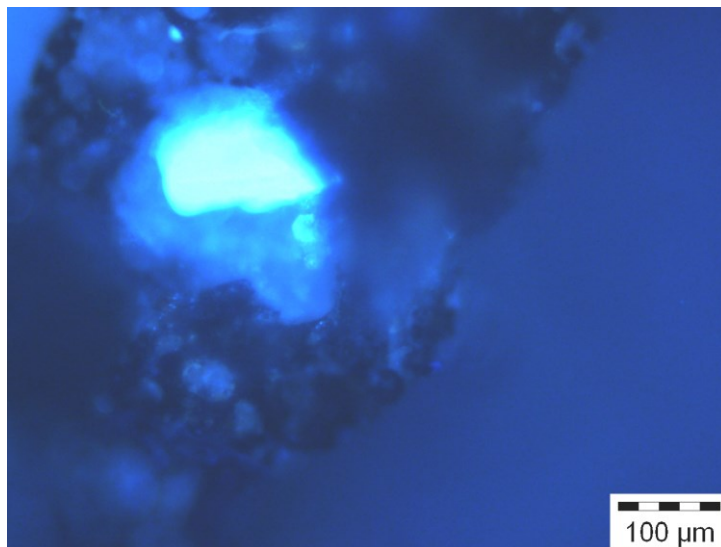


Abb. 37: „Ref“, 14 Tage Inkubationszeit – Autofluoreszenz

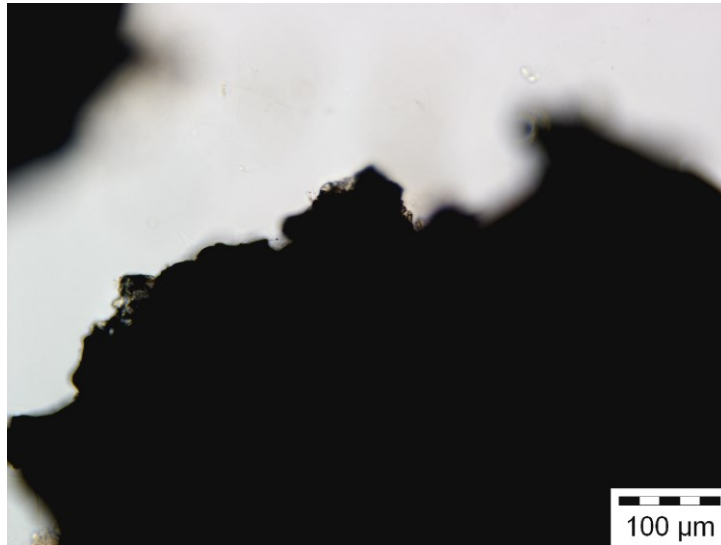


Abb. 38: „Ref“, 14 Tage Inkubationszeit – DIC

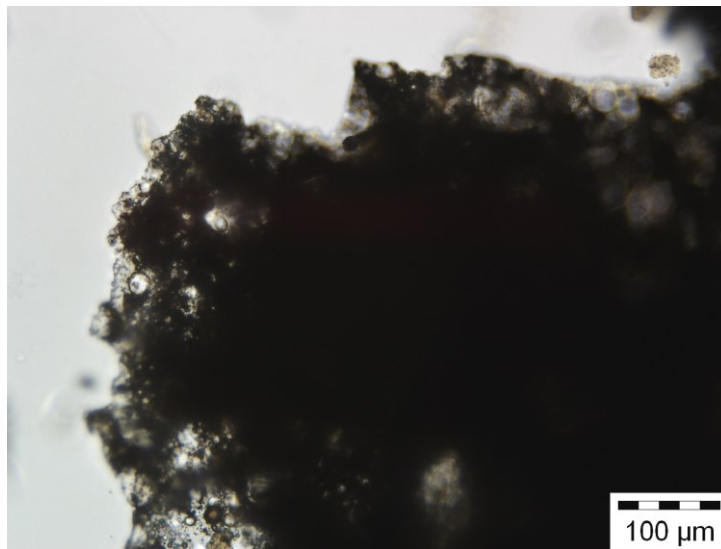


Abb. 39: „Ben“, 14 Tage Inkubationszeit – DIC

3.1.4 KTVA-Besiedlungsversuch 4 – Prozessleistung

3.1.4.1 Gasbildung und pH-Wert

In der Abbildung A1 im Anhang sind die über der Laufzeit des KTVA-Besiedlungsversuchs ermittelten Werte der Messgrößen pH-Wert, Methanausbeute (Methan-y) und Methangehalt dargestellt. Methanausbeute und Methangehalt sind Mittelwerte aus drei Parallelen.

Mit Ausnahme der gewaschenen Aufwuchsträgermuster „gew“ wiesen alle Versuchsansätze über der gesamten Versuchsdauer einen ähnlichen Verlauf von Methanausbeute, Methangehalt und pH-Wert auf. Die ermittelten Werte variierten etwas stärker als beim vergleichbaren KTVA-Besiedlungsversuch 3, waren aber trotzdem sehr stabil.

Der Einsatz der gewaschenen Varianten „gew“ führte beim Versuchsbeginn zu deutlich höheren pH-Werten. Die pH-Werte lagen danach bis zum Versuchsende etwas über den Werten der anderen Versuchsansätze, vor allem beim Muster „Ref gew“. Die hohen pH-Werte bewirkten zunächst eine starke Hemmung der Methanproduktion. Der Abbau des während der Hemmung aufkonzentrierten Substrats führte zu einer erhöhten Methanproduktion in den Wochen 2 bis 7. Die Methanbildungsleistung wies dabei starke Fluktuationen auf. Danach war die Methanproduktion vergleichbar mit den anderen Ansätzen. Zum Ende der Versuchsreihe fiel die Leistung beim Muster „Ref gew“ etwas ab.

3.1.4.2 Methanbildungskinetik

Die Anpassung der mikrobiellen Biozönose im Versuchsansatz kann anhand der Methanbildungskinetik über dem Beschickungsintervall verdeutlicht werden. In der Abbildung 40 ist die Methanbildungskinetik im ersten und im letzten Beschickungsintervall der Versuchsreihe dargestellt.

Die Kinetik der Methanbildung in den Versuchsansätzen veränderte sich im Verlauf des Versuchs. Zum Versuchsbeginn fand eine lineare Methanbildung statt. Die Ausbeute und die Abbaugeschwindigkeit waren in den Kontrollansätzen ohne Aufwuchsträger am höchsten. Die Ansätze mit verschiedenen Aufwuchsträgermustern wiesen untereinander eine ähnliche Methanbildungsleistung auf, außer bei den gewaschenen Mustern „gew“. Die gewaschenen Aufwuchsträgermuster führten zunächst zu einer starken Hemmung der Methanogenese, da sie eine starke Erhöhung des pH-Werts bewirkten, siehe Abbildung A1 im Anhang. Zum Ende des Versuchs folgte die Methanbildungsleistung bei allen Versuchsansätzen einem logarithmischen Verlauf, die Methanausbeute und die Abbaugeschwindigkeit stiegen im Lauf des Versuchs an. Die Ansätze mit Aufwuchsträgern hatten sich den Kontrollansätzen angeglichen. „Ref gew“ wies eine deutlich höhere Methanbildungsgeschwindigkeit auf als die anderen Ansätze, bei „VOR“ war sie am geringsten. Die Methanausbeute im Beschickungszeitraum war bei „Ref gew“, „Ben“ und „Ben gew“ am geringsten.

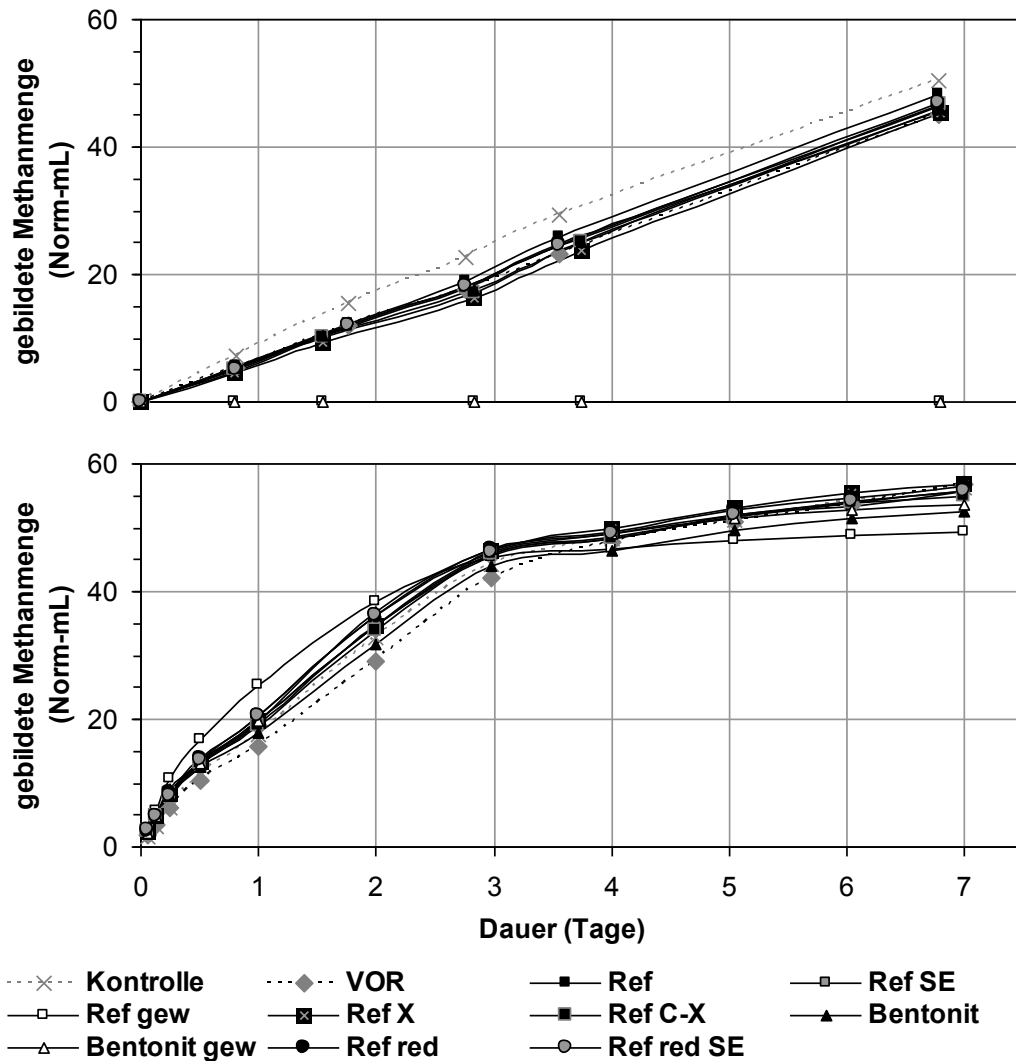


Abb. 40: Methanbildung über einen Beschickungsintervall (7 d)
– zum Versuchsbeginn (oben) und Versuchsende nach 16 Wo (unten)

Die Höhe der Konzentration an Nähr- und Hemmstoffen kann wichtige Informationen zum Abbauprozess liefern. Die zum Versuchsende ermittelten Konzentrationen an Gesamtstickstoff nach Kjeldahl, Essigsäure und Propionsäure sind in Abbildung 41 dargestellt. Sonstige flüchtige Fettsäuren und Alkohole konnten nur in sehr geringen Mengen nachgewiesen werden. Die Maximalwerte lagen bei $0,065 \text{ g L}^{-1}$ (Ethanol), $0,05 \text{ g L}^{-1}$ (Propanol), $0,05 \text{ g L}^{-1}$ (i-Buttersäure), $0,2 \text{ g L}^{-1}$ (Buttersäure), $0,06 \text{ g L}^{-1}$ (i-Valeriansäure), $0,03 \text{ g L}^{-1}$ (Valeriansäure), sowie $0,025 \text{ g L}^{-1}$ (Capronsäure).

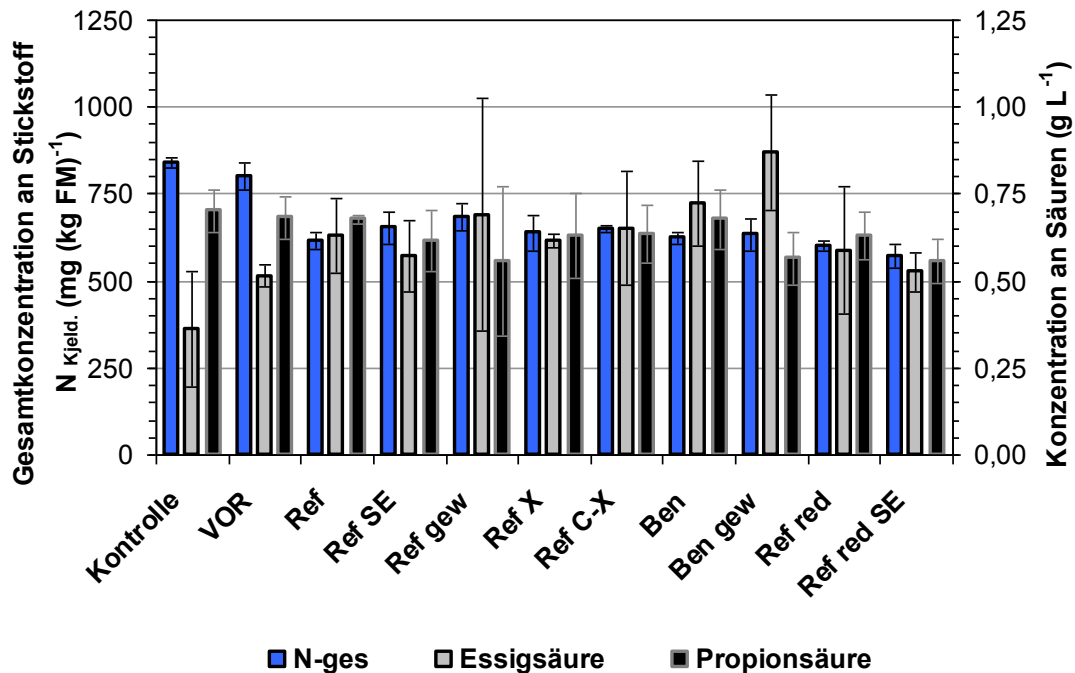


Abb. 41: Konzentrationen an Stickstoff nach Kjeldahl, Essigsäure und Propionsäure in der Fermentationsflüssigkeit nach der letzten Beschickung

Die Konzentrationen an Nähr- bzw. Hemmstoffen in den Versuchsansätzen war sehr ähnlich. Die Kontrolle ohne Aufwuchsträger und „VOR“ wiesen geringfügig höhere Konzentrationen an Stickstoff auf, die Essigsäurekonzentration war bei „Ben gew“ am höchsten und bei der Kontrolle am niedrigsten, das Vorkommen von Propionsäure lag bei allen Ansätzen im gleichen Bereich. Die ermittelten Konzentrationen lagen unter den Werten, die zu einer Hemmung des Prozesses führen können: flüchtige Fettsäuren $>2000 \text{ mg L}^{-1}$, Stickstoff $>3500 \text{ mg L}^{-1}$ und Propionsäure $>700 \text{ mg L}^{-1}$ (undissoziierte Säure bei pH 7) (VDI, 2001).

3.1.4.3 Organische Masse auf den MFGPs

Zum Ende des Versuches betrug der oTS-Gehalt bei den Aufwuchsträgermustern „Ref“ und „Ref gew“ $0,0241 \pm 0,0004$ bzw. $0,018 \pm 0,0033 \text{ g oTS je g TM}_{\text{MFGP}}$. Das Vorserienmuster „VOR“ lag mit einem Wert von $0,0056 \pm 0,0007 \text{ g oTS je g TM}_{\text{MFGP}}$ deutlich darunter.

Alle Daten der durchgeführten Analysen können der Tabelle A14 im Anhang entnommen werden.

3.1.4.4 Mikrobiologische Untersuchungen – qPCR-Analyse

Die Abbildungen 42 bis 45 enthalten die Ergebnisse der durchgeführten qPCR-Analysen der flüssigen Phase und der Aufwuchsträger in 10^9 16S rRNA Genkopien je g FM der flüssigen Phase bzw. je g TM der Aufwuchsträger. Die Ergebnisse der drei untersuchten Parallelansätze sind einzeln nebeneinander dargestellt. Die Werte des Inokulums werden in den Abbildungen 42 und 44 ebenfalls dargestellt. Die Abbildungen 44 und 45 stellen die Anteile der Ordnungen Methanobacteriales (M bac) und Methanomicrobiales (M micr) und der Familien Methanosaetaceae (M saet) und Methanosarcinaceae (M sc) innerhalb der Population der Archaeen dar.

Die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) der flüssigen Phase war bei allen Aufwuchsträgermustern und dem Inokulum in der gleichen Größenordnung. Die gewaschene Variante „Ref gew“ schien einen leichten Anstieg der Gesamtpopulation in der flüssigen Phase zu bewirken. Das Vorkommen an Archaeen in der flüssigen Phase wurde durch „Ref gew“ deutlich beeinflusst.

Bei der Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf den Aufwuchsträgern wird der Unterschied zur gewaschenen Variante noch deutlicher. Sowohl Gesamtpopulation als auch das Vorkommen an Archaeen im Biofilm war bei „Ref gew“ deutlich höher als beim Vorserienmuster „VOR“ und beim Referenzkorn „Ref“. „Ref“ und „VOR“ waren vergleichbar hinsichtlich der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase und im Biofilm auf den Aufwuchsträgern. Diese Ergebnisse entsprechen den Ergebnissen des KTVA-Besiedlungsversuchs 3, siehe Abschnitt 3.1.3. Die Versuchsergebnisse der drei Parallelansätze jedes Aufwuchsträgermusters waren sehr ähnlich.

Auch die Zusammensetzung der Archaea in der flüssigen Phase und im Biofilm auf den Aufwuchsträgern wurde durch die gewaschene Variante „Ref gew“ stark beeinflusst. Bei „Ref“ und „VOR“ waren die Ordnung Methanomicrobiales und die Familie Methanosaetaceae in der flüssigen Phase und im Biofilm auf den Aufwuchsträgern absolut dominant, Methanobacteriales und Methanosarcinaceae traten kaum auf. Bei „Ref gew“ war es umgekehrt, Methanobacteriales und Methanosarcinaceae waren in der flüssigen Phase und im Biofilm auf den Aufwuchsträgern hauptsächlich vertreten, Methanomicrobiales und Methanosaetaceae wurden stark zurückgedrängt.

Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem oTS-Gehalt der Aufwuchsträger und der mikrobiellen Population kann nicht abgeleitet werden.

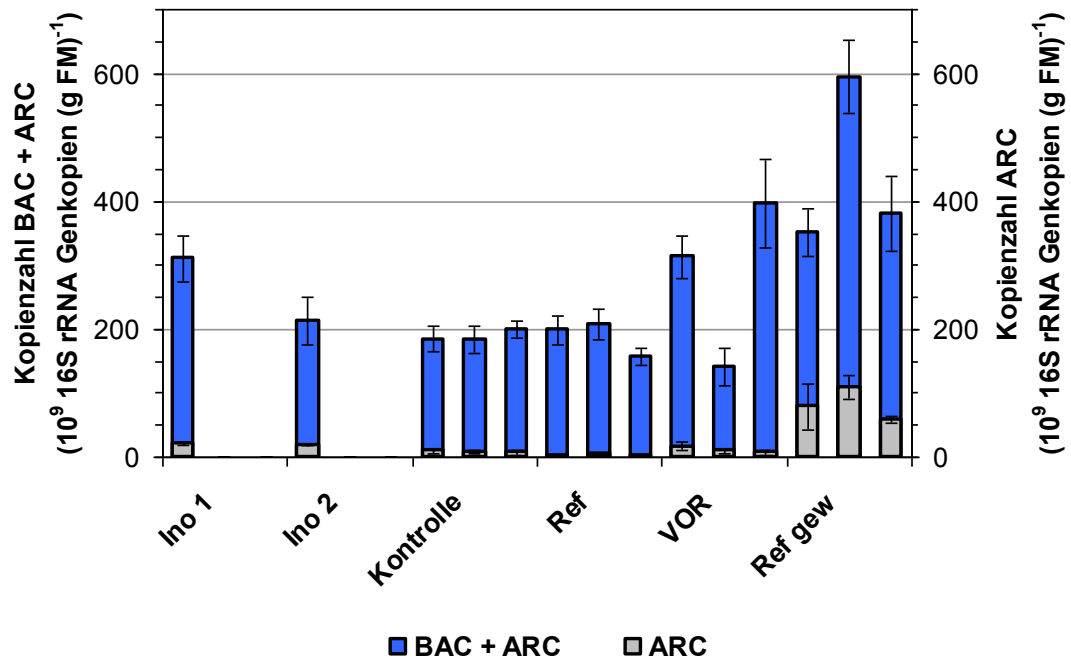


Abb. 42: Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase zum Versuchsende

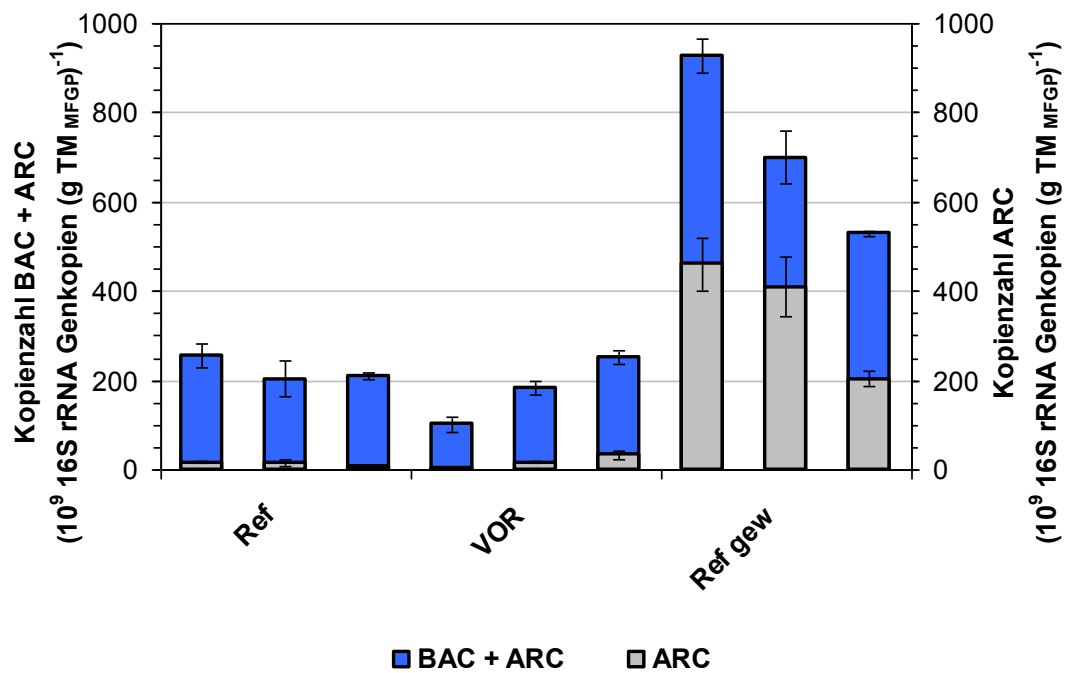


Abb. 43: Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs zum Versuchsende

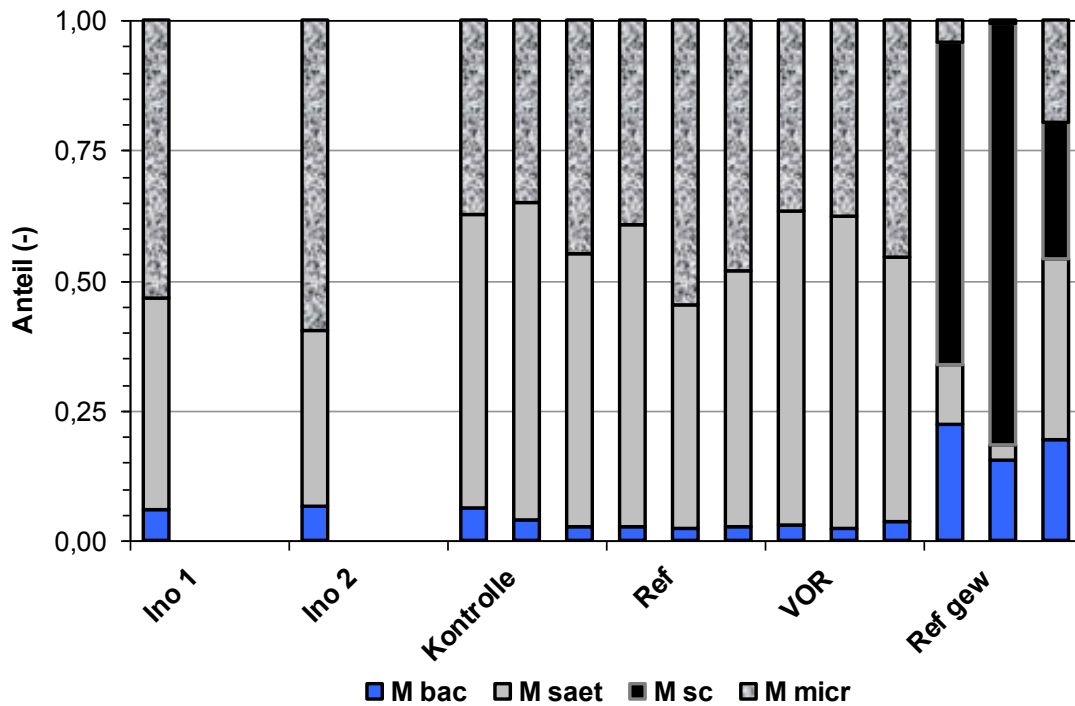


Abb. 44: Zusammensetzung der Mikroorganismengruppe ARC in der flüssigen Phase zum Versuchsende

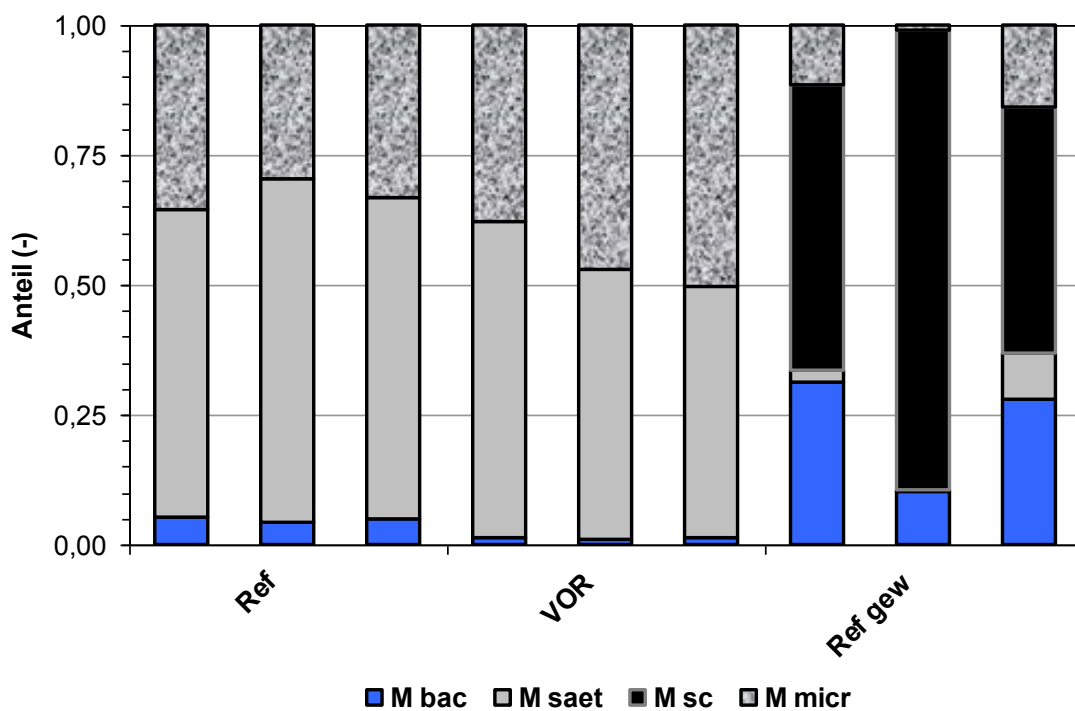


Abb. 45: Zusammensetzung der Mikroorganismengruppe ARC auf den MFGPs zum Versuchsende

3.1.4.5 Mikrobiologische Untersuchungen – mikroskopische Analyse

An dieser Stelle soll mit Verweis auf Abschnitt 3.1.3.5 nur eine Gegenüberstellung des Vorserienmusters „VOR“ und des Referenzkorns „Ref“ als Beispiel für die neu entwickelten Aufwuchsträgermuster erfolgen. Die Abbildungen 46 bis 51 sind Aufnahmen von „VOR“ und „Ref“ zum Ende der Versuchsreihe nach 16 Wochen bzw. 112 Tagen.

Bei „VOR“ war im Vergleich zu „Ref“ eine deutlich weniger intensive Biofilmbildung erkennbar. Vor allem die Grenzbereiche zwischen zwei aneinander haftenden Aufwuchsträgern waren intensiv besiedelt, auf der Oberfläche selbst befanden sich deutlich weniger Mikroorganismen und extrazelluläre polymere Substanz (EPS) als bei „Ref“.

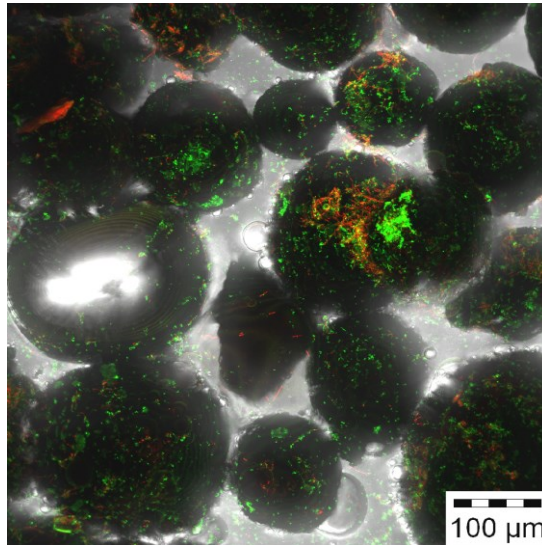


Abb. 46: „VOR“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – LSC, Z-Stapel

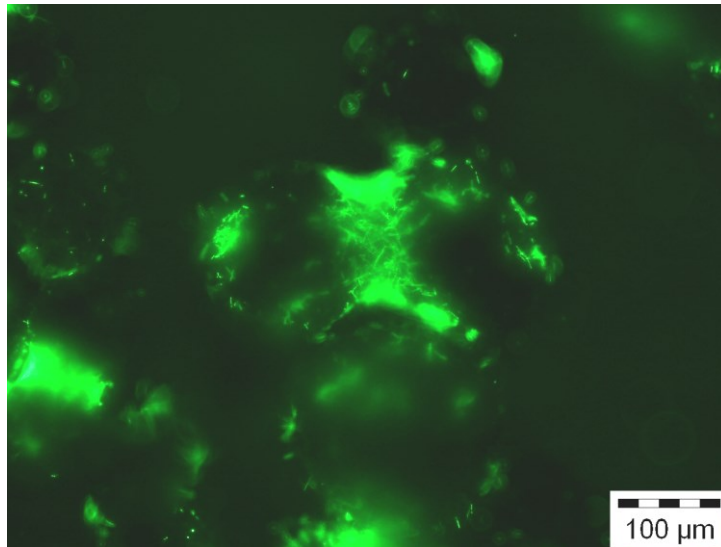


Abb. 47: „VOR“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – SYTO13-Färbung

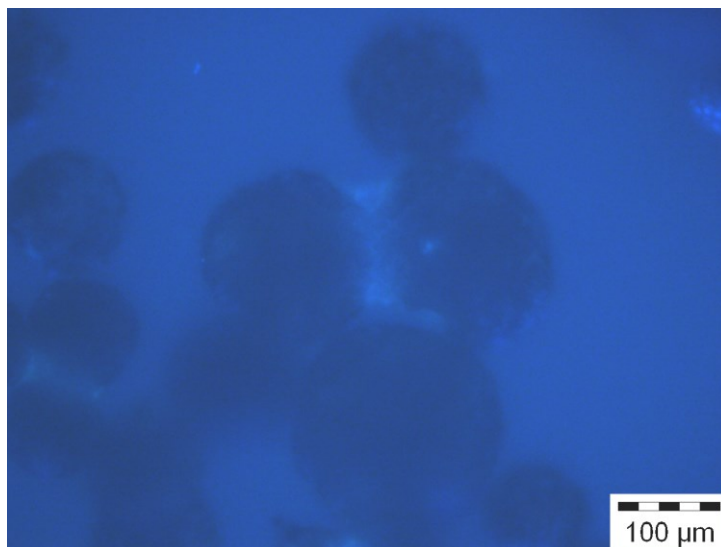


Abb. 48: „VOR“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – Autofluoreszenz

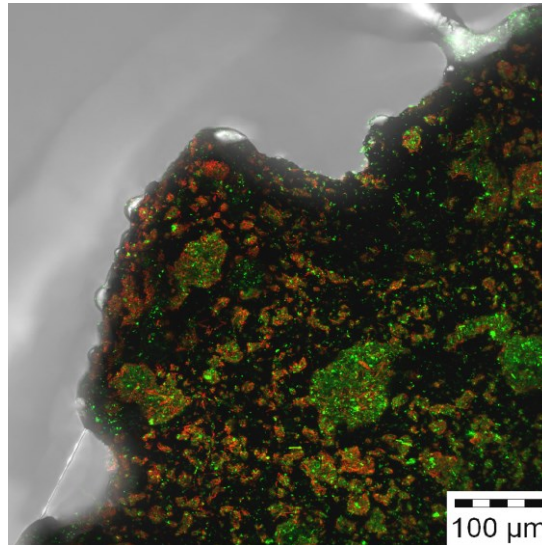


Abb. 49: „Ref“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – LSC, Z-Stapel

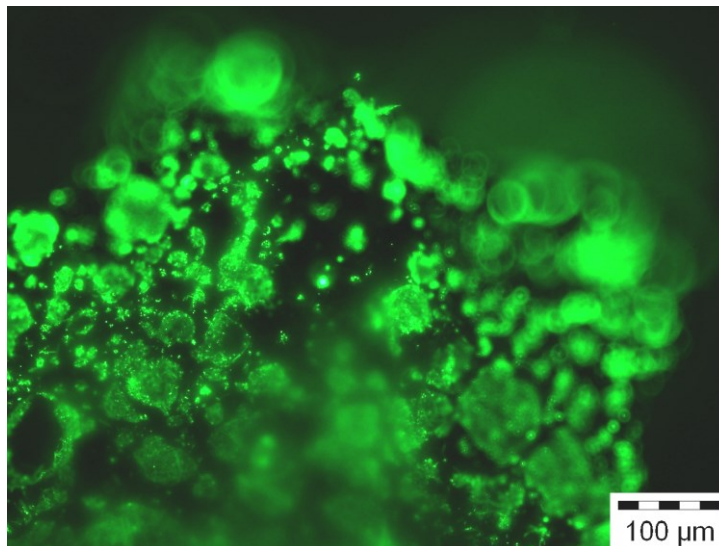


Abb. 50: „Ref“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – SYTO13-Färbung

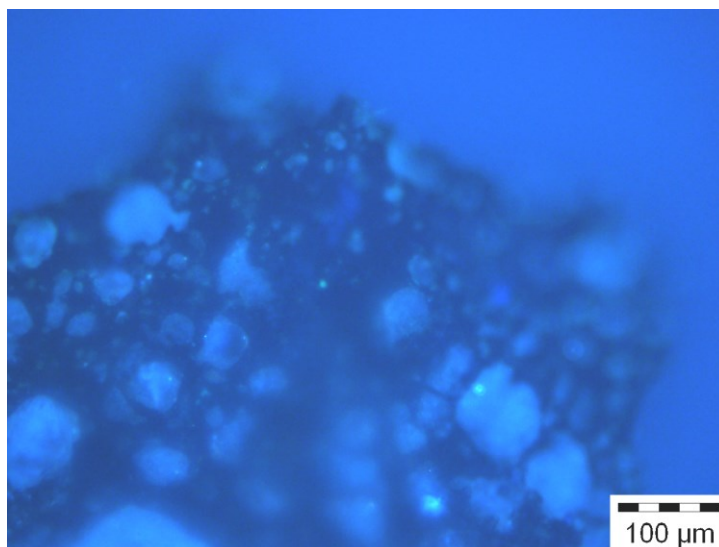


Abb. 51: „Ref“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – Autofluoreszenz

3.1.5 KTVA-Leistungsversuch 1 – Einfluss der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase

Die Methanbildungskinetik der verschiedenen Versuchsansätze des KTVA-Leistungsversuchs 1 wird in den Abbildungen 52 und 53 dargestellt.

In dieser Versuchsreihe wurden besiedelte Aufwuchsträger und flüssige Phase (als Inokulum) verwendet, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten während des CSTR-Versuchs aus dem Magnetreaktor entnommen wurden, siehe Tabelle A3, A5 und A7 im Anhang. Das jeweilige Inokulum wurde mit Leitungswasser in unterschiedlichen Verhältnissen verdünnt. Die Versuchsansätze enthielten 6 Massen-% besiedelte Aufwuchsträger, identische Kontrollansätze ohne Aufwuchsträger sollten die Wirkung der Aufwuchsträger bzw. der auf ihnen immobilisierten Biozönose verdeutlichen. Die Substratzugabe wurde auf den oTS-Gehalt in den Kontrollansätzen ohne Aufwuchsträger bezogen, sie war bei stärkerer Verdünnung des Inokulums geringer, siehe Tabelle 3 in Abschnitt 2.1.1. Bei den Ansätzen, bei denen die flüssige Phase vollständig aus Leitungswasser bestand, wurde die Substratzugabe auf den oTS-Gehalt der in den Versuchsansätzen enthaltenen besiedelten Aufwuchsträger bezogen. Die Werte der von den batch-weise betriebenen Ansätzen zum Ende des Versuchs erreichten maximalen Methanausbeuten sind in Tabelle A18 im Anhang dargestellt. Diese Tabelle enthält auch die Zeitpunkte, zu denen 50 % der maximalen Methanausbeute der Versuchsansätze bei den verschiedenen Verdünnungsstufen des Inokulums vorlagen. Um die Wirkung der Aufwuchsträger auf die Abbaugeschwindigkeit beurteilen zu können, wurde als Bezugsgröße immer die maximale Ausbeute der Kontrolle gewählt.

Bei Betrachtung der Abbildungen 52 und 53 fällt zunächst der Einfluss der Aufwuchsträger bei den beiden Grenzfällen auf, wenn die flüssige Phase nur aus Leitungswasser oder aus unverdünntem Inokulum bestand. Bei Leitungswasser war ein Abbau des Substrats erst durch den Eintrag von Mikroorganismen mit den Aufwuchsträgern möglich. Dieses Ergebnis war vorhersehbar, da im Leitungswasser kaum Mikroorganismen vorkommen sollten. Die erzielte Methanausbeute war dabei höher, als beim unverdünnten Inokulum. In der Biozönose auf den Aufwuchsträgern waren demnach alle Mikroorganismen, die für einen vollständigen anaeroben Abbau des Substrats benötigt werden, vorhanden und aktiv. Beim unverdünnten Inokulum bewirkten die Aufwuchsträger dagegen eine leichte Verschlechterung der Leistung des Versuchsansatzes, siehe Tabelle A18 im Anhang. Die Zugabe von Aufwuchsträgern führte zu einer Verdrängung bzw. Reduzierung der flüssigen Phase im Versuchsansatz. Die Biozönose in der flüssigen Phase war hier so leistungsfähig,

dass die Verdrängung der Mikroorganismen in der flüssigen Phase nicht durch die Mikroorganismen auf den Aufwuchsträgern kompensiert werden konnte.

Bei den Versuchsansätzen mit verdünntem Inokulum als flüssige Phase führte der Einsatz der Aufwuchsträger zu einer geringen Verbesserung der Methanausbeute und zu einer deutlichen Erhöhung der Abbaugeschwindigkeit, siehe Tabelle A18 im Anhang. Der Zeitbedarf bis 50 % der maximal erreichten Methanausbeute vorlagen, konnte im Vergleich zur Kontrolle ohne Aufwuchsträger um bis zu 81 % reduziert werden. Ein Vergleich der verschiedenen Verdünnungsstufen ist allerdings nicht möglich, da das jeweils verwendete Inokulum und die jeweils verwendeten Aufwuchsträger nicht identisch waren und sich hinsichtlich der Mikroorganismenpopulation unterschieden, siehe Tabelle A7 im Anhang.

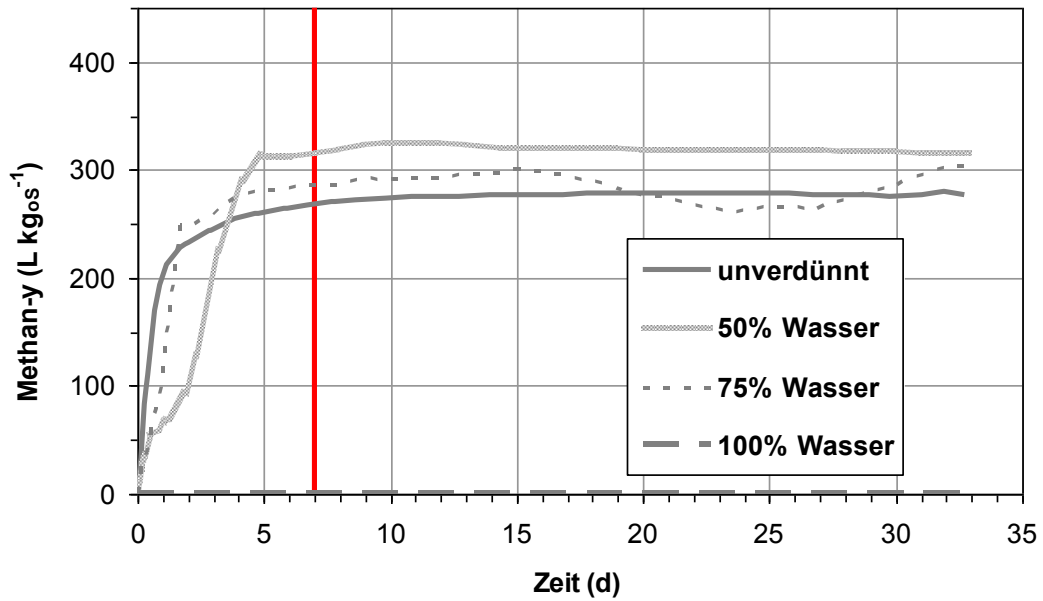


Abb. 52: Methanausbeute kumuliert über die Versuchsdauer, unterschiedliche Verdünnungsstufen des Inokulums – ohne MFGPs (6 Massen-%)

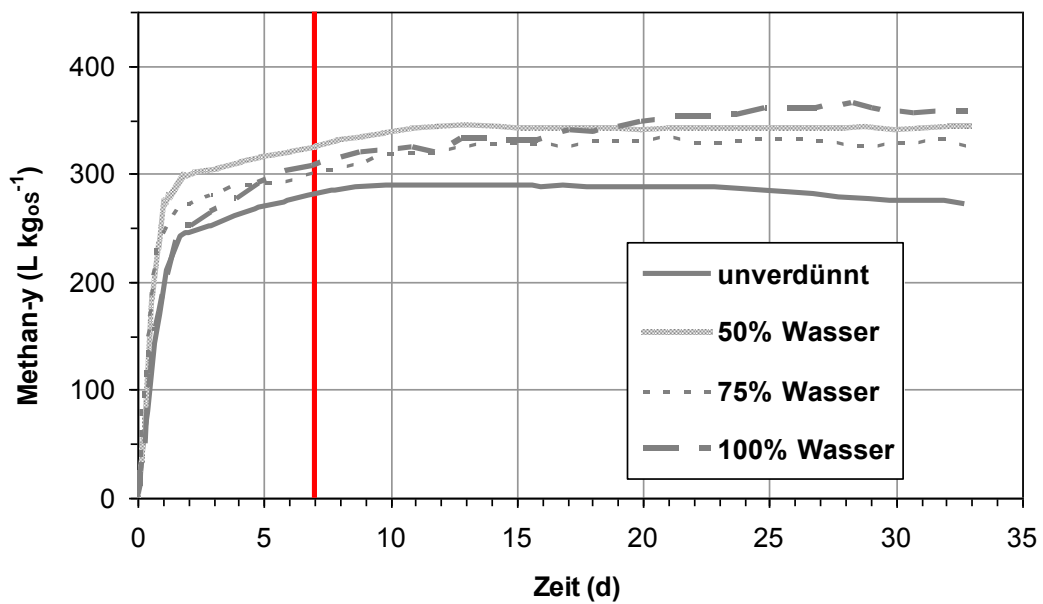


Abb. 53: Methanausbeute kumuliert über die Versuchsdauer, unterschiedliche Verdünnungsstufen des Inokulums – mit MFGPs (6 Massen-%)

3.1.6 KTVA-Leistungsversuch 2 – Einfluss der Aufwuchsträgerkonzentration

Die Methanbildungskinetik der verschiedenen Versuchsansätze des KTVA-Leistungsversuchs 2 wird in Abbildung 54 dargestellt. In dieser Versuchsreihe wurden bei allen Ansätzen flüssige Phase (als Inokulum) und besiedelte Aufwuchsträger verwendet, die zum gleichen Zeitpunkt im Verlauf des CSTR-Versuchs aus dem Magnetreaktor entnommen wurden, siehe Tabelle A4, A6 und A8 im Anhang. Das Inokulum wurde zu 75 % mit Leitungswasser verdünnt. Neben Kontrollansätzen ohne Aufwuchsträger gab es Versuchsansätze, die 2; 4 bzw. 6 Massen-% besiedelte Aufwuchsträger enthielten. Die Substratzugabe war bei allen Ansätzen gleich, da sie auf den oTS-Gehalt in den Kontrollansätzen ohne Aufwuchsträger bezogen wurde. Die Versuchsansätze wurden insgesamt vier Mal im Abstand von einer Woche beschickt, nach der letzten Beschickung wurde ein Zeitraum von drei Wochen eingehalten, um einen vollständigen Abbau zu ermöglichen.

Die Werte der zum Ende jedes Beschickungszeitraums von den Versuchsansätzen erreichten maximalen Methanausbeuten sind in Tabelle A19 im Anhang dargestellt. Diese Tabelle enthält auch die Zeitpunkte, zu denen 50 % der maximalen Methanausbeute bei verschiedenen Aufwuchsträgerkonzentrationen vorlagen. Um die Wirkung der Aufwuchsträger auf die Abbaugeschwindigkeit beurteilen zu können, wurde als Bezugsgröße immer die maximale Ausbeute der Kontrolle ohne Aufwuchsträger gewählt.

Bei der Betrachtung von Abbildung 54 fällt auf, dass die Methanausbeute bei den Ansätzen, die Aufwuchsträger enthielten, bei der vierten Beschickung stark zurückging. Der Grund dafür war nicht eindeutig feststellbar, die Ergebnisse der chemischen Analyse der Ansätze zum Versuchsende lieferten keine Indizien für eine Prozesshemmung, siehe unten. Die Methanausbeuten der Kontrollansätze ohne Aufwuchsträger waren bei allen Beschickungen sehr ähnlich, mit Ausnahme der dritten Beschickung, bei der eine deutlich höhere Ausbeute auftrat.

Aus der Methanbildungskinetik bei den ersten drei Beschickungen lässt sich ableiten, dass die Zugabe der besiedelten Aufwuchsträger eine Erhöhung der Abbaugeschwindigkeit bewirkte, siehe Tabelle A19 im Anhang. Der Zeitbedarf bis 50 % der maximal erreichten Methanausbeute vorlagen, konnte im Vergleich zur Kontrolle ohne Aufwuchsträger um bis zu 79 % reduziert werden (bei der ersten Beschickung und 6 Massen-% an Aufwuchsträgern). Die Methanausbeute der Versuchsansätze mit Aufwuchsträgern war bei den ersten beiden Beschickungen etwas höher als bei den Kontrollansätzen, bei den folgenden Beschickungen

war sie etwas geringer. Der positive Effekt der besiedelten Aufwuchsträger wurde durch die Erhöhung der Aufwuchsträgerkonzentration nicht unbedingt gesteigert. So war die erreichte Methanbildungsleistung bei einer Aufwuchsträgerkonzentration von 2 Massen-% mit Konzentrationen von 4 bzw. 6 Massen-% vergleichbar oder besser, siehe Tabelle A19 im Anhang.

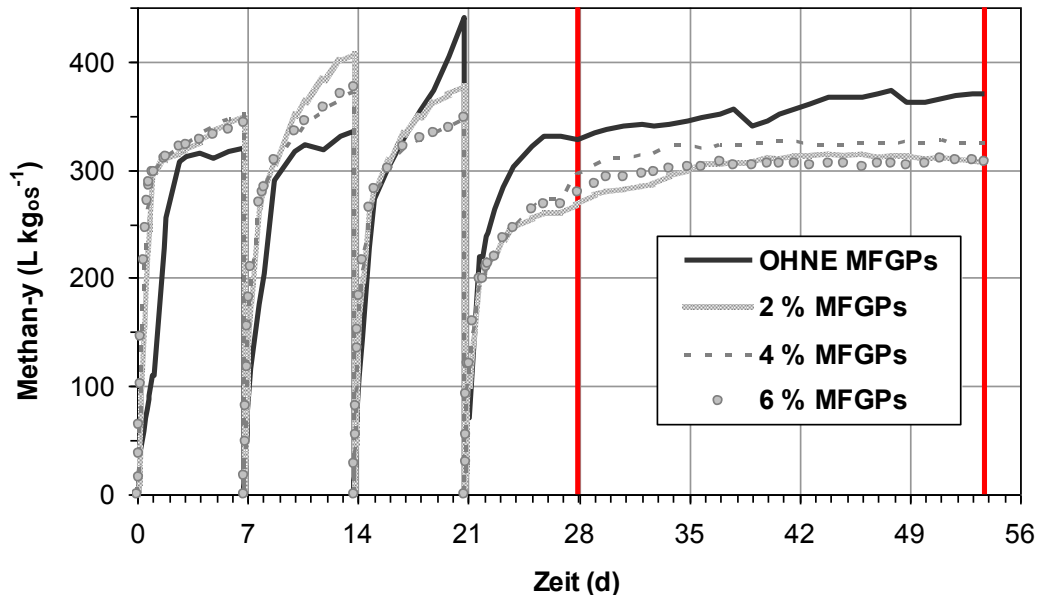


Abb. 54: Methanausbeute bei vier aufeinanderfolgenden Beschickungen – unterschiedliche MFGP-Konzentrationen

Gemittelt über alle vier Beschickungen wurde bei Ansätzen ohne Aufwuchsträger und bei Ansätzen mit 2, 4 bzw. 6 Massen-% an Aufwuchsträgern ähnliche Methanausbeuten in Höhe von 0,366; 0,361; 0,349 und 0,344 Norm-L g_{os}^{-1} erreicht. Der Einsatz der Aufwuchsträger führte demnach im Mittel zu einer Reduzierung der Methanausbeute um bis zu 6,2 %. Der Einfluss auf die Abbaugeschwindigkeit war dagegen deutlich stärker, siehe Tabelle A19 im Anhang.

Zum Versuchsende erfolgte eine chemische Analyse der flüssigen Phase aller Versuchsansätze inklusive der nicht beschickten Ansätze, die als Nullwerte dienten. Die Ergebnisse sind in Tabelle A20 und A21 im Anhang dargestellt. Mit steigender Aufwuchsträgerkonzentration kam es zu einem leichten Anstieg von pH-Wert und Leitfähigkeit. Alle Ansätze zeigten zum Versuchsende aber unkritische Werte, mit einem pH-Wert zwischen 7,29 und 7,66, einer Leitfähigkeit zwischen 3,35 und 5,66 mS cm^{-1} , einer Konzentration an NH_4-N zwischen 226,5 und 278,4 mg kg_{FM}^{-1} , einer Stickstoffkonzentration N_{Kjel} zwischen 723,5 und 838,1 mg kg_{FM}^{-1} und einem Essigsäureäquivalent zwischen 0,02 und 0,13 g L^{-1} . Eine Hemmung des Prozesses scheint ausgeschlossen zu sein.

3.2 CSTR-Versuch

3.2.1 Leistung der Versuchsreaktoren

3.2.1.1 Biogasproduktion

Die während der Laufzeit des CSTR-Versuchs ermittelten Methanbildungsraten (Methan-r) und Methanausbeuten (Methan-y) sowie die Raumbelastung (OLR) sind in Abbildung 55 für den Magnetreaktor (MR) und in Abbildung 56 für den Kontrollreaktor (CR) ohne magnetisierbare Aufwuchsträger dargestellt. Bei den dargestellten Werten handelt es sich um Mittelwerte einer Woche. Die Diagramme sind in die Versuchsphasen 1 bis 5 unterteilt. Nach Woche 15 erfolgte bei beiden Reaktoren eine Zugabe von Rindergülle, siehe Abschnitt 2.2.3.1, um die Biozönose im Reaktor zu stabilisieren. Die markierten Abschnitte, Versuchsphase 4-2 und Versuchsphase 5, werden in den Abbildungen 57 bis 60 detailliert dargestellt. Die Tabelle A23 im Anhang enthält die Mittelwerte der jeweiligen Versuchsphase sowie die Werte, die am letzten Tag der jeweiligen Versuchsphase erreicht wurden für die Größen Methanbildungsrate, Methanausbeute, Methangehalt im Biogas, hydraulische Verweilzeit, Reaktorvolumen und Raumbelastung.

Bei der Betrachtung der Abbildungen 55 und 56 fällt auf, dass sich beide Reaktoren bis zur Phase 4-2 sehr ähnlich verhielten. Die Probleme, die bei Inbetriebnahme der Reaktoren auftraten, konnten durch die Zugabe von Rindergülle und der Einhaltung einer konstanten Raumbelastung von $1,5 \text{ g}_{\text{OS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, siehe Abschnitt 4.3.1, behoben werden. Ab Woche 15 zeigten beide Reaktoren eine sehr gleichmäßige Leistung. Die Methanbildungsrate stieg in den Versuchsphasen 2 und 3 mit der Raumbelastung, bei annähernd konstanter Methanausbeute. Am letzten Tag der Versuchsphase 3 erreichten Methanbildungsrate, Methanausbeute und Methangehalt im Biogas beim Magnetreaktor Werte von $2,938 \text{ Norm-L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, $0,369 \text{ Norm-L g}_{\text{OS}}^{-1}$ und $51,9 \%$ bei einer Raumbelastung von $7,97 \text{ g}_{\text{OS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, einer hydraulischen Verweilzeit von $12,39 \text{ d}$ und einem Reaktorvolumen von 37 L . Beim Kontrollreaktor lagen die Werte von Methanbildungsrate, Methanausbeute, Methangehalt, Raumbelastung, hydraulischer Verweilzeit und Reaktorvolumen bei $2,821 \text{ Norm-L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, $0,357 \text{ Norm-L g}_{\text{OS}}^{-1}$, $52,0 \%$, $7,90 \text{ g}_{\text{OS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, $15,93 \text{ d}$ und $36,7 \text{ L}$.

Ab der Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit auf unter $8,5 \text{ d}$ in Versuchsphase 4-2 verhielten sich die beiden Reaktoren unterschiedlich. Die Leistung des Kontrollreaktors brach ab Tag 71 der Phase 4 komplett zusammen, während der Magnetreaktor eine stabile Leistung aufwies. Die Beschickung des Kontrollreaktors wurde daraufhin eingestellt. Eine

weitere Reduzierung der Verweilzeit auf unter 5 d in Versuchsphase 4-3 wurde vom Magnetreaktor ebenfalls problemlos vertragen.

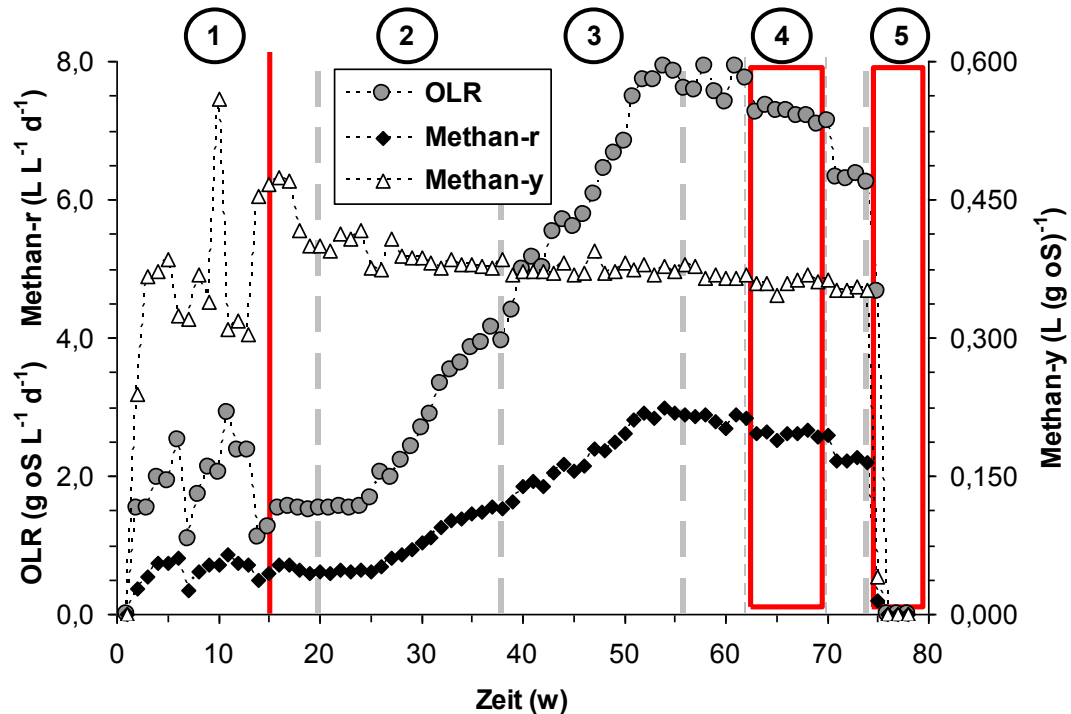


Abb. 55: Methanbildung im Wochenmittel dargestellt über alle Versuchsphasen, MR

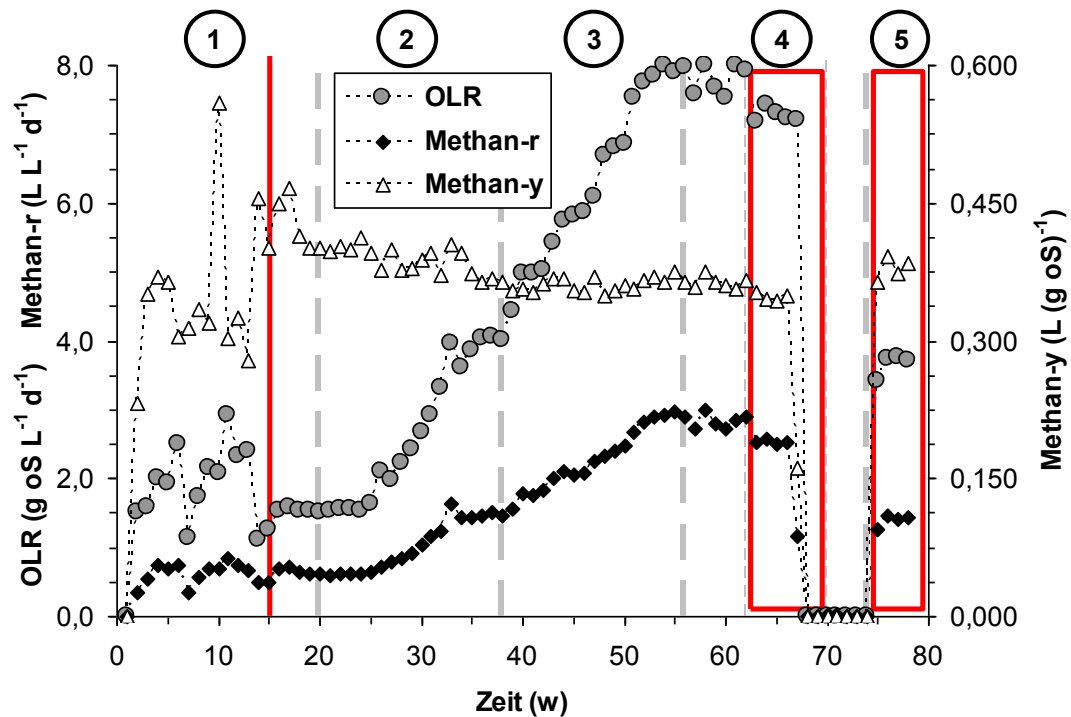


Abb. 56: Methanbildungsleistung im Wochenmittel dargestellt über alle Versuchsphasen, CR

Am letzten Tag der Phase 4-3 erreichte der Magnetreaktor eine Methanbildungsrate, eine Methanausbeute und einen Methangehalt im Biogas in Höhe von $2,208 \text{ Norm-L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, $0,344 \text{ Norm-L g}_{\text{os}}^{-1}$ und $52,4 \%$ bei einer Raumbelastung von $6,42 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, einer hydraulischen Verweilzeit von $4,86 \text{ d}$ und einem Reaktorvolumen von $45,9 \text{ L}$. In der 30 Tage andauernden Versuchsphase 4-3 wurde der Magnetreaktor unter konstanten Betriebsbedingungen betrieben. Die mittlere hydraulische Verweilzeit lag bei $4,7 \text{ d}$, die Länge der Versuchsphase 4-3 entsprach demnach ca. $6,4$ Verweilzeiten. Der Rückgang von Methanbildungsrate und Methanausbeute sind hier nicht auf eine Schwächung der mikrobiellen Biozönose sondern auf die Erhöhung des effektiven Reaktorvolumens und die Reduzierung der Verweilzeit zurückzuführen. Das Reaktorvolumen erhöhte sich, da die Reaktoren im Aufstaubetrieb betrieben wurden. Die Gärrestentnahme erfolgte in dieser Versuchsphase einmal täglich, das Wasservolumen, das zur Reduktion der Verweilzeit diente, wurde danach in die Reaktoren gegeben und führte zur Erhöhung des Nutzvolumens. Die Größen Raumbelastung und Methanbildungsrate werden mit dem Nutzvolumen berechnet und sinken mit steigendem Nutzvolumen bei gleicher Masse der Substratzugabe. Mit der Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit verkürzt sich die Zeit, die den Mikroorganismen im Fermenter zur Verfügung steht, um das Substrat abzubauen, bevor es den Reaktor wieder verlässt. Dadurch geht nicht abgebautes Substrat verloren und die Methanausbeute sinkt. Eine Schwächung der Biozönose hätte einen Rückgang des Methangehalts und einen Anstieg des Gehalts an organischen Säuren zur Folge gehabt, beides war nicht erkennbar.

In Versuchsphase 5 erfolgte eine Entnahme der besiedelten Aufwuchsträger aus dem Magnetreaktor, der Reaktor wurde danach unter den gleichen Bedingungen weiter betrieben. Durch diese Maßnahme sollte die Bedeutung der auf den Aufwuchsträgern befindlichen mikrobiellen Biozönose auf die Stabilität und die Leistung des Magnetreaktors festgestellt werden. Die besiedelten Aufwuchsträger wurden in Leitungswasser überführt und in den vorher entleerten Kontrollreaktor gegeben. Der Kontrollreaktor enthielt ab diesem Zeitpunkt nur die besiedelten Aufwuchsträger und Leitungswasser. Gemittelt über den Verlauf von Versuchsphase 5 wurde er mit einer Raumbelastung von $3,66 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ beschickt, die Verweilzeit wurde nicht zusätzlich reduziert und lag bei $49,46 \text{ d}$. Die Leistung des Magnetreaktors ist nach Entnahme der Aufwuchsträger unmittelbar zusammengebrochen. Der neu gestartete Kontrollreaktor vertrug den Betrieb unter den oben genannten Bedingungen ohne Probleme. Am Ende von Versuchsphase 5 erreichte der neu gestartete Kontrollreaktor eine Methanbildungsrate von $1,369 \text{ Norm-L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, eine Methanausbeute von $0,389 \text{ Norm-L g}_{\text{os}}^{-1}$ und einen Methangehalt im Biogas in Höhe von $53,1 \%$ bei einer Raumbelastung von $3,51 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, einer hydraulischen Verweilzeit von $50,54 \text{ d}$ und einem

Reaktorvolumen von 40,8 L. Diese Werte sind vergleichbar mit den Werten, die am letzten Tag der Versuchsphase 2 vom Kontrollreaktor (ohne magnetisierbare Aufwuchsträger) erreicht wurden: Methanbildungsrate $1,500 \text{ Norm-L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, Methanausbeute $0,380 \text{ Norm-L g}_{\text{OS}}^{-1}$, Methangehalt im Biogas in Höhe von 53,6 %, Raumbelastung $4,00 \text{ g}_{\text{OS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, hydraulische Verweilzeit 61,54 d, Reaktorvolumen 41,3 L. Bei der Beurteilung dieser Leistungsdaten ist von Bedeutung, dass sich die Anlaufphase des Reaktors bis diese Werte erreicht wurden deutlich unterscheidet. Am letzten Tag von Versuchsphase 2 war der Kontrollreaktor 268 Tage im Betrieb, beim Neustart in Versuchsphase 5 war eine vergleichbare Reaktorleistung dagegen sofort verfügbar.

In den Abbildungen 57 und 58 werden die in der Phase 4-2 des CSTR-Versuchs ermittelten Methanbildungsraten (Methan-r) und Methanausbeuten (Methan-y) sowie die Raumbelastung (OLR) für den Magnetreaktor (MR) bzw. für den Kontrollreaktor (CR) ohne Aufwuchsträger dargestellt. Es handelt sich um den in den Abbildungen 55 und 56 markierten Bereich, die hier dargestellten Werte sind Tageswerte.

Auch bei höherer Auflösung ist eine sehr gleichmäßige Leistung des Magnetreaktors erkennbar. Die Methanausbeute lag annähernd konstant bei einem Wert von 0,350 bis 0,370 $\text{Norm-L g}_{\text{OS}}^{-1}$. Die Methanbildungsrate folgte der Raumbelastung unmittelbar. Die täglichen Schwankungen der Raumbelastung sind auf Ungenauigkeiten der Zugabepumpen und den angewendeten Aufstaubetrieb zurückzuführen. Bis zum Zusammenbruch seiner Leistung am Tag 71 zeigte der Kontrollreaktor ein identisches Verhalten. Nach diesem Tag gingen die Werte von Methanbildungsrate und Methanausbeute drastisch zurück, innerhalb von fünf Tagen kam die Methanbildung beinahe vollständig zum Erliegen. Zwischen der Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit auf unter 8,5 d zu Beginn der Phase 4-2 und dem Zusammenbruch des Kontrollreaktors lagen 29 Tage. Demnach war der Effekt, der durch die Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit bewirkt wurde, nach Ablauf einer Zeitspanne von 3,4 Verweilzeiten (entsprach 29 Tagen) erkennbar.

In den Abbildungen 59 und 60 werden die in der Phase 5 des CSTR-Versuchs ermittelten Methanbildungsraten (Methan-r) und Methanausbeuten (Methan-y) sowie die Raumbelastung (OLR) für den Magnetreaktor (MR) bzw. für den Kontrollreaktor (CR) ohne Aufwuchsträger dargestellt. Es handelt sich um den in den Abbildungen 55 und 56 markierten Bereich, die hier dargestellten Werte sind Tageswerte.

Nach Entnahme der besiedelten Aufwuchsträger sanken die Methanbildungsrate und die Methanausbeute des Magnetreaktors bereits einen Tag später stark ab. Nach drei Tagen kam die Methanbildung fast vollständig zum Erliegen. Der neu gestartete Kontrollreaktor

zeigte bereits am ersten Tag der Versuchsphase 5 eine Methanausbeute in Höhe von 0,279 Norm-L $\text{g}_{\text{OS}}^{-1}$. Ab dem dritten Tag wurde die Substratzugabe auf den angestrebten Wert gesteigert. Die Schwankung der Raumbelastung infolge des Aufstaubetriebs war hier noch deutlicher erkennbar als beim Magnetreaktor in Phase 4-2, siehe Abbildung 57. Der Einfluss der Raumbelastung auf die Methanbildungsrate war dagegen nicht so stark ausgeprägt, wahrscheinlich wegen dem geringeren Niveau der Raumbelastung. Die Methanausbeute des Kontrollreaktors war über der gesamten Laufzeit der Versuchsphase 5 stabil.

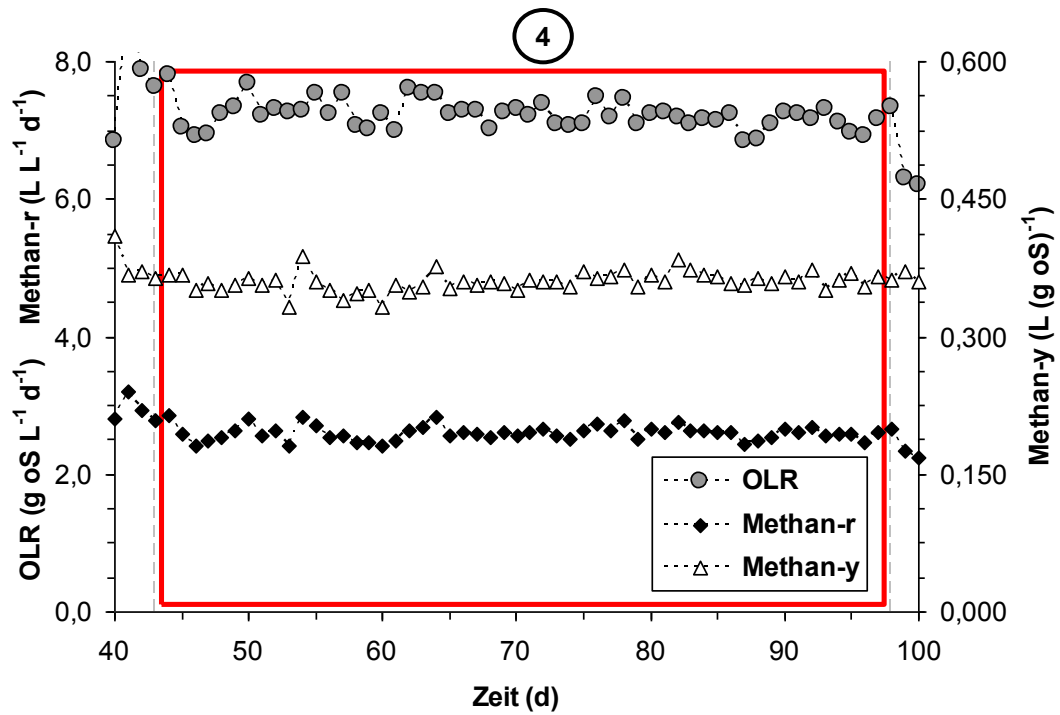


Abb. 57: Tägliche Methanbildung in Versuchsphase 4-2, MR

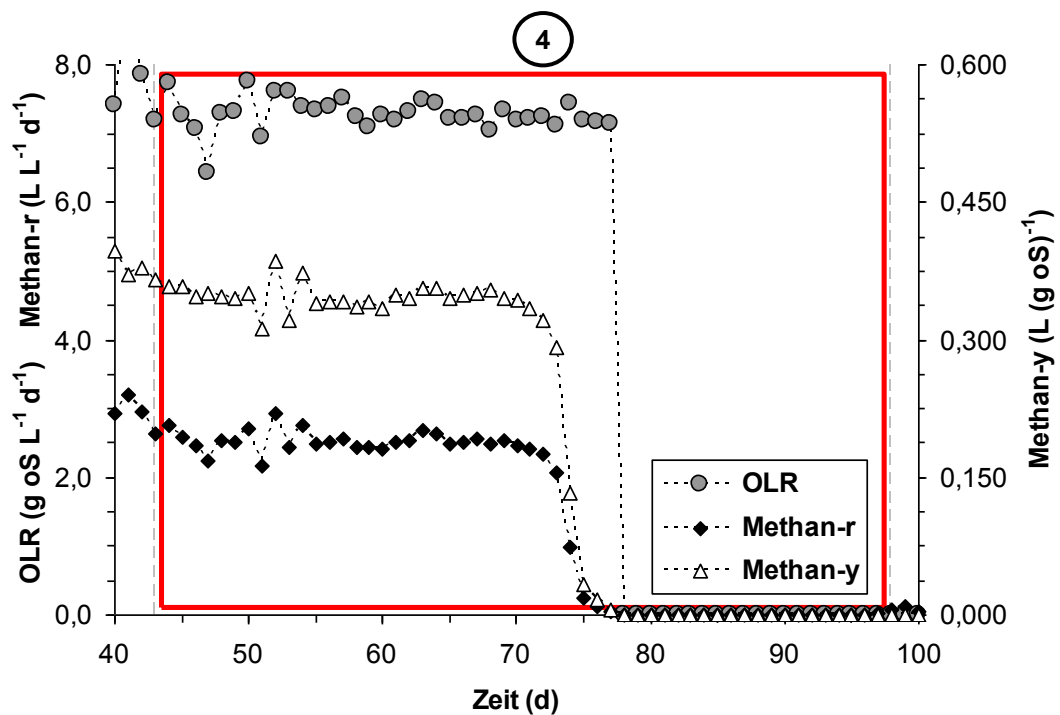


Abb. 58: Tägliche Methanbildung in Versuchsphase 4-2, CR

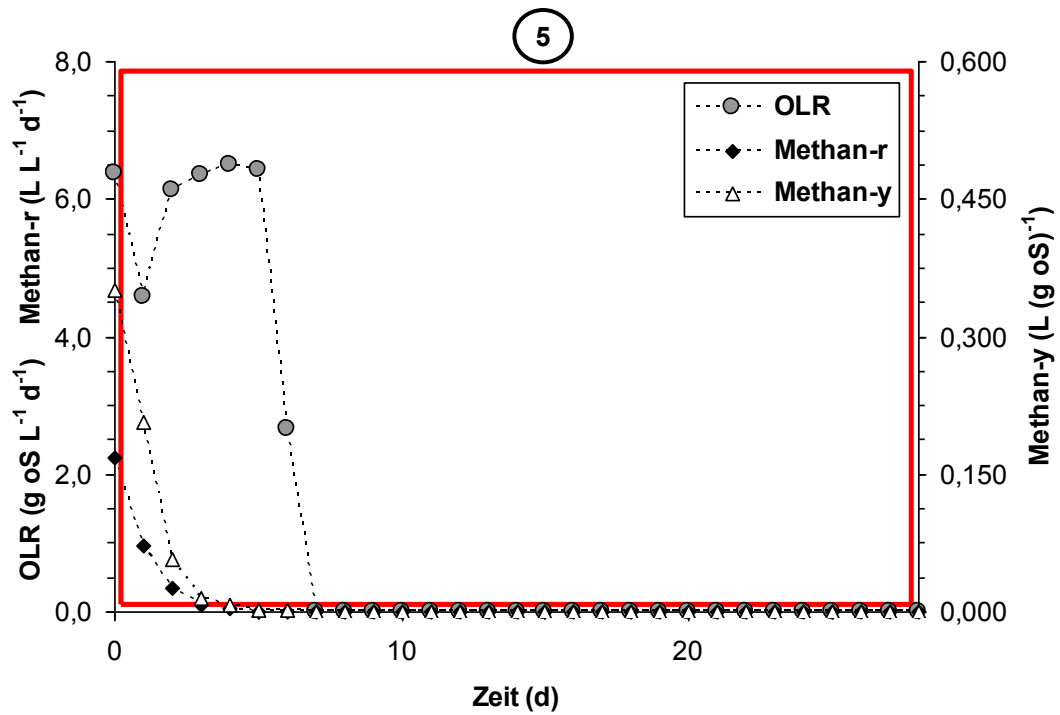


Abb. 59: Tägliche Methanbildung in Versuchsphase 5, MR nach Entnahme aller MFGPs

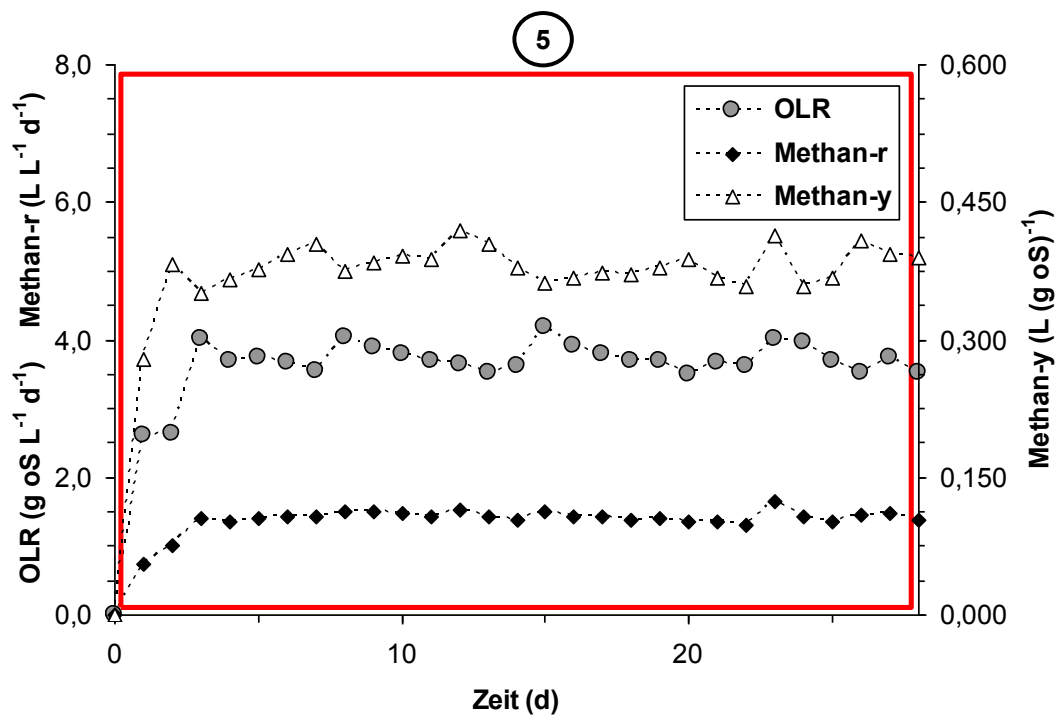


Abb. 60: Tägliche Methanbildung in Versuchsphase 5, CR Neustart mit besiedelten MFGPs und Leitungswasser als flüssige Phase

3.2.1.2 Chemische Zusammensetzung der flüssigen Phase

Die während der Laufzeit des CSTR-Versuchs ermittelten Konzentrationen an Säuren (dargestellt durch den Summenparameter Essigsäureäquivalent) sowie der pH-Wert und der FOS/TAC-Wert der flüssigen Phase sind in Abbildung 61 für den Magnetreaktor (MR) und in Abbildung 62 für den Kontrollreaktor (CR) ohne Aufwuchsträger dargestellt. Bei den dargestellten Werten handelt es sich um die Werte, die durch die Analyse der wöchentlichen Probenahme ermittelt wurden. Die Diagramme sind in die einzelnen Versuchsphasen 1 bis 5 unterteilt, analog zur Darstellung der Methanbildungsleistung der Reaktoren in den Abbildungen 55 und 56. Die markierten Abschnitte, Versuchsphase 4-2 und Versuchsphase 5, werden in den Abbildungen 63 bis 70 detailliert dargestellt. Die Tabellen A24 bis A26 im Anhang enthalten die Mittelwerte der jeweiligen Versuchsphase sowie die Werte, die am letzten Tag der jeweiligen Versuchsphase erreicht wurden für die Größen TS-Gehalt, oTS-Gehalt, pH-Wert, Leitfähigkeit, Ammoniumstickstoffkonzentration, Stickstoffkonzentration nach Kjeldahl, FOS/TAC-Wert, Essigsäureäquivalent, Milchsäurekonzentration, CSB-Wert, Zuckergehalt sowie die Konzentrationen der Makroelemente C, N, S, P, H und der Metalle Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, V, Zn, Ti und Tl.

Bei der Betrachtung der Abbildungen 61 und 62 fällt auf, dass sich der Verlauf von pH-Wert und FOS/TAC-Wert bei beiden Reaktoren bis in Versuchsphase 4-2 sehr ähnelte. Die Stabilisierung des Prozesses nach Woche 15, die durch die Zugabe von Rindergülle und der Einhaltung einer konstanten Raumbelastung von $1,5 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, siehe Abschnitt 4.3.1, erreicht wurde, ist gut erkennbar. Auffällig ist, dass sich der Verlauf des Essigsäureäquivalents bei Magnetreaktor und Kontrollreaktor unterschieden. Nach der Zugabe der Rindergülle wurden vom Kontrollreaktor nur noch geringe Säurekonzentrationen unterhalb $0,9 \text{ g L}^{-1}$ erreicht. Beim Magnetreaktor traten dagegen immer wieder Spitzenwerte bis zu 3 g L^{-1} auf. Diese Entwicklung spiegelte sich nicht im pH-Wert oder im FOS/TAC-Wert wieder. Im Zeitraum zwischen der Zugabe der Rindergülle und dem Zusammenbruch des Kontrollreaktors in Phase 4-2 lagen der pH-Wert und der FOS/TAC-Wert beim Magnetreaktor in Bereichen von 7,00 bis 7,67 und 0,12 bis 0,38 bzw. in Bereichen von 6,77 bis 7,65 und 0,13 bis 0,40 beim Kontrollreaktor.

Auf die Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit auf Werte unter 8,5 d in Versuchsphase 4-2 reagierten die beiden Reaktoren unterschiedlich. Ab Tag 72 der Phase 4 waren beim Kontrollreaktor ein schneller Abfall des pH-Werts und ein schneller Anstieg des FOS/TAC-Werts erkennbar. Innerhalb von 7 Tagen fiel der pH-Wert von 7,1 auf 4,04. Der FOS/TAC-Wert erreichte innerhalb von zwei Tagen einen Wert von 2,2 und stieg weiter auf Werte, die nicht mehr bestimmt werden konnten. Die Säurekonzentration stieg im weiteren Verlauf auf

bis zu $11,93 \text{ g L}^{-1}$ an. Der Magnetreaktor blieb dagegen auch bei einer weiteren Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit auf Werte unter 5 d stabil und wies zum Ende der Versuchsphase 4 einen pH-Wert von 6,67 und einen FOS/TAC-Wert von 0,27 auf.

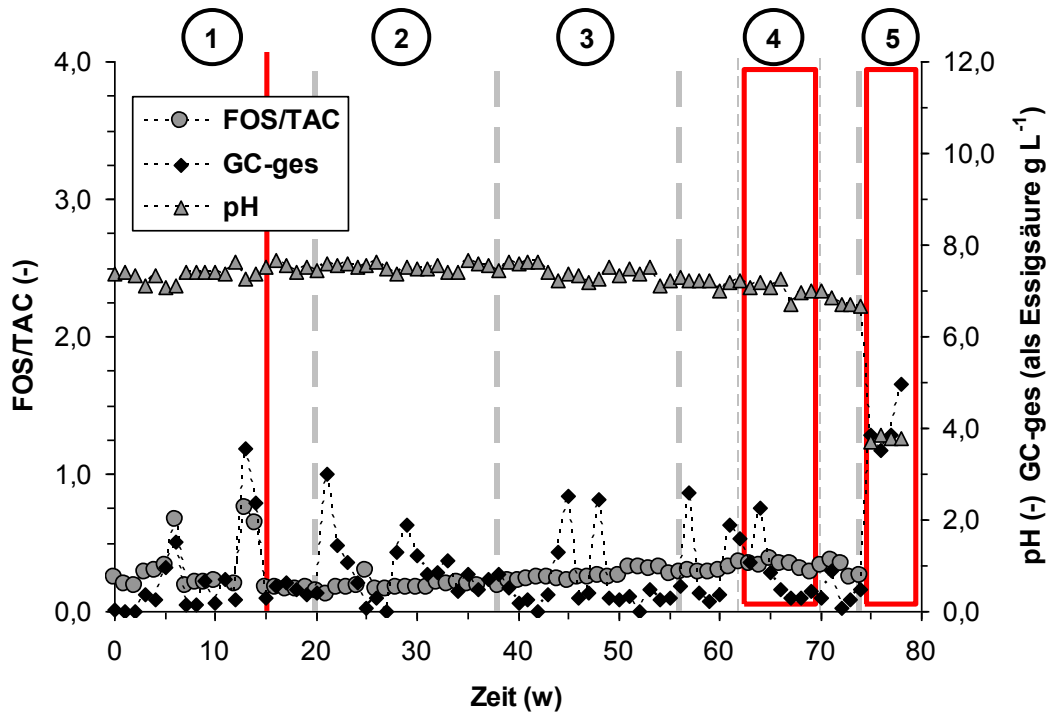


Abb. 61: Säuremilieu, dargestellt über alle Versuchsphasen, MR

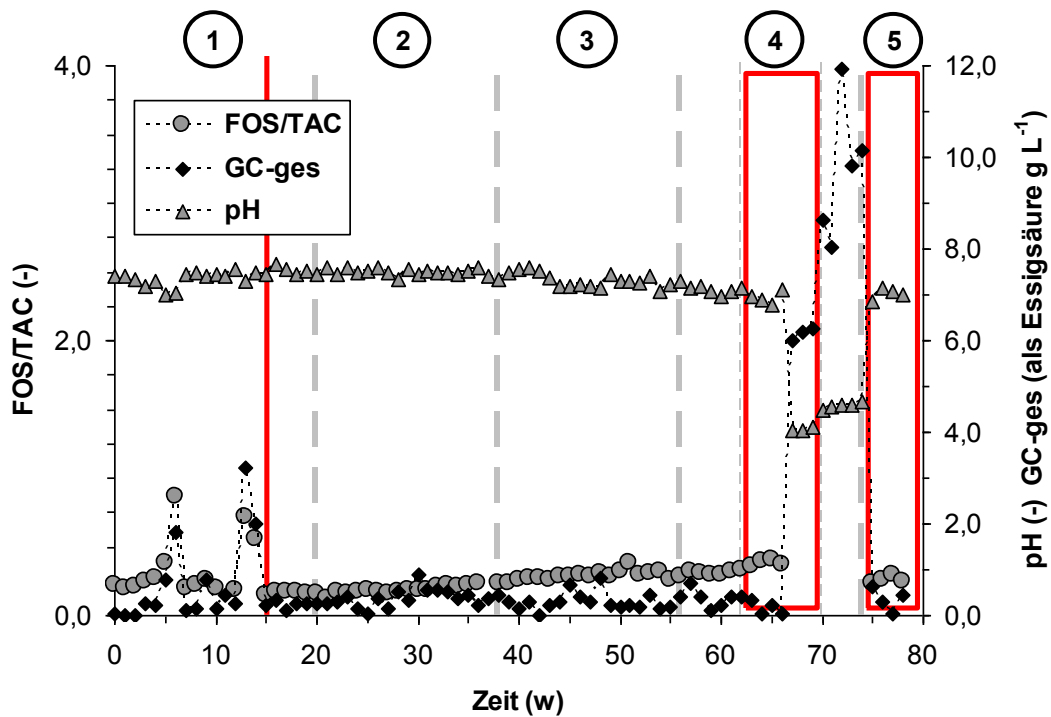


Abb. 62: Säuremilieu, dargestellt über alle Versuchsphasen, CR

Nach Entnahme der besiedelten Aufwuchsträger in Versuchsphase 5 fiel der pH-Wert des Magnetreaktors innerhalb von vier Tagen von 6,78 auf 3,92 ab, der FOS/TAC-Wert lag bereits nach einem Tag bei 3,32. Die Säurekonzentration im Magnetreaktor stieg im weiteren Verlauf auf bis zu $4,98 \text{ g L}^{-1}$. Der mit Leitungswasser und den aus dem Magnetreaktor entnommenen besiedelten Aufwuchsträgern neu gestartete Kontrollreaktor zeigte dagegen sehr konstante pH-Werte, FOS/TAC-Werte und Säurekonzentrationen, sie lagen gemittelt über die Versuchsphase 5 bei 7,02; 0,26 bzw. $0,35 \text{ g L}^{-1}$.

In den Abbildungen 63 bis 70 wird das Spektrum organischer Säuren und Alkohole, das oben als Essigsäureäquivalent zusammengefasst wurde, noch einmal detailliert dargestellt. Es werden neben dem pH-Wert und dem FOS/TAC-Wert die Konzentrationen an Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Ethanol und Propanol sowie Milchsäure (wird nicht im Essigsäureäquivalent erfasst) dargestellt. Die Konzentration weiterer Säuren und Alkohole war nur sehr gering, auf eine Darstellung wird verzichtet.

Innerhalb Versuchsphase 4-2 bestand das Säurespektrum des Magnetreaktors im Wesentlichen aus Essigsäure mit einem Höchstwert von $2,21 \text{ g L}^{-1}$, andere Säuren und Alkohole wiesen vernachlässigbar geringe Konzentrationen auf, siehe Abbildung 63 und 65. Das Säurespektrum des Kontrollreaktors, siehe Abbildung 64 und 66, war bis zu seiner Überlastung ähnlich. Eine schädliche Wirkung aufgrund hoher Konzentrationen organischer Säuren kann demnach im regulären Betrieb ausgeschlossen werden. Erst mit zunehmenden Verlusten an Mikroorganismen aufgrund der simulierten geringen hydraulischen Verweilzeit kam es beim Kontrollreaktor ab Tag 72 der Versuchsphase 4 zu einem starken Anstieg der Konzentrationen von Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure. Ab Tag 75 stiegen auch die Konzentrationen an Ethanol, Propanol und Milchsäure. Essigsäure und Milchsäure bildeten die Hauptbestandteile des Säurespektrums, ihre Konzentrationen stiegen innerhalb von wenigen Tagen auf Werte von $4,33 \text{ g L}^{-1}$ bzw. $18,02 \text{ g kg}^{-1}$. Propionsäure, Buttersäure, Ethanol und Propanol waren dagegen zunächst nur in deutlich geringeren Konzentrationen von maximal 2 g L^{-1} vertreten. Zum Ende der Versuchsphase 4-2 kam es zu einem starken Rückgang der Milchsäurekonzentration. Die Milchsäure wurde wahrscheinlich zu Buttersäure und Propionsäure abgebaut, da es zu einem starken Anstieg der Konzentration dieser Säuren im gleichen Zeitraum kam.

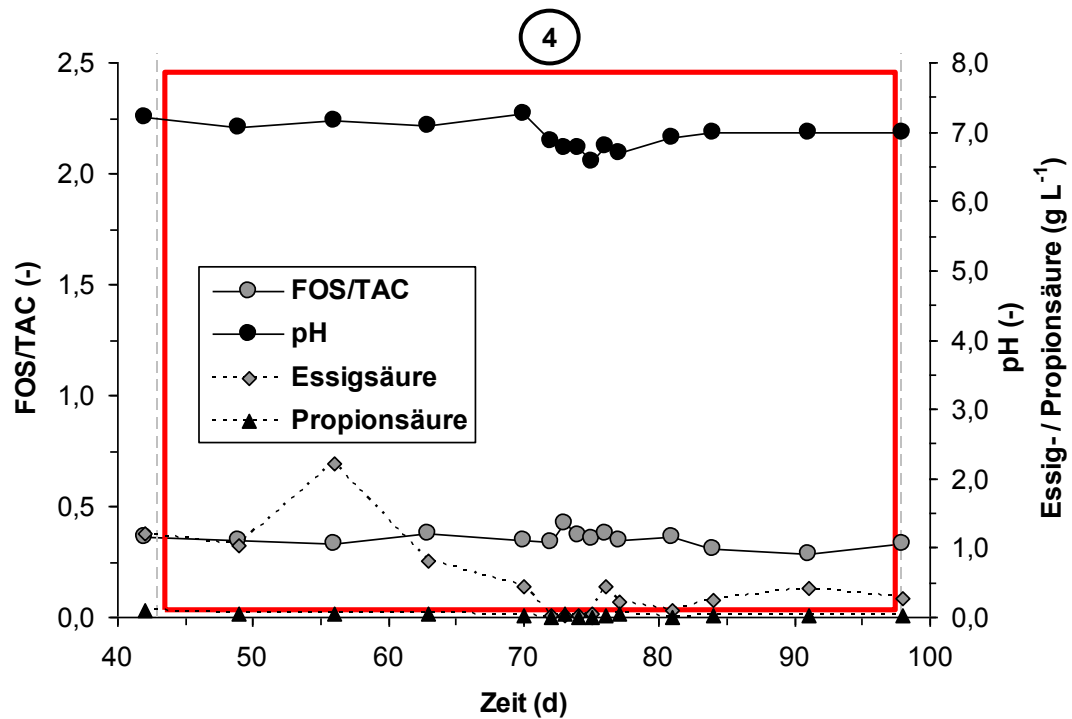


Abb. 63: FOS/TAC, pH, Essigsäure und Propionsäure in Versuchsphase 4-2, MR

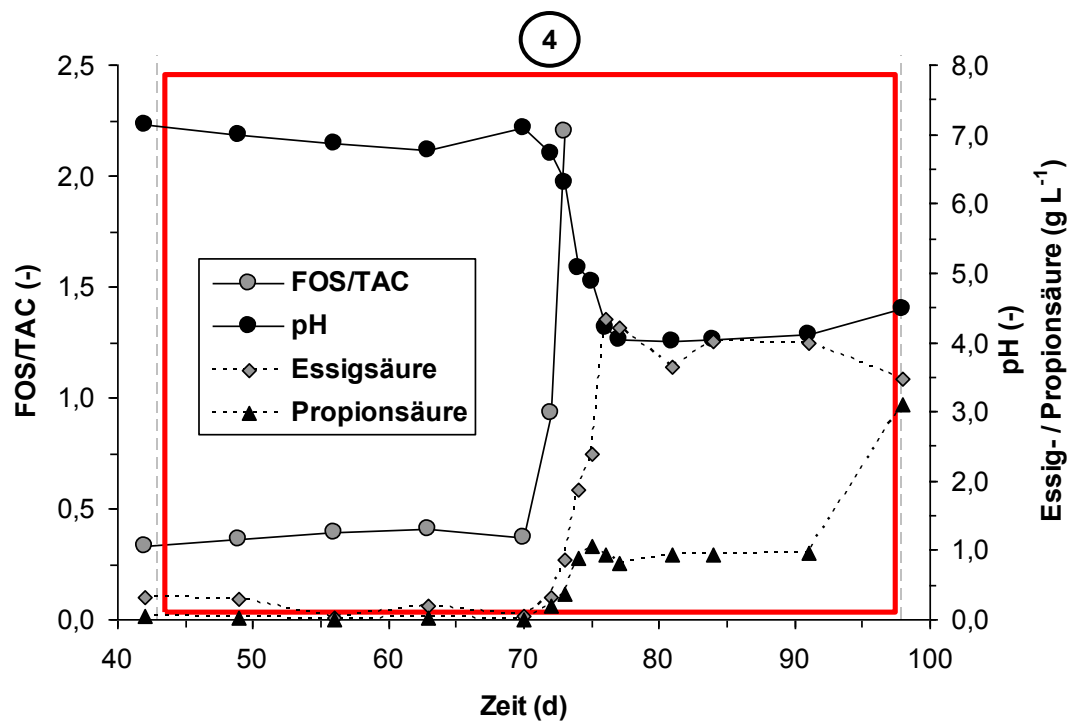


Abb. 64: FOS/TAC, pH, Essigsäure und Propionsäure in Versuchsphase 4-2, CR

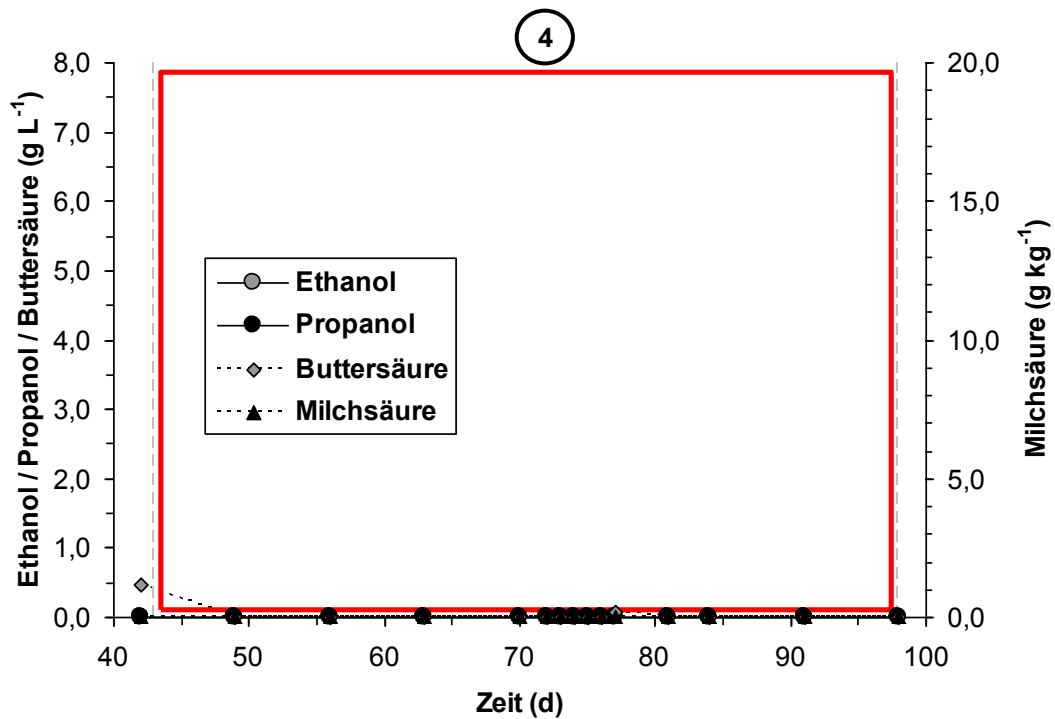


Abb. 65: Ethanol, Propanol, Buttersäure, Milchsäure in Versuchsphase 4-2, MR

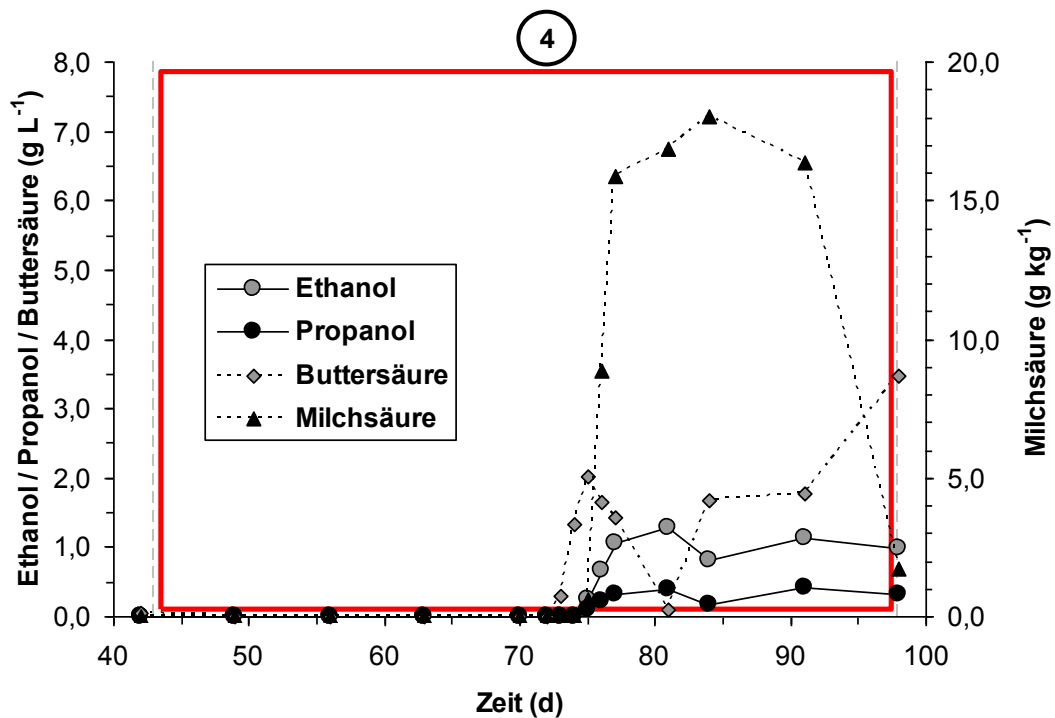


Abb. 66: Ethanol, Propanol, Buttersäure, Milchsäure in Versuchsphase 4-2, CR

In Versuchsphase 5 spiegelte sich die Entwicklung der Phase 4-2 im Wesentlichen wieder, siehe Abbildung 67 bis 70. Der überlastete Reaktor, in diesem Fall der Magnetreaktor nach Entnahme der besiedelten Aufwuchsträger, wies ein sehr breites Säurespektrum und hohe Säurekonzentrationen auf. Schon am ersten Tag der Versuchsphase kam es beim Magnetreaktor zu einem Anstieg der Konzentrationen von Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure. Die Konzentrationen an Ethanol, Propanol und Milchsäure stiegen wieder zeitlich versetzt an, hier ab Tag 3. Essigsäure und Milchsäure stellten mit $2,89 \text{ g L}^{-1}$ bzw. $15,97 \text{ g kg}^{-1}$ den Hauptbestandteil dar. Propionsäure, Buttersäure, Ethanol und Propanol traten nur in deutlich geringeren Konzentrationen unter $1,5 \text{ g L}^{-1}$ auf. Ein Rückgang der Milchsäurekonzentration konnte im Gegensatz zur Entwicklung des Kontrollreaktors in Versuchsphase 4-2 nicht beobachtet werden. Die Konzentrationen der Säuren und Alkohole blieben beim Magnetreaktor über die gesamte Versuchsphase 5 annähernd konstant auf dem erreichten Niveau. Beim Kontrollreaktor, der in Versuchsphase 5 mit den besiedelten Aufwuchsträgern aus dem Magnetreaktor neu gestartet wurde, wiesen alle Säuren und Alkohole sehr geringe Konzentrationen auf. Bis auf Essigsäure, die Konzentrationen von bis zu $0,56 \text{ g L}^{-1}$ erreichte, können die Säuren und Alkohole vernachlässigt werden.

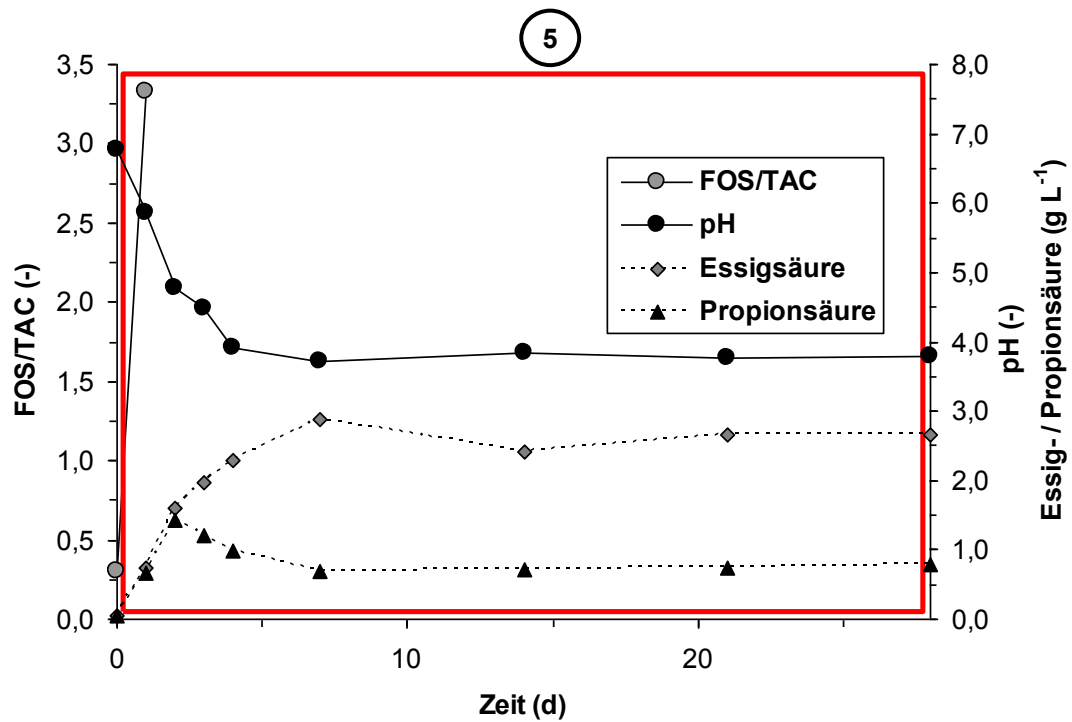


Abb. 67: FOS/TAC, pH, Essigsäure und Propionsäure in Versuchsphase 5, MR nach Entnahme der MFGPs

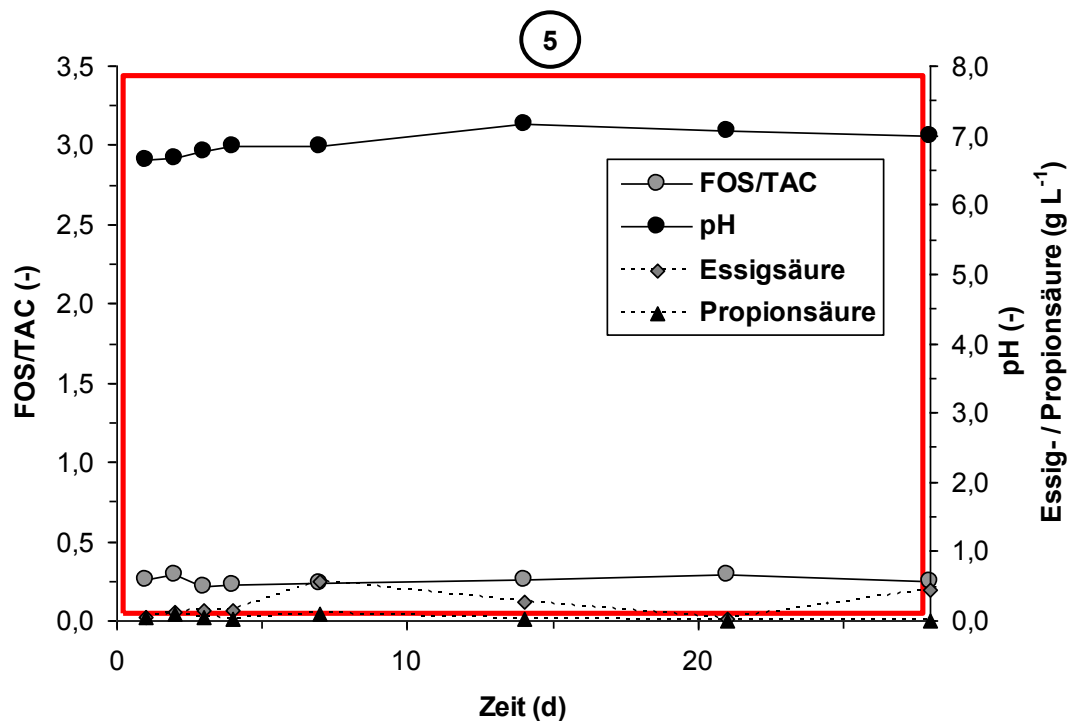


Abb. 68: FOS/TAC, pH, Essigsäure und Propionsäure in Versuchsphase 5, CR Neustart mit besiedelten MFGPs und Leitungswasser als flüssige Phase

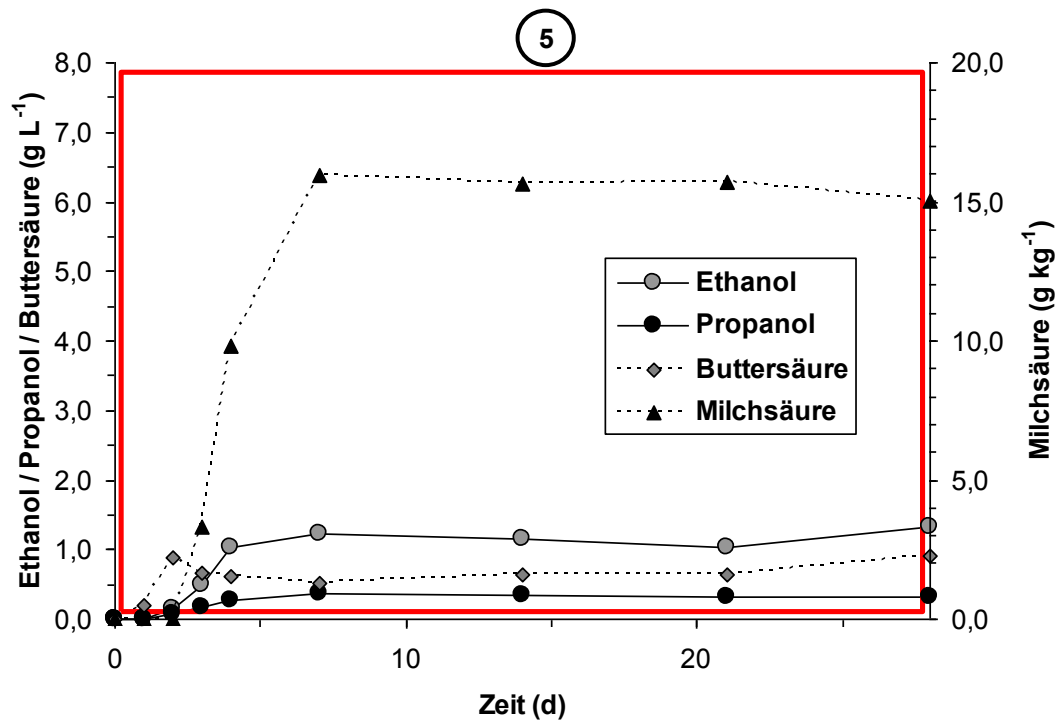


Abb. 69: Ethanol, Propanol, Buttersäure, Milchsäure in Versuchssphase 5, MR nach Entnahme der MFGPs

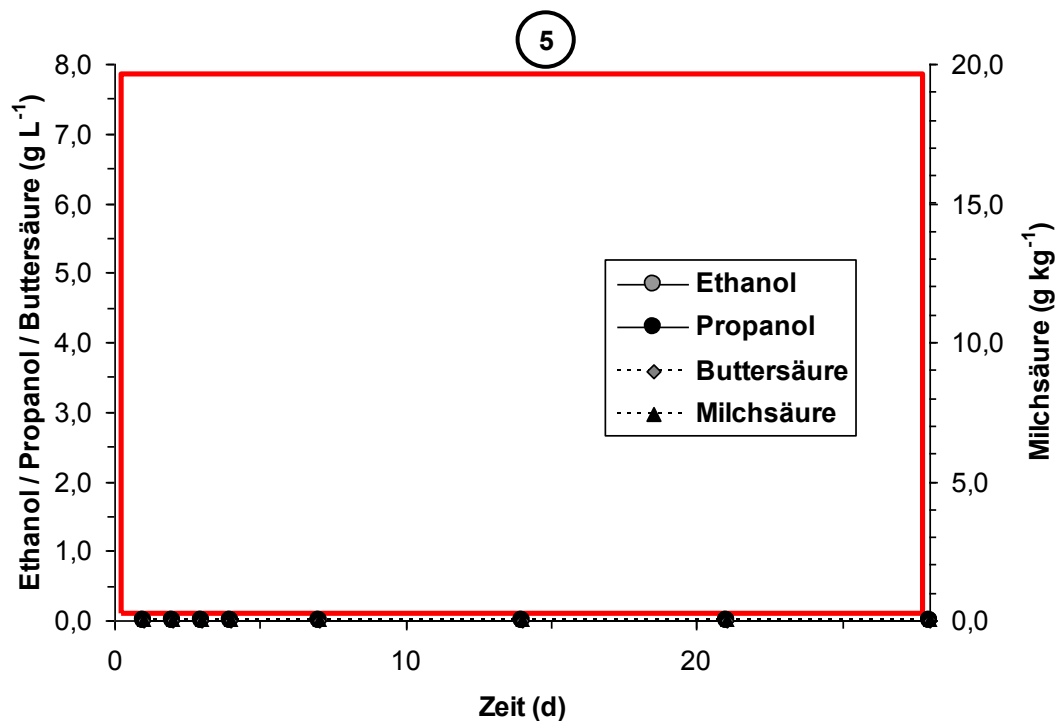


Abb. 70: Ethanol, Propanol, Buttersäure, Milchsäure in Versuchssphase 5, CR Neustart mit besiedelten MFGPs und Leitungswasser als flüssige Phase

3.2.1.3 Nährstoffversorgung

Über die gesamte Laufzeit des CSTR-Versuchs wurde das eingesetzte Substrat Zuckerrübensilage mit Nährstoffergänzungen versetzt, siehe Abschnitt 2.2.2.2. Ziel war, ein passendes C:N:P:S-Verhältnis einzustellen und die Versorgung mit essentiellen Spurenelementen sicherzustellen.

In den Reaktoren stellten sich zum Ende der jeweiligen Versuchsphase die in Tabelle 16 dargestellten C:N:P:S-Verhältnisse ein. Das C:N:P:S-Verhältnis war demnach bei beiden Reaktoren vergleichbar und ähnelte sich zwischen den Versuchsphasen. Das im Substrat eingestellte Soll-C:N:P:S-Verhältnis von 600:15:5:3 wurde in den Reaktoren nicht erreicht. Der zu hohe Stickstoffanteil kann auf die zusätzliche Ammoniumcarbonatzugabe, siehe unten, zurückgeführt werden. Die Abweichungen im P und S-Anteil könnten mit chemischen Reaktionen und mikrobiologischen Prozessen im Reaktor zu erklären sein.

Tab. 16: C:N:P:S-Verhältnisse in der flüssigen Phase der Reaktoren

Versuchsphase	Magnetreaktor				Kontrollreaktor			
	C:	N:	P:	S	C:	N:	P:	S
1	600,0	79,5	1,1	6,1	600,0	83,8	1,0	5,8
2	600,0	104,8	1,5	9,2	600,0	104,0	1,6	10,8
3	600,0	110,8	0,9	8,0	600,0	108,9	1,1	9,2
4	600,0	102,0	0,3	7,6	600,0	76,0	0,6	6,4
5	600,0	76,5	0,3	6,2	600,0	111,7	0,8	11,0

Die Konzentrationen an verschiedenen Metallen in der verwendeten Zuckerrübensilage und in der flüssigen Phase der Reaktoren sind in den Tabellen A1b, A25 und A26 im Anhang dargestellt. Die für einen optimalen anaeroben Abbau des Substrats erforderlichen Konzentrationen der essentiellen Spurenelemente Kobalt, Molybdän, Nickel, Chrom, Mangan und Blei nach Grepmeier (Grepmeier, 2002) lagen bei der verwendeten Zuckerrübensilage innerhalb der optimalen Konzentrationsbereiche bzw. oberhalb der minimalen Konzentration. Zur Versorgung mit Selen sind keine Aussagen möglich, da der bei Grepmeier (Grepmeier, 2002) angegebene Mindestwert die Nachweisgrenze der durchgeführten chemischen Analyse unterschreitet. Die Zugabe der Spurenelementelösung zur Silage, siehe Abschnitt 2.2.2.2, wäre demnach nicht unbedingt notwendig gewesen. Die Konzentrationen der bei Grepmeier (Grepmeier, 2002) angegebenen schädlich wirkenden Metalle Chrom, Nickel, Kupfer, Cadmium, Blei, Natrium, Calcium und Magnesium lagen in der Zuckerrübensilage und in der flüssigen Phase der Reaktoren immer deutlich unterhalb hemmend wirkender Konzentrationen. Die Konzentration an Kalium lag bei der Zuckerrübensilage unter der hemmend wirkenden Konzentration in Höhe von 2500 bis 5000 mg L⁻¹, in der flüssigen

Phase der Reaktoren wird die untere Grenze der Hemmkonzentration teilweise leicht überschritten. Die Konzentration an Zink hatte die untere Grenze der hemmend wirkenden Konzentration in der Zuckerrübensilage und in der flüssigen Phase der Reaktoren zum Teil überschritten. Die bei Grepmeier angegebenen Bereiche der Hemmkonzentration sind sehr groß, die im Versuchsbetrieb auftretenden Konzentrationen können deshalb als unkritisch betrachtet werden. Eine durch die Verwendung der Aufwuchsträger verursachte Erhöhung der Konzentration an Eisen im Reaktor konnte nicht beobachtet werden.

Während des Versuchsbetriebs erfolgte eine zusätzliche Zugabe von Ammoniumcarbonat direkt in die Reaktoren, um festgelegt Sollwerte der Ammoniumstickstoffkonzentration im Reaktor zu erreichen. Diese Sollwerte wurden in Phase 1 auf 1000 mg L^{-1} , in den Phasen 2 bis 4 auf 550 g L^{-1} und in Phase 5 auf 300 g L^{-1} festgelegt, siehe Abschnitt 2.2.3.1. In den Abbildungen 71 und 72 sind die Zugabemengen an Ammoniumcarbonat ($\text{NH}_4\text{-Carb.}$) und die resultierenden Konzentrationen an Ammoniumstickstoff ($\text{NH}_4\text{-N}$) und Gesamtstickstoff nach Kjeldahl ($\text{N}_{\text{Kjeld.}}$) dargestellt, die sich im Verlauf des Versuchs einstellten. Die Konzentrationsverläufe waren bei beiden Reaktoren sehr ähnlich. Die Gesamtstickstoffkonzentration nach Kjeldahl stieg mit der Zugabemenge an Ammoniumcarbonat bis zum Ende der Versuchsphase 3 auf Werte von 2994 bzw. 2890 mg kg^{-1} FM bei Magnetreaktor bzw. Kontrollreaktor an. Mit Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit in Versuchsphase 4 kam es zu einem starken Rückgang der Gesamtstickstoffkonzentration auf 574 bzw. 1294 mg kg^{-1} FM beim Magnetreaktor bzw. beim Kontrollreaktor. Die erzielten Ammoniumstickstoffkonzentrationen im Reaktor unterschieden sich trotz genauer Berechnung der Zugabemengen an Ammoniumcarbonat teilweise stark vom Sollwert. Zum Ende der einzelnen Versuchsphasen lagen bei Magnetreaktor bzw. Kontrollreaktor Ammoniumstickstoffkonzentrationen in Höhe von 688 bzw. 686 mg kg^{-1} in Phase 1, 294 bzw. 293 mg kg^{-1} in Phase 2, 57 bzw. 74 mg kg^{-1} in Phase 3, 60 bzw. 465 mg kg^{-1} in Phase 4 und 295 bzw. 20 mg kg^{-1} in Phase 5 vor. Diese Abweichungen von den Sollwerten sind wahrscheinlich auf einen starken Verbrauch von Ammoniumstickstoff durch die Mikroorganismen zurückzuführen, der schwer kalkulierbar ist. Diese Vermutung wird durch den Anstieg der Ammoniumstickstoffkonzentration nachdem eine Überlastung der Reaktoren auftrat, beim Kontrollreaktor in Phase 4 und beim Magnetreaktor in Phase 5, bestätigt. Positiv kann hervorgehoben werden, dass bei beiden Reaktoren durch die berechnete Zugabe an Ammoniumcarbonat vergleichbare Konzentrationen an Ammoniumstickstoff erreicht wurden. Die im Versuchsbetrieb erreichten Ammoniumstickstoffkonzentrationen lagen immer unterhalb der bei Grepmeier (Grepmeier, 2002) angegebenen Höchstkonzentration von $700 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$, die zur Vermeidung einer

hemmenden Wirkung bei nicht adaptierten methanogenen Mischpopulationen nicht überschritten werden darf.

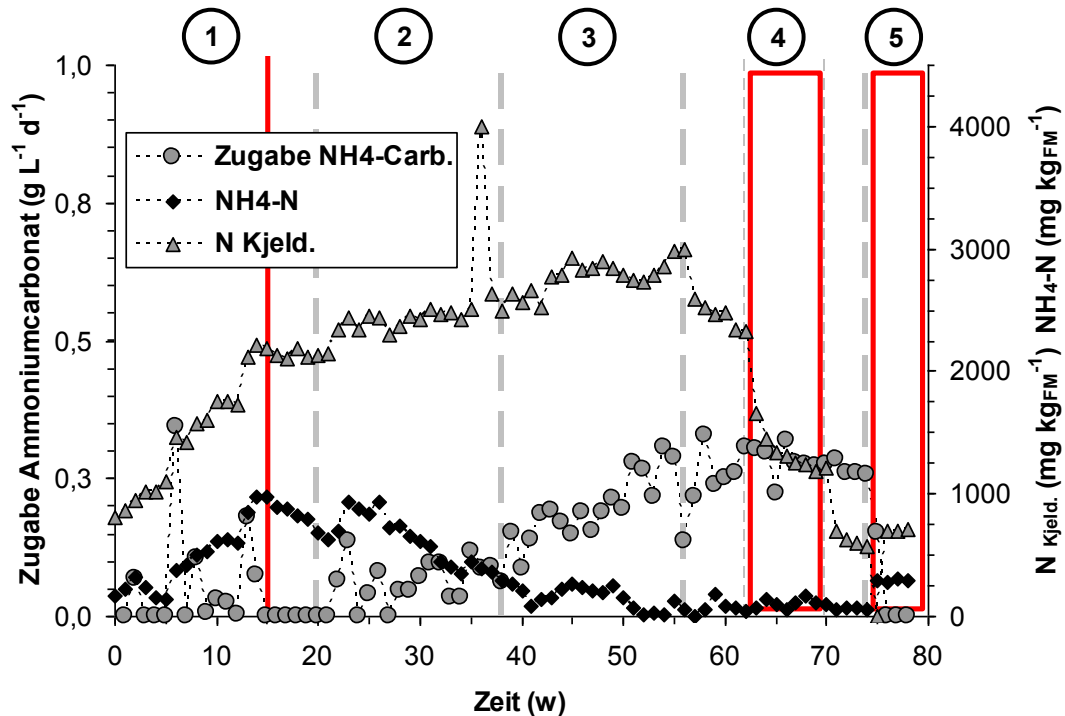


Abb. 71: Versorgung mit Stickstoff, dargestellt über alle Versuchsphasen, MR

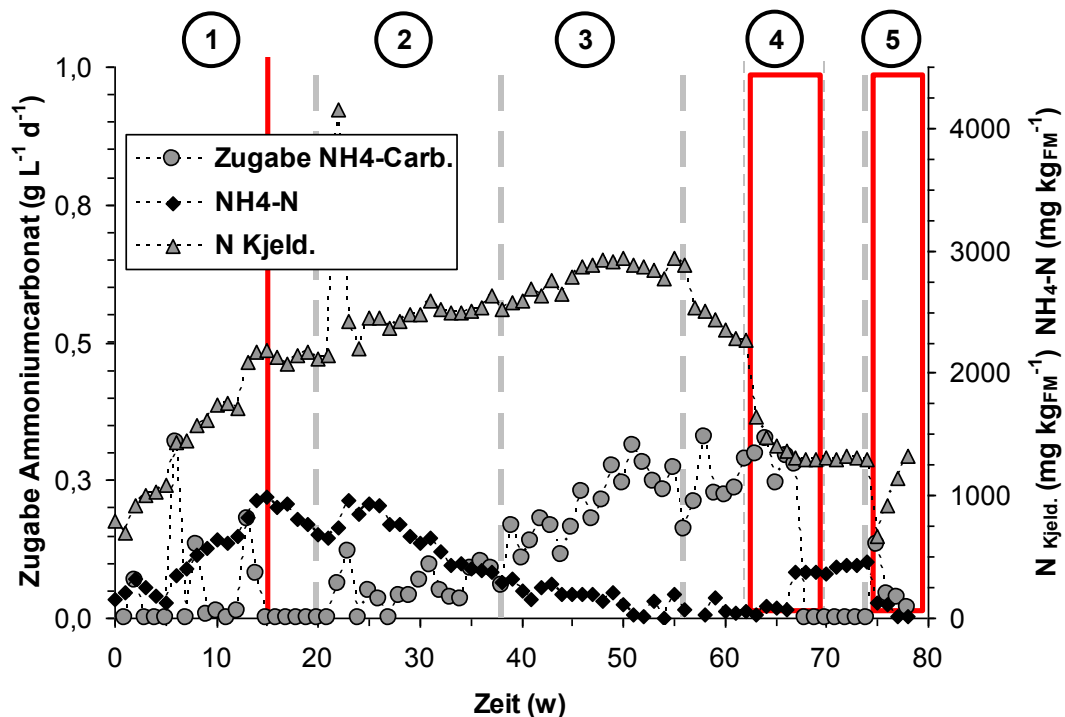


Abb. 72: Versorgung mit Stickstoff, dargestellt über alle Versuchsphasen, CR

Bei methanogenen Reinkulturen tritt eine hemmende Wirkung nach Grepmeier (Grepmeier, 2002) sogar erst ab $3300 \text{ mg NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$ auf, die im Versuchsbetrieb erreichten Ammoniumstickstoffkonzentrationen können demnach als unkritisch beurteilt werden.

Die Konzentration des mit der Ammoniumstickstoffkonzentration im Gleichgewicht stehenden und viel toxischer wirkenden undissoziierten Ammoniaks ist abhängig von der Prozesstemperatur und dem pH-Wert. Mit einem Anstieg von Temperatur und pH-Wert steigt der Ammoniakanteil. Bereits ab $80 \text{ mg NH}_3 \text{ L}^{-1}$ kann eine Hemmung der Methanbildung auftreten (Grepmeier, 2002). Ein Erreichen von Werten in dieser Höhe und damit eine Hemmung durch Ammoniak können im Versuchsbetrieb aufgrund der vorherrschenden pH-Werte und Temperaturen praktisch ausgeschlossen werden.

3.2.2 Entwicklung der mikrobiellen Population im Reaktor

In den Tabellen A28 und A29 im Anhang werden die am letzten Tag der jeweiligen Versuchsphase ermittelten Daten der qPCR-Analyse zusammengefasst.

3.2.2.1 Mikroorganismenpopulation - Archaeen und Bakterien

In den Abbildungen 73 und 74 ist das Vorkommen der Domänen Bacteria und Archaea in der flüssigen Phase der beiden Reaktoren dargestellt. Die Darstellung erfolgt in Form der mit Hilfe der qPCR-Analyse bestimmten Anzahl an 16S rRNA Genkopien je Gramm FM. Die zu verschiedenen Zeitpunkten der einzelnen Versuchsphasen ermittelten Genkopienzahlen werden logarithmisch dargestellt. Die Summe aus Archaeen und Bakterien soll hier als Gesamtpopulation bewertet werden.

Bei der Betrachtung der Abbildungen 73 und 74 wird deutlich, dass sich die Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase bei beiden Reaktoren stark ähnelte. Erst wenn die Überlastung eines Reaktors auftrat, beim Kontrollreaktor nach Tag 70 in Versuchsphase 4 und beim Magnetreaktor ab dem Beginn von Versuchsphase 5, waren deutliche Unterschiede erkennbar. Bis zur Überlastung der Reaktoren scheint die Population keinem bestimmten Muster zu folgen. Es traten im Verlauf der Versuchsphasen 1 bis 3 starke Schwankungen der Genkopienzahlen der Archaeen zwischen $3,09 \times 10^9$ und $57,73 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM beim Magnetreaktor bzw. zwischen $2,41 \times 10^9$ und $52,32 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM beim Kontrollreaktor auf. Gleiches gilt für die Genkopienzahlen der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien), die zwischen $88,60 \times 10^9$ und $2694,54 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM beim Magnetreaktor bzw.

zwischen $91,17 \times 10^9$ und $2850,40 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM beim Kontrollreaktor schwankte. Die Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit in Phase 4 bewirkte bei beiden Reaktoren trotz erhöhter Ausspülung eine leichte Zunahme der Gesamtpopulation auf bis zu $2980,70 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM beim Magnetreaktor und $2990,70 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM beim Kontrollreaktor. Der Anteil der Archaeen in der flüssigen Phase war bei beiden Reaktoren immer gering und erreichte maximal 5,1 % beim Magnetreaktor bzw. 13,2 % beim Kontrollreaktor.

Bei der Überlastung der Reaktoren war eine starke Abnahme der Mikroorganismenpopulation erkennbar. Ab Tag 70 in Versuchsphase 4 sank die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) beim Kontrollreaktor innerhalb von sieben Tagen von $1552,36 \times 10^9$ auf $41,51 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM. Nach Entnahme der besiedelten Aufwuchsträger in Versuchsphase 5 sank die Gesamtpopulation beim Magnetreaktor innerhalb von sieben Tagen von $1746,38 \times 10^9$ auf $4,31 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM. Die Population der Archaeen ging im selben Zeitraum fast vollständig zurück, beim Kontrollreaktor von $58,37 \times 10^9$ auf $0,07 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM und beim Magnetreaktor von $26,63 \times 10^9$ auf $0,01 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM. Die Überlastung der Reaktoren bzw. der starke Abfall der Reaktorleistung kann anhand der Entwicklung der Mikroorganismenpopulation begründet werden. Beim Kontrollreaktor traten in Versuchsphase 4-2 starke Verluste an Mikroorganismen durch die hohe Ausspülung aufgrund der starken Verringerung der hydraulischen Verweilzeit auf. Beim Magnetreaktor führte die Entnahme der intensiv besiedelten Aufwuchsträger, die bis zu diesem Zeitpunkt Verluste durch Ausspülung kompensiert haben, in Versuchsphase 5 zu einer starken Abnahme der Mikroorganismenpopulation im Reaktor. In beiden Fällen führten die Verluste an Mikroorganismen zu einer Verringerung der Abbauleistung mit anschließender Versäuerung, durch die Versäuerung kam es zur Schädigung der im Reaktor verbliebenen Mikroorganismen und die Reaktorleistung kam letztendlich komplett zum Erliegen.

Beim Neustart des Kontrollreaktors mit Leitungswasser und den besiedelten Aufwuchsträgern aus dem Magnetreaktor in Versuchsphase 5 stellte sich in der flüssigen Phase bereits nach sieben Tagen eine Mikroorganismenpopulation ein, die mit der Population vor der Überlastung des Kontrollreaktors vergleichbar war. Demnach fand ein sehr intensiver Austausch zwischen den besiedelten Aufwuchsträgern und der flüssigen Phase statt. Die Population in der flüssigen Phase des neu gestarteten Kontrollreaktors blieb danach im Wesentlichen bis zum Ende der Versuchsphase 5 erhalten.

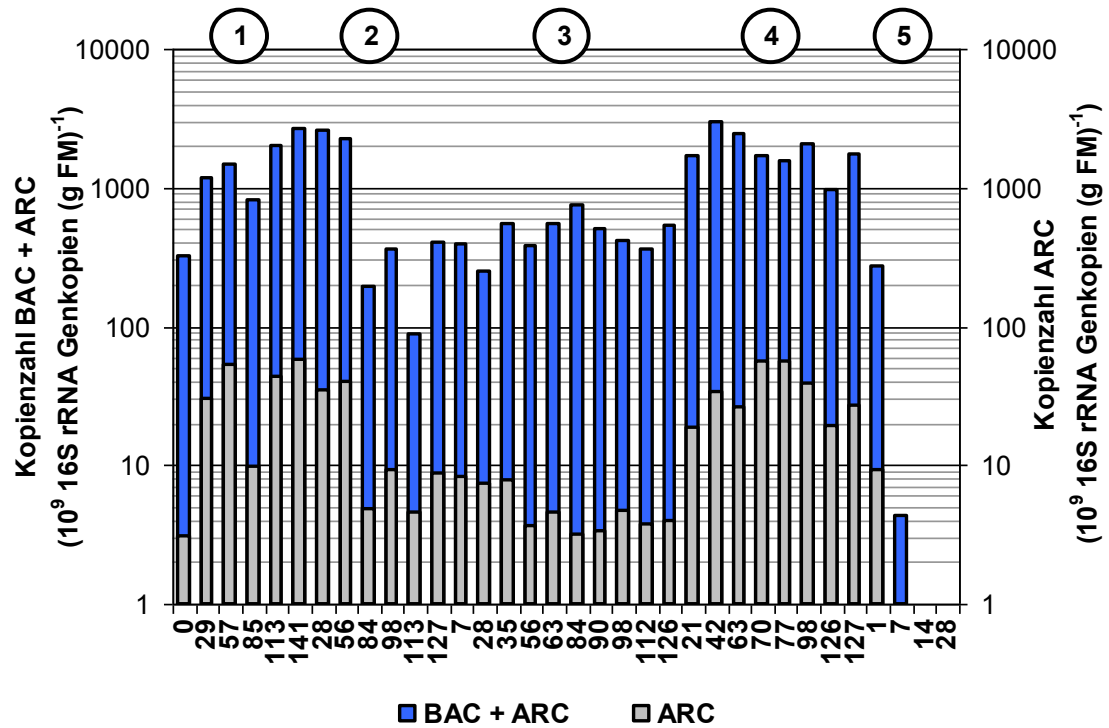


Abb. 73: Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase, MR

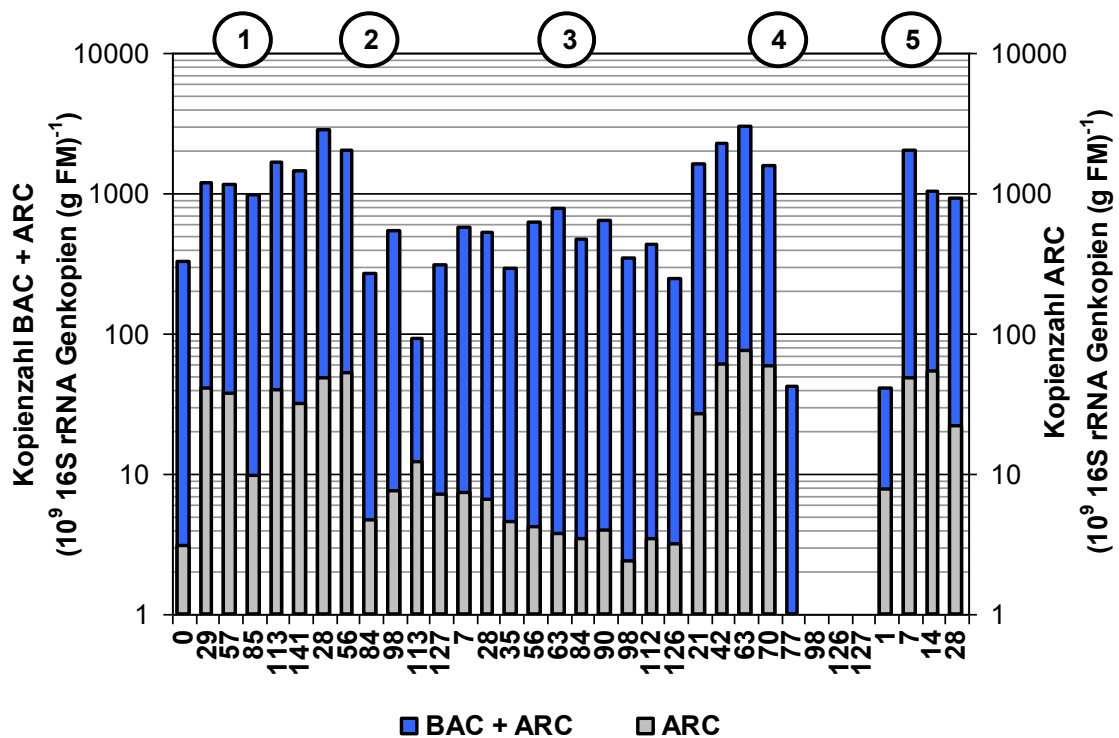


Abb. 74: Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase, CR

3.2.2.2 Zusammensetzung der Archaea

Die Anteile der Ordnungen Methanobacteriales (M bac) und Methanomicrobiales (M micr), sowie der Familien Methanosaetaceae (M saet) und Methanosarcinaceae (M sc) an der Domäne Archaea in der flüssigen Phase der Reaktoren werden in den Abbildungen 75 und 76 dargestellt.

Die starke Ähnlichkeit zwischen den beiden Reaktoren ist auch hier deutlich erkennbar. Bei beiden Reaktoren waren in der Anlaufphase (Versuchsphase 1) zunächst alle der untersuchten Ordnungen bzw. Familien vertreten. Die Familie Methanosaetaceae stellte dabei mit bis zu 78,6 % bzw. 82,7 % bei Magnetreaktor bzw. Kontrollreaktor den größten Anteil dar. Mit Erhöhung der Raumbelastung der Reaktoren im Verlauf der Versuchsphasen 2 und 3 wurde die Dominanz der Familie Methanosaetaceae immer deutlicher. Die anderen Ordnungen bzw. Familien wurden so weit verdrängt, dass beim Magnetreaktor ab Tag 84 der Versuchsphase 3 und beim Kontrollreaktor ab Tag 98 der Versuchsphase 2 nur noch Methanosaetaceae auftraten. Dabei konnte sich die Familie Methanosarcinaceae im Magnetreaktor deutlich länger halten als im Kontrollreaktor. Mit zunehmender Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit in Versuchsphase 4 und beim Neustart des Kontrollreaktors mit geringerer Raumbelastung in Versuchsphase 5 traten Methanobacteriales und Methanomicrobiales wieder auf, Methanosaetaceae blieben aber absolut dominant. Die Familie Methanosarcinaceae trat nicht wieder auf, nachdem sie einmal aus den Reaktoren verdrängt wurde.

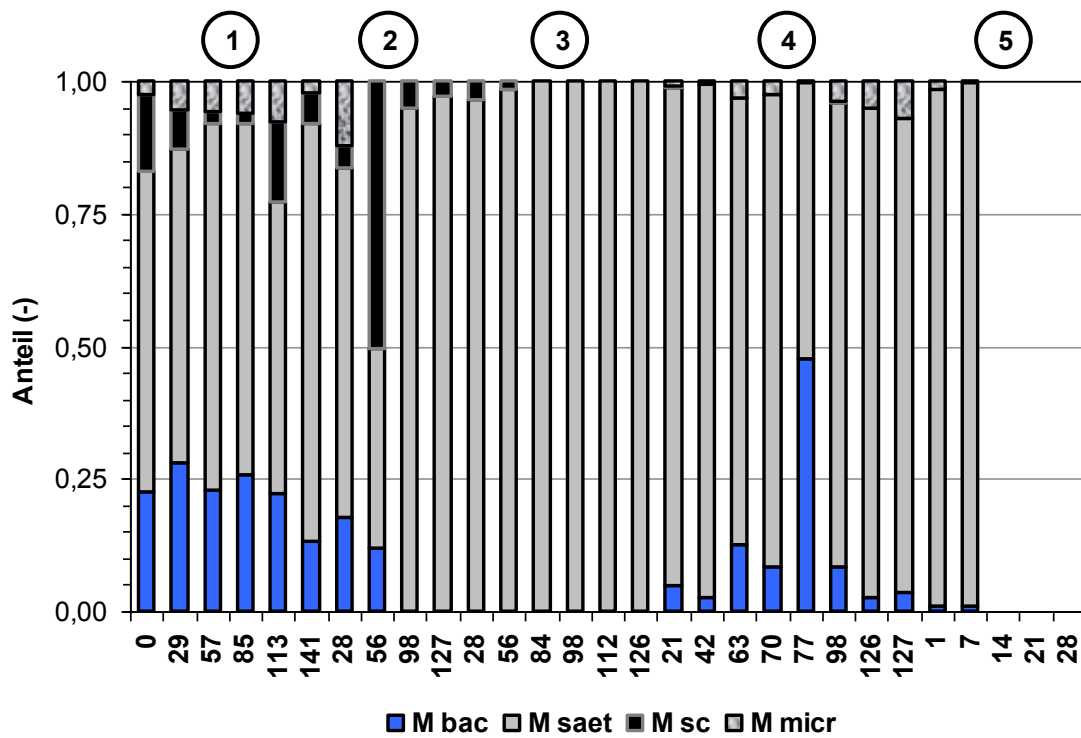


Abb. 75: Zusammensetzung der methanogenen Population in der flüssigen Phase, MR

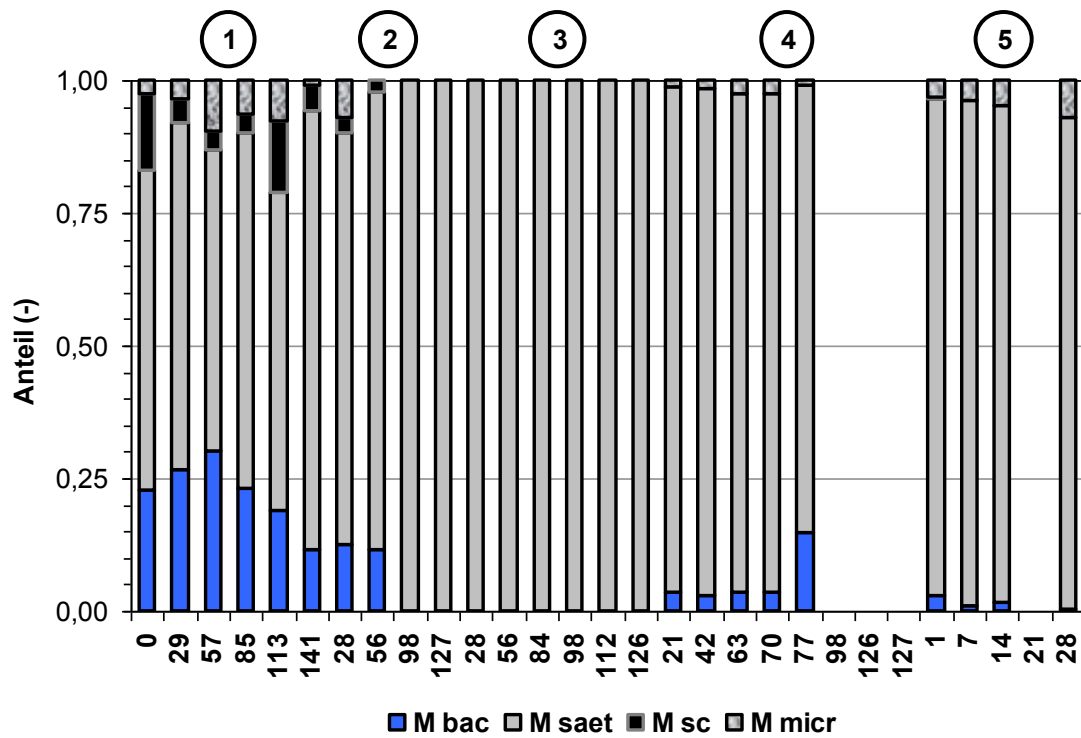


Abb. 76: Zusammensetzung der methanogenen Population in der flüssigen Phase, CR

3.2.2.3 Bilanzierung der Biozönose in den Reaktoren

Zur Beurteilung des Nutzens der eingesetzten Aufwuchsträger ist es notwendig, die gesamte Biozönose im Reaktor zu bilanzieren. Die gesamte Biozönose (das Gesamtvorkommen) im Reaktor setzt sich zusammen aus den Mikroorganismen in der flüssigen Phase und den Mikroorganismen, die auf den Aufwuchsträgern immobilisiert wurden. Zur Bilanzierung wurde der Massenanteil berechnet, den die flüssige Phase und die Aufwuchsträger zum Zeitpunkt der Analyse jeweils an der Gesamtmasse des Reaktorinhalts ausmachten. Dabei wurde vereinfachend davon ausgegangen, dass die flüssige Phase eine Dichte von 1 kg dm^{-3} besitzt. Die Massenanteile wurden mit der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase bzw. im Biofilm auf den Aufwuchsträgern multipliziert, um die jeweiligen Anteile an der Biozönose im Reaktor berechnen zu können. In den Abbildungen 78 und 79 ist die gesamte Biozönose je g FM Reaktorinhalt für den Magnetreaktor und den Kontrollreaktor dargestellt. Die dargestellte gesamte Biozönose unterscheidet sich nur dann von der in den Abbildungen 73 und 74 dargestellten Mikroorganismenpopulation der flüssigen Phase, wenn sich neben der flüssigen Phase auch Aufwuchsträger im Reaktor befanden. Aufwuchsträger waren in Versuchsphase 2 bis 4 im Magnetreaktor und in Versuchsphase 5 im Kontrollreaktor.

Bei Betrachtung der Abbildungen 78 und 79 fällt auf, dass vor allem das Vorkommen von Archaeen durch den Einsatz der Aufwuchsträger beeinflusst wurde. Die Gesamtvorkommen (in der flüssigen Phase und auf den Aufwuchsträgern) der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) lag beim Magnetreaktor während der Versuchsphasen 1 bis 5 im Bereich von $87,25 \times 10^9$ bis $2926,15 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je Gramm FM Reaktorinhalt und entsprach damit der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) in der flüssigen Phase, siehe Abbildung 73. Das Gesamtvorkommen (in der flüssigen Phase und auf den Aufwuchsträgern) an Archaeen lag beim Magnetreaktor im Bereich von $3,09 \times 10^9$ bis $138,10 \times 10^9$ Genkopien je Gramm FM Reaktorinhalt und war damit höher als das Vorkommen von Archaeen in der flüssigen Phase alleine, siehe Abbildung 73. Im Kontrollreaktor wurde mit einem Gesamtvorkommen von $2,41 \times 10^9$ bis $74,94 \times 10^9$ Genkopien je Gramm FM Reaktorinhalt ein geringeres Vorkommen an Archaeen als beim Magnetreaktor ermittelt. Da der Kontrollreaktor während den Versuchsphasen 1 bis 4 keine Aufwuchsträger enthielt, entsprach das Gesamtvorkommen (in der flüssigen Phase und auf den Aufwuchsträgern) der Population der flüssigen Phase, siehe Abbildung 74.

Nach Entnahme der besiedelten Aufwuchsträger zu Beginn der Versuchsphase 5 sank der Gesamtgehalt an Archaeen im Magnetreaktor von $90,83 \times 10^9$ auf $26,63 \times 10^9$ Genkopien je Gramm FM Reaktorinhalt während die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) von $1082,39 \times 10^9$ auf $1746,38 \times 10^9$ Genkopien je Gramm Reaktorinhalt leicht anstieg.

Beim Neustart des Kontrollreaktors mit Wasser in Versuchsphase 5 stellte sich nach 14 Tagen ein ähnliches Verhältnis wie im Magnetreaktor vor Entnahme der Aufwuchsträger ein. Die besiedelten Aufwuchsträger beeinflussten vor allem das Vorkommen von Archaeen im Reaktor. So war das Gesamtvorkommen (in der flüssigen Phase und auf den Aufwuchsträgern) an Archaeen an Tag 14 der Versuchsphase 5 mit $90,23 \times 10^9$ Genkopien je Gramm FM Reaktorinhalt höher als das Vorkommen von Archaeen in der flüssigen Phase alleine mit $53,80 \times 10^9$ Genkopien je Gramm FM, siehe Abbildung 74. Das Vorkommen der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) war dagegen ähnlich mit $1068,17 \times 10^9$ Genkopien je Gramm FM Reaktorinhalt zu $1038,29 \times 10^9$ Genkopien je Gramm FM der flüssigen Phase, siehe Abbildung 74.

Um den Einfluss der Aufwuchsträger noch stärker zu verdeutlichen wird in Abbildung 77 der prozentuale Anteil dargestellt, den die besiedelten Aufwuchsträger am Gesamtvorkommen (in der flüssigen Phase und auf den Aufwuchsträgern) der Mikroorganismen im Reaktor ausmachten. In Versuchsphase 2 bis 4 befanden sich die Aufwuchsträger im Magnetreaktor, in Versuchsphase 5 im Kontrollreaktor. Während die Mikroorganismen auf den Aufwuchsträgern nur maximal 7,6 % vom Anteil der Bakterien im Reaktor darstellten, erreichte ihr Anteil bei den Archaeen bis zu 79,6 %. Der Anteil der Aufwuchsträger am Vorkommen der Archaeen im Magnetreaktor stieg linear mit der Versuchsdauer.

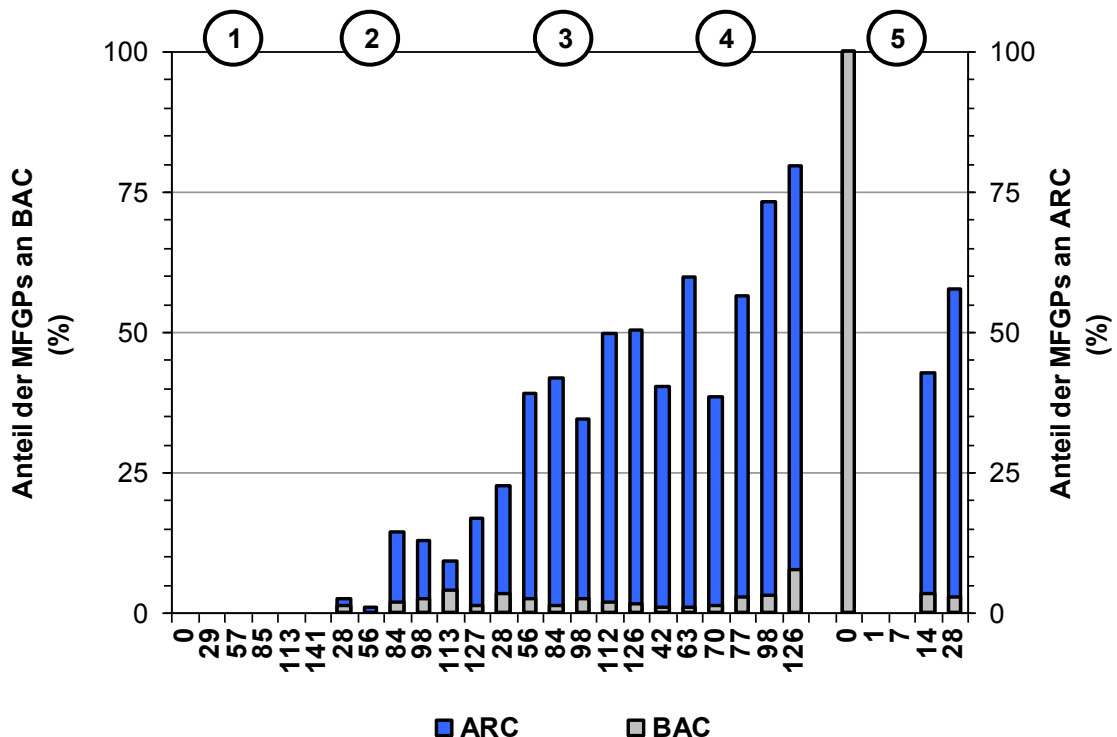
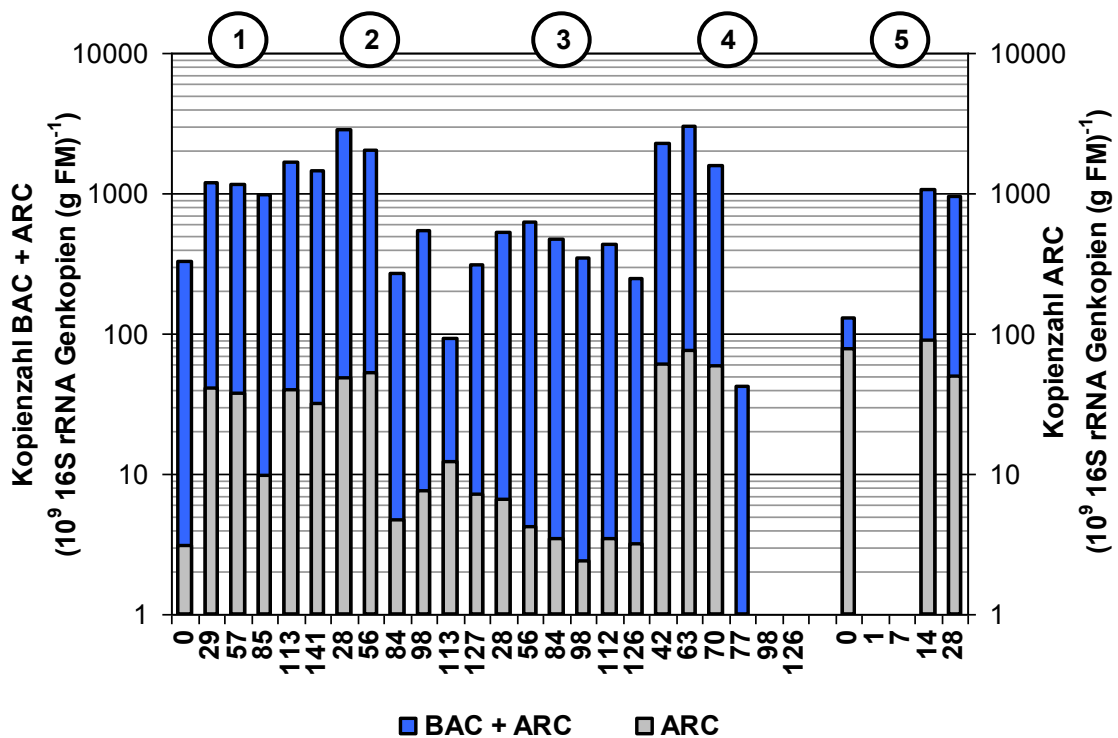
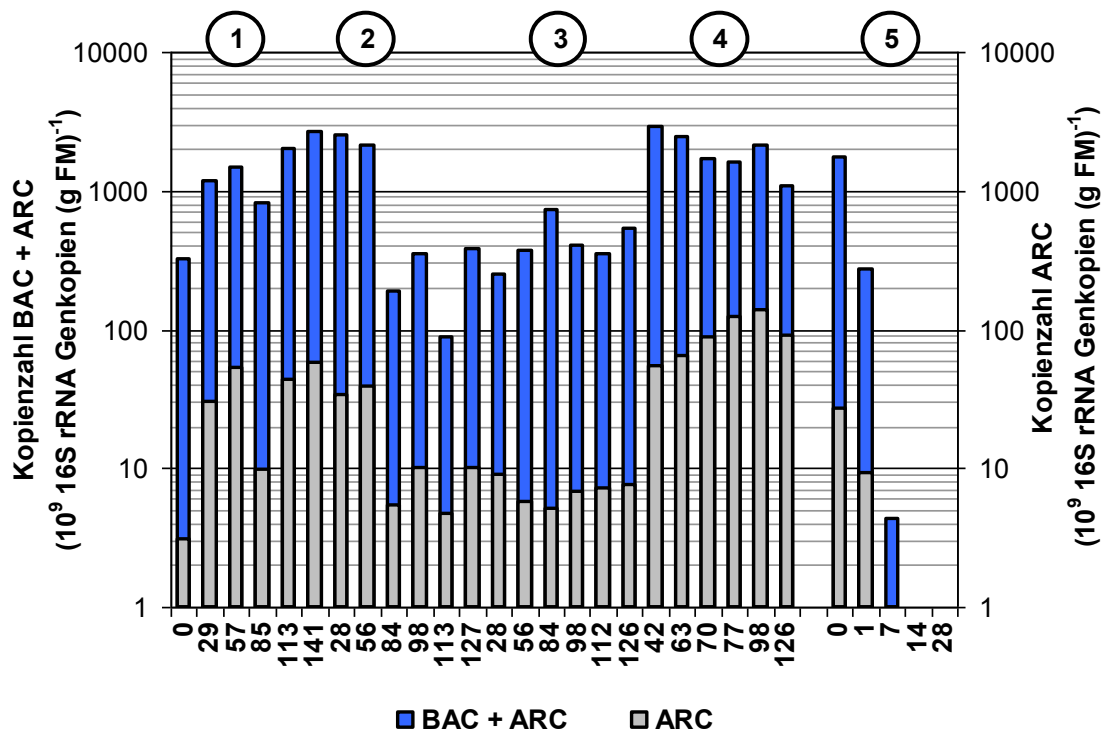


Abb. 77: Anteil der Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs an der gesamten Mikroorganismenpopulation (flüssige Phase und MFGPs) im Reaktor



3.2.3 Biofilmbildung auf den MFGPs

3.2.3.1 Entwicklung der organischen Masse auf den MFGPs

Zur Beurteilung der Struktur des Biofilms auf den Aufwuchsträgern sollen die Werte des TS-Gehalts und des oTS-Gehalts der besiedelten Aufwuchsträger herangezogen werden. Der TS-Gehalt gibt Aufschluss über den Wassergehalt des Biofilms. Der auf die Frischmasse bezogene oTS-Gehalt erlaubt Aussagen zum Gehalt an Organik im Biofilm, die in Form von Mikroorganismen, EPS und eingelagertem Substrat vorliegt. Bezogen auf die Trockenmasse der Aufwuchsträger ermöglicht der oTS-Gehalt Aussagen zur Menge an organischer Masse, die mit einer bestimmten Menge an Aufwuchsträgern im Reaktor immobilisiert werden kann. Der auf die Trockenmasse der Aufwuchsträger bezogene oTS-Gehalt ist eine wichtige Größe beim Vergleich unterschiedlicher Arten von Aufwuchsträgern hinsichtlich ihrer Eignung für eine Biomasserückhaltung.

In Abbildung 80 wird die Entwicklung des TS- und des oTS-Gehaltes der besiedelten Aufwuchsträger während des CSTR-Versuchs dargestellt.

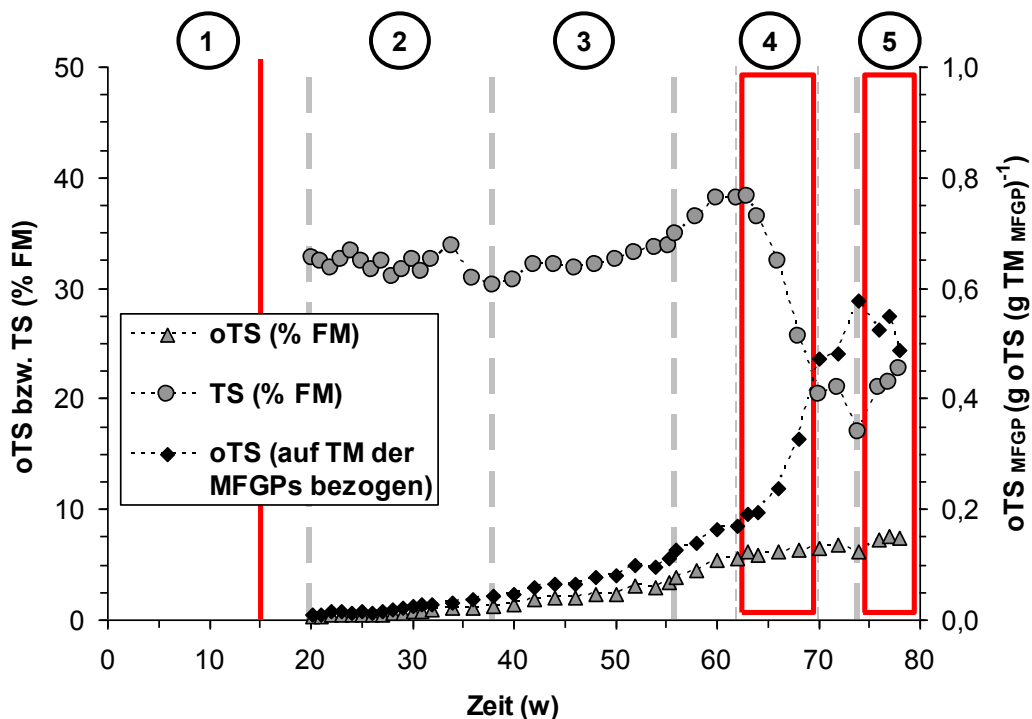


Abb. 80: Entwicklung von TS und oTS auf den MFGPs dargestellt über alle Versuchsphasen

Während der Versuchsphasen 2 und 3 war der TS-Gehalt der Aufwuchsträger annähernd konstant und erreichte Werte bis zu 34,9 % FM, der oTS-Gehalt stieg kontinuierlich auf bis zu 3,9 % FM bzw. 0,13 g oTS je g TM_{MFGP} an. Die Reduzierung der Verweilzeit in Versuchsphase 4 führte zu einer starken Veränderung des Biofilms. Bis zum Ende der Versuchsphase 4 kam es zu einem Rückgang des TS-Gehalts auf 17,0 % FM, der Wassergehalt im Biofilm stieg demnach von 65,1 % FM auf 83 % FM. Der oTS-Gehalt der Aufwuchsträger stieg auf 0,58 g oTS je g TM_{MFGP} an. Der auf die FM bezogene oTS-Gehalt blieb aufgrund des Zusammenhangs zwischen TS- und oTS-Gehalt, siehe Gleichung 17 in Abschnitt 2.4, annähernd konstant.

Die deutliche Veränderung der Struktur des Biofilms auf den Aufwuchsträgern konnte durch mikroskopische Aufnahmen, siehe Abschnitt 3.2.3.5, bestätigt werden.

3.2.3.2 Entwicklung der mikrobiellen Biozönose auf den MFGPs

In der Abbildung 81 wird die Mikroorganismenpopulation dargestellt, die sich im Biofilm auf den Aufwuchsträgern im Laufe des CSTR-Versuchs entwickelte. Anhand Abbildung 81 können die beiden folgenden Aussagen abgeleitet werden: die Höhe der Mikroorganismenpopulation auf den Aufwuchsträgern wird im Wesentlichen von der hydraulischen Verweilzeit bestimmt und die Archaeen stellen einen großen Anteil an der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) dar.

Die Versuchsphasen 2, 3 und 4 hatten eine annähernd gleiche Laufzeit von 127; 126 und 127 Tagen. Zum Ende der Versuchsphasen 2 bis 4 lag die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) im Biofilm bei $337,21 \times 10^9$; $897,60 \times 10^9$ und $34625,98 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien g TM_{MFGP} , die Archaeen erreichten Werte in Höhe von $99,36 \times 10^9$, $299,72 \times 10^9$ und $20502,31 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien g TM_{MFGP} . Demnach stieg die Gesamtpopulation auf den Aufwuchsträgern in Versuchsphase 3 mit Erhöhung der Raumbelastung von 4,0 auf $8,0 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ um 166 %. In Versuchsphase 4 stieg die Gesamtpopulation dagegen bei Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit von über 20 Tagen auf unter 5 Tage um 3758 %. Das Vorkommen an Archaeen stieg in Versuchsphase 3 um 202 % und in Versuchsphase 4 um 6741 %. Der starke Einfluss der hydraulischen Verweilzeit auf die Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf den Aufwuchsträgern ist offensichtlich.

Der prozentuale Anteil der Archaeen an der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) lag zum Ende der Versuchsphasen 2 bis 4 bei 29,2 %, 33,4 % und 49,1 %, maximal wurden 62,8 % erreicht. Der Anteil der Archaeen ist deutlich höher als in der flüssigen Phase, wo

maximal 5,1 % beim Magnetreaktor bzw. maximal 13,2 % beim Kontrollreaktor erreicht wurden.

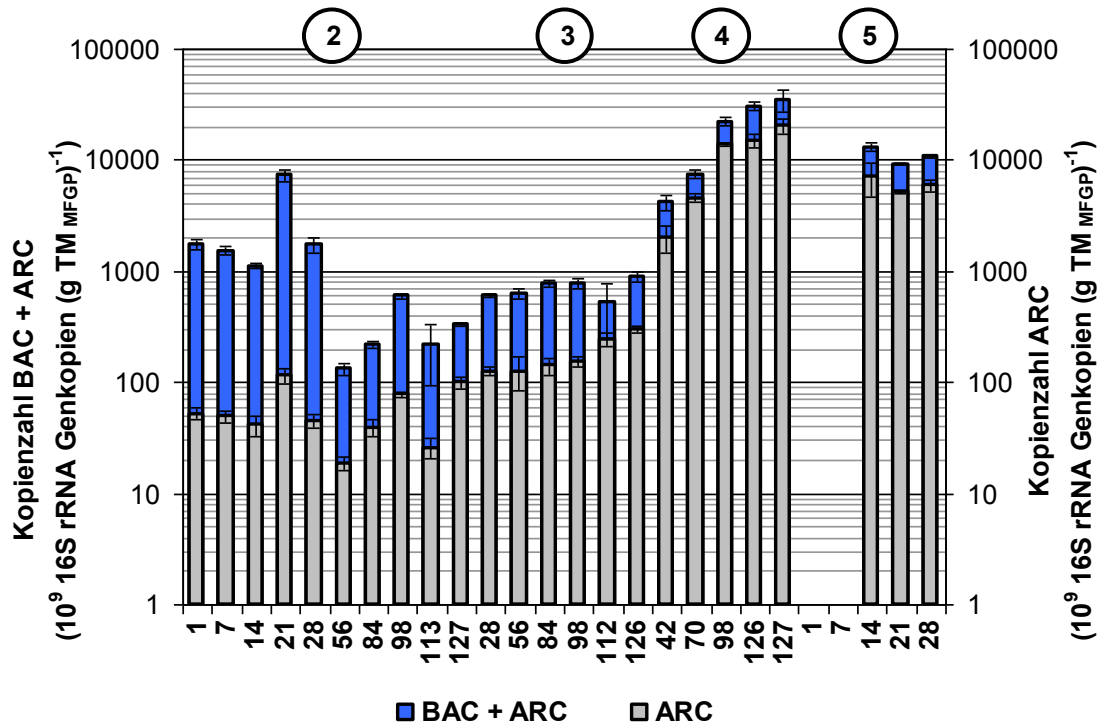


Abb. 81: Entwicklung der Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs dargestellt über den Verlauf des CSTR-Versuchs

3.2.3.3 Zusammensetzung der Archaea im Biofilm

Die Anteile der Ordnungen Methanobacteriales (M bac) und Methanomicrobiales (M micr), sowie der Familien Methanosaetaceae (M saet) und Methanosarcinaceae (M sc) an der Domäne Archaea im Biofilm auf den Aufwuchsträgern werden in Abbildung 82 dargestellt.

Es ist eine hohe Ähnlichkeit zur flüssigen Phase des Magnetreaktors, siehe Abbildung 75, erkennbar. Das Vorkommen der untersuchten Ordnungen und Familien der Archaea im Biofilm auf den Aufwuchsträgern folgte im Wesentlichen dem Vorkommen in der flüssigen Phase des Reaktors. Auch im Biofilm traten zunächst alle untersuchten Ordnungen und Familien auf. Im Laufe der Versuchsphasen 2 und 3 wurde die Familie der Methanosaetaceae mit steigender Raumbelastung immer dominanter und nahm bis zu 98 % ein. Im Gegensatz zur flüssigen Phase des Magnetreaktors wurde die Familie Methanosarcinaceae nicht vollständig verdrängt. Mit Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit in Versuchsphase 4 und beim Eintrag der Aufwuchsträger in den neu gestarteten Kontrollreaktor in Phase 5 traten die Ordnungen Methanobacteriales und

Methanomicrobiales wieder in Erscheinung, die Familie Methanosarcinaceae blieb aber absolut dominant.

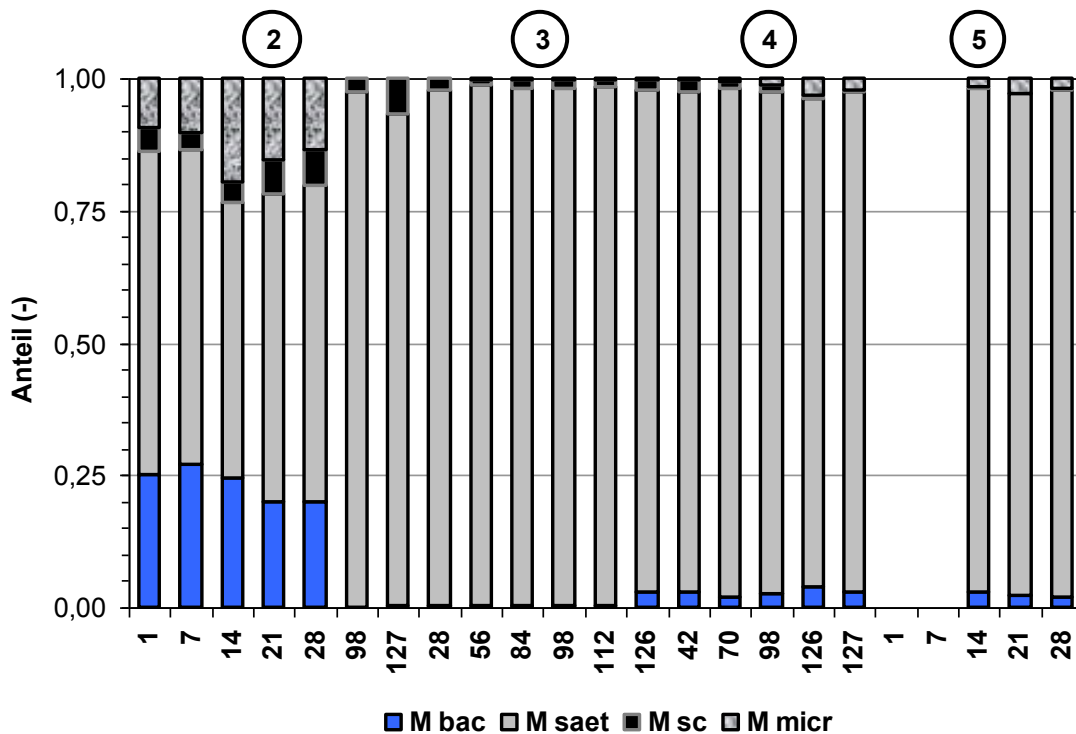


Abb. 82: Zusammensetzung der methanogenen Population auf den MFGPs

3.2.3.4 Vergleich der Biozönose auf den MFGPs und in der flüssigen Phase

Ein objektiver Vergleich der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase des Reaktors mit der Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf den Aufwuchsträgern ist nur durch die Wahl einer gemeinsamen Bezugsgröße möglich. Deshalb wurde die Mikroorganismenpopulation auf die oTS-Masse bezogen, die sich in der flüssigen Phase und auf den Aufwuchsträgern zum jeweiligen Probenahmezeitpunkt befand. Die auf die oTS-Masse bezogenen Mikroorganismenpopulationen werden in den Abbildungen 83 und 84 dargestellt.

Es ist erkennbar, dass die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) in der flüssigen Phase höhere Werte aufwies. Sie lag in einem Bereich von $3588,04 \times 10^9$ bis $170351,06 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g oTS, im Gegensatz zur Gesamtpopulation im Biofilm auf den Aufwuchsträgern mit Werten im Bereich von $5047,86 \times 10^9$ bis $90599,20 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g oTS. Bei den Archaeen wies der Biofilm auf den Aufwuchsträgern mit $593,41 \times 10^9$ bis $29076,44 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g oTS im Vergleich zur flüssigen Phase mit $104,56 \times 10^9$ bis $3919,41 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g oTS ein deutlich höheres Vorkommen auf. Hier spiegelt sich der größere Anteil der Archaeen an der Gesamt-

population (Archaeen und Bakterien) wider, der bei den Aufwuchsträgern beobachtet wurde, siehe Abschnitt 3.2.3.2.

Der starke Einfluss der hydraulischen Verweilzeit auf die Mikroorganismenpopulation auf den Aufwuchsträgern, siehe Abschnitt 3.2.3.2, wird hier bestätigt. Die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) auf den Aufwuchsträgern stieg innerhalb der Versuchsphase 4 von $6747,36 \times 10^9$ auf $52483,96 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g oTS, die Population der Archaeen stieg von $2252,00 \times 10^9$ auf $25743,13 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g oTS.

Ein starker Einfluss der hydraulischen Verweilzeit auf die Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase ist hier ebenfalls erkennbar. Die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) in der flüssigen Phase des Magnetreaktors stieg innerhalb der Versuchsphase 4 von $17754,90 \times 10^9$ auf $146009,80 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g oTS, die Population der Archaeen stieg von $129,15 \times 10^9$ auf $2891,10 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g oTS.

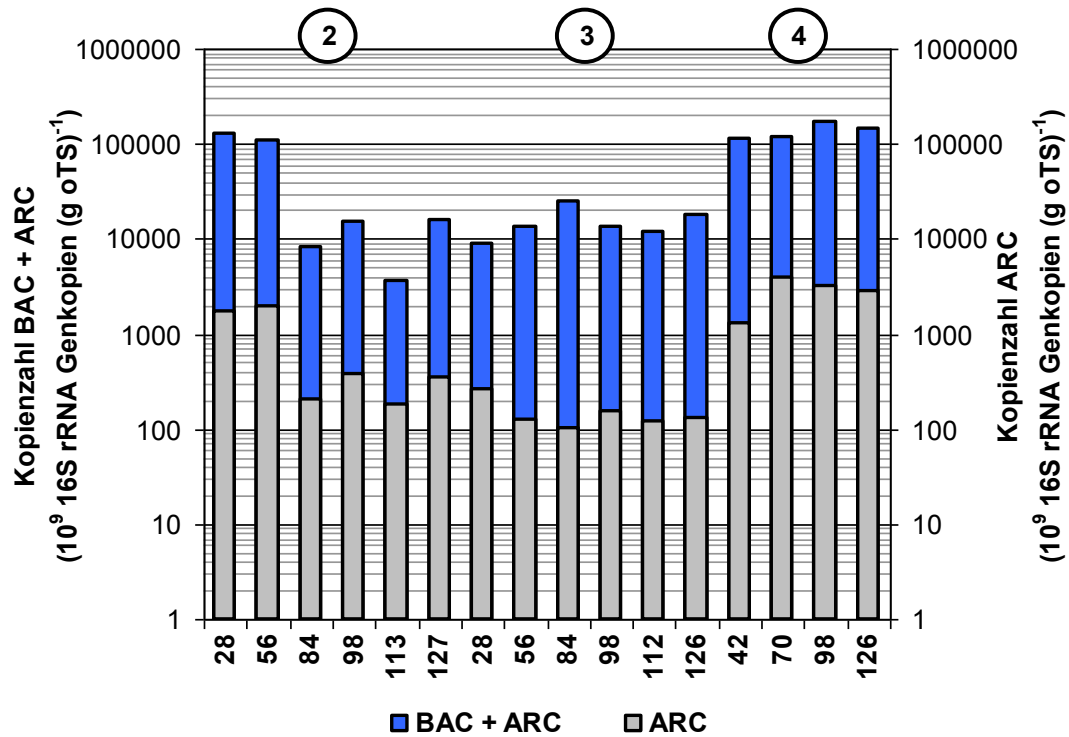


Abb. 83: Mikroorganismenpopulation bezogen auf die organische Trockensubstanz – flüssige Phase des MR

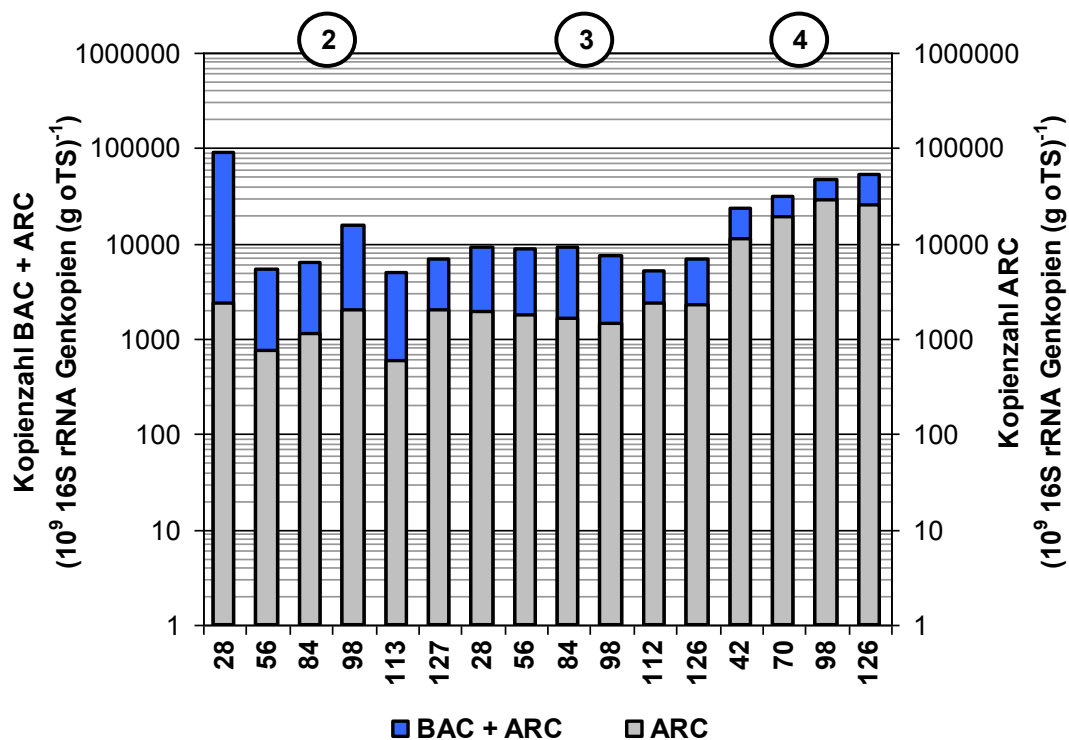


Abb. 84: Mikroorganismenpopulation bezogen auf die organische Trockensubstanz – auf den MFGPs

3.2.3.5 Mikroskopische Analyse

Die Ergebnisse der mikroskopischen Analysen zu verschiedenen Zeitpunkten während der Laufzeit des CSTR-Versuchs ähnelten sich sehr stark. An Tag 120 der Versuchsphase 3, nach 247 Tagen Inkubationszeit der Aufwuchsträger, konnte mit Hilfe der mikroskopischen Analysen eine intensive Biofilmbildung nachgewiesen werden, siehe Abbildung A4 bis A6 im Anhang. Die Besiedlung war lückenhaft, wahrscheinlich wurden Senken und Poren auf der Oberfläche der Aufwuchsträger von den Mikroorganismen bevorzugt. Die Bildung größerer Mengen extrazellulärer polymerer Substanzen (EPS) war deutlich erkennbar. Die Beobachtungen während der KTVA-Versuche, siehe Abschnitt 3.1.3 und 3.1.4, wurden damit bestätigt.

Die Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit von über 20 Tagen auf unter 5 Tage in Versuchsphase 4 des CSTR-Versuchs führte zu einer starken Veränderung der Struktur des Biofilms auf den Oberflächen der Aufwuchsträger. Diese Veränderung konnte anhand der ermittelten Organikgehalte und den Ergebnissen der qPCR-Analyse der Aufwuchsträger nachgewiesen werden, siehe Abschnitt 3.2.3.1 und 3.2.3.2. Die mikroskopischen Analysen bestätigen diese Ergebnisse. Die Abbildungen A7 bis A9 im Anhang sind mikroskopische Aufnahmen von Aufwuchsträgern aus dem Magnetreaktor am Tag 125 der Versuchsphase 4 des CSTR-Versuchs, die Aufwuchsträger befanden sich zu diesem Zeitpunkt 379 Tage im Reaktor. Im Randbereich des dargestellten Aufwuchsträgers war im Vergleich zu den Abbildungen A4 bis A6 eine starke Zunahme des Biofilms erkennbar, außerdem hatten sich lange fadenartige Strukturen ausgebildet. Die Vergrößerung des Volumens des Biofilms und seine ungleichmäßige Struktur war bereits im Normallicht (DIC) erkennbar, siehe Abbildung 85 und 86.

Noch deutlicher war die Veränderung des Biofilms durch die Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit bei Übersichtsaufnahmen mit geringerem Vergrößerungsfaktor erkennbar. Die Abbildungen A10 bis A12 im Anhang zeigen Übersichtsaufnahmen vom Tag 120 der Versuchsphase 3 des CSTR-Versuchs, vor Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit. Die Abbildungen A13 bis A15 zeigen Übersichtsaufnahmen vom Tag 125 der Versuchsphase 4 des CSTR-Versuchs, nach Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit. Vor Reduzierung der Verweilzeit war im Normallicht (DIC) kein Biofilm erkennbar. Anhand der SYTO13-Färbung und der Autofluoreszenz wurde deutlich, dass der Biofilm aus einer dünnen lückenhaften Schicht direkt auf den Oberflächen der Aufwuchsträger bestand. Nach Reduzierung der Verweilzeit war der Biofilm auf den Aufwuchsträgern bereits im Normallicht (DIC) deutlich zu erkennen. Das Volumen und die Ausdehnung des Biofilms hatten stark zugenommen und es traten sehr lange und kräftige fadenförmige Strukturen auf. Durch die SYTO13-Färbung und

die Autofluoreszenz war erkennbar, dass diese Strukturen lange Ketten von Mikroorganismen enthielten.

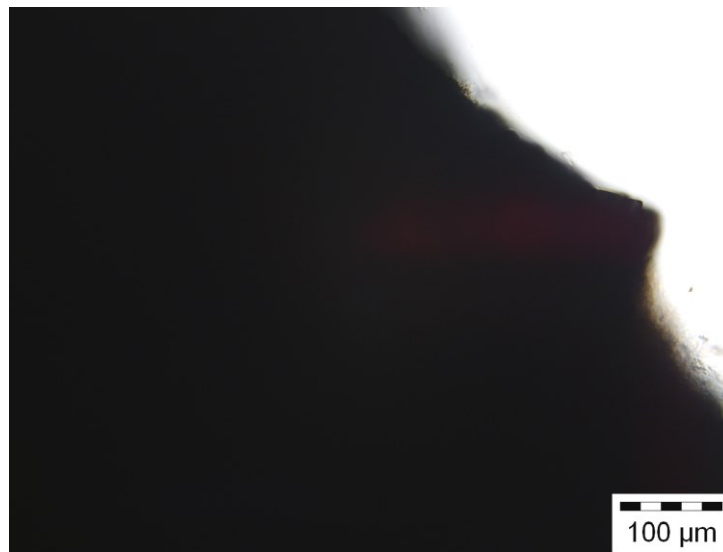


Abb. 85: „Ref“ vor Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – DIC

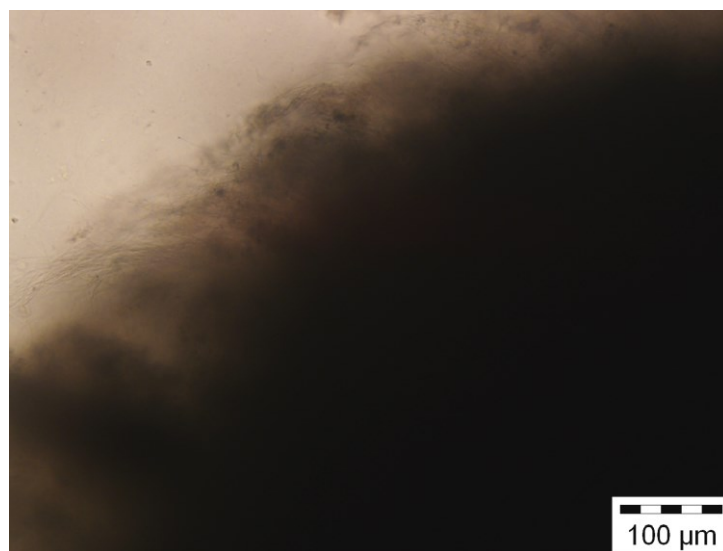


Abb. 86: „Ref“ nach Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – DIC

3.2.3.6 oTS-Gehalt der MFGPs als Indikator für die mikrobielle Besiedlung

Die Untersuchung der Mikroorganismenpopulation mit Hilfe der qPCR-Analyse ist relativ aufwendig. Es wäre hilfreich, wenn es einen einfacher zu bestimmenden Parameter geben würde, der mit hinreichender Genauigkeit Rückschlüsse zur Mikroorganismenpopulation erlaubt. Der TS-Gehalt oder der oTS-Gehalt könnte ein geeigneter Parameter sein.

Der beste Zusammenhang mit der Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf den Aufwuchsträgern konnte für den oTS-Gehalt, bezogen auf die Trockensubstanz, ermittelt

werden. In Abbildung 87 wird der Zusammenhang zwischen dem oTS-Gehalt und der Mikroorganismenpopulation dargestellt. Unmittelbar nach dem Eintrag unbesiedelter Aufwuchsträger in einen Reaktor kommt es zur Anlagerung von Mikroorganismen aus der flüssigen Phase. Diese Anlagerung führt zu einer verfälschten Beurteilung der Biofilmbildung auf den Aufwuchsträgern. Die Werte der ersten 56 Tage der Aufenthaltszeit der Aufwuchsträger im Magnetreaktor wurden deshalb bei der Berechnung vernachlässigt. Insgesamt befanden sich die Aufwuchsträger in den Versuchsphasen 2 bis 4 für 380 Tage im Reaktor, die Werte der ersten 56 Tage sind in Abbildung 87 weiß dargestellt.

Ab Tag 57 können lineare Zusammenhänge zwischen dem oTS-Gehalt und dem Vorkommen an Bacteria, Archaea und der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) im Biofilm auf den Aufwuchsträgern erkannt werden. Diese Zusammenhänge lassen sich durch die folgenden Formeln beschreiben:

$$\text{Genkopienzahl}_{\text{BAC} + \text{ARC}} = 103,86 \cdot \text{oTS} - 385,71$$

$$\text{Genkopienzahl}_{\text{BAC}} = 44,603 \cdot \text{oTS} - 115,19$$

$$\text{Genkopienzahl}_{\text{ARC}} = 59,192 \cdot \text{oTS} - 267,07$$

Genkopienzahl_{BAC + ARC} Anzahl der 16S rRNA Genkopien Bacterien und Archaeen (-)

Genkopienzahl_{BAC} Anzahl der 16S rRNA Genkopien Bacteria (-)

Genkopienzahl_{ARC} Anzahl der 16S rRNA Genkopien Archaea (-)

oTS oTS-Gehalt (% TS)

Aufgrund des höchsten Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,9508$ sollte nur die Entwicklung der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) im Biofilm auf den Aufwuchsträgern mit Hilfe der oben genannten Formel abgeschätzt werden. Wegen des geringen Probenumfangs von $n = 15$ sollte diese Formel nur unter Vorbehalt verwendet werden.

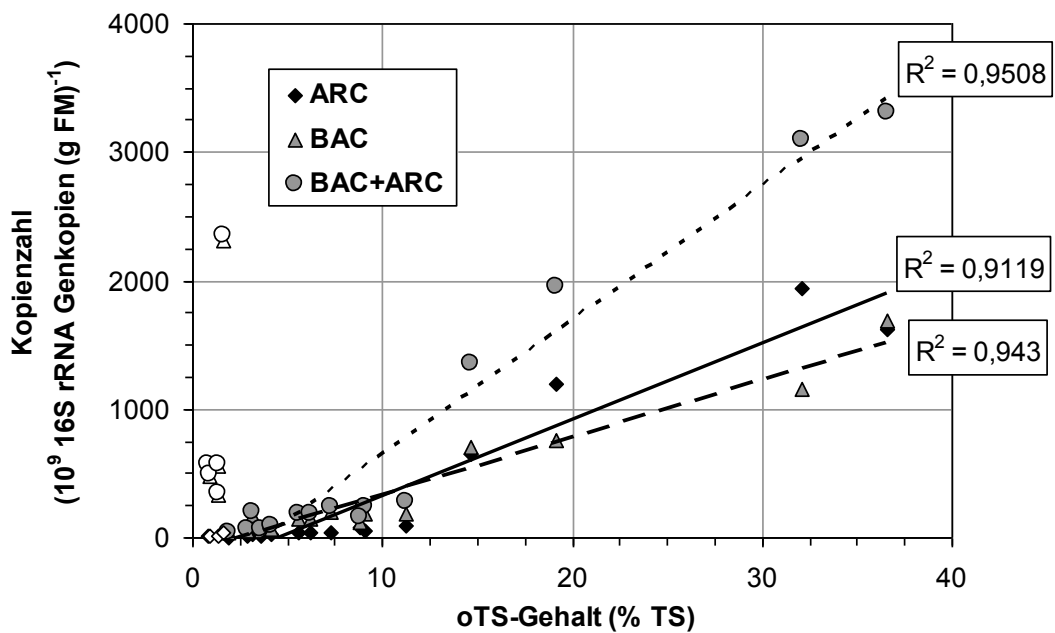


Abb. 87: Zusammenhang zwischen dem oTS-Gehalt und der Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs

3.2.4 Erreichter Rückhaltegrad der MFGPs im Reaktor

Zum Ende der Versuchsphase 4 des CSTR-Versuchs befanden sich noch 3409,9 g (Nassgewicht) besiedelte Aufwuchsträger im Magnetreaktor. Die Aufwuchsträger hatten einen TS-Gehalt von 12,41 % FM und einen oTS-Gehalt von 48,44 % TS, daraus ergibt sich eine verbliebene Trockenmasse an Aufwuchsträgern im Reaktor von 218,2 g. Ursprünglich wurde eine Masse von 800 g trockener unbesiedelter Aufwuchsträger in den Reaktor eingebracht. Über der gesamten Aufenthaltsdauer der Aufwuchsträger im Magnetreaktor lag der erreichte Rückhaltegrad im Reaktor demnach bei 37,7 %.

Die Aufenthaltsdauer der Aufwuchsträger im Magnetreaktor betrug 380 Tage und erstreckte sich über die Versuchsphasen 2 bis 4 des CSTR-Versuchs. Innerhalb dieses Zeitraums wurde eine Gärrestmenge in Höhe von 902,5 L aus dem Reaktor entnommen. Bei einem mittleren Reaktorvolumen von 40,9 L wurde der Reaktorinhalt theoretisch 22,1 Mal ausgetauscht. Die Verluste bei der Abtrennung der Aufwuchsträger aus dem entnommenen Gärrest summierten sich mit jedem Austausch. Bezogen auf den Rückhaltegrad bei jedem einzelnen Austausch ergibt sich ein Rückhaltegrad von 95,7 %.

4 Diskussion und Fazit

4.1 Diskussion der Ergebnisse

4.1.1 Vergleich unterschiedlicher Muster magnetisierbarer Aufwuchsträger hinsichtlich der Immobilisierung von Mikroorganismen

4.1.1.1 Mikroorganismenpopulation auf verschiedenen Aufwuchsträgermustern

Nach Ablauf der Inkubationszeit

Aus den Ergebnissen des KTVA-Besiedlungsversuchs 3 kann gefolgert werden, dass alle neu entwickelten Aufwuchsträgermuster besser für eine Biofilmbildung auf ihren Oberflächen geeignet waren als das ursprüngliche Vorserienmuster „VOR“, siehe Tabelle A16 im Anhang. Die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) im gebildeten Biofilm war bei den neu entwickelten Mustern in jedem Fall höher, der Unterschied im Vergleich zum Vorserienmuster „VOR“ lag zwischen +38,8 % („Ref“ nach 12 Wochen Inkubationszeit) und +950 % („Ref SE“ nach 12 Wochen Inkubationszeit). Hinsichtlich des Anteils der Archaeen an der Gesamtpopulation waren die neu entwickelten Aufwuchsträgermuster nicht immer besser. Es traten sowohl um bis zu 195 % höhere Anteile („Ref SE“ nach 2 Wochen Laufzeit) als auch Abnahmen des Anteils an Archaeen um bis zu 84 % („Ref gew“ nach 2 Wochen Laufzeit) gegenüber dem Vorserienmuster „VOR“ auf. Die Ausprägung der Unterschiede zwischen den verschiedenen Aufwuchsträgermustern war von der Inkubationszeit abhängig. In Bezug auf die Gesamtpopulation wurde der Unterschied zwischen dem Vorserienmuster „VOR“ und den neu entwickelten Aufwuchsträgermustern mit zunehmender Inkubationszeit immer deutlicher, mit Ausnahme des Musters „Ref“. Unterschiede zwischen den Aufwuchsträgermustern beim Anteil der Archaeen an der Gesamtpopulation nahmen dagegen mit zunehmender Inkubationszeit ab.

Die Grundart und die zusätzlichen Modifikationsschritte hatten einen großen Einfluss auf die Biofilmbildung, siehe Tabelle A16 im Anhang. Von den verschiedenen Grundarten („VOR“, „Ref“, „Ref red“ und „Ben“) war Bentonit „Ben“ hinsichtlich der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) und der Population an Archaeen im Biofilm mit $26,8 \times 10^9$ bzw. $7,3 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM am besten geeignet. Das Referenzkorn „Ref“ der neuen Aufwuchsträgermuster wies mit $7,0 \times 10^9$ bzw. $3,4 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM eine geringere Gesamtpopulation und eine geringere Population an Archaeen auf. Beim

Vorserienmuster „VOR“ wurden $4,7 \times 10^9$ bzw. $1,7 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM für die Gesamtpopulation und die Population an Archaeen ermittelt. Durch jeden der Modifikationsschritte (der anschließende Waschschrift „gew“, das Einschmelzen von Spurenelementen im Herstellungsprozess „SE“ und die nachträglichen Oberflächenüberzüge „X“ und „C-X“) wurde eine vergleichbare Steigerung der Mikroorganismenpopulation beim Referenzkorn „Ref“ erzielt. Auf dem Aufwuchsträgermuster mit den eingeschmolzenen Spurenelementen „Ref SE“ konnte nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen die höchste Mikroorganismenpopulation im Vergleich zu den anderen Mustern nachgewiesen werden, die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) und die Population an Archaeen lagen bei $43,4 \times 10^9$ bzw. 20×10^9 16S rRNA Genkopien je g FM, der Anteil der Archaeen an der Gesamtpopulation betrug demnach 46,1 %. Die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) im Biofilm nahm in der Reihenfolge „VOR“ < „Ref“ < „Ref red“ < „Ref red SE“ < „Ben gew“ < „Ben“ < „Ref gew“ < „Ref X“ < „Ref C-X“ < „Ref SE“ zu, bei der Population an Archaeen war die Reihenfolge „VOR“ < „Ref“ < „Ref red“ < „Ben“ < „Ben gew“ < „Ref C-X“ < „Ref X“ < „Ref gew“ = „Ref red SE“ < „Ref SE“.

Die Ergebnisse der qPCR-Analyse lassen sich anhand der ermittelten DNA-Gehalte im Biofilm auf den Aufwuchsträgern in Höhe von 17,65 bzw. 30,75 ng (mg FM)⁻¹ für „VOR“ bzw. „Ref“, sowie der Konzentration an Organik auf den Aufwuchsträgern in Höhe von 0,103 % FM bei „VOR“ und 0,800 % FM bei „Ref“, bestätigen.

Ein Vergleich zwischen den hier erprobten magnetisierbaren Aufwuchsträgern („Ref“) und verschiedenen üblichen (nicht magnetisierbaren) Materialien für Aufwuchsträger, Bimsstein, Eifellava und Sepiolith, erfolgte im Rahmen einer am ATB angefertigten Masterarbeit (Hauf, 2014). Nach einer Inkubationszeit von 12 Wochen konnte unter Verwendung von Glucose als Substrat bei den verschiedenen Aufwuchsträgermaterialien eine Organikkonzentration in Höhe von 1,319; 0,741; 0,122 bzw. 0,115 % FM für die magnetisierbaren Aufwuchsträger, den Bimsstein, die Eifellava und den Sepiolith ermittelt werden. Bei der Verwendung einer Mischung aus Säuren (Hauptbestandteile Essigsäure und Ethanol) als Substrat lagen die erreichten Organikkonzentrationen bei 1,043 bzw. 0,527 % FM für die magnetisierbaren Aufwuchsträger und den Bimsstein. Bei der Untersuchung der Entwicklung des DNA-Gehalts auf den Aufwuchsträgern unter Verwendung des Substrats Glucose wurden Werte in Höhe von 24,00; 12,31 bzw. 3,02 ng (mg FM)⁻¹ für die magnetisierbaren Aufwuchsträger, den Bimsstein und die Eifellava ermittelt. Eine Bestimmung des DNA-Gehalts war beim Sepiolith aufgrund von Störeffekten nicht möglich. Beim Substrat Säure wurden DNA-Gehalte in Höhe von 11,69 bzw. 4,92 ng (mg FM)⁻¹ für die magnetisierbaren Aufwuchsträger und den Bimsstein festgestellt. Die magnetisierbaren Aufwuchsträger können anhand der Ergebnisse

dieser Masterarbeit im Vergleich zu den Referenzmaterialien hinsichtlich der Biofilmbildung auf ihren Oberflächen als überlegen angesehen werden.

Adhäsion

Aus den Ergebnissen des KTVA-Besiedlungsversuchs 1 geht hervor, dass das Vorserienmuster „VOR“ für die erste Adhäsion von Mikroorganismen etwas besser geeignet ist als die neu entwickelten Aufwuchsträgermuster, siehe Tabelle A9 im Anhang. Die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) war nach 2,5 Stunden Inkubationszeit bei jedem der neu entwickelten Aufwuchsträgermuster geringer als beim Vorserienmuster, der größte Unterschied trat mit einer Abnahme von 65,3 % bei „Ref red“ auf. Der Anteil der Archaeen an der Gesamtpopulation war bereits während der Adhäsion maximal 156,6 % höher als beim Vorserienmuster „VOR“, allerdings traten auch um bis zu 5,7 % geringere Anteile der Archaeen auf („Ben gew“ bzw. „Ref red SE“). Die ermittelten Genkopienzahlen der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) und der Population an Archaeen lagen bei allen Aufwuchsträgermustern mit $29,1 \times 10^9$ bis $67,6 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM („Ref red“ und „VOR“) bzw. $2,2 \times 10^9$ bis $10,1 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM („Ref red“ und „Ben gew“) in der gleichen Größenordnung.

Zusammenfassung

Die neu entwickelten Aufwuchsträgermuster waren alle besser für eine Immobilisierung von Mikroorganismen geeignet als das Vorserienmuster „VOR“. Die großen Unterschiede, die bei der Mikroorganismenpopulation auf den Oberflächen der verschiedenen Muster erkennbar waren, müssen ihre Ursache in der Beschaffenheit der jeweiligen Oberfläche haben. Die Zusammenhänge zwischen den in den Tabellen 5 bis 7 in Abschnitt 2.1.2.1 dargestellten Oberflächeneigenschaften der Aufwuchsträger und der Mikroorganismenpopulation, die sich auf ihren Oberflächen entwickeln konnte, sind allerdings nicht eindeutig. So wies das Vorserienmuster „VOR“ das höchste kumulierte Gesamtvolumen, die höchste spezifische Gesamtoberfläche und die höchste Gesamtporosität auf, der Unterschied zu den neuen Mustern ist teilweise sehr deutlich. „VOR“ besaß demnach die größte Oberfläche für die Immobilisierung von Mikroorganismen, trotzdem war die Mikroorganismenpopulation nach einer bestimmten Inkubationszeit, hier 12 Wochen, bei diesem Muster am geringsten. Die Eigenschaften des Vorserienmusters „VOR“ scheinen sich allerdings positiv auf die erste Adhäsion von Mikroorganismen auszuwirken, da sie bei diesem Muster am höchsten war. Möglicherweise trat während der Adhäsion auch der Effekt einer Maskierung der Oberflächeneigenschaften auf, siehe Abschnitt 1.4.2.5. Die längerfristige Immobilisierung von Mikroorganismen in Form stabiler Biofilme auf den Oberflächen der verschiedenen magnetisierbaren Aufwuchsträger kann anhand der Ergebnisse dieser Arbeit am wahrscheinlichsten mit der Porengröße und der Struktur der Aufwuchsträger in Beziehung

gesetzt werden. Die neuen Aufwuchsträgermuster wiesen mit 90,66 bis 510,46 nm teilweise deutlich größere Porendurchmesser auf als das Vorserienmuster „VOR“ mit 72,37 nm. Die Struktur der neuen Muster war sehr ungleichmäßig und scharfkantig, siehe Abbildung 38 und 39 in Abschnitt 3.1.3.5, „VOR“ hatte dagegen eine sehr gleichmäßige Kugelform mit einer viel glatteren Oberfläche, siehe Abbildung 46 in Abschnitt 3.1.4.5. Bei der Analyse der neu entwickelten Aufwuchsträgermuster wurden im Vergleich zum Vorserienmuster „VOR“ deutlich höhere Gehalte an organischer Masse ermittelt. Bei der organischen Masse handelt es sich im Wesentlichen um extrazelluläre polymere Substanz (EPS), die die Grundstruktur des Biofilms darstellt. Die größeren mittleren Porendurchmesser und die ungleichmäßige, scharfkantige Oberflächenstruktur der neuen Aufwuchsträgermuster führten wahrscheinlich zu einer besseren Anhaftung der EPS. Die höhere Masse an EPS, die im Vergleich zum Vorserienmuster „VOR“ auf den Oberflächen der neuen Muster gehalten werden konnte, führte zur Ausbildung eines dickeren Biofilms. Im dickeren Film fanden mehr Mikroorganismen Platz, außerdem war der Schutz gegenüber äußeren Einflüssen höher. Die Vorteile einer bestimmten Struktur der Oberfläche für die Ausbildung stabiler Biofilme wurden in anderen Arbeiten bereits bestätigt. So schützen Vertiefungen auf den Oberflächen den entstehenden Biofilm vor frühzeitiger Abtragung, dadurch wird eine ungestörte Entwicklung des Biofilms ermöglicht (Stoodley, 2002). Unebenheiten auf der Oberfläche bieten optimale Lebensbedingungen für makroskopische aggregierende Strukturen, in denen sich syntrophe Lebensgemeinschaften aus fermentativen, acidogenen und acetogenen Bakterien sowie methanogenen Archaeen gut entwickeln können (Zhu, 1997). Auch die in Abschnitt 1.4.2.2 dargestellten Einflüsse der **Rauheit der besiedelten Oberfläche** sowie der **Struktur der besiedelten Oberfläche und der Form der Aufwuchsträger** auf die Biofilmbildung bestätigen die Rückschlüsse, die aus den Ergebnissen dieser Arbeit abgeleitet werden können.

Mit zunehmender Inkubationszeit wirkte sich das Einschmelzen von Spurenelementen in das Grundmaterial der Aufwuchsträger, der Modifikationsschritt „SE“, positiv auf die Mikroorganismenpopulation im Biofilm aus. Wahrscheinlich kam es mit der Zeit zu einem verstärkten Herauslösen der Spurenelemente aus dem Material. Es ist denkbar, dass die Wirkung dieses Effekts auf die Mikroorganismen durch das verwendete Substrat, Zuckerrübensilage ohne Anpassung der Spurenelementekonzentration siehe Abschnitt 2.1.2.2, noch verstärkt wurde. Inwieweit sich dieser Effekt bei der Verwendung anderer Substrate ebenfalls positiv auswirkt und wie lange er anhält, könnte in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden.

Die bei der Inkubation der Aufwuchsträger in der KTVA erzielte Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf den Aufwuchsträgern war deutlich geringer, als bei der Inkubation im CSTR. Der Unterschied kann auf die Besonderheiten der beiden Versuchsanlagen zurückgeführt werden, dieser Zusammenhang wird im Abschnitt 4.1.5.2 ausführlich betrachtet.

Zusammenfassend kann an dieser Stelle festgehalten werden, dass Aufwuchsträger mit möglichst rauen Oberflächen und einer ungleichmäßigen und scharfkantigen Struktur am besten für die langfristige Immobilisierung von Mikroorganismen geeignet scheinen. Diese Merkmale konnten bei den magnetisierbaren Aufwuchsträgern durch Verwendung des Grundmaterials Bentonit „Ben“ und eine Wäsche erreicht werden. Auch weitere Modifikationen wie das Einschmelzen von Spurenelementen und ein Oberflächenüberzug können vorteilhaft sein. In diesem Zusammenhang muss allerdings bedacht werden, dass jeder Modifikationsschritt zusätzliche Kosten bedeutet. Außerdem kann sich eine Modifikation auch stark auf die Zusammensetzung der immobilisierten Mikroorganismenpopulation auswirken, diese Entwicklung wurde bei der Wäsche beobachtet, siehe Abschnitt 4.1.1.2.

4.1.1.2 Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm

Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm

Im Biofilm auf den Aufwuchsträgern kam es zu einer deutlichen Aufkonzentration methanogener Organismen (Archaeen) im Vergleich zur umgebenden flüssigen Phase. Der Anteil der Archaeen an der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) im Biofilm lag zum Ende des KTVA-Besiedlungsversuchs 3 zwischen 23,5 und 49,1 % („Ref C-X“ und „Ref“), das Vorserienmuster „VOR“ lag mit 36,1 % innerhalb dieses Bereichs. In der flüssigen Phase betrug der Anteil der Archaeen dagegen nur zwischen 6,7 und 21,6 %. Während der Adhäsion (KTVA-Besiedlungsversuch 1) konnte keine selektive Anlagerung von Archaeen beobachtet werden.

Die Zusammensetzung der Domäne Archaea wurde vom verwendeten Muster der Aufwuchsträger und dem Substrat beeinflusst. Zum Ende des KTVA-Besiedlungsversuchs 2 waren bei allen Substraten die Ordnung Methanomicrobiales und die Familie Methanosaetaceae absolut dominant. Unterschiede lagen im Vorkommen der Ordnung Methanobacteriales und der Familie Methanosarcinaceae, die bei Verwendung des Substrats Glucose geringfügig höher vertreten waren. Das Muster der Aufwuchsträger stellte sich in KTVA-Besiedlungsversuch 4 im Vergleich zum Substrat als viel stärkerer Einfluss heraus. Beim gewaschenen Aufwuchsträgermuster „Ref gew“ trat mit der Dominanz von Methanobacteriales und Methanosarcinaceae im Biofilm eine gegenläufige Entwicklung zu

den anderen untersuchten Mustern „Ref“ und „VOR“ auf, bei denen Methanomicrobiales und Methanosaetaceae den größten Anteil darstellten.

Ein Vergleich der magnetisierbaren Aufwuchsträger („Ref“) mit verschiedenen üblichen nichtmagnetisierbaren Materialien für Aufwuchsträger erfolgte im Rahmen der Arbeit von Hauf (Hauf, 2014), siehe auch Abschnitt 4.1.1.1. Von Hauf (Hauf, 2014) wurde festgestellt, dass die Zusammensetzung der mikrobiellen Population auf den verschiedenen Aufwuchsträgermaterialien sehr ähnlich war. Der Einfluss des Substrats auf die Mikroorganismenpopulation war viel größer als die Abhängigkeit vom Material. Die Familie Methanosaetaceae war beim Vergleich der verschiedenen Materialien unter Verwendung des Substrats Glucose immer dominant. Der Anteil methanogener Organismen (Archaeen) an der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) war bei der Verwendung von Säure als Substrat mit ca. 33 % höher als beim Substrat Glucose, in diesem Fall betrug der Anteil 10 %. Außerdem konnte die Familie Methanosarcinaceae nur mit Säure als Substrat nachgewiesen werden.

Ursachen für das Vorkommen bestimmter methanogener Mikroorganismen

Die gegensätzliche Entwicklung innerhalb der Archaeenpopulation beim gewaschenen Aufwuchsträgermuster „Ref gew“ kann anhand der Sensibilität von *Methanosaeta* gegenüber Ammonium bzw. Ammoniak und hoher Essigsäurekonzentrationen erklärt werden, siehe Abschnitt 4.1.2.3. Zum Beginn des KTVA-Besiedlungsversuchs kam es bei Verwendung des Musters „Ref gew“ zu einem sehr starken Anstieg des pH-Werts der Versuchsansätze, da die Aufwuchsträger alkalische Substanzen in die umgebende flüssige Phase abgaben, siehe Abschnitt 3.1.4.1. Aufgrund der hohen Alkalität wurde die Methanbildung zunächst vollkommen gehemmt. Die entsprechenden Versuchsansätze wurden trotzdem weiter beschickt, wodurch es zu einem allmählichen Absinken des pH-Werts kam. Unterhalb eines bestimmten pH-Werts wurden methanogene Mikroorganismen wieder aktiv und die Methanbildung setzte ein. Aufgrund der anfänglichen Hemmung der Methanbildung ist von einer verstärkten Aufkonzentration von Säuren im Versuchsansatz auszugehen. Die Bestimmung der Säurekonzentration war aufgrund des geringen Volumens der Ansätze nicht möglich, siehe Abschnitt 4.1.5.2, das beobachtete Absinken des pH-Werts kann aber als sicheres Indiz für steigende Säurekonzentrationen gewertet werden. Neben der hohen Säurekonzentrationen führten die hohen pH-Werte zu einer Verschiebung des Ammonium/Ammoniak-Gleichgewichts zu Ammoniak, siehe Abschnitt 4.1.2.3. Beide Folgeerscheinungen der Verwendung des Musters „Ref gew“ waren schädlich für *Methanosaeta*. *Methanosarcina* trägt diese Bedingungen viel besser, siehe Abschnitt 4.1.2.3, und wurde deshalb selektiv gefördert. Dadurch kam es zu der im Vergleich zu den

anderen Aufwuchsträgermustern gegenläufigen Entwicklung innerhalb der Zusammensetzung der Archaeen. Dieser Zusammenhang ist auch eine Erklärung für die geringen Unterschiede bei der Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf verschiedenen Aufwuchsträgermaterialien, die von Hauf (Hauf, 2014) festgestellt wurden. Der Einfluss der Aufwuchsträger auf die flüssige Phase war dort gering, eine Hemmung der Mikroorganismen durch den Einsatz eines bestimmten Aufwuchsträgermaterials trat nicht auf. Das Substrat Säure führte dagegen zur Hemmung bestimmter Mikroorganismen. Deshalb war das Substrat ein viel stärkerer Einflussfaktor auf die Mikroorganismenpopulation im Versuchsansatz und damit auch auf die Biofilme auf den Aufwuchsträgern als das Material der Aufwuchsträger.

Zusammenfassung

Die Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf den Aufwuchsträgern wurde vom Material der Aufwuchsträger nur dann beeinflusst, wenn es durch den Einsatz der Aufwuchsträger zu einer Veränderung der umgebenden flüssigen Phase kam. Der Einfluss der Aufwuchsträger auf die umgebende flüssige Phase war bei den KTVA-Versuchen aufgrund der hohen Aufwuchsträgerkonzentration von 16,7 Massen-% in den Versuchsansätzen sehr hoch. Konzentrationen in dieser Höhe sind nicht praxisrelevant, da sie zu hohe Kosten verursachen würden, ein positiver Effekt der Aufwuchsträger wird ohnehin schon mit weit geringeren Konzentrationen erreichbar sein. Beim CSTR-Versuch wurden mit einer Aufwuchsträgerkonzentration in Höhe von 2,0 Massen-% sehr positive Effekte im laufenden Anlagenbetrieb erzielt, siehe Abschnitt 3.2.1.1. Beim Neustart des CSTRs betrug die Konzentration sogar nur 0,55 Massen-%. Eine starke Beeinflussung der flüssigen Phase des Systems durch die Aufwuchsträger kann demnach bei der praktischen Anwendung ausgeschlossen werden. Abgesehen vom Aufwuchsträgermuster „Ref gew“ entsprach die im Rahmen der KTVA-Versuche ermittelte Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation den Ergebnissen des CSTR-Versuchs. Eine ausführliche Diskussion der Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf den Aufwuchsträgern erfolgt in Abschnitt 4.1.2.3. In diesem Zusammenhang soll auch auf die in Abschnitt 4.1.3.4 diskutierte Problematik der selektiven Förderung bestimmter Organismen im Reaktorsystem hingewiesen werden. Allgemein konnte im Biofilm auf den Aufwuchsträgern ein deutlich höherer Anteil methanogener Mikroorganismen festgestellt werden, als in der umgebenden flüssigen Phase.

4.1.1.3 Reproduzierbarkeit der durchgeführten Versuche

Aus den Ergebnissen des KTVA-Besiedlungsversuchs 4 geht hervor, dass die Ergebnisse mehrerer paralleler Versuchsansätze innerhalb einer Versuchsreihe reproduzierbar waren, siehe Tabelle A14 im Anhang. Die Ergebnisse aus verschiedenen Versuchsreihen sind allerdings schwer vergleichbar. So wurden für das Referenzkorn „Ref“ bei drei parallel betriebenen Ansätzen im KTVA-Besiedlungsversuch 4 nach 16 Wochen Inkubationszeit für die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) im Biofilm Genkopienzahlen in Höhe von $96,9 \pm 15,7 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM ermittelt. Beim Besiedlungsversuch 3 lag die Genkopienzahl der Gesamtpopulation für „Ref“ nach 12 Wochen Inkubationszeit dagegen bei einem weit geringeren Wert in Höhe von $7,0 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM. Bei den Aufwuchsträgermustern „VOR“ und „Ref gew“ und dem jeweils eingesetzten Inokulum traten ähnliche Abweichungen auf.

Diese Abweichungen können auf die Durchführung der KTVA-Versuche, z.B. der Zeitpunkt der Probenahme, das verwendete Inokulum, die Aufbereitung der Proben und die Grenzen bzw. Probleme der qPCR-Analyse zurückgeführt werden. Diese Zusammenhänge werden im Abschnitt 4.1.5.1 ausführlich erläutert. Alle konkreten Angaben von ermittelten Genkopienzahlen sollten unter Vorbehalt betrachtet werden.

4.1.2 Kinetik der Ausbildung eines Biofilms auf den Aufwuchsträgern und der Entwicklung der mikrobiellen Biozönose im Biofilm

4.1.2.1 Entwicklung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm

Auf den eingesetzten Aufwuchsträgern („Ref“) hatte sich während der 380 Tage andauernden Inkubationszeit in den Phasen 2 bis 4 des CSTR-Versuchs ein sehr intensiver Biofilm ausgebildet, siehe Tabellen A27 bis A29 im Anhang.

Die Mikroorganismenpopulation und die Struktur des Biofilms wurden vor allem durch die hydraulische Verweilzeit beeinflusst. Nach Eintrag der Aufwuchsträger in Versuchsphase 2 wurden innerhalb von 127 Tagen für die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) und für die Population an Archaeen Werte in Höhe von $97,8 \times 10^9$ bzw. $28,8 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM der Aufwuchsträger erreicht. Die Raumbelastung wurde dabei von 1,5 auf $4,0 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ gesteigert, die mittlere hydraulische Verweilzeit lag zwischen 18,7 und 201,8 d bzw. bei 90,9 d im Mittel über der Versuchsphase. Im Verlauf der Versuchsphase 3 (Laufzeit 126 Tage) stiegen die Gesamtpopulation und die Population an Archaeen auf 277,9

$\times 10^9$ bzw. $92,8 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM der Aufwuchsträger an. Die Raumbelastung wurde dabei auf $8,0 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ gesteigert, die mittlere hydraulische Verweilzeit lag zwischen 11,8 und 43,0 d bzw. bei 28,9 d im Mittel über der Versuchsphase. In Versuchsphase 4 stiegen die Gesamtpopulation und die Population von Archaeen innerhalb von 127 Tagen stark an bis auf $3312,8 \times 10^9$ bzw. $1624,9 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM der Aufwuchsträger. Die Substratzugabe war dabei konstant und entsprach dem Wert zum Ende von Versuchsphase 3, die mittlere hydraulische Verweilzeit wurde auf bis zu 4,2 d reduziert, gemittelt über die Versuchsphase lag die hydraulische Verweilzeit bei 10,6 d. Bezogen auf die Trockenmasse der Aufwuchsträger TM_{MFGP} wird die Entwicklung der Mikroorganismenpopulation noch deutlicher. Bezogen auf ein Gramm trockener Aufwuchsträger konnten zum Ende der Versuchsphasen 2 bis 4 Gesamtpopulationen (Archaeen und Bakterien) in Höhe von $337,2 \times 10^9$ (Phase 2), $897,6 \times 10^9$ (Phase 3) sowie $30709,5 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien (Phase 4) ermittelt werden. Die Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit in Versuchsphase 4 bewirkte bei gleicher Laufzeit der Versuchsphasen einen deutlich stärkeren Zuwachs der Mikro-organismenpopulation auf den Aufwuchsträgern als die Erhöhung der Raumbelastung in den Versuchsphasen 2 und 3. Die Raumbelastung und die Inkubationszeit waren demnach untergeordnet.

Dieses Ergebnis lässt die Vermutung zu, dass die Ausbildung der mikrobiellen Biozönose im Biofilm auf den Aufwuchsträgern durch die Wahl eines geringeren Höchstwerts der Raumbelastung und einer früheren Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit in wesentlich kürzerer Zeit möglich gewesen wäre. Ein Verzicht auf Versuchsphase 3 des CSTR-Versuchs, in der eine Steigerung der Raumbelastung von $4,0$ auf $8,0 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ erfolgte, hätte eine Zeitersparnis von 126 Tagen bedeutet. Bei einer Gesamtdauer der Inkubation der Aufwuchsträger in Höhe von 380 Tagen innerhalb der Versuchsphasen 2 bis 4 ist dieser Zeitgewinn nicht unerheblich.

Für die Ausbildung einer mikrobiellen Biozönose bzw. die Ausbildung eines Biofilms auf Oberflächen sind die Eigenschaften der Oberfläche und viele äußere Einflussfaktoren relevant. In Abschnitt 4.1.2.4 wird diese Thematik diskutiert.

4.1.2.2 Maximale Mikroorganismenpopulation im Biofilm

Die maximale Mikroorganismenpopulation auf den Aufwuchsträgern wurde bei einer Raumbelastung von $6,42 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von 4,9 d zum Ende von Versuchsphase 4 des CSTR-Versuchs erreicht. Zu diesem Zeitpunkt wurden Werte in Höhe von $34626,0 \times 10^9$ bzw. $20502,3 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g TM_{MFGP} für Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) bzw. Population von Archaeen ermittelt.

Bezogen auf die Frischmasse der Aufwuchsträger lagen die Maximalwerte bei $2240,8 \times 10^9$ bzw. $1326,8 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM für Gesamtpopulation bzw. Population von Archaeen. In der flüssigen Phase des Magnetreaktors wurde die maximale Mikroorganismenpopulation in der Mitte von Versuchsphase 4 (Tag 42) bei einer Raumbelastung von $7,88 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von 16,7 d erreicht. Die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) und die Population der Archaeen in der flüssigen Phase des Magnetreaktors erreichten Maximalwerte in Höhe von $2980,7 \times 10^9$ bzw. $33,9 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM. Bei der flüssigen Phase des Kontrollreaktor war es vergleichbar.

Zum Ende der Versuchsphase 4 des CSTR-Versuchs konnte auf den Aufwuchsträgern ein maximaler DNA-Gehalt in Höhe von 442,3 ng je mg FM nachgewiesen werden, in der flüssigen Phase des Magnetreaktors wurde der Maximalwert an Tag 42 der Versuchsphase 4 mit 241240 ng je mL FM erreicht. Bezogen auf die im Rahmen der qPCR-Analyse extrahierten DNA konnten bei den Aufwuchsträgern zu diesem Zeitpunkt Genkopienzahlen in Höhe von $5,06 \times 10^6$ bzw. $3,00 \times 10^6$ 16S rRNA Genkopien je ng DNA für die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) bzw. die Population von Archaeen festgestellt werden. In der flüssigen Phase des Magnetreaktors lagen die Werte für Gesamtpopulation und Population von Archaeen zum oben genannten Zeitpunkt bei $12,36 \times 10^6$ bzw. $0,14 \times 10^6$ 16S rRNA Genkopien je ng DNA.

Die Ergebnisse der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten mikrobiologischen Untersuchungen können mit den Ergebnissen verglichen werden, die von anderen unter ähnlichen Versuchsbedingungen ermittelt wurden. Von Bergmann et al. (Bergmann, 2010) konnten bei der Analyse des Reaktorinhalts einer mesophilen Praxisbiogasanlage für die Domänen Bacteria und Archaea 16S rRNA Genkopienzahlen in einer Größenordnung von 10^6 bzw. 10^5 Genkopien je ng DNA ermittelt werden. Die von Bergmann et al. verwendete qPCR-Methode war identisch zur Methode, die hier angewendet wurde. Hellman et al. (Hellman, 2010) haben Aufwuchsträger aus den magnetischen Materialien Magnetit und Eisen sowie nichtmagnetischem Polystyren untersucht. Der höchste DNA-Gehalt auf den Aufwuchsträgern wurde dabei mit $1600 \mu\text{g}$ je g FM bei Magnetit festgestellt. Im Vergleich zu den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträgern ist dieser Wert deutlich höher. Die Eisenpartikel sind mit ca. $500 \mu\text{g}$ je g FM mit den magnetisierbaren Aufwuchsträgern vergleichbar. Die Polystyrenpartikel zeigten deutlich geringere DNA-Gehalte unter $50 \mu\text{g}$ je g FM.

4.1.2.3 Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm

Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm

Im Biofilm auf den magnetisierbaren Aufwuchsträgern kam es im Vergleich zur flüssigen Phase zu einer deutlichen Aufkonzentration methanogener Mikroorganismen (Archaeen). Die Archaeen im Biofilm nahmen einen Anteil von bis zu 62,77 % der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) ein (an Tag 98 der Versuchsphase 4 des CSTR-Versuchs). Zum Ende der Versuchsphasen 2; 3 und 4 lag der Anteil der Archaeen im Biofilm bei 29,47; 33,39 bzw. 49,05 %. Bei der Mikroorganismenpopulation der flüssigen Phase des Magnetreaktors wiesen die Archaeen dagegen nur einen Anteil in Höhe von $1,91 \pm 1,08$ % auf (gemittelt über die Versuchsphasen 1 bis 4). Demnach kam es zu einer sehr ungleichmäßigen Verteilung von Bakterien und Archaeen im Reaktorsystem. Die Zusammensetzung innerhalb der Domäne Archaea in der flüssigen Phase und im Biofilm auf den Aufwuchsträgern ähnelte sich dagegen sehr stark. Die acetoklastische Familie Methanosaetaceae war immer vorherrschend. Die hydrogenotrophen Ordnungen Methanomicrobiales und Methanobacteriales traten in weit geringeren Anteilen auf. Mit zunehmender Inkubationszeit war die fakultativ hydrogenotrophe oder acetoklastische Familie Methanosarcinaceae kaum noch vertreten. Mit Verringerung der hydraulischen Verweilzeit nahm der Anteil von Methanomicrobiales und Methanobacteriales im Biofilm auf den Aufwuchsträgern und in der flüssigen Phase wieder zu, Methanosaetaceae blieben aber absolut dominant.

Vergleich mit Angaben aus der Literatur

In verschiedenen mesophil betriebenen Reaktorsystemen und Biogasanlagen konnte eine Dominanz von Methanosaetaceae nachgewiesen werden (Nettmann, 2010) (Chelliapan, 2011) (Ziganshin, 2011). Bergmann et al. (Bergmann, 2010) konnten bei der Untersuchung der mikrobiellen Biozönose einer Praxisbiogasanlage, die mit einer Mischung aus Schweinegülle, Maissilage und Getreide unter mesophilen Bedingungen betrieben wurde, wie Krakat et al. (Krakat, 2010) eine Dominanz hydrogenotropher Organismen feststellen. So gehörten 84 % der detektierten 16S rRNA Genkopien zur Ordnung Methanomicrobiales, 14 % zur Ordnung Methanosarcinales und 2 % zur Ordnung Methanobacteriales. Dieser Zusammenhang wird auf die Konzentration von Ammonium und Ammoniak im Reaktor zurückgeführt. Die Gesamtkonzentration aus Ammonium und Ammoniak lag im untersuchten Reaktor bei $4,3 \text{ g kg}^{-1}$. Methanosaetaceae werden bereits bei Ammoniakkonzentrationen über $1,5 \text{ g kg}^{-1}$ gehemmt, Methanomicrobiales vertragen deutlich höhere Konzentrationen. Die Domäne Archaea stellte nur einen geringen Anteil der Gesamtpopulation dar. Der Anteil von 16S rRNA Genkopien, der Bakterien zugeordnet werden konnte, war 10mal höher als der Anteil, den die Archaeen darstellten. Auch Hellman et al. (Hellman, 2010) konnten bei

der Vergärung von Schlamm aus einer Abwasseraufbereitungsanlage eine Dominanz von Mikroorganismen der Domäne Bacteria gegenüber der Domäne der Archaea feststellen, sowohl in der flüssigen Phase als auch auf den dort untersuchten Aufwuchsträgern. Die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) war auf den Aufwuchsträgern in etwa um eine Potenz höher als in der flüssigen Phase. Innerhalb der Domäne der Archaea war die fakultativ hydrogenotrophe oder acetoklastische Ordnung Methanosarcinales immer vorherrschend gegenüber der hydrogenotrophen Ordnung Methanobacteriales, auf den Aufwuchsträgern war der Anteil von Methanobacteriales etwas höher als in der umgebenden flüssigen Phase. Yang et al. (Yang, 2004) stellten beim Vergleich verschiedener Trägermaterialien unter Verwendung eines künstlichen Nährmediums auf der Basis von Acetat fest, dass in den Biofilmen auf den Trägermaterialien vor allem *Methanobacterium formicum*, *Methanosarcina barkeri* und *Methanosarcina mazei* vertreten waren. Demnach kamen in den Biofilmen überwiegend hydrogenotrophe bzw. fakultativ hydrogenotrophe Mikroorganismen vor. Langer et al. (Langer 2015) stellten bei der Vergärung einer Mischung aus Maissilage und Zuckerrübensilage bei mesophiler Temperatur in einem CSTR einen starken Zusammenhang zwischen der Population der Archaeen und der Zusammensetzung des Substrats fest. Der Anteil von *Methanosaeta* an den Archaeen war mit 38 bzw. 32 % dominant bei Maissilage/Zuckerrübensilage-Verhältnissen von 1:0 und 6:1 (bezogen auf die oTS) und sank bei Verhältnissen von 3:1 bzw. 1:3 auf 6 bzw. 0,4 % ab. *Methanosarcina* war dagegen mit 36 und 54 % dominant bei den Verhältnissen Maissilage/Zuckerrübensilage-Verhältnissen von 3:1 und 1:3 (bezogen auf die oTS). Der pH-Wert, der FOS/TAC-Wert und die Konzentration an Ammoniumstickstoff waren dabei nahezu unabhängig von der Zusammensetzung des Substrats und lagen in Bereichen von 7,65 bis 8,05; 0,02 bis 0,11 sowie 1,91 bis 2,79 g L⁻¹. Bei der Monovergärung von Zuckerrübensilage bei mesophilen Temperaturen stellten Krakat et al. (Krakat, 2010) eine Dominanz hydrogenotropher Mikroorganismen fest, die Diversität nahm mit Verkürzung der hydraulischen Verweilzeit zu. Klang et al. (Klang, 2014) konnten bei der Vergärung von Maissilage bzw. Zuckerrübensilage in einem CSTR unter mesophilen Temperaturen ebenfalls eine starke Abhängigkeit zwischen der Zusammensetzung der Archaeenpopulation und den Eigenschaften des Substrats feststellen. Die zu Beginn des Versuchs im verwendeten Inokulum dominanten hydrogenotrophen Mikroorganismen *Methanobacterium* sp und *Methanoculleus* sp. wurden mit Abnahme der Ammoniumstickstoffkonzentration von 1200 mg (kg FM)⁻¹ auf 450 mg (kg FM)⁻¹ (Maissilage) bzw. 200 mg (kg FM)⁻¹ (Zuckerrübensilage) bei beiden Substraten verdrängt. Bei Verwendung des Substrats Maissilage trat stattdessen eine Dominanz von *Methanosaeta* auf, beim Substrat Zuckerrübensilage nahm *Methanosarcina* den größten Anteil an der Archaeenpopulation ein.

Ursachen für das Vorkommen bestimmter methanogener Mikroorganismen

Die oben dargestellten Unterschiede hinsichtlich der Zusammensetzung der Archaeenpopulation bzw. das Vorkommen bestimmter methanogener Mikroorganismen sind mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Konzentrationen an Ammonium und Essigsäure zurückzuführen, die im System auftreten. Methanosaetaceae werden bei Ammoniakkonzentrationen über $1,5 \text{ g kg}^{-1}$ gehemmt (Bergmann, 2010), Mikroorganismen aus der Gruppe der Methanosarcinaceae tolerieren dagegen Ammoniakkonzentrationen von $2,5$ bis $8,0 \text{ g L}^{-1}$ (Angelidaki, 1993), (Gallert, 1997) (De Vrieze, 2012). Der von Bergmann et al. (Bergmann, 2010) untersuchte Reaktor wies mit $4,3 \text{ g kg}^{-1}$ eine hohe Gesamtkonzentration an Ammonium und Ammoniak auf. Auch bei den Versuchen von Krakat et al. (Krakat, 2010) traten in der flüssigen Phase des Reaktors hohe Ammoniumkonzentrationen von über $2,6 \text{ g L}^{-1}$ auf, die zu Ammoniakkonzentrationen von 593 mg L^{-1} führten (Demirel, 2008). Im Verlauf des CSTR-Versuchs, der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurde, überstieg die Ammoniumkonzentration in den Reaktoren nie einen Wert von $1,0 \text{ g kg}^{-1}$. Die Ammoniakkonzentration, die sich aus der Ammoniumkonzentration unter Einbeziehung der Reaktortemperatur ($41 \text{ }^{\circ}\text{C}$) und des pH-Werts (gemittelt über die einzelnen Versuchsphasen des CSTR-Versuchs lag der pH-Wert maximal bei $7,56 \pm 0,10$ (MR) bzw. $7,47 \pm 0,11$ (CR)) berechnen lässt (Bonmati, 2003), ist hier mit maximal $7,26 \text{ mg kg}^{-1}$ als unkritisch zu beurteilen. Eine Hemmung von Methanosaetaceae, wie sie mit hoher Wahrscheinlichkeit bei den Untersuchungen von Bergmann et al. und Krakat et al. auftrat, kann hier ausgeschlossen werden. Die von Langer et al. (Langer, 2015) beobachtete Abnahme von *Methanosaeta* und Zunahme von *Methanosarcina* mit Erhöhung des Anteils an Zuckerrübensilage im Substrat wird dort auf die Toleranz von *Methanosarcina* gegenüber hohen Essigsäurekonzentrationen und eine höhere Affinität von *Methanosaeta* für Essigsäure bei geringen Essigsäurekonzentrationen zurückgeführt. Bei Klang et al. (Klang, 2015) wird die Dominanz von *Methanosarcina* gegenüber *Methanosaeta* ebenfalls mit höheren Konzentrationen an organischen Säuren und niedrigeren pH-Werten erklärt, die bei der Verwendung des Substrats Zuckerrübensilage im Gegensatz zum Substrat Maissilage auftraten. *Methanosaeta* ist an geringe Essigsäurekonzentrationen unter $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (K_M $0,39$ bis $1,2 \text{ mM}$) angepasst, *Methanosarcina* nutzt Essigsäure dagegen erst ab deutlich höheren Konzentrationen ($K_M > 3,0 \text{ mM}$) (Jetten, 1990) (Fey, 2000) (Stams, 2003). Hohe Essigsäurekonzentrationen können zu einer starken Hemmung von *Methanosaeta* führen (Stams, 2003) (Karakashev, 2006). Beim hier durchgeführten CSTR-Versuch traten im Mittel innerhalb der einzelnen Versuchsphasen beim Magnetreaktor bzw. beim Kontrollreaktor die folgenden Essigsäurekonzentrationen auf: Versuchsphase 1: $0,48$ bzw. $0,37 \text{ g L}^{-1}$; Versuchsphase 2: $0,92$ bzw. $0,34 \text{ g L}^{-1}$; Versuchsphase 3: $0,61$ bzw. $0,28 \text{ g L}^{-1}$; Versuchsphase 4-1: $1,07$ bzw. $0,34 \text{ g L}^{-1}$; Versuchsphase 4-2: $0,71$ bzw. $2,03 \text{ g L}^{-1}$;

Versuchsphase 4-3: 0,41 bzw. 3,80 g L⁻¹ und Versuchsphase 5: 2,66 bzw. 0,33 g L⁻¹. Nach Umrechnung in $\mu\text{mol L}^{-1}$ ergeben sich folgende Werte für Magnetreaktor bzw. Kontrollreaktor: Versuchsphase 1: 7,94 bzw. 6,18 $\mu\text{mol L}^{-1}$; Versuchsphase 2: 15,33 bzw. 5,60 $\mu\text{mol L}^{-1}$; Versuchsphase 3: 10,22 bzw. 4,73 $\mu\text{mol L}^{-1}$; Versuchsphase 4-1: 17,76 bzw. 5,63 $\mu\text{mol L}^{-1}$; Versuchsphase 4-2: 11,82 bzw. 33,81 $\mu\text{mol L}^{-1}$; Versuchsphase 4-3: 6,79 bzw. 63,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$ und Versuchsphase 5: 44,21 bzw. 5,41 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Eine Hemmung von *Methanosaeta* aufgrund hoher Essigsäurekonzentrationen erscheint demnach für die Versuchsphasen 1 bis 3 unwahrscheinlich. Erst mit Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit und zunehmender Überlastung des Reaktors in Versuchsphase 4 traten beim Kontrollreaktor deutlich höhere Essigsäurekonzentrationen auf. Beim Magnetreaktor führte die Entnahme der besiedelten Aufwuchsträger zu Beginn der Versuchsphase 5 zu einer Überlastung, die ebenfalls einen Anstieg der Essigsäurekonzentration zur Folge hatte.

Zusammenfassung

Die Zusammensetzung und die Leistung der an anaeroben Abbauvorgängen beteiligten mikrobiellen Biozönose hängt stark von der Betriebstemperatur, der Charakteristik des Substrats, der Substratkonzentration im Reaktor, der Versorgung mit Spurenelementen sowie dem Vorkommen von hemmenden und toxischen Stoffen ab (Rosenwinkel, 2015). So sind viele methanogene Mikroorganismen z.B. sehr empfindlich gegenüber Veränderungen des pH-Werts (Garritty, 2001). Weitere wichtige Einflussfaktoren auf die methanogenen Mikroorganismen sind die Konzentrationen an Ammonium bzw. Ammoniak und Essigsäure im Reaktor, siehe oben. Innerhalb von Biofilmen und Granules, die in Anaerobfiltern bzw. in UASB-Reaktoren vorhanden sind, kann die Zusammensetzung der mikrobiellen Population auf Gattungsebene variieren (Bergmann, 2015). Aus diesen Gründen sind pauschale Aussagen zur mikrobiellen Biozönose, die sich in Systemen zum anaeroben Abbau organischer Masse ausbilden kann, schwer möglich. Hier traten in der flüssigen Phase der Versuchsreaktoren und im Biofilm auf den Aufwuchsträgern vor allem methanogene Mikroorganismen der Familie Methanosaetaceae auf, da sie durch entsprechende Konzentrationen an Ammoniak und Essigsäure gefördert wurden.

Die Entwicklung einer bestimmten mikrobiellen Biozönose im Reaktorsystem wird darüber hinaus bereits dadurch definiert, welche Mikroorganismen in das System eingebracht werden. Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen waren Methanosaetaceae innerhalb der Archaeen bereits im verwendeten Inokulum dominant. Da während der Versuchsphasen 1 bis 3 des CSTR-Versuchs offensichtlich gute Lebensbedingungen für Methanosaetaceae vorlagen, konnte sich diese Familie gut im Reaktor etablieren.

4.1.2.4 Struktur des Biofilms

Struktur des Biofilms in Abhängigkeit von verschiedenen Einflussfaktoren

Neben dem Vorkommen der Mikroorganismen im Biofilm, siehe Abschnitt 4.1.2.1, wurde auch die Struktur des Biofilms stark von der hydraulischen Verweilzeit beeinflusst. Vor Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit wiesen die besiedelten Aufwuchsträger TS- und oTS-Gehalte in Höhe von 33,81 % FM bzw. 9,88 % TS auf (ermittelt zum Ende der Versuchsphase 3 des CSTR-Versuchs). Diese Werte waren im vorherigen Versuchsverlauf ähnlich. Die Variation der Versuchsbedingungen innerhalb der Versuchsphasen 2 bis 3 stellte nur einen geringen Einfluss auf die Biofilmbildung dar. Die Mikroorganismenpopulation im Biofilm war innerhalb dieses Zeitraumes relativ konstant, siehe Abschnitt 3.2.3.2, die Menge an organischer Masse auf den Aufwuchsträgern stieg linear an, allerdings sehr langsam, siehe Abschnitt 3.2.3.1. Diese Ergebnisse entsprechen dem von Bergmann und Klocke (Bergmann, 2015) erläuterten Zusammenhang: nachdem sich mit dem Erreichen des Reifungsprozesses die Biofilmgröße nur noch geringfügig ändert, die Anlagerungs- und Abtragungsprozesse sind im Gleichgewicht.

Die hydraulische Verweilzeit stellte sich dagegen als sehr starker Einfluss auf die Biofilmbildung heraus. Zum Ende der Versuchsphase 4 wurden nach Reduzierung der mittleren hydraulischen Verweilzeit auf ca. 4,7 d TS- und oTS-Gehalte in Höhe von 17,00 % FM bzw. 36,54 % TS ermittelt. Demzufolge kam es zu einer starken Einlagerung von Wasser im Biofilm. Die Zunahme des oTS-Gehalts (bezogen auf die Trockensubstanz der besiedelten Aufwuchsträger) ist gleichbedeutend mit einem verstärkten Vorkommen von Mikroorganismen, EPS und Substrat auf den Oberflächen der Aufwuchsträger. Der Biofilm reagierte auf die Verkürzung der hydraulischen Verweilzeit mit einer Zunahme seines Volumens, in diesem Volumen fanden mehr Mikroorganismen und Substrat Platz. Diese Annahme wird durch die starke Zunahme der Mikroorganismenpopulation im Biofilm, die nach Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit erkennbar war, siehe Abschnitt 4.1.2.1, und mikroskopischen Aufnahmen des Biofilms, siehe Abschnitt 3.2.3.5, bestätigt werden. Anhand der mikroskopischen Aufnahmen war neben der Zunahme des Volumens des Biofilms auch die Ausbildung von fadenartigen Strukturen, die aus EPS und Mikroorganismen bestanden, deutlich erkennbar. *Methanosaeta* weisen eine Stäbchenform auf und sind in der Lage lange fadenartige Strukturen (Filamente) auszubilden, während *Methanosarcina* kokkenförmig sind und zu Agglomeraten zusammenklumpen (Rosenwinkel 2015). Die mit Hilfe der mikroskopischen Aufnahmen festgestellte Ausbildung von Filamenten bestätigt die in der qPCR-Analyse festgestellte Dominanz (acetoklastischer) *Methanosaeta* im Biofilm auf den Aufwuchsträgern, siehe Abschnitt 4.1.2.3. Methanosaetaceae siedeln sich bevorzugt auf

Oberflächen und in organischen Granules an (Zheng, 2006) (Fernandez, 2008) (Shao, 2011). Diese Lebensweise bietet Schutz gegenüber Veränderung der Umgebungsbedingungen und eine bessere Ausnutzung syntropher Wechselwirkungen, siehe Abschnitt 4.1.3.4. Das verstärkte Auftreten acetoklastischer Mikroorganismen auf Oberflächen wurde auch von Klocke et al. (Klocke 2008) und Rademacher et al. (Rademacher, 2012) beobachtet.

Einfluss der hydraulischen Verweilzeit

Verschiedene Gründe können für die beobachtete Reaktion des Biofilms auf die Verkürzung der hydraulischen Verweilzeit in Frage kommen. Durch die verstärkte Ausspülung wurden der TS-Gehalt und der oTS-Gehalt der flüssigen Phase gesenkt, siehe Tabelle A24 im Anhang. Die Reduzierung des oTS-Gehalts ist gleichbedeutend mit einer Verringerung der Nährstoffkonzentration im Reaktor, die Viskosität der flüssigen Phase nahm ebenfalls ab. Die beobachtete Ausbildung der Filamente durch *Methanosaeta* kann als Reaktion auf die geringeren Nährstoffkonzentrationen gewertet werden, da sich organische Bestandteile aus der flüssigen Phase in den Filamenten verfangen können und den Organismen im Biofilm dann zur Verfügung stehen. Aufgrund der verringerter Viskosität der flüssigen Phase wäre eine negative Wirkung auf die Biofilme zu erwarten gewesen. Die Bewegung der Aufwuchsträger im Reaktor aufgrund der Durchmischung des Reaktorinhalts sollte sich mit abnehmender Viskosität der flüssigen Phase intensivieren. Eine Intensivierung der Bewegung der Aufwuchsträger bedeutet eine Verstärkung der Wirkung von hydraulischen Kräften auf den Biofilm, die ein Abreißen des Biofilms zur Folge haben können. Außerdem kann eine verstärkte Reibung zwischen den Aufwuchsträgern untereinander sowie zwischen den Aufwuchsträgern und der Innenwand und den Einbauten des Reaktors auftreten. Die Reibung erzeugt Scherkräfte, die ebenfalls ein Ablösen des Biofilms zur Folge haben können. Negative Effekte in dieser Form konnten hier aber nicht beobachtet werden, es ist auch möglich, dass negative Effekte durch gegenläufige positive Effekte kompensiert wurden.

Zusammenfassung

Der beobachtete Zusammenhang zwischen der Biofilmbildung und der hydraulischen Verweilzeit ist als sehr positiv zu beurteilen. Die Aufwuchsträger konnten demnach ihre höchste Wirkung hinsichtlich der Immobilisierung von Mikroorganismen im Reaktor genau zum richtigen Zeitpunkt entfalten. Als aufgrund der geringen hydraulischen Verweilzeit in der flüssigen Phase die höchsten Verluste an Mikroorganismen auftraten, erreichte die Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf den Aufwuchsträgern ihr Maximum.

Der Zusammenhang zwischen der organischen Raumbelastung, der Strömungsgeschwindigkeit und der Turbulenz der Strömung hinsichtlich der Struktur, der Dicke und der Intensität des Biofilms ist sehr komplex (Evans, 2005). Eine detaillierte Klärung der Wirkung der unterschiedlichen Effekte, die hier durch die Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit bewirkt wurden, sowie eventuell bestehenden Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Effekten ist schwer möglich. Aus diesem Grund soll an dieser Stelle nur festgehalten werden, dass unter den gewählten Versuchsbedingungen ein sehr positiver Zusammenhang zwischen der Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit und der Intensität der Ausbildung des Biofilms auf den Aufwuchsträgern beobachtet werden konnte.

4.1.3 Beurteilung der Wirkung der Biozönose auf den Aufwuchsträgern in einem offenen System

4.1.3.1 Wirkung unter moderaten Betriebsbedingungen

Unter Betriebsbedingungen, die eine stabile und leistungsstarke Biozönose in der flüssigen Phase eines Systems ermöglichten, wurde durch den Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger kein Unterschied in Bezug auf die Leistung des Systems festgestellt. Die in der flüssigen Phase vorhandene Biozönose konnte die eingesetzten Substrate sehr schnell abbauen und zu Biogas umwandeln. So unterschieden sich die Methanausbeuten, die in den KTVA-Besiedlungsversuchen 2 bis 4 von Versuchsansätzen mit Aufwuchsträgern erreicht wurden, nicht von den Methanausbeuten der Kontrollen ohne Aufwuchsträger. Die Methanausbeuten lagen zum Ende der KTVA-Besiedlungsversuche 2; 3 und 4 bei 0,285 bis 0,371; 0,313 bis 0,334 bzw. 0,314 bis 0,362 Norm-L g_{OS}^{-1} , siehe Tabelle A10 bis A13 im Anhang. Beim CSTR-Versuch war die Methanausbeute zum Ende der Versuchsphasen 2 und 3 mit und ohne Aufwuchsträger fast gleich. Die Methanausbeute lag zum Ende der Versuchsphase 2 bei 0,384 und 0,375 Norm-L g_{OS}^{-1} für den Magnetreaktor bzw. den Kontrollreaktor, zum Ende der Versuchsphase 3 wurden Werte von 0,369 bzw. 0,357 Norm-L g_{OS}^{-1} erreicht. Die Methanbildungsraten waren dementsprechend ebenfalls sehr ähnlich. Sie lagen bei 1,546 bzw. 1,502 Norm-L $L^{-1} d^{-1}$ für den Magnetreaktor bzw. den Kontrollreaktor am Ende der Versuchsphase 2 (bei einer Raumbelastung in Höhe von 4,02 bzw. 4,00 $g_{OS} L^{-1} d^{-1}$) und bei 2,938 bzw. 2,821 Norm-L $L^{-1} d^{-1}$ am Ende der Versuchsphase 3 (bei einer Raumbelastung in Höhe von 7,97 bzw. 7,90 $g_{OS} L^{-1} d^{-1}$).

Diese Methanbildungsleistung ist üblich für die mesophile Vergärung von Zuckerrübensilage in Rührkesselreaktoren. So erreichten Demirel und Scherer (Demirel, 2008) bei der

Monovergärung von Zuckerrübensilage in einem Rührkesselreaktor eine Methanbildungsrate in Höhe von $1,80 \text{ L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und eine Methanausbeute in Höhe von $0,454 \text{ L (g VS)}^{-1}$ bei einer Raumbelastung und einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von $3,968 \text{ g VS L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bzw. 25 d. Bei der mesophilen Monovergärung von Gehaltsrübensilage stellten Linke und Mähnert (Linke, 2005) bei einer Raumbelastung von $3,0 \text{ g oS L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ eine Biogasausbeute in Höhe von $0,850 \text{ L g}_{\text{oS}}^{-1}$ bei einem Methangehalt von $55,5 \pm 2,2 \%$ fest, die Methanausbeute betrug demnach $0,453$ bis $0,491 \text{ L g}_{\text{oS}}^{-1}$. Von der FNR (FNR, 2013) werden Werte in Höhe von $0,340$ bis $0,372 \text{ Norm-L g}_{\text{oTS}}^{-1}$ bzw. $0,332$ bis $0,364 \text{ Norm-L g}_{\text{oTS}}^{-1}$ für die Methanausbeute bei der Vergärung von Zuckerrüben bzw. Futterrüben angegeben. Langer et al. (Langer 2015) konnten bei der Vergärung einer Mischung aus Maissilage und Zuckerrübensilage in einem CSTR bei mesophiler Temperatur Methankonzentrationen im Biogas und Methanausbeuten in Höhe von $52,8$ bis $68,2 \%$ bzw. $0,383$ bis $0,544 \text{ Norm-L g}_{\text{oS}}^{-1}$ feststellen, die Raumbelastung wurde immer auf $1,25 \text{ g}_{\text{oS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ eingestellt. Die geringste Reaktorleistung trat bei einem Maissilage/Zuckerrübensilage-Verhältnis in Höhe von 6:1 (bezogen auf die oTS) auf, die höchste Reaktorleistung wurde bei einem Verhältnis von 1:3 beobachtet. Die Population der Archaeen wurde durch das Maissilage/Zuckerrübensilage-Verhältnis des Substrats stark beeinflusst, siehe Abschnitt 4.1.2.3. Bei der mesophilen Vergärung von Maissilage bzw. Zuckerrübensilage in einem CSTR konnten Klang et al. (Klang, 2015) Methanausbeuten in Höhe von $0,316$ bis $0,337$ bzw. $0,356$ bis $0,367 \text{ Norm-L g}_{\text{oS}}^{-1}$ erreichen, der Methangehalt im Biogas betrug dabei 51 bzw. 54% .

4.1.3.2 Wirkung in Stresssituationen

Die positive Wirkung der magnetisierbaren Aufwuchsträger trat klar hervor, wenn die mikrobielle Biozönose in der flüssigen Phase eines Systems geschwächt war. Die Rückhaltung von mikrobieller Biomasse führte zu einer deutlichen Optimierung der Konversion des Substrats zu Biogas.

Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit

Beim CSTR-Versuch führten die Reduzierung der mittleren hydraulischen Verweilzeit auf $8,48 \text{ d}$ und die damit verbundenen Verluste an Mikroorganismen in der flüssigen Phase des Reaktors zu einem vollständigen Zusammenbruch der Leistung des Kontrollreaktors, der keine Aufwuchsträger enthielt. Bis zu seinem Zusammenbruch wies der Kontrollreaktor die gleiche Leistung wie der Magnetreaktor auf, Methanausbeute und Methanbildungsrate lagen zu diesem Zeitpunkt bei $0,355$ bzw. $0,357 \text{ Norm-L g}_{\text{oS}}^{-1}$ und $2,678$ bzw. $2,671 \text{ Norm-L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ beim Magnetreaktor und beim Kontrollreaktor. Der Magnetreaktor zeigte im Gegensatz zum Kontrollreaktor keine Leistungsabnahme und konnte auch nach einer weiteren Reduzierung der mittleren hydraulischen Verweilzeit auf $4,65 \text{ d}$ ohne Einschränkungen betrieben werden.

Zum Ende von Versuchsphase 4 des CSTR-Versuchs erreichte der Magnetreaktor eine Methanausbeute und eine Methanbildungsrate in Höhe von 0,344 Norm-L g_{os}⁻¹ und 2,208 Norm-L L⁻¹ d⁻¹. Üblicherweise werden Rührkesselreaktoren bei hydraulischen Verweilzeiten in Höhe von 15 bis 25 d betrieben. Als Orientierung zur Auswahl der geeigneten hydraulischen Verweilzeit dient die Wachstumsrate der im Reaktor vorkommenden Mikroorganismen. Die hydraulische Verweilzeit darf den Kehrwert der Wachstumsrate nicht unterschreiten, um die Mikroorganismen im Reaktor zu halten. In der Anaerobtechnik dient *Methanosaeta* in der Regel als Referenz, da die maximale Wachstumsrate dieser Organismen mit 0,1 d⁻¹ sehr gering ist. Unter Berücksichtigung eines Anreicherungsfaktors in Höhe von 1,6 ergibt sich eine minimale hydraulische Verweilzeit von 16 d, um den Rückhalt einer funktionsfähigen mikrobiellen Biozönose sicher zu gewährleisten. (Bischofsberger, 2005) Anaerobe Reaktortypen, die über Verfahren zur Biomasserückhaltung verfügen durch die eine Entkopplung der Aufenthaltszeit der Mikroorganismen von der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors ermöglicht wird, weisen dagegen oft hydraulische Verweilzeiten von unter 1 d auf (Bischofsberger, 2005).

Variation der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase und der Konzentration der Aufwuchsträger im System

In den KTVA-Leistungsversuchen, bei denen durch Verdünnung eine gezielte Reduzierung der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase erreicht wurde, waren vor allem Unterschiede hinsichtlich der Abbaugeschwindigkeit erkennbar, siehe Tabelle A18 und A19 im Anhang. Ein positiver Effekt durch den Eintrag einer bestimmten Menge an besiedelten Aufwuchsträgern (in diesem Fall 6 Massen-%) war beim KTVA-Leistungsversuch 1 erst bei einer 1:1 Verdünnung der flüssigen Phase des Systems mit Leitungswasser erkennbar. Der Zeitbedarf bis 50 % der maximal erreichten Methanbildung vorlagen konnte in diesem Fall im Vergleich zur Kontrolle ohne Aufwuchsträger von 2,55 auf 0,48 Tage reduziert werden. Bei unverdünnter flüssiger Phase bewirkte der Einsatz der Aufwuchsträger dagegen eine Erhöhung des Zeitbedarfs von 0,55 auf 0,68 Tage. Aus KTVA-Leistungsversuch 2 ging hervor, dass eine positive Wirkung nicht unbedingt von der Menge der eingebrachten besiedelten Aufwuchsträger abhängt. Bereits ab einer Aufwuchsträgerkonzentration in Höhe von 2 Massen-% traten Leistungen auf, die mit Aufwuchsträgerkonzentrationen von 4 bzw. 6 Massen-% vergleichbar oder höher waren. Im Laufe des Versuchs wurde die positive Wirkung der Aufwuchsträger allerdings immer geringer, bis hin zu einer Verschlechterung gegenüber den Kontrollen ohne Aufwuchsträger. So wurde der Zeitbedarf bis 50 % der maximal erreichten Methanbildung vorlagen durch eine Aufwuchsträgerkonzentration von 2 Massen-% im Vergleich zur Kontrolle zunächst von 1,34 auf 0,41 Tage reduziert. Zum Ende

des Versuchs war der entsprechende Zeitbedarf mit und ohne Aufwuchsträger fast gleich, er lag bei 0,79 bzw. 0,83 Tagen.

Vollständiger Verlust der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase

Ein Extremfall stellt der vollständige Verlust der mikrobiellen Biozönose in der flüssigen Phase des Systems dar. Dieser Extremfall wurde in KTVA-Leistungsversuch 2 und beim Neustart des Kontrollreaktors in Versuchsphase 5 des CSTR-Versuchs simuliert. Die flüssige Phase bestand in beiden Fällen vollständig aus Leitungswasser, das vernachlässigbare Konzentrationen an Mikroorganismen enthielt. Zur flüssigen Phase wurden besiedelte Aufwuchsträger gegeben. Im System befand sich demnach nur die auf den Aufwuchsträgern immobilisierte mikrobielle Biozönose. In beiden Fällen zeigten die Systeme Leistungen, die unter vergleichbaren Versuchsbedingungen mit einer starken mikrobiellen Biozönose in der flüssigen Phase des Systems erreicht wurden, siehe Abschnitt 4.1.3.1. Im KTVA-Leistungsversuch 2 wurde eine Methanausbeute von $0,358 \text{ Norm-L g}_{\text{OS}}^{-1}$ erreicht. Der neu gestartete Kontrollreaktor wies im Mittel in Versuchsphase 5 eine Methanausbeute in Höhe von $0,378 \text{ Norm-L g}_{\text{OS}}^{-1}$ und eine Methanbildungsrate in Höhe von $1,387 \text{ Norm-L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ auf, bei einer Raumbelastung und einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von $3,66 \text{ g}_{\text{OS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bzw. 49,5 d.

Die Biozönose, die sich im Biofilm auf den Aufwuchsträgern ausgebildet hatte, war demnach autark, d.h. sie war unabhängig von der Biozönose in der umgebenden flüssigen Phase uneingeschränkt lebensfähig.

Zusammenfassung

Mit den Ergebnissen dieser Arbeit sind positive Effekte der untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger auf die Leistung von Systemen zur Vergärung organischer Stoffe eindeutig nachweisbar. Es war möglich, die mittlere hydraulische Verweilzeit eines Rührkesselreaktors im laufenden Betrieb auf 4,65 d zu reduzieren und eine leistungsstarke autarke mikrobielle Biozönose auf den magnetisierbaren Aufwuchsträgern zu immobilisieren und durch Eintrag der Aufwuchsträger in andere Systeme zu überführen. Die hohe Bedeutung dieser Ergebnisse für einen praktischen Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger wird in Abschnitt 4.1.4.3 ausführlich diskutiert.

Konkrete Aussagen zur Menge besiedelter Aufwuchsträger die nötig ist, um eine bestimmte Leistung des Systems zu erzielen, sind anhand der gewonnenen Ergebnisse dagegen nicht möglich. Um diesen Zusammenhang vorherzusagen, müssten die Anzahl der im Biofilm vertretenen Mikroorganismen und die Effizienz der gebildeten Biozönose bekannt sein. Die Ermittlung dieser Daten ist nicht trivial. Zum einen sind anhand der qPCR-Ergebnisse kaum

Rückschlüsse auf die Anzahl der detektierten Mikroorganismen zu treffen außerdem ist ein großer Teil der vorhandenen Mikroorganismenarten nicht identifizierbar, siehe auch Abschnitt 4.1.5.1. Die Effizienz einer mikrobiellen Biozönose ist aufgrund des sehr komplexen Zusammenspiels verschiedener am anaeroben Abbau beteiligter Mikroorganismen und die Vielzahl der Einflüsse auf die Aktivität der Mikroorganismen, siehe Abschnitt 1.4.1.1, schwer möglich. Die detaillierte Untersuchung der Leistungsgrenze der auf den magnetisierbaren Aufwuchsträgern immobilisierbaren Biozönose sollte Gegenstand weiterführender Forschungsarbeiten sein.

4.1.3.3 Reduzierung der Anlaufzeit

Mit dem Neustart des Kontrollreaktors in Versuchsphase 5 des CSTR-Versuchs konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, einen Reaktor ohne Anlaufzeit in Betrieb zu nehmen. Die Leistung des neu gestarteten Reaktors (Methanausbeute in Höhe von $0,378 \text{ Norm-L g}_{\text{os}}^{-1}$ und Methanbildungsrate in Höhe von $1,387 \text{ Norm-L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei einer Raumbelastung von $3,66 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) war vergleichbar mit der Leistung, die der Magnetreaktor ab einer Laufzeit von 242 Tagen aufwies: Methanausbeute und Methanbildungsrate lagen im Durchschnitt bei $0,379 \text{ Norm-L g}_{\text{os}}^{-1}$ bzw. $1,503 \text{ Norm-L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei einer konstanten Raumbelastung von $3,97 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Die Reduzierung der Anlaufzeit ist beim praktischen Einsatz anaerober Reaktoren zur Biogasproduktion von hoher Bedeutung. Die Anlaufphase ist oft langwierig und mit Komplikationen verbunden und deshalb sehr anspruchsvoll. Durch den Eintrag geeigneter Starterkulturen kann die Ausbildung einer stabilen Mikroorganismenpopulation im Reaktor während der Anlaufphase wesentlich beschleunigt werden. Mit Hilfe besiedelter magnetisierbarer Aufwuchsträger war der Eintrag einer autarken und gut an bestimmte Bedingungen angepassten anaeroben mikrobiellen Biozönose möglich, siehe Abschnitt 4.1.3.2. Der Effekt der durch die magnetisierbaren Aufwuchsträger erreicht wurde, ist vergleichbar mit anderen Strategien, die zur Verkürzung der Anlaufphase in der Praxis angewendet werden. Insbesondere ist in diesem Zusammenhang die hohe Effizienz des Eintrags von Granules aus UASB-Reaktoren zu erwähnen. Dieses Vorgehen ist durchaus mit dem Eintrag besiedelter magnetisierbarer Aufwuchsträger vergleichbar. Eine detaillierte Betrachtung der Bedeutung einer Reduzierung der Anlaufzeit für die Praxis erfolgt in Abschnitt 4.1.4.3.

4.1.3.4 Anteil und Art der immobilisierten Mikroorganismen in Bezug zur Gesamtpopulation im Reaktor

Bilanzierung der Mikroorganismenpopulation im Reaktor

Eine Bilanzierung des Gesamtvorkommens an Mikroorganismen im Reaktor erfolgte basierend auf der Summe aus der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase und der Mikroorganismenpopulation auf den Aufwuchsträgern. Die Mikroorganismen auf den Aufwuchsträgern stellten am Gesamtvorkommen der Bakterien im Reaktor nur einen vergleichsweise geringen Teil dar. Hinsichtlich der Archaeen im Reaktor war der Anteil der Mikroorganismen auf den Aufwuchsträgern dagegen sehr hoch. Zum Ende der Versuchsphase 4 des CSTR-Versuchs befand sich die Population an Bakterien im Magnetreaktor zu 7,6 % auf den Aufwuchsträgern, bei den Archaeen waren es 79,6 %.

Zu diesem Zeitpunkt betrug das Nutzvolumen des Reaktors 45,87 Liter. In diesem Volumen waren 2,04 kg besiedelte magnetisierbare Aufwuchsträger enthalten. Die Masse der im Reaktor enthaltenen Aufwuchsträger wurde mit Hilfe des zum Ende des Versuchs ermittelten Rückhaltegrades, siehe Abschnitt 3.2.4, berechnet. An Versuchstag 56 der Versuchsphase 4 betrug die Dichte der besiedelten Aufwuchsträger $1,296 \text{ g cm}^{-3}$. Unter der Annahme, dass die Dichte zum Ende von Versuchsphase 4 ähnlich hoch war, nahmen die besiedelten Aufwuchsträger 3,4 % des Nutzvolumens des Reaktors ein.

Probleme der Förderung bestimmter Mikroorganismen im Reaktorsystem

Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen wurde durch den Eintrag bzw. den Rückhalt einer an bestimmte Bedingungen angepassten mikrobiellen Biozönose ein sehr positiver Effekt erzielt. Diese Biozönose wies einen hohen Anteil an Archaeen auf. Ein vergleichbarer Zusammenhang zwischen der erreichbaren Reaktorleistung und der mikrobiellen Biozönose im Reaktor wird in der Abwasseraufbereitung bei der Reduzierung von Ammonium genutzt. Das Verhältnis zwischen anaeroben ammoniumoxidierenden Bakterien (AOB) zu aeroben Nitritoxidierern (NOB) beeinflusst die Abbauleistung stark. Die Wachstumsgeschwindigkeit der langsamer wachsenden AOB bestimmt den möglichen Durchsatz der Anlage. Eine Möglichkeit zur gezielten Rückhaltung der AOB bietet z.B. das ANAMMOX-Verfahren (Paques BV, Balk, Niederlande) bei dem die Bildung dichter, gut sedimentierbarer Granules, in denen sich AOB anreichern können, erreicht wird. Dadurch ist eine starke Erhöhung des maximalen Durchsatzes der Anlage möglich. (Rosenwinkel 2015, Anaerobtechnik)

Die Veränderung der an einem anaeroben Abbauprozess beteiligten Biozönose muss allerdings nicht immer positiv sein. An den einzelnen Stufen des anaeroben Abbauprozesses

sind viele sehr unterschiedliche Mikroorganismen beteiligt, siehe Abschnitt 1.4.1.1. Die Abbaugeschwindigkeit wird oft von einem geschwindigkeitsbestimmenden Schritt bestimmt. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der hier durchgeführten Versuche war die Methanogenese, da die eingesetzte Zuckerrübensilage ein sehr leicht hydrolysierbares Substrat darstellt (Kryvoruchko 2009). Bei schwerer hydrolysierbaren Substraten, z.B. cellulosehaltige Abwässer (Görner, 1999), kann die Hydrolyse der geschwindigkeitsbestimmende Schritt sein. An der Hydrolysestufe des anaeroben Abbauprozesses sind vor allem Bakterien der Ordnungen Firmicutes und Bacteroidetes beteiligt (Ziganshin, 2013). Firmicutes (Clostridia) spielen dabei eine wichtige Rolle beim Aufschluss komplexer Kohlenhydrate (Warnick, 2002). Im Fall der Hydrolyse als geschwindigkeitsbestimmenden Schritt hätte der verstärkte Rückhalt methanogener Mikroorganismen keinen positiven Effekt und der Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger wäre nutzlos. Ein ähnliches Problem kann in der Abwasserbehandlung bei der Nutzung zweistufiger Reaktorsysteme auftreten, wenn schwer hydrolysierbare Substrate eingesetzt werden. Die Trennung der Schritte des anaeroben Abbaus ist in diesem Fall mit keinen Vorteilen verbunden. (Görner, 1999)

Neben der Substratcharakteristik hängt das Vorkommen bestimmter Mikroorganismen stark von weiteren Faktoren ab, siehe Abschnitt 4.1.2.3. In diesem Zusammenhang muss berücksichtigt werden, dass verschiedene Mikroorganismenarten unterschiedlich gut auf Aufwuchsträgern immobilisierbar sein können, da sie entweder eine planktonische oder eine sessile Lebensweise bevorzugen oder Unterschiede bei der Produktion der als Gerüst des Biofilms dienenden extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) aufweisen, siehe Abschnitt 1.4.2.4.

Eintrag von Spezialkulturen

Eine dauerhafte gezielte Veränderung der Mikroorganismenpopulation in einem System kann vorteilhaft sein, wenn die resultierende Biozönose speziell an die gewünschte Anwendung, z.B. die Biogasproduktion, angepasst ist. In der Regel ist die Beeinflussung der Leistung einer Anlage durch den Eintrag von Spezialkulturen allerdings nicht dauerhaft (Kämpfer, 2001). So wurden z.B. von Kovacs et al. (Kovacs, 2013) Versuche zur direkten Effizienzsteigerung von Biogasanlagen durchgeführt. Dabei stellte sich die ursprüngliche Mikroorganismenpopulation im System nach kurzer Zeit immer wieder ein, obwohl sehr große Mengen an bestimmten Mikroorganismen eingebracht wurden.

Die Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf den magnetisierbaren Aufwuchsträgern entsprach hinsichtlich des Anteils der Archaeen nicht der flüssigen Phase. Der Anteil der Archaeen war bei den Aufwuchsträgern mit 59,2 % der Gesamtpopulation

(Archaeen und Bakterien) deutlich höher als in der flüssigen Phase mit 1,5 % der Gesamtpopulation. Diese Beobachtung lässt die Vermutung zu, dass es mit Hilfe der Aufwuchsträger möglich sein könnte, eine bestimmte mikrobielle Biozönose im System zu erhalten, die sich ansonsten nicht etablieren würde. In diesem Fall könnte eine an bestimmte Bedingungen angepasste Biozönose in speziellen Kultivierungsreaktoren auf den Aufwuchsträgern angezüchtet werden. Diese Biozönose könnte anschließend durch Eintrag der besiedelten Aufwuchsträger in anderen Systemen dauerhaft etabliert werden, unter Umständen auch wenn diese Reaktoren andere Betriebsbedingungen aufweisen als die ursprünglichen Kultivierungsreaktoren. Diese Anwendung ist allerdings spekulativ und müsste in weiterführenden Untersuchungen hinsichtlich ihrer Realisierung geprüft werden.

Zusammenfassung

Die Möglichkeit der Aufzucht einer bestimmten mikrobiellen Biozönose auf magnetisierbaren Aufwuchsträgern und der dauerhafte Eintrag dieser Biozönose in ein offenes System konnten im Rahmen dieser Arbeit gezeigt werden. Hinsichtlich der Archaeen scheint auch eine selektive Förderung bestimmter Organismen möglich zu sein. Die Mikroorganismenpopulation auf den Aufwuchsträgern stellte bis zu 7,6 % der Bakterien und bis zu 79,6 % der Archaeen im Rührkesselreaktor dar, dabei nahmen die besiedelten Aufwuchsträger 3,4 % des Nutzvolumens ein. Inwieweit eine noch stärkere Individualisierung der auf den Aufwuchsträgern immobilisierten Biozönose in Form einer gezielten Förderung bestimmter Mikroorganismenarten im Biofilm möglich ist, muss in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden. Denkbar wäre dies z.B. durch eine Modifikation der magnetisierbaren Aufwuchsträger, siehe Abschnitt 4.1.1.2.

Der sehr positive Effekt der bei den durchgeführten Versuchen durch den Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger bewirkt wurde, siehe Abschnitt 4.1.3.2, ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf das verstärkte Vorkommen von *Methanosaeta* im Biofilm zurückzuführen. Der intensive Biofilm, der von *Methanosaeta* auf den Aufwuchsträgern ausgebildet wurde, stellte anscheinend eine gute Basis für weitere am Abbauprozess beteiligte Mikroorganismen dar. So kam es zur Ausbildung einer leistungsstarken und vor allem autarken anaeroben Biozönose im Biofilm, siehe Abschnitt 4.1.4.1. Das Leben in einem Biofilm ist sehr vorteilhaft für die symbiotischen Beziehungen zwischen den am anaeroben Abbauprozess beteiligten Mikroorganismen. Aufgrund der räumlichen Nähe kann z.B. ein effektives Zusammenspiel zwischen Bakterien, die Fettsäuren zu Essigsäure abbauen, und acetoklastischen Archaeen stattfinden. Außerdem kann es zur Ausbildung von Mikrohabitaten kommen, in denen chemische Bedingungen vorherrschen, die für bestimmte Mikroorganismen vorteilhaft sind. (Rosenwinkel, 2015) (Bergmann, 2015) Ob sich eine

ähnliche Mikroorganismenbilanz und vergleichbare positive Effekte beim Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger auch unter anderen Betriebsbedingungen entwickeln, z.B. wenn *Methanosaeta* nicht auftritt, sollte in weiterführenden Untersuchungen geprüft werden.

4.1.4 Praktische Anwendung magnetisierbarer Aufwuchsträger

In Abschnitt 1.4.3.2 wurden die grundlegenden Schritte definiert, die zur Realisierung einer magnetischen Biomasserückhaltung mit Hilfe magnetisierbarer Aufwuchsträger notwendig sind:

- **Immobilisierung von Mikroorganismen auf den Aufwuchsträgern**
- **Separation der Aufwuchsträger aus einem flüssigen Medium**

Die Eignung der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger hinsichtlich dieser Schritte wird im Folgenden diskutiert.

4.1.4.1 Immobilisierung von Mikroorganismen

Die Ansiedlung einer leistungsstarken autarken methanogenen Mikroorganismenpopulation ist auf den Oberflächen der magnetisierbaren Aufwuchsträger gut möglich, siehe Abschnitt 4.1.3.2. Es konnte gezeigt werden, dass die neu entwickelten Aufwuchsträgermuster eine viel intensivere Biofilmbildung ermöglichen, als das erste Muster dieser Art, das Vorserienmuster „VOR“, siehe Abschnitt 4.1.1. Das Vorserienmuster war die Grundlage für die Entwicklung der hier verwendeten neuen Muster, siehe Abschnitt 2.1.2.1. Es wurde in einer früheren Arbeit auf seinen Nutzen bei der Biogasproduktion in einem Rührkesselreaktor (CSTR) erprobt (Ramm, 2014).

Entkopplung der Aufenthaltszeit der Mikroorganismen von der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors

Der Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger erlaubte eine weitestgehende Entkopplung der in einem Reaktor vorhandenen Mikroorganismenpopulation von der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors. Darüber hinaus konnte eine vollkommene Unabhängigkeit der Leistungsfähigkeit eines Rührkesselreaktors von der vorhandenen Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase des Reaktors erreicht werden, siehe Abschnitt 4.1.3.2.

Die Entkopplung der Aufenthaltszeit der Mikroorganismen von der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors und die damit verbundene Möglichkeit der Verwendung viel dünnflüssigerer Substrate sind von großer Bedeutung für die Praxis. Dadurch ist zum einen eine **Anwendung des CSTR in der Abwasserbehandlung** möglich und zum anderen kann eine schnelle **Reaktion auf das geänderte Gesetz für den Ausbau erneuerbarer Energien (EEG, 2014)**, das den verstärkten Einsatz von Gülle als Substrat fördern soll, erfolgen. Diese beiden Möglichkeiten werden in Abschnitt 4.1.4.3 beschrieben.

Bis zu seinem Zusammenbruch in Versuchsphase 4-2 des CSTR-Versuchs wurde der Kontrollreaktor ohne Aufwuchsträger mit einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von 8,5 d betrieben. Der Magnetreaktor konnte in der anschließenden Versuchsphase 4-3 problemlos mit einer hydraulischen Verweilzeit betrieben werden, die im Mittel mit 4,7 d weit darunter lag, siehe Abschnitt 4.2.3.2 bzw. Tabelle A23 im Anhang. Praktisch belegt werden konnte demnach, dass der Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger beim Magnetreaktor eine Verkürzung der mittleren hydraulischen Verweilzeit von 8,5 auf 4,7 d ermöglichte, dies entspricht einer Reduzierung um 45 %. Zum Ende der Versuchsphase 4-3 wurden täglich 1689,8 g Zuckerrübensilage und 8000 g Leitungswasser in den Magnetreaktor gegeben, siehe Abschnitt 2.2.1. Die Gesamtzugabe lag demnach bei 9689,8 g d⁻¹. Die Zuckerrübensilage wies einen korrigierten TS-Gehalt in Höhe von 20,64 % FM auf, der oTS-Gehalt lag bei 83,67 % TS, siehe Tab. A1a im Anhang, daraus ergibt sich ein auf die Frischmasse bezogener oTS-Gehalt in Höhe von 17,27 % FM. Für die tägliche Gesamtzugabe der Mischung aus Zuckerrübensilage und Leitungswasser lässt sich ein oTS-Gehalt in Höhe von 3,01 % FM berechnen, da der oTS-Gehalt des Leitungswassers als Null angenommen werden kann. Demnach konnte der oTS-Gehalt des Substrats um 82 % reduziert werden. Durch die Wasserzugabe wurde weiterhin die Möglichkeit der Erhöhung des Zugabevolumenstroms von 689,8 auf 9689,8 ml d⁻¹ gezeigt, unter der Annahme einer Dichte von 1 kg L⁻¹ entspricht das einer Steigerung des Zugabevolumenstroms um 473 %. Trotz der starken Verdünnung des Substrats beim Magnetreaktor musste die tägliche oTS-Zugabe in den Reaktor nicht reduziert werden.

Durch den Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger ist demnach theoretisch der Einsatz weit dünnflüssigerer Substrate bei gleichbleibender Raumbelastung möglich. Der verringerte oTS-Gehalt im Substrat konnte durch Erhöhung des Zugabevolumenstroms kompensiert werden, um die gleiche oTS-Zufuhr in den Reaktor zu erreichen. Wenn beim Einsatz der Aufwuchsträger als Ziel nicht die Verwendung eines anderen Substrats mit geringerem oTS-Gehalt verfolgt wird, kann bei Verwendung des gleichen Substrats durch die Erhöhung des Zugabevolumenstroms alternativ auch eine Erhöhung der oTS-Zufuhr bzw.

der Raumbelastung angestrebt werden. Dieser Rückschluss sollte allerdings unter großem Vorbehalt betrachtet werden, da im Rahmen dieser Arbeit nur die Reduzierung der Verweilzeit bei gleichbleibender oTS-Zufuhr in den Reaktor betrachtet wurde. Eine Reduzierung der Verweilzeit in Kombination mit Erhöhung der oTS-Zufuhr bzw. der Raumbelastung stellt eine zusätzliche hohe Belastung des Reaktors dar, die zu einem vorzeitigen Erliegen des biologischen Prozesses führen könnte.

Eintrag einer leistungsfähigen autarken mikrobiellen Biozönose

Der Anteil den die auf den Aufwuchsträgern immobilisierten Mikroorganismen an der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) im Reaktor ausmachten stieg im Verlauf des CSTR-Versuchs innerhalb der Versuchsphasen 2 bis 4 auf bis zu 7,6 %. Die Population der Archaeen befand sich dabei mit einem Anteil von bis zu 79,6 % auf den Aufwuchsträgern, siehe Abschnitt 4.1.3.4. Beim Neustart des Kontrollreaktors in Versuchsphase 5 des CSTR-Versuchs befanden sich nur in den Biofilmen auf den eingesetzten besiedelten Aufwuchsträgern Mikroorganismen, die Mikroorganismenpopulation im als flüssige Phase verwendeten Leitungswasser kann vernachlässigt werden. Die auf den Aufwuchsträgern immobilisierten Mikroorganismen stellten demnach zu diesem Zeitpunkt 100 % der mikrobiellen Biozönose im System dar. Der neu gestartete Reaktor wies vom Zeitpunkt seiner Inbetriebnahme an eine gute Methanbildungsleistung auf. Die auf den Aufwuchsträgern befindliche mikrobielle Biozönose war autark und leistungsfähig genug, um den anaeroben Abbau des zugeführten Substrats vollständig umzusetzen, siehe Abschnitt 4.1.3.2. Die Mikroorganismen auf den Aufwuchsträgern standen in intensivem Kontakt mit der flüssigen Phase des Reaktors. Das hatte zur Folge, dass sich bereits sieben Tage nach dem Neustart im Leitungswasser eine mikrobielle Biozönose ausgebildet hatte, die der Biozönose ähnelte, die zum Ende der Versuchsphase 4 in der flüssigen Phase des Magnetreaktors vorhanden war, siehe Abschnitt 3.2.2.3.

Zusammenfassung

Anhand der gewonnenen Ergebnisse können für die praktische Anwendung der magnetisierbaren Aufwuchsträger in einem CSTR zur Biogasproduktion aus dem Substrat Zuckerrübensilage die folgenden Rahmengrößen als sicher nachgewiesen angenommen werden: eine minimale hydraulische Verweilzeit in Höhe von 4,7 d und ein minimaler oTS-Gehalt im Substrat von 3,11 % FM bei einer Raumbelastung von $6,31 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Der Eintrag einer leistungsstarken mikrobiellen Biozönose in ein Reaktorsystem eröffnet Möglichkeiten für die praktische Anwendung, die ein hohes Potential aufweisen. Die **Reduzierung der Anlaufzeit** eines CSTR und die mögliche **Reaktion auf kritische**

Betriebszustände sind dabei am wichtigsten zu bewerten, diese beiden Anwendungsbeispiele werden in Abschnitt 4.1.4.3 erläutert.

4.1.4.2 Separation der Aufwuchsträger aus einem flüssigen Medium

Die Abtrennung der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger aus einer Flüssigkeit ist mit Hilfe magnetischer Kräfte gut möglich. Während des CSTR-Versuchs befanden sich die Aufwuchsträger 380 Tage im Magnetreaktor. Mit Hilfe einer einfachen manuellen Abtrenn- und Rückführungsprozedur konnten 37,7 % der eingesetzten Aufwuchsträger („Ref“) im Reaktor zurückgehalten werden. Für jeden einzelnen Separationsschritt ergab sich daraus ein rechnerischer Rückhaltegrad in Höhe von 95,7 %, siehe Abschnitt 3.2.4. Diese Werte sind deutlich höher als die Rückhaltegrade, die beim Einsatz des Vorserienmusters „VOR“ in einem CSTR erreicht werden konnten. Diese lagen bei 41 % über der gesamten Aufenthaltsdauer der Aufwuchsträger im Reaktor (203 Tage) bzw. bei 76,3 % für jeden einzelnen Separationsschritt. (Ramm, 2014)

Ein großtechnisch einsetzbares System zur Abtrennung und Rückführung von magnetisierbaren Aufwuchsträgern aus dem Ablauf eines Biogasreaktors wurde im Rahmen einer am ATB angefertigten Masterarbeit erprobt (Hopperdizel, 2014). Dieses System erlaubte in Abhängigkeit von der Viskosität der flüssigen Phase und der Aufwuchsträgerkonzentration in der flüssigen Phase Rückhaltegrade von ca. 90 bis 99,6 %. Bei einem einzigen Durchlauf konnten im erprobten System bezogen auf die Trockenmasse 415 g magnetisierbare Aufwuchsträger zurückgehalten werden, dabei handelte es sich um das Referenzmuster „Ref“ der neu entwickelten Aufwuchsträgermuster. Dieser Wert entspricht in etwa der Hälfte der Menge an Aufwuchsträgern, die im Rahmen dieser Arbeit in einen CSTR (Nutzvolumen 40 L) eingebracht wurden, um eine Aufwuchsträgerkonzentration von 2 Massen-% im Reaktor zu erreichen. Zur Rückspülung der Aufwuchsträger aus dem Separatorsystem waren 11 bis 15 L Flüssigkeit je 200 g separierter Aufwuchsträger notwendig (bezogen auf die Trockenmasse). Im Vergleich zur im Rahmen dieser Arbeit verwendeten einfachen manuellen Abtrenn- und Rückführungsprozedur ist der notwendige Aufwand zum Betrieb des von Hopperdizel (Hopperdizel, 2014) erprobten Systems weit geringer. Wichtig ist dabei vor allem, dass es die Möglichkeit einer vollständigen Automatisierung bietet.

Die maximal erreichten Rückhaltegrade der magnetisierbaren Aufwuchsträger sind mit 95,7 % (diese Arbeit) bzw. 99,6 % (Hopperdizel, 2014) je Separationsschritt sehr hoch. Trotzdem kam es aufgrund der hohen Volumendurchsätze innerhalb der Laufzeit des CSTR-Versuchs zu starken Verlusten an Aufwuchsträgern in Höhe von 62,3 %. Diese Verluste müssen bei der praktischen Anwendung unbedingt ausgeglichen werden, um die Konzentration an

Aufwuchsträgern im Reaktor konstant zu halten. Der Ausgleich der Verluste ist mit Kosten verbunden. Diese Kosten werden bei der ökonomischen Betrachtung des Einsatzes der Aufwuchsträger in der Biogasproduktion in Abschnitt 4.1.4.3 in einem **Rechenbeispiel für die praktische Umsetzung** berücksichtigt. Die Auslegung der zur Separation benötigten technischen Komponenten, Separator und Zulaufpumpe zum Separator, werden im Rechenbeispiel in Abschnitt 4.1.4.3 ebenfalls erläutert.

4.1.4.3 Nutzen der praktischen Anwendung magnetisierbarer Aufwuchsträger

Voraussetzungen

Der Nutzen einer Anwendung der untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger bei der Biogasproduktion in einem CSTR ist stark von den Eigenschaften des gewählten Substrats abhängig, siehe Abschnitt 4.1.3.4. Bei der Verwendung von nachwachsenden Rohstoffen (NawaRos) als Substrat können große Verluste an Mikroorganismen durch Ausspülung in der Regel ausgeschlossen werden, da im Substrat ein ausreichend hoher oTS-Gehalt vorliegt. Die Belastungsgrenze des Reaktors in Form der maximalen Raumbelastung ist schon weit vor dem Auftreten starker Verluste an Mikroorganismen durch Ausspülung erreicht, da das zugeführte Substratvolumen eine hohe Masse an Organik enthält. Die aufgrund der maximalen Raumbelastung zuführbaren Substratvolumina sind nicht hoch genug, um die hydraulische Verweilzeit unterhalb des kritischen Wertes zu bringen, der in der Praxis bei 16 Tagen liegt, siehe Abschnitt 4.1.3.2. Die Belastungsgrenze des Reaktors wird in diesem Fall durch die Höhe der Zufuhr an Organik bzw. der darin enthaltenen und daraus gebildeten Säuren bestimmt. Bei der im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Zuckerrübensilage, die zu den NawaRos zählt, würde der kritische Wert der hydraulischen Verweilzeit ab einer Raumbelastung in Höhe von ca. $12 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ unterschritten werden. Die durch einen Einsatz der Aufwuchsträger ermöglichte hydraulische Verweilzeit in Höhe von 4,65 Tagen würde sogar erst ab einer Raumbelastung in Höhe von ca. $38 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ auftreten. Das Erreichen einer Raumbelastung in dieser Größenordnung kann praktisch ausgeschlossen werden (Demirel, 2008). Erst bei der Verwendung von Substraten mit deutlich geringeren oTS-Gehalten, z.B. Gülle, kann durch den Einsatz von Aufwuchsträgern ein Nutzen erzielt werden. Die Belastungsgrenze des Reaktors wird in diesem Fall bereits bei einer vergleichsweise geringen Zufuhr an Organik bzw. bei geringen Raumbelastungen erreicht, da das hohe zugeführte Substratvolumen zu einer starken Ausspülung von Mikroorganismen führt. Eine Erhöhung der Raumbelastung bis in Größenordnungen wie bei der Biogasproduktion aus NawaRos wäre möglich, wenn Mikroorganismenverluste durch Ausspülung verhindert werden. Die Ergebnisse des Neustarts des Kontrollreaktors im Rahmen des CSTR-Versuchs lassen vermuten, dass durch den Einsatz besiedelter

magnetisierbarer Aufwuchsträger eine vollständige Entkopplung der Aufenthaltszeit der Mikroorganismen im Reaktor von der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors möglich ist. Die Verluste an Mikroorganismen aufgrund von Ausspülung lassen sich in diesem Fall stark verringern.

Eine Steigerung der Leistung eines Rührkesselreaktors, der zur Vergärung von Gülle eingesetzt wird, kann durch verschiedene Verfahren erreicht werden. Die Steigerung der Methanausbeute ist beispielsweise möglich, wenn zwei Reaktoren nacheinander in Reihe geschaltet werden (Boe, 2009). So konnte die erreichte Methanausbeute bei einer Aufteilung des Volumens der beiden Reaktoren im Verhältnis 80/20 bzw. 90/10 um 11 % gesteigert werden, die hydraulische Verweilzeit und die Raumbelastung lagen bei 15 d bzw. bei $3,6 \text{ g VS L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Weitere Ansätze zur Optimierung der Vergärung von Gülle in einem Rührkesselreaktor sind z.B. die Co-Vergärung, die Adsorption von Ammonium oder die Vorbehandlung des Substrats (Boe, 2009). Alle diese Verfahren dienen zur Erhöhung der möglichen Ausbeuten. Der Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger könnte dagegen eine Erhöhung des Durchsatzes und eine damit verbundene Erhöhung der Leistungsdichte des Reaktors bewirken.

Reduzierung der Anlaufphase

Die Anlaufphase, die nach der Inbetriebnahme notwendig ist, bis sich ein stabiles biologisches System in einem Biogasreaktor einstellt, ist in der Regel sehr lang und anspruchsvoll. Im Leitfaden Biogas (FNR, 2013) wird der Anfahrprozess einer Biogasanlage beschrieben. Die Länge der Anlaufphase hängt stark von der Beschaffenheit des verwendeten Inokulums ab. Je höher der Anteil an Gärresten aus anderen Biogasanlagen ist und je besser die Mikroorganismen an die Substrateigenschaften angepasst sind, umso kürzer ist die notwendige Anlaufphase. Auch die Art der Steigerung der Raumbelastung, z.B. in Form von Stoßbelastungen, kann die Anlaufphase wesentlich beeinflussen. So lag der Zeitbedarf, bis die gewünschte Leistung erreicht wurde, bei drei Fermentern zwischen 30 und 110 Tagen, je nachdem, wie hoch die Anteile an Gärresten und Rindergülle im eingesetzten Inokulum waren und woher die Gärreste stammten. Wenn die Biogasanlage die gewünschte Leistung zeigt, kann noch nicht von einem stabilen Zustand ausgegangen werden. Dieser wird erst nach einem Zeitraum von ca. drei Aufenthaltszeiten bzw. drei hydraulischen Verweilzeiten erreicht. Eine biologische Instabilität der Anlage infolge von Mangel an Spurenelementen kann nach 6 bis 12 Monaten auftreten. (FNR, 2013) Die Problematik der Inbetriebnahme einer Biogasanlage wurde auch anhand des im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten CSTR-Versuchs deutlich. Erst durch ein nachträgliches Animpfen der Reaktoren mit Rindergülle und eine Umstellung der Strategie der

Belastungssteigerung konnte ein stabiler Anlagenbetrieb innerhalb von 141 Tagen erreicht werden, siehe Abschnitt 2.2.3.1.

Mit den Ergebnissen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass ein vollständiger Verzicht der Anlaufphase eines Biogasreaktors durch den Einsatz mit Mikroorganismen besiedelter magnetisierbarer Aufwuchsträgern möglich ist. Die Aufwuchsträgerkonzentration lag in diesem Fall bei 0,62 Massen-% (bezogen auf die Trockenmasse der Aufwuchsträger). Dabei wurde mit einer Methanbildungsrate von $1,387 \text{ Norm-L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, einer Methanausbeute von $0,378 \text{ Norm-L g}_{\text{os}}^{-1}$ und einem Methangehalt von 52,6 % bei einer Raumbelastung von $3,66 \text{ g}_{\text{os}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von 49,5 d eine vergleichbare Reaktorleistung erzielt, wie nach einer Laufzeit von 242 Tage bzw. 8,6 Monaten, siehe Abschnitt 4.1.3.3. Durch eine mögliche Verkürzung der Anlaufphase ist das Erreichen der vollen Leistungsfähigkeit und damit der höchsten Wirtschaftlichkeit einer Biogasanlage viel schneller möglich. Zu diesem Zweck wäre eine Vorbesiedlung der Aufwuchsträger in speziellen Kultivierungsreaktoren denkbar.

Der Einsatz besiedelter magnetisierbarer Aufwuchsträger während der Anlaufphase eines CSTR, ist vergleichbar mit der in der Praxis bewährten Prozedur zur Inbetriebnahme von UASB- bzw. EGSB-Reaktoren. Die Funktionsweise von UASB- bzw. EGSB-Reaktoren beruht auf der Ausbildung selbstaggregierender makroskopischer Strukturen die aus organischer Masse bestehen, diese Strukturen werden Granules genannt. Die Ausbildung von Granules ist an bestimmte Betriebsbedingungen gebunden, die den Anwendungsbereich von UASB- und EGSB-Reaktoren einschränken (Rosenwinkel, 2015). Granules beinhalten sehr hohe Konzentrationen an Mikroorganismen in Form einer syntrophischen Lebensgemeinschaft aus fermentativen, acidogenen und acetogenen Bakterien sowie methanogenen Archaeen (Zhu, 1997) und können aufgrund ihrer guten Absetzeigenschaften relativ leicht separiert werden (Rosenwinkel, 2015). Durch den Eintrag von Granules, die anderen Anlagen entnommen wurden, kann die Anlaufzeit bei der Inbetriebnahme von UASB- bzw. EGSB-Reaktoren auf eine Woche verkürzt werden (Kämpfer, 2001).

Reaktion auf kritische Betriebszustände

Mit Hilfe besiedelter magnetisierbarer Aufwuchsträger kann die biologische Stabilisierung eines Rührkesselreaktors möglich sein. Ein Reaktor, der aufgrund ungeeigneter Betriebsbedingungen über eine geschwächte Biozönose verfügt, kann durch den Eintrag besiedelter Aufwuchsträgern mit ungeschädigten aktiven Mikroorganismen versorgt werden. Der herausragende Aspekt ist dabei, dass gleichzeitig eine Verdünnung bzw. eine Ausspülung eventuell im Reaktor vorhandener Hemmstoffe, z.B. hohe Konzentrationen organischer Säuren oder zu hohe Stickstoffkonzentrationen, erfolgen kann. Die

Mikroorganismen auf den Aufwuchsträgern können dabei einfach im Reaktor zurückgehalten werden. Die Kombination aus der Zufuhr ungeschädigter Mikroorganismen und dem Entfernen schädlicher Stoffe aus der flüssigen Phase des Reaktors könnte eine sehr effektive Strategie zur Stabilisierung eines Reaktors darstellen, der sich in einem kritischen biologischen Zustand befindet. Eine ähnliche Vorgehensweise wird bei UASB-Reaktoren erfolgreich praktiziert, wenn sich kritische Betriebszustände einstellen. Durch die Zugabe von Granules, die aus dem entnommenen Überschussschlamm gesammelt wurden, kann ein UASB-Reaktor gut stabilisiert werden (Rosenwinkel, 2015).

Anwendung des CSTR in der Abwasserbehandlung

Der CSTR wird in der Abwasserbehandlung nur in einem geringen Umfang eingesetzt. Aufgrund des begrenzten maximalen Volumendurchsatzes ist die anaerobe Behandlung großer Mengen an Abwasser mit einem CSTR nicht möglich. Deshalb wird der CSTR nur dann eingesetzt, wenn eine Trennung von Biomasse und Substrat unmöglich ist, z.B. bei der Schlammfäulung oder der anaeroben Behandlung stark feststoffhaltiger Substrate wie Gülle, Schlachthof- und Grünabfälle (Görner, 1999). Der weltweit am häufigsten gebaute Reaktortyp zur anaeroben Abwasserbehandlung ist der UASB-Reaktor. In letzter Zeit wird er ergänzt durch den EGSB-Reaktor, der eine Weiterentwicklung des UASB-Reaktors darstellt. (Rosenwinkel, 2015)

Im Rahmen dieser Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass durch den Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger in einem CSTR eine Erhöhung des Volumendurchsatzes um mindestens 473 % möglich ist, siehe Abschnitt 4.1.4.1. Der CSTR könnte dadurch an Relevanz für eine Verwendung in der Abwasserbehandlung gewinnen. Die Breite des Spektrums möglicher Techniken zur Abwasserbehandlung würde sich erweitern. Die in der Anaerobtechnik üblichen Reaktortypen, wie UASB, EGSB, AF, CSTR etc., weisen alle bestimmte Vor- und Nachteile auf bzw. sind an bestimmte Betriebsbedingungen gebunden. Biofilmbasierte Reaktoren wie der AF scheinen beispielsweise nur eine kurze Anlaufphase zu benötigen, gut zum Umsatz wechselnder Substratqualitäten geeignet zu sein und gute Ergebnisse bei hohen Belastungsraten zu erzielen (Bergmann, 2015). UASB-Reaktoren zeigen dagegen einen besseren Substratabbau bei herabgesetzten Verweilzeiten (Bergmann, 2015). Der größte Nachteil liegt beim AF in der hohen Verstopfungsgefahr, erste Anzeichen für eine Verstopfung können bereits nach sechs Monaten auftreten (Wang, 2010). UASB und EGSB Reaktoren weisen Empfindlichkeiten auf gegenüber Ca-Konzentrationen über 500 mg L⁻¹, die zu Carbonatausfällungen führen. Durch hohe Fettkonzentrationen wird die Ausbildung von Granules unterbunden oder Granules werden ausgeschwemmt. (Görner, 1999) Die Ausbildung von Granules ist auch nicht bei allen Abwässern möglich

(Rosenwinkel, 2015). Das Prinzip der UASB- und EGSB-Reaktoren scheint nur auf wässrige Substrate mit einem geringen Gehalt an organischen Substanzen anwendbar zu sein. Bei Substraten mit hohem Feststoffgehalt, z.B. NawaRos, ist dieses Prinzip nur möglich, wenn ein zweistufiges zweiphasiges Verfahren mit vorgeschalteter Hydrolyse verwendet wird. (Bergmann, 2015) Der große Nachteil des CSTR, der geringe Volumendurchsatz (Rosenwinkel, 2015), kann durch den Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger ausgeglichen werden. Der CSTR besitzt gegenüber UASB- und EGSB-Reaktoren und dem AF den Vorteil, dass mit diesem Reaktor die Vergärung feststoffhaltiger Substrate möglich ist, auch hohe Ca- und Fettkonzentrationen stellen beim CSTR in der Regel kein großes Problem dar. Durch den Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger wäre eine Kombination der Vorteile von UASB- bzw. EGSB-Reaktoren und dem CSTR möglich. Ein mit magnetisierbaren Aufwuchsträgern ausgestatteter CSTR könnte zum anaeroben Abbau eines breiten Spektrums sehr dünnflüssiger Substrate geeignet sein, auch wenn diese feste Störstoffe enthalten. Die Erprobung einer konkreten Anwendung in der Abwasserbehandlung sollte Gegenstand weiterführender Forschungsarbeiten sein.

Reaktion auf die Änderung des Gesetzes für den Ausbau Erneuerbarer Energien (EEG, 2014)

Die untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger stellen eine sehr aussichtsreiche Möglichkeit zum Erzielen hoher Leistungsdichten bei der Produktion von Biogas aus dünnflüssigen Substraten dar, siehe Abschnitt 4.1.4.1. Während des CSTR-Versuchs konnte beim Magnetreaktor bei gleich bleibender oTS-Zugabe in den Reaktor eine Verringerung des oTS-Gehalts des Substrats von 17,3 auf 3,01 % FM erfolgen. Die Raumbelastung verringerte sich dabei aufgrund der durchgeführten diskontinuierlichen Gärrestentnahme von 7,97 auf 6,42 g_{os} L⁻¹ d⁻¹, da das genutzte Reaktorvolumen durch die Zugabe höherer Substratvolumina anstieg. Höhere Substratvolumina waren nötig, um den verringerten oTS-Gehalt im Substrat auszugleichen. Schweinegülle und Rindergülle weisen im Durchschnitt oTS-Gehalte in Höhe von 1,5 bis 7,7 % FM bzw. 4,2 bis 9,4 % FM auf (Bischofsberger, 2005). Diese Substrate wären ideal für eine Vergärung in einem mit magnetisierbaren Aufwuchsträgern ausgestatteten Rührkesselreaktor geeignet. Allerdings muss an dieser Stelle einschränkend beachtet werden, dass der durchgeführte CSTR-Versuch mit stark verdünnter Zuckerrübensilage als Substrat und im Aufstaubetrieb, d.h. ohne kontinuierliche Gärrestentnahme, durchgeführt wurde. Die Verwendung anderer Substrate und ein anderer Zyklus der Gärrestentnahme könnten die methanogene Leistung des Reaktors beeinflussen, tendenziell sollte aber eine ähnliche Immobilisierung der mikrobiellen Biozönose im Reaktor mit Hilfe der magnetisierbaren Aufwuchsträger möglich sein.

Der Einsatz von magnetisierbaren Aufwuchsträgern in bestehenden CSTRs, die in über 90 % aller Biogasanlagen in Deutschland verwendet werden (Weiland, 2010), ist sehr einfach zu realisieren. Mit der kürzlich verabschiedeten Novellierung des Gesetzes für den Ausbau Erneuerbarer Energien (EEG) wird versucht, den Einsatz von Gülle zur Biogasgewinnung zu fördern (EEG, 2014). Mit Hilfe der magnetisierbaren Aufwuchsträger könnte sofort auf diese geänderten Rahmenbedingungen reagiert werden. Bei Erfüllung der Vorgabe, den Gülleanteil im Substrat auf über 80 % einzustellen, wird bei Biogasanlagen mit einer Leistung von maximal 75 kW durch das EEG eine deutlich höhere Vergütung für Strom aus Biogas gewährt. Die sich daraus ergebenden finanziellen Vorteile werden anhand eines **Rechenbeispiels für die praktische Umsetzung** verdeutlicht, siehe unten.

Rechenbeispiel für die praktische Umsetzung

In der Praxis kann eine Biogasanlage in der eine Monovergärung von Rindergülle durchgeführt wird folgendermaßen gestaltet sein (FNR, 2013): in einem Rührkesselreaktor mit einem Arbeitsvolumen von 523 m³ werden 6000 m³ Rindergülle pro Jahr bei einer Temperatur von 42 °C und einer hydraulischen Verweilzeit von 37 d kontinuierlich vergärt. Dabei können eine Methanausbeute in Höhe von 0,164 Norm-L g_{oTS}⁻¹ und eine elektrische Leistung von 75 kW erwartet werden. Rindergülle weist im Mittel einen oTS-Gehalt von 4,5 bis 9,0 % FM auf (FNR, 2013), demnach liegt die Raumbelastung der Praxisanlage bei 1,22 bis 2,44 g_{oTS} L⁻¹ d⁻¹. Beim Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger in einem CSTR konnte die Vergärung von Substraten mit einem oTS-Gehalt in Höhe von 3,01 % FM bei einer Raumbelastung von 6,31 g_{oTS} L⁻¹ d⁻¹ nachgewiesen werden, siehe Abschnitt 4.1.4.1. Die mögliche Erhöhung der Raumbelastung durch die Aufwuchsträger könnte bei der dargestellten Praxisanlage theoretisch zu einem Anstieg der elektrischen Leistung auf 194 kW führen, ausgehend von einem oTS-Gehalt der Rindergülle in Höhe von 9,0 % FM. Dabei wird ein linearer Zusammenhang zwischen der Raumbelastung und der elektrischer Leistung angenommen, in der Realität nimmt die Methanausbeute aber mit steigender Raumbelastung ab (Mähnert, 2007). Für die mesophile Monovergärung von Rindergülle werden bei Mähnert (Mähnert, 2007) Biogasausbeuten in Höhe von 0,400 bzw. 0,270 Norm-L g_{oTS}⁻¹ bei Raumbelastungen von 2,5 bzw. 6,0 g_{oTS} L⁻¹ d⁻¹ angegeben. Die Steigerung der Raumbelastung von 2,5 auf 6,0 g_{oTS} L⁻¹ d⁻¹ bewirkte demnach eine Abnahme der Ausbeute um 33%. Unter der Annahme eines ähnlichen Zusammenhangs ergibt sich für das hier dargestellte Rechenbeispiel durch den Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger theoretisch eine mögliche Erhöhung der elektrischen Leistung der Biogasanlage von 75 kW auf 128 kW. Diese Erhöhung der elektrischen Leistung würde unter der Annahme von 8000 Vollbetriebsstunden pro Jahr (FNR, 2013) eine Steigerung der Einnahmen aus dem Stromverkauf von 81960 auf 139878,4 € a⁻¹ bedeuten. Die Vergütung liegt in beiden Fällen

bei $13,66 \text{ ct kWh}^{-1}$ (EEG, 2014). Die Erhöhung der Raumbelastung ist mit einem erhöhten Substratbedarf verbunden. Der zusätzliche Substratbedarf muss gedeckt werden, entweder durch die Beschaffung von Rindergülle aus anderen Viehzuchtbetrieben oder durch die Erhöhung des Tierbesatzes. In beiden Fällen ergeben sich veränderte Rahmenbedingungen, die bei der Bilanzierung berücksichtigt werden müssen.

In die Gesamtbilanz müssen die notwendigen Kosten, die durch den Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger entstehen, ebenfalls mit einbezogen werden. Beim hier dargestellten Beispiel wäre eine Erstzugabe von 10,46 t Aufwuchsträger notwendig, um bei einem Anlagenvolumen von 523 m^3 eine Aufwuchsträgerkonzentration in Höhe von 2 Massen-% zu erreichen. Aus der hydraulischen Verweilzeit von 37 d und dem Anlagenvolumen von 523 m^3 lässt sich ein täglicher Gärreststrom in Höhe von $14,14 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ ableiten. Dieser Strom muss durch einen Magnetseparator geleitet werden, um die darin enthaltenen Aufwuchsträger zurückzuhalten. Bei einer Aufwuchsträgerkonzentration in Höhe von 2-Massen-% im Gärreststrom ergibt sich eine Masse von 283 kg Aufwuchsträger, die im Separator jeden Tag zurückgehalten werden muss. Für ein großtechnisch einsetzbares System zur Abtrennung und Rückführung von magnetisierbaren Aufwuchsträgern aus dem Ablauf eines Biogasreaktors, konnte eine Abtrennkapazität in Höhe von 415 g Aufwuchsträgern je Durchlauf ermittelt werden, siehe Abschnitt 4.1.4.2. Zur Rückspülung von 200 g Aufwuchsträgern aus dem Separator zurück in den Reaktor wurde eine notwendige Flüssigkeitsmenge in Höhe von 15 L ermittelt (Hopperdizel, 2014). Für das hier erläuterte Rechenbeispiel wären demnach jeden Tag 681 Durchläufe durch den Separator notwendig, um die im täglichen Gärreststrom anfallende Aufwuchsträgermasse von 283 kg aus dem Gärrest abzutrennen. Zur Rückführung der abgetrennten Aufwuchsträger in den Reaktor muss ein Flüssigkeitsvolumen in Höhe von $21,20 \text{ m}^3$ täglich in einem internen Kreislauf zwischen dem Separator und dem Reaktor umgepumpt werden. Anhand dieser Daten kann die Konzipierung der Technik zur Rückhaltung der Aufwuchsträger im Reaktor erfolgen. Die notwendige Pumpenkapazität kann abgeleitet werden und die Entscheidung, wie viele Separatoren eingesetzt werden sollten, kann getroffen werden. Aufgrund der hohen Anzahl der täglich notwendigen Durchläufe durch den Separator erscheint die Konstruktion eines größeren Separators sinnvoll. Die Verluste an Aufwuchsträgern, die nicht vom Separator erfasst werden, müssen ebenfalls berücksichtigt werden. Innerhalb eines Jahres wird das Reaktorvolumen von 523 m^3 bei einer Verweilzeit von 37 d theoretisch 9,87 Mal ausgetauscht. Mit dem erprobten automatisierten Separatorsystem sind Rückhaltegrade in Höhe von bis zu 99,6 % möglich, siehe Abschnitt 4.1.4.2. Die jährlichen Verluste an Aufwuchsträgern belaufen sich demzufolge auf 0,406 t. Eine monetäre Bewertung des

Einsatzes der magnetisierbaren Aufwuchsträger ist im Moment noch nicht möglich, da die Verkaufspreise der Aufwuchsträger und des Magnetseparators noch nicht feststehen.

Ein sehr hohes Potential liegt in der Ausnutzung der durch das EEG geregelten erhöhten Vergütung für Strom aus Biogas, wenn er aus einem Substrat mit einem Gülleanteil über 80 % in Biogasanlagen mit einer Leistung von maximal 75 kW gewonnen wird. Die Vergütung wird bei Steigerung des Gülleanteils im Substrat auf über 80 % von 13,66 auf 23,73 ct kWh⁻¹ erhöht (EEG, 2014). Unter der Annahme von 8000 Vollbetriebsstunden pro Jahr (FNR, 2013) würden sich die Einnahmen durch den Stromverkauf aufgrund der höheren Vergütung von 81960 auf 142380 € a⁻¹ erhöhen. Durch den Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger könnte eine entsprechende Erhöhung des Gülleanteils im Substrat möglich sein.

Statt der Erhöhung der Raumbelastung und damit der Leistung der Anlage wäre eine entsprechende Verringerung des notwendigen Anlagenvolumens bei gleichbleibender Leistung möglich. Die Baukosten einer Biogasanlage können bei einer Anlage mit 75 kW Leistung 68 % der Netto-Investitionskosten betragen, bei den jährlichen Betriebskosten nimmt die Abschreibung der Baukosten einen Anteil von 15,5 % ein (Bräsel, 2013). In der Verringerung des notwendigen Anlagenvolumens, die durch den Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger möglich sein könnte, liegt demnach ein hohes Einsparpotential.

Zusammenfassung

Anhand der Ergebnisse dieser Arbeit wird deutlich, dass ein Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger verschiedene praktische Anwendungen ermöglichen könnte. Eine starke Verkürzung der Anlaufphase und eine effektive Reaktion auf kritische Betriebszustände des Reaktors erscheinen ebenso möglich, wie das Erzielen hoher Leistungsdichten bei Verwendung sehr dünnflüssiger Substrate wie Rindergülle und Abwasser.

Bei den oben dargestellten ökonomischen Betrachtungen zum Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger in der Biogasproduktion wird von den Ergebnissen dieser Arbeit ausgegangen. Die Leistung einer Biogasanlage und das bestehende Optimierungspotential sind von vielen Einflussfaktoren abhängig. Zu den wichtigsten Faktoren zählen die Eigenschaften des Substrats, z.B. die Hydrolysierbarkeit, siehe Abschnitt 4.1.3.4, die eingesetzte mikrobielle Starterkultur, siehe oben unter **Reduzierung der Anlaufphase**, und die durch die Betriebsweise der Anlage vorgegebenen Milieubedingungen, siehe Abschnitt 1.4.1.1. Alle relevanten Einflussfaktoren müssen wenn möglich vorab ermittelt und beurteilt werden, um den Nutzen der magnetisierbaren Aufwuchsträger realistisch beurteilen zu können.

4.1.5 Vereinfachung der Untersuchung der Biofilmbildung auf verschiedenen Aufwuchsträgern

Die Verwendung der qPCR-Methode zur Bestimmung der Mikroorganismenpopulation in einem Biofilm auf Aufwuchsträgern ist sehr aufwendig und kostenintensiv. Die Inkubation von Aufwuchsträgern unter bestimmten Prozessbedingungen ist bei kontinuierlich betriebenen Anlagen ebenfalls mit einem hohen technischen und praktischen Aufwand verbunden. Als einfache Alternativen wurden im Rahmen dieser Arbeit die Beurteilung der Biofilmbildung mit Hilfe der TS- und oTS-Gehalte der besiedelten Aufwuchsträger und die Inkubation von Aufwuchsträgern in einer kleintechnischen Versuchsanlage (KTVA) angewendet. Im Folgenden soll die Aussagekraft dieser einfachen Alternativen im Vergleich zu üblichen Analysemethoden erfolgen.

4.1.5.1 oTS-Gehalt als Parameter zur Beurteilung der Mikroorganismenpopulation

Verschiedene Verfahren zur Charakterisierung der Mikroorganismenpopulation

Zur Charakterisierung der in einem System vorhandenen Mikroorganismenpopulation können verschiedene mikrobiologische Analyseverfahren angewendet werden. Klassische Anreicherungs- und Kultivierungsverfahren, die auf der Anreicherung und Kultivierung einzelner Spezies oder Gruppen basieren, sind unzureichend und mit einem hohen Aufwand verbunden, deshalb haben sich Analyseverfahren auf Basis der Beschreibung individueller Gensequenzen durchgesetzt (Bergmann, 2015). Die Nukleotidsequenz einer Struktur-RNA (16S rRNA) ist für diese Zwecke gut geeignet, da sie in allen prokaryotischen Mikroorganismen vorkommt und in den meisten Fällen auf Art-Ebene genügend Unterschiede für eine taxonomische Klassifizierung aufweist (Bergmann, 2015). Auf Basis der 16S rRNA sind qualitative Analyseverfahren, z.B. DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) und T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism), sowie quantitative Analyseverfahren, z.B. die qPCR-Analyse, möglich (Talbot, 2008).

Weiterhin gibt es verschiedene mikroskopische Verfahren, die eine Beurteilung der Mikroorganismenpopulation ermöglichen. Die differenzierte Quantifizierung mit Hilfe einer Mikroskopie auf Basis der Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) wird häufig angewendet (Bergmann, 2015). Es ist auch möglich, die Eigenfluoreszenz des von einigen Archaeen gebildeten Coenzym F₄₂₀ anzuregen, um diese Organismen unter dem Mikroskop zu erkennen, siehe Abschnitt 2.3.2. Zur Beurteilung der Ausbildung von Biofilmen ist die Laserscanning-Mikroskopie (LSC) gut geeignet. Das Abtasten des Objekts in beliebigen

Ebenen ermöglicht das Erstellen eines dreidimensionalen Modells, darüber hinaus wird durch die Verwendung eines Lasers ein kontrastreicheres Bild mit höherer Auflösung im Vergleich zur Lichtmikroskopie erzeugt (Bergmann, 2015). Mit Hilfe unterschiedlicher Farbstoffe kann eine Differenzierung innerhalb der Mikroorganismenpopulation oder eine Verdeutlichung der Struktur des Biofilms erfolgen, siehe Abschnitt 2.3.2.

Es ist auch möglich über das Vorkommen bestimmter Stoffe, die von Mikroorganismen gebildet werden können, indirekt auf die Mikroorganismenpopulation zurückzuschließen. Beispiele dafür sind die Bestimmung der Konzentration an Proteinen oder der ATP-Konzentration sowie eine photometrische Detektion des Coenzym F_{420} (Benndorf, 2014) (Magic-Knezev, 2004) (Zábranská, 1985). Die Bestimmung des TS- und des oTS-Gehalts kann ebenfalls als indirekte Methode angewendet werden, um das Vorkommen von Mikroorganismen abzuschätzen, allerdings in einem begrenzten Maß, siehe unten.

Grenzen der verschiedenen Verfahren

Verfahren auf Basis der 16S rRNA weisen oft Probleme hinsichtlich der Reproduzierbarkeit und der Vergleichbarkeit der Ergebnisse auf. So hängt z.B. das Ergebnis einer qPCR-Analyse nach Smith und Osborn (Smith, 2008) von der DNA-Extraktion, dem Erstellen der Standardkurve (die Plasmidherstellung), der Effizienz der qPCR-Analyse, dem verwendeten PCR-System, den eingesetzten Chemikalien, der Software und der individuellen Arbeitsweise der durchführenden Personen ab. Die Ausbeute der für die qPCR-Analyse grundlegenden DNA-Extraktion wird durch die Wahl der Extraktionsmethode und die Art der Probe stark beeinflusst. In der Probe können Stoffe enthalten sein, die störend auf die qPCR-Analyse einwirken. Eine pauschale Angabe der kritischen Konzentration dieser Stoffe ist nicht möglich, sie muss empirisch ermittelt werden. Ein weiterer großer Nachteil liegt darin, dass in Abhängigkeit von der Probenart unterschiedliche Protokolle verwendet werden, in denen die Durchführung der qPCR-Analyse beschrieben wird. Diese Protokolle können sich von Labor zu Labor unterscheiden. Ein direkter Vergleich der so ermittelten Genkopienzahlen ist deshalb sehr problematisch. (Smith, 2008) Neben ähnlichen Problemen, die bei der qPCR-Analyse bereits bei der grundlegenden DNA-Extraktion möglich sind, können die Ergebnisse beim DGGE-Verfahren vom verwendeten Gel und beim T-RFLP-Verfahren durch einen unvollständigen Restriktionsverdau beeinflusst werden (Talbot, 2008). Konkrete Angaben zur Anzahl der in einer Probe vorhandenen Mikroorganismen sind auf Basis der 16S rRNA nicht möglich, da sich das Vorkommen des 16S rRNA Gens in der Zelle bei verschiedenen Mikroorganismenarten unterscheiden kann (Klappenbach, 2001).

Während fluoreszenzmikroskopischen Analysen treten bei Proben aus anaeroben Reaktoren oft Beeinträchtigungen des Fluoreszenzsignals auf, z.B. durch hohe Hintergrundfluoreszenz (Bergmann, 2015). Eine Hintergrundfluoreszenz kann auch vom Material der Aufwuchsträger selbst verursacht sein, dadurch wird die Laserscanningmikroskopie unter Umständen ebenfalls negativ beeinflusst (Hauf, 2014). Das Erarbeiten einer allgemein anwendbaren standardisierten FISH-Methode, die bei verschiedenen teilweise stark mit Humin- und Feststoffen angereicherten Prozessflüssigkeiten angewendet werden kann, ist sehr aufwendig (Bergmann, 2015). Im Rahmen dieser Arbeit wurde beobachtet, dass die Aussagekraft der angewendeten qualitativen mikroskopischen Verfahren Fluoreszenzmikroskopie und Laserscanningmikroskopie stark durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden kann: der verwendete Farbstoff kann während der Mikroskopie durch Bestrahlung der Probe mit intensivem Licht geschädigt werden, die Qualität des verwendeten Farbstoffs kann variieren, der Zeitraum zwischen Probenahme und Mikroskopie kann zur Abnahme der Autofluoreszenz führen usw. Die mikroskopischen Aufnahmen sollen deshalb nur ergänzende Ergebnisse darstellen, die zur besseren Verdeutlichung der Struktur der Biofilme dienen.

Die Ergebnisse indirekter Verfahren, die auf der Bestimmung der Konzentration von Stoffen basieren, die von Mikroorganismen gebildet werden, sind von der biologischen Aktivität der Mikroorganismen abhängig. Die biologische Aktivität und damit die Ausbildung bestimmter Stoffe können von äußeren Faktoren beeinflusst werden, auch eine Schädigung der Mikroorganismen kann zu einer Änderung der biologischen Aktivität führen (Fuchs, 2014). Die Verwendung dieser Analyseverfahren kann unter Umständen zu einer falschen Einschätzung der Mikroorganismenpopulation führen, da Mikroorganismen, die sich in Ruhestadien oder Phasen eingeschränkten Stoffwechsels befinden, abweichende Konzentrationen der als Indikator dienenden Stoffe aufweisen können als aktive Mikroorganismen. Die Verwendung dieser indirekten Verfahren als Summenparameter für die mikrobielle Gesamtpopulation in einem System wird weiterhin dadurch erschwert, dass sich die Produktion von Proteinen, ATP und Coenzym F_{420} bei verschiedenen Organismen unterscheiden kann (Theuerl, 2015) (Magic-Knezev, 2004) (Zábranská, 1985).

Bei der Bestimmung des oTS-Gehalts wird jede in der Probe vorhandene organische Substanz, z.B. die EPS des Biofilms, Mikroorganismen, im Biofilm eingebettetes Substrat etc., unspezifisch als Summenparameter erfasst. Deshalb ist eine detaillierte Beurteilung des Biofilms nur möglich, wenn ergänzend zur Bestimmung des oTS-Gehalts weitere Analysen durchgeführt werden z.B. die qPCR-Analyse. Diese ergänzenden Analysen können in einem geringeren Umfang erfolgen als die deutlich einfachere Bestimmung des oTS-Gehalts, wenn

ein entsprechender Bezug zwischen den Ergebnissen der jeweiligen Analysen nachweisbar ist. Beim durchgeführten CSTR-Versuch gab es einen Bezug zwischen der Mikroorganismenpopulation im Biofilm und dem oTS-Gehalt der magnetisierbaren Aufwuchsträger (bezogen auf die Trockensubstanz). Ab einer bestimmten Inkubationszeit (in diesem Fall 56 Tage) war ein linearer Zusammenhang zwischen dem oTS-Gehalt der besiedelten Aufwuchsträger und der Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) im Biofilm auf den Aufwuchsträgern (dargestellt als 16S rRNA Genkopienzahlen) erkennbar. Das Bestimmtheitsmaß R^2 lag bei 0,9508, der oTS-Gehalt könnte demnach ein gut geeigneter Hilfsparameter zur Charakterisierung der Mikroorganismenpopulation im Biofilm sein. Dieser Zusammenhang sollte in weiteren Untersuchungen unbedingt geprüft werden, da der Probenumfang hier mit $n = 15$ sehr gering war. Der Zeitraum, bis sich ein linearer Zusammenhang einstellt ist ebenfalls schwer abzuschätzen.

Neben den spezifischen Grenzen der verschiedenen Analyseverfahren, tritt bereits bei der Probenahme und der anschließenden Probenaufbereitung ein großes Problem auf: es ist möglich, dass sich einzelne Schichten des Biofilms oder sogar der gesamte Biofilm während der Entnahme der besiedelten Aufwuchsträger und der Waschprozedur bzw. den Färbeschritten für die geplanten mikroskopischen Analysen ablösen. Bei der Untersuchung von Biofilmen sollte die Methode zur Probenahme und Probenaufbereitung wenn möglich so angepasst werden, dass auf die Biofilme einwirkende Scherkräfte minimal sind. Verschiedene Aufbereitungsmethoden wurden von Bergmann und Klocke (Bergmann, 2015) erprobt, um eine möglichst schonende Behandlung der Biofilme auf Trägermaterialien sicherzustellen. Im Rahmen dieser Arbeit konnte bei der Analyse der Biofilme eine große Ähnlichkeit zwischen den Ergebnissen der Fluoreszenzmikroskopie und der Laserscanningmikroskopie festgestellt werden, trotz unterschiedlicher Aufbereitungsmethoden, siehe Abschnitt 3.1.1.3, 3.1.3.5, 3.1.4.5 und 3.2.3.5. Die Aufbereitung der Aufwuchsträger für die Fluoreszenzmikroskopie beinhaltete vier Waschschrte, bei der Aufbereitung für die Laserscanningmikroskopie wurde nur ein Waschschrte durchgeführt, siehe Abschnitt 2.1.3.3 bzw. 2.2.3.3. Demnach waren die Biofilme auf den magnetisierbaren Aufwuchsträgern scheinbar stabil genug, um die aufwendigere Waschprozedur unbeschadet zu überstehen.

Zusammenfassung

Die Auswahl einer geeigneten Analysemethode bzw. einer Kombination verschiedener Verfahren hängt vom Untersuchungsziel ab. Oftmals ist eine Kombination von Verfahren am besten, die sich gegenseitig ergänzen oder bestätigen, wie z.B. die Kombination von TS- und oTS-Bestimmung mit mikroskopischen Verfahren. Weiterhin muss entschieden werden, ob

eine quantitative oder eine qualitative Analyse oder beides sinnvoll und möglich ist. Oft ist die Realisierung eines idealen Analyseumfangs aufgrund des hohen Aufwands allerdings nicht möglich.

Die Bestimmung der TS- und oTS-Gehalte kann als einfachste mögliche Methode zur Beurteilung eines Biofilms angesehen werden. Diese Methode erlaubt zwar keine Aussagen in Bezug auf die Mikroorganismenpopulation im Biofilm, ist aber schnell, einfach, günstig und gut reproduzierbar. Die im Rahmen des CSTR-Versuchs durchgeführten Analysen zur Beurteilung der Biofilmbildung haben deutlich gezeigt, dass sich Ergebnisse der aufwendigeren Analysen (qPCR und Mikroskopie) in den Ergebnissen der Bestimmung der TS- und oTS-Gehalte widerspiegeln. Die alleinige Beurteilung der Biofilmbildung anhand der TS- und oTS-Gehalte ist trotzdem schwierig, da die Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen verschiedener Analysemethoden bekannt sein müssen, um einen Bezug herstellen zu können. Diese Zusammenhänge sind je nach Versuchssystem und Versuchsdurchführung wahrscheinlich unterschiedlich. Der TS- und der oTS-Gehalt sind aber sehr gut geeignet, um Veränderungen des Biofilms zu verdeutlichen. Dadurch ist es möglich, relevante Zeitpunkte der Biofilmbildung innerhalb eines Versuchs zu erkennen und aufwendige Analysen sehr gezielt genau zu diesen Zeitpunkten einzusetzen. Der analytische Aufwand lässt sich dadurch stark reduzieren.

4.1.5.2 Kleintechnische Versuchsanlage (KTVA) als Alternative zur CSTR-Versuchsanlage

Vergleich der Ergebnisse aus den KTVA-Versuchen und dem CSTR-Versuch

Die Ergebnisse der KTVA-Versuche und des CSTR-Versuchs waren schwer vergleichbar, siehe Tabelle A30 und A31 im Anhang. Zum Ende des KTVA-Besiedlungsversuchs 3 wurden nach 12 Wochen Inkubationszeit beim Referenzkorn „Ref“ für die Gesamtpopulation (Archaeen und Bakterien) und die Population von Archaeen Werte in Höhe von $7,0 \times 10^9$ bzw. $3,4 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM ermittelt. Beim KTVA-Besiedlungsversuch 4 lagen die Werte beim Referenzkorn „Ref“ für Gesamtpopulation und Population von Archaeen nach 16 Wochen Inkubationszeit bei $188,0 \times 10^9$ bzw. $3,1 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM. Während des CSTR-Versuchs wurden nach 12 Wochen Inkubationszeit im Biofilm auf den Aufwuchsträgern („Ref“) eine Gesamtpopulation und eine Population von Archaeen in Höhe von $68,9 \times 10^9$ bzw. $12,5 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM erreicht, nach 16 Wochen lagen die Werte für Gesamtpopulation und Population von Archaeen bei $64,6 \times 10^9$ bzw. $7,7 \times 10^9$ 16S rRNA Genkopien je g FM. Auch die ermittelten oTS-Gehalte der Aufwuchsträger („Ref“) unterschieden sich bei den KTVA-Besiedlungsversuchen und dem CSTR-Versuch. Zum Ende des KTVA-Besiedlungsversuchs 3 wurde nach 12 Wochen

Inkubationszeit ein oTS-Gehalt in Höhe von 1,79 % TS bzw. 0,80 % FM ermittelt, nach Ablauf von 16 Wochen Inkubationszeit im KTVA-Besiedlungsversuchs 4 lag der oTS-Gehalt bei 2,32 bis 2,39 % TS bzw. 1,01 bis 1,06 % FM. Beim CSTR-Versuch wurde nach 12 Wochen Inkubationszeit ein oTS-Gehalt in Höhe von 2,85 % TS bzw. 0,93 % FM ermittelt, nach 16 Wochen lag der oTS-Gehalt bei 3,59 % TS bzw. 1,11 % FM.

Diese großen Schwankungen der Versuchsergebnisse können auf die Besonderheiten der verschiedenen Versuchsanlagen zurückgeführt werden. Vor allem die Konzentration an magnetisierbaren Aufwuchsträgern, 16,7 Massen-% bei den KTVA-Besiedlungsversuchen und 2,0 bzw. 0,55 Massen-% beim CSTR-Versuch, könnte sich bei Verwendung der KTVA negativ auf die Biofilmbildung ausgewirkt haben. Die höhere Aufwuchsträgerkonzentration kann zu größerer Reibung zwischen den Aufwuchsträgern führen, wodurch stärkere Scherkräfte entstehen. Das gebildete Biogas wurde nicht kontinuierlich aus den Spritzen der KTVA entfernt. Das Herausschieben des Spritzenkolbens durch das gebildete Biogas bewirkte eine Erhöhung des Nutzvolumens der Spritze. Die in der Spritze enthaltene Mischung aus Prozessflüssigkeit und Aufwuchsträgern konnte sich in der Gasphase des Nutzvolumens ausbreiten, wodurch es zu einer unvollständigen Benetzung der Aufwuchsträger mit Flüssigkeit kommen konnte. Dieser Effekt könnte sich ebenfalls negativ auf die Biofilmbildung auf den Aufwuchsträgern ausgewirkt haben. Neben den Unterschieden der verwendeten Versuchsanlagen können Gründe für die starken Abweichungen der Ergebnisse der qPCR-Analyse mit hoher Wahrscheinlichkeit in den Grenzen der angewendeten qPCR-Analyse zu finden sein, siehe Abschnitt 4.1.5.1. Die Ergebnisse verschiedener Analysedurchläufe mit der gleichen Probe sind bei diesem Analyseverfahren mitunter nicht vergleichbar. Deshalb sollten alle Proben, die verglichen werden, immer mit genau demselben System, denselben Chemikalien und im Idealfall auch im selben Analysedurchlauf untersucht werden. Dies ist in der Praxis mitunter nicht möglich, vor allem wenn die Proben aus verschiedenen Versuchsreihen mit einem größeren Zeitversatz stammen. Ein Vergleich der Ergebnisse der qPCR-Analysen von Proben aus verschiedenen Versuchsreihen sollte deshalb immer unter Vorbehalt erfolgen.

Mit der kleintechnischen Versuchsanlage (KTVA) war der zeitgleiche Betrieb von bis zu 189 Versuchsansätzen auf kleinem Raum möglich, der Versuchsaufbau war sehr einfach. Ein Nachteil der KTVA lag in der großen Anfälligkeit gegenüber Schwankungen der Qualität des Inokulums und des Substrats, da das gewählte Nutzvolumen der Versuchsansätze mit ca. 30 mL sehr gering war. Diese Schwankungen könnten aber durch die Möglichkeit des Betriebs einer hohen Anzahl von Parallelansätzen kompensiert werden. Der größte Nachteil der KTVA bestand in der Einschränkung des Probenahmeumfangs und des

Probenahmevermögens aufgrund des geringen Nutzvermögens der Versuchsansätze. Dadurch war nur eine begrenzte Tiefe der Aussagekraft der durchgeführten Versuche möglich, da sich auf bestimmte Analysen und wenige Probenahmezeitpunkte eingeschränkt werden musste. Der praktische Aufwand zum Betrieb dieser Versuchsanlage war gemessen an der Anzahl der möglichen Versuchsansätze vergleichsweise gering. Die zeitgleiche Untersuchung einer hohen Anzahl unterschiedlicher Versuchsansätze ermöglicht die Variation einer größeren Anzahl an Versuchsparametern. Die erprobte KTVA stellt eine gute Alternative für die Durchführung umfangreicher Voruntersuchungen dar. Allerdings ist dieses System in Bezug auf die Betriebsbedingungen sehr weit von der Praxis entfernt: die Beschickung erfolgte batch-weise und nicht kontinuierlich, die Aufwuchsträgerkonzentration war viel höher als es im späteren Einsatz praktikabel sein wird und die Durchmischung des Inhalts der Spritzen während der Inkubation war grundlegend anders als in praxisrelevanten Systemen, z.B. dem CSTR.

Weitere Möglichkeiten zur Aufzucht von Biofilmen auf unterschiedlichen Materialien

Neben den hier verwendeten Methoden zur Ausbildung von Biofilmen auf (magnetisierbaren) Aufwuchsträgern gibt es weitere Möglichkeiten zur Aufzucht von Biofilmen unter definierten Bedingungen. Bei Bergmann und Klocke (Bergmann, 2015) wurde die Ausbildung von Biofilmen auf verschiedenen Aufwuchsträgermaterialien untersucht. Dafür wurden unter anderem rechteckige Platten des jeweiligen Materials in CSTRs und in ein zweistufiges Bioleaching-System eingebracht. Das Bioleaching-System bestand aus einer Hydrolysestufe und einem Anaerobfilter als Methanstufe. Auf den glatten Platten konnte die Ausbildung eines Biofilms gut beurteilt werden, allerdings blieb der Aspekt einer praktischen Anwendung als Aufwuchsträger außen vor, da die Form und die Konzentration der Platten nicht praxisrelevant waren. Oft werden Durchflussreaktoren wie die (modifizierte) Robbins device (MRD) zur Kultivierung von Biofilmen verwendet (Khouri, 1992) (Douglas, 2002). Mit Durchflussreaktoren ist die Untersuchung des Einflusses der Fließgeschwindigkeit sowie der Zusammensetzung der umgebenden flüssigen Phase auf die Ausbildung von Biofilmen bei verschiedenen Materialien möglich. Die dargestellten Methoden orientieren sich mehr oder weniger an einer praktischen Anwendung und sind im Vergleich zur KTVA mit einem deutlich höheren Aufwand verbunden. Mögliche Alternativen zum KTVA-System, das den einfachen Betrieb einer sehr hohen Anzahl an Versuchsansätzen erlaubt und damit gut für umfangreiche Voruntersuchungen geeignet ist, stellen sie nicht dar.

Eine denkbare Alternative zur KTVA wäre ein modifizierter Biogasbildungstest nach VDI 4630 (VDI, 2006). Bei diesem Verfahren erfolgt die Inkubation von Versuchsansätzen in Glasflaschen. Die zusätzliche Unterbringung von Aufwuchsträgern bzw.

Aufwuchsträgermaterialien im Versuchsansatz sollte möglich sein. Eine quasikontinuierliche Beschickung der Versuchsansätze, die bei einem Biogasbildungstest eigentlich nicht vorgesehen ist, könnte ähnlich wie bei der KTVA erfolgen. Nachteile liegen beim Biogasbildungstest im Vergleich zur KTVA in der fehlenden Möglichkeit zur Durchmischung, diese soll nach VDI 4630 manuell durch Schwenken der Glasflaschen erfolgen. Die Durchmischung durch Lagerung der Glasspritzen in einem drehbaren Gestell wird intensiver und gleichmäßiger sein. Da das gebildete Biogas bei einer Versuchsanlage nach VDI 4630 in zusätzlichen Gassammelrohren aufgefangen werden muss, weist diese Versuchsanlage eine höhere Komplexität gegenüber der KTVA auf. Dafür wären bei entsprechender Größe der Glasflaschen im Vergleich zur KTVA ein höherer Probenahmeumfang und ein höheres Probenahmevolumen möglich.

Zusammenfassung

Ähnlich wie bei der Auswahl der Methoden zur Analyse des Biofilms, siehe Abschnitt 4.1.5.1, sind pauschale Aussagen zum idealen System zur Aufzucht von Biofilmen schwer möglich bzw. durch notwendige Kompromisse erschwert. Wichtig ist auch hier das Untersuchungsziel. Eine einfache Versuchsanlage bietet sich z.B. an, wenn eine Vielzahl unterschiedlicher Trägermaterialien hinsichtlich der Biofilmbildung unter Variation der Versuchsbedingungen verglichen werden soll. Dieses Untersuchungsziel würde eine große Anzahl paralleler Versuche erfordern. Die hier erprobte KTVA erlaubte den zeitgleichen Betrieb von 189 Versuchsansätzen mit vergleichsweise geringem Aufwand. Der Betrieb einer Anzahl von Versuchsansätzen in dieser Höhe ist mit anderen Versuchsanlagen, z.B. CSTR-Versuchsanlagen, kaum möglich. Zur Vorauswahl geeigneter Trägermaterialien und geeigneter Versuchsbedingungen sollte die KTVA trotz ihrer begrenzten Aussagekraft auf jeden Fall geeignet sein. Durch die Nutzung der einfachen KTVA wäre eine deutliche Reduzierung der Anzahl an Versuchen, die in einer aufwendigeren Versuchsanlage durchgeführt werden müssen, bereits im Vorfeld möglich. Bei entsprechender Reduzierung der Versuchsanzahl ist es möglich, weiterführende Untersuchungen in sehr aufwendigen Versuchsanlagen durchzuführen, die reale Betriebsbedingungen in der Praxis besser simulieren können.

4.2 Fazit

4.2.1 Zum Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger in der Biogasproduktion

In Abschnitt 1.2 wurden Fragestellungen zur Beurteilung der untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger hinsichtlich eines Einsatzes in der Biogasproduktion aufgestellt. Im Folgenden werden diese Fragestellungen mit Hilfe der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse beantwortet.

- **Kann auf den magnetisierbaren Aufwuchsträgern eine leistungsstarke mikrobielle Biozönose immobilisiert werden?**

(i) Auf den untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträgern bildete sich während der Inkubation in einem CSTR (Substrat Zuckerrübensilage, quasikontinuierliche Beschickung in der Regel im Intervall von 2,0 h, Raumbelastung 1,5 bis 8,1 g_{OS} L⁻¹ d⁻¹, mittlere hydraulische Verweilzeit 4,5 bis 148 d) ein intensiver Biofilm aus.

(ii) Die hydraulische Verweilzeit des Reaktors stellte sich als wichtigster Einflussfaktor auf die Biofilmbildung heraus. Mit Reduzierung der mittleren hydraulischen Verweilzeit von 15 auf 4,5 d nahm das Volumen des Biofilms stark zu und die Gesamtpopulation der Mikroorganismen im Biofilm stieg auf den 34fachen Wert an (bezogen auf die Trockenmasse der Aufwuchsträger).

(iii) Die im Biofilm auf den magnetisierbaren Aufwuchsträgern entwickelte Biozönose war autark, der vollständige anaerobe Abbau des zugeführten Substrats zu Biogas konnte allein durch diese Biozönose umgesetzt werden.

(iv) Die Biozönose im Biofilm auf den magnetisierbaren Aufwuchsträgern bestand zum größeren Teil aus (methanogenen) Archaeen (ihr Anteil erreichte bis zu 62,77 % der Gesamtpopulation, in der umgebenden flüssigen Phase lag dieser Anteil nur bei 1,91 ± 1,08 %). Innerhalb der Population der Archaeen war die Familie Methanosaetaceae dominant, sowohl auf den Aufwuchsträgern als auch in der umgebenden flüssigen Phase des Reaktors.

- **Ist durch den Eintrag magnetisierbarer Aufwuchsträger in einen Rührkesselreaktor (CSTR) eine Entkopplung der Aufenthaltszeit der Mikroorganismen im Reaktor von der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors erreichbar?**

(v) Mit Hilfe der untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger war es gut möglich, eine leistungsstarke mikrobielle Biozönose in einem Rührkesselreaktor zu immobilisieren.

(vi) Der Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger in einem CSTR erlaubte eine Reduzierung der mittleren hydraulischen Verweilzeit des Reaktors auf 4,7 Tage, dieser Wert liegt deutlich unter dem in der Praxis als kritisch angesehenen Wert von 15 Tagen.

(vii) Eine vollständige Entkopplung der Aufenthaltszeit der Mikroorganismen im Reaktor von der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors konnte durch die Inbetriebnahme eines CSTRs nur mit Hilfe von Starterkulturen, die auf magnetisierbaren Aufwuchsträgern immobilisiert waren, gezeigt werden. Zur Inbetriebnahme des Reaktors wurden 0,55 Massen-% besiedelter Aufwuchsträger eingesetzt. Die Leistung des Reaktors entsprach unmittelbar ab dem Zeitpunkt der Inbetriebnahme praxisüblichen Werten.

- **Kann durch den Eintrag magnetisierbarer Aufwuchsträger eine Leistungssteigerung und/oder eine Erweiterung des Anwendungsspektrums eines CSTRs erreicht werden?**

(viii) Im laufenden Reaktorbetrieb konnte mit Hilfe der magnetisierbaren Aufwuchsträger eine Erhöhung des Volumendurchsatzes eines CSTRs um bis zu 473 % erfolgen. Dieser Wert verdeutlicht das hohe Potential zur Erhöhung der Leistungsdichte eines Reaktors. Die Nutzung (eines Teils) dieses Potentials ist allerdings nur möglich, wenn sehr dünnflüssige Substrate eingesetzt werden und die Leistungsgrenze des Reaktors durch den Volumendurchsatz und nicht durch die Zufuhr an organischer Masse begrenzt wird.

(ix) Die durch den Einsatz magnetisierbarer Aufwuchsträger erreichte Erhöhung des Volumendurchsatzes eines CSTRs könnte einen verstärkten Einsatz dieses Reaktortyps in der anaeroben Abwasserbehandlung ermöglichen. Aufgrund des geringen Organikgehalts von Abwässern sind mit CSTRs nur geringe Leistungs-

ichten zu erzielen, da der Volumendurchsatz bei üblichen CSTRs vergleichsweise gering ist. Ein mit magnetisierbaren Aufwuchsträgern leistungsgesteigerter CSTR kann eine gute Ergänzung zu den in der Abwasserbehandlung üblichen UASB-Reaktoren darstellen.

(x) Mit Hilfe magnetisierbarer Aufwuchsträger war eine Reduzierung des oTS-Gehalts im Substrat von 17,3 auf 3,0 % FM möglich. Eine mögliche Anwendung die sich daraus ergibt, ist die Erhöhung des Anteils dünnflüssiger Substrate z.B. bei der Co-Vergärung von Maissilage und Rindergülle. Dadurch kann sofort auf das geänderte Gesetz für den Ausbau erneuerbarer Energien (EEG) reagiert werden, dass den verstärkten Einsatz von Gülle fördern soll.

(xi) Die bei einem CSTR oft langwierige und störanfällige Anlaufphase könnte durch den Einsatz besiedelter magnetisierbarer Aufwuchsträger stark reduziert werden, unter Umständen ist sogar ein vollkommener Verzicht auf die Anlaufphase möglich. Der Eintrag einer hohen Anzahl von Mikroorganismen war mit Hilfe besiedelter Aufwuchsträger einfach möglich. Die mikrobielle Biozönose auf den Aufwuchsträgern stand in intensiver Wechselwirkung mit der umgebenden flüssigen Phase des Reaktors, dadurch wurde die Entwicklung der Biozönose in der flüssigen Phase gefördert.

(xii) Ein Reaktor, der aufgrund ungeeigneter Betriebsbedingungen über eine geschwächte Biozönose verfügt, kann durch den Eintrag besiedelter Aufwuchsträger mit ungeschädigten aktiven Mikroorganismen versorgt werden. Der herausragende Aspekt ist dabei, dass gleichzeitig eine Verdünnung bzw. eine Ausspülung von eventuell im Reaktor vorhandenen Hemmstoffen möglich wäre. Die Kombination aus der Zufuhr ungeschädigter Mikroorganismen und dem Entfernen schädlicher Stoffe aus der flüssigen Phase des Reaktors könnte eine effektive Strategie zur Stabilisierung eines in einem kritischen biologischen Zustand befindlichen Reaktors darstellen.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass ein Einsatz der untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger in einem Rührkesselreaktor (CSTR) zu einer deutlichen Verbesserung der Reaktorleistung, zu einer Erweiterung des Anwendungsspektrums und zu einer Reduzierung des notwendigen Aufwands zum Betrieb des Reaktors führen kann. Sicher scheinen diese Annahmen, wenn Betriebsbedingungen vorliegen, die denen der hier eingesetzten CSTR-Versuchsanlage entsprechen, siehe oben. Die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf andere Bedingungen, z.B. bei der Verwendung der Substrate Rindergülle oder Abwasser, sollte vor Einsatz der Aufwuchsträger geprüft werden.

Ein praxistaugliches Separationssystem, das zur Abtrennung und Rück-führung der magnetisierbaren Aufwuchsträger aus dem Reaktorablauf dienen kann, ist verfügbar.

4.2.2 Ausblick

Der hohe Nutzen der untersuchten magnetisierbaren Aufwuchsträger bei der Biogasproduktion (in einem CSTR) scheint aufgrund der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse sehr wahrscheinlich.

- **Weitere wissenschaftliche Untersuchungen zur praktischen Umsetzung der Biomasserückhaltung mit Hilfe der hier erprobten magnetisierbaren Aufwuchsträger sollten unbedingt folgen:**

(i) Die maximale Raumbelastung eines mit magnetisierbaren Aufwuchsträgern ausgestatteten CSTRs muss unter Verwendung von in der Praxis eingesetzten dünnflüssigen Substraten (z.B. Rindergülle oder Schweinegülle) ermittelt werden. Dieser Schritt ist notwendig, da sich im Rahmen dieser Arbeit auf Untersuchungen hinsichtlich der möglichen Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit bei einem CSTR beschränkt werden musste. Die Ermittlung der maximalen Raumbelastung bei gleichzeitiger Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit hätte den Rahmen dieser Arbeit überschritten.

(ii) Forschungsbedarf besteht hinsichtlich der optimalen Konzentration an magnetisierbaren Aufwuchsträgern in einem CSTR, sowohl zur Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors als auch zur Verkürzung seiner Anlaufphase.

(iii) Die Modifikation der magnetisierbaren Aufwuchsträger, z.B. durch das Einschmelzen von Spurenelementen, scheint vorteilhaft zu sein und sollte weiter verfolgt werden.

(iv) Die Kinetik der Ausbildung des Biofilms auf den Aufwuchsträgern stellt einen weiteren möglichen Schwerpunkt weiterführender Untersuchungen dar. Vor allem sollte die Möglichkeit einer Beschleunigung der Biofilmbildung durch gezielte Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit des Reaktors geprüft werden.

(v) Zielstellung dieser Arbeit war der Einsatz von magnetisierbaren Aufwuchsträgern in der Biogasproduktion. Ein Einsatz bei anderen Anwendungen die auf der Nutzung mikrobiologischer Prozesse beruhen, z.B. die Abwasseraufbereitung oder die

stoffliche Konversion organischer Rohstoffe, ist ebenfalls vorstellbar und sollte unbedingt in Betracht gezogen werden.

Anhand der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse scheint der unmittelbare Einsatz der magnetisierbaren Aufwuchsträger in einer Pilotanlage sehr aussichtsreich. Der Schritt hin zur Pilotanlage bzw. zu einer ersten Praxisbiogasanlage, in der die im Labormaßstab erprobten magnetisierbaren Aufwuchsträger eingesetzt werden, ist zwingend erforderlich, um einen großflächigen Einsatz dieser vielversprechenden Technik in der Praxis voranzutreiben.

Literatur

Abdoun E., Weiland P., 2009. Optimierung der Monovergärung von Nachwachsenden Rohstoffen durch Zugabe von Spurenelementen. Bornimer Agrartechnische Berichte, Heft 68, 69 – 78.

Ahimou F., Denis F.A., Touhami A., Dufrêne Y.F., 2002. Probing microbial cell surface charges by atomic force microscopy. *Langmuir* 18, 9937 – 9941.

Andersson J., Björnsson L., 2002. Evaluation of straw as a biofilm carrier in the methanogenic stage of two-stage anaerobic digestion of crop residues. *Bioresource Technology* 85(1), 51 – 56.

Angelidaki I., Ahring B.K., 1993. Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. *Applied Microbiology and Biotechnology* 38, 560 – 564.

Araujo J.C., Brucha G., Campos J.R., Vazoller R.F., 2000. Monitoring the development of anaerobic biofilms using fluorescent in situ hybridization and confocal laser scanning microscopy. *Water Science and Technology* 41, 69 – 77.

Aurich H., 1998. Anwendung modifizierter, magnetisierter Polymerpartikel als Trägermaterial zur Enzymimmobilisierung und zur Zellkultivierung in einem magnetisch stabilisierten Bioreaktor. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.

Bast E. (Hrsg.), 2001. Mikrobiologische Methoden: eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg/Berlin.

Batstone D.J., Keller J., Angelidaki I., Kalyuzhnyi S.V., Pavlostathis S.G., Rozzi A., Sanders W.T.M., Siegrist H., Vavilin V.A., 2002. The IWA anaerobic digestion model No 1 (ADM1). *Water Science and Technology* 45 (10), 65 – 73.

Bengtsson G., 1991. Bacterial exopolymer and PHB production in fluctuating ground-water habitats. *FEMS Microbiology Ecology* 86, 15 – 24.

Benndorf D., Reichl U., 2014. Proteomics in environmental and technical microbiology. *Engineering in Life Sciences* 14, 27 – 46.

Bergmann I., Nettmann E., Mundt K., Klocke M., 2010. Determination of methanogenic Archaea abundance in a mesophilic biogas plant based on 16S rRNA gene sequence analysis. *Canadian Journal of Microbiology* 56, 440 – 444.

Bergmann I., Klocke M., 2015. Biofilme in Biogasanlagen – Struktur, Einfluss auf die Biogasausbeute und Optimierung technischer Systeme zur Rückhaltung der mikrobiellen Biomasse. Bornimer Agrartechnische Berichte Heft 87, Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (Hrsg.).

Bischofsberger W., Dichtl N., Rosenwinkel K.-H., Seyfried C.F., Böhnke B. (Hrsg.), 2005. Anaerobtechnik. 2. vollständig überarbeitete Auflage, Springer-Verlag Berlin.

Boe K., Angelidaki I., 2009. Serial CSTR digester configuration for improving biogas production from manure. Water research 43, 166 – 172.

Böhnke B., Bischofsberger W., Seyfried C.F. (Hrsg.), 1993. Anaerobtechnik. 1. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Bonmati A., Flotats X., 2003. Air stripping of ammonia from pig slurry: characterisation and feasibility as a pre- or post-treatment to mesophilic anaerobic digestion. Waste Management 23, 261 – 272.

Boutin C., Lienard A., Romain J.L., Beyeler L., 1993. Experimental plants for very small communities – choice and design criteria for 5 different processes. Water science and Technology 28 (10), 9 – 16.

Bowen W.R., Lovitt R.W., Wright C.J., 2000. Direct quantification of *Aspergillus niger* spore adhesion in liquid using an atomic force microscope. Journal of Colloid and Interface Science 228, 428 – 433.

Bräsel M., 2013. Rentieren sich Gülle-Kleinanlagen? Biogas Journal 1, 71 – 75.

Brigger I., Dubernet C., Couvreur P., 2002. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. Advanced Drug Delivery Reviews 54, 631 – 651.

Bryant M.P., 1979. Microbial methane production – theoretical aspects. Journal of Animal Science 48(1), 193 – 201.

Busch G., Sieber M., 2006. Zweistufiges Fest-Flüssig-Biogasverfahren mit offener Hydrolyse – ein neues technologisches Konzept für die Biogasgewinnung aus nachwachsenden Rohstoffen und bioverfügbaren Abfällen. Forum der Forschung 19, BTU Cottbus, 63 – 68.

Butt H.J., Graf K., Kappl M., 2003. Physics and Chemistry of interfaces. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

- Camesano T.A., Logan B.E., 1998. Influence of fluid velocity and cell concentration on the transport of motile and nonmotile Bacteria in porous media. *Environmental Science & Technology* 32, 1699 – 1708.
- Camesano T.A., Logan, B.E., 2000. Probing bacterial electrosteric interactions using atomic force microscopy. *Environmental Science & Technology* 34, 3354 – 3362.
- Chelliapan S., Wilby T., Yuzir A., Sallis P.J., 2011. Influence of organic loading on the performance and microbial community structure of an anaerobic stage reactor treating pharmaceutical wastewater. *Desalination* 271, 257 – 264.
- Chen Q.; Sun S.-Y.; Gu X.-Q.; Li Z.-W.; Li Z.-X., 1983. Magnetic microspherical carrier a new dosage form of fluoro uracil as an anti cancer agent. *Acta Pharmacologica Sinica* 4 (4), 273 – 276.
- Coughlin R.T., Tonsager S., McGroarty E.J., 1983. Quantitation of metal cations bound to membranes and extracted lipopolysaccharide of *Escherichia coli*. *Biochemistry* 22 1983; 2002 – 2007.
- Demirel B., Scherer P., 2008. Production of methane from sugar beet silage without manure addition by a single-stage anaerobic digestion process. *Biomass and Bioenergy* 32, 203 – 209.
- Diler E., Obst U., Schmitz K., Schwartz T., 2011. A lysozyme and magnetic bead based method of separating intact bacteria. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 401 (1), 253 – 265.
- DIN 38 404-C5, 2009. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C) - Teil 5: Bestimmung des pH-Werts. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- DIN 38 404-C8, 2009. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C) - Teil 5: Bestimmung der Leitfähigkeit. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- DIN 38409-41, 1980. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H); Bestimmung des Chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB) im Bereich über 15 mg/l. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.

- DIN 66131, 1993. Bestimmung der spezifischen Oberfläche von Feststoffen durch Gasadsorption nach Brunauer, Emmett und Teller (BET). Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- DIN 66133, 1993. Bestimmung der Porenvolumenverteilung und der spezifischen Oberfläche von Feststoffen durch Quecksilberintrusion. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- DIN EN 12880 S 2a, 2001. Charakterisierung von Schlämmen - Bestimmung des Trockenrückstandes und des Wassergehalts. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- DIN EN 25663, 1993. Wasserbeschaffenheit; Bestimmung des Kjeldahl-Stickstoffs; Verfahren nach Aufschluß mit Selen. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- DIN ISO 15705, 2002. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung des chemischen Sauerstoffbedarfs (ST-CSB) – Küvettentest. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- Douglas L.J., 2002. Medical importance of biofilms in Candida infections. *Revista Iberoamericana de Micología* 19, 139 – 143.
- EEG, 2014. Gesetz für den Ausbau erneuerbarer Energien (Erneuerbare-Energien-Gesetz). Nicht-amtliche Lesefassung des EEG in der ab 1. August 2014 geltenden Fassung auf Grundlage der Bundestags-Beschlüsse vom 27. Juni 2014 und 4. Juli 2014.
- Evans L.V. (Hrsg.), 2005. Biofilms: Recent Advances in their Study and Control. Taylor & Francis e-Library.
- Fernandez N., Sierra-Alvarez R., Field J.A., Amils R., Sanz J.L., 2008. Microbial community dynamics in a chemolithotrophic denitrification reactor inoculated with methanogenic granular sludge. *Chemosphere* 70, 462 – 474.
- Fey A., Conrad R., 2000. Effect of temperature on carbon and electron flow and on the archaeal community in methanogenic rice field soil. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 4790 – 4797.
- Fletcher M., 1996. Bacterial attachment in aquatic environments: a diversity of surfaces adhesion strategies. In: Fletcher, M. (Ed.), 1996. *Bacterial Adhesion: Molecular and Ecological Diversity*. Wiley-Liss New York, 1 – 24.
- FNR, 2013. Leitfaden Biogas, 2013. 6. überarbeitete Auflage, Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR), Gülzow-Prüzen.
- FNR, 2014. Basisdaten Bioenergie Deutschland. Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR), Gülzow-Prüzen.

- Franzreb M., 2003. Magnettechnologie in der Verfahrenstechnik wässriger Medien. Habilitationsschrift, Universität Karlsruhe (TH).
- Fuchs G. (Hrsg.), 2014. Allgemeine Mikrobiologie. Thieme Verlag Stuttgart, 9. Auflage.
- Gallert C., Winter J., 1997. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic wastes: effect of ammonia on glucose degradation and methane production. *Applied Microbiology and Biotechnology* 48, 405 – 410.
- Gannon J., Tan Y., Baveye P., Alexander M., 1991. Effect of sodium chloride on transport of bacteria in a saturated aquifer material. *Applied and Environmental Microbiology* 57, 2497 – 2501.
- Garrity, G., Holt J.G., 2001. Euryarchaeota. Aus: Boone D. R., Castenholz R. W. (Hrsg.). *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*. Springer-Verlag New York.
- Görner K., Hübner K. (Hrsg.), 1999. Hütte: Umweltschutztechnik. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- Görner K., Hübner K. (Hrsg.), 2002. Gewässerschutz und Abwasserbehandlung. Springer-Verlag Berlin, Reihe: VDI-Buch.
- Gottenbos B., Grijpma D.W., van der Mei H.C., Feijen J., Busscher H.J., 2001. Antimicrobial effects of positively charged surfaces on adhering Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48 (1), 7 – 13.
- Grepmeier M., 2002. Experimentelle Untersuchungen an einer zweistufigen fuzzy-geregelten anaeroben Abwasserreinigungsanlage mit neuartigem Festbettmaterial. Dissertation, eingereicht bei der Technischen Universität München.
- Gross M.J., Logan B.E., 1995. Influence of different chemical treatments on transport of *Alcaligenes paradoxus* in porous media. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 1750 – 1756.
- Habouzit F., Gévaudan G., Hamelin J., Steyer J.P., Bernet N., 2011. Influence of support material properties on the potential selection of Archaea during initial adhesion of a methanogenic consortium. *Bioresource Technology* 102, 4054 – 4060.
- Hamid M.H.D., 2006. Magnetic wastewater treatment system by using magnetic polyamide epichlorohydrin as adsorbents. Dissertation, Universiti Malaysia Pahang.

Hattori S., 2008. Syntrophic acetate-oxidizing microbes in methanogenic environments. *Microbes and Environments* 23 (2), 118 – 127.

Hauf S., 2014. Untersuchung von Biofilmen auf unterschiedlichen Aufwuchsträgern für Biogasanlagen. Masterarbeit, eingereicht an der technischen Universität Braunschweig.

Hauser-Gerspach I., Meier R., Lüthy H., Meyer J., 2008. Adhesion of oral Streptococci to all-ceramic dental restorative materials. School of Dental Medicine, University of Basel.

Helffrich D., Oechsner H., 2003. Hohenheimer Biogasertragstest - Vergleich verschiedener Laborverfahren zur Vergärung von Biomasse. *Landtechnik* 58 (3), 148 – 149.

Hellman J., Ek A.E.W., Sundberg C., Johansson M., Svensson B.H., Karlsson M., 2010. Mechanisms of increased methane production through re-circulation of magnetic biomass carriers in an experimental continuously stirred tank reactor. 12th World Congress of Anaerobic Digestion, Mexiko.

Hoffmann C., 2003. Einsatz magnetischer Separationsverfahren zur biotechnologischen Produktaufarbeitung. Dissertation, Universität Karlsruhe.

Holm R.E., Nielsen P.H., Albrechtsen H., Christensen T.H., 1992. Importance of unattached bacteria and bacteria attached to sediment in determining potentials for degradation of xenobiotic organic contaminants in an aerobic aquifer. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 3020 – 3026.

Hopperdizel T., 2014. Erprobung eines neuartigen Systems zur Rückhaltung magnetischer Aufwuchsträger in Biogasanlagen. Masterarbeit, eingereicht an der Hochschule für Technik und Wirtschaft Berlin.

Ince O., Ince B.K., Donnelly T., 1999. Attachment, strength and performance of a porous media in an upflow anaerobic filter treating dairy wastewater. International Symposium of Biofilms on IAWQ, New York.

IPCC, 2012. Renewable energy sources and climate change mitigation, special report of the intergovernmental panel on climate change.

ISO 13320-1, 2009. Partikelmessung durch Laserlichtbeugung. International Organization for Standardization, Genf, Schweiz.

Jeison D., Telkamp P., van Lier J.B., 2009. Thermophilic sidestream anaerobic membrane bioreactors: The shear rate dilemma. *Water environment research* 81 (11), 2372 – 2380.

Jeřábková H., Králová B., Nálík J., 1999. Biofilm of *Pseudomonas* C12B on glass support as catalytic agent for continuous SDS removal. *International Biodeterioration & Biodegradation* 44, 233 – 241.

Jetten M.S.M., Stams A.J.M., Zehnder A.J.B., 1990. Acetate threshold and acetate activating enzymes in methanogenic bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* 73, 339 – 344.

Jewett D.G., Hilbert T.A., Logan B.E., Arnold R.G., Bales R.C., 1995. Bacterial transport in laboratory columns and filters: influence of ionic strength and pH on collision efficiency. *Water Research* 29 (7), 1673 – 1680.

Jian Y., Pinder K.L., 1992. Buildup of symbiotic methanogenic biofilms on solid supports. *Biotechnology Letters* 14, 989 – 994.

Johnson W.P., Martin M.J., Gross M.J., Logan B.E., 1996. Facilitation of bacterial transport through porous media by changes in solution and surface properties. *Colloids and Surfaces* 107, 263 – 271.

Jost C., 2010. Optimierung der Fermentation von Rübensilage zu Biogas mit Hilfe von auf magnetischen Aufwuchsträgern immobilisierten Mikroorganismen. Diplomarbeit, Hochschule für Technik und Wirtschaft Ingenieurwissenschaften HTW Berlin.

Kämpfer P., Weißenfels W.D. (Hrsg.), 2001. Biologische Behandlung organischer Abfälle. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.

Kaltschmitt M., Hartmann H., Hofbauer H. (Hrsg.), 2009. Energie aus Biomasse. Grundlagen, Techniken und Verfahren. 2. neu bearbeitete und erweiterte Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 883 – 887.

Karakashev D., Batstone D.J., Trably E., Angelidaki I., 2006. Acetate oxidation is the dominant methanogenic pathway from acetate in the absence of *Methanosaetaceae*. *Applied and Environmental Microbiology* 72(7), 5138 – 5141.

Karapinar N., 2003. Magnetic separation of ferrihydrite from wastewater by magnetic seeding and high-gradient magnetic separation. *International Journal of Mineral Processing* 71 (1-4), 45 – 54.

de Kerchove A.J., Elimelech M., 2007. Impact of alginate conditioning film on deposition kinetics of motile and nonmotile *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 5227 – 5234.

- Khoury A.E., Lam K., Ellis B., Costerton J.W., 1992. Prevention and Control of Bacterial Infections Associated with Medical Devices. *ASAIO Journal*, M174 – M178.
- Klang J., Theuerl S., Szewzyk U., Huth M., Tölle R., Klocke M., 2015. Dynamic variation of the microbial community structure during the long-time mono-fermentation of maize and sugar beet silage. *Microbial Biotechnology*, 1 – 12.
- Klappenbach J.A., Saxman P.R., Cole J.R., Schmidt T.M., 2001. rrndb: the Ribosomal RNA Operon Copy Number Database. *Nucleic Acids Research* 29(1), 181 – 184.
- Klocke M., Nettmann E., Bergmann I., Mundt K., Souidi K., Mumme J., Linke B., 2008. Characterization of the methanogenic Archaea within two-phase biogas reactor systems operated with plant biomass. *Systematic and Applied Microbiology* 31, 190 – 205.
- Knapp E.P., Jeram J.S., Heorberger G., Millis A.L., 1998. The effect of distribution of iron-oxyhydroxide grain coatings on the transport of bacterial cells in porous media. *Environmental Geology* 33 (4), 243 – 2.
- Kovacs K.L., Acs N., Kovacs E., Wirth R., Rakhely G., Strang O., Herbel Z., Bagi Z., 2013. Improvement of Biogas Production by Bioaugmentation. *BioMed Research International* (2013).
- Krakat N., Schmidt S., Scherer S., 2010. Mesophilic fermentation of renewable biomass: Does hydraulic retention time regulate methanogen diversity? *Applied and Environmental Microbiology* 76(18), 6322–6326.
- Krauß M., Leißner J., 2006. Wachstum von Mikroorganismen auf Glas – Entwicklung von Umweltsensoren. *DGG-Glasforum Offenbach*.
- Kryvoruchko V., Machmüller A., Bodiroza V., Amon B., Amon T., 2009. Anaerobic digestion of by-products of sugar beet and starch potato processing. *Biomass and Bioenergy* 33, 620 – 627.
- Langer S.G., Ahmed S., Einfalt D., Bengelsdorf F.R., Kazda M., 2015. Functionally redundant but dissimilar microbial communities within biogas reactors treating maize silage in co-fermentation with sugar beet silage. *Microbial Biotechnology* 8, 828 – 836.
- Leven L., Eriksson A.R.B., Schnürer A., 2007. Effect of process temperature on bacterial and archaeal communities in two methanogenic bioreactors treating organic household waste. *FEMS Microbiology Ecology* 59, 683 – 693.

- Li B., Logan B.E., 2004. Bacterial adhesion to glass and metal-oxide surfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 36, 81 – 90.
- Linke B., Heiermann M., Grundmann P., Hertwig F., 2003. Grundlagen, Verfahren und Potenzial der Biogasgewinnung im Land Brandenburg. In: *Biogas in der Landwirtschaft – Leitfaden für Landwirte und Investoren im Land Brandenburg*. 2. überarbeitete Auflage, Ministerium für Landwirtschaft, Umweltschutz und Raumordnung des Landes Brandenburg, Potsdam, 10 – 23.
- Linke B., Mähnert P., 2005. Biogasgewinnung aus Rindergülle und nachwachsenden Rohstoffen. *Landtechnik* 60(5), 276 – 277.
- Linke B., Vollmer G., Mähnert P., 2006. Schlussbericht zum Verbundvorhaben "Kinetik der Biogasgewinnung aus nachwachsenden Rohstoffen bei kontinuierlicher Prozessführung als Grundlage für die Bemessung von landwirtschaftlichen Biogasanlagen". Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V., Gülzow.
- van Loosdrecht M.C.M., Norder W., Lyklema J., Zehnder A.J.B., 1990. Hydrophobic and electrostatic parameters in bacterial adhesion. *Aquatic Sciences* 51, 103 – 114.
- Lower S.K., Tadanier C.J., Hochella M.F., 2001. Dynamics of the mineral-microbe inter-face: use of biological force microscopy in biogeochemistry and geomicrobiology. *Geomicrobiology Journal* 18, 63 – 76.
- Magic-Knezev A., van der Kooij D., 2004. Optimisation and significance of ATP analysis for measuring active biomass in granular activated carbon filters used in water treatment. *Water Research* 38, 3971 – 3979.
- Mähnert P., 2007. Kinetik der Biogasproduktion aus nachwachsenden Rohstoffen und Gülle. Dissertation eingereicht an der Humboldt-Universität Berlin.
- Marshall K.C., 1996. Adhesion as a strategy for access to nutrients. In: Fletcher, M. (Ed.), 1996. *Bacterial adhesion: molecular and ecological diversity*. Wiley-Liss New York.
- Martienssen M., 2001. Leistungen immobilisierter Mikroorganismen bei der Eliminierung von Umweltschadstoffen. Habilitationsschrift, Mathematisch Naturwissenschaftlich-Technische Fakultät, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- Meyer H., 2004. Leistungsfähigkeit anaerober Reaktoren zur Industrieabwasserreinigung. Schriftenreihe Institut für Siedlungswasserwirtschaft und Abfalltechnik, Hannover.

- Mills A.L., Herman J.S., Hornberger G.M., DeJesus T.H., 1994. Effect of solution ionic strength and iron coatings on mineral grains on the sorption of bacterial cells to quartz sand. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 3300 – 3306.
- Movassagh M.H., Karami A.R., 2010. Biofilm formation of *Escherichia coli* O₁₁₁ on food contact glass surfaces. *Global Veterinaria* 4 (3), 222 – 224.
- Muha I., Grillo A., Heisig M., Schönberg M., Linke B., Wittum G., 2012. Mathematical modeling of process liquid flow and acetoclastic methanogenesis under mesophilic conditions in a two-phase biogas reactor. *Bioresource Technology* 106, 1 – 9.
- Mumme J., 2008. Vergärung nachwachsender Rohstoffe im Aufstromverfahren. Dissertation eingereicht an der Humboldt-Universität Berlin.
- Mumme J., Linke B., Tennemann S., Tölle R., 2007. Magnete halten Mikroorganismen im Fermenter. *Neue Landwirtschaft* 96 (11), 96 – 98.
- Munk K. (Hrsg.), 2008. Biochemie – Zellbiologie. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart.
- Muñoz M.A., Sanchez J.M., Rodriguez-Maroto J.M., Borrego J.J., Moriñigo M.A., 1997. Methane production in anaerobic sludges supplemented with two support materials and different levels of acetate and sulphate. *Water Research* 31 (5), 1236 – 1242.
- Nicolella C., van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J., 2000. Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *Journal of Biotechnology* 80, 1 – 33.
- Neitmann, 2011. Präparations- und Mikroskopie-Methode für Magnetpartikel. Mikroskopische Dienstleistungen Elisabeth Neitmann, Moosburg. (unveröffentlicht)
- Nettmann E., Bergmann I., Mundt K., Linke B., Klocke M., 2008. Archaea diversity within a commercial biogas plant utilizing herbal biomass determined by 16S rDNA and mcrA analysis. *Journal of Applied Microbiology* 105, 1835 – 1850.
- Nettmann E., Bergmann I., Mundt K., Pramschüfer S., Plogsties V., Herrmann C., Klocke M., 2010. Polyphasic analyses of methanogenic population in agricultural biogas plants. *Applied and Environmental Microbiology* 76 (8), 2540 – 2548.
- Ong Y.L., Razatos A., Georgious G., Sharma M.M., 1999. Adhesion forces between *E. coli* bacteria and biomaterial surfaces. *Langmuir* 15, 2719 – 2725.
- Pankhurst Q.A., Connolly J., Jones S.K., Dobson J., 2003. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of Physics D: Applied Physics* 36.

Picanco A.P., Vallero M.V.G., Gianotti E.P., Zaiat M., Blundi C.E., 2001. Influence of porosity and composition of supports on the methanogenic biofilm characteristics developed in a fixed bed anaerobic reactor. *Water Science and Technology* 44, 197 – 204.

Piyaprasit C., 2005. Entwicklung eines Systems zum mechanischen Biomasseaustrag bei Biorieselbettreaktoren. Dissertation, Universität Stuttgart.

Rademacher A., Nolte C., Schönberg M., Klocke M., 2012. Temperature increases from 55 to 75 degrees C in a two-phase biogas reactor result in fundamental alterations within the bacterial and archaeal community structure. *Applied Microbiology and Biotechnology* 96, 565 – 576.

Ramm P., Jost C., Neitmann E., Sohling U., Menhorn O., Weinberger K., Mumme J., Linke B., 2014. Magnetic biofilm carriers: The use of novel magnetic foam glass particles in anaerobic digestion of sugar beet silage. *Journal of Renewable Energy* 2014(2014).

von Rege H., Sand W., 1996. Mikrobielle Werkstoffzerstörung - Biofilm und Biofouling Simulation mikrobiell beeinflusster Metallkorrosion (MIC) zur Prüfung von Gegenmaßnahmen. *Materials and Corrosion* 47, 486 – 494.

Rieger C., Weiland P., 2006. Prozessstörungen frühzeitig erkennen. *Biogas Journal* 4, 18 – 20.

Rivard C.J., Himmel M.E., Vinzant T.B., Adney W.S., Wyman C.E., Grohmann K., 1990. Anaerobic digestion of processed municipal solid waste using a novel high solids reactor: maximum solids levels and mixing requirements. *Biotechnology Letters* 12(3), 235 – 240.

Rosenwinkel K.-H., Kroiss H., Dichtl N., Seyfried C.-F, Weiland P. (Hrsg.), 2015. *Anaerob-technik: Abwasser-, Schlamm- und Reststoffbehandlung, Biogasgewinnung*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 3. Auflage.

Saake M., 1986. Abscheidung und Rückhalt der Biomasse beim anaeroben Belebungsverfahren und in Festbett-Reaktoren. ISAH Schriftenreihe Heft 68, Institut für Siedlungswasserwirtschaft und Abfalltechnik, Universität Hannover.

Sambrook J., Maniatis T., Russel D.W., 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Schnürer A., Zellner G., Svensson B.H., 1999. Mesophilic syntrophic acetate oxidation during methane formation in biogas reactors. *FEMS Microbiology Ecology* 29, 249 – 261.

Shao X.W., Peng D., Zhang Y., Wang J., 2011. Formation of granules with filamentous microorganisms abundant in anaerobic sequencing batch reactor. *International Journal of Environment and Pollution* 45, 47 – 57.

Schattauer A., Weiland P., 2004. Grundlagen der anaeroben Fermentation. In: Handreichung Biogasgewinnung und -nutzung. Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V., Leipzig, 25 – 35.

Shellenberger K., Logan B.E., 2002. Effect of molecular scale roughness of glass beads on colloidal and bacterial deposition. *Environmental Science & Technology* 36, 184 – 189.

Sheng X., Ting Y.-P., Pehkonen S.O., 2008. The influence of ionic strength, nutrients and pH on bacterial adhesion to metals. *Journal of Colloid and Interface Science* 321, 256 – 264.

Sheng X., Ting Y.-P., Pehkonen S.O., 2007. Force measurements of bacterial adhesion on metals using a cell probe atomic force microscope. *Journal of Colloid and Interface Science* 310, 661 – 669.

Silva A.J., Hirasawa J.S., Varesche M.B., Foresti E., Zaiat M., 2006. Evaluation of support materials for the immobilization of sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea. *Anaerobe* 12, 93–98.

Simoni S.F., Bosma T.N.P., Harms H., Zehnder A.J.B., 2000. Bivalent cations increase both the subpopulation of adhering bacteria and their adhesion efficiency in sand columns. *Environmental Science & Technology* 6, 1011 – 1017.

Singh S.P., Perna P., 2009. Review of recent advances in anaerobic packed-bed biogas reactors. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 13, 1569 – 1575.

Smith C.J., Osborn A.M., 2008. Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology* 67, 6 – 20.

Soudi K., 2008. Mikrobielle Diversität in Biogasreaktoren. Dissertation, eingereicht an der Humboldt-Universität Berlin.

Stams A.J.M., Oude-Elferink S.J.W.H., Westermann P., 2003. Metabolic interactions between methanogenic consortia and anaerobic respiring bacteria. *Advanced Biochemical Engineering Biotechnology* 81, 31 – 93.

Stoodley P., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.W., 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Review of Microbiology* 56, 187 – 209.

- Sun Z.-B., Yang H.-H., Xiong Z., Zhao Z.-Q., Xu X.-D., Li L.-F., Duan X.-M., 2010. Preparation of magnetic nano particles and its application in dyeing wastewater treatment. *Science & Technology Review* 28 (22), 25 – 28.
- Talbot G., Topp E., Palin M.F., Massé D.I., 2008. Evaluation of molecular methods used for establishing the interactions and functions of microorganisms in anaerobic bioreactors. *Water Research* 42, 513 – 537.
- Theuerl S., Kohrs F., Benndorf D., Maus I., Wibberg D., Schlüter A., Kausmann R., Heiermann M., Rapp E., Reichl U., Pühler A., Klocke M., 2015. Community shifts in a well-operating agricultural biogas plant: how process variations are handled by the microbiome. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99(18), 7791 – 7803.
- Thomas C., 2009. Abscheidung magnetischer Aufwuchsträger aus Abläufen von Biogasanlagen. Bachelorarbeit, Fachhochschule Braunschweig/Wolfenbüttel.
- VDI-Berichte 1620, 2001. Biogas als regenerative Energie - Stand und Perspektiven. VDI-Berichte 1620 zur Tagung in Hannover, 19. und 20. Juni 2001.
- VDI-Richtlinie 4630, 2006. Vergärung organischer Stoffe - Substratcharakterisierung, Probenahme, Stoffdatenerhebung, Gärversuche. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- VDLUFA (Verband deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten), 1983/2006. Methodenbuch Band III – Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. 3. Auflage inklusive der 1. bis 6. Ergänzungslieferung.
- de Vrieze J., Hennebel T., Boon N., Verstraete W., 2012. Methanosarcina: The rediscovered methanogen for heavy duty biomethanation. *Bioresource Technology* 112, 1 – 9.
- Wandrey C., Aivasidis A., 1983. Continuous anaerobic digestion with *Methanosarcina barkeri*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 413, Biochemical Engineering III, 489 – 500.
- Wang W., Denga L., Peng Z.H., Xiao X., 2007. Study of the epoxydized magnetic hydroxyl particles as a carrier for immobilizing penicillin G acylase. *Enzyme and Microbial Technology* 40, 255 – 261.
- Wang L.K., Tay J.-H., Lee Tay S.T., Yung-Tse Hung Y.-T. (Hrsg.), 2010. Environmental Bioengineering. Springer-Verlag New York Dordrecht Heidelberg London.

- Warnick T.A., Methe B.A., Leschine S.B., 2002. *Clostridium phytofermentans* sp. nov., a cellulolytic mesophile from forest soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52, 1155 – 1160.
- Weiland P., 2001. Grundlagen der Methangärung - Biologie und Substrate. In: *Biogas als regenerative Energie – Stand und Perspektiven*. VDI-Bericht 1620, Düsseldorf, 19 – 32.
- Weiland P., 2010. Biogas production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85, 849 – 860.
- Weißbach F., Strubelt C., 2008. Die Korrektur des Trockensubstanzgehaltes von Zuckerrübensilagen als Substrat für Biogasanlagen. *Landtechnik* 63 (6), 354 – 355.
- <http://www.genoma.de/300/zt900.htm>. 11.11.2009, 16:49 Uhr.
- Yang Y., Tada C., Miah S., Kenichiro Tsukahara K., Yagishita T., Sawayama S., 2004. Influence of bed materials on methanogenic characteristics and immobilized microbes in anaerobic digester. *Materials Science and Engineering: C* 24 (3), 413 – 419.
- Yang Z., Juang Y.-C., Lee D.-J., Duan Y.-Y., 2012. Pore blockage of organic fouling layer with highly heterogeneous structure in membrane filtration: role of minor organic foulants. *Journal of membrane science* 411, 30 – 34.
- Yu, Y., Lee C., Kim J., Hwang S., 2005. Group-specific primer and probe sets to detect methanogenic communities using quantitative real-time polymerase chain reaction. *Biotechnology and Bioengineering* 89, 670 – 679.
- Yu Y., Kim J., Hwang S., 2006. Use of real-time PCR for group-specific quantification of acetoclastic methanogens in anaerobic processes: population dynamics and community structures. *Biotechnology and Bioengineering* 93, 424 – 433.
- Yue Q., Han S., Yue M., Gao B., Li Q., Yu H., Zhao Y., Qi Y., 2009. The performance of biological anaerobic filters packed with sludge-fly ash ceramic particles (SFCP) and commercial ceramic particles (CCP) during the restart period: Effect of the C/N ratios and filter media. *Bioresource Technology* 100, 5016 – 5020.
- Zábranská J., Schneiderová K., Dohányos M., 1985. Relation of coenzyme F₄₂₀ to the activity of methanogenic microorganisms. *Biotechnology Letters* 7(8), 547 – 552.
- Zhao Q., Wang C., Liu Y., Wang S., 2007. Bacterial adhesion on the metal-polymer composite coatings. *International Journal of Adhesion and Adhesives* 27, 85 – 91.

- Zheng D., Angenent L. T., Raskin L., 2006. Monitoring granule formation in anaerobic upflow bioreactors using oligonucleotide hybridization probes. *Biotechnology and Bioengineering* 94, 458 – 472.
- Zhou D.-B., Hu C.-P., Li Y., Liang S., Yang H.-Z., 2007. Study on the feasibility of using magnetic iron oxide nanoparticles as wt-p 53 gene carrier for transfection of lung cancer cells. *Tumor* 27 (11), 882 – 886.
- Zhou L.-C., Li G.-Y., An T.-C., Li Y.-F., 2010. Synthesis and characterization of novel magnetic Fe₃O₄/polyurethane foam composite applied to the carrier of immobilized micro-organisms for wastewater treatment. *Research on Chemical Intermediates* 36 (3), 277 – 288.
- Zhu J.R., Hu J.C., Gu X.S., 1997. The bacterial numeration and an observation of a new syntrophic association for granular sludge. *Water Science and Technology* 36, 133 – 140.
- Ziganshin A.M., Schmidt T., Scholwin F., Il'Inskaya O.N., Harms H., Kleinsteuber S., 2011. Bacteria and archaea involved in anaerobic digestion of distillers grains with solubles. *Applied Microbiology and Biotechnology* 89, 2039 – 2052.
- Ziganshin A.M., Liebetrau J., Pröter J., Kleinsteuber S., 2013. Microbial community structure and dynamics during anaerobic digestion of various agricultural waste materials. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97, 5161 – 5174.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schema des anaeroben Abbaus (nach Schattauer, 2004) I: Hydrolyse, II: Acidogenese, III: Acetogenese, IV: Methanogenese	10
Abb. 2: Gliederung anaerober Verfahren zur Produktion von Biogas (nach Bischofsberger, 2005).....	12
Abb. 3: Grundprinzipien der Immobilisierung von Mikroorganismen (Martienssen, 2001) A: Oberflächenimmobilisierung B: Immobilisierung in porösen Matrices C: Mikrobielle Zellaggregate D: Einschlussimmobilisierung E: Hydrodynamische Zellrückhaltung	13
Abb. 4: Schalen- und Schichtenmodell gebildeter Biofilme (Busch, 2006)	18
Abb. 5: Biofilmbildung nach van Loosdrecht et al. (Martienssen, 2001)	19
Abb. 6: Magnetisierbare Aufwuchsträger: „VOR“ (links) und „Ref“ (rechts)	44
Abb. 7: Glasspritze mit Drei-Wege-Hahn, Füllvolumen 100 mL	47
Abb. 8: Drehgestell mit Glasspritzen.....	47
Abb. 9: Gasanalysator „Advanced Gasmitter“	50
Abb. 10: für den CSTR-Versuch verwendeter Rührkesselreaktor	59
Abb. 11: Rührwerk „RZR 2102 control“	60
Abb. 12: Heizbad „Lauda E200“	60
Abb. 13: Rührwerk der Rührkesselreaktoren	61
Abb. 14: Pumpe „Watson-Marlow 323du“	61
Abb. 15: Waage „FKB 16 K 0.1“ und Substratvorlagebehälter	61
Abb. 16: Trommelgaszähler „TG 05/5“	62
Abb. 17: Gasanalysator „SSM 6000“	62
Abb. 18: Handmagnetstab (S+S, Separation and Sorting Technology GmbH, Schönberg) ..	66
Abb. 19: Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase nach 2,5 h Inkubation	94
Abb. 20: Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs nach 2,5 h Inkubation	94
Abb. 21: Oberfläche eines Aufwuchsträgers („Ref“) nach 2,5 h Inkubationszeit – SYTO13-Färbung	96
Abb. 22: Oberfläche eines Aufwuchsträgers („Ref“) nach 2,5 h Inkubationszeit – LSC, Z-Stapel.....	96
Abb. 23: pH-Wert, Methangehalt im gebildeten Biogas und Methanausbeute – KTVA-Besiedlungsversuch 2	97

Abb. 24: oTS-Gehalt über einen Zeitraum von 20,7 Wochen, verschiedene Substrate	99
Abb. 25: Entwicklung der Mikroorganismenpopulation auf der MFGPs über einen Zeitraum von 20,7 Wochen	100
Abb. 26: Zusammensetzung der Mikroorganismengruppe ARC auf den Aufwuchsträger nach 20,7 Wochen	101
Abb. 27: „Ref“, Inkubationszeit 141 Tage – Zuckerrübensilage ohne SE-Zugabe, SYTO13-Färbung	102
Abb. 28: „Ref“, Inkubationszeit 141 Tage – Glucose-Lsg. ohne SE-Zugabe, SYTO13-Färbung.....	102
Abb. 29: pH-Wert, Methangehalt im gebildeten Biogas und Methanausbeute – KTVA-Besiedlungsversuch 3	104
Abb. 30: oTS-Gehalt bei verschiedenen Aufwuchsträgern nach 2 bzw. 12 Wochen Inkubation	105
Abb. 31: Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs nach 2 und 12 Wochen Inkubation	106
Abb. 32: Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase nach 2 und 12 Wochen Inkubat.	106
Abb. 33: Entwicklung des oTS-Gehaltes bei unterschiedlichen MFGPs.....	108
Abb. 34: Entwicklung der Mikroorganismenpopulation bei unterschiedlichen MFGPs.....	108
Abb. 35: „Ref“, 14 Tage Inkubationszeit – LSC, Z-Stapel	110
Abb. 36: „Ref“, 14 Tage Inkubationszeit – SYTO13-Färbung.....	110
Abb. 37: „Ref“, 14 Tage Inkubationszeit – Autofluoreszenz	110
Abb. 38: „Ref“, 14 Tage Inkubationszeit – DIC.....	111
Abb. 39: „Ben“, 14 Tage Inkubationszeit – DIC.....	111
Abb. 40: Methanbildung über einen Beschickungsintervall (7 d) – zum Versuchsbeginn (oben) und Versuchsende nach 16 Wo (unten).....	113
Abb. 41: Konzentrationen an Stickstoff nach Kjeldahl, Essigsäure und Propionsäure in der Fermentationsflüssigkeit nach der letzten Beschickung	114
Abb. 42: Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase zum Versuchsende.....	116
Abb. 43: Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs zum Versuchsende.....	116
Abb. 44: Zusammensetzung der Mikroorganismengruppe ARC in der flüssigen Phase zum Versuchsende.....	117

Abb. 45: Zusammensetzung der Mikroorganismengruppe ARC auf den MFGPs zum Versuchsende.....	117
Abb. 46: „VOR“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – LSC, Z-Stapel.....	119
Abb. 47: „VOR“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – SYTO13-Färbung	119
Abb. 48: „VOR“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – Autofluoreszenz.....	119
Abb. 49: „Ref“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – LSC, Z-Stapel.....	120
Abb. 50: „Ref“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – SYTO13-Färbung	120
Abb. 51: „Ref“ nach 16 Wochen Inkubationszeit – Autofluoreszenz.....	120
Abb. 52: Methanausbeute kumuliert über die Versuchsdauer, unterschiedliche Verdünnungsstufen des Inokulums – ohne MFGPs (6 Massen-%).....	123
Abb. 53: Methanausbeute kumuliert über die Versuchsdauer, unterschiedliche Verdünnungsstufen des Inokulums – mit MFGPs (6 Massen-%)	123
Abb. 54: Methanausbeute bei vier aufeinanderfolgenden Beschickungen – unterschiedliche MFGP-Konzentrationen	125
Abb. 55: Methanbildung im Wochenmittel dargestellt über alle Versuchsphasen, MR	128
Abb. 56: Methanbildungsleistung im Wochenmittel dargestellt über alle Versuchsphasen, CR.....	128
Abb. 57: Tägliche Methanbildung in Versuchsphase 4-2, MR.....	132
Abb. 58: Tägliche Methanbildung in Versuchsphase 4-2, CR	132
Abb. 59: Tägliche Methanbildung in Versuchsphase 5, MR nach Entnahme aller MFGPs..	133
Abb. 60: Tägliche Methanbildung in Versuchsphase 5, CR Neustart mit besiedelten MFGPs und Leitungswasser als flüssige Phase	133
Abb. 61: Säuremilieu, dargestellt über alle Versuchsphasen, MR.....	135
Abb. 62: Säuremilieu, dargestellt über alle Versuchsphasen, CR	135
Abb. 63: FOS/TAC, pH, Essigsäure und Propionsäure in Versuchsphase 4-2, MR	137
Abb. 64: FOS/TAC, pH, Essigsäure und Propionsäure in Versuchsphase 4-2, CR.....	137
Abb. 65: Ethanol, Propanol, Buttersäure, Milchsäure in Versuchsphase 4-2, MR	138
Abb. 66: Ethanol, Propanol, Buttersäure, Milchsäure in Versuchsphase 4-2, CR	138
Abb. 67: FOS/TAC, pH, Essigsäure und Propionsäure in Versuchsphase 5, MR nach Entnahme der MFGPs.....	140
Abb. 68: FOS/TAC, pH, Essigsäure und Propionsäure in Versuchsphase 5, CR Neustart mit besiedelten MFGPs und Leitungswasser als flüssige Phase	140

Abb. 69: Ethanol, Propanol, Buttersäure, Milchsäure in Versuchsphase 5, MR nach Entnahme der MFGPs.....	141
Abb. 70: Ethanol, Propanol, Buttersäure, Milchsäure in Versuchsphase 5, CR Neustart mit besiedelten MFGPs und Leitungswasser als flüssige Phase	141
Abb. 71: Versorgung mit Stickstoff, dargestellt über alle Versuchsphasen, MR	144
Abb. 72: Versorgung mit Stickstoff, dargestellt über alle Versuchsphasen, CR.....	144
Abb. 73: Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase, MR	147
Abb. 74: Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase, CR.....	147
Abb. 75: Zusammensetzung der methanogenen Population in der flüssigen Phase, MR ...	149
Abb. 76: Zusammensetzung der methanogenen Population in der flüssigen Phase, CR....	149
Abb. 77: Anteil der Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs an der gesamten Mikroorganismenpopulation (flüssige Phase und MFGPs) im Reaktor	151
Abb. 78: gesamte Mikroorganismenpopulation im Reaktor (flüssige Phase und MFGPs, MR)	152
Abb. 79: gesamte Mikroorganismenpopulation im Reaktor (flüssige Phase und MFGPs, CR).....	152
Abb. 80: Entwicklung von TS und oTS auf den MFGPs dargestellt über alle Versuchsphasen	153
Abb. 81: Entwicklung der Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs dargestellt über den Verlauf des CSTR-Versuchs	155
Abb. 82: Zusammensetzung der methanogenen Population auf den MFGPs	156
Abb. 83: Mikroorganismenpopulation bezogen auf die organische Trockensubstanz – flüssige Phase des MR.....	158
Abb. 84: Mikroorganismenpopulation bezogen auf die organische Trockensubstanz – auf den MFGPs	158
Abb. 85: „Ref“ vor Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – DIC	160
Abb. 86: „Ref“ nach Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – DIC	160
Abb. 87: Zusammenhang zwischen dem oTS-Gehalt und der Mikroorganismenpopulation auf den MFGPs	162

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Beispiele für Werte der magnetischen Massenssuszeptibilität verschiedener Stoffgruppen (Hoffmann, 2003)	28
Tab. 2: Eigenschaften eingesetzter Dauermagnetwerkstoffe (Franzreb, 2003).....	29
Tab. 3: Übersicht der durchgeführten KTVA-Versuche	39
Tab. 4: Verschiedene Aufwuchsträgermuster	41
Tab. 5: Zeta-Oberflächenpotential und Suszeptibilität der Aufwuchsträger	42
Tab. 6: Porosität der Aufwuchsträger	43
Tab. 7: Partikelgröße der Aufwuchsträger	43
Tab. 8: TS- und oTS-Gehalt unbesiedelter MFGPs, ermittelt im Rahmen der KTVA-Versuche	44
Tab. 9: Glucose-Mineralsalz-Nährlösung geeignet für Bakterien nach Bast (Bast, 2001)	46
Tab. 10: Spurenelementelösung basierend auf DSMZ 144 (Abdoun, 2009)	46
Tab. 11: Analyseplan der KTVA-Versuche	52
Tab. 12: Übersicht der Versuchsphasen des CSTR-Versuchs.....	56
Tab. 13: Analyseplan des CSTR-Versuchs.....	69
Tab. 14: oTS-Gehalt unterschiedlicher MFGPs nach der Adhäsion von Mikroorganismen ...	93
Tab. 15: Nachträgliches Stabilisieren der Versuchsansätze mit Inokulum	98
Tab. 16: C:N:P:S-Verhältnisse in der flüssigen Phase der Reaktoren.....	142

Anhang

Versuchsergebnisse der KTVA-Versuche

Tab. A1a: Eigenschaften der verwendeten Zuckerrübensilage

	TS ₁₀₅ (% FM)	TS ₁₀₅ korr. (% FM)	oTS (% TS)	pH (-)	Leitfähigkeit (mS cm ⁻¹)	NH ₄ -N (mg kg _{FM} ⁻¹)	N _{Kjeld.} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Methanol (g L _{FM} ⁻¹)	Ethanol (g L _{FM} ⁻¹)
MW	18,38	20,64	83,67	3,51	3,49	73,67	1401	0,93	4,93
Stabw	0,48	0,78	0,87	0,05	0,61	16,45	1522	2,00	1,62
n	53	52	53	53	53	53	53	41	50
Propanol									
	Essigsäure (g L _{FM} ⁻¹)	Propionsäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	2,3- Butandiol (g L _{FM} ⁻¹)	1,2-Propandiol (g L _{FM} ⁻¹)	Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	
MW	2,81	11,22	0,30	0,03	1,59	0,14	0,29	0,02	0,04
Stabw	0,97	4,10	0,10	0,04	0,81	0,11	0,45	0,04	0,05
n	50	50	50	50	35	35	50	50	50
Capronsäure									
	Essigsäure equivalent (g L _{FM} ⁻¹)	Milchsäure (g kg _{FM} ⁻¹)	CSB (mg L _{FM} ⁻¹)	N (% TS)	C (% TS)	S (% TS)	H (% TS)	P _{ges} (mg kg _{FM} ⁻¹)	
MW	0,03	11,71	36,74	188359	0,64	39,96	0,11	7,32	231,31
Stabw	0,05	4,25	6,76	17214	0,10	1,64	0,04	0,72	48,62
n	50	50	51	21	48	48	42,00	47	51

Tab. A1b: Eigenschaften der verwendeten Zuckerrübensilage

Zuckergehalt		Al	As	B	Ba	Ca	Cd	Co	Cr
(% TS)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)
MW	15,92	1256	<0,01	3,46	5,96	600,79	0,06	0,40	1,59
Stabw	1,78	458	-	6,34	0,76	272,10	0,07	0,11	1,48
n	41	49	11	50	38	50	50,00	50	49
Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	Na	Ni	Pb	
(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)
MW	1,08	777,49	484,74	39,20	0,05	101,53	1,11	0,72	
Stabw	0,25	186,40	154,98	18,24	0,02	88,31	2,13	0,48	
n	50	49	50	50	49	50,00	49	50	
Se	V	W	Zn	Ti	Tl				
(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)				
MW	<0,01	2,15	4,32	11,30	1,06				
Stabw	-	0,55	2,43	3,81	0,58				
n	43	40	49	38	38				

Tab. A2: Chemische Analyse der Inokula der KTVa-Besiedlungsversuche

Besiedlungsversuch	TS ₀₅ (% FM)	oTS (% TS)	pH (-)	Leitfähigkeit (mS cm ⁻¹)	NH ₄ -N (mg kg _{FM} ⁻¹)	N _{Kjeld.} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Methanol (g L _{FM} ⁻¹)	Ethanol (g L _{FM} ⁻¹)	Propanol (g L _{FM} ⁻¹)
1	3,32	43,16	7,19	4,98	55,02	937	n.n.	2,04	1,28
2	2,76	52,88	7,46	10,58	569,30	1500	n.n.	< 0,02	< 0,02
3	3,10	47,19	7,27	6,34	20,20	955	n.n.	< 0,02	< 0,02
4	2,93	41,89	7,24	4,94	52,74	884	n.n.	< 0,02	< 0,02

Besiedlungsversuch	Essigsäure (g L _{FM} ⁻¹)	Propionsäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	2,3-Butandiol (g L _{FM} ⁻¹)	1,2-Propandiol (g L _{FM} ⁻¹)	Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Capronsäure (g L _{FM} ⁻¹)
1	14,84	2,74	0,10	n.n.	n.n.	1,72	0,20	0,08	0,08
2	0,04	< 0,02	< 0,02	n.n.	n.n.	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02
3	0,04	0,09	< 0,02	n.n.	n.n.	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02
4	0,02	< 0,02	< 0,02	n.n.	n.n.	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02

Besiedlungsversuch	Essigsäure equivalent (g L _{FM} ⁻¹)	Milchsäure (g kg _{FM} ⁻¹)	CSB (mg L _{FM} ⁻¹)	N (% TS)	C (% TS)	S (% TS)	H (% TS)	P _{ges} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Zuckergehalt (% TS)
1	18,51	n.n.	n.b.	2,86	24,51	0,06	3,74	n.b.	n.b.
2	0,04	n.n.	16737	3,55	29,00	0,16	5,67	249,36	n.b.
3	0,11	20,51	23394	3,23	24,63	0,17	4,69	192,80	n.b.
4	0,02	n.n.	19352	3,07	22,56	0,27	3,05	164,50	n.b.

Tab. A3: Chemische Analyse des Inokulums des KTVA-Leistungsversuchs 1

Verdünnung Ino / Wasser	TS ₁₀₅ (% FM)	oTS (% TS)	pH (-)	Leitfähigkeit (mS cm ⁻¹)	NH ₄ -N (mg kg _{FM} ⁻¹)	N _{Kjeld.} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Methanol (g L _{FM} ⁻¹)	Ethanol (g L _{FM} ⁻¹)	Propanol (g L _{FM} ⁻¹)
100 / 0	5,97	50,75	7,34	5,27	148,50	2785	< 0,02	< 0,02	< 0,02
25 / 75	6,03	51,20	7,38	5,26	20,86	2730	< 0,02	< 0,02	< 0,02
50 / 50	6,06	50,84	7,11	5,47	17,89	2863	< 0,02	0,05	< 0,02

Verdünnung Ino / Wasser	Essigsäure (g L _{FM} ⁻¹)	Propionsäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	2,3-Butandiol (g L _{FM} ⁻¹)	1,2-Propandiol (g L _{FM} ⁻¹)	Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Capronsäure (g L _{FM} ⁻¹)
100 / 0	0,26	< 0,02	< 0,02	n.b.	n.b.	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02
25 / 75	0,23	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02
50 / 50	0,27	< 0,02	< 0,02	n.b.	n.b.	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02

Verdünnung Ino / Wasser	Essigsäure equivalent (g L _{FM} ⁻¹)	Milchsäure (g kg _{FM} ⁻¹)	CSB (mg L _{FM} ⁻¹)	N (% TS)	C (% TS)	S (% TS)	H (% TS)	P _{ges} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Zuckergehalt (% TS)
100 / 0	0,26	n.n.	40200	4,47	25,12	0,38	4,79	523,90	n.n.
25 / 75	0,23	n.n.	43150	4,70	26,54	0,39	5,28	498,80	n.n.
50 / 50	0,27	n.n.	46870	4,30	23,80	0,37	4,49	429,50	n.n.

Tab. A4: Chemische Analyse der Inokula des KTVA-Leistungsversuchs 2

gleiches Inokulum bei allen Ansätzen	TS ₁₀₅ (% FM)	oTS (% TS)	pH (-)	Leitfähigkeit (mS cm ⁻¹)	NH ₄ -N (mg kg _{FM} ⁻¹)	N _{Kjeld.} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Methanol (g L _{FM} ⁻¹)	Ethanol (g L _{FM} ⁻¹)	Propanol (g L _{FM} ⁻¹)
	5,87	51,79	7,31	5,25	57,06	2994	<0,02	<0,02	<0,02

gleiches Inokulum bei allen Ansätzen	Essigsäure (g L _{FM} ⁻¹)	Propionsäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	2,3- Butandiol (g L _{FM} ⁻¹)	1,2-Propandiol (g L _{FM} ⁻¹)	Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	i- Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Capronsäure (g L _{FM} ⁻¹)
	0,44	0,12	0,02	n.b.	n.b.	<0,02	0,03	<0,02	<0,02

gleiches Inokulum bei allen Ansätzen	Essigsäure equivalent (g L _{FM} ⁻¹)	Milchsäure (g kg _{FM} ⁻¹)	CSB (mg L _{FM} ⁻¹)	N (% TS)	C (% TS)	S (% TS)	H (% TS)	P _{ges} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Zuckergehalt (% TS)
	0,57	n.n.	50918	4,81	26,03	0,35	4,94	383,20	0,05

Tab. A5: Chemische Analyse der besiedelten MFGPs für KTVA-Leistungsversuch 1

Verdünnung Ino / Wasser	TS ₁₀₅ (% FM)	oTS (% TS)	oTS (% FM)
100 / 0	32,63	7,89	2,57
25 / 75	33,24	9,69	3,22
50 / 50	33,65	9,37	3,15

Tab. A6: Chemische Analyse der besiedelten MFGPs für KTVA-Leistungsversuch 2

TS ₁₀₅ (% FM)	oTS (% TS)	oTS (% FM)
34,87	11,81	4,12

Tab. A7: Ergebnisse der qPCR-Analyse der Inokula und der besiedelten MFGPs für KTVA-Leistungsversuch 1

Verdünnung Ino / Wasser		flüssige Phase		besiedelte MFGPs	
		BAC	ARC	BAC	ARC
		(10 ⁹ 16s rRNA Genkopien g _{FM} ⁻¹)	(10 ⁹ 16s rRNA Genkopien g _{FM} ⁻¹)	(10 ⁹ 16s rRNA Genkopien g _{FM} ⁻¹)	(10 ⁹ 16s rRNA Genkopien g _{FM} ⁻¹)
100 / 0	Mittelwert	747,7	3,2	193,8	42,8
	Standardabw.	58,2	0,4	12,1	7,8
25 / 75	Mittelwert	408,4	4,7	191,5	46,7
	Standardabw.	2,7	0,3	20,4	5,4
50 / 50	Mittelwert	357,5	3,8	125,1	75,7
	Standardabw.	40,6	0,4	4,7	10,2

Tab. A8: Ergebnisse der qPCR-Analyse der Inokula und der besiedelten MFGPs für KTVA-Leistungsversuch 2

gleiches Inokulum bei allen Ansätzen	flüssige Phase		besiedelte MFGPs	
	BAC	ARC	BAC	ARC
	(10 ⁹ 16s rRNA Genkopien g _{FM} ⁻¹)	(10 ⁹ 16s rRNA Genkopien g _{FM} ⁻¹)	(10 ⁹ 16s rRNA Genkopien g _{FM} ⁻¹)	(10 ⁹ 16s rRNA Genkopien g _{FM} ⁻¹)
Mittelwert	535,7	3,9	185,1	92,8
Standardabw.	75,5	0,2	25,3	6,9

Tab. A9: Übersicht der zum Versuchsende ermittelten Daten, KTVA-Besiedlungsversuch 1

Besiedlungsversuch 1		Inoku	Kon	Ref SE	Ref	Ref	Ref	Ref	Ben	Ben	Ref	Ref	Ref	VOR
Adhäsion		lum	trolle		red	red	red	red	gew	gew	SE	X	C-X	
Methan bildungs leistung	Methanausbeute (L (kg oS) ⁻¹)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Methangehalt (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	pH (-)	7,0	7,2	8,0	7,6	7,9	7,5	10,0	7,7	10,3	7,7	7,7	7,7	7,8
	oTS-Gehalt (% TS)	-	-	0,54	0,18	0,49	0,60	1,46	0,79	2,07	0,46	0,59	0,59	0,57
	oTS-Gehalt (% FM)	-	-	0,22	0,08	0,22	0,24	0,61	0,27	0,71	0,19	0,24	0,24	0,21
	DNA-Gehalt (ng (mg FM) ⁻¹)	-	-	90,6	66,2	65,7	95,5	76,2	146,7	135,0	103,4	88,7	88,7	120,0
	BAC-Gehalt (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	34,4	26,9	30,5	54,5	38,7	45,5	46,3	42,2	33,5	33,5	62,8
	Standardabw.	-	-	3,9	1,2	2,7	6,1	8,3	1,3	8,8	4,7	1,8	1,8	5,7
	ARC-Gehalt (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	2,6	2,2	5,7	3,8	7,5	8,0	10,1	7,9	4,9	4,9	4,7
	Standardabw.	-	-	0,7	1,1	1,8	0,1	1,0	0,7	1,0	1,0	0,6	0,6	1,0
Biofilm	BAC+ ARC (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	37,0	29,1	36,3	58,3	46,3	53,6	56,5	50,0	38,4	38,4	67,6
	Standardabw.	-	-	4,1	2,3	3,4	6,1	8,3	1,1	8,5	5,3	2,3	2,3	6,6
	Anteil ARC (%)	-	-	6,9	7,6	15,8	6,6	16,3	15,0	17,9	15,7	12,7	12,7	7,0
	ARC/BAC (-)	-	-	0,07	0,08	0,19	0,07	0,19	0,18	0,22	0,19	0,15	0,15	0,08
	oTS-Gehalt (% FM)	1,43	1,41	1,48	1,38	1,43	1,42	1,53	1,43	1,84	1,45	1,52	1,52	1,34
	DNA-Gehalt (µg (mL FM) ⁻¹)	416,8	577,9	309,6	392,7	324,3	201,9	286,9	195,7	539,5	463,8	448,2	448,2	457,7
	BAC-Gehalt (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	287,5	213,6	142,5	210,4	148,9	108,6	221,6	102,7	328,3	170,4	248,5	248,5	264,7
	Standardabw.	25,9	46,5	7,0	9,6	13,1	17,1	40,3	11,0	17,7	13,4	26,7	26,7	33,7
	ARC-Gehalt (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	16,8	16,3	17,5	19,8	17,4	6,6	18,6	12,4	39,3	21,0	25,6	25,6	23,2
	Standardabw.	2,3	4,6	6,5	7,2	6,4	0,5	5,2	2,9	4,5	4,6	9,2	9,2	4,9
flüssige Phase	BAC+ ARC (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	304,3	229,9	163,1	230,2	166,2	110,9	240,2	115,0	367,7	191,5	274,1	274,1	287,8
	Standardabw.	26,1	49,7	13,0	10,0	15,3	21,3	45,5	8,3	13,7	17,7	35,6	35,6	37,9
	Anteil ARC (%)	5,5	7,1	10,7	8,6	10,4	6,0	7,7	10,7	10,7	11,0	9,3	9,3	8,0
	ARC/BAC (-)	0,06	0,08	0,12	0,09	0,12	0,06	0,08	0,12	0,12	0,12	0,10	0,10	0,09

Tab. A10: Übersicht der zum Versuchsende ermittelten Daten, KTVA-Besiedlungsversuch 2

<i>Besiedlungsversuch 2 Einfluss des Substrates</i>		Inoku- lum	Kon- trolle	RS ohne SE	RS mit SE	GL ohne SE	GL mit SE
Methan- bildungs- leistung	Methanausbeute (L (kg oS)⁻¹)	-	333	350	371	300	285
	Methangehalt (%)	-	53,5	52,6	54,5	47,3	47,8
	pH (-)	7,5	7,4	7,6	7,5	7,4	7,4
Biofilm	oTS-Gehalt (% TS)	-	-	3,67	2,58	3,58	3,10
	oTS-Gehalt (% FM)	-	-	1,39	1,10	1,56	1,39
	DNA-Gehalt (ng (mg FM)⁻¹)	367,8	-	54,3	98,5	106,2	75,7
	BAC-Gehalt (10⁹ Genkopien (g FM)⁻¹)	71,1	-	8,5	10,5	7,5	30,7
	Standardabw.	10,5	-	0,1	2,1	1,9	5,3
	ARC-Gehalt (10⁹ Genkopien (g FM)⁻¹)	3,8	-	8,8	13,6	21,1	9,2
	Standardabw.	0,7	-	3,1	0,8	5,0	1,0
	BAC+ ARC (10⁹ Genkopien (g FM)⁻¹)	74,8	-	15,8	24,4	28,6	39,8
	Standardabw.	11,2	-	2,8	2,2	6,1	4,3
	Anteil ARC (%)	5,0	-	55,6	55,9	73,9	23,0
	ARC/BAC (-)	0,05	-	1,04	1,3	2,8	0,3

Tab. A11: Übersicht der zum Versuchsende ermittelten Daten, KTVA-Besiedlungsversuch 3 (Laufzeit 2 Wochen)

Besiedlungsversuch 3		Inoku	Kon	Ref SE	Ref	Ref	Ref SE	Ref	Ben	Ben	Ref X	Ref	VOR
Kinetik der Biofilmbildung (2 Wo)		lum	trolle		red	red	red	red	gew	gew		C-X	
Methan bildungs leistung	Methanausbeute (L (kg oS) ⁻¹)	-	337	326	335	337	342	139	324	276	325	328	331
	Methangehalt (%)	-	53,3	54,6	54,4	54,5	53,7	69,9	53,6	62,5	53,6	53,6	54,0
	pH (-)	7,3	6,9	7,3	7,2	7,1	7,1	7,9	7,3	7,6	7,3	7,2	7,1
	oTS-Gehalt (% TS)	-	-	1,11	1,23	1,51	1,27	1,18	1,48	1,04	0,89	0,94	0,50
	oTS-Gehalt (% FM)	-	-	0,37	0,40	0,64	0,41	0,42	0,43	0,33	0,31	0,34	0,14
	DNA-Gehalt (ng (mg FM) ⁻¹)	-	-	76,2	121,5	106,8	109,3	29,6	126,9	17,3	25,1	101,3	15,6
	BAC-Gehalt (10 ⁸ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	11,5	24,0	27,0	22,7	15,8	24,5	15,5	11,9	21,9	4,6
	Standardabw.	-	-	0,2	2,2	2,4	2,2	6,4	4,9	3,4	2,7	0,3	0,3
	ARC-Gehalt (10 ⁸ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	7,6	4,3	7,3	4,9	0,4	7,7	2,5	4,7	4,2	0,8
	Standardabw.	-	-	2,1	1,0	0,7	0,5	0,0	0,8	0,1	0,8	0,6	0,1
Biofilm	BAC+ ARC (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	17,9	28,3	34,3	27,6	16,2	32,2	18,0	16,6	26,1	5,4
	Standardabw.	-	-	0,4	3,0	3,1	1,7	6,4	5,4	3,3	3,5	0,3	0,2
	Anteil ARC (%)	-	-	42,3	15,3	21,4	17,8	2,3	23,9	13,9	28,4	16,0	14,4
	ARC/BAC (-)	-	-	0,66	0,18	0,27	0,22	0,02	0,31	0,16	0,40	0,19	0,17
	oTS-Gehalt (% FM)	1,46	1,63	1,69	1,46	1,34	1,47	2,16	1,44	1,91	1,52	1,42	1,43
	DNA-Gehalt (µg (mL FM) ⁻¹)	74,7	158,6	85,4	73,3	61,8	54,2	77,6	158,6	76,9	4,3	73,3	62,2
	BAC-Gehalt (10 ⁸ Genkopien (g FM) ⁻¹)	20,2	27,9	40,0	20,3	26,8	24,2	47,0	37,7	25,2	2,6	25,9	20,1
	Standardabw.	2,2	1,4	2,5	2,2	4,5	3,6	2,0	3,9	2,4	0,5	1,6	3,2
	ARC-Gehalt (10 ⁸ Genkopien (g FM) ⁻¹)	1,3	0,9	1,7	0,9	1,1	1,1	0,2	2,1	1,2	0,1	0,8	1,9
	Standardabw.	0,3	0,2	0,1	0,2	0,0	0,2	0,0	0,3	0,1	0,0	0,2	0,1
flüssige Phase	BAC+ ARC (10 ⁸ Genkopien (g FM) ⁻¹)	21,5	28,8	41,7	21,3	27,9	25,3	47,2	39,8	26,4	2,7	26,7	22,0
	Standardabw.	2,4	1,5	2,6	2,2	4,5	3,4	2,0	4,0	2,5	0,5	1,8	3,3
	Anteil ARC (%)	6,1	3,0	4,0	4,3	3,9	4,5	0,4	5,3	4,5	4,7	3,0	8,7
	ARC/BAC (-)	0,06	0,03	0,04	0,05	0,04	0,05	0,00	0,06	0,05	0,05	0,03	0,10

Tab. A12: Übersicht der zum Versuchsende ermittelten Daten, KTVA-Besiedlungsversuch 3 (Laufzeit 12 Wochen)

Besiedlungsversuch 3		Inoku	Kon	Ref SE	Ref	Ref	Ref SE	Ref	Ben	Ben	Ref X	Ref	VOR
Kinetik der Biofilmbildung (12 Wo)		lum	trolle		red	red	red	red	gew	gew		C-X	
Methan bildungs leistung	Methanausbeute (L (kg oS) ⁻¹)	-	320	316	332	328	326	333	334	327	320	330	313
	Methangehalt (%)	-	51,4	53,6	53,1	53,5	52,9	51,5	52,1	52,6	52,3	52,2	51,7
	pH (-)	7,3	7,0	7,1	7,0	7,0	7,0	7,4	7,2	7,2	7,1	7,1	7,1
	oTS-Gehalt (% TS)	-	-	1,99	1,79	1,79	1,70	0,91	2,30	2,21	1,83	1,52	0,25
	oTS-Gehalt (% FM)	-	-	0,73	0,71	0,80	0,68	0,35	0,70	0,71	0,72	0,55	0,10
	DNA-Gehalt (ng (mg FM) ⁻¹)	-	-	58,3	38,3	30,8	54,0	35,3	33,5	32,1	55,8	57,1	17,7
	BAC-Gehalt (10 ⁸ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	23,4	16,5	3,5	12,5	17,7	19,5	17,5	18,9	28,1	3,0
	Standardabw.	-	-	3,1	1,2	0,7	2,2	2,1	1,7	0,9	0,8	1,0	0,4
	ARC-Gehalt (10 ⁸ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	20,0	5,6	3,4	9,9	9,9	7,3	7,5	8,9	8,7	1,7
	Standardabw.	-	-	3,4	0,6	0,1	1,2	1,4	0,7	0,6	1,3	2,7	0,2
Biofilm	BAC+ ARC (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	43,4	22,1	7,0	22,3	27,6	26,8	25,0	27,9	36,8	4,7
	Standardabw.	-	-	6,6	1,8	0,8	3,4	2,1	2,3	0,6	1,9	3,7	0,2
	Anteil ARC (%)	-	-	46,1	25,4	49,1	44,2	36,0	27,3	30,0	32,1	23,5	36,1
	ARC/BAC (-)	-	-	0,86	0,34	0,97	0,79	0,56	0,38	0,43	0,47	0,31	0,57
	oTS-Gehalt (% FM)	1,46	1,37	1,18	1,15	1,25	1,18	1,22	1,20	1,21	1,24	1,27	1,44
	DNA-Gehalt (µg (mL FM) ⁻¹)	74,7	39,6	35,0	25,8	19,1	36,9	54,7	45,2	29,3	36,7	45,1	60,7
	BAC-Gehalt (10 ⁸ Genkopien (g FM) ⁻¹)	20,2	28,7	30,8	25,5	15,3	9,4	31,1	29,4	23,9	20,9	26,4	28,4
	Standardabw.	2,2	5,3	3,0	1,6	5,7	3,7	4,7	1,9	0,5	1,6	5,8	4,8
	ARC-Gehalt (10 ⁸ Genkopien (g FM) ⁻¹)	1,3	3,3	2,9	2,4	2,4	2,5	5,2	2,4	2,7	2,5	1,9	7,8
	Standardabw.	0,3	0,4	0,7	0,5	0,2	0,7	0,6	0,4	0,4	0,2	0,3	1,9
flüssige Phase	BAC+ ARC (10 ⁸ Genkopien (g FM) ⁻¹)	21,5	31,9	33,7	27,9	17,6	12,0	36,3	31,8	26,6	23,0	28,3	36,3
	Standardabw.	2,4	5,0	2,8	1,9	5,8	3,3	4,7	2,3	0,5	1,7	6,1	3,3
	Anteil ARC (%)	6,1	10,3	8,6	8,5	13,4	21,0	14,4	7,5	10,1	11,0	6,7	21,6
	ARC/BAC (-)	0,06	0,11	0,09	0,09	0,16	0,27	0,17	0,08	0,11	0,12	0,07	0,28

Tab. A13: Übersicht der zum Versuchsende ermittelten Daten, KTVA-Besiedlungsversuch 4
– Methanbildungsleistung

Besiedlungsversuch 4 Prozessleistung		Inoku lum 1	Inoku lum 2	Kon trolle	Ref SE	Ref red	Ref	Ref red SE	Ref gew	Ben	Ben gew	Ref X	Ref C-X	VOR
Methan bildungs leistung	Methanausbeute (L (kg oS)⁻¹)	-	-	356	352	358	353	353	314	335	340	362	350	359
	Standardabw.	-	-	1	5	4	5	2	7	20	15	6	17	1
	Methangehalt (%)	-	-	51,7	53,5	53,7	53,6	53,5	50,4	52,5	52,5	53,7	53,8	52,9
	Standardabw.	-	-	0,5	0,9	0,6	0,3	0,3	1,6	2,5	1,4	1,5	1,4	0,1
	pH (-)	7,2	7,2	7,2	7,3	7,3	7,3	7,3	7,6	7,3	7,5	7,4	7,4	7,2
	Standardabw.	-	-	0,01	0,04	0,06	0,05	0,02	0,02	0,04	0,01	0,06	0,04	0,04

Tab. A14: Übersicht der zum Versuchsende ermittelten Daten, KTVA-Besiedlungsversuch 4
– Mikroorganismenpopulation

Parallele	Inoku lum 1	Inoku lum 2	Kon trolle 1	Kon trolle 2	Kon trolle 3	Ref 1	Ref 2	Ref 3	Ref gew 1	Ref gew 2	Ref gew 3	VOR 1	VOR 2	VOR 3
oTS-Gehalt (% TS)	-	-	-	-	-	2,32	2,39	2,34	2,09	1,74	1,46	0,48	0,61	0,59
oTS-Gehalt (% FM)	-	-	-	-	-	1,06	1,05	1,01	0,85	0,68	0,56	0,20	0,22	0,22
DNA-Gehalt (ng (mg FM) ⁻¹)	-	-	-	-	-	213,9	273,8	284,5	219,6	228,6	183,9	219,9	121,9	121,4
BAC-Gehalt (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	-	-	-	107,9	80,7	85,4	185,0	110,6	123,6	41,0	59,6	83,2
Standardabw.	-	-	-	-	-	11,4	14,4	2,4	10,1	6,5	8,3	6,5	6,8	4,7
ARC-Gehalt (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	-	-	-	7,2	6,4	3,1	182,5	156,1	77,6	1,6	5,9	12,5
Standardabw.	-	-	-	-	-	0,7	2,7	0,9	23,3	25,7	6,2	0,8	1,1	3,7
BAC+ ARC (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	-	-	-	-	-	115,1	87,2	88,5	367,6	266,8	201,3	42,6	65,5	95,7
Standardabw.	-	-	-	-	-	12,1	17,1	3,1	15,1	22,8	2,7	7,2	5,7	5,9
Anteil ARC (%)	-	-	-	-	-	6,2	7,4	3,5	49,7	58,5	38,6	3,7	9,0	13,0
ARC/BAC (-)	-	-	-	-	-	0,07	0,08	0,04	0,99	1,41	0,63	0,04	0,10	0,15
oTS-Gehalt (% FM)	1,23	1,27	1,26	1,33	1,37	1,06	1,04	1,09	1,13	1,38	1,12	1,26	1,39	1,46
DNA-Gehalt (µg (mL FM) ⁻¹)	106,9	95,6	372,7	501,3	407,6	259,3	231,8	314,6	601,1	694,0	492,8	630,1	512,3	629,0
BAC-Gehalt (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	289,7	195,1	175,1	176,8	192,8	196,3	203,2	155,2	272,8	485,0	322,3	295,7	132,4	388,6
Standardabw.	37,8	38,1	21,5	22,6	12,7	22,9	22,8	12,7	2,1	77,3	64,4	39,8	24,6	72,2
ARC-Gehalt (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	20,8	18,5	9,4	7,7	6,8	2,9	4,1	2,4	79,2	109,3	58,7	17,2	9,4	7,2
Standardabw.	2,6	1,2	3,4	2,2	2,9	0,6	0,6	0,3	35,3	19,7	6,2	7,3	4,3	3,4
BAC+ ARC (10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)	310,5	213,6	184,4	184,5	199,6	199,1	207,3	157,5	352,0	594,4	381,0	312,9	141,8	395,8
Standardabw.	35,6	37,8	19,7	21,0	12,8	22,6	22,9	12,5	37,4	57,8	58,5	32,6	28,9	68,9
Anteil ARC (%)	6,7	8,7	5,1	4,2	3,4	1,4	2,0	1,5	22,5	18,4	15,4	5,5	6,6	1,8
ARC/BAC (-)	0,07	0,09	0,05	0,04	0,04	0,01	0,02	0,02	0,29	0,23	0,18	0,06	0,07	0,02

Tab. A15: Wirkung der Aufwuchsträger auf die Mikroorganismenpopulation im Versuchsansatz (bei Einsatz des Musters „Ref“)

		Vergleich zwischen Kontrolle und INO (%)	Vergleich zwischen FL und Kontrolle (%)	Vergleich zwischen "Ref" und "VOR" (%)
Besiedlungsversuch 1 Adhäsion	16S rRNA Genkopien bezogen auf TM _{MFGP} bzw. FM _{FL}	BAC + ARC	-24,4	-27,7
		ARC	-2,7	6,4
	prozentualer Anteil ARC		28,7	47,2
				125,9
Besiedlungsversuch 3 Kinetik der Biofilmbildung (2 Wo)	16S rRNA Genkopien bezogen auf TM _{MFGP} bzw. FM _{FL}	BAC + ARC	34,2	-3,0
		ARC	-34,4	26,7
	prozentualer Anteil ARC		-51,1	30,7
				48,7
Besiedlungsversuch 3 Kinetik der Biofilmbildung (12 Wo)	16S rRNA Genkopien bezogen auf TM _{MFGP} bzw. FM _{FL}	BAC + ARC	48,7	-44,7
		ARC	150,5	-27,7
	prozentualer Anteil ARC		68,5	30,9
				35,9
Besiedlungsversuch 4 Prozessleistung (16 Wo)	16S rRNA Genkopien bezogen auf TM _{MFGP} bzw. FM _{FL}	BAC + ARC	-27,7	-0,8
		ARC	-59,6	-60,7
	prozentualer Anteil ARC		-45,1	-60,9
				-33,7

Tab. A16: Mikroorganismenpopulation im Biofilm auf den MFGPs, Vergleich aller neuen Muster mit „VOR“

	Ref SE zu VOR	Ref red zu VOR	Ref zu VOR	Ref red SE zu VOR	Ref gew zu VOR	Ben zu VOR	Ben gew zu VOR	Ref X zu VOR	Ref C-X zu VOR		
Besiedlungsversuch 1 Adhäsion	16S rRNA Genkopien bezogen auf TM _{MFGP}	BAC + ARC	-51,7	-65,3	-56,9	-22,7	-40,0	-15,2	-11,5	-36,1	-49,3
		ARC	-52,3	-62,5	-2,7	-27,1	39,9	81,8	127,2	43,5	-7,9
		prozentualer Anteil ARC	-1,2	8,0	125,9	-5,7	133,1	114,5	156,6	124,4	81,8
Besiedlungsversuch 3 Kinetik der Biofilmbildung (2 Wo)	16S rRNA Genkopien bezogen auf TM _{MFGP}	BAC + ARC	184,3	356,7	328,7	353,6	135,7	483,9	194,4	149,5	281,2
		ARC	737,2	384,7	537,6	462,9	-62,9	872,4	185,7	393,1	324,7
		prozentualer Anteil ARC	194,5	6,1	48,7	24,1	-84,2	66,5	-3,0	97,6	11,4
Besiedlungsversuch 3 Kinetik der Biofilmbildung (12 Wo)	16S rRNA Genkopien bezogen auf TM _{MFGP}	BAC + ARC	950,0	395,3	38,8	394,1	528,8	685,6	591,7	527,1	793,8
		ARC	1240,5	248,5	88,7	504,4	525,8	493,5	473,4	456,9	482,4
		prozentualer Anteil ARC	27,7	-29,7	35,9	22,3	-0,5	-24,5	-17,1	-11,2	-34,8
Besiedlungsversuch 4 Prozessleistung (16 Wo)	16S rRNA Genkopien bezogen auf TM _{MFGP}	BAC + ARC	-	-	24,8	-	301,2	-	-	-	-
		ARC	-	-	-27,9	-	1915,8	-	-	-	-
		prozentualer Anteil ARC	-	-	-33,7	-	468,8	-	-	-	-

Tab. A17: Beeinflussung der Mikroorganismenpopulation in der flüssigen Phase durch die MFGPs im Vergleich zur Kontrolle ohne MFGPs

		Ref SE zu Kontr.	Ref red zu Kontr.	Ref zu Kontr.	Ref red SE zu Kontr.	Ref gew zu Kontr.	Ben zu Kontr.	Ben gew zu Kontr.	Ref X zu Kontr.	Ref C-X zu Kontr.	VOR zu Kontr.
Besiedlungsversuch 1 Adhäsion	16S rRNA Genkopien bezogen auf FM _{FL}	BAC + ARC -29,1	0,1	-27,7	-51,7	4,4	-50,0	59,9	-16,7	19,2	25,2
	ARC	7,1	21,2	6,4	-59,4	13,9	-24,2	141,2	28,9	57,0	42,0
	prozentualer Anteil ARC	51,0	21,0	47,2	-15,8	9,1	51,4	50,8	54,9	31,7	13,4
Besiedlungsversuch 3 Kinetik der Biofilmbildung (2 Wo)	16S rRNA Genkopien bezogen auf FM _{FL}	BAC + ARC 44,6	-26,2	-3,0	-12,1	63,7	38,2	-8,3	-90,6	-7,3	-23,6
	ARC	93,8	7,8	26,7	34,0	-79,1	147,1	39,6	-85,1	-5,2	123,9
	prozentualer Anteil ARC	34,0	46,1	30,7	52,4	-87,2	78,8	52,3	58,1	2,2	192,9
Besiedlungsversuch 3 Kinetik der Biofilmbildung (12 Wo)	16S rRNA Genkopien bezogen auf FM _{FL}	BAC + ARC 5,4	-12,7	-44,7	-62,6	13,6	-0,5	-16,7	-27,9	-11,5	13,5
	ARC	-11,8	-28,0	-27,7	-23,3	59,3	-26,9	-18,3	-22,4	-42,5	138,8
	prozentualer Anteil ARC	-16,4	-17,5	30,9	104,9	40,2	-26,5	-2,0	7,6	-35,0	110,4
Besiedlungsversuch 4 Prozessleistung (16 Wo)	16S rRNA Genkopien bezogen auf FM _{FL}	BAC + ARC -	-	-0,8	-	133,5	-	-	-	-	49,6
	ARC	-	-	-60,7	-	936,6	-	-	-	-	41,4
	prozentualer Anteil ARC	-	-	-60,9	-	345,0	-	-	-	-	10,0

Tab. A18: zu KTVA-Leistungsversuch 1: Vergleich der methanogenen Leistung mit und ohne MFGPs bei unterschiedlichen Verdünnungsstufen der flüssigen Phase

0% Wasser		50% Wasser		75% Wasser		100% Wasser	
Anteil MFGPs		Anteil MFGPs		Anteil MFGPs		Anteil MFGPs	
0%	6%	0%	6%	0%	6%	0%	6%
MAXIMAL erreichte Ausbeute (L kg _{os} ⁻¹)							
278	272	316	344	304	326	0	358
Unterschied der MAXIMAL erreichten Ausbeute durch die Zugabe von MFGPs (%)							
-	-2,0	-	9,1	-	7,3	wurde erst möglich durch die MFGPs	
Zeitpunkt bei dem 50% der MAX Ausbeute die ohne MFGPs erreicht wurde vorliegen (d)							
0,55	0,68	2,55	0,48	1,19	0,43	-	-
Veränderung des Zeitpunkts bei dem 50% der MAXIMALEN Ausbeute ohne MFGPs erreicht wurde durch die Zugabe von MFGPs (%)							
-	23,5	-	-81,1	-	-63,4	wurde erst möglich durch die MFGPs	

Tab. A19: zu KTVA-Leistungsversuch 2: Vergleich der methanogenen Leistung bei unterschiedlichen MFGP-Konzentrationen

1. Beschickung				2. Beschickung				3. Beschickung				4. Beschickung			
Anteil MFGPs				Anteil MFGPs				Anteil MFGPs				Anteil MFGPs			
0%	2%	4%	6%	0%	2%	4%	6%	0%	2%	4%	6%	0%	2%	4%	6%
MAXIMAL erreichte Ausbeute (L kg_{os}⁻¹)															
320	349	353	343	336	407	371	377	440	378	346	348	369	307	325	307
Unterschied der MAXIMAL erreichten Ausbeute durch die Zugabe von MFGPs (%)															
-	9,1	10,4	7,2	-	21,3	10,6	12,1	-	-14,0	-21,3	-21,0	-	-16,8	-11,9	-16,9
Zeitpunkt bei dem 50% der MAX Ausbeute die ohne MFGPs erreicht wurde vorliegen (d)															
1,34	0,41	0,32	0,28	0,95	0,44	0,37	0,32	0,93	0,65	0,62	0,53	0,79	0,83	0,85	0,78
Veränderung des Zeitpunkts bei dem 50% der MAXIMALEN Ausbeute ohne MFGPs erreicht wurde durch die Zugabe von MFGPs (%)															
-	-69,5	-76,3	-79,1	-	-54,2	-61,1	-66,0	-	-29,9	-33,2	-42,9	-	5,9	8,2	-1,3

Tab. A20: zu KTVA-Leistungsversuch 2: chemische Analyse der flüssigen Phase zum Versuchsende, Versuchsansätze mit Substratzugabe

Anteil MFGPs im Ansatz	TS ₁₀₅ (% FM)	oTS (% TS)	pH (-)	Leitfähigkeit (mS cm ⁻¹)	NH ₄ -N (mg kg _{FM} ⁻¹)	N _{K_{ield}} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Methanol (g L _{FM} ⁻¹)	Ethanol (g L _{FM} ⁻¹)	Propanol (g L _{FM} ⁻¹)
ohne	1,55	43,30	7,29	4,20	278	825	< 0,02	< 0,02	< 0,02
2 Massen-%	1,63	43,09	7,42	4,56	258	808	< 0,02	< 0,02	< 0,02
4 Massen-%	1,69	43,94	7,45	5,10	238	815	< 0,02	< 0,02	< 0,02
6 Massen-%	1,73	43,74	7,48	5,60	227	838	< 0,02	< 0,02	< 0,02

Anteil MFGPs im Ansatz	Essigsäure (g L _{FM} ⁻¹)	Propionsäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Capronsäure (g L _{FM} ⁻¹)	Essigsäure equivalent (g L _{FM} ⁻¹)
ohne	0,03	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,03
2 Massen-%	0,03	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,03
4 Massen-%	0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,02
6 Massen-%	0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,02

Tab. A21: zu KTVA-Leistungsversuch 2: chemische Analyse der flüssigen Phase zum Versuchsende, Ansätze ohne Substratzugabe zur Bestimmung der Nullwerte

Anteil MFGPs im Ansatz	TS ₁₀₅ (% FM)	oTS (% TS)	pH (-)	Leitfähigkeit (mS cm ⁻¹)	NH ₄ -N (mg kg _{FM} ⁻¹)	N _{Kjeld.} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Methanol (g L _{FM} ⁻¹)	Ethanol (g L _{FM} ⁻¹)	Propanol (g L _{FM} ⁻¹)
ohne	1,23	46,05	7,34	3,35	245	730	< 0,02	< 0,02	< 0,02
2 Massen-%	1,28	45,02	7,54	4,20	261	724	< 0,02	< 0,02	< 0,02
4 Massen-%	1,32	44,14	7,61	5,05	273	735	< 0,02	< 0,02	< 0,02
6 Massen-%	1,39	43,04	7,66	5,66	267	748	< 0,02	< 0,02	< 0,02

Anteil MFGPs im Ansatz	Essigsäure (g L _{FM} ⁻¹)	Propionsäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Capronsäure (g L _{FM} ⁻¹)	Essigsäure equivalent (g L _{FM} ⁻¹)
ohne	0,10	0,04	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,13
2 Massen-%	0,06	0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,07
4 Massen-%	0,04	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,04
6 Massen-%	0,04	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	0,04

Versuchsergebnisse des CSTR-Versuchs

Tab. A22a: Eigenschaften von Inokulum und Rindergülle, verwendet im CSTR-Versuch

	TS ₁₀₅ (% FM)	oTS (% TS)	pH (-)	Leitfähigkeit (mS cm ⁻¹)	NH ₄ -N (mg kg _{FM} ⁻¹)	N _{Kjeld.} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Methanol (g L _{FM} ⁻¹)	Ethanol (g L _{FM} ⁻¹)	Propanol (g L _{FM} ⁻¹)
Ino Schuby	1,64	58,77	7,22	4,47	174,10	855	0,02	<0,02	<0,02
Rinder gülle RG	6,85	77,54	6,66	9,94	892,80	2103	0,02	<0,02	<0,02
Filtrat der RG	4,09	69,86	6,75	11,08	909,10	2023	<0,02	<0,02	<0,02
	Essigsäure (g L _{FM} ⁻¹)	Propionsäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	2,3- Butandiol (g L _{FM} ⁻¹)	1,2-Propandiol (g L _{FM} ⁻¹)	Buttersäure (g L _{FM} ⁻¹)	i-Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Valeriansäure (g L _{FM} ⁻¹)	Capronsäure (g L _{FM} ⁻¹)
Ino Schuby	0,03	<0,02	<0,02	n.n.	n.n.	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Rinder gülle RG	3,03	1,03	0,17	n.n.	n.n.	0,52	0,15	0,12	<0,02
Filtrat der RG	3,00	1,04	0,17	n.n.	n.n.	0,53	0,15	0,13	<0,02
	Essigsäure equivalent (g L _{FM} ⁻¹)	Milchsäure (g kg _{FM} ⁻¹)	CSB (mg L _{FM} ⁻¹)	N (% TS)	C (% TS)	S (% TS)	H (% TS)	P _{ges} (mg kg _{FM} ⁻¹)	Zuckergehalt (% TS)
Ino Schuby	0,03	n.n.	14257	3,99	30,99	0,34	5,31	245,00	0,17
Rinder gülle RG	4,50	n.n.	103490	1,89	42,57	0,38	5,98	391,70	0,13
Filtrat der RG	4,49	n.n.	49961	3,32	44,65	0,47	6,59	450,10	0,23

Tab. A22b: Eigenschaften von Inokulum und Rindergülle, verwendet im CSTR-Versuch

	Al	As	B	Ba	Ca	Cd	Co	Cr	Cu
	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)
Ino	245	n.b.	1,71	n.b.	296,10	< 0,01	0,22	< 0,01	0,10
Schuby									
Rinder	65	n.b.	0,39	n.b.	1761,00	< 0,01	0,06	0,19	3,08
gülle RG									
Filtrat	56	n.b.	0,30	n.b.	1600,00	< 0,01	0,05	0,18	2,67
der RG									
	Fe	K	Mg	Mn	Mo	Na	Ni	Pb	Se
	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)
Ino	173,90	1233	187,50	10,01	< 0,01	97,15	< 0,01	0,20	0,12
Schuby									
Rinder	87,21	1903	635,50	21,22	< 0,01	440,90	< 0,01	1,83	< 0,01
gülle RG									
Filtrat	66,03	1847	570,90	19,64	< 0,01	442,90	< 0,01	1,62	< 0,01
der RG									
	V	W	Zn	Ti	Tl				
	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)				
Ino	n.b.	n.b.	0,66	n.b.	n.b.				
Schuby									
Rinder	n.b.	< 0,01	11,32	n.b.	n.b.				
gülle RG									
Filtrat	n.b.	< 0,01	11,96	n.b.	n.b.				
der RG									

Tab. A23: Zusammenfassung der Leistungsdaten der Rührkesselreaktoren mit (MR) und ohne (CR) MFGPs – Mittelwerte sowie Werte am letzten Tag der jeweiligen Versuchsphase

Mittel über Versuchsphase	OLR		Methan- bildungsrate		Methan- ausbeute		Methan- gehalt		hydraulische Verweilzeit		Reaktor volumen		
	$(g_{os} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1})$		$(\text{L L}^{-1} \text{ d}^{-1})$		(L g_{os}^{-1})		(%)		(d)		(L)		
	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	
1	MW	1,82	1,83	0,618	0,600	0,389	0,377	52,04	52,56	207,65	198,57	41,3	41,1
	Stabw	0,56	0,56	0,212	0,205	0,135	0,143	5,37	4,96	103,27	103,19	1,0	1,0
2, gesamt	MW	2,71	2,75	1,042	1,055	0,389	0,387	53,16	53,25	90,92	91,97	41,6	41,5
	Stabw	0,98	1,02	0,358	0,399	0,034	0,036	1,03	0,97	49,57	56,21	1,2	1,2
2, OLR konst.	MW	3,97	4,00	1,503	1,463	0,379	0,366	53,22	53,18	43,67	43,97	42,1	41,8
	Stabw	0,31	0,24	0,100	0,083	0,017	0,009	0,84	0,63	6,93	8,39	1,0	1,1
3	MW	6,36	6,43	2,385	2,323	0,375	0,361	52,76	52,56	28,87	28,49	38,6	38,2
	Stabw	1,20	1,22	0,457	0,461	0,013	0,013	0,56	0,61	7,49	7,49	2,4	2,3
4-1	MW	7,70	7,79	2,831	2,838	0,368	0,364	52,50	53,10	17,43	16,67	37,7	37,3
	Stabw	0,40	0,37	0,147	0,241	0,013	0,025	0,63	2,39	4,35	2,25	1,2	1,3
4-2, gesamt	MW	7,23	(4,54)	2,603	(1,417)	0,360	(0,194)	52,57	(32,65)	8,48	(315,03)	40,2	39,6
	Stabw	0,21	(3,56)	0,108	(1,242)	0,010	(0,171)	0,65	(24,31)	0,74	(477,14)	0,8	0,9
4-2, bis zum Zusammenbruch CR	MW	7,31	7,30	2,595	2,539	0,355	0,348	52,42	52,37	8,55	8,48	39,8	39,7
	Stabw	0,26	0,29	0,141	0,173	0,012	0,016	0,77	0,88	0,84	0,61	1,0	0,9
4-3	MW	6,31	0,00	2,226	0,006	0,353	0,000	52,42	0,48	4,65	945,81	46,2	37,5
	Stabw	0,16	0,00	0,080	0,024	0,009	0,000	0,83	2,53	0,23	206,78	0,5	0,5
5	MW	(1,17)	3,66	(0,052)	1,387	(0,010)	0,378	(8,86)	52,60	(995,10)	49,46	(44,9)	38,7
	Stabw	(2,37)	0,34	(0,189)	0,167	(0,040)	0,026	(14,62)	2,12	(530,87)	2,09	(0,6)	1,6

Letzter Tag der Versuchsphase	OLR		Methan- bildungsrate		Methan- ausbeute		Methan- gehalt		hydraulische Verweilzeit		Reaktor volumen	
	$(g_{os} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1})$		$(\text{L L}^{-1} \text{ d}^{-1})$		(L g_{os}^{-1})		(%)		(d)		(L)	
	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR
1	1,48	1,49	0,618	0,604	0,417	0,406	52,50	52,90	139,31	138,20	42,4	42,2
2, gesamt	4,02	4,00	1,546	1,502	0,384	0,375	53,50	53,60	39,31	61,54	41,6	41,3
2, OLR konst.	4,02	4,00	1,55	1,50	0,38	0,38	53,50	53,60	39,31	61,54	41,6	41,3
3	7,97	7,90	2,938	2,821	0,369	0,357	51,90	52,00	12,39	15,93	37,0	36,7
4-1	7,88	7,84	2,926	2,965	0,371	0,378	52,20	53,10	16,66	16,21	37,0	36,8
4-2, gesamt	7,35	0,00	2,663	0,071	0,362	0,000	52,90	0,00	8,42	744,89	40,4	38,4
4-2, bis zum Zusammenbruch CR	7,54	7,48	2,678	2,671	0,355	0,357	52,10	53,30	7,74	7,90	38,2	39,3
4-3	6,42	0,00	2,208	0,000	0,344	0,000	52,40	0,00	4,86	817,06	45,9	36,9
5	0,00	3,51	0,003	1,369	0,000	0,389	23,30	53,10	983,38	50,54	44,9	40,8

Tab. A24: Zusammenfassung der chem. Analytik der flüssigen Phase mit (MR) und ohne (CR) MFGPs, Teil 1 – Mittelwerte und letzter Tag der jeweiligen Versuchsphase

Mittel über Versuchsphase	TS ₁₀₅ (% FM)				oTS (% TS)				pH (-)				Leitfähigkeit (mS cm ⁻¹)				NH ₄ -N (mg kg _{FM} ⁻¹)				N _{Kjeld.} (mg kg _{FM} ⁻¹)				FOS/TAC (-)				Essigsäureequi valent (g L _{FM} ⁻¹)				Milchsäure (g kg _{FM} ⁻¹)			
	MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR	
1	MW	2,96	2,92	54,08	53,89	7,39	7,39	7,64	7,63	560	565	1632	1615	0,28	0,29	0,73	0,61	30,16	28,10																	
	Stabw	0,83	0,82	2,68	2,91	0,16	0,16	2,28	2,21	284	288	502	514	0,18	0,20	0,88	0,83	0,00	0,00																	
2, gesamt	MW	4,78	4,63	46,48	47,82	7,52	7,49	9,02	9,05	605	634	2512	2548	0,19	0,19	1,00	0,38	20,00	20,01																	
	Stabw	0,37	0,48	2,04	0,79	0,09	0,08	1,16	1,05	211	211	386	416	0,04	0,03	0,68	0,19	0,00	0,00																	
2, OLR konst.	MW	5,28	5,27	46,89	47,98	7,56	7,47	7,61	7,66	374	365	2908	2553	0,19	0,23	0,71	0,37	20,00	20,01																	
	Stabw	0,06	0,03	0,18	0,61	0,10	0,11	0,13	0,32	62	49	731	55	0,00	0,01	0,15	0,11	0,00	0,00																	
3	MW	5,83	5,81	50,01	51,33	7,40	7,32	6,08	6,00	150	161	2788	2801	0,26	0,29	0,65	0,31	n.n.	n.n.																	
	Stabw	0,18	0,26	1,49	1,45	0,16	0,15	0,64	0,61	85	88	133	124	0,03	0,03	0,76	0,18	-	-																	
4-1	MW	5,08	5,12	52,51	52,44	7,18	7,10	4,83	4,83	72	72	2453	2400	0,31	0,31	1,18	0,38	n.n.	n.n.																	
	Stabw	0,24	0,28	0,81	0,53	0,09	0,07	0,32	0,23	60	56	103	113	0,03	0,01	0,99	0,19	-	-																	
4-2, gesamt	MW	2,57	3,15	54,71	60,74	7,03	5,55	3,45	4,48	107	220	1330	1387	0,33	0,38	0,75	3,46	n.n.	12,99																	
	Stabw	0,35	0,29	1,38	5,42	0,17	1,49	0,22	1,07	38	163	156	123	0,03	0,02	0,67	3,63	-	7,58																	
4-2, bis zum Zu- sammenbruch CR	MW	2,88	3,01	55,70	55,88	7,11	6,88	3,55	3,46	99	68	1477	1511	0,35	0,39	1,40	0,19	n.n.	n.n.																	
	Stabw	0,42	0,29	1,18	1,18	0,06	0,11	0,34	0,17	37	35	165	122	0,03	0,02	0,76	0,15	-	-																	
4-3	MW	1,28	2,60	53,62	56,24	6,73	4,60	2,16	6,13	64	439	623	1306	0,31	n.b.	0,43	9,98	n.n.	n.n.																	
	Stabw	0,16	0,06	1,61	1,82	0,08	0,04	0,22	0,15	5	18	53	16	0,06	-	0,35	1,60	-	-																	
5	MW	2,52	1,94	67,97	51,77	3,78	7,02	4,07	3,54	296	66	700	1014	n.b.	0,26	4,05	0,35	15,59	n.n.																	
	Stabw	0,13	0,78	2,86	1,58	0,05	0,13	0,03	0,41	11	57	5	283	-	0,02	0,64	0,26	0,39	-																	

Letzter Tag der Versuchsphase	TS ₁₀₅ (% FM)				oTS (% TS)				pH (-)				Leitfähigkeit (mS cm ⁻¹)				NH ₄ -N (mg kg _{FM} ⁻¹)				N _{Kjeld.} (mg kg _{FM} ⁻¹)				FOS/TAC (-)				Essigsäureequi valent (g L _{FM} ⁻¹)				Milchsäure (g kg _{FM} ⁻¹)			
	MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR		MR		CR	
1, Versuchsstart	1,54	1,50	58,38	57,54	7,38	7,39	4,46	4,47	171	159	810	799	0,24	0,22	0,04	0,04	n.n.	n.n.																		
	3,99	3,91	49,84	49,72	7,43	7,46	9,23	9,25	688	686	2138	2120	0,14	0,16	0,40	0,26	n.n.	n.n.																		
2, gesamt	5,30	5,31	47,13	48,01	7,43	7,35	7,44	7,28	294	293	2494	2526	0,19	0,24	0,83	0,46	n.n.	n.n.																		
	(2, OLR konst.)	5,30	5,31	47,13	48,01	7,43	7,35	7,44	7,28	294	293	2494	2526	0,19	0,24	0,83	0,46	n.n.	n.n.																	
3	5,87	5,98	51,79	52,43	7,31	7,28	5,25	5,67	57	74	2994	2890	0,28	0,29	0,57	0,41	n.n.	n.n.																		
	4-1	4,95	4,86	52,88	52,33	7,21	7,15	4,42	4,80	40	57	2323	2273	0,36	0,33	1,61	0,40	n.n.	n.n.																	
4-2, gesamt	2,25	3,14	53,81	61,42	6,99	4,47	3,39	5,67	103	362	1207	1310	0,33	n.b.	0,30	8,62	n.n.	1,70																		
	4-2, bis zum Zu- sammenbruch CR	2,57	2,79	57,06	56,37	7,08	6,77	3,17	3,28	93	83	1331	1412	0,38	0,40	0,85	0,22	n.n.	n.n.																	
4-3	1,20	2,54	55,80	54,74	6,67	4,65	1,86	6,31	60	465	574	1294	0,26	0,00	0,50	10,13	n.n.	n.n.																		
	5	2,37	2,82	70,58	50,73	3,78	7,00	4,08	3,97	295	20	707	1326	n.b.	0,25	4,98	0,44	15,05	n.n.																	

Tab. A25: Zusammenfassung der chem. Analytik der flüssigen Phase mit (MR) und ohne (CR) MFGPs, Teil 2 – Werte am letzten Tag der jeweiligen Versuchsphase

Letzter Tag der Versuchsphase	CSB		N		C		S		H		P _{ges}		Zuckergehalt	
	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR
1, Versuchsstart	13020	13269	4,05	4,07	31,05	31,04	0,41	0,39	5,37	5,39	215	214	0,17	0,19
1	30780	28610	3,33	3,88	25,16	27,76	0,25	0,27	4,16	4,74	444	455	0,26	0,18
2, gesamt	37530	39130	4,06	4,07	23,24	23,46	0,36	0,42	3,98	4,16	580	607	0,07	0,07
(2, OLR konst.)	37530	39130	4,06	4,07	23,24	23,46	0,36	0,42	3,98	4,16	580	607	0,07	0,07
3	50918	45823	4,81	4,72	26,03	26,01	0,35	0,40	4,94	4,84	383	475	0,05	0,06
4-1	37745	34883	4,78	4,61	26,57	26,03	0,40	0,45	4,38	4,37	354	404	0,00	0,00
4-2, gesamt	18250	45320	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	165	234	0,09	0,17
4-2, bis zum Zusammenbruch CR	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
4-3	9179	43730	5,03	3,98	29,59	31,42	0,37	0,34	4,52	4,69	126	303	n.b.	0,25
5	34520	21060	4,43	4,74	34,73	25,47	0,36	0,47	6,44	4,17	150	340	2,08	0,13

Letzter Tag der Versuchsphase	Al		B		Ba		Ca		Cd		Co		Cr	
	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR	MR	CR
1, Versuchsstart	244	216	1,70	1,64	n.b.	n.b.	297	277	<0,01	<0,01	0,22	0,21	<0,01	<0,01
1	699	682	2,03	2,02	n.b.	n.b.	713	688	<0,01	<0,01	0,54	0,52	2,01	1,60
2, gesamt	1012	1045	2,17	2,10	n.b.	n.b.	589	568	n.n.	n.n.	0,59	0,60	2,64	1,35
(2, OLR konst.)	1012	1045	2,17	2,10	n.b.	n.b.	589	568	n.n.	n.n.	0,59	0,60	2,64	1,35
3	1085	1096	1,91	1,89	5,66	5,63	527	517	0,03	0,03	0,53	0,55	2,16	1,57
4-1	742	719	1,44	1,38	n.b.	n.b.	375	363	n.n.	n.n.	0,44	0,42	2,02	1,35
4-2, gesamt	392	375	0,79	0,78	n.b.	n.b.	244	265	n.n.	n.n.	0,21	0,24	0,93	0,93
4-2, bis zum Zusammenbruch CR	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
4-3	223	358	0,45	0,79	n.b.	1,90	206	303	n.n.	n.n.	0,10	0,23	0,52	0,96
5	n.b.	n.b.	0,48	1,06	n.b.	2,89	208	307	n.n.	n.n.	0,15	0,28	2,30	1,42

Tab. A26: Zusammenfassung der chem. Analytik der flüssigen Phase mit (MR) und ohne (CR) MFGPs, Teil 3 – Werte am letzten Tag der jeweiligen Versuchsphase

Letzter Tag der Versuchsphase	Cu		Fe		K		Mg		Mn		Mo		Na	
	MR	CR	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	MR	CR	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	MR	CR	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	MR	CR
1, Versuchsstart	0,12	0,05	173	150	1229	1207	187	177	9,87	8,90	< 0,01	< 0,01	97	97
1	1,30	1,25	544	528	2343	2298	444	430	33,24	32,61	0,12	0,11	403	375
2, gesamt	1,10	1,00	613	489	2608	2616	431	443	31,31	34,43	n.n.	n.n.	228	138
(2, OLR konst.)	1,10	1,00	613	489	2608	2616	431	443	31,31	34,43	n.n.	n.n.	228	138
3	1,23	1,05	740	782	2683	2643	383	414	19,08	26,03	n.n.	n.n.	114	90
4-1	0,78	0,72	503	531	1850	1877	275	281	19,73	22,86	0,17	n.n.	77	66
4-2, gesamt	0,51	0,48	277	326	1049	1093	165	189	12,51	17,88	n.n.	n.n.	58	55
4-2, bis zum Zusammenbruch CR	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
4-3	0,39	0,42	146	313	496	1043	104	201	7,59	18,17	n.n.	n.n.	47	54
5	0,41	0,73	174	278	n.b.	n.b.	103	223	9,90	15,48	n.n.	0,09	57	156
Letzter Tag der Versuchsphase	Ni		Pb		Se		V		Zn		Ti		Ti	
	MR	CR	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	MR	CR	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	MR	CR	(mg kg _{FM} ⁻¹)	(mg kg _{FM} ⁻¹)	MR	CR
1, Versuchsstart	< 0,01	< 0,01	0,20	0,18	0,11	0,09	n.b.	n.b.	0,73	0,33	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
1	1,04	0,86	0,91	0,88	0,05	0,05	n.b.	n.b.	7,03	6,85	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
2, gesamt	n.n.	n.n.	0,46	0,41	n.n.	n.n.	1,69	1,72	4,48	4,45	7,22	6,30	1,19	1,40
(2, OLR konst.)	n.n.	n.n.	0,46	0,41	n.n.	n.n.	1,69	1,72	4,48	4,45	7,22	6,30	1,19	1,40
3	n.n.	n.n.	0,34	0,35	n.n.	n.n.	2,12	2,19	2,69	2,99	15,01	15,02	0,49	0,61
4-1	1,11	0,73	0,32	0,32	n.n.	n.n.	1,35	1,27	3,29	2,70	12,70	11,71	0,31	0,31
4-2, gesamt	0,08	0,37	0,15	0,15	n.n.	n.n.	0,74	0,72	1,44	2,15	7,35	6,84	0,17	0,23
4-2, bis zum Zusammenbruch CR	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
4-3	0,23	0,60	0,08	0,13	n.n.	n.n.	0,38	0,64	0,90	2,08	4,69	6,51	n.n.	n.n.
5	0,88	0,85	0,09	0,23	n.n.	n.n.	n.b.	n.b.	1,23	2,22	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

Tab. A27: Entwicklung der TS und oTS-Gehalte der MFGPs

Mittel über Versuchsphase				Letzter Tag der Versuchsphase			
		TS ₁₀₅ (% FM)	oTS (% TS)		TS ₁₀₅ (% FM)	oTS (% TS)	
1	MW	-	-	1	-	-	-
	Stabw	-	-		-	-	-
2, gesamt	MW	32,09	2,06	2, gesamt	30,25	4,09	1,24
	Stabw	0,91	0,96				
2, OLR konst.	MW	30,57	3,84	2, OLR konst.	30,25	4,09	1,24
	Stabw	0,45	0,36				
3	MW	32,68	7,60	3	33,81	9,88	3,34
	Stabw	1,22	2,11				
4-1	MW	37,54	13,64	4-1	38,07	14,61	5,56
	Stabw	0,95	1,26				
4-2	MW	30,62	21,65	4-2	20,41	32,10	6,55
	Stabw	7,50	6,80				
4-3	MW	19,00	34,54	4-3	17,00	36,54	6,21
	Stabw	2,83	2,84				
5	MW	21,69	34,19	5	22,69	32,74	7,43
	Stabw	0,90	1,35				

Tab. A28: Zusammenfassung der mikrobiolog. Analytik (Vorkommen an BAC und ARC) der flüssigen Phase mit (MR) und ohne (CR) MFGPs und der MFGPs – Mittelwerte sowie Werte am letzten Tag der jeweiligen Versuchsphase

Mittel über Versuchsphase	DNA-Gehalt				BAC-Gehalt				ARC-Gehalt				BAC+ ARC				Anteil ARC (%)			
	$(\mu\text{g mL FM})^{-1}$		$(\text{ng mg FM})^{-1}$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		%		%	
	MR	CR	MFGPs		MR	CR	MFGPs		MR	CR	MFGPs		MR	CR	MFGPs		MR	CR	MR	MFGPs
1	MW 213,7	205,2	n.b.		1376,5	1086,0	n.b.		32,8	26,9	n.b.		1409,3	1113,0	n.b.		2,1	2,2	2,1	n.b.
	Stabw 58,5	65,1			834,5	460,3			21,8	16,2			852,8	471,5			1,0	1,1	1,0	
2, gesamt	MW 286,7	302,0	82,9		972,5	988,1	463,5		17,1	22,0	17,8		989,7	1010,0	481,2		2,6	3,8	2,6	10,0
	Stabw 92,1	83,5	36,4		1089,8	1127,1	676,2		15,7	22,5	9,9		1105,0	1145,1	682,3		1,3	4,6	1,3	9,0
2, OLR konst.	MW 320,8	323,4	82,8		236,9	189,8	63,0		6,7	9,6	18,2		243,6	199,4	81,2		3,7	7,8	3,7	20,7
	Stabw 75,0	66,0	23,0		218,4	134,6	31,3		2,9	14,1	12,7		220,0	131,8	35,5		2,0	7,7	2,0	12,5
3	MW 369,3	394,0	180,8		463,2	495,8	184,9		5,1	4,3	55,6		468,2	488,1	213,6		1,2	1,0	1,2	26,6
	Stabw 83,0	72,5	38,9		144,5	159,1	31,8		2,0	1,7	23,6		143,8	185,0	58,6		0,8	0,4	0,8	11,7
4-1	MW 239,1	307,9	185,1		2301,8	1883,5	706,4		26,4	43,8	652,4		2328,2	1927,3	1358,8		1,1	2,2	1,1	48,0
	Stabw 3,1	84,3	-		862,2	504,8	91,9		9,1	21,0	178,1		868,7	521,3	208,2		0,0	0,7	0,0	-
4-2, gesamt	MW 231,8	141,5	317,9		1904,1	1483,7	954,9		44,3	44,5	1568,3		1948,4	1528,2	2523,2		2,4	2,1	2,4	62,0
	Stabw 39,3	112,6	145,2		650,3	1324,7	349,5		16,5	35,5	440,8		644,0	1356,7	711,4		1,2	1,8	1,2	1,1
4-2, bis zum Zusammenbruch CR	MW n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	Stabw																			
4-3	MW 131,5	n.b.	442,3		959,1	n.b.	1687,9		19,4	n.b.	1624,9		978,5	n.b.	3312,8		2,0	n.b.	2,0	49,0
	Stabw -		-		84,3		124,0		3,5		206,9		84,8		290,6		-	-	-	-
5	MW n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	Stabw																			

letzter Tag der Versuchsphase	DNA-Gehalt				BAC-Gehalt				ARC-Gehalt				BAC+ ARC				Anteil ARC (%)			
	$(\mu\text{g mL FM})^{-1}$		$(\text{ng mg FM})^{-1}$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		$(10^9 \text{ Genkopien (g FM)}^{-1})$		%		%	
	MR	CR	MFGPs		MR	CR	MFGPs		MR	CR	MFGPs		MR	CR	MFGPs		MR	CR	MR	MFGPs
1	MW 249,7	223,4	n.b.		2636,8	1391,0	n.b.		57,7	31,3	n.b.		2694,5	1422,3	n.b.		2,1	2,2	2,1	n.b.
	Stabw -				284,8	110,3			4,7	2,3			284,3	109,4						
2, gesamt	MW 373,8	370,0	99,1		389,7	300,6	69,0		8,9	7,1	28,8		398,5	307,7	97,8		2,2	2,3	2,2	29,5
	Stabw -				155,3	47,2	0,6		1,4	0,5	3,7		154,2	47,3	4,0					
2, OLR konst.	MW 373,8	370,0	99,1		389,7	300,6	69,0		8,9	7,1	28,8		398,5	307,7	97,8		2,2	2,3	2,2	29,5
	Stabw -				155,3	47,2	0,6		1,4	0,5	3,7		154,2	47,3	4,0					
3	MW 447,2	271,3	239,0		535,7	359,2	185,1		3,9	3,2	92,8		539,7	242,6	277,9		0,7	1,3	0,7	33,4
	Stabw -				75,5	104,4	25,3		0,2	0,3	6,9		75,7	220,4	31,9					
4-1	MW 241,2	367,5	185,1		2946,8	2184,6	706,4		33,9	60,5	652,4		2980,7	2245,0	1358,8		1,1	2,7	1,1	48,0
	Stabw -				370,1	441,6	91,9		1,3	8,7	178,1		369,6	448,0	208,2					
4-2, gesamt	MW 261,3	n.b.	420,5		2019,6	n.b.	1150,9		39,2	n.b.	1940,0		2058,8	n.b.	3090,9		1,9	n.b.	1,9	62,8
	Stabw				649,6		314,7		5,8		67,1		654,8		289,6					
4-2, bis zum Zusammenbruch CR	MW 253,0	203,7	n.b.		2432,9	2915,8	n.b.		26,5	74,9	n.b.		2459,4	2990,7	n.b.		1,1	2,5	1,1	n.b.
	Stabw				730,7	474,0			1,4	5,9			731,6	471,1						
4-3	MW 131,5	n.b.	442,3		959,1	0,0	1687,9		19,4	0,0	1624,9		978,5	0,0	3312,8		2,0	0,0	2,0	49,0
	Stabw -				84,3	0,0	124,0		3,5	0,0	206,9		84,8	0,0	290,6					
5	MW n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.		n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	Stabw																			

Tab. A29: Zusammenfassung der mikrobiolog. Analytik (Vorkommen methanogener Mikroorganismen) der flüssigen Phase mit (MR) und ohne (CR) MFGPs und der MFGPs – Werte am letzten Tag der jeweiligen Versuchsphase

Letzter Tag der Versuchsphase	Methano bacteriales			Methano saetaceae			Methano sarcinaceae			Methano microbiales		
	(10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)			(10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)			(10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)			(10 ⁹ Genkopien (g FM) ⁻¹)		
	FL	MR	CR	FL	MR	CR	FL	MR	CR	FL	MR	CR
1	MW	2573,26	1619,48	-	15317,96	11598,63	-	1175,50	670,57	-	418,70	139,10
	Stabw	75,53	198,85	-	341,25	607,78	-	237,49	100,80	-	65,80	48,75
2, gesamt	MW	0,00	0,00	0,14	20101,79	35200,35	75,04	628,90	0,00	5,23	0,00	0,00
	Stabw	0,00	0,00	0,03	304,14	3368,87	3,00	621,89	0,00	4,51	0,00	0,00
2, OLR konst.	MW	0,00	0,00	0,14	20101,79	35200,35	75,04	628,90	0,00	5,23	0,00	0,00
	Stabw	0,00	0,00	0,03	304,14	3368,87	3,00	621,89	0,00	4,51	0,00	0,00
3	MW	0,00	0,00	4,49	17663,24	11780,01	152,65	0,00	0,00	2,95	7,42	0,15
	Stabw	0,00	0,00	0,22	1149,76	1508,17	17,44	0,00	0,00	0,17	1,82	0,01
4-1	MW	190,78	346,75	5,56	6883,20	11562,15	188,32	0,00	0,00	4,35	43,66	192,92
	Stabw	44,77	8,16	0,34	434,42	507,67	33,20	0,00	0,00	0,51	26,09	14,73
	MW	435,49	n.b.	12,81	4566,74	n.b.	466,53	0,50	n.b.	5,78	209,00	n.b.
	Stabw	101,59	n.b.	1,85	374,80	n.b.	6,17	0,07	n.b.	1,25	81,77	0,60
4-2, bis zum Zusammenbruch CR	MW	814,76	561,86	n.b.	5464,14	15169,49	n.b.	0,00	0,00	n.b.	216,52	432,01
	Stabw	147,97	91,52	n.b.	246,82	805,64	n.b.	0,00	0,00	n.b.	49,00	328,00
4-3	MW	71,21	n.b.	17,99	2728,02	n.b.	438,91	0,00	n.b.	2,89	147,88	n.b.
	Stabw	10,66	n.b.	0,90	392,74	n.b.	45,08	0,00	n.b.	0,22	58,39	0,83
5	MW	n.b.	54,34	7,45	n.b.	10493,24	346,77	n.b.	0,00	0,48	n.b.	797,93
	Stabw	n.b.	9,66	2,08	n.b.	1442,15	40,39	n.b.	0,00	0,11	n.b.	113,20

Tab. A30: Charakteristik des Biofilms nach 2 bzw. 12 Wochen Inkubation
– Vergleich zwischen KTVA und CSTR-Versuchen

	nach 2 Wochen Inkubation		nach 12 Wochen Inkubation	
	HBT- Besiedlungsv ersuch 3	CSTR	HBT- Besiedlungsv ersuch 3	CSTR
oTS-Gehalt (% TS)	1,5	1,4	1,8	2,8
oTS-Gehalt (% FM)	0,6	0,4	0,8	0,9
DNA-Gehalt (ng (mg FM)⁻¹)	106,8	41,9	30,8	97,0
BAC-Gehalt (10⁹ Genkopien (g FM)⁻¹)	27,0	337,3	3,5	56,4
Standardabw.	2,4	16,8	0,7	3,1
ARC-Gehalt (10⁹ Genkopien (g FM)⁻¹)	7,3	12,9	3,4	12,5
Standardabw.	0,7	2,5	0,1	2,0
BAC+ ARC (10⁹ Genkopien (g FM)⁻¹)	34,3	350,2	7,0	68,9
Standardabw.	3,1	16,3	0,8	4,7
Anteil ARC (%)	21,4	3,7	49,1	18,1
ARC/BAC (-)	0,27	0,04	0,97	0,22

Tab. A31: Charakteristik des Biofilms nach 16 Wochen Inkubation
– Vergleich zwischen KTVA und CSTR-Versuchen

nach 16 Wochen Inkubation	HBT-Besiedlungsversuch 4			CSTR
	Parallele 1	Parallele 2	Parallele 3	-
oTS-Gehalt (% TS)	2,32	2,39	2,34	3,59
oTS-Gehalt (% FM)	1,06	1,05	1,01	1,11
DNA-Gehalt (ng (mg FM)⁻¹)	213,9	273,8	284,5	66,5
BAC-Gehalt (10⁹ Genkopien (g FM)⁻¹)	107,9	80,7	85,4	57,0
Standardabw.	11,4	14,4	2,4	37,4
ARC-Gehalt (10⁹ Genkopien (g FM)⁻¹)	7,2	6,4	3,1	7,7
Standardabw.	0,7	2,7	0,9	1,6
BAC+ ARC (10⁹ Genkopien (g FM)⁻¹)	115,1	87,2	88,5	64,6
Standardabw.	12,1	17,1	3,1	36,3
Anteil ARC (%)	6,2	7,4	3,5	11,8
ARC/BAC (-)	0,07	0,08	0,04	0,13

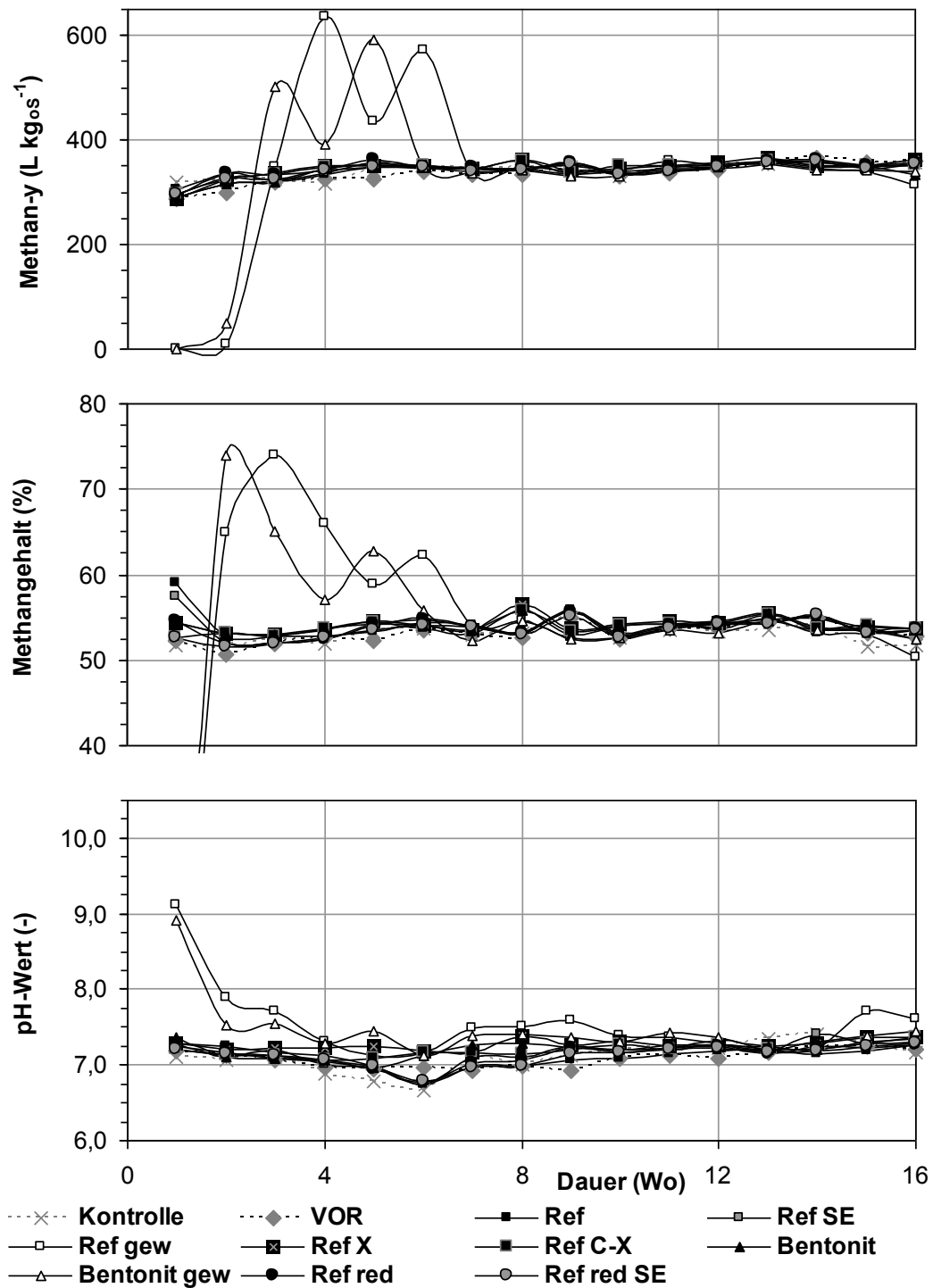


Abb. A1: pH-Wert, Methangehalt im gebildeten Biogas und Methanausbeute
 – KTVA-Besiedlungsversuch 4

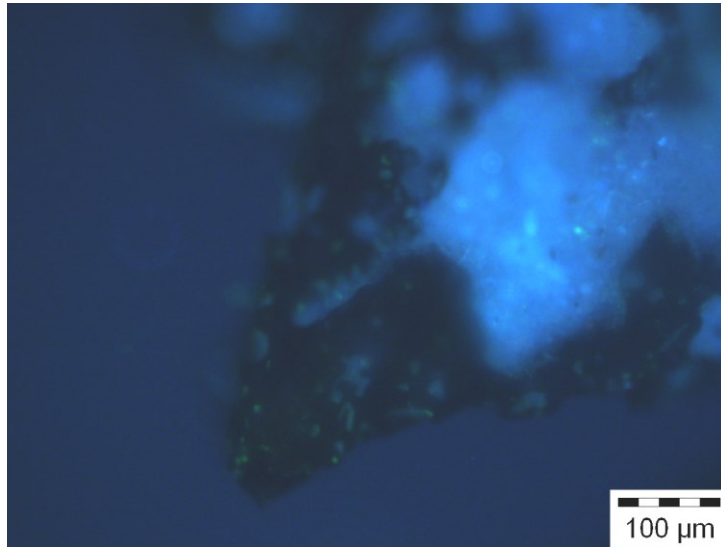


Abb. A2: „Ref“, Inkubationszeit 141 Tage
– Zuckerrübensilage ohne SE-Zugabe, Autofluoreszenz

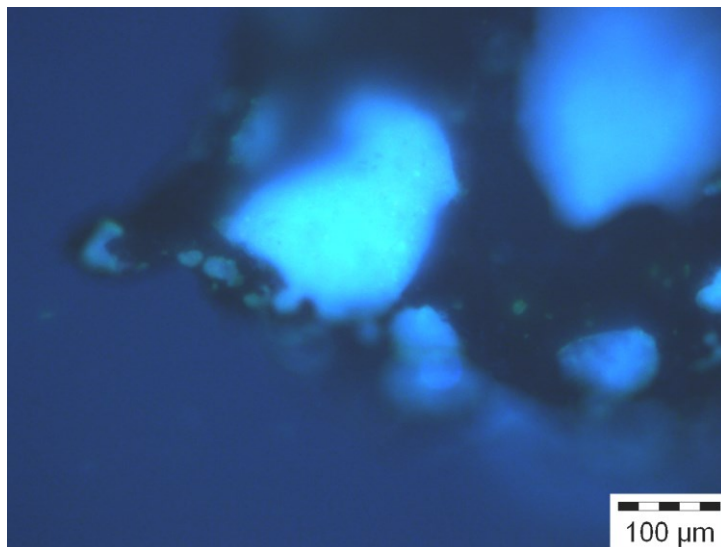


Abb. A3: „Ref“, Inkubationszeit 141 Tage
– Glucose-Lsg. ohne SE-Zugabe, Autofluoreszenz

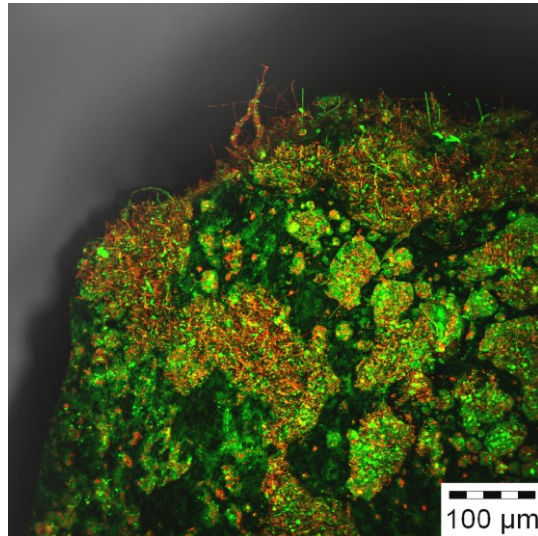


Abb. A4: „Ref“ vor Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – LSC, Z-Stapel

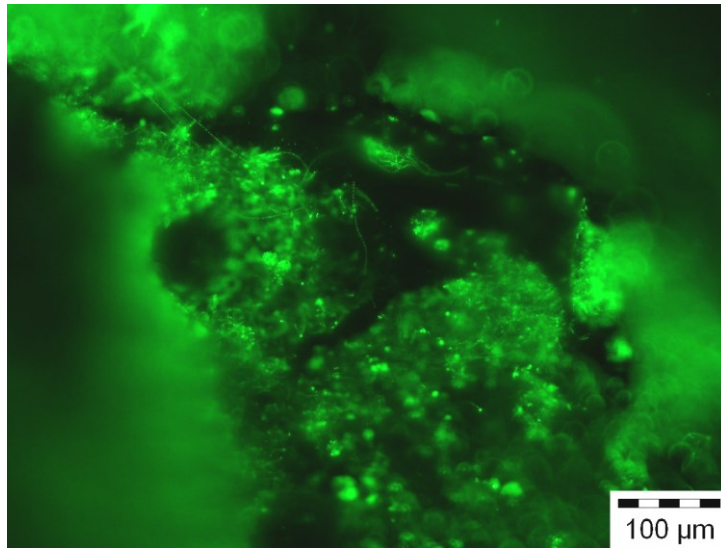


Abb. A5: „Ref“ vor Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – SYTO13-Färbung

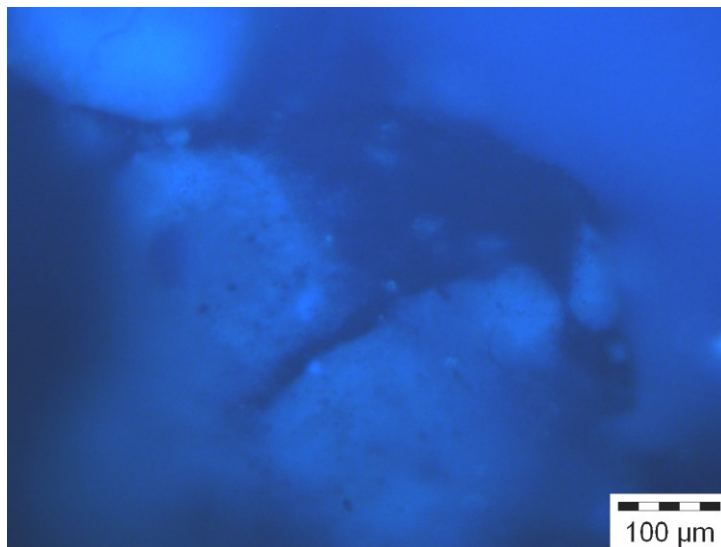


Abb. A6: „Ref“ vor Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – Autofluoreszenz

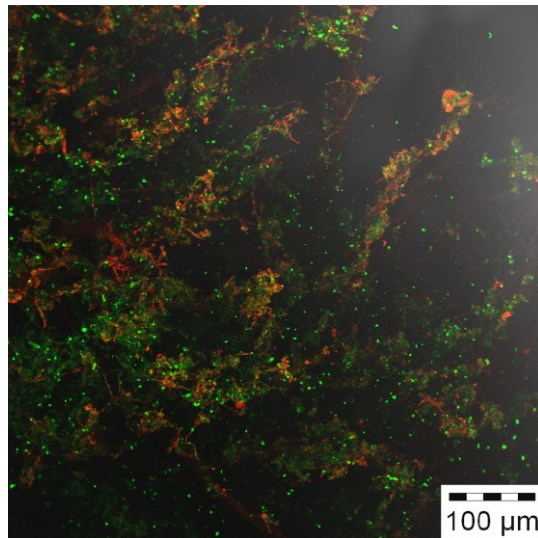


Abb. A7: „Ref“ nach Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – LSC, Z-Stapel

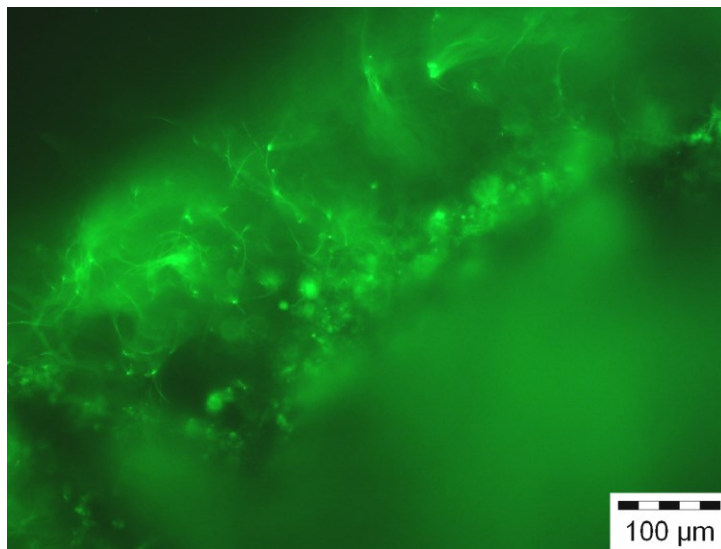


Abb. A8: „Ref“ nach Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – SYTO13-Färbung

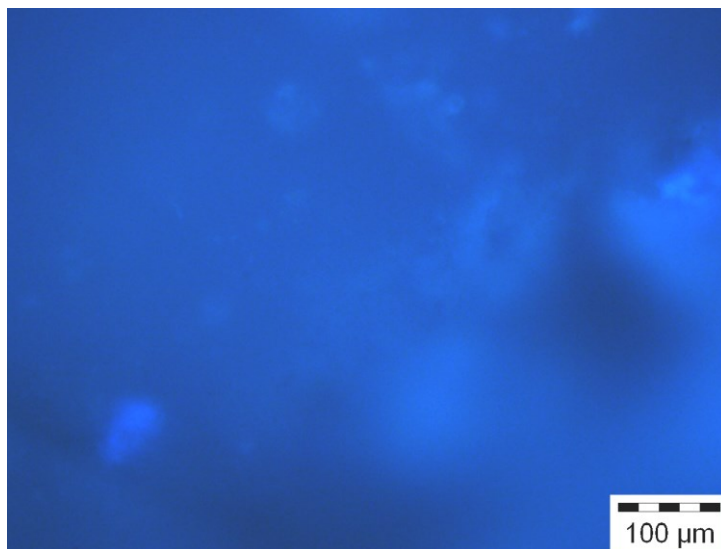


Abb. A9: „Ref“ nach Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – Autofluoreszenz

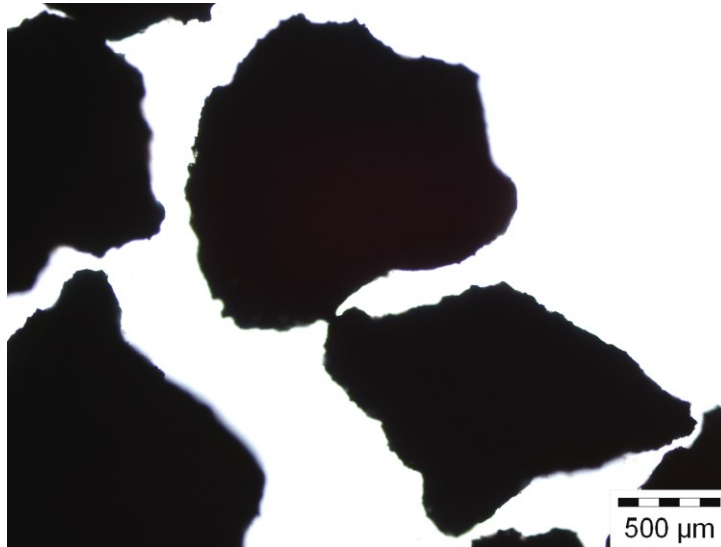


Abb. A10: „Ref“ vor Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – DIC, Übersicht

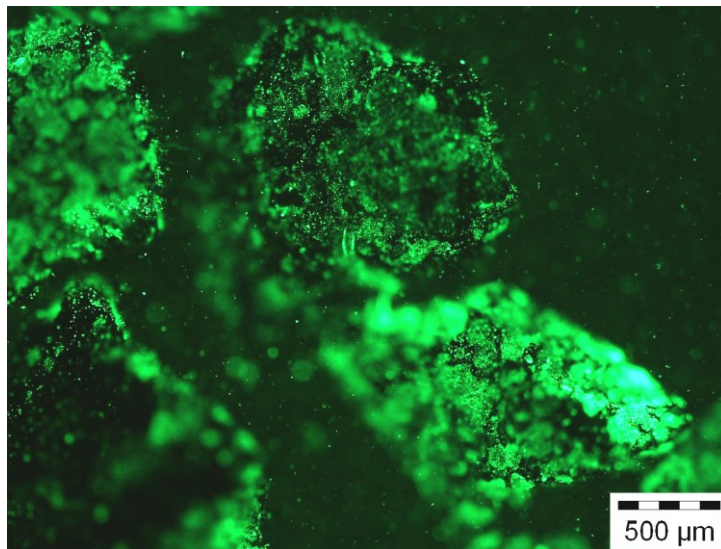


Abb. A11: „Ref“ vor Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – SYTO13, Übersicht

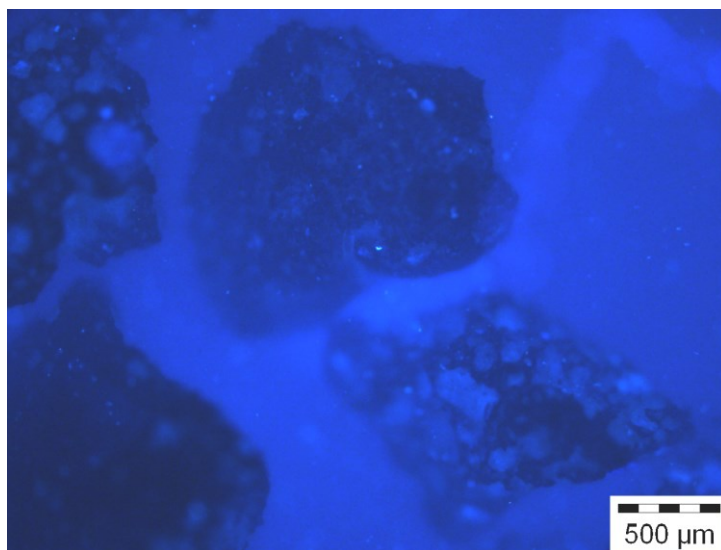


Abb. A12: „Ref“ vor Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – Autofluoreszenz, Übersicht

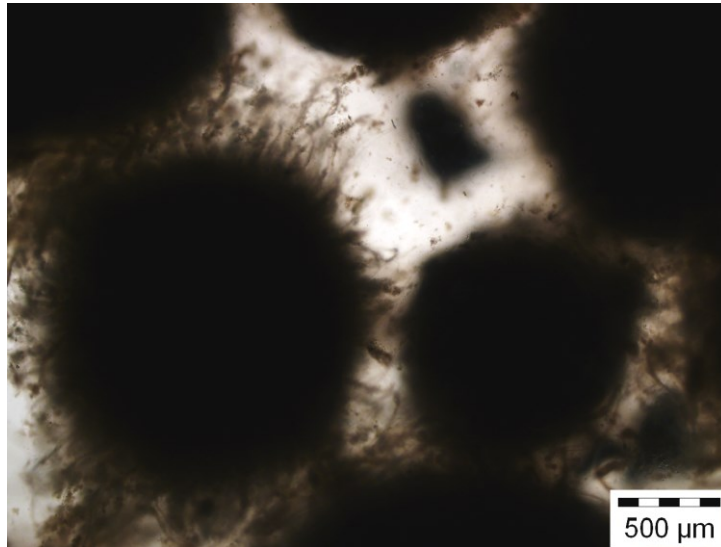


Abb. A13: „Ref“ nach Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit – DIC, Übersicht

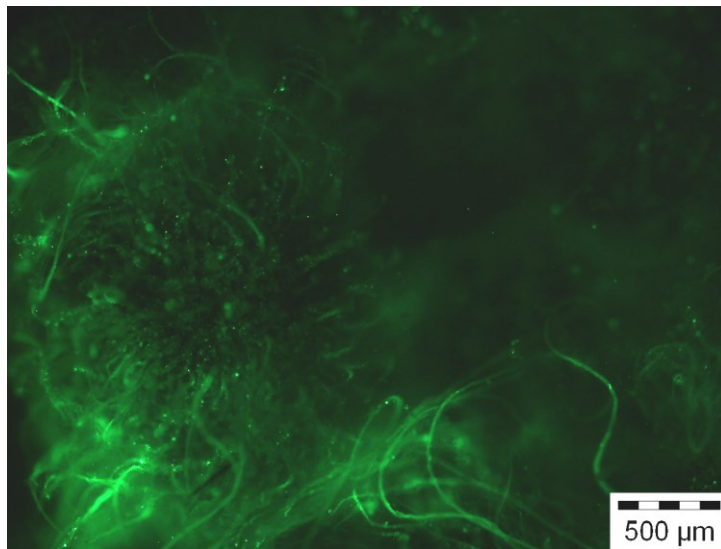


Abb. A14: „Ref“ nach Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit
– SYTO13-Färbung, Übersicht

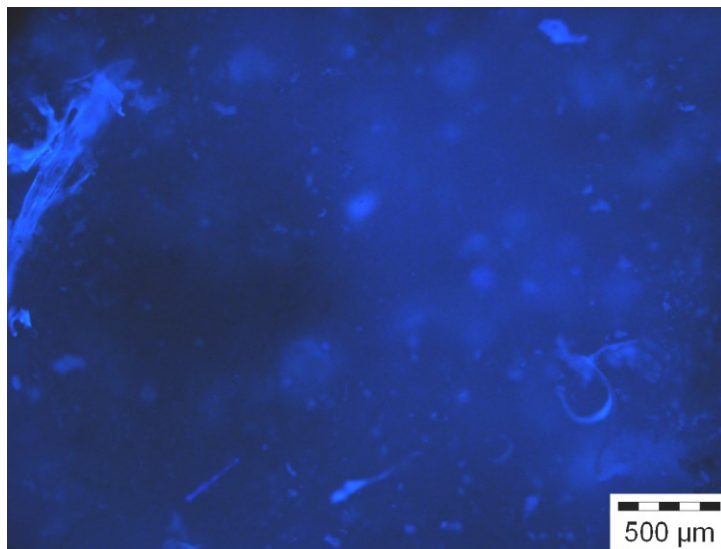


Abb. A15: „Ref“ nach Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit
– Autofluoreszenz, Übersicht

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass die vorliegende Dissertation von mir selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel und Quellen angefertigt worden ist.

Die vorgelegte Dissertation habe ich noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht. Ebenso habe ich nicht die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht.
