

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR SOLARE ENERGIESYSTEME ISE



BIOMETHANOL: NACHHALTIGE SYNTEHSE DES ENERGIETRÄGERS METHANOL AUS ABWASSER

Schlussbericht des ERWAS-Forschungsvorhabens mit dem

Förderkennzeichen 02WER1314B

Laufzeit: 1. April 2014 bis 31. März 2017

Projektleiter: Dr.-Ing. Achim Schaadt

Fraunhofer-Institut für Solare Energiesysteme ISE

Heidenhofstraße 2

79110 Freiburg

Tel.: (0761) 4588-5428

E-Mail: achim.schaadt@ise.fraunhofer.de

Bundesministerium für Bildung und Forschung

Inhalt

I Kurze Darstellung	3
I.1 Aufgabenstellung des Projekts	3
I.2 Voraussetzungen	3
I.3 Planung und Ablauf des Vorhabens	4
I.4 Wissenschaftlicher Stand zu Beginn des Vorhabens	4
I.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen	5
II Eingehende Darstellung	6
II.1 Ergebnisse	6
II.2 Verwertung der Ergebnisse	19
II.2.1 Schutzrechtsanmeldungen und deren Verwertung	19
II.2.2 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende	19
II.2.3 Wissenschaftliche technische Erfolgsaussichten	19
II.3 Fortschritte bei anderen Arbeitsgruppen	20
II.4 Veröffentlichungen aus dem Projekt	21
Literaturverzeichnis	22

Kurze Darstellung

L Kurze Darstellung

1.1

Aufgabenstellung des Projekts

Das Gesamtziel des Verbundhabens BioMethanol ist die Entwicklung eines neuen biologisch-chemischen Prozesses zur Nutzung von Abwässern zur nachhaltigen Synthese von Methanol. Auf Basis der Technologieentwicklung der Verbundprojektpartner IMTEK (Sven Kerzenmacher, Projektkoordinator), KIT (Prof. Johannes Gescher), Universität Freiburg (Prof. Ingo Krossing), Rodia Acetow GmbH (Dirk Hölter), sowie der assoziierten Partner Badenova AG & Co. KG (Peter Majer) und Abwasserzweckverband Staufener Bucht (Michael Hacker) war die Aufgabe des Fraunhofer ISE eine fundierte technische sowie ökologische und ökologische Bewertung des Gesamtkonzepts vornehmen. Die Arbeiten des Fraunhofer ISE sind im Arbeitsschwerpunkt 5 "Evaluation des Technologiepotentials" angesiedelt. Der Arbeitsschwerpunkt 5 unterteilt sich in folgende Arbeitspakete (AP):

- AP 5.1: Definition der Stoffströme und relevanter Parameter verschiedener Prozessvarianten
- AP 5.2: Bewertung verschiedener Prozessvarianten
- AP 5.3: Wirtschaftlichkeit und Evaluation des Scale-up
- AP 5.4: Ökobilanzierung des Gesamtsystems
- AP 5.5: Update der Evaluation

1.2

Voraussetzungen

Das Fraunhofer ISE beschäftigt sich seit mehr als 15 Jahren mit der thermo- und elektrochemischen Erzeugung von Wasserstoff. Es kann auf eine große Expertise auf den Gebieten Prozessentwicklung/Anlagenbau/Gasreinigung und Modellierung zurückblicken. Während in der Vergangenheit die Reformierung u. a. von Methanol untersucht wurde, stand ab 2012 im Zusammenhang mit der Speicherung von Wasserstoff und der Gewinnung von flüssigen Energieträgern die Methanolsynthese aus CO₂ und H₂, d. h. die Umkehrreaktion der Methanolreformierung im Fokus. Beispielhaft kann das DBU-Projekt "MethaKats" angeführt werden, das zusammen mit der Universität Freiburg durchgeführt wurde. Dort war das Ziel, heterogene Katalysatoren für die Methanolsynthese aus CO₂ und H₂ zu entwickeln, die eine hohe Toleranz gegenüber Verunreinigungen und gleichzeitig eine hohe Aktivität aufweisen. Der Beitrag des Fraunhofer ISE bestand darin, eine Laboranlage für die Methanolsynthese zu planen, aufzubauen und zu testen. Gleichzeitig wurde das Global Warming Potential (GWP) dieses Prozesses in "MethaKats" untersucht.

Kurze Darstellung

1.3

Planung und Ablauf des Vorhabens

Übergeordnetes Ziel unseres Arbeitsschwerpunktes war die projektbegleitende Bewertung des Technologiepotentials des Gesamtkonzepts BioMethanol unter Berücksichtigung ökologischer und ökonomischer Gesichtspunkte. Die Grundlage zur Umsetzung des Arbeitsschwerpunkts bildete ein Fragenkatalog an die Projektpartner. In diesem wurden benötigte Informationen zu Stoff- und Energieströmen, Materialparametern, mikrobiotischen Eigenschaften und speziellen Prozessabläufen gezielt erfragt und festgehalten. Parallel hierzu erfolgte eine umfassende Literaturrecherche zu den Themen "Mikrobielle Elektrolyse" und "Mikrobielle Brennstoffzelle". Die Literaturrecherche bildete dann die Basis für eine MEZ (Mikrobielle Elektrolysezelle)-Kennwerttabelle in der die verschiedenen Parameter und Variablen dokumentiert und miteinander verglichen werden konnten. Um eine ganzheitliche Bewertung durchzuführen, war es zunächst notwendig, verschiedene Anlagenkonzepte zu entwickeln, die in Form von Verfahrensfließbildern dargestellt wurden. Für das favorisierte Konzept wurde anschließend sowohl eine Wirtschaftlichkeitsbetrachtung als auch eine Ökobilanzierung (Life-Cycle-Assessment) durchgeführt. Zu Beginn des Projekts waren die Daten erwartungsgemäß noch nicht sehr belastbar, weshalb sehr viele Annahmen und grobe Abschätzungen getroffen werden mussten. Unterstützend wurde für die LCA die Software Umberto® Next Universal beschafft, die auf die Datenbank ecoinvent® zurückgreift. Im letzten Projektjahr wurde dieser Evaluationsprozess vor dem Hintergrund der erzielten Projektergebnisse erneut durchlaufen.

I.4Wissenschaftlicher Stand zu Beginn des Vorhabens

Die Entfernung der organischen Kohlenstofffracht in Kläranlagen erfolgt bisher durch bakteriellen Abbau in einer aeroben Reinigungsstufe. Dieser Schritt erfordert den beträchtlichen Einsatz von elektrischer Energie (5-8 kW pro 10.000 Einwohner, Sievers et al. 2010), um die Oxidation der organischen Kohlenstoffverbindungen zu CO₂ zu ermöglichen. Die energetische Verwertung der im Abwasser enthaltenen Energie betrachtete nur die anaerobe Vergärung des Klärschlamms zu methanreichem Faulgas. Die Mikrobielle Elektrolyse ist, im Vergleich zur Mikrobiellen Brennstoffzelle, ein eher neuer Vertreter der Bioelektrochemischen Systeme (BES). Erste Schritte können auf Liu et al. zurückgeführt werden, der 2005 die Produktion von Wasserstoff in einer Mikrobiellen Elektrolyse-Zelle (MEZ) nachweisen konnte (Liu et al. 2005; Escapa et al. 2012a). Eine mikrobielle Elektrolyse größeren Maßstabs (~ 1000 L) wurde zum Zeitpunkt des Projektbeginns nur mit dem Abwasser eines kalifornischen Weinguts betrieben. Allerdings wurde deutlich, dass in der realisierten Zellkonfiguration ohne lonentauscher-Membran statt des angestrebten Wasserstoffs hauptsächlich Methan durch bakterielle Methanogenese gebildet wurde (Cusick et al.).

L Kurze Darstellung

1.5

Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Im Rahmen der Evaluation des Technologiepotentials in AP 5 wurde primär mit dem Institut für Mikrosystemtechnik, Universität Freiburg um Dr. Sven Kerzenmacher zusammengearbeitet. Dabei gab es intensiven, bilateralen Austausch zur Konstruktion und Performance der MEZ sowie der generellen System-Konfiguration und insbesondere zu folgenden Themen:

- Zellaufbau & verwendete Materialien
- Polarisationskurve
- Parameter der CSB-Reduktion, Coulomb-Effizienz, Kathodische-Konversions-Effizienz

Darüber hinaus wurden im Rahmen der halbjährlichen Statustreffen, bilateraler Treffen sowie in Telefonate Daten zu verschiedenen Aspekten des Vorhabens von den anderen Projektpartnern aufgenommen. Im Vordergrund standen besonders:

- Daten zur Leistungsfähigkeit des Katalysators
- Mikroorganismen-Wachstum
- Vergleichsdaten zur konventionellen Abwasserbehandlung

П

Eingehende Darstellung

II.1 Ergebnisse

Die Grundlage zur Umsetzung des Arbeitspaketes 5.1 ("Definition der Stoffströme und relevanter Parameter verschiedener Prozessvarianten") bildete ein Fragenkatalog an die Projektpartner. In diesem wurden benötigte Informationen zu Stoff- und Energieströmen, Materialparametern, mikrobiotischen Eigenschaften und speziellen Prozessabläufen gezielt erfragt und festgehalten. Parallel hierzu erfolgte eine umfassende Literaturrecherche zu den Themen "Mikrobielle Elektrolyse-" und "Mikrobielle Brennstoffzelle". Die Literaturrecherche bildete die Basis für eine MEZ-Kennwerttabelle in der die verschiedenen Parameter und Variablen dokumentiert und miteinander verglichen werden konnten. Aufbauend auf dieser Kennwerttabelle und dem Fragenkatalog wurde ein morphologischer Kasten erstellt. In Bezug auf das Projekt BioMethanol kann das Projektziel, die nachhaltige Erzeugung von Methanol mithilfe mikrobieller Elektrolyse, durch verschieden aufgebaute MEZ-Systeme erreicht werden. Diese Systeme wurden in dem Morpholgischen Kasten schrittweise durchdacht, entwickelt und miteinander verglichen. In Zusammenarbeit mit den Projektpartnern wurden diese Systementwürfe auf deren theoretisch mögliche Wasserstoffausbeute und Reinigungsleistung hin untersucht. Eine Übersicht zu dem methodischen Vorgehen im AP 5.1 bietet Abb. 01

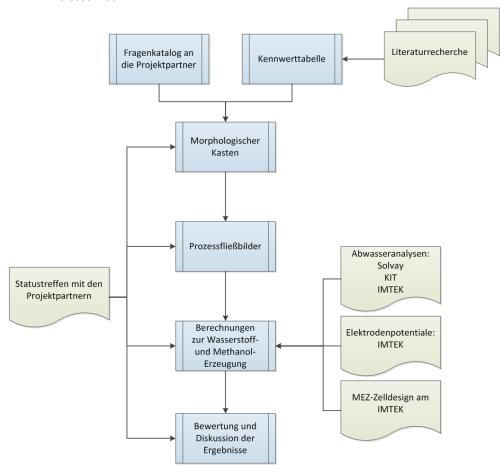


Abb. 01 Methodisches Vorgehen zur Prozessevaluation in AP 5.1

Die Mikrobiellen Elektrolysezellen (MEZ), im Stackdesign miteinander verschaltet (Abb. 02), werden hierbei durch (I) eine externe Spannungsquelle (vorzugsweise Regenerativstrom) oder (II) durch eine Mikrobielle Brennstoffzelle (MBZ) versorgt. Die Auslegung erfolgt auf Umgebungsdruck, dem MEZ-System ist somit eine H₂-Kompression nachgeschaltet, um den Wasserstoff auf den für die Methanolsynthese benötigten Druck von mehr als 30 bar zu erhöhen.

II
Eingehende Darstellung

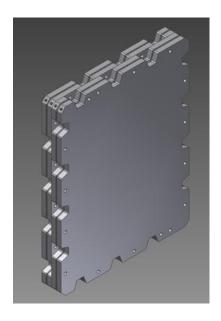
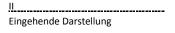


Abb. 02 Stackdesign zweier MEZ-Einheiten

Der Abwasserstrom der Rhodia Acetow GmbH bietet sich aufgrund der inhaltlichen Zusammensetzung, des konstanten Volumenstroms sowie gleichbleibender Temperatur für das System BioMethanol an. Für eine erste Evaluation orientierte man sich an den Zellmaßen der Testzellen am IMTEK (380 mm x 250 mm x 20 mm) sowie einer angenommenen hydraulischen Aufenthaltsdauer (HRT) von sechs Stunden. Auf Basis dieser Systemwerte ergaben sich erste aussagekräftige Berechnungsergebnisse. Zunächst wurde die Stromdichte-Potential-Charakteristik der Mikrobiellen Elektrolysezelle auf Basis von den am IMTEK verfügbaren tatsächlichen Messwerten für die Kathode sowie projizierten Werten für die Anode abgeschätzt. In Absprache mit dem Projektpartner IMTEK legte man den in diesem frühen Forschungsstadium realisierbar erscheinenden Betriebspunkt der Mikrobiellen Elektrolysezelle zu -0,3 Volt bei einer Stromdichte von 0,38 mA/cm² fest.

Eine wichtige Erkenntnis des Arbeitspaketes 5.1 war der limitierende Faktor der Anode. Die bisher erreichten Stromdichten waren noch zu gering. Eine Steigerung der Stromdichten würde es ermöglichen, die Größe des Gesamtsystems und somit die Investitionskosten stark zu verringern. Dieses Ziel wurde explizit den Projektpartnern IMTEK und KIT für die Arbeitsschwerpunkte 1 und 2 mit auf den Weg gegeben. Mit einem stark verkleinerten Systemvolumen ließe sich möglicherweise auch wieder ein unter Druck betriebenes System realisieren. Hierdurch könnte die nachfolgende Wasserstoffkompression eingespart werden.

Im Arbeitspaket 5.2 wurden auf Basis des vorhergehenden Arbeitspaketes (5.1 "Definition der Stoffströme und relevanter Parameter") verschiedene Verfahrensvarianten analysiert. Die in AP 5.1 verwendete Zellkonfiguration (Stackdesign) wurde dazu unverändert für die folgenden Betrachtungen herangezogen. Zur Ermittlung der Energiebedarfe und Reinigungsleistung der mikrobellen Elektrolyse wurden jedoch in Absprache mit dem IMTEK an den aktuellen Stand der dortigen



Forschung angepasste Betriebsparameter verwendet. Diese Betriebsparameter wurden in das in AP 5.1 erstellte Berechnungsmodell eingepflegt.

Die Kompression der Produktgase, Kohlenstoffdioxid sowie Wasserstoff, und die Methanolsynthese wurden mit dem Prozesssimulationsprogramm CHEMCAD® simuliert. Verschiedene Varianten der Energieversorgung des Systems wurden zum Vergleich herangezogen und nach ökonomischen Gesichtspunkten bewertet.

Die Basis der ökonomischen Bewertungen stellt eine Recherche von Anschaffungspreisen kostenrelevanter Komponenten der verschiedenen Varianten dar. Dazu wurde eine Recherche zu verschiedenen Szenarien der Energiemarkt-Preisentwicklung sowie der möglichen Entwicklung der Methanolverkaufspreise durchgeführt. Ebenso wurden mögliche Einsparungen von Abwasserabgaben durch eine Vorreinigung des Abwassers in den MEC berücksichtigt. Für die Betrachtungen wurde weiterhin der Abwasserstrom der Rhodia Acetow GmbH herangezogen. Der angenommene CSB-Umsatz wurde von 50 auf 60 % erhöht. Dieser Wert repräsentiert einen realistischen, in der Literatur oft erreichten Wert.

Bei der Wirtschaftlichkeit des Gesamtsystems BioMethanol bei Anwendung im industriellen Maßstab (AP5.3) wurden als kostentreibende Komponenten die MEA-Fläche ("Membrane Electrode Assembly") sowie der Zukauf von CO₂ identifiziert. Die hohen Kosten für die MEA haben Auswirkungen auf die Betriebskosten (Austausch nach 10 Jahren) und die Investitionssumme wobei die Membrankosten bis zu 50 % der Gesamtinvestition ausmachen. Die Menge an gewonnenem CO₂ ist stark abhängig vom pH-Wert des Abwassers, da die CO₂-Löslichkeit in Wasser mit zunehmendem pH-Wert ansteigt.

Ziel des Verbundprojekts BioMethanol in AP5 war die projektbegleitende Evaluation des Technologiepotenzials. Dazu wurden zunächst verschiedene Konfigurations- & Betriebsvarianten definiert und ökonomisch, sowie im Rahmen ihrer CO₂-Bilanz, evaluiert:

- 1. Strom-Versorgung mit deutschem Netzstrom
- 2. Strom-Versorgung durch netzunabhängiges Photovoltaik (PV)-Inselsystem
- 3. Strom-Versorgung durch Polymer-Elektrolyt-Membran-Brennstoffzelle
- 4. Strom-Versorgung mit zertifiziertem Grünstrom (70 % Wasser-, 30 %Windkraft)
- 5. Strom-Versorgung durch netzgekoppeltes PV-System (30 % Versorgungsanteil)

Die Varianten 1-3 stellten sich in einer Anfangs-Evaluation als wirtschaftlich nicht vielversprechend heraus, weswegen sich das Update der Evaluation in AP5.5 auf die Varianten 4-5 konzentrierte. Dazu wurde ein abschließendes Kernkonzept des BioMethanol-Prozesses erstellt (Abb. 03).

II .
Eingehende Darstellung

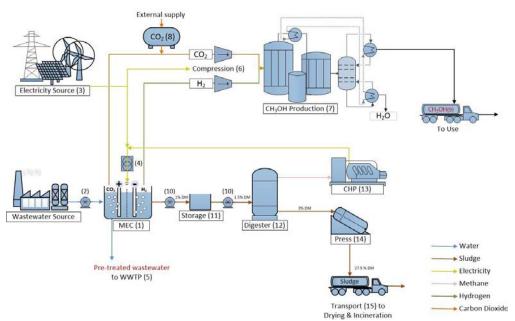


Abb. 03 Grafische Darstellung des BioMethanol-Systems

Anhand dieses Systems wurden abschließend die wirtschaftliche und ökologische Leistungsfähigkeit des Systems anhand verschiedener Szenarien untersucht. Alle Annahmen zur MEZ wurden in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Dr. Kerzenmacher festgelegt. Die CHEMCAD®-Simulation beruhte auf am Fraunhofer ISE vorhandene Modelle zur Methanolsynthese von CO₂, die im Zuge des BioMethanols-Projekts modifiziert wurden. Folgende Berechnungen sind erfolgt:

- Die benötigte Größe der MEZ als Kernkomponente des Systems wurde anhand der gewünschten CSB-Reduktion von 60 % und der angenommen, erreichbaren Stromdichte von 1 mA/cm² anhand der gängigen Gleichungen ausgelegt.
- Der Strombedarf der MEZ wurde durch den vorher berechneten Stromfluss und anhand einer Polarisationskurve ermittelt.
- Die Gasproduktion an Anode (CO₂) und Kathode (H₂) konnte durch die Stöchiometrie der Reaktionen an den Elektroden, sowie Coulomb- (40 %) und kathodischer Konversions-Effizienz (90 %) berechnet werden.
- Durch eine Gleichgewichts-Simulation in CHEMCAD® wurde anhand der in der MEZ gebildeten H₂-Menge die benötigte Menge an CO₂ sowie gebildete Menge an Methanol (CH₃OH) berechnet und die Methanol-Synthese sowie die Destillation dimensioniert.
- Der Strombedarf der Kompressoren wurde in CHEMCAD® berechnet
- Die Klärschlammmenge wurde anhand eines Regelwerks der Deutschen Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall mit Parametern für anaerobe Prozesse berechnet (Teichgräber und Hetschel 2016).
- Kennwerte zur Schlammbehandlung wurden der einschlägigen Literatur entnommen.

Wirtschaftlichkeit des BioMethanol-Systems

Die Bewertung der Wirtschaftlichkeit wurde anhand der Kapitalwertmethode berechnet. Die wichtigsten Input-Daten finden sich in **Tabelle 1**.

Tabelle 1: Zusammenfassung der wichtigsten Input-Parameter

Parameter	Wert
Diskontierungssatz [%]	7,4 %ª
Preis Membran-Elektroden-Einheit [€/m²]	7
Inflationsrate [%]	1,46 ^b
Abwasserkosten [€/m³]	1,99 // 1,64 ^c
Inflation Abwasserkosten [%]	1,9 ^d
PV-Einspeisetarif [ct€/kWh]	8,9 ^e

^a Wert in Übereinstimmung mit potentiellem Anlagenbetreiber

Darüber hinaus wurden vier verschiedene Markt-Szenarien untersucht, um die Unsicherheiten der kritischen Parameter miteinzubeziehen. Die Definition der vier Szenarien erfolgt in **Tabelle 2**.

Tabelle 2: Szenarien der Wirtschaftlichkeit des BioMethanol-Systems

Parameter /Szenario	Pessimistisch	Moderat	Optimistisch	EE-Markt
CH₃OH-Preis [€/t]	400ª	560ª	650ª	650ª
Strompreis [ct€/kWh]	13,5 ^b // 16,8 ^c	13,5 ^b // 16,8 ^c	13,5 ^b // 16,8 ^c	6,6 ^b // 9,1 ^c
Strompreis- Inflation [%/a]	3 ^d	1,6 ^e	1,3 ^f	1,3 ^f
CO ₂ -Quelle	100 % Zukauf	50 % Zukauf	0 % Zukauf	0 % Zukauf

^a pessimistische bis optimistische Annahme des mittleren Methanolpreises über 20 Jahre basierend auf dem Trend des "European posted contract price" April 2017: 450 €/t (Methanex Corporation)

^b mittlere Inflation in Deutschland 2006-2015 (National Statistics Buro Germany 2017a)

^c Abwasserkosten des Betreibers ohne (1,99 €) und mit BioMethanol-System, berechnet aus der Abwassersatzung der Stadt Freiburg(City of Freiburg, Germany)

^d Inflation der Abwasserkosten deutscher Haushalte 2005-2010 (National Statistics Buro Germany 2017b)

^e PV-Einspeisetarif 2016 (Federal Grid Buro Germany)

^b Industriestrompreis Deutschland ohne Stromsteuer (2016)

^c spezifischer Strompreis, basierend auf Gesamtkosten eines Preisangebots für 500 MWh/a (Rees 2016)

^d Extrapolation der deutschen Strompreisentwicklung von 1998-2016 (2016)

^e Mittlere Strompreisinflation, basierend auf Vorhersagen bis 2030 (Schlesinger et al. 2014)

^f Mittlere Strompreisinflation, basierend auf Vorhersagen bis 2050 (Schlesinger et al. 2014)

Über einen Zeitraum von 20 Jahren á 8.500 h/a Betrieb konnte unter keinen der gelisteten Bedingungen ein positiver Kapitalwert und damit eine Wirtschaftlichkeit festgestellt werden. Bei Betrieb mit Grünstrom wurde die folgende Kostenverteilung festgestellt (für alle Markt-Szenarien):

II.
Eingehende Darstellung

CAPEX: 31-42 % der Gesamtkosten

Davon entfallen

- 54 % MEZ Reaktor & Peripherie
- o 7 % Membran-Elektroden-Einheit (MEA)
- o 15 % Methanol Produktion/Kompression
- o 9 % Klärschlamm-Vergärung
- 6 % Planung
- 9 % Unsicherheitsfaktor
- OPEX 58-69% der Gesamtkosten

Davon entfallen

- o 29-43 % Stromkosten
- o 21-34 % Instandhaltung & Versicherung
- o 0-15 % CO₂-Zukauf
- 10-16 % Personalkosten
- 4-6 % Klärschlammentsorgung
- o 3-5 % MEA-Austausch alle 5 Jahre
- o < 0.5 % Katalysatoraustausch alle 4 Jahre
 </p>
- o 9% Unsicherheitsfaktor

Für alle hier gezeigten Ergebnisse wird ein Preis von 7 €/m² Membran-Elektroden-Einheit der MEZ angenommen. Dieser Preis ist als äußerst optimistisch anzusehen und orientiert sich an Zielvorgaben von Sievers et al. 2010 für Mikrobielle Brennstoffzellen. Zur weiteren Analyse konzentrierte man sich auf das günstigste Szenario, um Bedingungen für einen wirtschaftlichen Betrieb zu definieren, die durch Systementwicklung oder die rechtlichen Rahmenbedingungen beeinflussbar sind (z.B. spezielle Strompreise für erneuerbares Methanol, Verstärkung des EU-ETS, Abbau von Subventionen für fossile Brennstoffe). Der Kapitalwert, im optimistischen "EE Markt"-Szenario (Tabelle 2) mit Grünstrom betrug -0,4 Mio. € mit Methanol-Gestehungskosten von 870 €/t. Aufbauend darauf wurde eine Sensitivitätsanalyse für die wichtigsten Parameter durchgeführt (Abb. 04.).

II Eingehende Darstellung

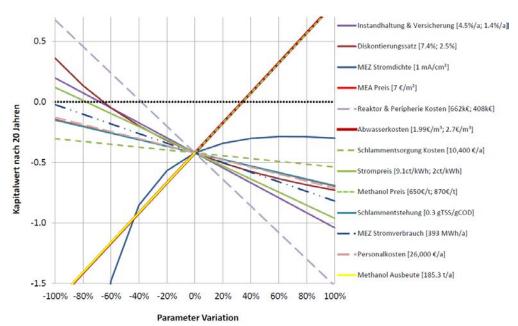


Abb. 04 Sensitivität des Kapitalwerts gegenüber der Variation verschiedener Input-Parameter für das Szenario "EE-Markt": Betrieb des BioMethanol-Systems mit Grünstrom

Die wichtigsten Ergebnisse im Überblick:

- Wie erwartet, zeigen die Marktpreise des Produkts Methanol, aber auch der vermiedenen Abwasserkosten einen sehr großen Einfluss auf den Kapitalwert
- Der Strompreis hat einen großen Einfluss auf den Kapitalwert
- Die Kosten für dem MEZ-Reaktor & Peripherie haben ebenfalls sehr großen Einfluss auf das Ergebnis, sogar vergleichsweise höher als der Strompreis
- Die MEZ-Stromdichte hat einen großen Einfluss auf den Kapitalwert, kann jedoch nicht unlimitiert der Kostenoptimierung dienen, da steigende Stromdichten auch steigende Stromkosten verursachen (durch steigenden Stromverbrauch Potentialerhöhungen an den Elektroden)
- Der Diskontierungssatz stellte ein wichtiger, methodisch-bedingter Parameter dar. Die Orientierung an den Opportunitätskosten des Betreibers erscheint legitim

Die Marktpreise der Produkte Methanol sowie vorgereinigtes Abwasser, lassen sich nicht beeinflussen. Das volatile Verhalten des Methanolpreises (Methanex Corporation) lässt keine Voraussage über dessen Entwicklung zu und eine Abwasserpreis-Teuerung über die angenommenen 1.9%/a hinaus ist nicht abzusehen. Der Strompreis, angenommen mit 9,1 ct/kWh für Abgaben-befreiten Grünstrom ist ein Hebel, an dem die Politik ansetzen könnte, sofern das untersuchte System als förderungswert angesehen wird. Zuerst einmal müsste verfügt werden, dass Grünstrom abgabenbefreit zur Verfügung steht. Darüber hinaus könnte die Mehrwertsteuerbefreiung zu einem Endpreis von ca. 6 ct/kWh führen. Eine Größe, die unmittelbar von den Entwicklern der MEZ beeinflusst werden kann, sind die Kosten von Reaktor und Peripherie, die einen großen Hebel zur Steigerung des Kapitalwerts darstellen. Interessanterweise ist die Sensitivität des Kapitalwerts zu den Reaktorkosten größer als zu den Stromkosten. Natürlich ist diese Beobachtung abhängig von den angenommenen Stromkosten, bleibt jedoch ebenfalls bei einem Strompreis von 16,8 ct/kWh bestehen.

Dahingehend lässt sich vermuten, dass es für die Abwasser-MEZ sinnvoll wäre kostengünstige Materialien zu verwenden, anstatt zu versuchen die Leistungsfähigkeit des Systems (z.B. durch Senkung des inneren Widerstandes) durch das Verwenden von teuren, high-end Materialien zu steigern. Darüber hinaus stellt der Elektrolyse-Gleichrichter/Transformator ein Hauptkostenfaktor (ca. 43%) des MEZ Reaktor & Peripherie dar. Der hohe Preis ergibt sich aus der Notwendigkeit die einzelnen MEZ elektrisch parallel zu betreiben, da ansonsten ein Kurzschluss von hydraulisch verbunden Zellen droht (Oliot et al. 2017). Ein anderes System-Design, könnte möglichweise den Einsatz einer Reihenschaltung ermöglichen, wodurch der Kostenanteil des Gleichrichter/Transformators signifikant sinken würde und sich bereits durch diese Maßnahme allein ein positiver Kapitalwert ergeben würde (vgl. Abb. 04). Ein zweiter wichtiger Faktor der System-Entwicklung scheint das Erreichen der angenommenen MEZ-Stromdichte von 1 mA/cm² zu sein. Diese sollte jedoch wie beschreiben nach Möglichkeit ohne den Einsatz von high-performance Materialien ermöglicht werden. Die Arbeiten der Gruppe von Dr. Kerzenmacher und Prof. Gescher an Wirbelschicht-Anode und selektiver Anreicherung exoelektrogener

Mikroorganismen gehen in diese Richtung und erscheinen vielversprechend.

I
Eingehende Darstellung

Ökobilanz des BioMethanol-Systems

Zusätzlich zur ökonomischen wurden im Rahmen des Verbundprojekts auch ökologische Aspekte des BioMethanol-Systems betrachtet. Der ökologische Vorteil eines Einsatzes der MEZ in der Abwasserbehandlung wird in vielen wissenschaftlicher Publikationen postuliert (Wang und Ren 2013). Bisher wurde in der Wissenschaft jedoch nur eine einzige Ökobilanz für eine MEZ, die eine 3%ige Wasserstoffperoxid-Lösung (H₂O₂) herstellt, angefertigt. Diese deutet auf einen Vorteil der MEZ durch die Substitution der konventionellen H₂O₂-Produktion hin (Foley et al. 2010). Aufgrund der bisher wenigen Untersuchungen scheint die weitere Erforschung der Ökobilanz von MEZ-Systemen dringend geboten (Escapa et al. 2016; Wang und Ren 2013) zumal das BioMethanol-System als Prozess des Carbon Capture & Utilization (Weiterverarbeitung des anodisch-gebildetem CO₂) das Potenzial zu einer erheblich verbesserten Treibhausgasbilanz im Vergleich zur aeroben Oxidation der organischen Abwasserbestandteile besitzt.

Die Ökobilanz des BioMethanol Systems wurde von cradle-to-gate, also von der Wiege bis zum Werkstor untersucht. Diese Bilanzgrenze erscheint sinnvoll, da sich ab Werkstor der Lebensweg einer Tonne BioMethanol bzw. einer Tonne fossilem Methanol nicht unterscheiden lassen und Methanol zu diversen Produkten weiterverarbeitet werden kann. Die Definition der Systemgrenzen ist in Abb. 05 dargestellt.

II Eingehende Darstellung

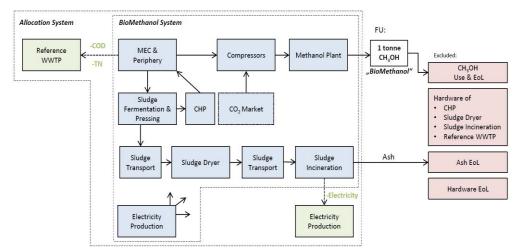


Abb. 05 LCA-Systemgrenzen zur Evaluation des BioMethanol-Systems: System-Komponenten innerhalb der gestrichelten Linie wurden in dieser Studie berücksichtigt. Die Impacts der grünen Boxen wurden dem System gutgeschrieben, entsprechend einem "consequential approach" (Abwasserbehandlung wird durch MEZ ersetzt, Stromproduktion durch Klärschlammverbrennung ersetzt Netzstrom). Hardware des vordergründigen Systems wurde als Material-Bedarf und zwei Herstellungsprozessen miteinbezogen (entsprechend der Hintergrund-Prozesse in der Ecoinvent v.3.3 Database). Die Hardware des "combined heat and power plant (CHP)", Schlammtrocknung & Verbrennung sowie der Referenz Abwasserbehandlung wurde nicht berücksichtigt, da diese Komponenten bereits vorhanden waren. Die Nutzungsphase der funktionellen Einheit (1 Tonne CH3OH) und "end-of-life (EoL)" Phasen wurden exkludiert. Die EoL Phase der Hardware des vordergründigen Systems wurde ebenfalls nicht berücksichtigt.

Das Ökobilanz-Modell wurde mit der Software Umberto NXT Universal® v.7.1.13.393 und Ecoinvent v.3.3 erstellt (Wernet et al. 2016). Das Impact-Assessment wurde mit den Modellen ReCiPe 2008 (H) und Cumulated Energy Demand durchgeführt. Entsprechend dem "wirtschaftlichsten" Szenario, wurde die Ökobilanz auf das Szenario "EE-Markt" (0), versorgt mit Grünstrom, fokussiert. Im Zuge der Interpretation der Ökobilanz soll die Herstellung einer Tonne Methanol mittels BioMethanol mit der aus Erdgas verglichen werden. Die Daten dieses Referenzprozesses stellte die Datenbank Ecoinvent v.3.3, Datensatz "methanol production [GLO]". Die Impact-Ergebnisse für dieses Szenario sind in 0 dargestellt:

II	
Eingehende Darstellung	

Tabelle 3: Ergebnisse des "consequential LCA" des BioMethanol-Systems und des Referenzprozesses fossiler Methanol Produktion (Ref) pro 1 Tonne CH₃OH am Werkstor

	Unit	Best	Worst	Base	Ref
GWP	kg CO2 Eq/t tснзон	-2,120	-120	-970	520
TAP	kg SO ₂ Eq/t t _{снзон}	-1,3	2,1	0,7	5,1
POFP	kg NMVOC Eq/t t _{снзон}	1,2	1,6	0,5	2,1
CEDF	GJ/t tснзон	-10,8	9,9	3	32,.1
CEDT	GJ/t t _{снзон}	-5,1	29,9	11,7	32,5
MDP	kg Fe-Eq/t tснзон	70	240	130	30
FEP	kg P-Eq/t tснзон	-1,1	0,8	0,2	0,1

Für das BioMethanol System wurden drei Szenarien definiert, in denen die Input Parameter variiert sind. Für die Definition von "Base-, Best-, Worst-Szenario vgl. **Tabelle 4** und den darüber stehenden Text. Alle Ergebnisse enthalten vermiedene Emissionen durch die Ersetzung der konventionellen Abwasserbehandlung, wodurch auch die negativen Werte zustande kommen (die als systemweite Verbesserungen interpretiert werden können). Die Brutto-Emissionen des BioMethanol-Systems sind in grafischer Form in Abb. 06 zu finden. Die farbigen Felder sollen den Vergleich der drei Szenarien des BioMethanol Systems mit dem Referenzprozess illustrieren mit rot = höchster Impact, grün = niedrigster Impact. GWP = Global Warming Potential; TAP = Terrestrial Acidification Potential; POFP = Photochemical Oxidant Formation Potential; CEDF = Cumulated Energy Demand Fossil; CEDT = Cumulated Energy Demand Total; MDP = Metal Depletion Potential; FEP = Freshwater Eutrophication Potential

In Abb. 06 wurde für die wichtigsten Input-Parameter der Berechnung, d.h. für jede Impact-Kategorie ein Base-, Best- und ein Worst-Case Szenario definiert. Diese Variation der Input-Parameter soll ein Stück weit die Unsicherheit der Ergebnisse widerspiegeln. In der Praxis der Ökobilanz gibt es bisher keine festgeschriebene Methode die Unsicherheit miteinzubeziehen, ein Vorhaben, das auf Grund der Datenverfügbarkeit oft schwierig ist (Matthews et al. 2015). Die Szenarien sind in Tabelle 4 exemplarisch für das GWP dargestellt.

II
Eingehende Darstellung

Tabelle 4: Base-, Best- und Worst Case Szenarien für das Global Warming Potential des BioMethanol-Systems

	Base	Best	Worst
MEZ Stromdichte [mA/cm²]	1	2	0.5
Membran-Typ	Polysulfone	Copolymer ^a	PTFE
Transport zur Schlammverbrennung [km]	200	600	100
Strommix	RE Mix	RE Mix	RE Mix + 176
MEZ-Stromverbrauch [%]	100	80	120
Abwasserbehandlung Stromverbrauch [kWh/kg COD _{deg}]	0.36	0.3	0.75
BiogasStromerzeugung [%]	85	100	125

^aMembran aus Acrylonitril-Butadien-Copolymer, Polyethylene und Nylon®-66(Maak 2008)

Um die Ergebnisse in Abb. 06 zu bewerten, wurde ein "Significance Heuristic" angewendet (Matthews et al. 2015) für das in diesem Fall ein Unterschied in einer Impact-Kategorie zweier Systeme als signifikant gewertet wird, wenn der Unterschied in Base-, Best- und Worst-Case mindestens 59 % des Impacts beträgt.

Aufgrund dieser Vereinfachung konnte folgende Aussagen gemacht werden: Die Funktionelle Einheit des BioMethanol-Systems weist bei Betrieb mit dem spezifizierten Grünstrom, der Gewinnung von CO₂ aus der MEZ und im Vergleich zu dem Referenzprozess fossile Methanol Produktion

- Ein signifikant niedrigeres (120-500 %) GWP auf
- Ein signifikant niedrigeres (59-125 %) TAP auf
- Ein insignifikant niedrigeres (23-76 %) POFP auf
- Ein signifikant niedrigeres (90-134 %) CEDF auf
- Ein insignifikant niedrigeres (8-116 %) CEDT auf
- Ein signifikant niedrigeres (90-134 %) CEDF auf
- Ein signifikant höheres (230-800 %) MDP auf
- In 2/3 Fällen ein signifikant höheres (200-800 %), in 1/3 Fällen ein signifikant niedrigeres (1.100%) FEP auf

Um Empfehlungen zur Verbesserung der Ökobilanz des BioMethanol-Systems zu machen, ist es zunächst wichtig die Prozesse zu erkennen, die den größten Teil zu den Emissionen beitragen. Die Struktur der potentiellen Emissionen bezüglich deren Emissionsquelle ist in Abb. 06 dargestellt.



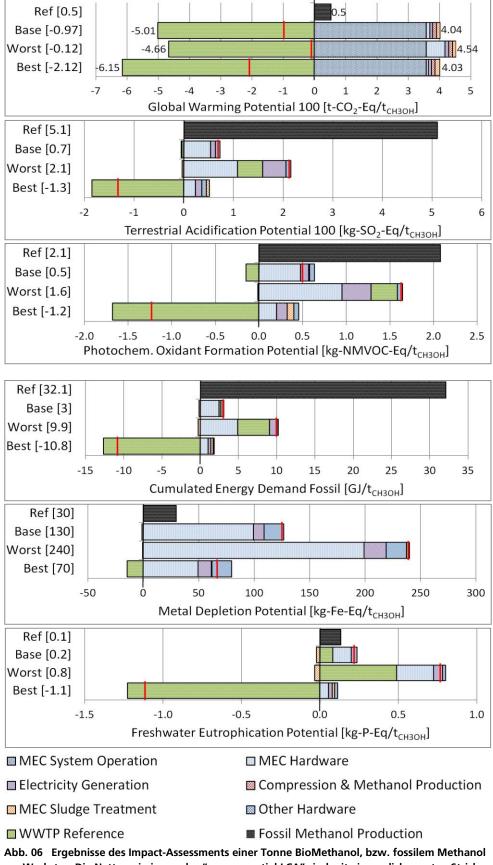


Abb. 06 Ergebnisse des Impact-Assessments einer Tonne BioMethanol, bzw. fossilem Methanol am Werkstor. Die Nettoemissionen des "consequential LCA" sind mit einem dicken roten Strich gekennzeichnet. Ref = Referenz – fossile CH₃OH-Synthese, Base = BioMethanol Base Case, Worst = BioMethanol Worst Case, Best = BioMethanol Best Case, MEC = Microbial Electrolysis Cell = MEZ

<u> </u>	
Eingehende Darstellung	

Aus der Abb. 06 geht hervor, dass für alle abgebildeten Impact-Kategorien die MEZ Hardware und die Stromerzeugung eine wichtige Rolle spielen. Für das GWP speziell gilt, dass die Oxidation des Abwasser-CSB, die hauptsächlich fossilem Ursprungs ist, ebenfalls einen Großteil der Brutto-Emissionen verursacht. Durch den gewählten "consequential approach" des Modells, wird allerdings angenommen, dass die Oxidation des Abwasser-CSB ohnehin im Klärwerk erfolgen wurde, sodass diese Emissionen gutgeschrieben, weil "vermieden" werden. Die Identifikation der für die Ökobilanz zentralen Komponenten diente als Grundlage weiterer Arbeiten, die zu folgenden Erkenntnissen führten:

- Der Betrieb des BioMethanol-Systems mit dem Deutschen Netzstrommix (2012) führt in allen Impact-Kategorien zu einer signifikant schlechteren Öko-Performance, sodass das System im Gegensatz zum Referenzprozess (fossile Methanol-Produktion) schlechter abschneidet. Der Betrieb des BioMethanol-Systems mit Netzstrom, der einen hohen Anteil an fossilen Erzeugern beinhaltet, ist aus umwelttechnischer Sicht unbedingt zu vermeiden.
- Der Zukauf von externem CO₂ (100 %) auf dem deutschen Markt führt zu einem GWP, das ca. 1 t CO₂-Eq./tCH₃OH höher als das des fossilen Referenzprozesses ist. Die Nutzung des CO₂ aus der MEZ Anode, ist aus diesem Grund unbedingt anzustreben. Bisher ist es unklar, ob genügend CO₂ aus der MEZ isoliert werden kann, da sich ein nicht unerheblicher Teil im anodenseitig basischen Abwasser löst. Andere CO₂-Quellen wie eine lokale Biogasanlage könnten ebenfalls in Betracht gezogen werden.
- Bezüglich der MEC-Hardware lässt sich feststellen, dass einerseits die MEZ-Stromdichte, durch den Einfluss auf die nötige MEZ-Gesamtgröße um den Referenz-Abwasserstrom zu behandeln, einen großen Einfluss auf den Impact-Wert hat. Aus der ökologischen Perspektive ist bei einem Betrieb mit Grünstrom eine MEZ-Stromdichte von ca. 1,6-1,7 mA/cm² optimal. Bei einem höheren Wert überwiegen die Emissionen des Mehrstromverbrauchs den Einsparungen durch ein verkleinertes System. Darüber hinaus sollte der Einsatz von potenziellen Materialien wie Kupfer vermieden werden, da dieser sich deutlich auf die Impact-Werte verschiedener Kategorien auswirkt. Dieser Befund ist stimmig zu den Ergebnissen der Wirtschaftlichkeitsbetrachtung, nach dem kostengünstige Materialien teuren, high-end Materialien wie Nafion® oder Kupfer vorgezogen werden sollen. Es wird empfohlen bei der weiteren Systementwicklung die Ökobilanz miteinzubeziehen, wenn das System einen Nachhaltigkeitsvorteil aufweisen soll.

II.
Eingehende Darstellung

II.2 Verwertung der Ergebnisse II.2.1

Schutzrechtsanmeldungen und deren Verwertung

Es sind keine Schutzrechtsanmeldungen erfolgt.

II.2.2 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende

Im Rahmen dieses Teilprojekts konnten präzise Anforderungen und Rahmenbedingungen erarbeitet werden, die Voraussetzungen für die Wirtschaftlichkeit des BioMethanol-Systems sind. Wesentliche Faktoren für die Wirtschaftlichkeit sind eine kostengünstigere Konstruktion der mikrobiellen Elektrolysezelle sowie die Erhöhung des Ertrags, insbesondere durch ein höherpreisigeres Produkt wie z. B. Dimethylether. Es wird davon ausgegangen, dass eine entsprechende technische Realisierung innerhalb der nächsten 5 Jahre möglich wäre. Voraussetzung dafür ist, dass im Rahmen eines Nachfolgeprojekts die gezielte Materialoptimierung und das *Up-Scaling* der etablierten Technologie auf den Maßstab von 200-1000 L demonstriert werden kann. Ein entsprechender Förderantrag wird momentan von den Projektpartnern vorbereitet.

II.2.3 Wissenschaftliche technische Erfolgsaussichten

Die wissenschaftlichen und technischen Erfolgsaussichten sind als vielversprechend zu bewerten. Zum einen wird auf Basis der Projektergebnisse ein Fachartikel mit dem Titel "Methanol Production based on the Bio-electrochemical Conversion of Industrial Wastewater – A combined Economic and Life Cycle Assessment" vorbereitet, der in einer internationalen Fachzeitschrift eingereicht werden soll. Bislang gibt es zur ökologischen und ökonomischen Betrachtung von mikrobiellen Elektrolysezellen in der Abwasserreinigung wenige veröffentlichte Arbeiten, so dass die Veröffentlichung der Projektergebnisse hier einen äußerst wichtigen wissenschaftlichen Beitrag darstellt.

Die wissenschaftlich-technische Anschlussfähigkeit ist zudem auch durch Nachfolgeprojekte sichergestellt, in deren Rahmen auf die erzielten Ergebnisse und Erfahrungen zurückgegriffen wird. So arbeiten die Projektpartner Fraunhofer ISE, KIT und Universität Freiburg weiterhin innerhalb des BMBF-Projekts "RECICL: Entwicklung von Kaskadenreaktoren zur Umsetzung biogener Abfallströme in Wasserstoff und Propionat" (Fördermaßnahme "Maßgeschneiderte biobasierte Inhaltsstoffe für eine wettbewerbsfähige Bioökonomie"; Laufzeit 2017-2020) zusammen. Im Rahmen des Projekts wird u.a. auch die wirtschaftliche und ökologische Evaluation eines neuartigen Produktionsprozesses auf Basis mikrobieller Elektrolysezellen durchgeführt. Darüber hinaus haben Fraunhofer ISE, Rhodia Acetow und die Universität Freiburg zusammen mit internationalen Partnern einen Förderantrag im Rahmen der Ausschreibung "ERANet Cofund on Biotechnologies: Biotechnology for a sustainable bioeconomy" gestellt. Ziel dieses Projektes ist die Entwicklung bioelektrochemischer Systeme zur kombinierten Abwasserreinigung und CO₂-Reduktion.

<u> </u>
Eingehende Darstellung

11.2.4

Qualifizierung von Mitarbeitern

Es wurden folgenden Bachelor- und Masterarbeiten durchgeführt.

- Christoph Hank (Masterarbeit)
 "Biomethanol Evaluierung des Technologiepotentials"
 Hochschule für Forstwirtschaft Rottenburg, 2014
- Michael Neuner (Masterarbeit)
 "Evaluierung eines neuen Verfahrens zur Herstellung von Methanol aus
 Abwasser"
 - Management Center Innsbruck, 2015
- Jan Streeck (Masterarbeit)
 Microbial Electrolysis Cell and Power to Methanol
 A perfect couple?

Techno-economic and environmental assessment of a waste-to-chemical system

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, 2017.

II.3 Fortschritte bei anderen Arbeitsgruppen

Die Potenzialabschätzung der MEZ zum Einsatz in einer kombinierten Abwasserbehandlung und Chemikalienproduktion ist Gegenstand aktueller Forschungsvorhaben (Lu und Ren 2016). In der Literatur sind eine Vielzahl von Konstruktionsmöglichkeiten sowie -materialien dokumentiert. Die Entwicklungsreife der MEZ steigt und bewegt sich langsam aus dem Laborstadium hin zu Pilotanlagen (Kadier et al. 2016; Escapa et al. 2016; Cusick et al. 2011). Derweil werden im Labormaßstab weiterhin neue Konstruktionen untersucht, um die kritischen Betriebsparameter wie erreichbare Stromdichten, Stromverbrauch und Materialeinsatz weiter zu optimieren (Deeke et al. 2015; Li et al. 2014). Escapa et al. 2016 definieren Kriterien, die für den erfolgsversprechenden Einsatz der MEZ im Abwasserbereich essentiell sind:

- Technische Machbarkeit
- Ökonomische Überlegenheit gegenüber konventioneller Abwasserbehandlung
- Umweltverträglichkeit

Während die MEZ als Ergänzung zur konventionellen Abwasserbehandlung auf einem guten Weg in Richtung technische Machbarkeit ist (Escapa et al. 2016), konnte ein ökonomische Vorteil der MEZ bisher noch nicht nachgewiesen werden. Die Leistungsdaten (bzgl. Stromdichte, H_2 -Produktion, Stromverbrauch, etc.) sind zu gering und der Preis der verwendeten Materialien zu hoch, als das zum jetzigen Zeitpunkt ein wirtschaftlicher Betrieb möglich wäre (Escapa et al. 2012b). Ergebnisse von Escapa et al. und Pant et al. deuten jedoch darauf hin, dass ein wirtschaftlicher Betrieb in naher Zukunft möglich ist (Pant et al. 2010; Escapa et al. 2012b). In dieser Hinsicht ist es extrem wichtig die Kennzahlen in erreichbarer Stromdichte und System-Widerstand zu optimieren (Sleutels et al. 2012; Escapa et al. 2012b). Sleutels et al. 2012 vermuten einen wirtschaftlichen Betrieb der MEZ bei Stromdichten von mindestens 20 A/m² und einem internen Widerstand von 80 m Ω/m^2 (

II .
Eingehende Darstellung

II.4 Veröffentlichungen aus dem Projekt

Im Rahmen der Forschungsarbeiten am Fraunhofer ISE wird momentan eine Veröffentlichung mit dem Titel "Methanol Production based on the Bio-electrochemical Conversion of Industrial Wastewater – A combined Economic and Life Cycle Assessment" vorbereitet. Die Autorenliste beinhaltet neben Wissenschaftlern am Fraunhofer ISE auch Dr. Sven Kerzenmacher.

Des Weiteren wurden Projektergebnisse auf folgenden Tagungen präsentiert:

- C. Hank, Umberto-User-Workshop am 23. September 2015 in Heidelberg "Biomethanol - Sustainable synthesis of the energy carrier methanol by the use of wastewater"
- Posterpräsentation auf dem Workshop Mikrobielle Brennstoff- und Elektrolysezellen – Energieffiziente Abwasserreinigung gekoppelt mit Stromerzeugung und Chemikalienproduktion am 21./22. November 2016 in Goslar im Rahmen der BMBF-Fördermaßnahme ERWAS "Energieeffiziente Wasserwirtschaft"
 - J. Streeck, C. Hank, R. J. White, A. Schaadt, C. Hebling "Techno-economic and ecological evaluation of wastewater based production of BioMethanol Preliminary Results"

Eingehende Darstellung

LITERATURVERZEICHNIS

- City of Freiburg, Germany: Stadtentwässerungssatzung. Online verfügbar unter
 - https://www.freiburg.de/pb/site/Freiburg/get/documents_E17754229 83/freiburg/daten/ortsrecht/15%20Entwaesserung/OrtsR_15_02.pdf, zuletzt geprüft am 21.04.017.
- Cusick, Roland D.; Bryan, Bill; Parker, Denny S.; Merrill, Matthew D.; Mehanna, Maha; Kiely, Patrick D. et al. (2011): Performance of a pilot-scale continuous flow microbial electrolysis cell fed winery wastewater. In: *Applied microbiology and biotechnology* 89 (6), S. 2053–2063. DOI: 10.1007/s00253-011-3130-9.
- Deeke, Alexandra; Sleutels, Tom; Donkers, Tim; Hamelers, Hubertus; Buisman, Cees; Ter Heijne, Annemiek (2015): Fluidized capacitive bioanode as a novel reactor concept for the microbial fuel cell. In: *Environ. Sci. Technol.* 49 (3), S. 1929–1935. DOI: 10.1021/es503063n.
- Escapa, A.; Gil-Carrera, L.; García, V.; Morán, A. (2012a): Performance of a continuous flow microbial electrolysis cell (MEC) fed with domestic wastewater. In: *Bioresource technology* 117, S. 55–62. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.04.060.
- Escapa, Adrián; Gómez, X.; Tartakovsky, B.; Morán, A. (2012b): Estimating microbial electrolysis cell (MEC) investment costs in wastewater treatment plants. Case study. In: *Int. J. Hydrogen Energy* 37 (24), S. 18641–18653. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2012.09.157.
- Escapa, Adrián; Mateos, R.; Martínez, E. J.; Blanes, J. (2016): Microbial electrolysis cells. An emerging technology for wastewater treatment and energy recovery. From laboratory to pilot plant and beyond. In: *Renew. Sustainable Energy Rev.* 55, S. 942–956. DOI: 10.1016/j.rser.2015.11.029.
- Federal Grid Buro Germany: Photovoltaic installations data submission and EEG-supported feed-in tariffs. Online verfügbar unter https://www.bundesnetzagentur.de/EN/Areas/Energy/Companies/Ren ewableEnergy/PV_data_tariffs/PV_statistic_node.html;jsessionid=856B B8DD3DF9799AC54127285787EE30, zuletzt geprüft am 11.07.2017.
- BDEW Strompreisanalyse Mai 2016. Haushalte und Industrie (2016). Federation for Energy- and Water Economy BDEW. Berlin, 24.05.2016. Online verfügbar unter https://www.bdew.de/internet.nsf/res/3F9FDCE65F1CAC8AC125804B0

043C947/\$file/160524_BDEW_Strompreisanalyse_Mai2016.pdf., Eingehende Darstellung zuletzt geprüft am 21.04.2016.

- Foley, Jeffrey M.; Rozendal, Rene A.; Hertle, Christopher K.; Lant, Paul A.; Rabaey, Korneel (2010): Life cycle assessment of high-rate anaerobic treatment, microbial fuel cells, and microbial electrolysis cells. In: *Environ. Sci. Technol.* 44 (9), S. 3629–3637. DOI: 10.1021/es100125h.
- Kadier, Abudukeremu; Kalil, Mohd Sahaid; Abdeshahian, Peyman; Chandrasekhar, K.; Mohamed, Azah; Azman, Nadia Farhana et al. (2016): Recent advances and emerging challenges in microbial electrolysis cells (MECs) for microbial production of hydrogen and value-added chemicals. In: *Renew. Sustainable Energy Rev.* 61, S. 501–525. DOI: 10.1016/j.rser.2016.04.017.
- Kokko, Marika; Bayerköhler, Frieder; Erben, Johannes; Zengerle, Roland; Kurz, Philipp; Kerzenmacher, Sven (2017): Molybdenum sulphides on carbon supports as electrocatalysts for hydrogen evolution in acidic industrial wastewater. In: *Appl. Energy* 190, S. 1221–1233. DOI: 10.1016/j.apenergy.2016.12.097.
- Li, Jian; Ge, Zheng; He, Zhen (2014): A fluidized bed membrane bioelectrochemical reactor for energy-efficient wastewater treatment. In: *Bioresour.Technol.* 167, S. 310–315. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.06.034.
- Liu, Hong; Grot, Stephen; Logan, Bruce E. (2005): Electrochemically Assisted Microbial Production of Hydrogen from Acetate. In: *Environ. Sci. Technol.* 39 (11), S. 4317–4320. DOI: 10.1021/es050244p.
- Lu, Lu; Ren, Zhiyong Jason (2016): Microbial electrolysis cells for waste biorefinery: A state of the art review. In: *Bioresour.Technol.* 215, S. 254–264. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.03.034.
- Maak, Maria (2008): Generation of the energy carrier hydrogen in context with electricity buffering generation through fuel cells. Hg. v. Icelandic New Energy. Online verfügbar unter http://www.needs-project.org/2009/Deliverables/RS1a%20D8.2%20Final%20report%20on %20hydrogen.pdf, zuletzt aktualisiert am 2008, zuletzt geprüft am 21.04.2017.
- Matthews, H. Scott.; Hendrickson, Chris; Matthews, Deanna (2015): Life Cycle Assessment: Quantitative Approaches for Decisions That Matter. Online verfügbar unter http://www.lcatextbook.com/.

II Eingehende Darstellung

Methanex Corporation (Hg.): Methanex Monthly Average Regional Posted Contract Price History. Online verfügbar unter https://www.methanex.com/our-business/pricing, zuletzt geprüft am 15.09.2017.

National Statistics Buro Germany (2017a): Verbraucherpreisindex für Deutschland: Veränderungen im gegenüber dem Vorjahr in %. Online verfügbar unter https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesamtwirtschaftUmwelt/Preise/Verbraucherpreisindizes/Verbraucherpreisindizes.html, zuletzt

aktualisiert am 21.04.2017, zuletzt geprüft am 21.04.2017.

- National Statistics Buro Germany (2017b): Wasserwirtschaft. Kosten für die Entsorgung von Abwasser aus privaten Haushalten 2005 bis 2010.

 Online verfügbar unter https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesamtwirtschaftUmwelt/Umwelt/UmweltstatistischeErhebungen/Wasserwirtschaft/Tabellen/Dur chschnittskostenAbwasserHaushalte2010.html, zuletzt aktualisiert am 21.04.2017, zuletzt geprüft am 21.04.2017.
- Oliot, Manon; Etcheverry, Luc; Mosdale, Renaut; Bergel, Alain (2017): Microbial fuel cells connected in series in a common electrolyte underperform. Understanding why and in what context such a set-up can be applied. In: *Electrochim. Acta* 246, S. 879–889. DOI: 10.1016/j.electacta.2017.06.114.
- Pant, Deepak; van Bogaert, Gilbert; Smet, Mark de; Diels, Ludo; Vanbroekhoven, Karolien (2010): Use of novel permeable membrane and air cathodes in acetate microbial fuel cells. In: *Electrochimica Acta* 55 (26), S. 7710–7716. DOI: 10.1016/j.electacta.2009.11.086.
- Rees, Nicole (2016): Non-binding offer for renewable electricity provision, 06.12.2016. Personal communication an Jan Streeck.
- Schlesinger, Michael; Lindenberger, Dietmar; Lutz, Christian (2014):
 Entwicklung der Energiemärkte– Energiereferenz-prognose. Hg. v.
 Federal Ministry for Economic Affairs and Energy. Institute of Energy
 Economics at the University of Cologne. Online verfügbar unter
 https://www.bmwi.de/Redaktion/DE/Publikationen/Studien/entwicklu
 ng-der-energiemaerkte-energiereferenzprognoseendbericht.pdf?__blob=publicationFile&v=7, zuletzt aktualisiert am
 21.04.2016, zuletzt geprüft am 21.04.2016.
- Sievers, Michael; Schläfer, Ottmar; Bormann, Hinnerk; Niedermeiser, Michael; Bahnemann, Detlef; Dillert, Ralf (2010): Machbarkeitsstudie

für die Anwendung einer mikrobiellen Brennstoffzelle im Abwasserund Abfallbereich. Hg. v. Deutsche Bundesstiftung Umwelt. Online

- verfügbar unter https://www.dbu.de/OPAC/ab/DBU-Abschlussbericht-AZ-26580.pdf, zuletzt geprüft am 23.05.2017.

 Sleutels, Tom H. J. A.; Ter Heijne, Annemiek; Buisman, Cees J. N.; Hamelers, Hubertus V. M. (2012): Bioelectrochemical systems: an outlook for
- Hubertus V. M. (2012): Bioelectrochemical systems: an outlook for practical applications. In: *ChemSusChem* 5 (6), S. 1012–1019. DOI: 10.1002/cssc.201100732.
- Teichgräber, Burkhard; Hetschel, Martin (2016): Dimensioning of Single-Stage Biological Wastewater Treatment in Accordance with DWA-A 131. In: *Korrespondenz Abwasser, Abfall* 63 (2), 97-102.
- Wang, Heming; Ren, Zhiyong Jason (2013): A comprehensive review of microbial electrochemical systems as a platform technology. In: *Biotechnology advances* 31 (8), S. 1796–1807. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.10.001.
- Wernet, Gregor; Bauer, Christian; Steubing, Bernhard; Reinhard, Jürgen; Moreno-Ruiz, Emilia; Weidema, Bo (2016): The ecoinvent database version 3 (part I). Overview and methodology. In: *Int. J. Life Cycle Assess.* 21 (9), S. 1218–1230. DOI: 10.1007/s11367-016-1087-8.

BMBF Verbundprojekt

BioMethanol (FKZ 02WER1314C)

Abschlussbericht Gesamtprojekt

Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

Prof. Dr. Johannes Gescher (Verbundkoordinator) Karlsruher Institut für Technologie Institut für angewandte Biowissenschaften Abteilung angewandte Biologie 76131 Karlsruhe

Phone: ++49721-608-41940 FAX: ++49721-608-41941

E-mail: johannes.gescher@kit.edu

BMBF – Abschlussbericht

Zuwendungsempfänger: Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

Förderkennzeichen: FKZ 02WER1314C

Vorhabensbezeichnung: Biomethanol

Laufzeit des Vorhabens: 01.04.2014 – 31.12.2017

Berichtszeitraum: 01.04.2014 – 31.12.2017

Inhaltsverzeichnis

I. K	URZE DARSTELLUNG	4
1. A	ufgabenstellung	4
2. V	oraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	4
3. P	lanung und Ablauf des Vorhabens	5
4. W	/issenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	6
5. Zı	usammenarbeit mit anderen Stellen	6
1. Geg	Der Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit enüberstellung der vorgegebenen Ziele	6
2.	Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises	36
3.	Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	36
4. forto	Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne og seschriebenen Verwertungsplans	
5. dem	Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt au Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen	
6.	Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses	37
III. I	ERFOLGSKONTROLLBERICHT	38
2. wes	Wissenschaftlich-technisches Ergebnis, erreichte Nebenergebnisse, und gesammelte entliche Erfahrungen	38
3.2 3.3 3.4	3. Wissenschaftliche und technische Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont)	38 39
4.	Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben	39
5.	Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer	39
6.	Einhaltung der Zeit- und Ausgabenplanung	39
Hem	Projekt musste kostenneutral um 9 Monate verlängert werden. Dies lag daran, dass die nmung der physiologischen Aktivität durch eine oder mehrere Komponenten des Abwas iesem Ausmaß völlig unerwartet war	ser
ANI	LAGE I MANUSKRIPT	40
ANI	LAGE II ZUSATZ ZUM ABSCHLUSSBERICHT	80

I. Kurze Darstellung

1. Aufgabenstellung

Es war das Ziel dieses Verbundprojektes mittels mikrobieller und chemischer Konversion aus Abwässern den lager- und transportfähigen regenerativen Energieträger Methanol zu produzieren. Das Schlüsselelement des Vorhabens stellt dabei eine mikrobielle Elektrolysezelle dar. Hier soll organischer Kohlenstoff im Abwasser vermittelt durch Mikroorganismen als Biokatalysator zu Kohlendioxid oxidiert werden. Die dabei freiwerdenden Elektronen werden von den Mikroorganismen auf eine Elektrode übertragen. Durch eine minimale Reduktion des Potentials an der Kathode sollte hier Wasserstoff produziert werden, der in einem chemischen Prozess mit Kohlendioxid zu Methanol umgesetzt werden sollte.

Die Aufgabenstellung der Arbeitsgruppe (AG) Gescher war es, durch gezielte Ansiedlung exoelektrogener Mikroorganismen die Leistungsfähigkeit der mikrobiellen Anode zu erhöhen. Dazu sollten sowohl neue exoelektrogene Mikroorganismen isoliert werden, als auch bekannte Modellorganismen auf ihre Leistungsfähigkeit mit dem verwendeten industriellen Abwasser hin untersucht werden. Letzthin sollte die Stabilität eines synthetischen Anodenbiofilms aus Modellorganismen und neuen Isolaten im Langzeitbetrieb getestet werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die Arbeiten der Gruppe von **Professor Gescher** vom Karlsruher Institut für Technologie (KIT) befassen sich u.a. mit der Entschlüsselung der Physiologie und Biochemie von mikrobiellen Stoffwechselwegen. Dabei werden immer solche Stoffwechselwege erforscht, die später potentiell einer Anwendung zugeführt werden können. Im Rahmen eines von der Baden-Württemberg Stiftung geförderten Projektes wurde ermittelt ob sich mikrobielle Brennstoffzellen für eine Stromerzeugung aus Abwasser eignen. Die Arbeitsgruppe ist also bereits in der Lage, auf Elektroden exoelektrogene Mikroorganismen aufzubringen. Mit dem Einsatz solcher mit Mikroorganismen beschickter Anoden sollte der mikrobielle Abbau im Fermenter im geplanten Projekt beschleunigt werden. In dem genannten Projekt wurde auch die Technologie des *Barcodings* benutzt, mit der auch die Stabilität des exoelektrogenen Konsortiums im Biomethanol Projekt überwacht werden soll. Ferner wurden in dem Projekt der Landesstiftung Methoden zur mikroskopischen Erfassung von Mikroorganismen auf Anoden über die Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH) entwickelt. Auch diese Vorarbeiten werden in dem hier beschriebenen Vorhaben Verwendung finden.

Die Arbeitsgruppe Gescher ist weiterhin engagiert auf dem Gebiet der Isolierung bisher unbekannter Archaea. In einem DFG-geförderten Projekt werden anaerobe Archaea aus

Konsortien von Pyritminen isoliert. Diese Vorarbeiten sind optimal für die in diesem Antrag vorgeschlagenen Arbeiten zur Isolierung neuer exoelektrogener Mikroorganismen.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Übergeordnetes Ziel dieses Arbeitsschwerpunktes ist die Isolierung von Mikroorganismen, die an die Betriebsbedingungen der Elektrolysezelle angepasst sind. Hierzu sollten Wasserproben der Schlammentwässerung kommunaler Klärwerke sowie Industrieabwasser aus der Celluloseacetat-Produktion als Animpfmaterial verwendet werden. An die Isolierung soll sich eine Charakterisierung der Organismen anschließen. Diese sollen dann als Reinkulturen wie auch als Speziesmischungen angezogen und auf Anoden aufgebracht werden. Die Leistungsfähigkeit dieser neuen Bioanoden sollte evaluiert werden. Als Benchmark sollten bekannte Modellorganismen fungieren. Abschließend sollte die Langzeitstabilität der künstlich aufgebrachten Biofilme unter Betriebsbedingungen untersucht werden.

Die geplanten Arbeiten sollten sich auf drei Arbeitspakete verteilen:

- AP 2.1: Isolierung exoelektrogener Mikroorganismen aus den genutzten Abwässern
 In diesem Arbeitspaket sollten exoelektrogene Mikroorganismen aus verschiedenen
 Abwasserproben isoliert werden. Die Organismen sollten anschließend auf ihre
 exoelektrogenen Fähigkeiten hin untersucht werden.
- AP 2.2: Entwicklung von Animpfverfahren zur Optimierung der Leistungsfähigkeit In diesem Arbeitspaket soltlen Verfahren entwickelt werden, um die in 2.1. isolierten Stämme auf in Arbeitspaket 1.1. identifizierte Anodenmaterialien auszubringen. Die Organismenmischung sollte dabei in der Lage sein verfügbare Kohlenstoff- und Elektronenquellen des Abwassers vollständig zu oxidieren. Der Verlauf der Biofilmbildung sollte über Fluoreszenz in situ Hybridisierung und quantitative PCR verfolgt werden.
- AP 2.3: Untersuchungen zur Langzeitstabilität und Dynamik der optimierten Kulturen
 In diesem Arbeitspaket sollte die Stabilität der entwickelten Bioanoden-Populationen
 evaluiert werden. Die Nutzung von Anoden, die mit angepassten exoelektrogenen
 Organismen beschichtet sind, sollte zu einer über Monate hinweg beobachtbaren
 Leistungssteigerung der Elektrolysezelle führen.

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Zum Startpunkt der Arbeit war der Einfluss der Abwasser-Art auf die Leistungsfähigkeit einer mikrobiellen Anode und die Zusammensetzung des dort angesiedelten mikrobiellen Konsortiums nicht systematisch erforscht. Die bevorzugte Lebensform fast aller Mikroorganismen ist der Biofilm, für den jede Oberfläche ein potentielles Habitat darstellt. Im speziellen Fall der mikrobiellen Brennstoffzelle sollte demnach eine Verbesserung der Leistungsfähigkeit allein dadurch möglich sein, dass die Anodenoberfläche zu einem möglichst großen Prozentsatz durch stromproduzierende Mikroben bewachsen und nur sporadisch als unspezifische Aufwuchsfläche genutzt wird. Zum Studium mikrobieller Brennstoffzellen und exoelektrogener Mikroorganismen wurden und werden mit Shewanella oneidensis und Geobacter sulfurreducens vornehmlich zwei Modellorganismen benutzt. Die Diversität und die Verbreitung exoelektrogener Mikroorganismen ist aber viel größer als es durch diese geringe Zahl der Modellorganismen zu vermuten wäre. Zu Beginn der Arbeiten gab es aber nur wenige Untersuchungen dazu, wie sich die Zusammensetzung eines mikrobiellen Konsortiums z.B. durch gezieltes Aufbringen oder Immobilisieren exoelektrogener Organismen auf Anoden steuern und im Hinblick auf die Leistungsfähigkeit der Anode und die Reinheit der dort gebildeten Gase optimieren lässt.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Verbundprojekt wurde in enger Zusammenarbeit mit dem Institut für Mikrosystemtechnik (IMTEK) an der Universität Freiburg (Arbeitsgruppe Dr. Sven Kerzenmacher), dem Lehrstuhl für Molekül- und Koordinationschemie an der Universität Freiburg (Arbeitsgruppe Prof. Ingo Krossing), dem Fraunhofer-Institut für Solare Energiesysteme ISE (Arbeitsgruppe Dr. Achim Schaadt) und der Rhodia Acetow GmbH durchgeführt.

II. Eingehende Darstellung

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

Im Rahmen des Projektes wurden drei Arbeitspakete verfolgt. Die erzielten Ergebnisse sind im Folgenden detailliert aufgeführt.

Arbeitspaket 2.1: Isolierung exoelektrogener Mikroorganismen aus den genutzten Abwässern

Das Ziel dieses Arbeitspaketes wurde vollständig erreicht.

A) Isolierungsergebnisse

Es wurden Mikroorganismen mithilfe einer Verdünnungsreihe (10⁻¹-Verdünnung bis 10⁻⁸-Verdünnung) und darauffolgenden Vereinzelungsausstrichen aus kommunalen Abwasser der Emschergenossenschaft und industriellen Abwasser der Firma Solvay isoliert. Fe³⁺-reduzierende Organismen konnten auf dem Fe³⁺-Citrat-Agar leicht identifiziert werden, da um die Kolonie herum ein farbloser Hof entsteht, sobald die Organismen zur Fe³⁺-Reduktion befähigt sind. In den folgenden Tabellen (Tab. 1 und 2) sind die isolierten Mikroorganismen aufgelistet.

Aus dem Abwasser der Emschergenossenschaft konnten sechs verschiedene Mikroorganismen isoliert werden: *Bacteroides sp.* mit 100% Ähnlichkeit zu *Bacteroides graminisolvens*, Clostridium sp. mit 100% Ähnlichkeit zu *Clostridium beijernickii*, *E. coli* mit 99% Ähnlichkeit zu *E. coli* S5-6, *Enterococcus sp.* mit 99% Ähnlichkeit zu *Enterococcus faecium*, *Romboutsia sp.* mit 99% Ähnlichkeit zu *Shewanella putrefaciens*.

Tabelle 1: Isolierte Mikroorganismen aus dem Abwasser der Emschergenossenschaft (Em).

Stamm	phylogenetische Einordnung ^a	Übereinstimmung % (Identity) ^a	Alignment Länge (bp)
Em 1	Bacteroides graminisolvens	100	1370
Em 2	Clostridium beijernickii	100	1344
Em 3	Escherichia coli	99	1404
Em 4	Enterococcus faecium	99	1400
Em 5	Romboutsia lituseburensis	99	1350
Em 6	Shewanella putrefaciens	99	1370

^a Ergebnisse der phylogenetischen Einordnung über die BLAST-Suche mit der Übereinstimmung (%) zu bereits in der Datenbank vorhandenen Sequenzen.

Aus dem Abwasser, welches hinter dem Absetzzyklon der Firma Solvay entnommen wurde, konnten zwei der vier Mikroorganismen isoliert werden: *Clostridium sp. II* mit 99% Ähnlichkeit zu *Clostridium butyricum* und *Paenibacillus sp.* mit 99% Ähnlichkeit zu *Paenibacillus phoenicis*.

Aus dem Abwasser der Grobdosierung wurden *Clostridium sp. I* mit 99% Ähnlichkeit zu *Clostridium sartagoforme* und *E. coli* mit 99% Ähnlichkeit zu *E. coli* PMV-1 isoliert.

Tabelle 2: Isolierte Mikroorganismen aus dem Abwasser der Firma Solvay (So).

Stamm	phylogenetische Einordnung ^a	Übereinstimmung % (Identity) ^a	Alignment Länge (bp)
So 1	Clostridium sartagoforme	99	1357
So 2	Clostridium butyricum	99	1379
So 3	Escherichia coli	99	1389
So 4	Paenibacillus phoenicis	99	1371

^a Ergebnisse der phylogenetischen Einordnung über die BLAST-Suche mit der Übereinstimmung (%) zu bereits in der Datenbank vorhandenen Sequenzen.

B) Analyse des hA-Abwassers der Firma Solvay

Zu Beginn der Arbeit wurde das Abwasser auf seine Zusammensetzung hin untersucht. Dafür wurde die Konzentration an Acetat, Phosphat, Nitrat, Nitrit und Ammonium gemessen und der TOC und TN bestimmt. Zudem wurde die Leitfähigkeit des Abwassers bestimmt.

Die Bestimmung der Phosphat-, Nitrat-, Nitrit- und Ammoniumkonzentration wurde einmalig zu Beginn des Projektes durchgeführt, wobei die Phosphatkonzentration über die IC ermittelt und eine Konzentration von 41 mM im hA-Abwasser gemessen wurde. Für die Messung der Nitrat-, Nitrit- und Ammoniumkonzentration wurden Hach-Lange Küvetten-Tests verwendet, welche eine Konzentration von 17,62 mM für Ammonium, 0,3 mM für Nitrat und 0 mM für Nitrit ergaben (siehe Tab. 3).

Tabelle 3: Gemessene Konzentrationen [mM] von Ammonium, Nitrat und Nitrit im hA-Abwasser.

Verbindung	Konzentration	verwendete
verbindung	in mM	Analyse
Phosphat	41	IC
Ammonium	17,62	Hach-Lange
Nitrat	0,3	Hach-Lange
Nitrit	0	Hach-Lange

Die Messung der Acetatkonzentration, des TOC und TN wurde über einen Zeitraum von zwei Jahren regelmäßig durchgeführt, um zu beobachten, ob diese konstant bleiben oder sich, abhängig von der Jahreszeit oder anderen Faktoren, verändern. Die Acetatkonzentration

wurde über die HPLC ermittelt, der TOC und TN über den TOC-Analysator. Der folgenden Tabelle (Tab. 4) sind die Werte über die Zeit zu entnehmen.

Tabelle 4: Gemessene Acetatkonzentration [mM], TOC [g/L] und TN [g/L] von April 2014 bis

März 2016 unter Angabe des Mittelwertes der einzelnen Parameter.

Zoitnunkt	Acetatkonzentration in mM	тос	TN
Zeitpunkt		in g/L	in mg/L
April 2014	43,2	2,14	592,8
Oktober 2014	57,1	2,14	512,9
März 2015	45,7	1,93	523,3
Juni 2015	40,03	1,6	541,4
März 2016	50,0	2,13	451,51
Mittelwert	47,2	1,99	524,38

Der Tabelle 4 ist zu entnehmen, dass sich für die Acetatkonzentration im Laufe der 2 Jahre ein durchschnittlicher Wert von 47,2 mM ergibt. Die Werte schwanken zwischen den einzelnen Zeitpunkten der Probenentnahme um max. 29,89%. Für den gemessenen TOC ergibt sich ein durchschnittlicher Wert von 1,99 g/L, was einem max. Unterschied zwischen den einzelnen Werten von 25,23% entspricht. Bei der Berechnung des TN ergibt sich ein Durchschnittswert von 524,38 mg/L und eine max. Schwankung von 23,83% über den kompletten Messzeitraum. Ausgehend der errechneten Mittelwerte für Acetat und den TOC entsprechen 56,93% des Gesamt-TOC der Menge an Acetat.

Die gemessene Leitfähigkeit des Abwassers betrug 6,5 mS und der pH-Wert liegt bei ca. 7,5 bis 8,1.

C) Fe³⁺-Reduktion der Isolate

Nach der Identifizierung der Mikroorganismen, welche aus dem Solvay-Abwasser isoliert wurden, wurde zunächst ein Ferrozine-Assay durchgeführt. Hier sollte die Fähigkeit zur Fe³⁺-Reduktion der vier Isolate untersucht werden. In Abbildung 1 ist die Fe²⁺-Konzentration über die Zeit aufgetragen. Die untere x-Achse ist den Isolaten *Clostridium* sp. I, *Clostridium* sp. II und *Paenibacillus* sp. zuzuordnen und die obere *E. coli. Clostridium* sp. I zeigt dabei die stärkste Fe³⁺-Reduktion mit 38,9 mM innerhalb von 24 h (—). *Paenibacillus* sp. reduziert innerhalb von 24 h 30,3 mM Fe³⁺ (—) und *Clostridium* sp. II lediglich 13,3 mM Fe³⁺ (—). *E. coli* zeigt eine sehr geringe Reduktion von Fe³⁺ in dem Medium ohne Zugabe von Glukose: innerhalb von 24 h reduziert der Organismus ca. 3 mM Fe³⁺ und nach etwa 12 Tagen können

17,9 mM Fe²⁺ nachgewiesen werden (—). Somit konnte für alle Isolate die Fähigkeit zur Fe³⁺-Reduktion nachgewiesen werden.

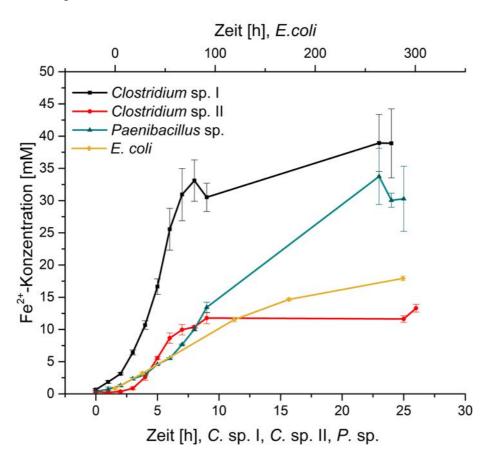


Abbildung 1: Fe³⁺-Reduktion der Isolate. Aufgetragen ist hier die Fe²⁺-Konzentration in mM über die Zeit in h. Der Ferrozine-Assay zeigt die Fähigkeit der Isolate Fe³⁺ zu reduzieren. Die untere x-Achse ist den Isolaten *Clostridium sp.* I, *Clostridium sp.* II und *Paenibacillus sp.* zuzuordnen und die obere *E. coli. Clostridium sp.* I (—), *Paenibacillus sp.* (—), *Clostridium sp.* II (—) und *E. coli* (—). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung des Triplikates.

Arbeitspaket 2.2: Entwicklung von Animpfverfahren zur Optimierung der Leistungsfähigkeit

Und

Arbeitspaket 2.3: Untersuchungen zur Langzeitstabilität und Dynamik der optimierten Kulturen

Die Ziele dieser Arbeitspakete wurden erreicht.

Acetat ist die Hauptkomponente des org. Kohlenstoffs im untersuchten mikrobiellen Abwasser. Acetat ist das präferierte Substrat des Modellorganismus *G. sulfurreducens*. Dieser Organismus ist darüber hinaus in der Lage sehr hohe Stromdichten zu katalysieren. Daher sollte getstet werden, ob dieser Organismus neben den Isolaten Verwendung finden könnte. Dazu wurden drei verschiedene Versuche durchgeführt. In einem ersten Versuch wurde das Wachstumsverhalten unter verschiedenen Abwasserkonzentrationen getestet. Im Anschluss wurde die Adaptationsfähigkeit des Stammes in 75% hA untersucht und ob eventuelle Störstoffe, wie Phosphat oder Ammonium im Abwasser das Wachstum des Organismus hemmen.

Wachstum mit verschiedenen Abwasserkonzentrationen

Abbildung 2 zeigt das Wachstum mit 100% hA, 75% hA, 50% hA, 25% hA und als Kontrolle in Geobacter-Medium. Der Tabelle 5 sind die Wachstumsraten μ und die Verdopplungszeiten t_d unter den beschriebenen Bedingungen zu entnehmen. Das Wachstum in Geobacter-Medium als Kontrolle zeigt eine max. erreichte OD₆₀₀ von 0,93 (—). Aus den Werten der Wachstumskurve lässt sich die Wachstumsrate μ = 0,0023/min und eine Verdopplungszeit von 4,9 h errechnen. Im Vergleich dazu ist deutlich zu erkennen, dass der Organismus mit reinem hA-Abwasser (—) nicht in der Lage ist zu wachsen (errechneten Verdopplungszeit t_d = 71 h, Wachstumsrate $\mu = 0.00016$ /min). Die max. erreichte OD₆₀₀ beträgt 0,137 nach 22 h. Bei einer Konzentration von 75% hA zeigt sich eine max. erreichte OD₆₀₀ = 0,385 nach 119,5 h (—), eine Wachstumsrate μ von 0,00055/min und eine Verdopplungszeit t_d von 20,9 h. Bei geringeren hA-Konzentrationen von 50% und 25% werden max. OD₆₀₀ von 0,837 in 49 h (—) und 1,19 (—) in 31 h erreicht. Die dazugehörenden Wachstumsraten und Verdopplungsraten liegen bei μ = 0.0013/min, $t_d = 8.6$ h (50% hA) und $\mu = 0.0016$ /min, $t_d = 7.2$ h (25% hA). Somit wird deutlich, dass je höher die hA-Konzentration ist, desto schlechter ist das Wachstum des Laborstammes. In 25% hA wachsen die Zellen annähernd so schnell, wie in dem Geobacter-Medium. Trotz allem zeigte der Versuch, dass das Abwasser den Stamm in seinem Wachstum einschränkt.

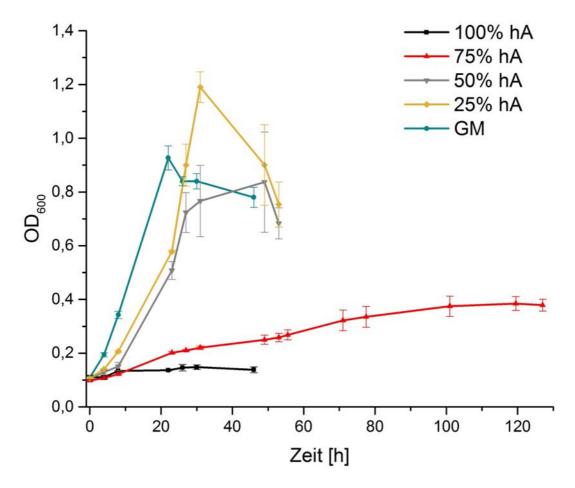


Abbildung 2: Wachstumsverhalten von G. sulfurreducens bei verschiedenen hA-Konzentrationen. Dargestellt ist die gemessene OD_{600} über die Zeit in h in 100% hA (—), 75% hA (—), 50% hA (—), 25% hA (—) und in Geobacter-Medium (—). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung des Triplikates.

Tabelle 5: Wachstumsrate μ und Verdopplungszeit t_d von G. sulfurreducens bei verschiedenen hA-Konzentrationen.

Konzentration hA in % / GM	Wachstumsrate μ in min ⁻¹	Verdopplungszeit t₀ in h
100	0,00016	71,9
75	0,00055	20,9
50	0,0013	8,6
25	0,0016	7,2
GM	0,0023	4,9

Aufgrund der dargestellten Ergebnisse, die zeigen, dass der Organismus bei einer Konzentration von 75% hA noch in der Lage ist zu wachsen, wurde ein Adaptationsversuch durchgeführt. In diesem Versuch wurde der Organismus hinsichtlich der Adaptation an das Abwasser (75%) über fünf aufeinanderfolgende Adaptationsgenerationen untersucht. Dafür wurde das Wachstum der Kulturen miteinander verglichen. Abbildung 3 zeigt das Wachstum der Adaptationsgenerationen. In Tabelle 6 sind die Wachstumsraten μ und die

Verdopplungszeiten t_d aufgelistet. In der 1. Adaptationsgeneration erreicht der Organismus, wie bereits erwähnt eine max. OD_{600} = 0,385 nach 119,5 h (—), eine Wachstumsrate μ von 0,00055/min und eine Verdopplungszeit t_d von 20,9 h. Im Vergleich dazu, ist zu beobachten, dass der Stamm der 2. Adaptationsgeneration mit einer max. erreichten OD_{600} = 0,283 nach 147 h (—), einer Wachstumsrate μ von 0,00013/min und eine Verdopplungszeit t_d von 88,0 h ein deutlich schlechteres Wachstum in 75% hA aufweist, als in der 1. AG. Mit der 3. und 4. AG steigert sich das Wachstum auf eine max. OD_{600} = 0,399 nach 145 h (—) und eine max. OD_{600} = 0,443 nach 91 h (—). Die Wachstumsrate μ der 3. AG von 0,00022/min und die Verdopplungszeit t_d von 52,1 h steigert sich im Vergleich zur 2. AG ebenfalls. Für die 4. AG wird diese weiterhin gesteigert mit μ = 0,00038/min und t_d = 30,4 h. diese Generation zeigt eine leicht geringere Wachstumsrate und etwas höhere Verdopplungszeit, erreicht jedoch eine höhere optisch Dichte, als die Kultur der 1. AG. Zudem erreicht diese auch früher ihre stationäre Phase. Mit der 5. AG zeigt der Stamm eine Verschlechterung des Wachstums mit μ = 0,00027/min und t_d = 42,3 h.

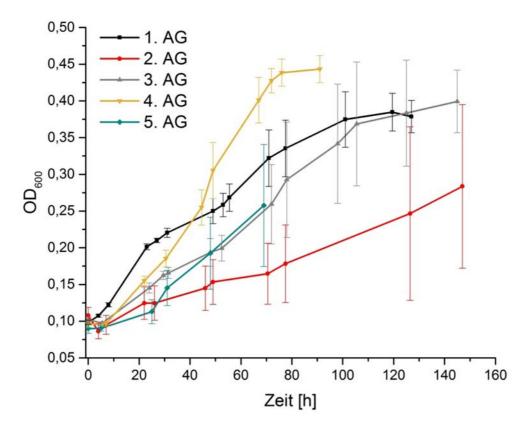


Abbildung 1: Wachstumsverhalten der 5 Adaptationsgenerationen (AG) von *G. sulfurreducens* bei 75% hA. Dargestellt ist die gemessene OD₆₀₀ über die Zeit in h der 1. AG (—), 2. AG (—), 3. AG (—), 4. AG (—) und 5. AG (—). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung des Triplikates.

Tabelle 6: Wachstumsrate μ und Verdopplungszeit t_d der 5 Adaptationsgenerationen (AG) von G. sulfurreducens bei 75% hA.

AG	Wachstumsrate µ in min ⁻¹	Verdopplungszeit t _d in h
1	0,00055	20,9
2	0,00013	88,0

3	0,00022	52,1
4	0,00038	30,4
5	0,00027	42,3

Trägt man lediglich den Ansatz des Triplikates jeder Adaptationsgeneration auf, welcher am stärksten gewachsen ist und somit als Inokulum für die nächste Generation verwendet wurde, erhält man, die in Abbildung 3 dargestellten Wachstumskurven. Die Wachstumsrate µ und Verdopplungszeit t_d sind in der Tabelle 7 aufgeführt. Der Ansatz der 1. AG erreicht eine max. $OD_{600} = 0,419$ innerhalb von 119,5 h (—). Das errechnete μ = 0,00057/min und t_d entspricht damit 20,2 h. Der Ansatz der zweiten AG zeigt wieder eine Verschlechterung der Wachstumsrate und eine längere Verdopplungszeit (µ = 0,00020/min, $t_d = 56,7$ h). Zudem erreicht der Stamm erst nach 147 h eine max. OD₆₀₀ = 0,425 (—), was eine leichte Steigerung zu der max. optischen Dichte der 1. AG darstellt. Mit der 3. AG kann eine Verbesserung der Wachstumsrate und Verdopplungszeit ($\mu = 0.00031$ /min, $t_d = 37.0$ h) im Vergleich zur 2. AG nachgewiesen werden. Der Ansatz erreicht eine max. $OD_{600} = 0,444$ innerhalb von 125 h (—). Die max. OD kann mit der 4. Generation weiter gesteigert werden: der Stamm erreicht in nur 91 h eine $OD_{600} = 0,467$ —). Die Wachstumsrate μ liegt bei 0,00039/min und einer Verdopplungszeit von 29,3 h. Die 5. Generation zeigt wieder eine geringere Wachstumsrate $\mu = 0.00036/\text{min}$ und eine Verdopplungszeit $t_d = 31.8 \text{ h}$ (—).

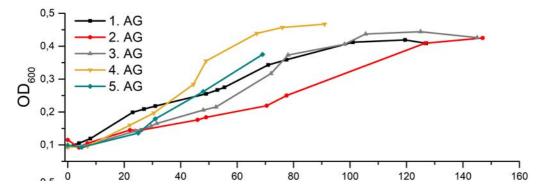


Abbildung 2: Wachstumsverhalten der Adaptationsgenerationen (AG) von G. sulfurreducens bei 75% hA. A) Dargestellt ist die gemessene OD_{600} über die Zeit in h der 1. AG (—), 2. AG (—), 3. AG (—), 4. AG (—) und 5. AG (—). In dieser Abbildung sind lediglich die Ansätze jeder Adaptationsgeneration dargestellt, welche das stärkste Wachstum zeigten und als Inokulum für die folgende AG dienten (Darstellung im Unikat).

Tabelle 7: Wachstumsrate μ und Verdopplungszeit t_d des stärksten Ansatzes jeder der 5 Adaptationsgenerationen (AG) von G. sulfurreducens bei 75% hA.

AG	Wachstumsrate μ in min ⁻¹	Verdopplungszeit t _d in h
1	0,00057	20,2
2	0,00020	56,7
3	0,00031	37,0

4	0,00039	29,3
5	0,00036	31,8
6	0,00042	27,1
1_2	0,00055	20,9

Wachstum bei erhöhter Phosphat- und Ammoniumkonzentration

Durch die Erhöhung der Phosphat- und Ammoniumkonzentration im Geobacter-Medium sollte die Konzentration der beiden Stoffe im hA-Abwasser simuliert und untersucht werden, ob diese gegebenenfalls einen Einfluss auf das Wachstum von G. sulfurreducens haben. In Abbildung 4 ist das Wachstum unter den unterschiedlichen Bedingungen dargestellt. Bei der Erhöhung der Phosphatkonzentration auf 41 mM (-) ist lediglich ein geringer Unterschied zu der Konzentration von 4,26 mM (---), die normalerweise im Medium vorhanden ist, zu sehen. Mit einer Wachstumsrate μ = 0,00063/min und einer Verdopplungszeit von t_d = 18,1 h (+ 41 mM PO_4^{3-}) im Vergleich zu μ = 0,00065/min und t_d = 17,7 h (+ 4,26 mM PO_4^{3-}). Die max. erreichte OD₆₀₀ entspricht 0,751 innerhalb von 94,5 h für den Stamm im Geobacter-Medium ohne die Erhöhung der Phosphat-Konzentration und 0,663 in 97,5 h für das Medium mit 41 mM PO₄³-Der Ansatz mit der erhöhten Ammoniumkonzentration von 17,62 mM NH₄ zeigt im Vergleich zu dem mit der Konzentration von 3,9 mM, welche normalerweise im Geobacter-Medium vorhanden ist, eine deutliche Steigerung der Wachstumsrate mit 0,00098/min und damit einer Verdopplungszeit von 11,8 h. Nach 70,5 h ist bereits eine max. $OD_{600} = 1,57$ erreicht (—). Erhöht man sowohl die Ammonium- als auch die Phosphatkonzentration, wird die gleiche Wachstumsrate und Verdopplungszeit erreicht, ausschließlich als wenn Ammoniumkonzentration erhöht wird (μ = 0,00098/min, t_d = 11,8 h). Die max. OD₆₀₀ = 1,31, welche innerhalb von 70,5 h erreicht ist (—).

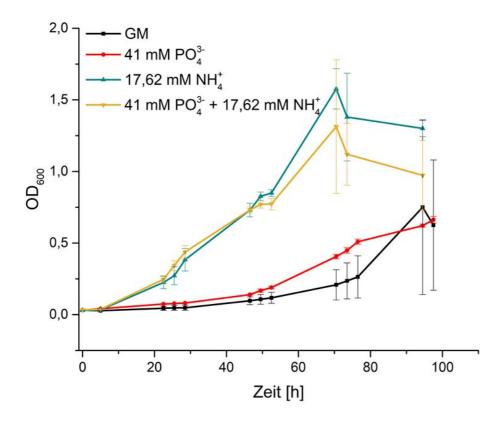


Abbildung 3: Wachstumsverhalten von *G. sulfurreducens* mit den potentiellen Störstoffen Phosphat (PO₄) und Ammonium (NH₄). Dargestellt ist die gemessene OD₆₀₀ über die Zeit in h in Geobacter-Medium (—), mit 41 mM PO₄ (—), 17,62 mM NH₄ (—) und 41 mM PO₄ und (—) und 17,62 mM NH₄. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung des Triplikates.

Tabelle 8: Wachstumsrate μ und Verdopplungszeit t_d von *G. sulfurreducens* mit den potentiellen Störstoffen Phosphat (PO₄) und Ammonium (NH₄).

Ansatz	Wachstumsrate μ in min ⁻¹	Verdopplungszeit t _d in h
41 mM PO ₄ ³⁻	0,00063	18,1
17,62 mM NH ₄	0,00098	11,8
41 mM PO ₄ ³⁻ & 17,62 mM NH ₄ ⁺	0,00098	11,8
GM	0,00065	17,7

Bioelektrochemisches Experiment mit hA-Abwasser im Batch

Für einen ersten Überblick zur Ermittlung der Stromproduktion und Aufbereitung des Abwassers hinsichtlich des Substratabbaus durch die isolierten Mikroorganismen, wurden die Reaktoren im Batch-System betrieben. Über drei Wochen wurden 3 verschiedene Ansätze und eine Negativkontrolle getestet:

- (1) Ansatz 1: Isolate (Clostridium sp. I, Clostridium sp. II, Paenibacillus sp., E. coli)
- (2) Ansatz 2: Isolate (*Clostridium* sp. I, *Clostridium* sp. II, *Paenibacillus* sp., *E. coli*) und der Laborstamm *G. sulfurreducens* (Barcode)
- (3) Ansatz 3: Laborstamm G. sulfurreducens (Barcode)
- (4) Negativkontrolle: hA-Abwasser NI (nicht inokuliert)

In Abbildung 5 sind die gemessenen Stromdichten des ersten und zweiten Ansatzes und die der Negativkontrolle dargestellt. Der Ansatz 2 mit den Isolaten und G. sulfurreducens zeigt hierbei die höchste gemessene Stromdichte mit 12,33 µA/cm² nach ca. 12 h. Jedoch sinkt diese bis Tag 7 kontinuierlich, bis sie den Nullwert erreicht. Nach diesen 7 Tagen wurde das Abwasser im System einmal komplett ausgetauscht (| 1, Abb. 5). Nach dem Austausch steigt die Stromdichte bis auf 2,47 µA/cm² (Tag 11) an und fällt sehr schnell wieder ab, bis an Tag 14 eine Stromdichte von 0,085 µA/cm² erreicht ist. In dieser zweiten Woche wird lediglich 1/5 der max. gemessenen Stromdichte der ersten Woche erreicht. Nach 14 Tagen wurde abermals das Abwasser ausgetauscht (| 2, Abb. 5) und auch hier ist ein Anstieg der Stromdichte zu erkennen. An Tag 17 wird ein Wert von 1,65 µA/cm² erreicht. Diese kann über einen Zeitraum von ca. 3 Tagen mehr oder weniger aufrechterhalten werden. An Tag 21 liegt die gemessene Stromdichte bei 0,63 µA/cm². Die Stromdichte ist auf die Anodenfläche von 36 cm² bezogen. Daraus ergibt sich für den 2. Ansatz mit den Isolaten und Geobacter eine mittlere Stromdichte von 15 mA/m² (—). Ansatz 1, der lediglich die Leistung der Isolate im Reaktor untersucht, zeigt innerhalb von 2 Tagen einen Anstieg der Stromstärke auf 2,68 µA/cm². Bis Tag 7 fällt diese wieder bis auf 0,16 µA/cm². Zu diesem Zeitpunkt wurde das Abwasser ausgetauscht, wodurch es wieder zu einem Anstieg der Stromstärke auf 1,33 µA/cm² bis Tag 9 kommt. Ab diesem Zeitpunkt ist wieder ein Abfall bis auf 0,35 μA/cm² (Tag 14) zu beobachten, woraufhin das hA wieder ausgetauscht wurde. In der letzten Woche wurde lediglich eine max. Stromdichte von 1,14 µA/cm² (Tag 16) erreicht. In den darauffolgenden Tagen sinkt auch hier die Stromdichte wieder auf 0,19 μA/cm² bis zu Ende des Experimentes an Tag 21. Die hier kalkulierte mittlere Stromdichte liegt lediglich bei 7,56 mA/m² (—), etwa die Hälfte der mittleren Stromdichte aus Ansatz 2 mit 14,89 mA/m². In beiden Experimenten (Ansatz 1 — und Ansatz 2 —) kann beobachtet werden, dass die max. Stromdichte, welche in

der ersten Woche erreicht wurde, in den darauffolgenden zwei Wochen nicht mehr erreicht werden kann. Das Experiment mit dem inokulierten hA-Abwasser zeigt keine Stromproduktion (—).

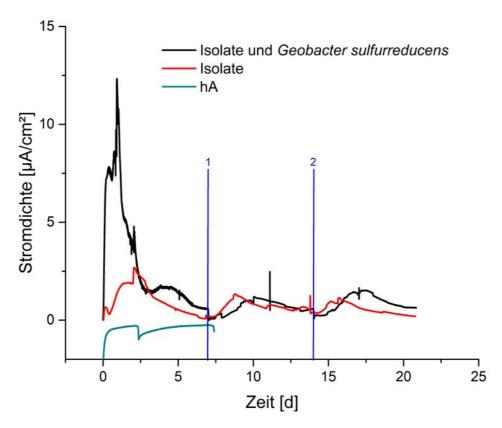


Abbildung 4: Gemessene Stromdichte der Ansätze 1 und 2 und der Negativkontrolle mit hA-Abwasser im Batch-System über 21 Tage. Dargestellt ist die Stromdichte in µA/cm² über die Zeit in d des Ansatzes mit den Isolaten (—), mit den Isolaten und *G. sulfurreducens* (—) und der Kontrolle mit unbeimpftem hA-Abwasser (—). An den eingezeichneten Markierungen ist der Austausch des hA-Abwassers nach 7 (| 1) und 14 (| 2) Tagen gekennzeichnet. Die Graphen entsprechen den Mittelwerten der Triplikate eines jeden Ansatzes.

Während des Versuchszeitraumes von drei Wochen wurde in allen Ansätzen regelmäßig die Acetatkonzentration, der TOC und der pH-Wert gemessen (siehe Abb. 6 und 7). Ansatz 1 zeigt eine Zunahme in der Acetatkonzentration in allen 3 Wochen. In der ersten Woche steigt die Konzentration von 46,38 mM auf 48,32 mM, was einem Anstieg von 1,94 mM und damit 4% entspricht. In der darauffolgenden Woche steigt die Konzentration von 48,53 mM auf 51,04 mM. Dies ist ein Anstieg von 2,51 mM, d.h. 4,9%. In der dritten Woche ist ein Anstieg von 47,43 mM auf 48,53 mM zu verzeichnen (Anstieg von 1,1 mM = 2,3%). Im Durchschnitt ist das eine Zunahme von 1,85 mM (3,73%) pro Woche, bezogen auf 36 cm² Anodenfläche. Damit ergibt sich eine Acetat-Produktion von 513,89 mM pro Woche und m² (—, Abb. 6). Bei Ansatz 2 mit den Isolaten und *G. sulfurreducens* lässt sich lediglich ein Trend abzeichnen. In der ersten Woche scheint es eine leichte Abnahme der Acetatkonzentration zu geben von 46,99 mM auf 46,52 mM zu geben. Das entspricht einer Abnahme von 0,47 mM (1%). In der zweiten

Woche hingegen ist ein Anstieg der Acetatkonzentration um 2,72 mM zu verzeichnen: 47,17 mM auf 49,89 mM. In der letzten Woche wiederum sinkt die Konzentration von 48,52 mM auf 45,09 mM, was einem Verbrauch von 3,43 mM entspricht. Aufgrund der fluktuierenden Werte konnte hier kein eindeutiger Verbrauch von Acetat berechnet werden (—, Abb. 6). Vergleicht man den TOC beider Ansätze miteinander, fällt auf, dass sowohl in dem Ansatz mit den Isolaten als auch dem Ansatz mit den Isolaten und Geobacter über die Zeit TOC verbraucht wird. In der ersten Woche verbrauchen die Isolate in Ansatz 1 0,1 g/L TOC (5%). Hier sinkt der TOC von 2,02 auf 1,92 g/L. In der zweiten Woche sinkt der Wert von 2,08 auf 1,97 g/L (Abnahme von 0,1 g/L = 5%) und in der dritten Woche von 2,29 auf 2,16 g/L (Abnahme von 0,13 g/L = 6%). Das entspricht einer durchschnittlichen Abnahme von 0,11 g/L pro Woche (5%), bezogen auf 36 cm² und damit 30,6 g/L pro Woche und m². Insgesamt wurden innerhalb der 3 Wochen 0,33 g/L (15,49%) TOC verbraucht (—, Abb. 6). Bei dem Ansatz mit den Isolaten und G. sulfurreducens werden innerhalb der 3 Wochen insgesamt 0,76 g/L TOC verbraucht. Das entspricht 36,09% der durchschnittlichen Ausgangsmenge des TOC. In der ersten Woche metabolisieren die Organismen 0,3 g/L (14%). Der TOC sinkt dabei von 2,24 ± 0,16 auf 1,93 g/L. In der 2. Und 3. Woche werden jeweils 11% des TOC mit 0,23 g/L bei einer Abnahme von 2,10 auf 1,87 und 2,11 auf 1,88 g/L verbraucht. Für diesen Ansatz ergibt sich damit eine durchschnittliche TOC-Abnahme von 0,25 g/L pro Woche (12% bei 36 cm² Anodenfläche) und 70,37 g/L pro Woche und m² (—, Abb. 6).

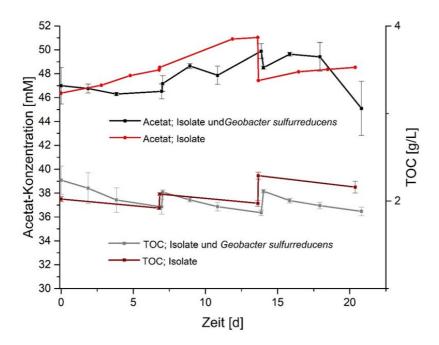


Abbildung 5: Acetatkonzentration [mM] und TOC [g/L] der Ansätze 1 und 2 in der M3C mit hA-Abwasser im Batch-System über 21 Tage. Dargestellt ist die Acetatkonzentration in mM über die Zeit in d des Ansatzes mit den Isolaten (—) und mit den Isolaten und *G. sulfurreducens* (—). Zudem ist der TOC in g/L über die Zeit mit den Isolaten (—) und mit den Isolaten und *G. sulfurreducens* (—) dargestellt. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der jeweiligen Triplikate.

Zudem wird sichtbar, dass der pH-Wert in den Systemen beider Ansätze stark abfällt (Abb. 7 A). Innerhalb der ersten 2 Tage sinkt der pH-Wert in Ansatz 1 von 7,6 auf 6,4. Dieser Abfall korreliert mit dem Zeitraum der gemessenen hohen Stromdichte. Während dieser Zeit wurde der pH-Wert täglich mit 1 M NaOH wieder auf ca. 7,2 eingestellt. Ab Tag 3 bis Tag 7 bleibt der pH-Wert hingegen stabil zwischen 7,4 und 7,7. Auch in der zweiten Woche, nach Austausch des hA-Abwassers (Tag 7), kann beobachtet werden, dass der pH-Wert bis Tag 9 von 7,9 auf 6,4 absinkt. Dies korreliert ebenfalls mit der hohen Stromdichte der 2. Woche. In den 2 Tagen wird der pH-Wert wieder täglich mit 1 M NaOH auf pH 7,2 titriert. Von Tag 10 bis 14 bleibt auch hier der pH-Wert stabil auf 7,2 bis 7,7. An Tag 14 wurde abermals das Abwasser getauscht. Die dritte Woche zeigt gleichermaßen einen Abfall des pH-Wertes innerhalb der ersten beiden Tage, wie in den Wochen zuvor. Von Tag 14 bis 16 sinkt er von 7,6 auf 6,6 (Korrelation mit der höchsten Stromdichte in Woche 3) mit einer anschließenden konstanten Phase (pH 7,3 bis 7,8) bis Tag 21. In den ersten beiden Tagen wurde wieder täglich der pH-Wert auf ca. 7,2 eingestellt (—). Ansatz 2 zeigt den gleichen Abfall des pH-Wetes innerhalb der beiden ersten Tage jeder Woche. In der ersten Woche fällt der pH-Wert von 7,9 auf 6,4, in Woche 2 von 7,9 auf 7,2 und in der dritten Woche von 8,1 auf 7,7. Ab dem 3. Tag jeder Woche ist wieder ein konstanter pH-Wert messbar. Dieser schwankt zwischen 7,9 und 8,1. Auch hier wird der pH-Wert in den ersten 2 Tagen jeder Woche einmal täglich mit 1 M NaOH auf ca. 7,2 eingestellt. Der pH-Wert-Abfall der 2. und 3. Woche ist in diesem Versuch nicht mehr so stark, wie in der ersten Woche (—). Auch dies korreliert mit der Stromdichte, die in diesen Wochen erreicht wird (12,33 μA/cm² in der ersten Woche, 2,47 μA/cm² in der zweiten Woche und 1,65 μA/cm² in der dritten Woche). In Abbildung 28 B ist die Acetatkonzentration (—), der TOC (—) und der pH-Wert (—) in dem Ansatz der Negativkontrolle dargestellt. Hier ist deutlich zu sehen, dass sich alle drei Werte über die Zeit nicht verändern.

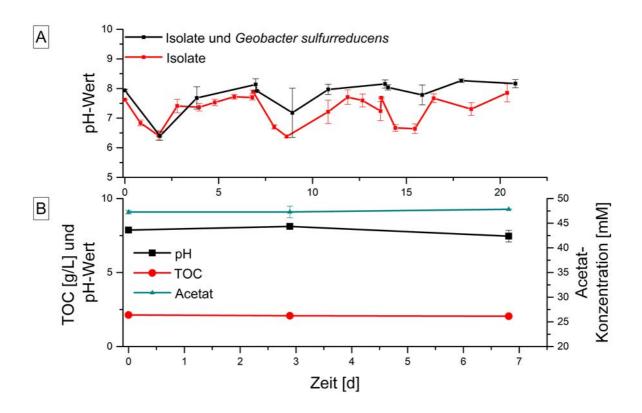


Abbildung 6: pH-Wert der Ansätze 1 und 2 in der M3C mit hA-Abwasser im Batch-System über 21 Tage und Daten der Negativkontrolle mit dem NI hA-Abwasser. A) Dargestellt ist der pH-Wert über die Zeit in d des Ansatzes mit den Isolaten (—) und mit den Isolaten und *G. sulfurredu*cens (—). B) Die Graphen zeigen den pH-Wert (—), den TOC in g/L (—) und die Acetatkonzentration in mM (—) über die Zeit in d. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der jeweiligen Triplikate.

Für die Berechnung der Coulomb´schen Effizienz (CE) (siehe 3.9. M3C-Systeme mit hA-Abwasser), wurde das prozentuale Verhältnis der auf die Elektrode übertragenen Elektronen zu den aus dem metabolisierten Gesamt-TOC, der in 3 Wochen freiwerdenden Elektronen berechnet. Für Ansatz 1 ergibt sich eine CE = 1,6% und für Ansatz 2 CE = 1,3%.

Im 3. Ansatz, in welchem die Leistung des Laborstammes *Geobacter sulfurreducens* in der M3C mit hA-Abwasser untersucht wurde, wurde zunächst, wie auch bei den Ansätzen zuvor, mit N₂ begast. In Abbildung 29 ist deutlich zu erkennen, dass der Stamm nicht in der Lage ist unter diesen Bedingungen Strom zu erzeugen (—). Zudem wird weder Acetat (—), noch TOC (—) abgebaut. Auch der pH-Wert (—) bleibt über die Zeit konstant (siehe Abb. 8 A). Es ist ebenfalls zu beobachten, dass der Organismus bräunlich-rote Aggregate bildet, welche sich an den Bauteilen des Reaktors ablagern und am Boden sedimentieren (siehe Abb. 8 A). Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Begasung auf N₂/CO₂ (80%/20%) umgestellt. Dieser Versuch zeigt, dass der Laborstamm unter diesen Bedingungen in der Lage ist, Strom zu produzieren (—, Abb. 8). Innerhalb der ersten 7,5 h steigt die Stromdichte auf 12,74 μA/cm² an, fällt aber daraufhin wieder auf 6,31 μA/cm² (24 h). Nach diesem Abfall kann ein weiterer

Anstieg auf 14,43 µA/cm² innerhalb der nächsten 4h verzeichnet werden. Zu diesem Zeitpunkt wurde der pH-Wert mit 1 M NaOH auf ca. 7,0 titriert, ebenso an den Tagen 2 bis 4. Bis Tag 4 fällt der Strom daraufhin wieder ab, es wird eine Stromdichte von 2,09 µA/cm² erreicht. Bis Tag 7 steigt die Stromdichte wieder auf einen Wert von 5,31 µA/cm² an und fällt dann rapide auf -0,31 µA/cm² ab. Zu diesem Zeitpunkt ist die Begasung ausgefallen und das Abwasser wurde einmal ausgetauscht (| 1, Abb. 8). Bis an Tag 12 steigt daraufhin die Stromdichte auf einen Wert von 4,71 µA/cm² an. Der darauffolgende Abfall der Stromdichte ist zeitgleich mit dem Ausfall der Begasung. Daraufhin wurde die Begasung wieder angeschlossen und das Abwasser an Tag 14 erneut ausgetauscht (| 2, Abb. 8). In der letzten Woche ist zunächst ein kontinuierlicher Strom von ca. 1,1 µA/cm² zu messen und steigt dann ab Tag 19 auf 1,78 μA/cm² an, bis der Versuch an Tag 21 gestoppt wird. In der zweiten Woche wurde bis Tag 3 täglich mit 1 M NaOH und in der 3. Woche bis Tag 2 täglich mit 1 M NaOH der pH-Wert auf ca. 7,0 eingestellt. Für diesen Ansatz ergibt sich eine mittlere Stromdichte von 27,78 mA/m². Während dieses Versuches unter N₂/CO₂-Bedingungen, bilden die Zellen keine Aggregate aus, sondern stehen mit der Anode in direktem Kontakt. Wie Abbildung 9 B zeigt, kommt der Organismus nicht in der Flüssigphase vor.

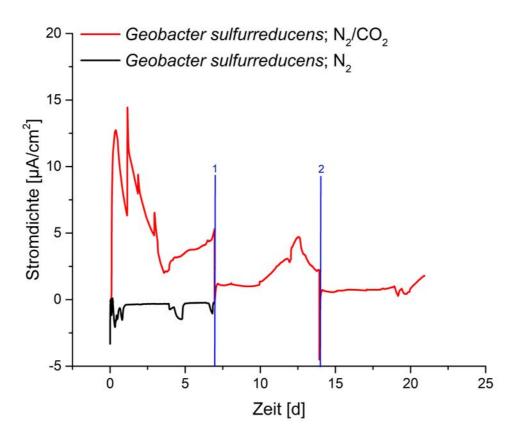


Abbildung 7: Gemessene Stromdichte des Ansatzes 3 in der M3C mit hA-Abwasser im Batch-System über 21 Tage. Dargestellt ist die Stromdichte in μ A/cm² über die Zeit in d des Ansatzes mit G. sulfurreducens und N₂-Begasung (—) und mit N₂/CO₂-Begasung (—). An den eingezeichneten Markierungen ist der Austausch des hA-Abwassers nach 7 (| 1) und 14 (| 2) Tagen gekennzeichnet. Die Grafen entsprechen den Mittelwerten der Triplikate der Ansätze.

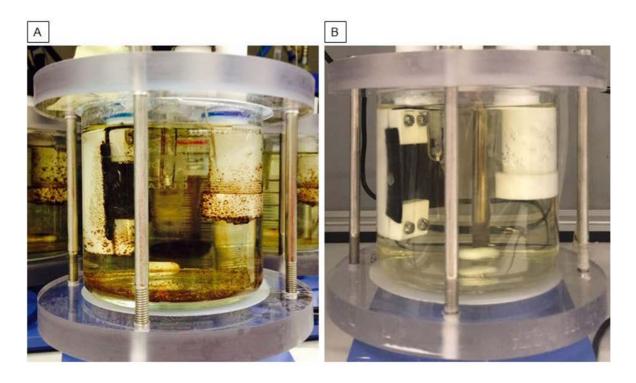


Abbildung 8: *G. sulfurreducens* des 3. Ansatzes im Batch-System der M3C mit hA-Abwasser. A) Mit N_2 -Begasung. B) Mit N_2/CO_2 -Begasung.

Während des Versuchszeitraumes von 3 Wochen wurde auch in diesem Ansatz, sowohl unter N₂- als auch unter N₂/CO₂-Bedingungen, in regelmäßigen Abständen die Acetatkonzentration, der TOC und der pH-Wert gemessen (siehe Abb. 10 A und B). Wie bereits erwähnt, ist G. sulfurreducens mit N₂ -Begasung nicht in der Lage Acetat (—) und TOC (—) abzubauen. Auch der pH-Wert (—) änderte sich über die Zeit nicht. Begaste man jedoch mit mit N₂/CO₂, zeigte der Stamm eine Abnahme der Acetatkonzentration in allen 3 Wochen. In der ersten Woche wurden 8,43 mM Acetat abgebaut, die Konzentration sank von 45,95 mM auf 37,52 mM. Dies entspricht einem Verbrauch von 18%. In der darauffolgenden Woche wurden lediglich 2,9 mM Acetat abgebaut (6%). Die Konzentration sank von 52,72 mM auf 49,45 mM. In der dritten Woche war keine Abnahme der Acetatkonzentration zu messen. Die durchschnittliche Abnahme betrug damit 3,78 mM pro Woche, bezogen auf 36 cm² Anodenfläche, was 9% der Anfangskonzentration entspricht. Damit ergab sich eine Acetat-Abnahme von 1,05 M pro Woche und m2. Bei disem Versuch wurden innerhalb der 3 Wochen insgesamt 11,33 mM Acetat verbraucht, was 22,95% der durchschnittlichen Ausgangskonzentration entsprach (—, Abb. 10 B). Betrachtet man den TOC in diesem Versuch, kann ebenfalls ein Abbau über alle 3 Wochen beobachtet werden. In der ersten Woche werden 0,25 g/L TOC (12%) abgebaut. Dieser sinkt dabei von 2,13 auf 1,88 g/L. In der zweiten Woche sinkt der Wert von 2,32 auf 1,23 g/L (Abnahme von 0,09 g/L = 4%) und in der dritten Woche von 2,18 auf 2,15 g/L (Abnahme von 0,03 g/L = 1%). Das entspricht einer durchschnittlichen Abnahme von 0,123 g/L pro Woche (6%), bezogen auf 36 cm² und damit 34,26 g/L pro Woche und m². Insgesamt wurden innerhalb der 3 Wochen 0,37 g/L (16,47%) TOC verbraucht (—, Abb. 10 B). Der Abbau

von 8,43 mM Acetat in der ersten Woche entspricht 0,2 g/L TOC. Der gemessene abgebaute TOC in dieser Woche ist 0,25 g/L. Damit entspricht dies bis auf 0,5 g/L der abgebauten Acetatkonzentration. In der zweiten Woche werden lediglich 2,9 mM Acetat abgebaut, was 0,07 g/L TOC ensprechen. Der gemessene abgebaute TOC liegt bei 0,09 g/L. Auch hier enspricht der kalkulierte abgebaute TOC der abgebauten Acetatkonzentration. In der letzen Woche kann jedoch kein Abbau von Acetat detektiert werden. Der gemessnen abgebaute TOC ist hier mit 0,03 g/L sehr gering. Umgerechnet wären das ca. 1,25 mM Acetat, welches in dieser Woche abgebaut werden würde. Dies ist vermutlich aufgrund der zu geringen Konzentration nicht zu detektieren. Der pH-Wert in diesem Versuch ist weitestgehend konstant zwischen 6,1 und 6,5 in der ersten Woche, 6,5 und 6,6 in der zweiten und auch in der dritten (—, Abb. 31 B). Um den pH für den Organismus jedoch in Richtung Optimum zu bringen, wurde in der ersten Woche in den ersten 4 Tagen täglich der pH-Wert auf ca. 7,2 mit 1 M NaOH titriert, in der 2. Woch bis Tag 3 und in der 3. Woche lediglich an Tag 1 und 2, da sich hier gegen Ende ein Gleichgewicht eingestellt hatte.

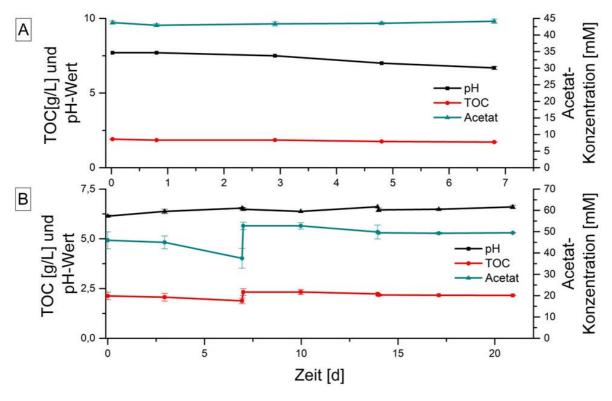


Abbildung 9: pH-Wert, TOC und Acetatkonzentration des 3. Ansatzes mit G. sulfurreducens mit hA-Abwasser im Batch-System über 7 bzw. 21 Tage. A) Dargestellt ist der pH-Wer t (—), der TOC in g/L (—) und die Acetatkonzentration in mM (—) über die Zeit in d von 7 Tagen mit N_2 -Begasung. B) Die Grafen zeigen den pH-Wert (—), den TOC in g/L (—) und die Acetatkonzentration in mM (—) über die Zeit in d von 21 Tagen mit N_2 /CO $_2$ -Begasung. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der jeweiligen Triplikate.

Die errechnete Coulomb´sche Effizienz (CE) des 3. Ansatzes mit *G. sulfurreducens* bei N₂/CO₂-Begasung beträgt 4,84%. Diese ist um das 3-fache, bzw. 3,7-fache höher als die CE in Ansatz 2 und 1, jedoch wiederum sehr gering.

In Abbildung 11 ist der mittlere TOC-Verbrauch [g/L pro m² und Woche] () und die mittlere Stromdichte [mA/m²] () der Ansätze 1, 2 und 3 (Isolate, Isolate und *G. sulfurreducens* und *G. sulfurreducens*) gegeneinander aufgetragen. Der direkte Vergleich zeigt, dass der mittlere TOC-Verbrauch der Isolate (Ansatz 1) mit 30,56 g/L zusammen mit dem TOC-Verbrauch von 34,26 g/L durch *G. sulfurreducens* in Ansatz 3, fast dem Wert des Verbrauchs von Ansatz 2 entspricht. Dieser zeigt einen mittleren TOC-Verbrauch von 70,37 g/L pro m² und Woche, wohingegen Ansatz 1 und Ansatz 3 zusammen einen mittleren TOC-Verbrauch von 64,82 g/L ergeben. Vergleicht man die Stromdichte der verschiedenen Experimente miteinander, wird deutlich, dass durch die Zugabe des Laborstammes *G. sulfurreducens* zu den Isolaten, die mittlere Stromdichte nahezu verdoppelt werden kann. Mit 7,56 mA/m² in dem Ansatz mit den Isolaten und 14,89 mA/m² in Ansatz 2 mit der Zugabe des Laborstammes. Eine abermalige Verbesserung zeigt Ansatz 2 mit 27,78 mA/m².

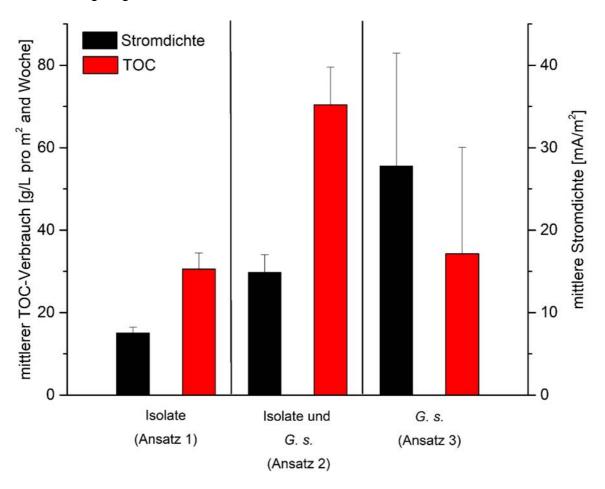


Abbildung 10: Mittlerer TOC-Verbrauch und mittlere Stromdichte der 3 Ansätze im Batch-System mit dem hA-Abwasser. Aufgetragen ist der mittlere TOC-Verbrauch in g/L pro m^2 und Woche () und die mittlere Stromdichte in mA/m^2 () des Ansatzes 1 mit den Isolaten, des Ansatzes 2 mit den Isolaten und G. sulfurreducens und des Ansatzes 3 mit G. sulfurreducens (N_2/CO_2 -Begasung). Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung der jeweiligen Triplikate.

Für alle drei Ansätze wurde im Anschluss an das Experiment jeweils die Anode aus den Reaktoren entnommen und für weitere Analysen vorbereitet. Mit einem Teil der Anode (1 cm²) wurde eine FISH-Färbung durchgeführt. In Abbildung 12 sind die Bilder der Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung dargestellt. Die Abbildungen 12 A und B sind von der Anode aus Ansatz 1 mit den Isolaten aufgenommen worden. Für die Färbung wurde die EUB338-1-Sonde (rot -Cy3-Fluoreszenzfarbstoff) und DAPI (blau) verwendet. Hier wurden alle isolierten Stämme mit dem gleichen Farbstoff angefärbt, da lediglich ein Überblick über die Lokalisation der Bakterien im System ergeben sollte. In den Bildern ist zu sehen, dass die Organismen auf den Fasern der Anode kaum einen Biofilm ausbilden, hauptsächlich sind hier einzelne Organismen lokalisiert. Zudem befinden sich wenige Zellen direkt auf den Fasern (Abb. 12 B). In Abb. 12 A hingegen ist ein Biofilm erkennbar, welcher nicht direkt auf einer Anodenfaser lokalisiert, sondern eher in dem Zwischenraum der Fasern vorzufinden ist. Der Biofilm besteht jedoch nicht ausschließlich aus den einzelnen Organismen, welche man deutlich erkennen kann, sondern es befinden sich auch erheblich kleinere, dünnere Fasern zwischen den Organismen. Somit erscheint der Biofilm als ein lockeres Gebilde aus Organismen und den dünneren Fasern der Anode. In den Abbildungen 12 C und D sieht man den Ansatz mit den Isolaten und G. sulfurreducens. Zusätzlich zu der EUB338-1-Sonde für die Isolate und DAPI, welches die DNA anfärbt, wurde die Geo 2-Sonde mit dem grün fluoreszierenden FITC-Farbstoff für die Färbung des Laborstammes verwendet. Bei dieser Färbung ist deutlich zu sehen, dass hauptsächlich der Laborstamm G. sulfurreducens den Biofilm rund um die Anodenfasern ausbildet. Er erscheint als ein viel dichteres Gebilde, als der Biofilm der Isolate in Abb. 12 A. In dem Biofilm sind auch einzelne rot angefärbte Zellen sichtbar, welche größer sind als die Zellen von G. sulfurreducens. In den beiden letzten Bildern (Abb. 12 E und F) wurde G. sulfurreducens aus Ansatz 3 mit der Geo_2-Sonde und dem Cy3-Fluoreszenzfarbstoff (rot) und DAPI (blau) angefärbt. Auf den Anodenfasern sind einzelne, kleinere Zellen zu sehen. Geobacter alleine bildet im Vergleich zu den Organismen des 2. Ansatzes auf den Anoden (Abb. 12 C und D) keinen Biofilm aus, obwohl dieser hauptsächlich aus Geobacter-Zellen besteht. Der Organismus befindet sich lediglich auf den Anodenfasern, nicht aber im Zwischenraum des Faser-Netzwerkes.

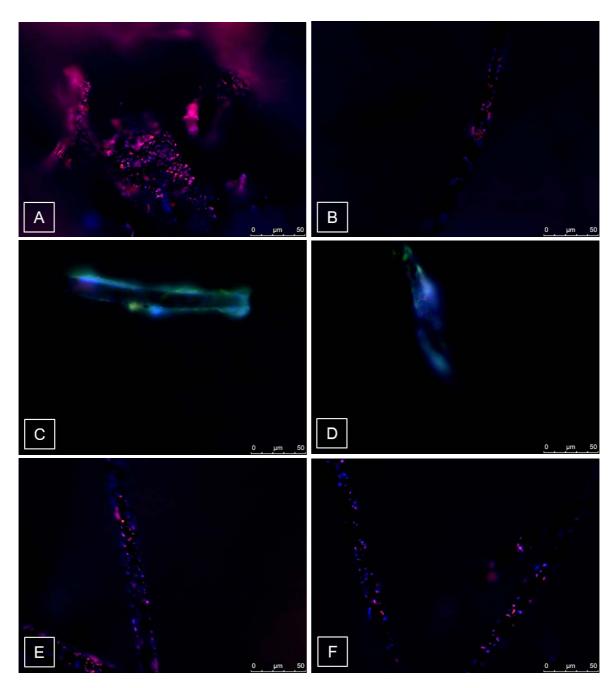


Abbildung 11: FISH-Färbung der Anode der Ansätze 1 bis 3 im Batch-System der M3C mit dem hA-Abwasser. A) und B) Ansatz 1 mit den Isolaten. Färbung der isolierten Organismen mit der EUB338-1-Sonde (rot - Cy3-Fluoreszenzfarbstoff) und DAPI (blau). C) und D) Ansatz 2 mit den Isolaten und G. sulfurreducens. Färbung der Isolate mit der EUB338-1-Sonde (rot - Cy3-Fluoreszenzfarbstoff) und DAPI (blau). G. sulfurreducens wurde mit der Geo_2-Sonde (grün - FITC-Fluoreszenzfarbstoff) und DAPI (blau) angefärbt. E) und F) Ansatz 3 mit dem Laborstamm *G. sulfurreducens*. Färbung mit der Geo_2-Sonde (rot - Cy3-Fluoreszenzfarbstoff) und DAPI (blau). Die Bilder sind ein Overlay beider Fluoreszenzfarbstoffe. Fluoreszenzmikroskopie mit Dip-In-Objektiv mit 63 x Vergrößerung. Größenbalken 25 μm.

Bioelektrochemische Experimente mit hA-Abwasser im Durchfluss

Da sowohl die erzielte Stromdichte, als auch die Menge an verbrauchtem TOC, und somit auch die erreichte Coulomb'sche Effizienz, in den Batch-Experimenten sehr gering ausfiel, wurde der Reaktor auf ein Durchfluss-System umgestellt. Auch hier wurden wieder die folgenden Ansätze miteinander verglichen:

- (1) Ansatz 1: Isolate (Clostridium sp. I, Clostridium sp. II, Paenibacillus sp., E. coli)
- (2) Ansatz 2: Isolate (*Clostridium* sp. I, *Clostridium* sp. II, *Paenibacillus* sp., *E. coli*) und der Laborstamm *G. sulfurreducens* (Barcode)

Es wurde zunächst für die ersten 9 Tage eine Adaptationsphase im Batch-Verfahren durchgeführt, bevor das Abwasser mit einer geringen Flussrate bis zum völligen Austausch von Anodenmedium durch das hA-Abwasser durch das System gepumpt wurde. Im Anschluss wurden verschiedene Flussraten und deren Einfluss auf die Leistung des Systems getestet. Die Versuche wurden im Unikat unter N₂/CO₂-Begasung durchgeführt.

In den ersten 92 Tagen wurde die Leistungsfähigkeit beider Ansätze parallel getestet. Abbildung 13 zeigt die erreichte Stromdichte in mA/cm² über diese Zeit für den Ansatz mit den Isolaten (—) und den Isolaten und *G. sulfurreducens* (—). Beide Strom-Kurven verhalten sich über den Messzeitraum nahezu identisch. Allerdings ist die produzierte Stromdichte in dem Ansatz mit dem Laborstamm höher als in dem ohne diesen.

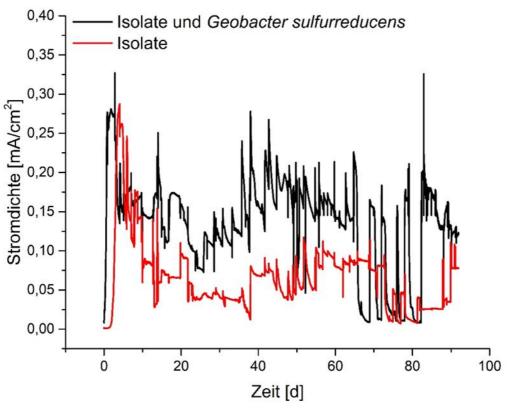


Abbildung 12: Gemessene Stromdichte der Ansätze 1 und 2 mit hA-Abwasser im Durchfluss-System über 92 Tage. Dargestellt ist die Stromdichte in mA/cm² über die Zeit in d des Ansatzes mit den Isolaten (—) und mit den Isolaten und G. sulfurreducens (—).

In den ersten 9 Tagen der Adaptationsphase erreicht Ansatz 2 nach ca. einem Tag eine Stromdichte von 0,28 mA/cm², welche an Tag 3 bis auf 0,33 mA/cm² ansteigt und direkt wieder fällt. Ansatz 1 mit den Isolaten erreicht erst an Tag 4 eine Stromdichte von max. 0,28 mA/cm² (siehe Abb. 14 A), welche ebenfalls bis zum Anschalten der Pumpe an Tag 9 wieder abfällt. Nach diesen 9 Tagen (| 1, Abb. 14 A) wurde mit dem Austausch des Anodenmediums durch das hA-Abwasser begonnen. Mit einer Flussrate von 0,015 ml/min und einer HRT von 12,5 Tagen wurde bis Tag 21 das Medium einmal komplett ausgetauscht (| 2, Abb. 14 A). In dieser Zeit kann beobachtet werden, dass der Strom nicht weiter sinkt. Die Stromdichte bleibt in beiden Ansätzen, mit Ausnahme von zwei Anstiegen und einem errechneten mittleren Wert von 0,15 mA/cm² für Ansatz 2 mit den Isolaten und G. sulfurreducens (—, Abb. 14 A) und 0,08 mA/cm² für Ansatz 1 mit den Isolaten (—, Abb. 14 A), weitestgehend konstant. An Tag 35 wurde die Flussrate um 25% auf 0,01875 ml/min (HRT = 10 Tage) erhöht (| 3, Abb. 14 A). Ab diesem Zeitpunkt steigt die Stromdichte in beiden Ansätzen wieder leicht an. Was in dieser Zeit besonders in Ansatz 2 zu beobachten ist, ist, dass mit jeder pH-Justierung auf ca. 7,2 mit 1 M NaOH die Stromdichte umgehend ansteigt (4, Abb. 14 A und B). In diesem System musste der pH-Wert lediglich alle 2 Tage und nicht täglich, wie in den Batch-Reaktoren, neu eingestellt werden. Diese Einstellung ist deutlich etwa alle 2 Tage an den kleinen Anstiegen der Stromdichte zu sehen. Mit weiteren Erhöhungen der Flussrate auf 0,0234 ml/min (HRT = 8 Tage) an Tag 35 (| 5, Abb. 14 A) und 0,293 ml/min (HRT = 6,5 Tage) an Tag 37 (| 6, Abb. 14 A) steigt die Stromdichte weiter an bis auf einen max. Wert von 0,27 mA/cm² in Ansatz 2 (-, Abb. 35 A) und 0,08 mA/cm² in Ansatz 1 (-, Abb. 14 A). Daraus ergibt sich eine Steigerung der Stromdichte mit ansteigender Flussrate und absteigender HRT. An Tag 39 wurde die Flussrate wieder auf 0,0234 ml/min gesenkt (| 7, Abb. 14 A) aufgrund der zu diesem Zeitpunkt teilweise steigendem TOC und der steigenden Acetatkonzentration. Weder TOC

noch Acetat wurden bei dieser hohen Flussrate optimal abgebaut (Abb. 14 A und B, | 4). An Tag 46 wurde die Flussrate auf 0,01875 ml/min gesenkt (| 8, Abb. 14 A) und an Tag 49 wurde die Ursprungs-Flussrate von 0,015 ml/min eingestellt (| 9, Abb. 14 A). Mit geringerer Flussrate und damit steigender HRT ist somit eine Absenkung der Stromdichte von Tag 39 bis 49 zu beobachten. Bis Tag 65 pendelt sich die Stromdichte auf einen mittleren Wert von 0,15 mA/cm² für Ansatz 2 mit den Isolaten und G. sulfurreducens (—, Abb. 14 A) und 0,08 mA/cm² für Ansatz 1 mit den Isolaten (—, Abb. 14 A) ein. Nicht nur die Einstellung des pH-Wertes zeigt umgehend eine Veränderung der Stromstärke, sondern auch der Austausch des Kathodenmediums über eine Spritze ist mit einem geringen Anstieg der Stromdichte messbar (10, Abb. 14 A). An den Tagen 60 und 84 wurde das Kathodenmedium neu aufgefüllt, bzw. ausgetauscht. Im Zeitraum zwischen Tag 65 und 82 ist es zu Betriebsproblemen der Anlage gekommen (8, Abb. 14 A). Zum einen ist die Begasung an Tag 66 ausgefallen, was deutlich an der abfallenden Stromdichte in Ansatz 2 (—, Abb. 14 A) zu sehen ist und zum anderen sind die Schläuche für den Zu- und Ablauf des hA-Abwassers nach und nach verstopft, bis sie an Tag 83 einmal komplett ausgetauscht wurden. Für diesen zeitraum wurde eine mittlere Stromdichte von 0,06 mA/cm² für Ansatz 2 (—, Abb. 14 A) und 0,05 mA/cm² für Ansatz 1 (—, Abb. 14 A) gemessen. Nach dem Austausch der Schläuche steigt vor allem in der M3C von Ansatz 1 (—, Abb. 14 A) die Stromdichte wieder bis zu einem Wert von 0,08 mA/cm² an Tag 92 an. Für Ansatz 2 mit dem Laborstamm ist nach dem Austausch zunächst ein Anstieg auf 0,33 mA/cm² zu beobachten, allerdings fällt die Stromdichte bis Tag 92 wieder auf 0,12 mA/cm² (—, Abb. 14 A). Für diese 92 Tage wurde in Ansatz 1 eine mittlere Stromdichte von 656,97 mA/m² erreicht und für Ansatz 2 1368,25 mA/m². Somit konnte, wie in den Batch-Systemen mit der Zugabe des Laborstammes G. sulfurreducens die Stromdichte mehr als verdoppelt werden. Wie bereits erwähnt, ist der pH-Wert über die Zeit von 92 Tagen der beiden Ansätze in Abbildung 14 B dargestellt (— Ansatz 1, — Ansatz 2). In den ersten 21 Tagen bis zum vollständigen Austausch des Anodenmediums durch das hA-Abwasser ist ein stufenweiser Abfall des pH-Wertes von pH 8 auf pH 7 in beiden Ansätzen (— Ansatz 1, — Ansatz 2) zu beobachten. Nach dem vollständigen Austausch kommt es zu pH-Schwankungen von min. 6,16 bis max 7,5 in Ansatz 2 (—) und mind. 6,36 bis max. 7,5 in Ansatz 1 (—) bis zu Tag 92, wobei während der hohen Flussraten von 0,0234 ml/min und 0,0239 ml/min zwischen Tag 35 und 46 die niedrigsten pH-Werte gemessen werden konnten. Diese niedrigen pH-Werte korrelieren ebenfalls mit den hohen Stromdichten, die zu dieser Zeit gemessen wurden. Nach der Einstellung der niedrigsten Flussrate kann ein kontinuierlicher Anstieg der pH-Werte in beiden Ansätzen beobachtet werden bis max. 7,51 in Ansatz 2 (—) und 7,59 in Ansatz 1 (—) an Tag 80. Aufgrund des Durchfluss-Systems musste im Vergleich zu der Batch-Betriebsweise lediglich alle 2 Tage der pH-Wert mit 1 M NaOH auf ca. 7,2 eingestellt werden, anstatt täglich.

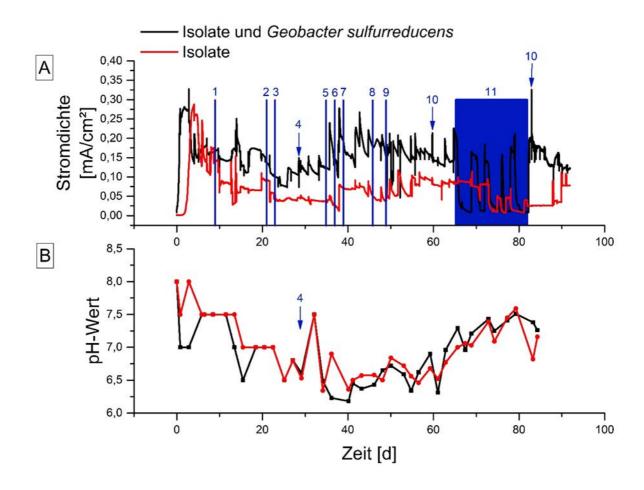


Abbildung 13: Gemessene Stromdichte und der pH-Wert der Ansätze 1 und 2 mit hA-Abwasser im Durchfluss-System über 92 Tage. A) Dargestellt ist die Stromdichte in mA/cm² über die Zeit in d des Ansatzes mit den Isolaten (—) und mit den Isolaten und *G. sulfurreducens* (—). Die Markierungen zeigen die Ereignisse während der Versuchslaufzeit: Anschalten der Pumpe an Tag 9 mit einer Flussrate von 0,015 ml/min, HRT = 12,5 Tage (| 1), kompletter Austausch des Anodenmediums durch das hA-Abwasser an Tag 21 (| 2), Erhöhung der Flussrate an Tag 23 auf 0,01875 ml/min, HRT = 10 Tage (| 3), Zugabe von 1 M NaOH für die Einstellung des pH-Wertes (↓ 4), Erhöhung der Flussrate an Tag 35 auf 0,0234 ml/min, HRT = 8 Tage (| 5), Erhöhung der Flussrate an Tag 37 auf 0,0293 ml/min, HRT = 6,5 Tage (| 6), Senkung der Flussrate an Tag 39 auf 0,0234 ml/min, HRT = 8 Tage (| 7), Senkung der Flussrate an Tag 46 auf 0,01857 ml/min, HRT = 10 Tage (| 8), Senkung der Flussrate an Tag 49 auf 0,015 ml/min, HRT = 12,5 Tage (| 9). Austausch des Kathodenmediums (↓ 10), Betriebsprobleme der Anlage (11). B) Diese Grafik zeigt den pH-Wert über die Zeit in d von 84 Tagen und die regelmäßige Titration den pH-Wertes (↓ 4).

Vergleicht man nun die mittlere Stromdichte gemessen im Batch-System der beiden Ansätze mit den Ergebnissen des Durchfluss-Systems, wird deutlich, dass durch das kontinuierliche Zu- und Abpumpen des hA-Abwassers in Ansatz 1 (■) eine Steigerung der mittleren Stromdichte um das 87-fache von 7,6 mA/m² auf 656,97 mA/m² erzielt werden konnte. In dem Ansatz mit den Isolaten und G. sulfurreducens konnte sogar eine 91-fache Steigerung erreicht werden. Hier hat sich die mittlere Stromdichte von 14,89 mA/m² auf 1368, 25 mA/m² erhöht (■, siehe Abb. 15).

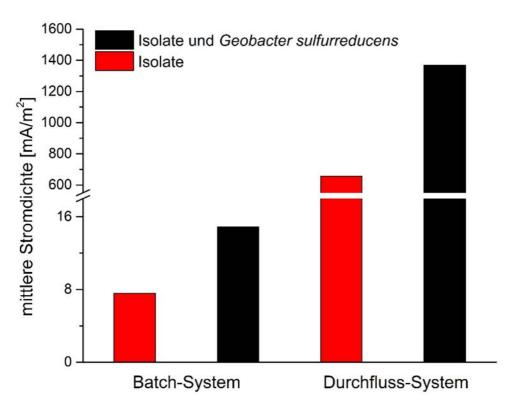


Abbildung 14: Mittlere Stromdichte der Ansätze 1 und 2 im Batch- und Durchfluss-System mit hA-Abwasser. Aufgetragen ist die mittlere Stromdichte in mA/m² des Ansatzes 1 mit den Isolaten () im Batch- und Durchfluss-System und die mittlere Stromdichte in mA/m² des Ansatzes 2 mit den Isolaten und G. sulfurreducens () ebenfalls im Batch- und Durchfluss-System.

Im Anschluss an das Langzeitexperiment wurde auch hier eine FISH-Färbung der Anode aus dem Reaktor des 2. Ansatzes durchgeführt, um zu untersuchen, wie sich der Biofilm im Vergleich zum Batch-System verändert hat (Abb. 17 A - D). In diesen Experimenten wurde G. sulfurreducens mit der Geo 2-Sonde und dem gekoppelten FITC-Fluoreszenzfarbstoff (grün) gefärbt, die Stämme Clostridium sp. I und II und Paenibacillus sp. mit der LGC Firmicutes-Sonde mit Cy5-Fluoreszenzfarbstoff (gelb) und E. coli mit der Ent-Sonde, welche Cy3 gekoppelt trägt und rot fluoresziert. Alle Organismen wurden zusätzlich mit DAPI gefärbt (blau). Was auf diesen Bildern deutlich zu sehen ist, ist die Größe der gebildeten Biofilme an und zwischen den Fasern der Anode. In Abb. 17 A wurde die Intensität des Fluoreszenzfarbstoffes FITC herabgesetzt, um die Struktur des Biofilms über die DAPI-Färbung besser darstellen zu können. Dieser Biofilm ist am oberen Ende mit einer Anodenfaser in Kontakt und besteht hauptsächlich aus kleinen Geobacter-Zellen. In Abb. 17 B ist die Größe eines solchen Biofilms deutlich zu erkennen. Dieser umwächst nicht nur die Fasern, sondern bewächst auch die Zwischenräume zwischen den einzelnen Anodenfasern. Hier ist deutlich zu erkennen, dass der Biofilm nicht nur aus Geobacter-Zellen besteht, sondern auch E. coli-Zellen in dem Biofilm vorkommen (rot gefärbte Zellen). Auch in den Bildern C und D sind die Biofilme auf den Fasern dieser Anode dargestellt. Auch hier ist die leicht körnige Struktur durch die kleinen Zellen von G. sulfurreducens zu erkennen. Auch hier wird deutlich, dass der Biofilm hauptsächlich aus dem Laborstamm besteht und nur vereinzelt *E. coli* zu finden ist. Die drei anderen Isolate *Clostridium* sp. I, II und *Paenibacillus* sp. sind in den Biofilmen nicht zu finden. Betrachtet man nun die Bilder E und F, welche die Bakterien in der Flüssigphase des Reaktors zeigt, wird deutlich, dass hier die Firmicutes *Clostridium* sp. I, II und *Paenibacillus* sp. und *E. coli* zu finden sind, jedoch keine *Geobacter-Zellen*. Somit kann zusammenfassend gesagt werden, dass *Geobacter sulfurreducens* auf der Anode große Biofilme bildet, in denen vereinzelt auch *E. coli* vorkommt, jedoch aber nicht in der Flüssigphase zu finden ist. Die Isolate *Clostridium* sp. I, II und *Paenibacillus* sp. hingegen sind ausschließlich in der Flüssigphase zu finden, in der auch *E. coli* in größerer Menge, als im Biofilm der Anode, vorkommt. Vergleicht man diese Bilder mit den Bildern aus dem Batch-System, ist zu sehen, dass die ausgebildeten Biofilme deutlich größer sind und dass man nur wenige Stellen an den Fasern findet, an denen vereinzelt Mikroorganismen in Kontakt mit diesen stehen.

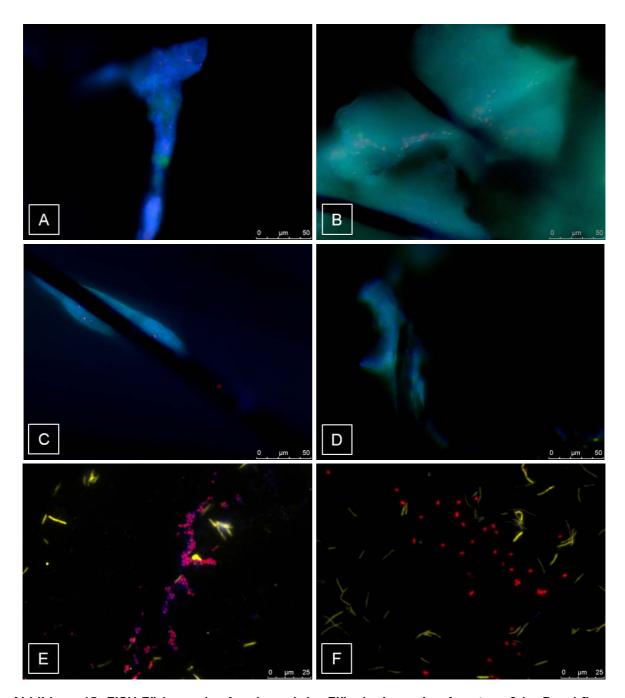


Abbildung 15: FISH-Färbung der Anode und der Flüssigphase des Ansatzes 2 im Durchfluss-System mit dem hA-Abwasser. A) bis D) Anode. E) und F) Flüssigphase. Färbungen mit DAPI (blau) aller Organismen, Färbung des Laborstamms *G. sulfurreducens* mit der Geo_2-Sonde (grün - FITC-Fluoreszenzfarbstoff), Färbung von E. coli mit der Ent-Sonde (rot - Cy3-Fluoreszenzfarbstoff) und Färbung der Isolate Clostridium sp. I, II und Paenibacillus sp. mit der LGC-Sonde (gelb – Cy5-Fluoreszenzfarbstoff). Die Bilder sind ein Overlay beider Fluoreszenzfarbstoffe. Fluoreszenzmikroskopie mit Dip-In-Objektiv mit 63 x Vergrößerung. Größenbalken 25 μm.

Ermittlung der finalen Zusammensetzung der Organismen auf der Anode

Über die Zugabe von G. sulfurreducens zu den Isolaten konnte gezeigt werden, dass die Stromproduktion sowohl im Batch-System, als auch im Durchfluss-System um das doppelte gesteigert werden konnte. Zudem zeigten die FISH-Aufnahmen der Anode, dass der gebildete Biofilm im Durchfluss-System deutlich größer ist, als der auf den Anoden des Batch-Versuchs. Hier wurden nicht nur die Anodenfasern bewachsen, sondern auch die Zwischenräume der Anodenfasern. Beim Wechsel des Systems konnte eine Steigerung der Stromproduktion um das 91-fache in dem Ansatz mit dem Laborstamm Geobacter sulfurreducens erreicht werden. Mithilfe der gPCR wurde zudem die Zellzahl von Geobacter in dem Batch- verglichen mit dem Durchfluss-Experiment ermittelt. In Abbildung 20 ist die produzierte mittlere Stromdichte (14,89 mA/m² des Batch-Experiments und 1368,25 mA/m² des Durchfluss-Experiments dargestellt. Die Umstellung des Systems bringt eine 91-fache Steigerung der Stromdichte. Vergleicht man nun die Zellzahl (), resultierend aus der gPCR (Effizienz: 99,3%, R²: 0,974), so lässt sich eine Zellzahl von 3,16 x 10⁶ Zellen/ml für das Batch-Experiment (Mittelwert aus den 3 Anoden der 3 Reaktoren) und 1,49 x 10¹⁰ Zellen/ml für das Durchfluss-Experiment ermitteln. Somit sind auf der Anode des Durchfluss-Reaktors 5000 x mehr Zellen als auf der Anoden der Batch-Reaktoren, allerdings wird lediglich 91 x mehr Strom produziert.

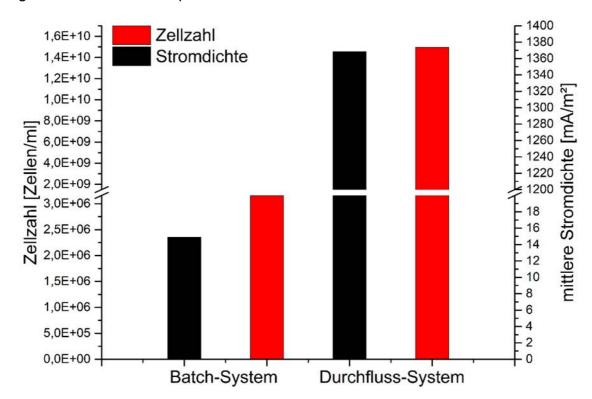


Abbildung 16: Mittlere Stromdichte und Zellzahl von *G. sulfurreducens* des 2. Ansatzes im Batch-System und Durchfluss-System mit hA-Abwasser. Aufgetragen ist die mittlere Stromdichte in mA/m² des Ansatzes 2 mit den Isolaten und G. sulfurreducens () und die über qPCR ermittelte Zellzahl von *G. sulfurreducens* in Zellen/ml der Anoden von Ansatz 2 ().

2. Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

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

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

In diesem Projekt wurde eine neue Technologie zur Erhöhung der Stromdichte in bioelektrochemischen Systemen entwickelt. Hierbei wurden ambitionierte Ziele verfolgt, zumal es für die Arbeiten an der Schnittstelle von Bioelektrochemie, Mikrobiologie und Abwasserreinigung noch wenige Referenzen und Erfahrungen gab. Hieraus resultierte ein generell erhöhter Aufwand zur Bearbeitung der Fragestellungen. Die eingesetzten Ressourcen und der betriebene Aufwand sind somit als absolut notwendig anzusehen, um grundlegenden Fragestellungen zu klären. Der erfolgreiche Abschluss des Projektes zeigt, wie gut die Ressourcen genutzt wurden.

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

Fast alle bioelektrochemischen Systeme sind abhängig von der Aktivität von Mikroorganismen, die in Biofilmen organisiert sind. Man geht davon aus, dass das Wachstum als Biofilm die natürliche Wachstumsform fast aller Mikroorganismen ist. Somit besteht bioelektrochemischen Systemen ein Konflikt zwischen der Nutzung der Elektrodenoberfläche durch elektroaktive Mikroorganismen und der mikrobiellen Oberflächenpassivierung durch andere Organismen, die sich lediglich an der Oberfläche anlagern und keine Elektronenübertragung katalysieren. Unsere Arbeiten zeigen, dass eine systematische Isolierung, Anpassung und Oberflächenbesiedlung zu starken Leistungssteigerungen führen kann. Daneben sind die entwickelten Biofilme optimal auf das Substrat angepasst und kompetitiv in Bezug auf die Oberflächenbesiedlung verglichen mit anderen Mikroorganismen, die die Elektrode nicht als Elektronenakzeptor nutzen. Wir gehen davon aus, dass die hier entwickelten Verfahren zum Standard bei der Entwicklung von industriellen bioelektrochemischen Anwendungen werden.

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

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

6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

Erfolgte Veröffentlichung:

Effects of wastewater constituents and operational conditions on the composition and dynamics of anodic microbial communities in bioelectrochemical systems. Kokko M, Epple S, Gescher J, Kerzenmacher S. Bioresour Technol. 2018 Jun;258:376-389.

Geplante Veröffentlichung:

Investigation for the microbiological optimization of a bioelectrochemical system (BES) for the application of industrial wastewater treatment. Stefanie Brunner, Andreas Dötsch, Johannes Gescher

Das entsprechende Manuskript befindet sich im Anhang des Abschlussberichts.

III. Erfolgskontrollbericht

1. Beitrag des Ergebnisses zu den förderpolitischen Zielen

Im Sinne der Ausschreibung sollten Verfahren und Konzepte sowohl zur Erhöhung der Energieeffizienz als auch zur Energiegewinnung in der Abwasserentsorgung gefördert werden. Das von uns durchgeführte Projekt berücksichtigte beide Aspekte. Zum einen kann durch den Einsatz der mikrobiellen Brennstoff- bzw. Elektrolysezelle auf die bislang notwendige aktive Belüftung des Abwassers in der aeroben Reinigungsstufe verzichtet werden, wodurch sich die Energieeffizienz der Abwasserbehandlung deutlich verbessern lässt. Zusätzlich soll die im Abwasser vorhandene chemische Energie zur Stromerzeugung bzw. elektrolytischen Wasserstofferzeugung genutzt werden. Dieser Prozess ist als additiv zur bereits etablierten Faulgasgewinnung anzusehen, da schwerlösliche organische Kohlenstoffverbindungen als Schlamm nur schwer an der Anode einer mikrobiellen Elektrolysezelle eliminiert werden können, und daher nach wie vor als Quelle zur Faulgasgewinnung anfallen. Insgesamt sollte so der energetische Nutzungsgrad des Abwassers weiter erhöht und der Energiebedarf der Abwasserbehandlung verringert werden.

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

Es konnte eine ca. 90fache Steigerung der Leistungsdichte durch die gezielte Isolation, Inokulation und Adaption der Anoden-Mikroorganismen erreicht werden. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass eine Optimierung der Biofilmkonnektierung das Potential für eine weitere 70fache Leistungssteigerung bietet, da viele Zellen des adaptierten Biofilms nur mit suboptimaler Kinetik an der Gesamtstromproduktion beteiligt waren. Insgesamt haben wir also als generische Information erarbeiten können, dass sowohl eine Abwasser-spezifische Entwicklung von Biofilmen als auch eine Entwicklung von Prozessbedingungen hin zu dichten flachen Biofilmstrukturen zielführend sind.

3. Fortschreibung des Verwertungsplans

3.1. Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen

Keine.

3.2. Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont)

Es wurden vielversprechende Ergebnisse erzielt. Wir hoffen, dass innerhalb der nächsten 5 Jahre mit einer technischen Umsetzung der Ergebnisse gerechnet werden kann. Dazu wird es aber notwendig sein, in einem weiteren geförderten Projekt die Konnektivität des Biofilms zu

steigern und den Einfluss von Lastwechseln auf die mikrobielle Gemeinschaft zu zeigen, um die Stabilität der Technologie noch besser zu unterstreichen.

3.3. Wissenschaftliche und technische Erfolgsaussichten nach Projektende (mit Zeithorizont)

Die wissenschaftlichen und technischen Erfolgsaussichten sind ebenfalls vielversprechend. Eine Publikation wurden während der Projektlaufzeit bereits veröffentlicht. Eine weitere wird in den nächsten Wochen eingereicht werden können. Viele Erkenntnisse aus dem Projekt haben erfolgreich in weitere Projekte Eingang gefunden und werden hier auf ihre wirtschaftliche Umsetzung hin getestet.

3.4. Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

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

4. Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

Bis dato haben wir nicht genau erarbeiten können, welcher Störstoff im Abwasser der Celluloseacetat-Produktion die Leistung von G. sulfurreducens beeinträchtigt.

5. Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer

Entfällt

6. Einhaltung der Zeit- und Ausgabenplanung

Das Projekt musste kostenneutral um 9 Monate verlängert werden. Dies lag daran, dass die Hemmung der physiologischen Aktivität durch eine oder mehrere Komponenten des Abwasser in diesem Ausmaß völlig unerwartet war.

Anlage I Manuskript

Investigation for the microbiological optimization of a bioelectrochemical system (BES) for the application of industrial wastewater treatment

Stefanie Brunner, Andreas Dötsch, Johannes Gescher

Abstract

The application of microbial fuel cell (MFC)-technology for wastewater treatment is an energy- and fresh water-concept regarded with great interest in the recent years. The aim of this study was to decrease the high amount of total organic carbon (TOC) in a real industrial wastewater stream using a MFC in three-electrode-setup (M3C). In a first step exoelectrogenic microorganisms were isolated from this particular industrial wastewater. In a second step it was tested whether these isolates (setup 1) or the isolates and the exoelectrogenic model organism G. sulfurreducens (setup 2) were able to eliminate the organic carbon load from the wastewater. The experiments were conducted first under batch-mode conditions for 21 days. In parallel the same experiment was conducted under continuous-mode conditions for 65 days with different hydraulic retention times (HRT). The comparison of the two inoculation regimes under the two conditions (batch-mode reactor (B-MR) and continuous-mode reactor (C-MR)) resulted in a better performance of the setup containing also the exoelectrogenic model organism. The highest average current density (1317.3 mA/m²) was measured in the C-MR of the setup 2. The similarly inoculated batch-mode system produced only a current of 14.9 mA/m², which is 88fold less than in the continuousmode system. Inoculation with new isolates only lead under continuous-mode conditions to an average current density of 540.4 mA/m² compared to 7.6 mA/m² under batch-mode conditions (71fold less). The TOC removal mirrored the results from current measurements and was highest under high HRT with the mixture of the novel isolates and G. sulfurreducens (72.9% TOC removal). The isolates alone removed 29.9% TOC. To test the influence of the wastewater on the microorganisms, especially on G. sulfurreducens, growth experiments were conducted. In the first series of experiments G. sulfurreducens did not show any inhibition in growth with high phosphate and ammonium concentrations corresponding to those of the wastewater. In a second adaptation experiment in 75% wastewater, the adaptation was not visible at an increased growth, but at the cellular level through increased expression levels of enzymes and NADH dehydrogenases involved in the energy metabolism (TCA and acetate oxidation). In addition, some transporters for toxin export and other antimicrobial substances were increasingly expressed, too. The transcriptomic analysis also revealed cellular mechanisms in the cells of C-MR with *G. sulfurreducens* and the isolates. Here, the lab strain showed increased adaptation to the wastewater, too as described above. The analysis was also used to elucidate possible metabolic pathways, such as mixed acid fermentation or the degradation of cellulose, thus identifying a possible microbial syntropy between the isolates and G. sulfurducens_{bc}. According to our results, a C-MR and the addition of the exoelectrogenic model organism G. sulfurreducens_{bc} members the natural wastewater community was more efficient for treating this type of wastewater than a B-MR.

Introduction

Over the past decades, the demand of freshwater increased immensely. Besides freshwater scarcity, environmental pollution and fossil fuel depletion are important environmental challenges. Social and economic growth and the increase in world's population result not only in an increasing freshwater demand but also in an increasing energy need (IEA 2017; UN-WWAP 2015; Roser and Ortiz-Ospina 2017). Since waste streams like CO₂ and wastewater accrue in large amounts, bioelectrochemical systems (BES) gained much attention in the recent years because they offer a technological possibility to couple the elimination of organic carbon from waste streams to the production of electrical energy (Winter and Brodd 2004).

Wastewater contains a high amount of energy in the form of organic matter which is not used in conventional treatment plants. In contrary, the elimination of this organic carbon is the most energy demanding step in wastewater treatment as it usually necessitates the supply of oxygen as electron acceptor (Gude 2016; Heidrich *et al.* 2011). The application of microbial fuel cell (MFC) technology for wastewater treatment would overcome this problem by a direct conversion of chemical energy into electrical

energy. A MFC is one type of BES in which exoelectrogenic microorganisms oxidize organic compounds present in the wastewater using an anode as electron acceptor. The released electrons are then transferred via an external circuit to the cathode were oxygen is reduced. Together with the metabolically produced protons water molecules are formed in the cathode compartment. The two compartments are separated by a proton exchange membrane (Davis and Higson 2007; Logan et al. 2006). This process can be understood as anodic respiration (Lovley 2006) for which the organisms need to conduct an extracellular electron transfer (EET) (TerAvest and Ajo-Franklin 2016; Schröder 2007). Shewanella and Geobacter species are the best studied exoelectrogenic microorganisms (Logan 2009; Kumar et al. 2016). For this EET multihaem cytochromes play key roles to ensure an electron transfer to the cell surface (Schröder 2007). Under environmental conditions, cell surface localized c-type cytochromes catalyze the transfer of electrons to insoluble metal oxides. The unspecificity of these enzymes is the reason why the organisms can reduce many different materials including graphite electrodes as long as they are poised to a suitable redox potential (Methé et al. 2005; Logan 2009; Beliaev et al. 2005). Besides organisms belonging to the genera Geobacter and Shewanella, many other bacteria have been identified as exoelectrogenic organisms, as for instance different Clostridia strains (Park et al. 2001; Zhang et al. 2012; Kumar et al. 2016). However, the pathway of electrons to the cell surface is here by far not fully understood.

Using MFC-technology and exoelectrogenic bacteria for the treatment of industrial wastewater is of particular interest because of the stable composition of and generally higher concentration of organic compounds in industrial wastewater (Agler-Rosenbaum *et al.* 2013; Gude 2016). The literature provides different examples of industrial wastewaters that have been analyzed in MFC's regarding current production and carbon degradation. The efficiency of the MFC's differs drastically depending on the type of wastewater, the operation conditions and the reactor setup (Logan *et al.* 2006; Gude 2016). Hence, while the treatment of dairy wastewater for instance resulted in a current density of 0.79 A/m² and a COD removal of more than 90 % (Mansoorian *et al.* 2016), a MFC fed with paper wastewater produced only 125 mA/m² and 78% of the organic carbon was consumed (Velasquez-Orta et al. 2011).

In this study the industrial wastewater of a company that produces cellulose acetate was supposed to be used as carbon and electron source for exoelectrogenic microorganisms in a bioelectrochemical system. In a first step, exoelectrogenic

microorganisms were isolated from this wastewater and their ability to reduce Fe(III) was tested. Together with the lab strain *Geobacter sulfurreducens* PCA their performance was analyzed in a bioelectrochemical reactor regarding current production and TOC elimination. Since the initial activity of the microorganisms was rather low, we established an adaptation routine that lead to more than 70fold increased current production rates. A metatranscriptomic study was conducted to understand the adaptation of the organisms on a molecular level and to analyze the interaction within the microbiome.

Material and Methods

Isolation of exoelectrogenic bacteria and cultivation:

The organisms used for these experiments were isolated from the wastewater of a cellulose acetate producing company. The isolation was carried out by dilution series and spread plate technique using ferric citrate-medium designed for growth of exoelectrogenic microorganisms. This anaerobic medium was modified from Dolch *et al.* (Dolch *et al.* 2014). The following concentrations were used: 10 mM sodium acetate, 20 mM lactate and 4,4 mM sodium propionate as electron donors and 40 mM Fe(III)-citrate as electron acceptor. The medium was flushed with N₂/CO₂ (80%/20%) for 30 min to remove the dissolved oxygen. For spread plate technique the medium was used with 2 % Agar-Agar. The incubation temperature was 37°C.

16S rRNA gene sequencing:

1 ml of a liquid culture was centrifugated for 5 min at 16.873 rcf and RT (Eppendorf Centrifuge 5418). The pellet was resuspended in 0,9% NaCl and the suspension was heated for 5 min at 90°C. The 16S rDNA was amplified using this suspension as template and the primers Bak27F (5´-GAGTTTGATCCTGGCTCA-3´) and BakUniversal1492R (5´-GGTTACCTTGTTACGACTT-3´). Sequencing was conducted by GATC (GATC Biotech AG, Konstanz).

Anaerobic growth of the strains and Fe(III)-reduction

The isolated *E. coli* strain was grown in the ferric citrate medium as described above. The other strains were grown in modified versions of the above described medium. Growth experiments of the isolates *Clostridium* sp. I, *Clostridium* sp. II and *Peaenibacillus* sp. were conducted with ferric citrate as electron acceptor but with 50

mM glucose as electron donor and carbon source, *G. sulfurreducens*_{bc} (laboratory barcode strain, described by Dolch, Wuske, and Gescher 2015) was grown with the above described mix of carbon sources but with 40 mM disodium fumarate as electron acceptor. Anoxic 100 ml bottles were inoculated with an initial $OD_{655} = 0.05$. Growth of *G. sulfurreducens*_{bc} was additionally analyzed with increased phosphate- and ammonium conditions of 41 mM KH₂PO₄ and 17.62 mM NH₄Cl that resembled the concentration in the wastewater. For adaptation experiments *G. sulfurreducens*_{bc} was grown with different mixtures of the wastewater and medium (100%, 75%, 50%, 25% and 0% wastewater). The acetate and fumarate concentrations in these experiments were were kept stable at 21 mM acetate and 40 mM fumarate. Over a time course of 137 days *G. sulfurreducens*_{bc} was adapted to a mixture of 25% medium and 75% wastewater. Samples were taken regularly. Adaptation generation 1 and 6 were used for RNA-isolation. Cells were harvested in the exponential phase at an $OD_{600} = 0.15$. Fe(III)-reduction was followed spectrophotometrically using the ferrozine assay described by Stookey (1970). All experiments were conducted in triplicate.

Wastewater Preparation

The wastewater was stored at -20 $^{\circ}$ C. Prior to use, it was sterile filtered using a pore size of 0,2 μ m. Oxygen was removed from the wastewater by repeatedly flushing the headspace of the bottle for 2 min with N₂, followed by a vacuum application for another 2 min. Nitrogen gas and vacuum cycles were repeated for 30 min.

Microbial bioelectrochemical 3 electrode setup (M3C), strain preparation and electrochemical measurements

The M3C was operated in a two-chamber setup with a volume of 270 mL (anodic compartment) and an anode size of 36 cm². The material of the working electrode was a graphite felt (GFD 2.5 EA; SGL Group, Carbon Company; Wiesbaden, Germany). Prior to use, the anode was rinsed with isopropanol and installed in the reactor. The whole reactor was autoclaved. The cathode material was a platinum mesh with a size of 0.5 cm². Both electrodes were connected via platinum wires (0.1 mm; Chempur; Karlsruhe, Germany) and platinum needles (0.80 x 120 mm; B. Braun, Melsungen) to a potentiostat (6 EmStat3, PalmSens BV; Randhoeve, Niederlande). The potential was adjusted to 0 mV vs. normal hydrogen electrode (NHE) with Ag/AgCl reference electrodes (-199 mV vs. Ag/AgCl) (Seonsortechnik Meinsberg GmbH; Ziegra-Knobelsdorf, Germany). The incubation temperature was 30°C or 37°C. The anodic

compartment was continuously flushed with N₂ or N₂/CO₂ (80%/20%). The batch-mode experiments lasted 21 days with a change of the medium every 7 days (via peristaltic pump, Pumpdrive 5001; Heidolph, Schwabach). The continuous-mode experiments were analyzed over 65 days. Here, a multi-channel peristaltic pump (IPC, Ismatec; Wertheim, Germany) was used (tubes and stopper-tubes; Tygon® LMT-55 2-stoppertubes, internal diameter: 0.51 mm, tubes: Cole-Parmer; Wertheim und tube-connector $I\emptyset = 0.58$ mm, $A\emptyset = 0.90$ mm, L = 25 mm; LHG, Karlsruhe, Germany). The performance of the isolates and the lab strain was tested in the M3C regarding current production and TOC elimination. Three different setups were tested: setup 1 containing only the isolates, setup 2 containing the isolates and G. sulfurreducens_{bc} and setup 3 containing *G. sulfurreducens*_{bc} alone. The strains were cultivated as mentioned above. Prior to each experiment the cells were washed three times in the above described medium without electron acceptor at 6.000 g for 10 min, resuspended in anaerobic wastewater and then transferred into the anode compartment of the M3C. The final optical density in the anode compartment was $OD_{600} = 0.02$ for each strain in mixed culture experiments and $OD_{600} = 0.1$ for single-species experiments. In the continuousmode experiment, the strains were initially cultivated in batch-mode for 9 days in anodic medium (Fe(III)-citrate medium without electron acceptor) for adaptation. After these days the wastewater was pumped through the reactor with a flowrate of 0.015 ml/min (HRT 12.5 days). At day 21 when the wastewater fully exchanged the anodic medium the flowrate was increased continuously over 16 days to 0.293 ml/min (HRT 6.5 days). At day 39 the flowrate was continuously decreased again to 0.015 ml/min over 10 days and held until the end of the experiment. The anode was the only electron acceptor in the system. Samples were taken at least every 2 - 3 days and were stored at - 20°C prior to subsequent analysis. The pH of the reactors was routinely controlled every day. If the pH dropped below 6.0 it was adjusted to 7.2 using sodium hydroxide (1 M). After the run-time of 21 and 65 days, the anodes were removed and divided into 3 parts, that were used for RNA-isolation, DNA-isolation and FISH-analysis. Coulombic efficiencies were calculated according to (Kipf et al. 2013).

RNA isolation and RNA sequencing

Prior to RNA-Isolation the anode slices and liquid cultures were stored at -20°C in LifeGuard™ Soil Preservation Solution according to the manufacturer 's instructions (MoBio; Carlsbad, USA). The anode slices were placed on a cell mill (MM400, Retsch;

Haan, Germany) for 30 min at 8 Hz after thawing to gentle loosen the cells from the anode surface. The RNA was isolated with the RNA Power®Total RNA Isolation Kit (Quiagen; Hilden, Germany) according to the manufacturer 's instructions. DNA was removed with the DNA-free™ Kit (Thermo Fischer; Waltham, USA) at 37°C according to manufacturer's instructions. The RNA concentration was measured using a NanoDrop 2000 Spectrophotometer (ThermoScientific; Schwerte, Germany). A concentration between 100 − 500 ng/µl of RNA was needed for transcriptomic analysis. Sequencing libraries were prepared from 400 ng of total RNA samples following the TruSeq stranded RNA protocol (Illumina, San Diego, CA, USA, without purification). Sequencing was performed on a HiSeq1500 using SBS v3 kits (Illumina) generating paired-end reads of 2 × 50 nucleotides. Cluster detection and base calling were performed using RTA v1.13 (Illumina). The read quality was evaluated with CASAVA v1.8.1 (Illumina). 255 million reads were generated via sequencing with 93% of them having a quality Phred score of Q30 or more.

RNA-sequence data analysis

The sequence data of the M3C continuous-mode experiment and the planktonic adaptation experiments were mapped against the genome sequence of *G. sulfurreducens* (NCBI-Acc.No. NC_002939.5) using bowtie2 (Langmead and Salzberg 2012) and sorted by position on the chromosome with samtools (Li *et al.* 2009). The absolute gene expression was calculated as reads per gene identifying the number of reads compared to the annotated gene loci using htseq (Anders *et al.* 2015). The reads were normalized and the differential expression was calculated with R Paket DESeq2 subsequently (Love *et al.* 2014). Additionally, the sequence data of the continuous-mode experiment (setup 2) were aligned to 51 selected protein sequences using RAPsearch2 (Zhao *et al.* 2012) to identify possible metabolic pathways of the isolates. The results were filtered for hits with > 50% identity and > 9 amino acids in length. The hits were summed up for each protein and divided by the total number of hits. For RPM-normalization (reads per million) the results were multiplied by 10⁶. For evaluation, reads with RPM > 300 were analyzed.

DNA isolation and qPCR

Prior to DNA-Isolation the anode slices were stored at -20°C. The DNA-Isolation and subsequent qPCR was conducted from the co-culture (*G. sulfurreducens*_{bc} and

isolates) batch- and continuous-mode experiment. The innuPREP Stool DNA kit (Analytic Jena; Jena, Germany) was used for the isolation according to the manufacturer 's instructions with minor modifications. Standard curves were compiled using biological triplicates of G. sulfurreducens_{bc} in six different dilutions. Before isolation of DNA, cells were counted in triplicates of each dilution in the counting chamber (improved Neubauer, Friedrichsdorf, Germany). Relating to the standard curves, the cell number of each isolated DNA sample was calculated. 5 mL of SLS buffer and 1,5 g glass beads (0,1 - 0,25 mm, Glastainless Steel, Retsch; Haan, Germany) were added to the anode slices. The samples were placed in a cell mill (MM400, Retsch; Haan, Germany) for 7 min at 30 Hz. Afterwards the samples were incubated at 95°C for 15 min. Thereafter, 2 x 1 ml of each sample was transferred into a new reaction tube and was centrifuged at 8000 g for 2 min. 650 µl of the supernatant were used according to the manufacturer 's protocol. The standards were treated similarly with the exception that 0.3 g of glass beads were used. Quantitative PCR was conducted according to Dolch et al. 2015 using the SsoAdvanced™ Universal SYBR® Green Supermix and the primer pair 2 (Table 1).

<u>FISH</u>

Fluorescent In Situ Hybridization of the anodes of the M3C-experiments was carried out according to Dolch *et al.* (Dolch et al. 2014). The probes and helper oligonucleotides are listed in table 2. Image acquisition was conducted with a Leica DM 5500 B microscope using a 63× water immersion lens and a DFC 300 FX digital color camera (Leica, Wetzlar; Germany). The filter sets L5 (excitation filter 480/40 and suppression filter 527/30), Y3 (545/30 and 610/75), Y5 (620/60 and 700/75) and A4 (360/40 and 470/40) were used for the fluorescent dyes FITC, Cy3, Cy5 and DAPI.

Analytical Measurements

Samples were analyzed for organic acids via HPLC analysis and for organic carbon via a TOC-analyzer. For the quantification of phosphate in the wastewater an IC was used. Therefore, an anion column (IonPac AS9-HC; 2 x 250 mm, Dionex; Thermo Fisher Scientific) was connected to the IC Dionex ICS-1100 (Thermo Fisher Scientific; Waltham, MA). A conductivity detector (DS6 Heated Conductivity Cell, Thermo Fisher Scientific; Waltham, MA) and a suppressor (AERS 500 Carbonate Anion Electrolytically Regenerated Suppressor for Carbonate Eluents, 2 mm, Dionex;

Thermo Fisher Scientific; Waltham, MA) were used for detection. 2 ml of the diluted samples (1:10 and 1:20 in H_2O) were filtered with a 0.2 μ m PTFE filter (VWR; Darmstadt, Germany). The column temperature was 30°C and the flowrate was 0,25 ml/min. 9 mM Na_2CO_3 was used as eluent. Ammonium, nitrate and nitrite in the wastewater were quantified via Hach-Lange vial tests (Weinheim, Germany).

Table 1: Sequences of primers used in this work.

primer pairs	sequence $5' \mathbf{ ightarrow 3}'$	target	
1)			

27F	GAGTTTGATCCTGGCTCA	Bacteria 16S
Universal1492R	GGTTACCTTGTTACGACTT	Bacteria 16S
2)		
G.s. barcoding qPCR for	CGGTTCTATCGACCTACC	G. sulfurreducens (Barcode)
G.s. barcoding qPCR rev	CTGCTTGATGAACGAGAG	G. sulfurreducens (Barcode)
3)		
G.s. Genom for	AACGACCTGCTCAGCCTG	G. sulfurreducens
G.s. Genom rev	TTTCAGGGCCTCATCCTGG	G. sulfurreducens

Table 2: Probes and helper oligonucleotides for FISH.

organism source
bacteriaceae (Kempf <i>et al.</i> ,
2000)
utes (Küsel <i>et al.</i> ,
1999)
furreducens (Richter et al.,
2007)
furreducens (Richter et al.,
2007)
u f

HGeo_2.2/	CTAATGGTACGCGGACTCATCC	G. sulfurreducens	(Richter	et	al.,
helper oligo 2			2007)		
Geo_2					
EUB338-1/	GGTTACCTTGTTACGACTT	Eubacteria	(Richter	et	al.,
16S rRNA			2007)		

Results

The aim of this study was to establish an efficient anode community for the elimination of organic carbon sources from an industrial waste water stream with the simultaneous production of high current densities. We reached this aim via isolation of members of the natural community as well as the adaptation of the model organism *Geobacter sulfurreducens*_{bc}.

Isolation experiments and 16S rDNA gene sequencing. Via dilution series and spread plate technique four different organisms were isolated from industrial wastewater that were able to reduce ferric citrate under anoxic conditions. Ferric citrate was used as a surrogate for an insoluble electron acceptor as it was shown that it is reduced at the cell surface of model organisms for extracellular electron transfer (Lovley, Holmes, and Nevin 2004b). Strain So 1 and So 2 were identified as a *Clostridium* species. The 16S rRNA genes of the isolates were 99% identical to the sequences from *Clostridium sartagoforme* and *Clostridium butyricum*, respectively. Strain So 3 belongs to the genus *E. coli*. Its 16S rRNA is 99% identical to *E. coli* strain PMV-1. The last isolate So 4, shows 99% 16S rRNA sequence identity to *Paenibacillus phoenicis* (Table 3).

Table 3: Isolated organisms from industrial wastewater.

strain	phylogenetic classification ^a	identity% ^a	fragment length (bp) ^b	Accession no. ^a
So 1	Clostridium sartagoforme	99	1357	KU950266.1
So 2	Clostridium butyricum	99	1379	CP013239.1
So 3	Escherichia coli	99	1389	HG428755.1

99

Following to the isolation, the four organisms were analyzed for the kinetics of their ability to reduce ferric iron via triplicate growth experiments. The fastest iron reduction was observed with the Clostridium isolate So 1 with maximum rates of 1.62 mM Fe²⁺ * h⁻¹. Interestingly, the other Clostridium isolate So 2 reduced ferric citrate with lower rates (0.55 mM Fe²⁺ * h⁻¹) and the final ferrous iron concentration was with 13,3 mM more than threefold lower compared to So 1 with 38,9 mM Fe²⁺. The Paenibacillus isolate So 4 reduced with 30.3 mM ferric iron roughly equal amounts compared to So 1 but the reduction rate was considerably slower (1.26 mM Fe²⁺ * h⁻ ¹). The slowest reduction rates (0.13 mM Fe²⁺ * h⁻¹) and the lowest final ferrous iron concentration (3 mM) were measured with the E. coli isolate So 3.

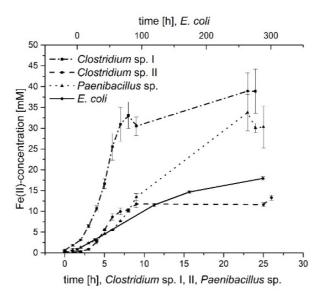


Figure 1: Fe(III)- reduction of the isolates. The figure shows the Fe(II)- concentration [mM] over the time [h]. The lower x-axis can be assigned to Clostridium sp. I (---), Clostridium sp. II (---) and Paenibacillus sp. (•••) and the upper x-axis is assigned to E. coli (-). The error bars indicate the standard deviation of the triplicates.

Analysis of industrial wastewater composition and potential growth limiting effects of elevated ammonium and phosphate concentrations for G. sulfurreducens_{bc}.

The wastewater that was supposed to be used as a medium in the following bioelectrochemical experiments was tested with regards to its chemical composition.

^a Results of the phylogenetic classification, identity (%) and Accession no. of the closest database match via NCBI nucleotide blast.

^b Fragment length (bp) of the aligned sequences (with forward and reverse primer); Geneious program.

The water contains a relatively high concentration of acetate. In fact, 57% of the overall amount of total organic carbon in the waste water can be assigned to acetate. Moreover, the waste water is rich in ammonium and phosphate and is overall slightly alkaline.

Table 4: Characteristics of the industrial wastewater.

Parameter	Value
conductivity	6.5 mS
PO ₄ ³⁻	41 mM
$NH_4^{\stackrel{+}{}}$	17.62 mM
NO ₃	0.3 mM
NO_2	0 mM
acetic acid *	47.2 mM
pH *	7.8
TOC *	1.99 g/L
TN *	524.38 mg/L

mean values are indicated.

Typical media designed for *Geobacter* species contain drastically lower concentrations of ammonium and phosphate. For example, the medium used in this study to grow *Geobacter* precultures contains only 4.26 and 3.9 mM phosphate and ammonium, respectively. Hence, the phosphate concentration is 9.6 and the ammonium concentration is 4.5fold higher in the wastewater. Since, *G. sulfurreducens*_{bc} was supposed to be the major biocatalyst for acetate elimination it was tested whether growth would be inhibited by the prevailing ammonium and phosphate concentrations in the wastewater. While the doubling time in the medium with 41 mM phosphate increased insignificantly from 17.7 to 18.1 h, the addition of 17.6 mM ammonium lead to a decrease of the doubling time to 11.8 h. Moreover, addition of phosphate and ammonium in equivalent concentrations to the wastewater lead to the same accelerated doubling time of 11.8 h. Hence, the phosphate and ammonium content of the wastewater did not negatively affect growth of *G. sulfurreducens*_{bc}.

Wastewater treatment and electricity production in bioelectrochemical systems. The performance of the strains in the BES was tested first under batch-

mode conditions in two different setups. In the first setup the electrochemical ability of the four isolated strains was analyzed whereas in the second setup the lab strain G. sulfurreducens_{bc} was added to the isolates. The incubation temperature was 37°C and the reactor was purged with N₂ to establish anoxic conditions. The average current density measured over the period of 21 days was 7.6 mA/m² for setup 1 with the isolates and 14.9 mA/m² for setup 2 with the isolates and *G. sulfurreducens*_{bc}. Hence, addition of the lab strain lead to twofold increased current densities (Fig. 2). During this time 30.6 g TOC per m² and week were degraded in setup 1 and 70.4 g TOC per m² and week in setup 2 (Fig. 2). The calculated Coulombic efficiencies (CE) in both experiments were extremely low with 1.6% for setup 1 and 1.3% for setup 2. Based on these two experiments with this low performance concerning power output and TOC degradation a third setup with only G. sulfurreducens_{bc} was tested. Due to the high acetic acid concentration in the wastewater it should serve as an ideal substrate source for the laboratory strain which should therefore achieve a good performance in the BES. Using the same cultivation conditions as in the previous experiments – N_2 gassing and $37^{\circ}C$ – G. sulfurreducens_{bc} was not able to grow in the reactor (data not shown). In this setup the conditions had to be changed to N₂/CO₂ gassing. The measured average current density in this setup was 27.8 mA/m² and 34.3 g TOC / m² and week were degraded in this setup (6% of total TOC) (Fig. 2). The CE was with 4.8% in this experiment slightly higher than in setup 1 and 2.

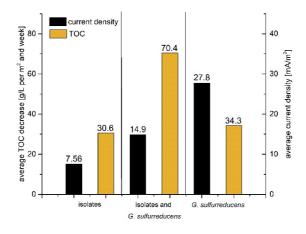


Figure 2: Average TOC decrease [g/L per m² and week] (grey bars) and average current density [mA/m²] (black bars). All three setups of the batch-mode experiment in comparison, left: isolates, middle: isolates and G. sulfurreducens_{bc}, right: G. sulfurreducens_{bc}.

To increase the performance of the strains in the BES, the reactor conditions were changed from batch-mode to continuous-mode. In these experiments setup 1 and setup 2 were compared. The initial 9 days in batch-mode with anodic medium should

ensure an adaptation of the strains to the system. With an initial slow flowrate of 0.015 ml/min the strains should be slowly adapted to the wastewater, especially G. $sulfurreducens_{bc}$, to achieve better results as in the batch-mode reactors (B-MR) before. The continuous-mode reactors (C-MR) were flushed with N_2/CO_2 and were incubated at 30°C. The documented average current density after the exchange of medium with wastewater for setup 1 was 540.4 mA/m² and 1317.3 mA/m² for setup 2. Again, by adding the lab strain to the system the average current density was doubled. Compared to the batch-mode systems the average current density increased by the 88fold (setup 2) and 71fold (setup 1) (Fig 3).

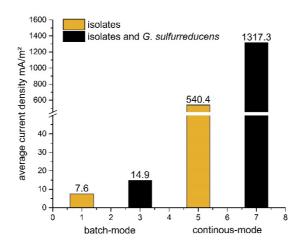


Figure 3: Average current density [mA/m²] of setup 1 with the isolates (grey bars) and setup 2 with the isolates and G. sulfurreducens_{bc} (black bars) in batch- mode and continuous-mode with wastewater.

On day 21 the wastewater fully exchanged the anodic medium. The flowrate was raised on day 23. In setup 1 current density stepwise decreased when increasing the flowrate slowly from 0.015 ml/min to 0.293 ml/min (till day 39) whereas current production increased in setup 2. After decreasing the flowrate again (started on day 39) current density in setup 1 started to increase again and decreased slightly in setup 2 until day 49 when the initial flowrate of 0.015 ml/min had been achieved (Fig. 4). In this experiment the pH had to be adjusted every 2 days. Adjusting the pH always led to an increase in current density (Fig. 4, arrow). In setup 1 the TOC decreased continuously till day 29 and then fluctuated from 1.06 g/L to 1.2 g/L at day 59. At that time point the TOC decreased drastically in the reactor because of blocked tubes of wastewater inflow. Until day 59 29.9% TOC were degraded in this setup. In contrast to setup 1 72.9% TOC were degraded in setup 2 with a higher

fluctuation of TOC during conditions of higher flowrates. The CE calculated from the TOC consumption during the time of the initial slow flowrate (day 18 till 22) was 23.8% for setup 1 and 54.9% for setup 2. Compared to the batch-mode system, the CE could be improved by the factor of 14.9 (setup 1) and 42.3 (setup 2).

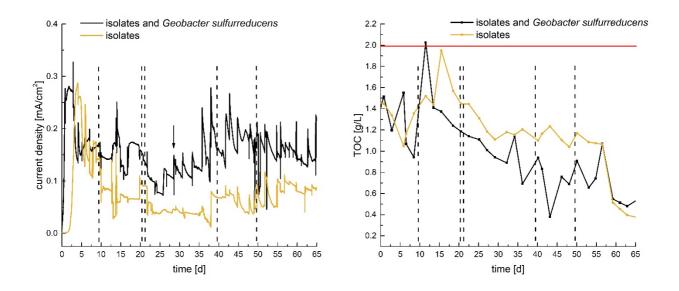


Figure 4: Current density [mA/cm²] (left graph) and TOC (right graph) over the time of 65 days in the continuous-mode experiment. Reactor with isolates (yellow line) and isolates and G. sulfurreducens_{bc} (black line). Important timepoints in the experiment named in the upper text (dashed lines). Increasing current density after titration of 1 M NaOH (arrow). TOC concentration (1.99 g/L) in the inflow (red line).

Organisms on the anode and cell number of *G. sulfurreducens*_{bc}. Fluorescence in situ hybridization analysis was conducted with the aim to correlate current density with biomass content. In these experiments the setup 2 anodes from the batch and continuous experiments were compared. The cell number of the laboratory strain in the anode biofilms was determined via qPCR. FISH analysis indicated a drastically higher biomass content on the anodes from the continuous experiment. Besides that, the biofilm on the anode consisted mainly of *G. sulfurreducens*_{bc} cells and only a few So 4 (*E. coli*) cells. The *Clostridium* and *Paenibacillus* isolates So 1-3 dominate the planktonic phase (Fig. 1, supplementary). The increase of *G. sulfurreducens*_{bc} from anode to continuous mode could be confirmed via qPCR. The cell number increased 5000-fold from batch- to continuous-mode, 3.16 x10⁶ cells have been counted on the anode of the batch-mode reactors (mean value) whereas 1.5x10¹⁰ cells of *G. sulfurreducens*_{bc} were localized on the anode of the continuous-mode reactor. However, this enormous cell growth only led to an 88fold increase in current density.

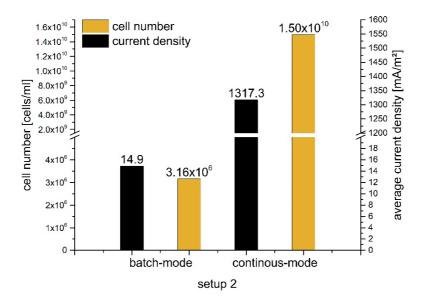


Figure 5: Average current density [mA/m²] (grey bars) and cell number of G. sulfurreducens_{bc} [cells/ml] (black bars) of setup 2 in batch-mode (left) and continuous-mode (right).

Adaptation experiments with *G. sulfurreducens*_{bc} in wastewater. An adaptation of *G. sulfurreducens*_{bc} to the wastewater seemed to have a positive impact on the respiratory rate of the organism. The previously conducted growth experiments revealed that this adaptation was not due to the high ammonium and phosphate concentrations. Therefore, we conducted growth experiments with *G. sulfurreducens*_{bc} in different wastewater-medium-mixtures. The strain was not able to grow in 100% wastewater and barely grew in 75% wastewater. In 50% and 25%, the strain showed similar growth characteristics as in the synthetic medium alone (Fig. 6). Hence, the wastewater seems to contain a growth inhibiting factor or lacks a growth promoting factor to the organism.

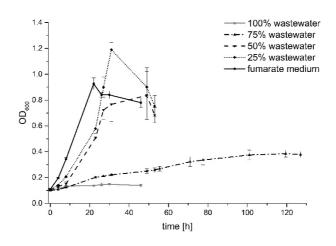


Figure 6: Gowth of G. sulfurreducens_{bc} with different wastewater concentrations. The measured OD₆₀₀ in 100%, 75%, 50%, 25% and fumarate medium is shown. The error bars indicate the standard deviation of the triplicates.

A transcriptomic study was conducted to understand the mechanism of adaptation and consequently get potential evidence for the reason of growth limitation. The aim was to compare non-adapted and adapted cells from batch cultures with fumarate as electron acceptor with cells from the anode community at the end of the continuously conducted experiment described before. If there were a specific adaptation of the strain towards waste water as medium, this mechanism of adaptation should become clear under both conditions single species planktonic growth with fumarate and multispecies biofilm growth on anodes. Of note, due to the low number of cells on the anodes at the beginning of the experiment, it was not possible to compare non-adapted and adapted cells that both originate from anodes.

Hence, an adaptation experiment was conducted with 75% wastewater to analyze if the strain was able to improve its growth over 6 generations of adaptation (AG – adaptation generation) by inoculating every week in a new batch of 75% wastewater 25% medium. Interestingly, growth of *G. sulfurreducens*_{bc} was affected by the addition of waste water more strongly after the first transfer, as the doubling time increased from 20.2 h in AG1 to 56.7 h in AG 2. In the following transfers AG3-6, the doubling decreased from 37 to 27.1 h, indicating that there is a detectable adaptation of the organisms over time.

The transcriptomic analysis of the fumarate grown cells and the metatranscriptomic analysis of the biofilm grown cells revealed clear differences in expression levels of several genes encoding proteins involved in extracellular electron transport, central metabolism (TCA cycle and acetate oxidation), stress response and membrane transport. In our analysis, we searched for genes that displayed similar expression patterns (log2fold change +/- 2) if the adapted or the continuous mode biofilm was compared to the non-adapted planktonic culture (Tab. 5). In other words, in was or hypothesis that similar adaptation events lead to more robust growth under planktonic as well as under biofilm growth conditions. Clearly upregulated are in both cases genes encoding the NADH dehydrogenase I and enzymes of the citric acid cycle, indicating a generally increased metabolic rate. Besides several cytochrome, hypothetical and prophage genes we observed also an upregulation of transporters and exopolysaccharide synthesis genes. This might indicate that a growth inhibiting factor is constantly exported and that increased extracellular matrix production might be used as a diffusion barrier or biosorbent for potentially growth inhibiting factors. In contrast to 90 genes being upregulated compared to the non-adapted strain only 6

genes were downregulated under both conditions. Four of these encode hypothetical proteins, while one gene encodes a putative response regulator and the other one a potential nickel transport protein.

Table 5: NEU

Identification of key enzymes for possible metabolic pathways in the continuously operated bioelectrochemical system. A further aim was to identify possible metabolic pathways and metabolites of all the isolates and *G. sulfurreducens*_{bc} in the continuously operated bioelectrochemical system. The transcriptomic data showed transcripts indicating the presence of the following metabolic pathways: cellulose degradation, Embden-Mayerhof pathway, mixed acid fermentation, acetate biosynthesis, butyric acid fermentation, Wood-Ljungdahl pathway, Bifid-Shunt, butandiol biosynthesis, lactate biosynthesis, pyruvate oxidation, different types of anaerobic respiration and Stickland fermentation. Table 6 shows the identified key enzymes which were assigned to the mentioned pathways.

Table 6: Data of the metatranscriptomic analysis, RNA of C-MR aligned with 51 protein sequences of possible metabolic key enzymes. Genes with absolute reads and reads per million (RPM). Key enzymes are assigned to possible metabolic pathways.

RPM	potential metabolic pathway
1139	cellulose degradation
726	cellulose degradation
960	Embden-Mayerhof pathway
5124	mixed acid fermentation
390	mixed acid fermentation
726	acetate biosynthesis
344286	mixed acid fermentation
3677	mixed acid fermentation
976	butyric acid fermentation
368	butyric acid fermentation
839	Wood-Ljungdahl pathway
305	Wood-Ljungdahl pathway
599	Bifid-Shunt
9680	butandiol biosynthesis
308	acetate biosynthesis
358753	lactate biosynthesis
601	pyruvate oxidation
226761	anaerobic respiration
	726 960 5124 390 726 344286 3677 976 368 839 305 599 9680 308 358753 601

L-lactate dehydrogenase (974705824) b	775	anaerobic respiration
nitrite reductase (751402387) ^b	2374	anaerobic respiration
nitrate reductase (937299854) ^b	4645	anaerobic respiration
D-proline reductase (800899476) ^a	16861	Stickland fermentation
(R)-2-hydroxyisocaproyl-CoA dehydratase alpha subunit	4399	Stickland fermentation
(75361392) ^a		

a > 50% identity with a sequence of a species of the genus Clostridium

Discussion

This study was based on the hypothesis that acetate rich waste waters could be an excellent medium for current production and simultaneous carbon elimination in a bioelectrochemical system using Geobacter sulfurreducens as main biocatalysts. Furthermore, we hypothesized that the addition of waste water adapted strains could further accelerate the process and could make other carbon sources available. The ability to thrive using Fe(III) or an anode as its surrogate as respiratory electron acceptor seems to be not uncommon in microbial taxa. Besides Geobacter and Shewanella species (Lovley, Holmes, and Nevin 2004; Mahadevan et al. 2006; von Canstein et al. 2008) numerous other species seem to have this ability although it is often not fully elucidated how the electron transfer functions in detail (Roden and Lovley 1993; Lonergan et al. 1996). E. coli or Clostridium strains were initially not considered to reduce ferric iron but this work and others have shown, that Fe(III) can not only be a primary respiratory electron acceptor but also a secondary electron acceptor under fermentative conditions. For example, E. coli, Clostridium butyricum EG3 and Clostridium beijernickii are using Fe(III) as electron sink during growth in the presence of the metal, which presumably gives the organisms an energetic advantage (Lovley 1991; Dobbin et al. 1999; Park et al. 2001; Emde, Swain, and Schink 1989). Hence, we hypothesize that the same is true for the here presented isolates Clostridium sp. I, Clostridium sp. II, E. coli and Paenibacillus sp. The exact mechanisms for using this metal as electron sink have not been identified yet. Dobbin

b > 50% identity with a sequence of E. coli

c > 50% identity with a sequence of a species of the genus Paenibacillus

d > 50% identity with a sequence of a species of the genus Streptococcus

e > 50% identity with a sequence of a species of the genus Campylobacter

et al. (1999) were able to identify a NAD(P)H-dependent Fe(III) reductase activity localized to the membrane of the strain *Clostridium beijernickii*. Coupling the oxidation of NAD(P)H to the reduction of Fe(III) could result in a higher availability of NAD(P)+ which accelerates the metabolism and allows to use more of the carbon source for ATP production and less for balancing of the redox status (Lovley and Phillips 1986; Park et al. 2001).

In the BES batch-mode experiments it could be shown that the addition of the isolates and G. sulfurreducens_{bc} together had an additive effect which suggests that the organisms use different carbon sources of the waste water. The isolates alone catalyzed roughly 50% of the current production and carbon elemination of a community composed of the isolates and G. sulfurreducens_{bc} together. Still, the performance was rather limited and the coulombic efficiency extremely low. The latter suggests that other products were formed as electron sink like for instance hydrogen. Moreover, we cannot exclude low oxygen contaminations of the system, which could have partly sustained carbon elimination, too. The concentration of carbon dioxide in the reactors seems to be one reason for the rather low activity of G. sulfurreducens_{bc}. This was elucidated in an experiment in which the head space was flushed with N₂/CO₂ instead of N₂ alone. Geobacter species need CO₂ for the reaction from acetyl-CoA to pyruvate catalyzed by the pyruvate-ferredoxin oxidoreductase (Mahadevan et al. 2006). Apparently, the activity of the isolates was not sufficient to supply Geobacter with sufficient carbon dioxide. Nevertheless, the performance of the cells was even in the presence of an N₂/CO₂ headspace with a CE of 4.8% and an average current density of 27.8 mA/m² still too low to consider an application of the process. Since we could also exclude that the high phosphate and ammonium concentration of the waste water was problematic we had to follow a strategy of a rather broad strain adaptation using increasing waste water concentrations added continuously to the BES. The waste water was pumped with a low flowrate of 0.015 ml/min (HRT = 12.5 days) in the medium filled BES to give the adaptation process sufficient time. The success of the process is mirrored in the 88fold and 71fold (setup 1: 7.6 mA/m² to 540.4 mA/m², setup 2: 14.9 mA/m² to 1317.3 mA/m²) increase in current density compared to the batchmode experiments. By adding the lab strain G. sulfurreducens_{bc} to the system, the average current density could be more than doubled from 540.4 mA/m² (setup 1) to 1317.3 mA/m² (setup 2). Moreover, the calculated CE for both setups increased to

23.8% and 54.9% and at least the latter value could be sufficient for a potential application. Of note, the 71fold increase in current density was accompanied by 5000-fold more *Geobacter* cells compared to the batch-mode experiment. This suggests that the activity of the majority of the community is limited by electron transfer to the electrode surface. Hence, further design of the BES and the biofilm could promise by far higher current densities than we have measured so far.

The increased current densities that could have been achieved in the continuous mode experiments are a result of strain adaptation. We tried to mimic this possible adaptation by a planktonic growth experiment with *G. sulfurreducens* in 75% wastewater. However, over 5 weeks in 75% wastewater the growth of the strain improved only slightly. So far, we cannot say why growth was more effected after the second transfer in the watsewater. A potential reason why the adaptation was more efficient in the BES could be that *G. sulfurreducens* was forced to grow as a biofilm which seems to be a more robust form of growth per se. Nevertheless, we could detect genes that were up- or downregulated in both adaptation experiments compared to the initial culture. Upregulation of gene clusters for the NADH dehydrogenase display the reason for higher current densities but not for the adaptation. It might be possible that factors like the upregulation of genes for transporters and exopolysaccharide synthesis genes might be key to the observed effect, which we will elucidate in further studies.

The comparison of the isolated RNA with possible key enzymes involved in central metabolism revealed the potential function of the isolates in the bioelectrochemical system and suggests a syntrophic interaction which is depicted in Fig. 8. It can be assumed that the wastewater contains cellulose, as this is one of the substances used in the production process. Cellulose can serve as a substrate for clostridia and can be converted into glucose via cellobiose (Demain, Newcomb, and Wu 2005). Cellobiose can also be metabolized by P. polymyxa (Adlakha et al. 2015) and it could be assumed that the same might be true for the *Paenibacillus* isolate used in this study. Glycolysis can be most probably conducted by all four isolates. Pyruvate represents an intermediate of glucose oxidation and can also be further metabolized in several ways. By mixed acid fermentation, *E. coli* can generate a series of fermentation products, like acetate, CO₂ or H₂. Acetate can also be produced by

several other processes, for example the so-called bifit shunt of P. polymyxa, a glycolytic bypass described by Adlakha et al. (2015) or the Wood-Ljungdahl pathway, which is carried out by *Clostridium* strains (Ragsdale and Pierce 2008). The isolated *Clostridia* could also conduct butyric acid fermentation which would also lead to the production of CO_2 or H_2 . Acetate, H_2 and CO_2 are substrates for *G. sulfurreducens*. It seems as if *E. coli* cells express nitrate and DMSO reductase genes. Nevertheless, we could not detect nitrate or DMSO in the waste water so far. In summary, we suggest that the isolates metabolize complex organic substrates to organic acids, H_2 and CO_2 which can be used by *G. sulfurreducens*_{bc} and the isolates themselves.

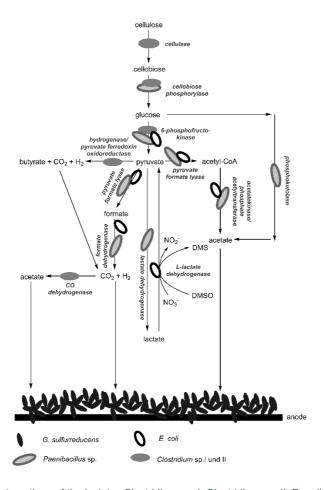


Figure 8: Possible syntrophic interactions of the isolates Clostridium sp. I, Clostridium sp. II, Paenibacillus sp., E. coli and the lab strain G. sulfurreducens_{bc} in the C-MR with wastewater.

Conclusion

The results reveal that industrial waste water can be a sufficient medium for *G. sulfurreducens*_{bc} and that slow adaptation can be key for its efficient use. Moreover, the results highlight that the isolation and subsequent addition of other strains from the waste water that can reduce ferric iron can drastically increase the BES performance. In future experiments, we will try to isolate the specific adaptation targets in *G. sulfurreducens* and will build a library of genomic and transcriptomic adaptations that could increase the performance of *Geobacter* strains in waste water driven BES.

Literature

- Aaron, D., C. Tsouris, C. Y. Hamilton, and A. P. Borole. 2010. 'Assessment of the Effects of Flow Rate and Ionic Strength on the Performance of an Air-Cathode Microbial Fuel Cell Using Electrochemical Impedance Spectroscopy'. *Energies* 3 (4): 592–606. doi:10.3390/en3040592.
- Adlakha, Nidhi, Thomas Pfau, Oliver Ebenhöh, and Syed Shams Yazdani. 2015. 'Insight into Metabolic Pathways of the Potential Biofuel Producer, Paenibacillus Polymyxa ICGEB2008'. *Biotechnology for Biofuels* 8 (1). BioMed Central: 159. doi:10.1186/s13068-015-0338-4.
- Agler-Rosenbaum, M., U. Schröder, and F. Harnisch. 2013. 'Mikroben Unter Strom'. Biologie in Unserer Zeit 43 (2): 96–103. doi:10.1002/biuz.201310502.
- Ahn, Y., and B. E. Logan. 2013. 'Altering Anode Thickness To Improve Power Production in Microbial Fuel Cells with Different Electrode Distances'. *Energy & Fuels* 27 (1). American Chemical Society: 271–76. doi:10.1021/ef3015553.
- Ahn, Y., and U. Schröder. 2015. 'Microfabricated, Continuous-Flow, Microbial Three-Electrode Cell for Potential Toxicity Detection'. *BioChip Journal* 9 (1): 27–34. doi:10.1007/s13206-014-9104-0.
- Anders, S., P.T. Pyl, and W. Huber. 2015. 'HTSeq a Python Framework to Work with High-Throughput Sequencing Data'. *Bioinformatics* 31 (2): 166–69. http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btu638.
- Behera, M., P. S. Jana, T. T. More, and M. M. Ghangrekar. 2010. 'Rice Mill Wastewater Treatment in Microbial Fuel Cells Fabricated Using Proton

- Exchange Membrane and Earthen Pot at Different pH'. *Bioelectrochemistry* 79 (2). Elsevier: 228–33. doi:10.1016/j.bioelechem.2010.06.002.
- Beliaev, A. S., D. M. Klingeman, J. A Klappenbach, L. Wu, M. F. Romine, J. M. Tiedje, K. H. Nealson, J. K. Fredrickson, and J. Zhou. 2005. 'Global Transcriptome Analysis of Shewanella Oneidensis MR-1 Exposed to Different Terminal Electron Acceptors Global Transcriptome Analysis of Shewanella Oneidensis MR-1 Exposed to Different Terminal Electron Acceptors †'. *Journal of Bacteriology* 187 (20): 7138–45. doi:10.1128/JB.187.20.7138.
- Caccavo, F., D. J. Lonergan, D. R. Lovley, M. Davis, J. F Stolz, and M. J. McInerney. 1994. 'Geobacter Sulfurreducens Sp. Nov., a Hydrogen- and Acetate-Oxidizing Dissimilatory Metal-Reducing Microorganism'. *Applied and Environmental Microbiology* 60 (10). American Society for Microbiology (ASM): 3752–59. doi:0099-2240/\$04.00+0.
- Chae, K. J., M. J. Choi, J. W. Lee, K. Y. Kim, and I. S. Kim. 2009. 'Effect of Different Substrates on the Performance, Bacterial Diversity, and Bacterial Viability in Microbial Fuel Cells'. *Bioresource Technology* 100 (14): 3518–25. doi:10.1016/j.biortech.2009.02.065.
- Coppi, M. V. 2005. 'The Hydrogenases of Geobacter Sulfurreducens: A Comparative Genomic Perspective'. *Microbiology* 151 (4): 1239–54. doi:10.1099/mic.0.27535-0.
- Coppi, M. V., R. A. O'Neil, and D. R. Lovley. 2004. 'Identification of an Uptake Hydrogenase Required for Hydrogen-Dependent Reduction of Fe(III) and Other Electron Acceptors by Geobacter Sulfurreducens'. *J Bacteriol* 186. doi:10.1128/JB.186.10.3022-3028.2004.
- Davidson, A. L., and J. Chen. 2004. 'ATP-Binding Cassette Transporters in Bacteria'. Annual Review of Biochemistry 73 (1). Annual Reviews: 241–68. doi:10.1146/annurev.biochem.73.011303.073626.
- Davis, Frank, and Séamus P J Higson. 2007. 'Biofuel Cells-Recent Advances and Applications'. *Biosensors and Bioelectronics* 22 (7): 1224–35. doi:10.1016/j.bios.2006.04.029.
- Demain, A. L., M. Newcomb, and J. H. D. Wu. 2005. 'Cellulase, Clostridia, and Ethanol'. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 69 (1). American Society for Microbiology: 124–54. doi:10.1128/MMBR.69.1.124-154.2005.
- Di Lorenzo, M., K. Scott, T. P. Curtis, and I. M. Head. 2010. 'Effect of Increasing

- Anode Surface Area on the Performance of a Single Chamber Microbial Fuel Cell'. *Chemical Engineering Journal* 156 (1): 40–48. doi:10.1016/j.cej.2009.09.031.
- Dobbin, P. S., J. P. Carter, C. García-Salamanca San Juan, M. von Hobe, A. K. Powell, and D. J. Richardson. 1999. 'Dissimilatory Fe(III) Reduction by Clostridium Beijerinckii Isolated from Freshwater Sediment Using Fe(III) Maltol Enrichment'. *FEMS Microbiology Letters* 176 (1). Blackwell Publishing Ltd: 131–38. doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb13653.x.
- Dolch, K., J. Danzer, T. Kabbeck, B. Bierer, J. Erben, A. H. Förster, J. Maisch, P. Nick, and S. Kerzenmacher. 2014. 'Characterization of Microbial Current Production as a Function of Microbe–electrode-Interaction'. *Bioresource Technology* 157 (April): 284–92. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.112.
- Dolch, K., J. Wuske, and J. Gescher. 2015. 'Genomic Barcode-Based Analysis of Exoelectrogens in Wastewater Biofilms Grown on Anode Surfaces'. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 26 (3): 511–20. doi:10.4014/jmb.1510.10102.
- Du, Zhuwei, Haoran Li, and Tingyue Gu. 2007. 'A State of the Art Review on Microbial Fuel Cells: A Promising Technology for Wastewater Treatment and Bioenergy'. *Biotechnology Advances* 25 (5): 464–82. doi:10.1016/j.biotechadv.2007.05.004.
- Emde, R., A. Swain, and B. Schink. 1989. 'Anaerobic Oxidation of Glycerol by Escherichia Coli in an Amperometric Poised-Potential Culture System'. *Applied Microbiology and Biotechnology* 32 (2): 170–75. doi:10.1007/BF00165883.
- Esteve-Núñez, A., M. Rothermich, M. Sharma, and D. R. Lovley. 2005. 'Growth of Geobacter Sulfurreducens under Nutrient-Limiting Conditions in Continuous Culture'. *Environmental Microbiology* 7 (5): 641–48. doi:10.1111/j.1462-2920.2005.00731.x.
- Feng, Yujie, Xin Wang, Bruce E. Logan, and He Lee. 2008. 'Brewery Wastewater Treatment Using Air-Cathode Microbial Fuel Cells'. *Applied Microbiology and Biotechnology* 78 (5): 873–80. doi:10.1007/s00253-008-1360-2.
- Fuchs, G. 2014. *Allgemeine Mikrobiologie*. Edited by Georg Fuchs. Stuttgart: Georg Thieme Verlag. doi:10.1055/b-0034-95319.
- Gude, V. G. 2016. 'Wastewater Treatment in Microbial Fuel Cells An Overview'. *Journal of Cleaner Production*. doi:10.1016/j.jclepro.2016.02.022.

- Ha, P. T., T. K. Lee, B. E. Rittmann, J. Park, and I. S. Chang. 2012. 'Treatment of Alcohol Distillery Wastewater Using a Bacteroidetes-Dominant Thermophilic Microbial Fuel Cell'. *Environmental Science and Technology* 46 (5): 3022–30. doi:10.1021/es203861v.
- Heidrich, E. S., T. P. Curtis, and J. Dolfing. 2011. 'Determination of the Internal Chemical Energy of Wastewater'. *Environmental Science & Technology* 45 (2). American Chemical Society: 827–32. doi:10.1021/es103058w.
- Herbert-Guillou, D., B. Tribollet, and D. Festy. 2001. 'Influence of the Hydrodynamics on the Biofilm Formation by Mass Transport Analysis'. *Bioelectrochemistry* 53 (1): 119–25. doi:10.1016/S0302-4598(00)00121-5.
- Holmes, D. E., S. K. Chaudhuri, K. P. Nevin, T. Mehta, B. A. Methé, A. Liu, J. E. Ward, T. L. Woodard, J. Webster, and D. R. Lovley. 2006. 'Microarray and Genetic Analysis of Electron Transfer to Electrodes in Geobacter Sulfurreducens'. *Environmental Microbiology* 8 (10). Blackwell Publishing Ltd: 1805–15. doi:10.1111/j.1462-2920.2006.01065.x.
- Horn, H., and D. C. Hempel. 1997. 'Substrate Utilization and Mass Transfer in an Autotrophic Biofilm System: Experimental Results and Numerical Simulation'. *Biotechnology and Bioengineering* 53 (4). Wiley Online Library: 363–71. doi:10.1002/(SICI)1097-0290(19970220)53:4<363::AID-BIT2>3.0.CO;2-L.
- IEA, International Energy Agency. 2017. 'International Energy Outlook 2017 Overview'. *International Energy Outlook*. Vol. IEO2017. doi:www.eia.gov/forecasts/ieo/pdf/0484(2016).pdf.
- leropoulos, I., J. Winfield, and J. Greenman. 2010. 'Effects of Flow-Rate, Inoculum and Time on the Internal Resistance of Microbial Fuel Cells'. *Bioresource Technology* 101 (10): 3520–25. doi:10.1016/j.biortech.2009.12.108.
- Ingledew, W. J., and R. K. Poole. 1984. 'The Respiratory Chains of Escherichia Coli.' *Microbiological Reviews* 48 (3): 222–71. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC373010/pdf/microrev00061-0046.pdf.
- Izallalen, M., R. Mahadevan, A. Burgard, B. Postier, R. Didonato, J. Sun, C. H. Schilling, and D. R. Lovley. 2008. 'Geobacter Sulfurreducens Strain Engineered for Increased Rates of Respiration'. *Metabolic Engineering* 10 (5): 267–75. doi:10.1016/j.ymben.2008.06.005.
- Juang, D. F., P. C. Yang, H. Y. Chou, and L. J. Chiu. 2011. 'Effects of Microbial

- Species, Organic Loading and Substrate Degradation Rate on the Power Generation Capability of Microbial Fuel Cells'. *Biotechnology Letters* 33 (11). Springer Netherlands: 2147–60. doi:10.1007/s10529-011-0690-9.
- Kempf, V. A. J., K. Trebesius, and I. B. Autenrieth. 2000. 'Fluorescent In Situ Hybridization Allows Rapid Identification of Microorganisms in Blood Cultures.' *Journal of Clinical Microbiology* 38 (2): 830–38.

 http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=86216&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.
- Kipf, Elena, Julia Koch, Bettina Geiger, Johannes Erben, Katrin Richter, Johannes Gescher, Roland Zengerle, and Sven Kerzenmacher. 2013. 'Systematic Screening of Carbon-Based Anode Materials for Microbial Fuel Cells with Shewanella Oneidensis MR-1'. *Bioresource Technology* 146: 386–92. doi:10.1016/j.biortech.2013.07.076.
- Kumar, R., L. Singh, and A. W. Zularisam. 2016. 'Exoelectrogens: Recent Advances in Molecular Drivers Involved in Extracellular Electron Transfer and Strategies Used to Improve It for Microbial Fuel Cell Applications'. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. doi:10.1016/j.rser.2015.12.029.
- Küsel, K., H. C. Pinkart, H. L. Drake, and R. Devereux. 1999. 'Acetogenic and Sulfate-Reducing Bacteria Inhabiting the Rhizoplane and Deep Cortex Cells of the Sea Grass Halodule Wrightii'. *Applied and Environmental Microbiology* 65 (11): 5117–23.
- Langmead, B., and S. L. Salzberg. 2012. 'Fast Gapped-Read Alignment with Bowtie 2'. *Nat Meth* 9 (4). Nature Publishing Group, a division of Macmillan Publishers Limited. All Rights Reserved.: 357–59. http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.1923.
- Li, H., B. Handsaker, A. Wysoker, T. Fennell, J. Ruan, N. Homer, G. Marth, G. Abecasis, and R. Durbin. 2009. 'The Sequence Alignment/Map Format and SAMtools'. *Bioinformatics* 25 (16): 2078–79. http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352.
- Li, X. M., K. Y. Cheng, and J. W. C. Wong. 2013. 'Bioelectricity Production from Food Waste Leachate Using Microbial Fuel Cells: Effect of NaCl and pH'. *Bioresource Technology* 149. Elsevier Ltd: 452–58. doi:10.1016/j.biortech.2013.09.037.
- Li, Z., L. Yao, L. Kong, and H. Liu. 2008. 'Electricity Generation Using a Baffled Microbial Fuel Cell Convenient for Stacking'. *Bioresource Technology* 99 (6): 1650–55. doi:10.1016/j.biortech.2007.04.003.

- Liu, J., Y. C. Yong, H. Song, and C. M. Li. 2012. 'Activation Enhancement of Citric Acid Cycle to Promote Bioelectrocatalytic Activity of Arca Knockout Escherichia Coli toward High-Performance Microbial Fuel Cell'. *ACS Catalysis* 2 (8): 1749–52. doi:10.1021/cs3003808.
- Logan, B. E. 2009. 'Exoelectrogenic Bacteria That Power Microbial Fuel Cells'. *Nat Rev Micro* 7 (5). Nature Publishing Group: 375–81. http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2113.
- ——. 2012. 'Essential Data and Techniques for Conducting Microbial Fuel Cell and Other Types of Bioelectrochemical System Experiments'. *ChemSusChem* 5 (6): 988–94. doi:10.1002/cssc.201100604.
- Logan, B. E., B. Hamelers, R. Rozendal, U. Schröder, J. Keller, S. Freguia, P. Aelterman, W. Verstraete, and K. Rabaey. 2006. 'Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology'. *Environmental Science and Technology* 40 (17): 5181–92. doi:10.1021/es0605016.
- Lonergan, D. J., H. L. Jenter, J. D. Coates, E. J. P. Phillips, T. M. Schmidt, and D. R. Lovley. 1996. 'Phylogenetic Analysis of Dissimilatory Fe(III)-Reducing Bacteria'. *Journal of Bacteriology* 178 (8): 2402–8. doi:10.1128/JB.178.8.2402-2408.1996.
- Love, M. I., W. Huber, and S. Anders. 2014. 'Moderated Estimation of Fold Change and Dispersion for RNA-Seq Data with DESeq2'. *Genome Biology* 15 (12): 550. doi:10.1186/s13059-014-0550-8.
- Lovley, D. R. 1991. 'Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) Reduction.' *Microbiological Reviews* 55 (2): 259–87. http://mmbr.asm.org/content/55/2/259.abstract.
- 2006. 'Bug Juice: Harvesting Electricity with Microorganisms'. Nat Rev Micro 4 (7): 497–508. http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1442.
- Lovley, D. R., D. E. Holmes, and K. P. Nevin. 2004a. 'Advances in Microbial Physiology Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) Reduction'. Academic Press Ltd.
- ——. 2004b. 'Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) Reduction'. *Advances in Microbial Physiology*. Academic Press. doi:10.1016/S0065-2911(04)49005-5.
- Lovley, D R, and E J Phillips. 1986. 'Organic Matter Mineralization with Reduction of Ferric Iron in Anaerobic Sediments.' *Applied and Environmental Microbiology* 51 (4): 683–89. doi:10.1080/01490458709385975.
- Mahadevan, R., D. R. Bond, J. E. Butler, A. Esteve-Nunez, M. V. Coppi, B. O. Palsson, C. H. Schilling, and D. R. Lovley. 2006. 'Characterization of Metabolism

- in the Fe(III)-Reducing Organism Geobacter Sulfurreducens by Constraint-Based Modeling'. *Appl Environ Microbiol* 72. doi:10.1128/AEM.72.2.1558-1568.2006.
- Mansoorian, H. J., A. H. Mahvi, A. J. Jafari, and N. Khanjani. 2016. 'Evaluation of Dairy Industry Wastewater Treatment and Simultaneous Bioelectricity
 Generation in a Catalyst-Less and Mediator-Less Membrane Microbial Fuel Cell'.
 Journal of Saudi Chemical Society 20 (1): 88–100.
 doi:10.1016/j.jscs.2014.08.002.
- Marsili, E., D. B. Baron, I. D. Shikhare, D. Coursolle, J. A. Gralnick, and D. R. Bond. 2008. 'Shewanella Secretes Flavins That Mediate Extracellular Electron Transfer'. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (10): 3968–73. doi:10.1073/pnas.0710525105.
- Marsili, E., J. Sun, and D. R. Bond. 2010. 'Voltammetry and Growth Physiology of Geobacter Sulfurreducens Biofilms as a Function of Growth Stage and Imposed Electrode Potential'. *Electroanalysis* 22 (7–8): 865–74. doi:10.1002/elan.200800007.
- McInerney, M. J., L. Rohlin, H. Mouttaki, U. Kim, R. S. Krupp, L. Rios-Hernandez, J. Sieber, et al. 2007. 'The Genome of Syntrophus Aciditrophicus: Life at the Thermodynamic Limit of Microbial Growth'. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 104 (18): 7600–7605. doi:10.1073/pnas.0610456104.
- McKinlay, J. B., and J. G. Zeikus. 2004. 'Extracellular Iron Reduction Is Mediated in Part by Neutral Red and Hydrogenase in Escherichia Coli'. *Applied and Environmental Microbiology* 70 (6): 3467–74. doi:10.1128/AEM.70.6.3467-3474.2004.
- Mehta, T., M. V. Coppi, S. E. Childers, and D. R. Lovley. 2005. 'Outer Membrane c-Type Cytochromes Required for Fe (III) and Mn (IV) Oxide Reduction in Geobacter Sulfurreducens'. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (12): 8634–41. doi:10.1128/AEM.71.12.8634.
- Methé, B. A., K. E. Nelson, J. A. Eisen, I. T. Paulsen, W. Nelson, J. F. Heidelberg, D. Wu, et al. 2003. 'Genome of Geobacter Sulfurreducens: Metal Reduction in Subsurface Environments.' Science (New York, N.Y.) 302 (5652): 1967–69. doi:10.1126/science.1088727.
- Methé, Barbara A, Jennifer Webster, Kelly Nevin, Jessica Butler, and Derek R

- Lovley. 2005. 'DNA Microarray Analysis of Nitrogen Fixation and Fe(III) Reduction in Geobacter Sulfurreducens'. *Applied and Environmental Microbiology* 71 (5). American Society for Microbiology (ASM): 2530–38. doi:10.1128/AEM.71.5.2530-2538.2005.
- Morris, Brandon E L, Ruth Henneberger, Harald Huber, and Christine Moissl-Eichinger. 2013. 'Microbial Syntrophy: Interaction for the Common Good'. *FEMS Microbiology Reviews* 37 (3): 384–406. http://dx.doi.org/10.1111/1574-6976.12019.
- Mudliar, S., S. Banerjee, A. Vaidya, and S. Devotta. 2008. 'Steady State Model for Evaluation of External and Internal Mass Transfer Effects in an Immobilized Biofilm'. *Bioresource Technology* 99 (9): 3468–74. doi:10.1016/j.biortech.2007.08.001.
- Nevin, K. P., B. C. Kim, R. H. Glaven, J. P. Johnson, T. L. Woodward, B. A. Methé,
 R. J. Didonato, et al. 2009. 'Anode Biofilm Transcriptomics Reveals Outer
 Surface Components Essential for High Density Current Production in Geobacter
 Sulfurreducens Fuel Cells'. *PLoS ONE* 4 (5). doi:10.1371/journal.pone.0005628.
- Nevin, K. P., and D. R. Lovley. 2000. 'Potential for Nonenzymatic Reduction of Fe(III) via Electron Shuttling in Subsurface Sediments'. *Environmental Science & Technology* 34 (12). American Chemical Society: 2472–78. doi:10.1021/es991181b.
- Nevin, K. P., H. Richter, S. F. Covalla, J. P. Johnson, T. L. Woodard, A. L. Orloff, H. Jia, M. Zhang, and D. R. Lovley. 2008. 'Power Output and Columbic Efficiencies from Biofilms of Geobacter Sulfurreducens Comparable to Mixed Community Microbial Fuel Cells'. *Environmental Microbiology* 10 (10). Blackwell Publishing Ltd: 2505–14. doi:10.1111/j.1462-2920.2008.01675.x.
- Nikaido, H. 1996. 'Multidrug Efflux Pumps of Gram-Negative Bacteria.' *Journal of Bacteriology* 178 (20): 5853–59.

 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC178438/pdf/1785853.pdf.
- Nishimura, Y., I. Tan, Y. Ohgami, K. Kohgami, and T. Kamihara. 1983. 'Induction of Membrane-Bound L-Lactate Dehydrogenase in Escherichia Coli under Conditions 9f Nitrate Respiration, Fumarate Reduction and Trimethylamine-N-Oxide Reduction (A)'. *FEMS Microbiology Letters* 17: 283–86. doi:10.1111/j.1574-6968.1983.tb00419.x.
- Núñez, C., L. Adams, S. Childers, and D. R. Lovley. 2004. 'The RpoS Sigma Factor

- in the Dissimilatory Fe(III)-Reducing Bacterium Geobacter Sulfurreducens'. *Journal of Bacteriology* 186 (16): 5543–46. doi:10.1128/JB.186.16.5543-5546.2004.
- Park, H. S., B. H. Kim, H. S. Kim, H. J. Kim, G. Kim, M. Kim, I. S. Chang, Y. K. Park, and H. I. Chang. 2001. 'A Novel Electrochemically Active and Fe (III) -Reducing Bacterium Phylogenetically Related to Clostridium Butyricum Isolated from a Microbial Fuel Cell'. *Anaerobe* 7 (6): 297–306. doi:10.1006/anae.2001.0399.
- Peña-Méndez, M. E., J. Havel, and J. Patočka. 2005. 'Humic Substances Compounds of Still Unknown Structure: Applications in Agriculture, Industry, Environment, and Biomedicine'. *J. Appl. Biomed.* 3: 13–24. doi:https://assets.motherearthlabs.com/resources/4.humic_.substances.compnd s.of_.unkwn_.structure2005.pdf.
- Pham, H.T., N. Boon, P. Aelterman, P. Clauwaert, L. De Schamphelaire, P. Van Oostveldt, K. Verbeken, K. Rabaey, and W. Verstraete. 2008. 'High Shear Enrichment Improves the Performance of the Anodophilic Microbial Consortium in a Microbial Fuel Cell'. *Microbial Biotechnology* 1 (6): 487–96. doi:10.1111/j.1751-7915.2008.00049.x.
- Ragsdale, S. W., and E. Pierce. 2008. 'Acetogenesis and the Wood-Ljungdahl Pathway of CO2 Fixation'. *Biochimica et Biophysica Acta Proteins and Proteomics*. doi:10.1016/j.bbapap.2008.08.012.
- Reguera, G., K. D. McCarthy, T. Mehta, J. S. Nicoll, M. T. Tuominen, and D. R. Lovley. 2005. 'Extracellular Electron Transfer via Microbial Nanowires'. *Nature* 435 (7045). Macmillian Magazines Ltd.: 1098–1101. http://dx.doi.org/10.1038/nature03661.
- Reguera, G., K. P. Nevin, J. S. Nicoll, S. F. Covalla, T. L. Woodard, and D. R. Lovley. 2006. 'Biofilm and Nanowire Production Leads to Increased Current in Geobacter Sulfurreducens Fuel Cells'. *Appl Environ Microbiol* 72. doi:10.1128/AEM.01444-06.
- Ren, Z., T. E. Ward, and J. M. Regan. 2007. 'Electricity Production from Cellulose in a Microbial Fuel Cell Using a Defined Binary Culture'. *Environmental Science & Technology* 41 (13). American Chemical Society: 4781–86. doi:10.1021/es070577h.
- Richter, H., M. Lanthier, K. P. Nevin, and D. R. Lovley. 2007. 'Lack of Electricity Production by Pelobacter Carbinolicus Indicates That the Capacity for Fe(III)

- Oxide Reduction Does Not Necessarily Confer Electron Transfer Ability to Fuel Cell Anodes'. *Applied and Environmental Microbiology* 73 (16). American Society for Microbiology: 5347–53. doi:10.1128/AEM.00804-07.
- Roden, E. E., A. Kappler, I. Bauer, J. Jiang, A. Paul, R. Stoesser, H. Konishi, and H. Xu. 2010. 'Extracellular Electron Transfer through Microbial Reduction of Solid-Phase Humic Substances'. *Nature Geosci* 3 (6). Nature Publishing Group: 417–21. http://dx.doi.org/10.1038/ngeo870.
- Roden, E. E., and D. R. Lovley. 1993. 'Dissimilatory Fe(III) Reduction by the Marine Microorganism Desulfuromonas Acetoxidans'. *Applied and Environmental Microbiology* 59 (3): 734–42. http://aem.asm.org/content/59/3/734.abstract.
- Roser, M., and E. Ortiz-Ospina. 2017. 'World Population Growth'.

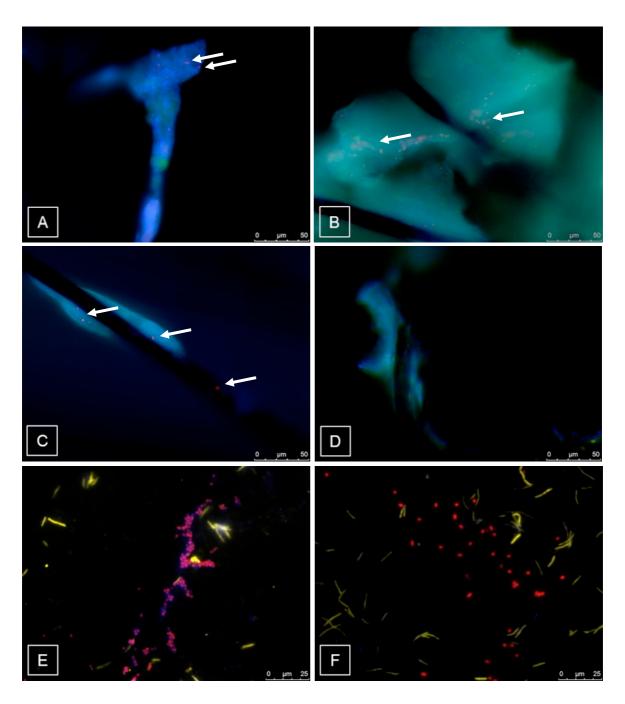
 OurWorldInData.org. https://ourworldindata.org/world-population-growth/.
- Rozendal, R. A., H. V. M. Hamelers, K. Rabaey, J. Keller, and C. J. N. Buisman. 2008. 'Towards Practical Implementation of Bioelectrochemical Wastewater Treatment'. *Trends in Biotechnology*. doi:10.1016/j.tibtech.2008.04.008.
- Santos, J. B. C., V. V. S. de Barros, and J. J. Linares. 2017. 'The Hydraulic Retention Time as a Key Parameter for the Performance of a Cyclically Fed Glycerol-Based Microbial Fuel Cell from Biodiesel'. *Journal of The Electrochemical Society* 164 (3): H3001–6. doi:10.1149/2.0011703jes.
- Santos, T. C., M. A. Silva, L. Morgado, J. M. Dantas, and C. A. Salgueiro. 2015.
 'Diving into the Redox Properties of Geobacter Sulfurreducens Cytochromes: A Model for Extracellular Electron Transfer'. *Dalton Transactions* 44 (20). The Royal Society of Chemistry: 9335–44. doi:10.1039/C5DT00556F.
- Schröder, U. 2007. 'Anodic Electron Transfer Mechanisms in Microbial Fuel Cells and Their Energy Efficiency.' *Physical Chemistry Chemical Physics: PCCP* 9 (21): 2619–29. doi:10.1039/b703627m.
- Stookey, L. L. 1970. 'Ferrozine a New Spectrophotometric Reagent for Iron'. *Analytical Chemistry* 42 (7). American Chemical Society: 779–81. doi:10.1021/ac60289a016.
- Sugnaux, M., S. Mermoud, A. F. da Costa, M. Happe, and F. Fischer. 2013. 'Probing Electron Transfer with Escherichia Coli: A Method to Examine Exoelectronics in Microbial Fuel Cell Type Systems'. *Bioresource Technology* 148 (November): 567–73. doi:10.1016/j.biortech.2013.09.004.
- TerAvest, M. A., and C. M. Ajo-Franklin. 2016. 'Transforming Exoelectrogens for

- Biotechnology Using Synthetic Biology'. *Biotechnology and Bioengineering* 113 (4): 687–97. doi:10.1002/bit.25723.
- UN-WWAP. 2015. 'The United Nations World Water Development Report 2015: Water for a Sustainable World'. doi:978-92-3-100071-3.
- Velasquez-Orta, S. B., I. M. Head, T. P. Curtis, and K. Scott. 2011. 'Factors Affecting Current Production in Microbial Fuel Cells Using Different Industrial Wastewaters'. *Bioresource Technology* 102 (8): 5105–12. doi:10.1016/j.biortech.2011.01.059.
- von Canstein, H., J. Ogawa, S. Shimizu, and J. R. Lloyd. 2008. 'Secretion of Flavins by Shewanella Species and Their Role in Extracellular Electron Transfer'. *Applied and Environmental Microbiology* 74 (3): 615–23.

 doi:10.1128/AEM.01387-07.
- Weiner, J. H., R. A. Rothery, D. Sambasivarao, and C. A. Trieber. 1992. 'Molecular Analysis of Dimethylsulfoxide Reductase: A Complex Iron-Sulfur Molybdoenzyme of Escherichia Coli'. BBA Bioenergetics. doi:10.1016/0005-2728(92)90059-B.
- Winter, M., and R. J. Brodd. 2004. 'What Are Batteries, Fuel Cells, and Supercapacitors?' *Chemical Reviews* 104 (10). American Chemical Society: 4245–70. doi:10.1021/cr020730k.
- Yuan, Yong, Bo Zhao, Shungui Zhou, Shengkui Zhong, and Li Zhuang. 2011. 'Electrocatalytic Activity of Anodic Biofilm Responses to pH Changes in Microbial Fuel Cells'. *Bioresource Technology* 102 (13). Elsevier: 6887–91. doi:10.1016/j.biortech.2011.04.008.
- Zhang, J., E. Zhang, K. Scott, and J. G. Burgess. 2012. 'Enhanced Electricity Production by Use of Reconstituted Artificial Consortia of Estuarine Bacteria Grown as Biofilms'. *Environmental Science & Technology* 46 (5). American Chemical Society: 2984–92. doi:10.1021/es2020007.
- Zhang, T., C. Cui, S. Chen, X. Ai, H. Yang, P. Shen, and Z. Peng. 2006. 'A Novel Mediatorless Microbial Fuel Cell Based on Direct Biocatalysis of Escherichia Coli'. *Chemical Communications*, no. 21: 2257. doi:10.1039/b600876c.
- Zhang, T., C. Cui, S. Chen, H. Yang, and P. Shen. 2008. 'The Direct Electrocatalysis of Escherichia Coli through Electroactivated Excretion in Microbial Fuel Cell'. *Electrochemistry Communications* 10 (2): 293–97. doi:10.1016/j.elecom.2007.12.009.

- Zhang, T., Y. Zeng, S. Chen, X. Ai, and H. Yang. 2007. 'Improved Performances of E. Coli-Catalyzed Microbial Fuel Cells with Composite graphite/PTFE Anodes'. *Electrochemistry Communications* 9 (3). Elsevier: 349–53. doi:10.1016/j.elecom.2006.09.025.
- Zhao, Y., H. Tang, and Y. Ye. 2012. 'RAPSearch2: A Fast and Memory-Efficient Protein Similarity Search Tool for next-Generation Sequencing Data'. *Bioinformatics* 28 (1): 125–26. doi:10.1093/bioinformatics/btr595.

Supplementary Information



Supplementary Figure 1: FISH-analysis of the anode and the planktonic phase of the G. sulfurerducens_{bc} and isolates driven continuous-mode reactor. A) - D) Anode. Arrows show the red stained E. coli cells of the biofilm. E) and F) Planctonic phase. Staining of all organisms with DAPI (blue), G. sulfurreducens_{bc} was stained with Geo_2-probe (green - FITC-fluorescence dye), staining of E. coli with Ent-probe (red – Cy3-fluorescence dye), staining of Clostridium sp. I and II and Paenibacillus sp. with LGC-probe (yellow – Cy5-fluorescence dye). The pictures are an overlay of the fluorescence dyes. Fluorescence microscopy of the anodes was conducted with a Dip-In-lens with 63fold magnification. Microscopy of the planktonic phase was conducted with an oil immersion lens and 100fold magnification.

Supplementary Table 1: Fold difference (FoldChange) of expressed genes of TCA-cycle and acetate-oxidation of AG 6 vs. AG 1, C-MR vs. AG 6 and C-MR vs. AG1 in metatranscriptomic analysis.

Lokus ID	gono	annotation	FoldChange	FoldChange C-	FoldChange C-
LOKUS ID	gene	annotation	AG 6 vs. AG 1	MR vs. AG 6	MR vs. AG 1
GSU0097	por	pyruvate ferredoxin	1,768	4,245	7,505
		oxidoreductase			
GSU0174	ato-2	acetyl-CoA transferase	4,121	3,476	14,326
GSU0490	ato-1	acetyl-oon transierase	2,602	9,280	24,147
GSU0994	fumB	fumarate hydratase	4,286	3,732	15,958
GSU1058	sucC	succinyl-CoA	2,261	1,359	3,073
GSU1059	sucD	synthetase	3,966	-1,190	3,332
GSU1106	gltA	citrate synthase	3,097	7,698	23,841
GSU1176	frdC	fumarate reductase/	3,059	5,149	15,750
GSU1177	frdA	succinate	3,955	3,171	12,541
GSU1178	frdB	dehydrogenase	5,253	2,059	10,816
GSU1465	icd	isocitrate	3,114	3,548	10,050
		dehydrogenase			
GSU1466	mdh	malate dehydrogenase	4,154	2,385	9,910
GSU1467	korD		3,782	3,395	12,839
GSU1468	korA	oxoglutarate	4,530	3,058	13,855
GSU1469	korB	oxidoreductase	5,302	2,254	11,952
GSU1470	korC		5,219	1,667	8,703
GSU2428	рус	pyruvate carboxylase	2,608	4,118	10,741
GSU2445		aconitase	2,890	2,799	8,088
GSU2706	pta	phosphate	1,192	4,476	5,334
		transacetylase			
GSU2707	ackA	acetate kinase/	-1,044	10,477	10,040
		propionate kinase			
GSU3448		acetate kinase	2,446	-1,261	1,939
		like protein			

Supplementary Table 3: Data of the metatranscriptomic analysis, RNA of continuous-mode experiment aligned with 51 protein sequences of metabolic key enzymes. Genes with absolute reads and reads per million (RPM).

Gene	absolute	RPM
gi 1014451750 gb KYV45769.1 TMAO reductase [Escherichia coli]		83
gi 1024797169 gb ANC26053.1 pyruvate formate-lyase protein Pfl	17446	5124
[Streptococcus pyogenes]		
gi 115512243 gb ABJ00318.1 gpD [Escherichia coli APEC O1]	526	154
gi 160624920 gb ABO42543.2 hydrogenase [Clostridium butyricum]	1253	368
gi 190909529 gb EDV69114.1 acetate kinase [Escherichia coli F11]	1328	390

gi 24371766 ref NP_715808.1 T2aSS secretion system secretin GspD	10317	3030
[Shewanella oneidensis MR-1]		
gi 24371768 ref NP_715810.1 T2aSS secretion system inner membrane	1290	379
platform protein GspF [Shewanella oneidensis MR-1]		
gi 24373342 ref NP_717385.1 extracellular iron oxide respiratory system	870	256
outer membrane component MtrB [Shewanella oneidensis MR-1]		
gi 24373343 ref NP 717386.1 extracelllular iron oxide respiratory system	311	91
periplasmic decaheme cytochrome c component MtrA [Shewanella		
oneidensis MR-1]		
gi 24373344 ref NP_717387.1 extracellular iron oxide respiratory system	394	116
surface decaheme cytochrome c component MtrC [Shewanella oneidensis		
MR-1]		
gi 24373345 ref NP_717388.1 extracelllular iron oxide respiratory system	2102	617
surface decaheme cytochrome c component OmcA [Shewanella		
oneidensis MR-1]		
gi 24376064 ref NP_720107.1 membrane anchored tetraheme	172	51
cytochrome c CymA [Shewanella oneidensis MR-1]		
gi 255508068 gb EET84489.1 Glycine reductase [Clostridium	471	138
carboxidivorans P7]		
gi 298504737 gb ADI83460.1 cytochrome c, 4 heme-binding sites	9279	2725
[Geobacter sulfurreducens KN400]		
gi 298505609 gb ADI84332.1 type IV pilus inner membrane protein PilC	7412	2177
[Geobacter sulfurreducens KN400]		
gi 298506139 gb ADI84862.1 type IV pilus secretin lipoprotein PilQ	3919	1151
[Geobacter sulfurreducens KN400]		
gi 300437026 gb ADK16793.1 carbon monoxide dehydrogenase	2856	839
[Clostridium ljungdahlii DSM 13528]		
gi 305856304 gb ADM68092.1 phosphoketolase [Paenibacillus polymyxa	2041	599
E681]		
gi 307635043 gb ADI85261.2 cytochrome c, 6 heme-binding sites	1369	402
[Geobacter sulfurreducens KN400]		
gi 308066779 gb ADO12091.1 CO dehydrogenase/acetyl-CoA synthase,	1040	305
acetyl-CoA synthase subunit [Clostridium carboxidivorans P7]		
gi 308825013 emb CBH21051.1 Arginine deiminase (ADI) (Arginine	416	122
dihydrolase) (AD) [Clostridium sticklandii]		
gi 336299116 gb AEI42219.1 Ldh [Paenibacillus mucilaginosus KNP414]	1221527	358753
gi 341920839 gb EGT70444.1 acs [Escherichia coli O104:H4 str. C227-	1487	437
11]		
	2472	726
gi 573579109 gb ETT77465.1 cellobiose phosphorylase [Paenibacillus		120

gi 612260286 gb EZQ53944.1 DMSO reductase [Escherichia coli O157:	772103	226761
str. 2010EL-2044]		
gi 723449164 gb KHD15274.1 xanthine dehydrogenase [Clostridium	2707	795
butyricum]		
gi 731158483 emb CEK37518.1 Glycine decarboxylase [Clostridium	943	277
sordellii]		
gi 738695293 ref WP_036594467.1 phosphate acetyltransferase	1049	308
[Paenibacillus sophorae]		
gi 751401542 gb AJF77627.1 phosphotransacetylase [Escherichia coli]	643	189
gi 751402387 gb AJF78472.1 nitrite reductase [Escherichia coli]	8082	2374
gi 751403183 gb AJF79268.1 fumarate reductase [Escherichia coli]	957	281
gi 75361391 sp Q5U923.1 HADC_PEPDI RecName: Full=(R)-2-	687	202
hydroxyisocaproyl-CoA dehydratase beta subunit		
gi 75361392 sp Q5U924.1 HADB_PEPDI RecName: Full=(R)-2-	14977	4399
hydroxyisocaproyl-CoA dehydratase alpha subunit		
gi 75361393 sp Q5U925.1 HADI_PEPDI RecName: Full=2-	729	214
hydroxyisocaproyl-CoA dehydratase activator		
gi 75406927 sp Q93AL8.1 FLDC_CLOSG RecName: Full=R-	535	157
phenyllactate dehydratase beta subunit		
gi 75406928 sp Q93AL9.1 FLDB_CLOSG RecName: Full=R-	532	156
phenyllactate dehydratase subunit alpha; Flags: Precursor		
gi 764109986 gb KJD38897.1 butanol dehydrogenase [Paenibacillus	302	89
polymyxa]		
gi 764112575 gb KJD41464.1 alpha-acetolactate decarboxylase	253	74
[Paenibacillus polymyxa]		
gi 764112765 gb KJD41652.1 acetate kinase [Paenibacillus polymyxa]	2473	726
gi 769364136 gb KJJ75076.1 aminomethyltransferase [Clostridium sp.	467	137
FS41]		
gi 800899476 gb AKA71660.1 D-proline reductase [Clostridium	57410	16861
scatologenes]		
gi 85676144 dbj BAE77394.1 6-phosphofructokinase I [Escherichia coli	3270	960
str. K-12 substr. W3110]		
gi 917007469 ref WP_051614181.1 acetolactate synthase [Paenibacillus	32958	9680
sp. UNC217MF]		
gi 923387097 gb KOR25956.1 pyruvate ferredoxin oxidoreductase	3322	976
[Clostridium sp. L74]		
gi 930359049 gb ALF47236.1 formate dehydrogenase H, selenocysteine-	1172268	344286
containing [Campylobacter concisus]		
gi 937299854 gb ALH90698.1 nitrate reductase [Escherichia coli	15816	4645
1		

gi 937300747 gb ALH91591.1 NADH dehydrogenase [Escherichia coli	772	227
O157:H7]		
gi 941132041 ref WP_055069142.1 pyruvate decarboxylase [Clostridium	2048	601
sp. ND2]		
gi 953087628 gb KRU12878.1 formate dehydrogenase, alpha subunit	12521	3677
[Clostridium pasteurianum DSM 525 = ATCC 6013]		
gi 974705824 emb CUW79728.1 L-lactate dehydrogenase [Escherichia	2638	775
coli]		
WP_016206284.1 cellulase [Clostridium sartagoforme]	3878	1139

Anlage II Zusatz zum Abschlussbericht

Abschlussarbeiten:

Promotionen:

Stefanie Epple, 2017, Untersuchung zur mikrobiologischen Optimierung eines bioelektrochemischen Systems (BES) für die Anwendung in der Abwasseraufbereitung.

Masterarbeiten

Tina Klessing, 2015, Machbarkeitsstudie zum Einsatz einer mikrobiellen Brennstoffzelle in einem kommunalen Klärwerk.

Bachelorarbeiten

Jessica Jablonskyj, 2016, Effiziente Abwasserreinigung durch Verwendung von Biofilmen in einer mikrobiellen Brennstoffzelle

Katharina Helmstätter, 2016, Diversitätsbestimmung und Untersuchung der Aktivität der Bakterienlebensgemeinschaft in einer betrieblichen Abwasseraufbereitung

Konferenzbeiträge:

Epple S., Gescher J., 2017, Treatment of industrial wastewater and energy generation via Microbial Fuel Cells. Vortrag, VAAM Tagung 2017.

Folgeprojekte:

Einsatz von Bioelektrochemie zur Produktion von hochreinem Biogas. Bioelektrogas. Reactor Cascades For The Biotechnological Conversion Of Waste Into Platform Chemicals. RECICL

Zuwendungsempfänger: Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Förderkennzeichen: 02WER1314A

Abschlussbericht

ERWAS – Verbundprojekt BioMethanol – nachhaltige Synthese des Energieträgers Methanol aus Abwasser Teilprojekt 1

Laufzeit des Vorhabens: 01.04.2014 – 31.12.2017

Autor: Prof. Dr. Sven Kerzenmacher, Prof. Dr. Ingo Krossing





Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren Abschlussbericht ERWAS – Verbundprojekt BioMethanol – nachhaltige Synthese des Energieträgers Methanol aus Abwasser, Teilprojekt 1 Förderkennzeichen 02WER1314A

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1
Bericht	2
I. Kurzdarstellung	2
1. Aufgabenstellung	2
2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	3
3. Planung und Ablauf des Vorhabens	4
4. Stand der Technik & Wissenschaft an den angeknüpft wurde	5
5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen	6
II. Eingehende Darstellung	7
Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelner Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele	
2. Wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises	32
3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	33
4. Verwertbarkeit des Ergebnisses	33
5. Bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei andere Stellen	
6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen im Rahmen des Projekts	35
ReferenzenFehler! Textmarke nicht defir	niert.8

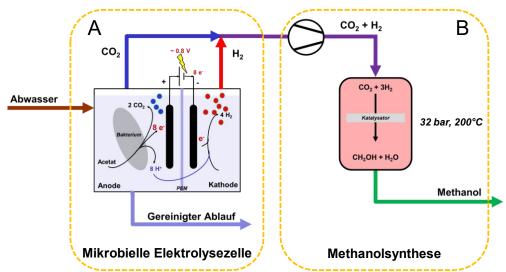
Abschlussbericht ERWAS – Verbundprojekt BioMethanol – nachhaltige Synthese des Energieträgers Methanol aus Abwasser, Teilprojekt 1 Förderkennzeichen 02WER1314A

Bericht

I. Kurzdarstellung

1. Aufgabenstellung

Ziel des Gesamtvorhabens war die Entwicklung eines neuen biologisch-chemischen Prozesses Nutzung der in Abwässern vorhandenen organischen Kohlenstoffguellen zur nachhaltigen Synthese von Methanol als zukünftigem chemischen Energieträger und Wertstoff. Dazu sollte zunächst eine optimierte mikrobielle Elektrolysezelle zur Produktion von H2 und CO2, sowie neue Katalysatoren zur Methanolsynthese entwickelt werden. Abschließend sollten beide Teilprozesse zu einer vollständigen Demonstrationsanlage zur Methanolproduktion Labormaßstab zusammengeführt (Abb. aus Abwasser im 1) und anwendungsrelevanten Bedingungen mit realen Abwässern betrieben charakterisiert werden. Auf Basis der im Rahmen des Projekts gewonnenen Daten und Kennzahlen sollte zudem eine fundierte technische sowie ökologische und ökonomische Bewertung des Gesamtkonzepts "Nachhaltiges Methanol aus Abwasser" erfolgen, die als Grundlage für die spätere Pilotierung des Konzepts zusammen mit Partnern aus der Industrie dienen kann.



Darstellung **Abbildung** 1: Schematische der hier vorgestellten erneuerbaren Methanolproduktion aus industriellem oder kommunalem Abwasser. A) Mikrobielle Elektrolysezelle: An der Anode wird z.B. Acetat aus dem Abwasser durch Bakterien zu CO2 oxidiert, dabei werden Protonen und Elektronen frei. Die Elektronen werden über einen externen Stromkreis zur Kathode geleitet, wobei durch eine externe Stromquelle eine zusätzliche Spannung angebracht wird. Die Protonen wandern Polymerelektrolytmembran (PEM) zur Kathode, und werden unter Aufnahme der Elektronen zu H₂ reduziert. Die Gase CO₂ und H₂ aus der mikrobiellen Elektrolysezelle werden gemeinsam auf-gefangen und zur Methanolsynthese geleitet. B) Methanol-Synthese: Das Gemisch aus CO₂ und H₂ wird auf den Prozessdruck komprimiert und im Reaktor katalytisch zu gasförmigen Methanol und Wasser umgesetzt.

Die zum Erreichen des Projektziels notwendigen Arbeitsschwerpunkte des Teilprojekts 1 (Fkz. 02WER1314A) umfassten die im Folgenden aufgeführten Arbeitsschwerpunkte:

Arbeitsschwerpunkt 1 - Entwicklung einer mikrobiellen Elektrolysezelle: Ziel dieses Arbeitsschwerpunktes war die Entwicklung von anwendungsrelevanten Komponenten (Anode, Kathode, Membran), einer effizienten mikrobiellen Elektrolysezelle für die Gewinnung von H2 und CO2 aus dem Industrieabwasser der Cellulose-Acetat-Produktion.

Arbeitsschwerpunkt 3 - Optimierung der Katalysatoren für die Methanolsynthese: Im Rahmen dieses Arbeitsschwerpunkts wurde zunächst ein auf den Betrieb mit der mikrobiellen Elektrolysezelle hin angepasstes Katalysatorsystems identifiziert, gefolgt von dessen wissensgestützter Optimierung hinsichtlich Robustheit, Lebensdauer und insbesondere Aktivität im Zusammenspiel mit den Produktgasen der Elektrolysezelle.

Arbeitsschwerpunkt 4 - Systemdesign und Integration: Dieses Abschließende Arbeitspaket umfasste Betrieb und Charakterisierung der beiden Teilkomponenten mit dem echten Industrieabwasser der Solvay Acetow. Dazu sollte zum Ende des Projekts ein optimierter Elektrolyse-Zellstapel mit einer Wasserstoffproduktionskapazität von ca. 1 L pro Stunde kontinuierlich mit realen Abwässern betrieben und an die Methanolsynthese-Stufe angekoppelt werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Vorhaben wurde in enger interdisziplinärer Zusammenarbeit der Arbeitsgruppen Kerzenmacher und Krossing (Universität Freiburg) mit den Arbeitsgruppen am KIT (AG Gescher) und Fraunhofer ISE (AG Schaadt) sowie dem Industriepartner Solvay Acetow GmbH durchgeführt. Bedingt durch die räumliche Nähe der Partner konnten gemeinsame vor Ort-Versuche in den jeweiligen Partnerlaboren mit überschaubarem Aufwand realisiert werden. Auch das für den Betrieb der mikrobiellen Elektrolysezellen benötigte Industrieabwasser konnte in ausreichender Menge zuverlässig zur Verfügung gestellt werden. Die räumliche Nähe der Partner war zudem hilfreich bei kurzfristigen Treffen zur Problemlösung und zur gemeinsamen Diskussion der Ergebnisse.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Der geplante Zeitrahmen des Projekts (Abb. 1) konnte zunächst im Wesentlichen eingehalten werden, so dass zum regulären Projektende (31.3.2017) alle Arbeitspakete des Arbeitsschwerpunkts 1 (Entwicklung einer effizienten Elektrolysezelle) sowie die Arbeitspakete 3.1, 3.2 und 4.1 abgeschlossen waren.

Allerdings kam es insbesondere bei der Bearbeitung des AP 4.2 (Integration der Demonstrator-Zelle in reale Abwasserströme) zu einer deutlichen zeitlichen Verzögerung. Hier zeigte sich erst im Projektverlauf, dass sich bei der üblichen Ausführung einer mikrobiellen Anode mit dem Industrieabwasser nur sehr geringe Stromdichten erreicht lassen. Dieser Umstand war bei der Planung des Projekts nicht absehbar, vielmehr musste auf Grund der bekannten Abwasserzusammensetzung von einer besonders leichten Verstoffwechselbarkeit ausgegangen werden. Dadurch kam es insbesondere bei der Entwicklung der Demonstratorzelle (AP 4.1) zu erheblichen Verzögerungen. Um die für einen wirtschaftlichen Betrieb der Zelle notwendige höhere Stromdichten zu erreichen, mussten zusätzlich Versuche mit der Wirbelschichtanode durchgeführt werden. Ein ebenfalls Erhöhter Zeitaufwand ergab sich in der letzten Projektphase (APs 4.2 - 4.4) durch den unerwartet hohen Zeitbedarf der am KIT entwickelten Inokulationsstrategie. Diese erlaubt zwar eine deutliche Erhöhung der Stromdichten und somit der Wirtschaftlichkeit des Gesamtkonzepts, ist aber in jedem neuen Ansatz mit einer ca. 6-wöchigen Versuchsphase verbunden. Dieser ungewöhnlich lange Zeitraum war bei der Projektplanung nicht vorhersehbar. Um die Projektziele zu erreichen, wurde entsprechend eine Verlängerung der Projektlaufzeit um 9 Monate beantragt, um die 4.2 Arbeitspakete "AP Ankopplung der Elektrolysezelle an die Methanolsynthesestufe, und "AP 4.4 Testbetrieb verschiedener Designvarianten unter Labor- und Feldbedingungen" durchzuführen. Im Verlängerungszeitraum ergaben sich darüber hinaus weitere Probleme, die bereits zuvor erreichten hohen Anoden-Stromdichten zu reproduzieren. Dadurch erschien die in den APs 4.3 & 4.4 geplante Ankopplung der Elektrolysezelle an die Methanolsynthesestufe nicht zielführend. Mit den zu geringen Stromdichten ist der Aufbau der kompletten Anlage technisch nicht zielführend, da für den Betrieb der Methanol-Synthese kontinuierlich eine minimale Gasmenge produziert werden muss. In Absprache mit dem Projektträger wurde der Arbeitsplan deshalb folgendermaßen geändert:

- Analyse des Abwassers auf den potentiellen Störstoff DMSO
- Parallele Wiederholung der einst erfolgreichen Adaptions-Experimente mit einem neuen Batch Abwasser am KIT und am IMTEK, auch um auszuschließen, dass das Problem auf minimale Unterschiede in der Durchführung an den beiden Standorten zurückzuführen ist. Zusätzlich dazu Kontrollexperimente im Batch-Reaktor des KIT. Ziel ist es, den Grund für die auftretenden geringen Stromdichten aufzuklären.
- Als Alternative zur geplanten Ankopplung der Elektrolysezelle an die Methanolsynthesestufe sollte das gebildete Gasgemisch in einer sogenannten

DRIFT-Zelle untersucht werden, in der eine evtl. auftretende Katalysator-Beeinträchtigung direkt und sehr sensitiv nachverfolgt werden kann. Auch ohne den Aufbau der kompletten Anlage kann so die Eignung der Elektrolysegase für die Methanol-Synthese zuverlässig gezeigt werden. Zudem erlaubt die nun verfügbare DRIFT-Zelle weit detaillierte Einblicke in eine mögliche Katalysatorbeeinträchtigung als ursprünglich geplant.

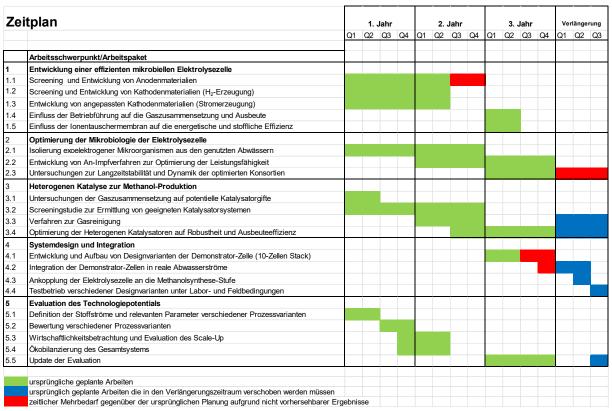


Abb. 2: Zeitplan des Gesamtvorhabens mit Darstellung des zeitlichen Mehrbedarfs sowie der im Verlängerungszeitraum geplanten Arbeiten.

4. Stand der Technik & Wissenschaft an den angeknüpft wurde

Zu Beginn des Projekts waren keine Anlagen oder Konzepte bekannt, die der im Rahmen des Vorhabens zu entwickelnden Kombination von mikrobieller Elektrolysezelle und nachgeschalteter Methanolsynthese ähnlich Insbesondere wurde das Acetat-reiche Industrieabwasser aus der Celluloseacetat-Produktion noch nicht auf die Verwendung in einer mikrobiellen Elektrolyse- oder Brennstoffzelle hin untersucht. Darüber hinaus war keine wirtschaftliche und ökologische Evaluation der mikrobiellen Elektrolysezelle (weder in Kombination mit der Methanolsynthese noch als Teilprozess zur Wasserstofferzeugung) bekannt, die in Tiefe und Umfang mit der im Rahmen des Vorhabens geplanten Evaluation vergleichbar wäre. Lediglich im Hinblick auf den Teilprozess mikrobielle Elektrolyse waren zwei vorhergehende Studien bekannt, die jedoch nur in beschränktem Umfang isoliert entweder eine wirtschaftliche [1] oder ökologische [2] Evaluation und vornahmen.

Auf Seiten der Methanolsynthese ist der konventionelle Prozess zur Produktion über fossiles Syngas (H₂/CO) aus Kohle oder Erdgas, ausgesprochen gut untersucht. Hingegen ist der für das Projekt relevante nachhaltige Prozess der Methanol-Produktion aus CO₂ und H₂ weniger untersucht, obwohl es inzwischen einige Pilotanlagen gibt: die davon Größte in Island (4.000 t/a), wo dank günstigem und CO₂ aus einer Geothermieanlage regenerativen Strom Rahmenbedingungen vorliegen. Im Hinblick auf CO2-Einsparungen wurde sie inzwischen gemäß der EU-Richtlinie 2009/28/EC untersucht. Es zeigte sich, dass in dieser Anlage hergestelltes MeOH 90% CO₂-Einsparungen im Vergleich zu fossilen Kraftstoffen erbringt [3]. Jedoch ist die Reaktion $CO_2 + 3 H_2 \rightleftharpoons CH_3OH + H_2O (\Delta_r H^\circ) = 100$ -49 kJ mol⁻¹) eine "echte" Gleichgewichtsreaktion, für die $\Delta_r G^0$ = +3,5 kJ mol⁻¹ bei Standardbedingungen beträgt. Da vier Edukt-Moleküle zu zwei Produkt-Molekülen reagieren, profitiert die Reaktion vom Anlegen eines höheren Druckes. Aufgrund der Exothermie der Reaktion mit $\Delta_r H^0 = -49$ kJ mol⁻¹, reduzieren höhere Temperaturen den Gleichgewichts-MeOH-Anteil. Aus Gründen der Raum-Zeit-Ausbeute und unzureichender Katalysator-Aktivität des bisher genutzten "besten" technischen Katalysator-Systems (Cu/ZnO/Al₂O₃) [4,5], muss die Reaktion typischerweise bei 250-280 °C mit einem Druck zwischen 40 und 80 bar betrieben werden. Würde jedoch ein aktiverer, und zugleich robuster und langzeitstabiler Katalysator entwickelt, der bereits bei 180-200 °C und ähnlichen Drücken effizient arbeitet, würde sich die Gesamt-MeOH-Ausbeute fast verdoppeln und die CO₂-Konversion um 20 % zunehmen.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Projekt wurde in enger Abstimmung zwischen den beteiligten Partnern durchgeführt. Neben halbjährlichen Statustreffen wurden während der Projektlaufzeit Arbeitstreffen zur gemeinsamen Durchführung von Versuchen nach Bedarf organsiert. Darüber hinaus wurden bei Bedarf Telefonkonferenzen bzw. persönliche Treffen zur Koordination der Arbeiten abgehalten. Darüber hinaus fand im Rahmen des von Dr. Kerzenmacher koordinierten Querschnittsthemas "Biobrennstoffzelle" der Fördermaßnahme ERWAS ein regelmäßiger fachlicher Austausch mit WissenschaftlerInnen aus dem Bereich Biobrennstoffzelle und Abwasserbehandlung statt.

II. Eingehende Darstellung

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

Gruppe Kerzenmacher:

AP 1.1 Screening und Entwicklung von Anodenmaterialien

Es konnte zunächst gezeigt werden, dass mit dem rohen Industrie-Abwasser ohne gezielte Beimpfung mit Mikroorganismen praktisch kein elektrischer Strom an der Anode (Aktivkohle-Gewebe) erreicht werden kann.

Nach Beimpfung mit dem Konsortium aus einer kommunalen Kläranlage wurden mit Aktivkohlegewebe maximale Stromdichten von etwa 0,17 mA/cm² erreicht Dabei ist diese geringe Stromdichte nicht auf die Materialeigenschaft zurückzuführen, da mit Aktivkohlegewebe zusammen mit Geobacter sulfurreducens und einem Acetat-Medium bereits deutlich höhere Stromdichten von ~ 0.8 mA/cm² erreicht wurden. Vielmehr ist davon auszugehen, dass die Charakteristika des Industrieabwassers die Leistungsfähigkeit der Anode beschränken. Für Reinkulturen von Geobacter sulfurreducens war bereits bekannt, dass sich die mit Aktivkohlegewebe und Graphitvlies erreichbaren Stromdichten nicht signifikant unterscheiden. Zum Abschluss des Arbeitspakets 1.1 wurde deshalb noch eine vergleichende Untersuchung der Materialien mit einer mikrobiellen Mischkultur vorgenommen. Dabei wurden die Anoden zunächst mit dem mikrobiellen Konsortium einer bereits laufenden Anode beimpft und mit synthetischem Acetat-Medium betrieben. Über einen Zeitraum von zwei Wochen wurde das Acetatmedium schrittweise gegen 100 % Industrie-Abwasser ausgetauscht, angelehnt an die vom Projektpartner KIT entwickelte Adaptionsprozedur. Sowohl in synthetischem Acetat-Medium als auch im echten Industrie-Abwasser aus der Cellulose-Acetat-Produktion zeigen beide Materialien vergleichbare Stromdichten von 0,6 ± 0,1 mA/cm² bzw. 0,3 ± 0,1 mA/cm². Bemerkenswert ist, dass die im Industrie-Abwasser erreichbare Stromdichte mit 0,3 ± 0,1 mA/cm² deutlich über dem zuvor erreichten Maximalwert von etwa 0,17 mA/cm² liegt. Wir führen dies auf die langsame Adaptionsphase des mikrobiellen Konsortiums an das echte Industrie-Abwasser zurück.

Da an der Kathode Stromdichten von > 1 mA/cm² erreicht wurden, stellte somit die Anodenstromdichte den limitierenden Faktor der mikrobiellen Elektrolysezelle dar. Zusätzlich zum Einsatz definierter mikrobieller Konsortien (AP2, AG Gescher, KIT) sollte die Anodenleistung deshalb auch über den konstruktiven Ansatz der Wirbelschicht-Anode verbessert werden, wie sie in AP 4.1 untersucht wurde.

AP 1.2 Screening und Entwicklung von Kathodenmaterialien (H2-Erzeugung)

Da das anfallende Industrie-Abwasser vor der Neutralisation einen pH-Wert von ca. pH 3 aufweist wurde zunächst untersucht, wie positiv sich der saure pH-Wert auf die Effizienz der kathodischen Wasserstofferzeugung auswirkt. Dabei wird bei saurem pH eine ca. um 150 mV geringere Überspannung (Polarisation) erreicht. Die auf **Basis** dieser Daten vom Projektpartner Fraunhofer ISE durchgeführten Berechnungen ergaben, dass sich entsprechend der spezifische Energiebedarf zur Wasserstofferzeugung deutlich von 1,65 kWhei/Nm³ H₂ bei pH 7 auf 0,72 kWhei/Nm³ H₂ bei pH 3 verringert. Für den weiteren Projektverlauf wurde deshalb nur die Verwendung des nicht-neutralisierten Industrieabwassers an der Kathode betrachtet, während an der Anode neutralisiertes Industrieabwasser mit pH 7 verwendet wurde.

Als vielversprechendes neues Material zur weiteren Entwicklung wurde MoS2 ausgewählt. Das Material ist insbesondere für den Einsatz in der mit saurem (nichtneutralisiertem) Industrie-Abwasser betriebenen Kathode geeignet, und wird in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Prof. von Kurz (Lehrstuhl Bioanorganische Chemie, Uni Freiburg) entwickelt. Für die technische Anwendung musste dieses Katalysatormaterial auf ein geeignetes, elektrisch leitfähiges Trägermaterial aufgebracht werden. Hier wurden mit einer Reihe kohlenstoffbasierter Trägermaterialien (Aktivkohlegewebe, Buckypaper, elektrogesponnene Nanofasermatten) verschiedene Abscheideverfahren (Drop-coating, Electrodeposition) untersucht. Die so hergestellten Elektroden wurden bei Pufferlösungen verschiedenen pH-Werten sowohl in als auch im echten Industrieabwasser elektrochemisch charakterisiert und mit den Benchmark-Systemen Platin bzw. Edelstahl verglichen. Die Ergebnisse sind überaus positiv: im tatsächlichen Industrie-Abwasser (pH 2,4) zeigt das optimierte Material bei einer Stromdichte von 1,1 mA/cm² ein zu Platin vergleichbares Überpotential von 256 mV (Abb.3).

Darüber hinaus ist das neue Material auch hinsichtlich der für die praktische Anwendung unerlässlichen Langzeitstabilität vielversprechend. Während mit Platin ein zunehmender Aktivitätsverlust beobachtet wird, zeigen die untersuchten MoS₂-basierten Materialien im Langzeitversuch über bis zu 17 Tage eine signifikante Aktivitätssteigerung (Abb. 3). Die umfangreichen Ergebnisse dieses Arbeitspakets wurden im Detail in der hochrangigen Fachzeitschrift "Applied Energy" publiziert [6]

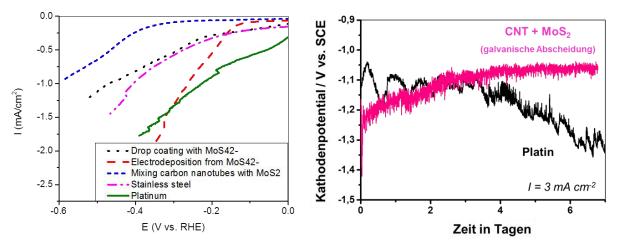


Abb. 3: **Links**: Polarisationskurven verschiedener Kathoden zur elektrolytischen Wasserstoff-produktion, betrieben Industrieabwasser 2,4 in pΗ Langzeitverhalten der neu entwickelten MoS2-Elektrode zur Wasserstoffproduktion im Vergleich zum Platin-Benchmark (Industrieabwasser pH 2,4; konstante Stromdichte von 3 mA/cm²). Ein positiveres Kathodenpotential entspricht einer besseren Leistungsfähigkeit der Elektrode.

AP 1.3 Screening und Entwicklung von Kathodenmaterialien (Stromerzeugung)

In Bezug auf Kathodenmaterialien für die Stromerzeugung wurden zunächst elektrogesponnene Kohlenstoff-Nanofasermatten durch Behandlung mit CO2 und H₂O bei ca. 800°C aktiviert. Bei der Aktivierung bilden sich Nanoporen im Material aus wodurch die die Oberfläche erheblich vergrößert wird. Bei der H₂O-Aktivierung findet zusätzlich eine Teiloxidation statt und es werden katalytisch aktive Zentren (Carbonyl- und Carboxylgruppen) in das Material eingebracht. Im weiteren Projektverlauf ergab sich jedoch (u. A. auch auf Basis der vom Projektpartner Fraunhofer ISE durchgeführten Wirtschaftlichkeitsrechnungen), dass die mit Sauerstoffreduktionskathoden typischerweise in Abwasser Stromdichten (< 0,5 mA/cm²) deutlich hinter der Leistungsfähigkeit der H2-Kathode (~ 3 mA/cm²) zurückbleiben. Aus technischer und ökonomischer Sicht war die weitere Entwicklung von Sauerstoffreduktionskathoden für den BioMethanol-Prozess somit nicht sinnvoll bzw. nicht zielführend.

AP 1.4 Einfluss der Betriebsführung auf die Gaszusammensetzung und Ausbeute

In vorhergehenden Versuchen wurde beobachtet, dass es bedingt durch den hohen Sulfat-Gehalt des Abwassers und die Stoffwechselaktivität sulfatreduzierender Bakterien zu einer vermehrten Produktion von H₂S kommen kann. Eine vielversprechende Strategie zur Verringerung der H₂S-Produktion ist das Anfahren der Zelle mit einem Sulfat-freien Acetat-Medium, um gezielt exoelektrogene

Organismen anzureichern. Das am KIT entwickelte Inokulations- und Adaptionsverfahren mit definierten Mikroorganismen, mit dem bereits eine deutlich erhöhte Anodenstromdichte erreicht werden konnte, entspricht diesem Ansatz. In den weiteren Untersuchungen zur Umsetzung des Inokulationsverfahrens in den hochskalierten mikrobiellen Elektrolysezellen (AP 4.2) und deren Betrieb mit Industrie-Abwasser wurde eine abschließende Quantifizierung der H₂S-Bildung mittels Gaschromatographie vorgenommen. Im Rahmen der Nachweisgrenze (200 ppm) konnte in den Produktgasen des Anoden- als auch des Kathodenraums kein H₂S nachgewiesen werden.

AP 1.5 Einfluss der Ionentauscher-Membran auf die energetische und stoffliche Effizienz

Als Separator zwischen Anode und Kathode wurden zunächst folgende Materialien in einem abiotischen Versuchslauf (ohne mikrobielle Aktivität) untersucht: poröse Glasfilter, Kationentauscher, Anionentauscher, Bipolarmembranen und monovalente Anionentauscher. Ziel dieser Untersuchungen war aufzuklären, wie sich der Einsatz der verschiedenen Membranen auf den elektrischen Widerstand des Systems und die pH-Balance zwischen Anode und Kathode auswirkt.

Hinsichtlich der ionischen Leitfähigkeit konnte gezeigt werde, dass Kationen- und Anionentauschermembranen den geringsten Widerstand zeigen, wohingegen der Glasfilter und die Bipolarmembran den höchsten Widerstand aufweisen. Widerstand der monovalenten Anionentauschermembran liegt im Mittelfeld. Darüber hinaus wurde mit untersucht, welche ionischen Spezies (Acetat, Sulfat, andere Kationen/Anionen) an den Transportvorgängen durch die Membran beteiligt sind. Mit Ausnahme der Kationentauschermembran findet bei allen untersuchten Membranen der Ladungsausgleich zu großen Teilen über Sulfat-Anionen statt, die von der Kathode zur Anode wandern. Das ist insofern problematisch, da sich eine hohe Sulfatkonzentration negativ auf die Leistungsfähigkeit der Anode auswirken kann Überraschenderweise 1.4). erlaubt auch die monovalente Anionenaustausch-Membran den Transport von Sulfat-Anionen.

In Experimenten mit biologischen Anoden (Zweikammeraufbau) hat sich gezeigt, dass sowohl die Kationentauschermembran als auch die Biopolarmembran geeignet sind, den gewünschten pH-Gradienten zwischen Anode (pH 7) und Kathode (pH 2) stabil aufrecht zu halten. Allerdings zeigt die Bipolarmembran bei höheren Strömen einen deutlich erhöhten Widerstand.

Die Vorausgewählten Materialien wurden anschließend unter realistischen Betriebsbedingungen in einer hochskalierten Elektrolysezelle (36 cm² geometrische Elektrodenfläche) abschließend qualifiziert. Als neues Membranmaterial wurde Cellophan mit aufgenommen. Dieses Material ist nicht nur extrem kostengünstig,

sondern hat sich im Verbundprojekt *BioBZ* bereits als Membran für eine mit kommunalem Abwasser betriebene mikrobielle Brennstoffzelle bewährt.

Zunächst wurde eine abiotische Massentransport-Studie mit Platinelektroden bei einer vergleichsweise hohen Stromdichte von 3,1 mA/cm² durchgeführt. Dabei wurde die Kathode kontinuierlich mit dem sauren Industrieabwasser (pH 2.4) beschickt. An der Anode wurde kontinuierlich das auf pH 7 eingestellte Abwasser zugeführt. Die hydraulische Verweilzeit im Anoden- bzw. Kathodenraum wurde mit 1 h so gewählt, dass wie gewünscht etwa 40 % des chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB) an der Anode abgebaut werden könnten. Über einen Zeitraum von 24 h wurden regelmäßig die pH-Werte im Anoden- bzw. Kathodenraum gemessen. Die Ergebnisse sind in Abb. 4 dargestellt. Hinsichtlich der Stabilisierung des pH-Werts konnten mit der Kationentauscher-Membran, der Bipolar-Membran und mit dem kostengünstigen Cellophan die jeweils gewünschten pH-Werte (Anode: ~7; Kathode: ~ 2) im kontinuierlichen Betrieb nahezu aufrechterhalten werden. Mit den untersuchten Anionentauscher-Membranen (AEM; regulär und monovalent) trat hingegen an der Kathode eine nicht-tolerierbare Alkalisierung mit pH-Werten > 9 auf. Für die im Rahmen des Projekts geplante Anwendung kommen Anionentauscher-Membranen daher nicht in Betracht. Als möglicherweise problematisch erwies sich veraleichsweise mechanische Stabilität geringe der Kationentauscher-Membran. Eine verstärkte Variante mit höherer Dicke ist verfügbar, zeigt jedoch eine höhere Abweichung von den Zielwerten im Bereich von bis zu drei pH-Einheiten an der Anode. Durch geschickte Betriebsführung (z. B. angepasste Verweilzeit, stärkere Alkalisierung des Abwassers schon vor der Anode) sollte jedoch ggf. auch die verstärkte Kationentauscher-Membran erfolgreich eingesetzt werden können.

Hinsichtlich des elektrischen Ionentransport-Widerstands zeigen sowohl Cellophan als auch die unverstärkte Kationentauscher-Membran einen geringen ohm'schen Potentialabfall von < 10 mV im Dauerbetrieb bei 3,1 mA/cm². Für die Anwendung ist dies als äußerst positiv zu bewerten. Die verstärkte Kationentauscher-Membran zeigt hingegen unter diesen Bedingungen einen deutlich höheren Potentialabfall von etwa 400 mV. Dieser Wert ist tendenziell zu hoch, so dass ggf. auf eine dünnere verstärkte Variante dieser Membran zurückgegriffen werden muss.

Zusammenfassend stehen mit den Kationentauscher-Membranen (unverstärkt oder ggf. auch verstärkt) sowie Cellophan geeignete Membranmaterialien für den Aufbau des Demonstrators zur Verfügung. Im weiteren Projektverlauf soll vornehmlich Cellophan verwendet werden, nicht zuletzt wegen des deutlichen Kostenvorteils gegenüber den anderen Materialien. Da es sich bei Cellophan um ein potentiell biologisch abbaubares Polymer handelt wird dem Aspekt Degradation im Langzeitbetrieb besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden. Bislang wurde über Zeiträume von bis zu 2 Monaten jedoch keine Degradation festgestellt.

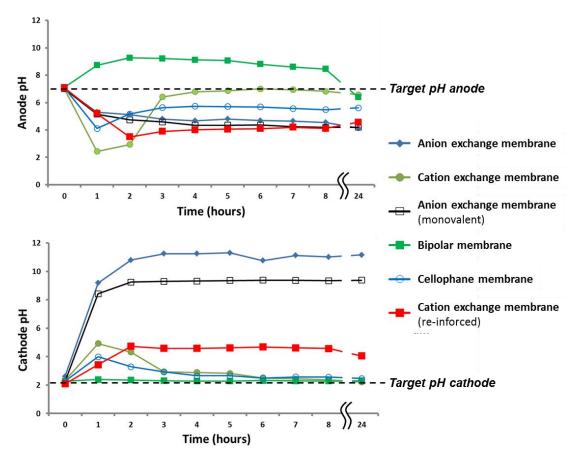


Abb. 4: Verlauf des pH-Werts an Anode und Kathode in der abiotischen Massentransportstudie mit unterschiedlichen Membranmaterialien. Erklärungen im Text.

AP 4.1 Entwicklung und Aufbau von Designvarianten der Demonstrator-Zelle

Als erste Designvariante der Demonstratorzelle wurden hochskalierte *Flat-Plate*-Elektrolysezellen mit 36 cm² geometrischer Elektrodenfläche entwickelt (Abb. 5). Die Konstruktion und Anschluss-Peripherie dieser Zellen wurde hinsichtlich eines zuverlässigen kontinuierlichen Betriebs mit dem Industrie-Abwasser aus der Celluloseacetat-Produktion optimiert.

Zur Erhöhung der an der Anode erreichbaren Stromdichte wurden zudem Versuche mit Wirbelschicht-Anoden durchgeführt. Bei diesem Ansatz werden dem Anodenraum Aktivkohlepartikel mit einer hohen Doppelschichtkapazität zugegeben, die die von den exoelektrogenen Organismen abgegebenen Elektronen aufnehmen können. Im Wirbelbett kommen diese Partikel nun regelmäßig mit der eigentlichen Anode in Kontakt und können ihre elektrische Ladung an diese abgeben. Somit kann die Stromdichte der Anode erhöht werden, ohne dass deren Fläche bzw. die Fläche der Separator-Membran erhöht werden muss. Erste Vorversuche lieferten sehr vielversprechende Ergebnisse, und bereits durch die einfache Zugabe von Aktivkohlepartikeln in einer Zweikammer-Zelle konnte die Stromdichte um den Faktor zwei erhöht werden [8].

Im Anschluss wurde eine vergleichende Untersuchung der Wirbelschicht in den verschiedenen der Reaktorkonzepten "Flatplate" (36 cm² aeometrische Elektrodenfläche, siehe Abb. 5) und "Tubular-Upflow" (Abb. 6) durchgeführt. Dabei zeigte sich das im "Flatplate"-Aufbau nur sehr schwer eine längerfristig stabile Wirbelschicht aufgebaut werden kann. Oftmals kommt es zu Sedimentation der Partikel und zum Zusammenbruch der Wirbelschicht, was teilweise auch auf eine mechanische Abnutzung der Partikel zurückgeführt werden kann. Zuverlässiger gelang die Ausbildung der Wirbelschicht im röhrenförmigen "Tubular-Upflow"-Reaktor. Ein solcher, mit granularen Aktivkohle-Partikeln (Nenndurchmesser 1,3 mm) betriebener Wirbelschichtreaktor wurde entsprechend der am KIT entwickelten Inokulations- und Adaptionsprozedur angefahren, und mit dem Industrieabwasser betrieben. Die dabei in ersten Versuchen erreichten Stromdichten (bezogen auf die Fläche der Cellophan-Separatormembran) blieben mit Werten im Bereich von maximal 0,4 mA/cm² hinter den Erwartungen zurück. In Anbetracht der aufwändigen Arbeiten zu AP 4.2 wurde dieser Ansatz an dieser Stelle nicht weiter untersucht, wird jedoch in einem bereits bewilligten Folgeprojekt (BioEC-Reaktor) weiter verfolgt werden.

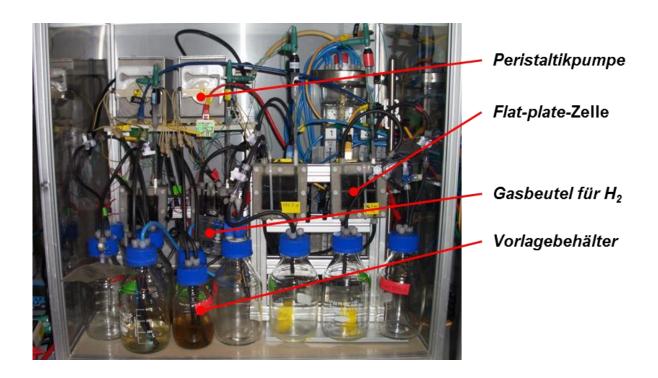


Abb. 5: Laboraufbau zur Untersuchung von vier hochskalierten *Flat-Plate*-Elektrolysezellen mit 36 cm² geometrische Elektrodenfläche. Über Peristaltikpumpen werden die Zellen kontinuierlich mit Industriebwasser aus den Vorlagebehältern beschickt. Der an der Kathode entstehende Wasserstoff wird in Gasbeuteln aufgefangen.

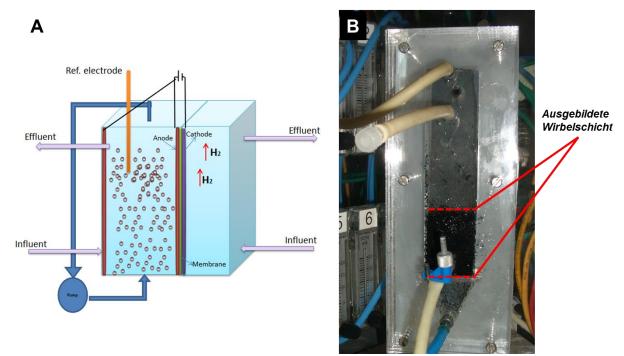


Abb. 6: Laboraufbau des neu konstruierten Wirbelschicht-Reaktors. **A:** schematische Darstellung. **B:** Blick auf die Anodenseite des Reaktors im Labor-Betrieb mit ausgebildeter Wirbelschicht aus Kohlenstoff-Partikeln.

AP 4.2 Integration der Demonstratorzelle in reale Abwasserströme

Im Rahmen dieses Arbeitspakets wurde zunächst die am KIT entwickelte Inokulations-Adaptionsprozedur auf die hochskalierten Flat-Plate-Elektrolysezellen mit 36 cm² geometrischer Elektrodenfläche (Abb. 5) übertragen (die Zelle war in diesem Fall noch mit einer Anionenaustausch-Membran als Separator betrieben, da nur die anodische Halbzelle untersucht werden sollte). Analog zum Vorgehen am KIT wurde eine Graphitvlies-Anode mit Geobacter sulfurreducens und den aus dem Industrieabwasser gewonnen Isolaten Alkaliphilus, Paenibacillus, Clostridium und E. Coli angeimpft, und für 7 Tage im Batch-Modus mit synthetischem Acetatmedium bei - 200 mV vs. SCE betrieben. Im Anschluss wurde die Anodenkammer kontinuierlich mit dem neutralen Industrie-Abwasser beschickt. Die Flussrate wurde dabei so gewählt, dass die hydraulische Verweilzeit 14 Tage betrug. Nach 14 Tagen sollte demnach das synthetische Acetatmedium vollständig gegen Industrieabwasser ausgetauscht worden sein. Der Verlauf der Anoden-Stromdichte während dieses Experiments ist exemplarisch für eine Zelle in Abb. 6 dargestellt. Mit einem parallel betriebenen Duplikat wurden vergleichbare Ergebnisse erzielt. Wie aus Abb. 7 ersichtlich, steigt die Stromdichte im Acetatmedium im Verlauf von 4 Tagen auf einen Maximalwert von etwa 0,3 mA/cm². Der darauf folgende Abfall der Stromdichte ist möglicherweise auf die abnehmende Acetat-Konzentration im Batch-Betrieb zurückzuführen. Im nachfolgenden Betrieb mit zunehmender Industrie-Abwasserkonzentration steigt die Stromdichte auf einen Maximalwert von bis zu

0,5 mA/cm² nach etwa 20 Tagen an. Dieser Wert ist etwa dreimal höher als die maximale Stromdichte, die nach Inokulation mit einem natürlichen Kläranlagenkonsortium und ohne Adaptionsphase erreicht wurde.

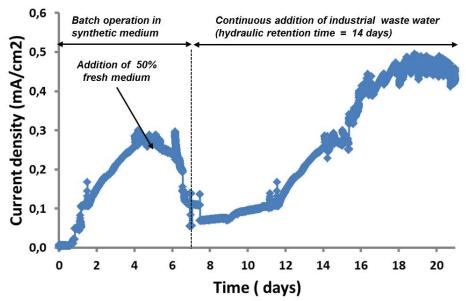
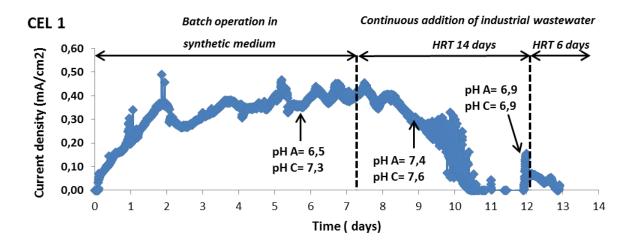


Abb. 7: Verlauf der Anodenstromdichte (*Flat-Plate-*Zelle mit AEM-Separator, betrieben bei -200 mV vs. SCE) während der Inokulations- und Adaptionsprozedur. Erklärungen im Text.

Allerdings traten bei den weiterführenden Versuchen zur Integration der mit Cellophan-Separatoren ausgerüsteten Flat-Plate-Zellen in reale Abwasserströme massive Probleme auf, und die bereits zuvor erreichten hohen Anodenstromdichten konnten nach Wechsel auf das Industrieabwasser nicht zuverlässig reproduziert werden. Die Ergebnisse der im Duplikat durchgeführten Experimente sind exemplarisch in Abb. 8 dargestellt. In beiden Fällen ist deutlich zu erkennen, dass es mit Zugabe des Industrieabwassers zu einem drastischen Einbruch der Stromdichte kommt. Um einen systematischen Fehler bei der Durchführung des Experiments auszuschließen, wurde das Experiment im Duplikat wiederholt, wobei sich qualitativ das gleiche Ergebnis zeigte. Auch durch eine Verringerung der hydraulischen Verweilzeit von 14 Tagen auf bis zu 2 Tagen (und eine damit verbesserte Substratversorgung) konnte die Stromdichte nicht erhöht werde und erreichte nur Werte im Bereich von etwa 0,05 -0,10 mA/cm². Tatsächlich zeigte sich in den Versuchen ein Rückgang des Stroms bei reduzierter Verweilzeit, was auf das Vorhandensein eines Störstoffs im Abwasser hindeuten könnte.



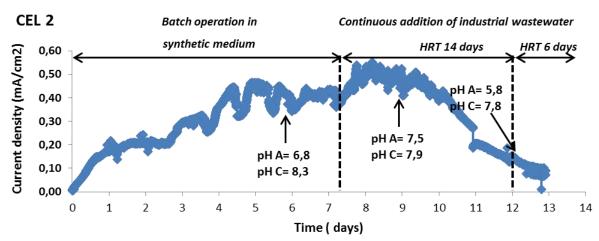


Abb. 8: Verlauf der Anodenstromdichte (*Flat-Plate-*Zelle mit Cellophan-Separator im Duplikat, -200 mV vs. SCE) während der Inokulations- und Adaptionsprozedur mit anschließendem kontinuierlichem Betrieb mit Industrieabwasser bei verschiedenen Verweilzeiten (HRT). Erklärungen im Text.

Um die Problematik besser einzugrenzen zu können, wurde im weiteren Projektverlauf eine Reihe von systematischen Versuchen mit den Flat-Plate-Zellen durchgeführt, ergänzt durch Kontrollversuche am KIT mit demselben Batch des Industrieabwassers. Die dabei getesteten Hypothesen und die zugehörigen Ergebnisse sind im Folgenden aufgelistet:

Negativer Einfluss der Cellophan-Membran auf die Anodenstromdichte?

- Mit Cellophan und AEM-Separator ausgerüstete Flat-Plate-Zellen zeigten (jeweils im Duplikat) keinen signifikanten Unterschied.
- Schlussfolgerung: Ausführung des Separators (Cellophan oder AEM) nicht ursächlich für die geringe Stromdichte

- Vorhandensein eines Störstoffs (z.B. DMSO) im Abwasser?

- Die Untersuchung des Abwassers auf DMSO mittels NMR war negativ
- o In weiteren Versuchen konnte kein direkter Zusammenhang zwischen

- verringerter hydraulischer Verweilzeit und Stromabnahme mehr beobachtet werden
- Mit demselben Batch Abwasser konnten im Kontrollexperiment mit der KIT-Labortestzelle die dort zuvor erreichten Stromdichten reproduziert werden.
- Schlussfolgerung: die niedrige Stromdichte in den Flat-Plate-Zellen kann nicht auf einen Störstoff zurückgeführt werden

- Vermindertes Wachstum von G. sulfurreducens durch fehlendes CO₂ in der Anwachsphase?

- Durch kontinuierliche Begasung des Anodenraums der Flat-Plate-Zelle mit CO₂/N₂ von Beginn des Experiments an konnte keine direkte Verbesserung der Stromdichte erreicht werden
- o **Schlussfolgerung**: CO₂-Mangel nicht ursächlich für das Problem

- Mangelhafte Durchmischung des Anodenraums der Flat-Plate-Zelle?

- O Durch testweises Einblasen einer CO₂/N₂-Mischung in den Anodenraum konnte bei allen Zellen (jeweils ein Duplikat mit AEM bzw. Cellophan-Membran) eine deutliche Erhöhung der Stromdichte erreicht werden. Es zeigte sich jedoch keine direkte Abhängigkeit von der CO₂-Konzentration, so dass der Effekt eher auf eine verbesserte Durchmischung, möglicherweise kombiniert mit einer Pufferwirkung des eingebrachten CO₂, zurückzuführen ist. In einem am KIT durgeführten Kontrollexperiment wurde darüber hinaus eine sehr starke Abhängigkeit der Stromdichte vom pH-Wert beobachtet
- Schlussfolgerung: schlechte Durchmischung des Anodenraums und die dadurch bedingte pH-Änderung möglicherweise ursächlich für die geringe Stromdichte

Zusammenfassend lässt sich somit festhalten, dass auf Basis der oben aufgeführten Erkenntnisse die geringe Anoden-Stromdichten der *Flat-Plate-*Zellen höchstwahrscheinlich auf eine unzureichende Durchmischung des Anodenraums und sich dadurch ergebende pH-Wert-Gradienten zurückzuführen ist. Durch den sehr langen Zeitbedarf dieser Experimente (teilweise über 80 Tage pro Lauf) konnten im Rahmen der verfügbaren Projektlaufzeit jedoch keine weiterführenden Experimente mehr durchgeführt werden. Der noch ausstehende Nachweis, dass durch eine verbesserte Durchmischung pH-Wert-Kontrolle die zuverlässige Erhöhung der Stromdichte erreicht werden kann, kann also ggf. erst im Rahmen eines Nachfolgeprojekts erbracht werden.

Als generelles Problem bei der experimentellen Durchführung hat sich die hohe Schwankungsbreite der Stromdichten, sowohl innerhalb eines Experiments als auch zwischen parallel durchgeführten Duplikaten, ergeben. Als Beispiel ist in Abb. 9 der

Stromdichteverlauf einer *Flat-Plate-*Zelle (ausgerüstet mit Graphitvlies-Anode und AEM-Membran, Anodenraum kontinuierlich mit CO₂/N₂-begast) dargestellt. Die große Schwankungsbreite der Stromdichte ist deutlich erkennbar, und nur ein Teil der Variationen kann durch externe Einflüsse (z.B. Ausfall der Pumpen, Kontaktprobleme, Ausfall der Referenzelektrode) erklärt werden.

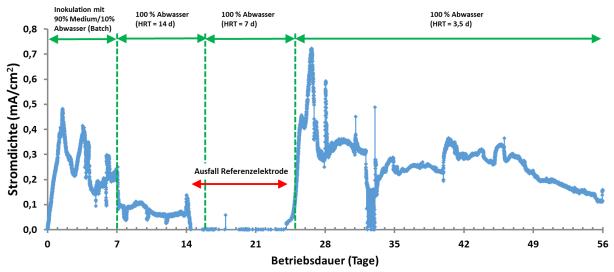


Abb. 9: Exemplarischer Verlauf der Anodenstromdichte einer *Flat-Plate-*Zelle (AEM-Separator, Anode betrieben bei -200 mV vs. SCE). Deutlich sichtbar sind die großen Schwankungen in der Stromdichte, die nur zum Teil durch externe Einflüsse erklärt werden können. Erklärungen im Text.

Als Grundlage für weiterführende Arbeiten sollte deshalb nicht nur der experimentelle Aufbau optimiert werden (zuverlässige Pumpen, kontinuierliche pH-Wert-Einstellung,...), sondern auch mögliche weitere Einflussparameter identifiziert und ggf. gezielt kontrolliert werden. An dieser Stelle ist jedoch auch hervorzuheben, dass auch mit dem echten Industrieabwasser teilweise Stromdichten von 0,3 mA/cm² und mehr (in der Spitze bis zu 0,7 mA/cm²) über mehrere Tage erreicht werden konnten. Dies zeigt dass es prinzipiell möglich ist, mit dem Industrieabwasser ausreichend hohe Stromdichten (entsprechend der ökonomischen Evaluation des Projektpartners Fraunhofer ISE sind etwa von 1 mA/cm² anzustreben) zu erreichen.

Mit den bis dato geringen erreichbaren Stromdichten war zudem die geplante Ankopplung der Elektrolysezelle an die Methanol-Synthesestufe nicht zielführend, da für den Betrieb der Methanol-Synthese kontinuierlich eine minimale Gasmenge produziert werden muss. Als Alternative wurde deshalb in Absprache mit dem Projektträger das in der Elektrolysezelle gebildete Gasgemisch in einer sogenannten DRIFT-Zelle untersucht, in der eine evtl. auftretende Katalysator-Beeinträchtigung direkt und sehr sensitiv nachverfolgt werden kann. Auch ohne den Aufbau der kompletten Anlage konnte so innerhalb der verbleibenden Projektlaufzeit die Eignung der Elektrolysegase für die Methanol-Synthese zuverlässig gezeigt werden, und zudem weit detailliertere Einblicke in eine mögliche Katalysatorbeeinträchtigung als ursprünglich geplant gewonnen werden.

Für die Untersuchung des Gasgemisches der Kathode der Elektrolysezelle (die Zusammensetzung war bekannt: H₂: 69,9%, N₂: 13,4%, CO₂: 16% und O₂: 0,7%) wurde als Referenz ein Vergleichsgasgemisch mit identischer Gaszusammensetzung hergestellt. Dieses wurde zuerst in die Harricks-Druckzelle mit aktivem Methanol-Minuten geleitet und alle paar ein Spektrum (Vergleichsmessung/Probe VGP). Anschließend wurde das reale Gas untersucht. Es zeigte sich allerdings, dass aufgrund der über 3 Monate währenden Lagerung des Gases in einem Plastiksack, der Großteil des H2 bereits durch die Plastikfolie diffundiert war. Daher kann man die beiden Messungen leider nur sehr beschränkt miteinander vergleichen. In Abbildung 1 links sind zwei der Spektren abgebildet. Das Spektrum des realen Gases mit viel weniger H₂ führt demgemäß an der Oberfläche zu wenig spektroskopischen Signaturen. Jedoch intensivieren sich nach etwa 10 Minuten (Abbildung 10 rechts) die Banden und es konnten die Signale der zu erwartenden Zwischenprodukte der Methanolkatalyse zugeordnet werden.

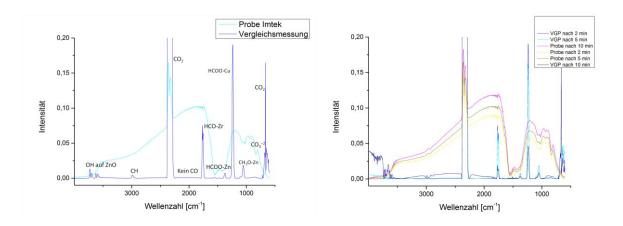


Abb. 10: Links: DRIFT-Messungen am aktiven CZZ-Katalysator direkt nach dem Einfüllen der beiden Gasproben, Zuordnung der Intermediate. Rechts: Zeitlicher Verlauf der Reaktion.

Es scheinen beim realen Gas also keine Adsorbate aufgetreten zu sein, die einer Vergiftung gleichkommen könnten. Nur sind die Signalintensitäten aufgrund des fehlenden Wasserstoffes sehr viel niedriger. An der Vergleichsprobe ist jedoch gut zu sehen, dass das Gasgemisch aus der Elektrolysezelle trotz des Sauerstoffgehaltes direkt für die Methanolsynthese verwendet werden kann: Die Banden der charakteristischen Zwischenprodukten (Formiat usw.) nehmen mit der Zeit ab. Das heißt die Intermediate reagieren zu Methanol und Wasser ab. Selbst die kleine Menge Sauerstoff (die ebenfalls in der Vergleichsprobe enthalten war) zeigte keine Auswirkungen auf die Aktivität des Katalysators. Zusammenfassend konnte auf Basis der Untersuchungen in der DRIFT-Zelle somit gezeigt werden, dass die produzierten Gase der Elektrolysezelle für die Methanolsynthese geeignet sind und damit auch für die DME Synthese eingesetzt werden können.

Gruppe Krossing:

AP 3.1 Untersuchung der Gaszusammensetzung auf mögliche Katalysatorgifte

Durch Gaschromatographie wurden keine Katalysatorgifte identifiziert. Zusätzlich wurde das Abwasser mittels NMR auf Schwefelquellen untersucht, die zu einer H₂S Bildung führen könnten. Die Bestandteile des Abwassers sind in der Hauptsache natürlich Wasser, verschiedene Saccaride (von der Cellulose), Acetat, Aceton und Ethanol. Der Verdacht, dass sich Dimethylsulfoxid (DMSO) im Abwasser befindet, konnte durch Referenzmessungen bis in den einstelligen Promillebereich ausgeschlossen werden. Um auch am realen Katalysatorsystem eventuelle Katalysatorgifte aufzuspüren, wurde das reale Produktgas aus den Elektrolysezellen in eine Harricks-Druckzelle mit aktiven Methanol-Katalysator geleitet, um über ggf. auftretende Veränderungen der IR-spektroskopischen Oberflächen-Signatur der DRIFT-Spektren Rückschlüsse auf eventuelle Katalysatorgifte zu ziehen. Die während der Projektzeit parallel aufgebaute DRIFT-Apparatur ist in der folgenden Abb. 11 gezeigt. Auch über diese DRIFT Messung konnten keine Gifte nachgewiesen werden (siehe Abschnitt 4.2 Abb. 10).



Abb. 11: DRIFT-Apparatur

AP 3.2 Screeningstudie zur Ermittlung von geeigneten Katalysatorsystemen

Als wesentlich aufwendiger als geplant stellte sich der Aufbau des neuen Reaktorteststandes dar (

Abb. **12**). Neben einer Reihe technischer Probleme war auch die Kalibrierung des Gaschomatographen sehr zeitintensiv, wodurch es zunächst zu Verzögerungen in der der Durchführung der Screeningstudie kam.

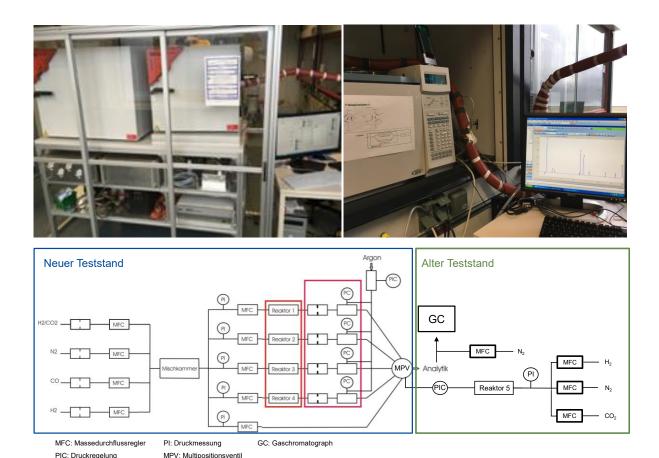


Abb. 12: Bilder und schematischer Aufbau des neuen Teststandes mit Online-Analytik. Mit dem neuen Teststand können nun statt nur einem bis zu fünf Katalysatorsysteme parallel untersucht werden.

Der für die Methanol-Synthese optimierte und ausgewählte Benchmark Katalysators Cu/ZnO/ZrO2 (CZZ) wurde im Projektverlauf publiziert [9] und dann weiter für das Projekt modifiziert, mit dem Ziel eine höhere Ausbeute zu erzielen. Nach der Modifizierung des oxidischen CZZ durch Gasphasenfluoridierung mit elementarem Fluor im Batch-Reaktor konnte gezeigt werden, dass hauptsächlich die verbliebenen Präkursorreste (Carbonate) fluoridiert wurden (Abb. 13). Außerdem wiesen die so entstandenen fluoridischen Katalysatoren eine Selektivitätssteigerung auf. In Anlehnung an diese Versuche wurde nun ein weiterer, neuer Ansatz zur Herstellung von fluoridierten Katalysatoren etabliert. Grundlegender Unterschied ist, dass der Präkursor direkt in wässriger HF-Lösung gefällt wird. Dabei entstehen, je nach pH-Wert und Fluorid-Konzentration der Lösung, komplett neue Phasen im Präkursor, mit bzw. ohne basischen Metallcarbonaten. Es konnte mit EDX gezeigt werden, dass bei niedrigem pH-Wert der Fällungslösung mehr Fluorid in die Struktur eingebaut werden konnte. Außerdem führte ein hoher Fluorid-Anteil im Präkursor zu einem niedrigerem Zirkonia Einbau. Die Präkursoren wurden durch IR-Spekroskopie auf ihren Carbonat-Anteil untersucht. Bei hoher HF Konzentration und niedrigem pH-Wert entstanden so gut wie keine Carbonat Phasen (Abb. 143).

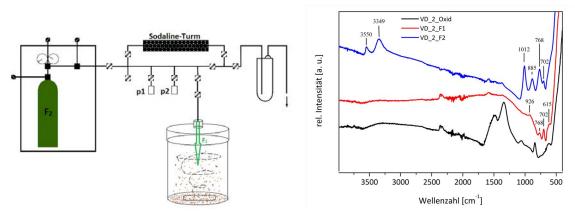


Abb. 13: Schematischer Aufbau der Gasphasenfluoridierung (links) und IR Spektren (rechts) eines Oxidischen Katalysator (VD_2_oxid) und zwei fluoridierten Katalysatoren (VD_2_F1 und VD_2_F2). Die Carbonatbanden bei 3550 cm⁻¹ und 3349 cm⁻¹ verschwinden durch die Fluoridierung.

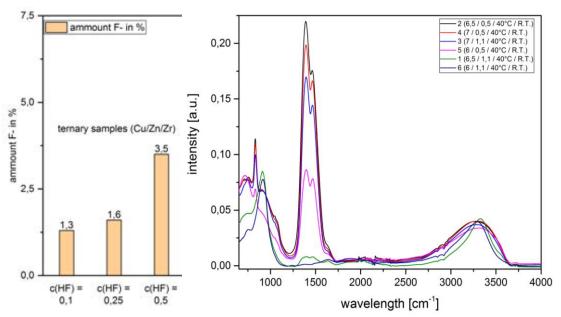


Abb. 14: Fluoridgehalte aus der Ionenchromatographie (links) und IR-Spektren (Legende: pH/c(HF)/Fällungstemperatur/Alterungstemperatur)

Die Katalysemessungen zeigten, dass dieses komplett neue System für die Methanol-Synthese aktiv ist. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen Carbonat-haltigen und Carbonat-freien Katalysatoren. Dies betrifft auch den Fluorid-Gehalt. In solchen mit hohem F- Gehalt ist der Carbonat-Gehalt niedrig und umgekehrt. Dies wirkt sich direkt auf die Selektivität für die Methanol-Reaktion und Produktivität von Methanol aus. Höhere Selektivitäten korrelieren mit dem Fluorid-Gehalt und höhere Produktivitäten mit dem Carbonat-Gehalt. Diesen Effekt der Fluoridionen auf die Katalysatoren erklärt man sich damit, dass diese das aktive

Zentrum des Katalysators positiv beeinflussen und dadurch direkt auf den katalytischen Prozess wirken. Am umsatzstärksten zeigte sich das System mit hohem Carbonat-Anteil im Präkursor. Auch liegt die Selektivität für Methanol bei 200°C, 40 bar und einer GHSV von 10000 h⁻¹ bei 80%.

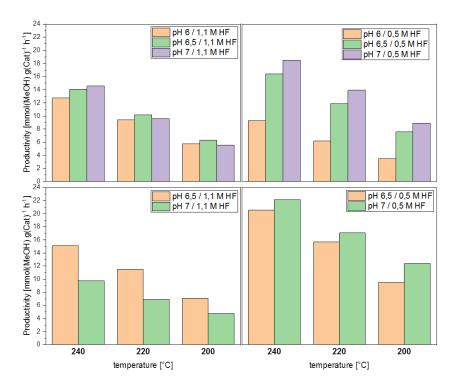


Abb. 15: Produktivitäten der bei unterschiedlichen HF Konzentrationen und pH Werten gefällten ternären Katalysatoren bei verschiedenen Reaktionstemperaturen.

Der wesentliche Vorteil dieser Syntheseroute stellt sich durch die Erhaltung der Carbonat-Struktur im Katalysator, besonders bei geringer HF Konzentration, gegenüber der Gasphasenfluoridierung dar. Diese komplett neue Fällungsroute ist somit sehr vielversprechend und wird in der nächsten Zeit weiter optimiert. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass für die weiteren Untersuchungen in AP 3.4 drei geeignete neue Katalysatorsysteme (oxidisch CZZ, gasphasenfluoridiertoxidisch CZZ/F, in wässriger HF-Lösung gefällt fluoridiert CZZ/HF) zur Verfügung standen.

Ausweitung der Syntheseziele auf Dimethylether

Zusätzlich zu den Aktivitätstests der Methanolsynthese-Katalysatoren wurden weitere Versuche zur Synthese von Dimethylether aus CO₂ und H₂ über Methanol durchgeführt. Einer der Nachteile der direkten Methanolsynthese aus CO₂ und H₂ ist, dass diese als eine Gleichgewichtsreaktion auf einen Umsatz von etwa 15 % limitiert ist (Reaktion 1). Daher erfordert sie eine aufwändige Rezyklierung der nicht umgesetzten Stoffe (H₂, CO₂). Durch Kopplung der Methanolproduktion mit der Dehydratisierung zu DME (Reaktion 2) wird Methanol beständig aus dem GGW

entzogen und senkt damit die Zahl der erforderlichen Zyklen bis zur vollständigen Umsetzung erheblich, was sowohl energie- als auch kostensparend ist.

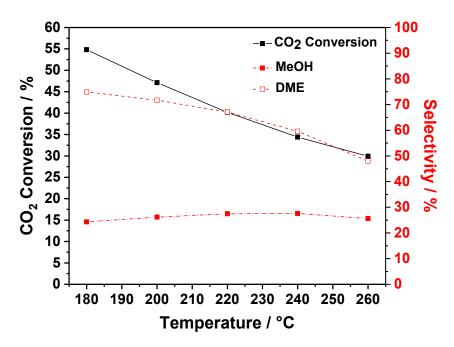


Abb. 16: Isothermal Thermodynamik der DME Reaktion bei 40 bar und einem 3:1 (H₂:CO₂) Gasgemisch.

Reaktion 1
$$CO_2 + 3 H_2 \xrightarrow{Cu/ZnO/ZrO_2} CH_3OH + H_2O \qquad \Delta H_{298K} = -49,5 \quad \frac{kJ}{mol}$$
 Reaktion 2
$$2 CH_3OH \xrightarrow{\gamma-Al_2O_3} CH_3 - O - CH_3 + H_2O \qquad \Delta H_{298K} = -23,5 \quad \frac{kJ}{mol}$$

Es wurden verschiedene Mischungsverhältnisse von oxidischem Benchmark-Katalysator und einer aziden Komponente (Lewis saures y-Al₂O₃ und Brønstedsaurer Amberlyst 36) durchgetestet. Außerdem wurde die Schichtung im Rohrreaktor variiert. Zum einen wurde so geschichtet, dass die Eduktgase zuerst auf den Methanol Katalysator und danach auf den sauren Katalysator treffen (In Anlehnung an die Bildungsreaktionen). Desweitern wurde im Reaktorrohr ein Gradient eingefüllt und auch die komplett homogene Mischung beider Katalysatoren wurde untersucht. Die homogene Mischung mit einem Anteil von 1:3 CZZ: y-Al₂O₃ führte zu den besten Umsätzen. Bei dem 1:2 CZZ: Amberlyst Gemisch zeigte sich die beste DME-Selektivität, allerdings mit schlechtem CO₂ Umsatz. Da das entstehende Wasser in der Reaktion als Katalysatorgift wirkt, wurden weitere Versuche unternommen, bei

denen zusätzlich zu den Katalysatoren noch Molsieb 4 Å ins Reaktorbett gefüllt wurde. Es zeigte sich, dass zumindest am Anfang der Reaktion der CO₂ Umsatz dadurch erhöht werden konnte. Allerding setzte sich der Molsieb mit der Zeit mit Wasser zu. Er müsste durch einen Ausheiz-Schritt regeneriert werden um die anfängliche Performance wieder zu erlangen. Es zeigte sich auch, dass im Gegensatz zur reinen Methanolsynthese, der höchste CO₂-Umsatz bei der direkten DME-Synthese vorteilhafterweise bei höheren Temperaturen stattfindet (260-280°C). Dies verspricht einfachere Reaktionsführung und verhindert die Katalysator-Deaktivierung durch die Adsorption von Wasser.

AP 3.3 Verfahren zur Gasreinigung

Im Rahmen dieses Arbeitspakets wurden auf Basis der durchgeführten Gasanalyse mit der endgültigen Elektrolysezell-Konfiguration (siehe AP 3.1) geeignete Strategien zur Gasreinigung evaluiert. Aufgrund der geringen bzw. nicht vorhandenen H₂S-Konzentration (unter der Nachweisgrenze von 200 ppm (GC) und keine Schwefelquelle im Abwasser) in den Produktgasen der mikrobiellen Elektrolysezelle ist die Adsorption an Aktivkohle ein geeignetes und etabliertes Verfahren zur Gasreinigung, dass auch in klassischen Biogasanlagen zur Anwendung kommt. Die Kosten des Verfahrens wurden vom Projektpartner Fraunhofer ISE in der Wirtschaftlichkeitsbetrachtung mit berücksichtigt, und haben nur einen sehr geringen Einfluss auf die Wirtschaftlichkeit des BioMethanol-Konzepts (siehe auch die eingereichte Publikation [10]).

AP 3.4 Optimierung der heterogenen Katalysatoren auf Robustheit und Ausbeuteeffizienz

Mit Abschluss des APs 3.2 (Screeningstudie zur Ermittlung von geeigneten Katalysatorsystemen) standen drei geeignete neue Katalysatorsysteme (oxidisch, gasphasenfluoridiert-oxidisch, in wässriger HF-Lösung gefällt fluoridiert) für weitere Untersuchungen und Optimierungen zur Verfügung. Da hinsichtlich einer Optimierung der Katalysator-Robustheit noch kein Handeln notwendig war, wurden zunächst Versuche zur Steigerung der Ausbeuteeffizienz durchgeführt.

Als vielversprechender Ansatz wird hier wie schon früher ausgeführt die nachgelagerte Synthese von Dimethylether aus Methanol, was in einem Schritt simultan generiert wird, angesehen. Durch diese Reaktion wird Methanol permanent aus dem thermodynamischen Gleichgewicht entfernt und so der Umsatz von CO₂ und H₂ gesteigert.

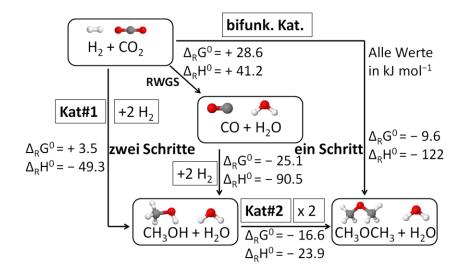


Abb. 17: Thermodynamik der Reaktion von H₂ und CO₂ zu DME. Links die Route über zwei Schritte und rechts die Einschrittsynthese.

Bei Voruntersuchungen von oxidischem Benchmark-Katalysator und der aziden Komponente y-Al₂O₃ kristallisierte sich heraus, dass die reine Lewis Säure nicht aktiv genug für die Dehydration des Methanols ist. Brønstedsäurezentren sind wesentlich azider als Lewissäurezentren, weshalb die Dehydration an diesen Zentren erheblich schneller ablaufen sollte. Für die Katalyse bräuchte es also eine feste Brønstedsäure. Da auch immer die Oberflächen eine wichtige Rolle in der Katalyse spielen, war die Imprägnierung eines oberflächenreichen Trägers mit einer Brønsted Säure der vielversprechendste Weg. Heteropolysäuren haben sehr starke Brønsted-azide Zentren und abhängig von dem Trägermaterial kann die Azidität in den Bereich der Super-Säuren kommen. Bei den folgenden Untersuchungen wurde deshalb die Heteropolysäure (HPA) Wolframatokieselsäure, mit ihrer typischen Keggins Struktur, und ein oberflächenreicher nanopartikulärer ZrO₂ Träger verwendet.

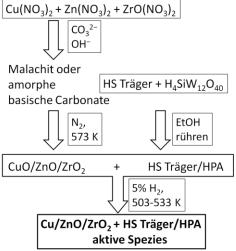


Abb. 18: Syntheseroute zum bifunktionellen Katalysator.

Zunächst wurde der Träger mit verschiedenen Beladungen der HPA imprägniert und danach in einem physikalischen 1:1-Gemisch mit dem Benchmark-Katalysator CZZ im Reaktor getestet. Es zeigte sich, dass bei höherer Säurebeladung (HPA) des azidischen Katalysators selektiver DME erzeugt wird.

Auch im Vergleich mit dem zuvor untersuchten gemischten y-Al₂O₃-System als azide Komponente verschieben sich die Selektivitäten zugunsten der DME-Produktion. Somit stellt das System HPA/ZrO₂ einen Weg zur selektiven DME Synthese aus CO₂ und H₂ dar.

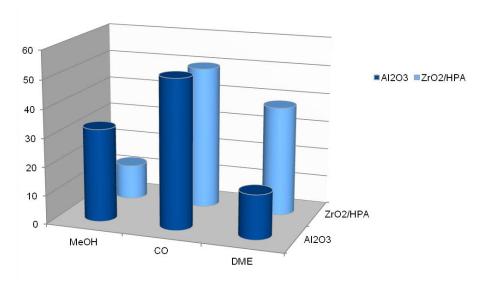


Abb. 19: Selektivitäten der Katalysatorgemische mit y-Al₂O₃ bzw. ZrO₂/HPA als azide Komponente.

Nachdem das ZrO₂/HPA System vielversprechende Ergebnisse erzielte, wurden das Trägermaterial und die Beladung variiert. Es wurde HS y-Al₂O₃ mit unterschiedlichen Mengen an Polysäure imprägniert und untersucht. In Tabelle 1 sind die Oberflächeneigenschaften der bifunktionellen Katalysatoren dargestellt. Je höher die Keggin Beladung auf dem Träger, desto kleiner wird die Oberfläche. So ist die Herausforderung die Träger so zu Beladen dass die Oberfläche azide genug wird, jedoch nicht zu viel an Oberfläche verloren geht. Da HS y-Al₂O₃ schon eine hohe Lewisazidität aufweist, war ein Ziel, den Träger so zu Beladen das Schlussendlich eine Kombination von Lewis und Brønsted Zentren auf der Oberfläche verbleiben (0,8 KU/nm² Abb. 20).

Die bifunktionellen Katalysatoren wurden mit verschiedenen Analysemethoden untersucht und im Katalyseteststand auf ihre Aktivität getestet. Durch SEM Aufnahmen und EDX konnte die Elementverteilung der Katalysatoren sichtbar gemacht werden (Abb. 21).

Tabelle 1: Oberflächeneigenschaften der bifunktionellen Katalysatoren.

Probe	SA _{lang} a)	PV ⁰)	MV ^{c)}	Cu <i>SA</i> ^{d)}	Keggin Beladung auf Träger
Tiobe	[m ² g ⁻¹]	[cm ³ g ⁻¹]	[cm ³ g ⁻¹]	$[m^2 g^{-1}]$	[KU nm ⁻²]
CZZ	90,79	0,2508	0,05	34,8	
ZrO_2	52,06	0,1916	0,03	-	
ZrO ₂ + HPA jb22	40,19	0,0662	0,02	-	4
CZZ + jb22	65,25	0,2803	0,03	17,4	
CZZ + jb22 aR	36,99	0,1398	0,02	17,8	
HS γ-Al ₂ O ₃	249,73	0,8133	0,19		
CZZ + HS γ-Al ₂ O ₃	165,08	0,5667	0,08	16	
HS γ - Al ₂ O ₃ + HPA jb21	182,1	0,3508	0,093		0,84
CZZ + jb21	? (ca 141)	?	?	17,4	

^{a)} SA = Surface Area (B.E.T.); ^{b)} PV = Pore Volume (B.J.H.) from p/p⁰ 0.30 to 0.95; ^{c)} MV = Micropore Volume (Horvath and Kawazoe) from p/p⁰ 0.00 to 0.35; ^{d)} CuSA = Surface Area of Copper (TPD).

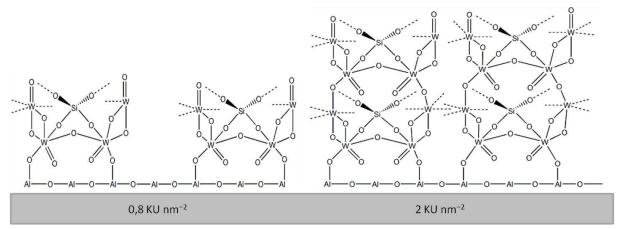


Abb. 20: Schematische Darstellung der Keggin Einheiten auf der Trägeroberfläche (HS y-Al₂O₃).

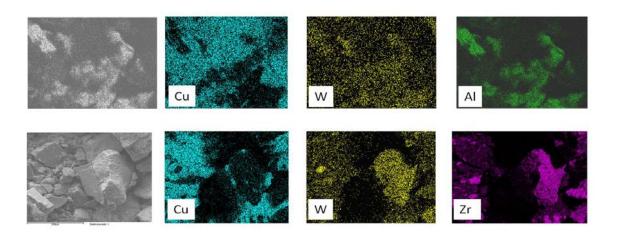


Abb. 21: SEM Aufnahmen und Mapping der Katalysatoren CZZ+JB21 (oben) und CZZ+JB22 (unten).

Die Verteilung der Komponenten ist sehr homogen, d.h. wo Kupfer ist, ist auch Wolfram. Dadurch ist sichergestellt dass die Methanolbildung und Dehydratisierung gleichzeitig ablaufen können aber die aktiven Zentren sich gegenseitig nicht deaktivieren. Diese örtliche Nähe der aktiven Zentren ist die für Reaktionsgeschwindigkeit und somit für die Effizienz wichtig. Allerdings ist der limitierende Faktor in dem System die Methanolbildung welche sehr viel langsamer abläuft als die Dehydratisierung.

Im IR Spektrum (Abb. 22) sind die charakteristischen Keggin Anion Schwingungen bei 1015, 976 und 907 cm⁻¹ zu sehen, welche auch nach der Reaktion noch vorhanden sind. Das bedeutet dass die Katalysatoren unter Reaktionsbedingungen stabil sind. Im Bereich von 1473 bis 1367 cm⁻¹ zeigen sich die charakteristischen Carbonatbanden des CZZ Katalysators. Diese werden nach der Reaktion schwächer da sich die Oberflächen Carbonate durch die Reduktion teilweise zersetzen.

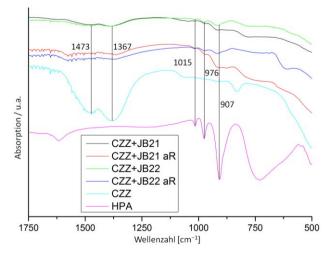


Abb. 22: IR Spektrum der bifunktionellen Katalysatoren vor und nach der Reaktion und den Einzelkomponenten.

Gerade das HS $\text{y-Al}_2\text{O}_3/\text{HPA}$ System mit der Beladung von 0,8 KU/nm² (CZZ + JB21) stach mit hoher Aktivität und Selektivität ohne Nebenproduktbildung heraus. In Tabelle 2 sind die Katalyseergebnisse der bifunktionellen Katalysatoren aufgelistet. (Diese Daten sind unter Vorbehalt angegeben. Eine erneute Überprüfung der Kalibrationswerte konnte in der Projektlaufzeit nicht mehr realisiert werden.) Im Vergleich zu den puren Methanol Katalysatoren sind die bifunktionellen Katalysatoren produktiver und bei hohen Temperaturen auch umsatzstärker.

Tabelle 2: Produktivität im Hinblick auf Methanol bzw. DME und Gesamtumsatz von CO_2 zu MeOH für verschiedene Katalysatoren und bei einer Gaszusammensetzung von 1 zu 1 (CO_2/H_2) oben und 1 zu 5 unten.

Produktivität CO2 Umsatz

	WHSV am Kat	250°C	230°C	210°C	250°C	230°C	210°C
CZZ 200	12480	8,48	8,94	7,53	9,96	9,14	6,31
CZZ 100	24848	15,12	14,59	11,74	9,1	7,76	5,55
CZZ + JB22	12436	20,15	16,68	11,76	11,07	6,7	3,88
CZZ + JB21	12350	24,19	19,18	10,96	15,29	9,57	4,91

Produktivität CO2 Umsatz

	WHSV am Kat	250°C	230°C	210°C	250°C	230°C	210°C
CZZ 200	12480	13,72	12,17	8,85	29	23	14
CZZ 100	24848	22,91	18,7	12,88	29,19	21,88	13,79
CZZ + JB22	12436	24,87	18,17	11,94	26,57	16,4	9,86
CZZ + JB21	12350	33,67	24,59	16,31	39,03	24,91	14,54

Die Ergebnisse, die in Tabelle 2 zusammengefasst sind, werden gegenwärtig zusammengeschrieben und sollen noch dieses Jahr in der Fachliteratur erscheinen. Zusätzlich sind Katalysatorgemische mit fluoridierten Komponenten synthetisiert, untersucht und getestet worden. Da der CZZ/F Methanolkatalysator schon in der Methanol Synthese bessere Selektivitäten und teilweise auch Aktivitäten zeigte, wurde dieser ebenfalls als Bestandteil der bifunktionellen Katalysatoren für die DME Synthese verwendet. Als azide Komponente wurde AIF₍₁₎O eingesetzt, das zuvor über eine Sol-Gel-Synthese dargestellt wurde und azider und damit wesentlich aktiver für die Dehydratisierung sein sollte als γ-Al₂O₃.

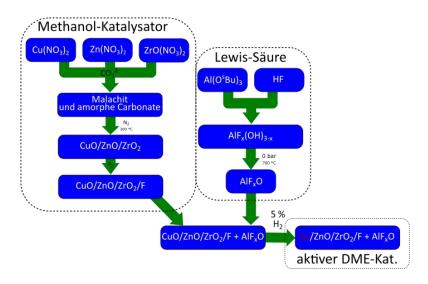


Abb. 23: Schematische Reaktionsroute des fluoridierten Methanol-Katalysators mit dem fluoridierten Aluminiumoxid (Cu/ZnO/ZrO₂/F + AlF_xO).

Die Katalysemessungen zeigten allerdings dass das AIF₍₁₎O unter Reaktionsbedingungen und in Verbindung mit dem CZZ keinerlei Azidität mehr zeigte und kein DME gebildet wurde. Allerdings wurde die Produktivität für Methanol erhöht was dafür Spricht dass das AIF₍₁₎O eine unterstützende Wirkung auf den CZZ Katalysator ausübt. Dazu sind weitere Untersuchungen geplant.

Insgesamt konnten wir im Rahmen dieses Projektes drei ausgezeichnete Methanol-Katalyse-Systeme etablieren, für Ihre Eignung testen und zum Teil schon publizieren. Im Rahmen der Wirtschaftlichkeitsuntersuchungen zeigte sich jedoch, dass für das Gesamtprojekt ein alternatives, höherpreisiges Reaktionsprodukt angestrebt werden sollte. Hier bot sich der Dimethylether an, der etwa den dreifachen Marktwert des Methanols erzielen kann und Weltweit inzwischen im großen einstelligen Millionentonnenmaßstab aus fossilem Methanol erzeugt wird. Im Projektverlauf haben wir dort zwei Generationen an bifunktionellen KatalysatorSystemen für die direkte Dimethyletherproduktion unterscuht. Orientierend konnten wir hier zeigen, dass dieser Ansatz sehr vielversprechend ist und die CO2 Umsätze zu einem zudem attraktiveren Produkt um bis zu 25 % zunehmen. Dies heißt, dass nicht nur die direkte Produkt-Ausbeute erhöht wird, sondern auch indirekt die Betriebs- und Investkosten durch eine um 25 % reduzierte Rezyklierung der nicht umgesetzten Reaktionsgase erheblich sinken.

Dies zeigt klar die Vorteile des Dimethylether-Moleküls als neuem Syntheseziel, welches aber noch einen erheblichen Forschungsbedarf, sowohl bezüglich der aktivsten Katalysator-Systeme, als auch der optimalen Prozessführung benötigt. Dies soll im nachfolgend beantragten BioDME Projekt erreicht werden.

Tabelle 3:Status der aktualisierten Meilensteinplanung und Gegenüberstellung mit den erreichten Zielen

Meilenstein	Zielvorgabe	Grad der Zielerreichung	
M1 (Monat 3)	Erste Analyse der in der Elektrolysezelle gebildeten Gase liegt vor	Meilenstein vollständig erreicht	
M3 (Monat 18)	Alle für die Konstruktion der Demonstrator-Elektrolysezelle notwendigen Materialien sind identifiziert, Fragen der Betriebsführung sind geklärt. Anvisiert ist eine Stromdichte der Elektrolysezelle von 5 A/m² bei einer Elektrolysespannung von 0.5 V	Meilenstein vollständig erreicht	
M5 (Monat 18)	Ein erstes störstofftolerantes Katalysatorsystem für den Betrieb mit H ₂ und CO ₂ aus der mikrobiellen Elektrolysezelle ist verfügbar. Gegebenenfalls Entscheidung über vorgeschaltete Gasreinigung.	Meilenstein vollständig erreicht	
M6 (Monat 39)	Designstudie ist abgeschlossen. Ein abgeleitetes Demonstrator-System (H ₂ - Produktion > 1L/h) für den Langzeitversuch ist verfügbar	Meilenstein konnte nur teilweise erreicht werden. Zwar ist ein entsprechendes Demonstratordesign verfügbar, allerdings konnten die notwendige Stromdichte nicht erreicht werden (siehe AP 4.2)	
M7 (Monat 45)	Ein neues robustes und optimiertes Benchmark-Katalysatorsystem für die Methanolsynthese ist verfügbar	Meilenstein vollständig erreicht	
M8 (Monat 45)	Projektende, der Betrieb einer mikrobiellen Elektrolysezelle wurde charakterisiert, die Wirtschaftlichkeitsbetrachtung und Ökobilanzierung des Gesamtkonzepts ist abgeschlossen	Meilenstein überwiegend erreicht. Statt der Demonstrationsanlage konnten die in der mikrobiellen Elektrolysezelle gebildeten Gase nur in einer DRIFT-Zelle charakterisiert werden (siehe AP 4.2 & AP 3.1). Wirtschaftlichkeitsbetrachtung und Ökobilanzierung konnten in Zusammenarbeit mit dem Projektpartner Fraunhofer ISE abgeschlossen werden.	

2. Wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Tabelle 4 zeigt die Positionen des zahlenmäßigen Nachweises. Der mit Abstand größte Posten sind die verwendeten Personalmittel. Diese waren nötig um die erforderlichen Forschungs- und Entwicklungsarbeiten innerhalb des Projekts erfolgreich durchzuführen. Die Mittel wurden zum größten Teil für die Finanzierung von wissenschaftlichen Mitarbeitern eingesetzt. Die Investitionsmittel umfassen im Wesentlichen einen Katalysatorenteststand sowie 8 Potentiostaten.

Tabelle 4: Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises.

	Position	Kosten
#1	Personalkosten	588.608,51 €
#2	Investitionskosten	236.428,78 €
#3	Verbrauchsmaterial	98.403,61 €
#4	Dienstreisen	15.486,94 €

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Sowohl mit der Entwicklung der mit saurem Industrieabwasser betriebenen mikrobiellen Elektrolysezelle als auch mit der Entwicklung neuer Katalysatoren für die Methanol- und DME- wurden vielversprechende Fortschritte und für die praktische Umsetzung des Konzepts außerordentlich wichtige neue Erkenntnisse erzielt. Die Entwicklung der mikrobiellen Elektrolysezelle bildet zusammen mit der entwickelten Inokulationsprozedur Projektpartner KIT und Projektpartner Fraunhofer ISE durchgeführten ökonomischen- und ökologischen Evaluation die Grundlage hin zur praktischen Erprobung der Technologie im Rahmen einer Pilotanlage. Ebenso sind die neu entwickelten Katalysatoren für die Methanolbzw. DME-Synthese ein wichtiger Baustein um in zukünftigen Entwicklungsprojekten die Effizienz und Rentabilität des Gesamtprozesses zu steigern. Die durchgeführten Forschungsarbeiten sind in Hinblick auf die erzielten Ergebnisse als angemessen zu und wären nur aus Mitteln der zur Verfügung Grundfinanzierung nicht zu leisten gewesen. Das Vorhaben bildete darüber hinaus die Grundlage für eine Reihe von Folgeprojekten der Projektpartner, die unter Punkt 4. näher ausgeführt sind.

4. Verwertbarkeit des Ergebnisses

Die Verwertbarkeit der Projektergebnisse ist als sehr gut zu bewerten. So sind aus den Projektarbeiten eine Reihe wissenschaftlichen Erkenntnissen von hervorgegangen, die in insgesamt sechs begutachteten Fachartikeln, acht Konferenzbeiträgen und einem Buchkapitel veröffentlicht wurden Veröffentlichung vorbereitet werden. Aus wissenschaftlicher Sicht besonders hervorzuheben die Entwicklung kostengünstigen ist einer Kathode Wasserstoffproduktion aus Industrieabwasser auf Basis von MoS₂, die in ihrer

Leistungsfähigkeit kommerziellen Platinelektroden übertrifft. Diese Technologie ist für eine ganze Reihe von laufenden und zukünftigen Forschungsprojekten der AG Kerzenmacher relevant.

Auch die Methanol-Synthese hat zu erheblichem Erkenntnisgewinn der untersuchten drei Methanol-Katalyse-Systeme geführt, die zum einen publiziert und patentiert wurden, zum anderen aber auch direkt in anderen großen Projekten, wie Z.B. dem Carbon2Chem-Projekt verwendet werden: Hier haben wir als Unterauftrag einen großen Batch unseres optimierten CZZ Benchmark-Katalysator hergestellt, der aktuell für diese Zwecke getestet wird. Wir erwarten von den demnächst publizierten Untersuchungen zur optimierten direkten Dimethylether-Synthese zumindest vergleichbares Interesse. Mit dem Katalysatorhersteller Clariant sind wir dazu in gutem Austausch.

Die sehr gute Verwertbarkeit der mit Hilfe des Projekts erzielten Ergebnisse ist auch an den bislang insgesamt sechs *Nachfolgeprojekten ersichtlich*, von denen drei bereits bewilligt wurden. Diese sind im Folgenden aufgeführt:

Von der AG Kerzenmacher akquirierte Projekte

Bewilligte Nachfolgeprojekte

- "RECICL Entwicklung von Kaskadenreaktoren zur Umsetzung biogener Abfallströme in Wasserstoff und Propionat".
 - BMBF-Förderrichtlinie "Maßgeschneiderte biobasierte Inhaltsstoffe für eine wettbewerbsfähige Bioökonomie", Laufzeit: 2017 – 2020
 - o Partner: KIT, Fraunhofer ISE
- "BioEC-Reaktor Fest- und Wirbelbettreaktoren für elektrobiotechnologische Anwendungen" (Projektantrag bewilligt)
 - o Partner: DECHEMA Forschungsinstitut

Geplante Nachfolgeprojekte

- "Combining wastewater treatment and CO₂ reduction to platform chemicals"
 - Kooperationsprojekt zusammen mit Fraunhofer ISE und internationalen Partnern, Projektantrag in Überarbeitung
- "Hochskalierung und wirtschaftliche sowie ökologische Optimierung des Gesamtprozesses BioMethanol"
 - Kooperationsprojekt der BioMethanol-Partner, Projektantrag in Vorbereitung

Von der AG Krossing akquirierte Projekte

Bewilligte Nachfolgeprojekte

- "Die Hydrogenierung von CO₂ zu Flüssigkraftstoffen als Basistechnologie für die Chemische Speicherung fluktuierender Erneuerbarer Energien."
 - Pilotprojekt HyCO₂ im Rahmen des Leistungszentrums Nachhaltigkeit. Aus diesem Projekt wurde die DRIFT Anlage beschafft und aufgebaut.
 - Vier Partner aus der Universität Freiburg und den Fraunhofer-Instituten ISE und IWM (ALU: Prof. Hillebrecht, Prof. Krossing, ISE: Dr. Schaadt, IWM: Prof. Moseler).

Geplante Nachfolgeprojekte

- "Hochskalierung und wirtschaftliche sowie ökologische Optimierung des Gesamtprozesses BioMethanol"
 - Kooperationsprojekt der BioMethanol-Partner (in Vorbereitung)

5. Bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Es sind keine von dritter Stelle veröffentlichten direkt relevanten Fortschritte bekannt.

6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen im Rahmen des Projekts

Veröffentlichte oder eingereichte Publikationen und Vorträge

- S. Kerzenmacher: *Bioelectrochemical Systems Electricity and Fine Chemicals from Biomass Resources.* Vortrag u.a. mit Vorstellung des Projekts BioMethanol beim *Sustainability Summit* 2014 in Freiburg.
- E. Frei, A. Schaadt, T. Ludwig, H. Hillebrecht, I. Krossing: *The Influence of the Precipitation/Ageing Temperature on a Cu/ZnO/ZrO₂ Catalyst for Methanol Synthesis from H₂ and CO₂. ChemCatChem 6, 2014, 1721–1730.*
- M. Kokko, F. Bayerköhler, R. Zengerle, Ph. Kurz, S. Kerzenmacher: *Molybdenum sulfide as catalyst for hydrogen evolution in microbial electrolysis cell*. The 5th International Meeting on Microbial Electrochemistry and Technologies, 1-4.10.2015, Arizona, USA.
- Projektblatt "BioMethanol Nachhaltige Synthese des Energieträgers Methanol aus Abwasser", 2015 herausgegeben vom BMBF.

- F. Bayerköhler, M. Kokko, S. Kerzenmacher, Ph. Kurz: *MoS₂ on carbon supports as electro-catalysts for hydrogen evolution.* Abstract in the 1st International Solar Fuel conference, 26.4.-1.5.2015, Uppsala, Sweden.
- Dunia Abed el Hafez: Influence of different separators on the performance of microbial electrolysis cells. Bachelorarbeit an der Universität Freiburg, 2016.
- Veronika Vazhnik: Increasing current production in microbial electrolysis cells by adding granular activated carbon to the anode. Bachelorarbeit an der Universität Freiburg, 2016.
- F. Bayerköhler, M. Kokko, G. Stebens, V. Drayer, S. Kerzenmacher, Ph. Kurz: *MoS*₂ *as an electrocatalyst for the hydrogen evolution reaction in acidic electrolytes*. Renewable Energy: Solar Fuels, Lucca, Italy, 2016.
- Vorstellung des Projekt im Rahmen eines Vortrags u.a. vor Industrievertretern: M. Kokko: *Electrofermentation and steps required before commercialization*.
 IBC (Industrial Biotechnology Cluster) Finland Annual Seminar 2016, 17.3.2016, Espoo, Finland.
- M. Kokko, F. Bayerköhler, S. Kerzenmacher, Ph. Kurz: Molybdenum sulphide as electrocatalyst for hydrogen evolution from industrial wastewaters rich in acetic acidic. Umeå Renewable Energy Meeting, Umeå, Sweden, 2016.
- M. Kokko, V. Vazhnik, S. Kerzenmacher: Granular activated carbon improves current densities and COD removal at microbial anodes treating industrial wastewater. 13th IWA Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies, Jerez de la Frontera, Spain, 2016.
- M. Kokko, F. Bayerköhler, R. Zengerle, Ph. Kurz, S. Kerzenmacher: Molybdenum sulphides on carbon supports as electrocatalysts for hydrogen evolution in acidic industrial wastewater. Applied Energy 190, 2017, 1221-1233.
- D. Himmel, R. J. White, E. Jacob, I. Krossing: *Highly Correlated Ab Initio Thermodynamics of Oxymethylene Dimethyl Ethers (OME): Formation and Extension to the Liquid Phase*. *Sustainable Energy & Fuels* 1, 2017, 1177-1183.
- L. Gil-Carrera, S. Epple, J. Gescher, S. Kerzenmacher: A novel inoculation and adaptation procedure to imp rove the performance of microbial anodes operated with complex industrial wastewater. Vortrag beim XXIV International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 3-7 July, 2017, Lyon, France.
- S. Kerzenmacher: *Bio-Brennstoffzellen und mikrobielle Bioelektrotechnologie.* Vortrag u.a. mit Vorstellung des Projekts BioMethanol beim *Cluster Brennstoffzelle BW* am 14.12.2017 in Kirchheim unter Teck.

- M. Kokko, S. Epple, R. Zengerle, J. Gescher, S. Kerzenmacher: Effects of wastewater constituents and operational conditions on the composition and dynamics of anodic microbial communities in bioelectrochemical systems. Bioresource Technology 258, 2018, 376-389.
- S. Kerzenmacher, J. Gescher, I. Krossing, A. Schaadt: *Mikrobielle Elektrolysezellen energieeffiziente Abwasserreinigung bei gleichzeitiger Gewinnung von Energieträgern*. Korrespondenz Abwasser, Abfall (65) Nr. 3, 2018.
- J. Streeck, C. Hank, M. Neuner, L. Gil-Carrera, M. Kokko, S. Pauliuk, A. Schaadt, S. Kerzenmacher, R. J. White: Bio-electrochemical Conversion of Industrial Wastewater combined with downstream Methanol Synthesis Economicand Life Cycle Assessment. Green Chemistry 20, 2018, 2742-2762.
- S. Kerzenmacher: *Elektrobiotechnologie Konzepte und Systemaspekte.*Vortrag u.a. mit Vorstellung des Projekts BioMethanol beim *Workshop zu bioelektrochemischen Brennstoffzellen* des UM Baden-Württemberg am 5.2.2018 in Stuttgart.
- T. Reichenbach, K. Mondal, M. Jäger, T. Vent-Schmidt, D. Himmel, V. Dybbert, A. Bruix, I. Krossing, M. Walter, M. Moseler: *Ab-initio study of CO₂ hydrogenation mechanisms on inverse ZnO/Cu catalysts. J. Catal.* 360, 2018, 168-174.
- M. Kokko, S. Kerzenmacher: *Biological hydrogen production*. In A. Hauer et al. (Eds.): *The Energy Storage Handbook*, John Wiley & Sons Limited, Chichester. Manuskript angenommen/ im Druck.

Publikationen in Vorbereitung:

- S. Epple, S. Kerzenmacher, J. Gescher: Microbiological optimization of bioelectrochemical systems. A case study from industrial waste water. Manuskript in Vorbereitung.
- J. Beck, I. Krossing: **Selective single-step DME synthesis from CO2: New catalysts for low temperature applications.** Manuskript in Vorbereitung.

Erfindungen und Patente

Keine

Referenzen

- [1] A.Escapa, X.Gómez, B.Tartakovsky, A.Morán: *Estimating microbial electrolysis cell (MEC) investment costs in wastewater treatment plants: Case study.* Int. J. Hydrogen Energy, 2012, 37(24), 18641–18653.
- [2] J. M. Foley, R. A. Rozendal, C. K. Hertle, P. A. Lant, K. Rabaey: *Life Cycle Assessment of High-Rate Anaerobic Treatment, Microbial Fuel Cells, and Microbial Electrolysis Cells*. Environ. Sci. Technol., 2010, 44(9), 3629–3637.
- [3] N. Schmitz: *ISCC Certification Schemes for CO₂ based chemicals and fuels.* 2nd Conference on CO₂ as Feedstock for Chemistry and Polymers, 7. Oktober 2013, Essen. Vgl.: http://www.co2-chemistry.eu/co2_2013/programme
- [4] M. Behrens, F. Studt, I. Kasatkin, S. Kuehl, M. Haevecker, F. Abild-Pedersen, S. Zander, F. Girgsdies, P. Kurr, B.-L. Kniep M. Tovar, R. W. Fischer, J. K. Norskov, R. Schlögl: *The active site of methanol synthesis over Cu/ZnO/Al2O3 industrial catalysts*. Science, 2012, 336, 893–897.
- [5] M. B. Fichtl, D. Schlereth, N. Jacobsen, I. Kasatkin, J. Schumann, M. Behrens, R. Schlögl, O. Hinrichsen: *Kinetics of deactivation on Cu/ZnO/Al2O3 methanol synthesis catalysts*. Applied Catalysis A General, 2015, 502, 262–270.
- [6] M. Kokko, F. Bayerköhler, J. Erben, R. Zengerle, Ph. Kurz, S. Kerzenmacher: *Molybdenum sulphides on carbon supports as electrocatalysts for hydrogen evolution in acidic industrial wastewater*. Appl. Energy, 2012, 190, 1221-1233.
- [7] M. Kokko et al.: *Molybdenum sulfide as catalyst for H*₂ evolution in microbial electrolysis cells. ISMET 2015 5th International Meeting on Microbial Electrochemistry and Technologies, Tempe, Arizona.
- [8] M. Kokko, V. Vazhnik, S. Kerzenmacher: *Granular activated carbon improves current densities and COD removal at microbial anodes treating industrial wastewater.* 13th IWA Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies, Jerez de la Frontera, Spain, 2016.
- [9] E. Frei, A. Schaadt, T. Ludwig, H. Hillebrecht, I. Krossing: *The Influence of the Precipitation/Ageing Temperature on a Cu/ZnO/ZrO*₂ *Catalyst for Methanol Synthesis from H*₂ *and CO*₂. ChemCatChem, 2014, 6, 1721–1730.
- [10] J. Streeck et al.: Bio-electrochemical conversion of industrial wastewater-COD combined with downstream methanol synthesis an economic and life cycle assessment. Green Chem., 2018, 20, 2742-2762.



FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR SOLARE ENERGIESYSTEME ISE



BIOMETHANOL: NACHHALTIGE SYNTEHSE DES ENERGIETRÄGERS METHANOL AUS ABWASSER

Schlussbericht des ERWAS-Forschungsvorhabens mit dem

Förderkennzeichen 02WER1314B

Laufzeit: 1. April 2014 bis 31. März 2017

Projektleiter: Dr.-Ing. Achim Schaadt

Fraunhofer-Institut für Solare Energiesysteme ISE

Heidenhofstraße 2

79110 Freiburg

Tel.: (0761) 4588-5428

E-Mail: achim.schaadt@ise.fraunhofer.de

Bundesministerium für Bildung und Forschung

Inhalt

I Kurze Darstellung	3
I.1 Aufgabenstellung des Projekts	3
I.2 Voraussetzungen	3
I.3 Planung und Ablauf des Vorhabens	4
I.4 Wissenschaftlicher Stand zu Beginn des Vorhabens	4
I.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen	5
II Eingehende Darstellung	6
II.1 Ergebnisse	6
II.2 Verwertung der Ergebnisse	19
II.2.1 Schutzrechtsanmeldungen und deren Verwertung	19
II.2.2 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende	19
II.2.3 Wissenschaftliche technische Erfolgsaussichten	19
II.3 Fortschritte bei anderen Arbeitsgruppen	20
II.4 Veröffentlichungen aus dem Projekt	21
Literaturverzeichnis	22

Kurze Darstellung

L Kurze Darstellung

1.1

Aufgabenstellung des Projekts

Das Gesamtziel des Verbundhabens BioMethanol ist die Entwicklung eines neuen biologisch-chemischen Prozesses zur Nutzung von Abwässern zur nachhaltigen Synthese von Methanol. Auf Basis der Technologieentwicklung der Verbundprojektpartner IMTEK (Sven Kerzenmacher, Projektkoordinator), KIT (Prof. Johannes Gescher), Universität Freiburg (Prof. Ingo Krossing), Rodia Acetow GmbH (Dirk Hölter), sowie der assoziierten Partner Badenova AG & Co. KG (Peter Majer) und Abwasserzweckverband Staufener Bucht (Michael Hacker) war die Aufgabe des Fraunhofer ISE eine fundierte technische sowie ökologische und ökologische Bewertung des Gesamtkonzepts vornehmen. Die Arbeiten des Fraunhofer ISE sind im Arbeitsschwerpunkt 5 "Evaluation des Technologiepotentials" angesiedelt. Der Arbeitsschwerpunkt 5 unterteilt sich in folgende Arbeitspakete (AP):

- AP 5.1: Definition der Stoffströme und relevanter Parameter verschiedener Prozessvarianten
- AP 5.2: Bewertung verschiedener Prozessvarianten
- AP 5.3: Wirtschaftlichkeit und Evaluation des Scale-up
- AP 5.4: Ökobilanzierung des Gesamtsystems
- AP 5.5: Update der Evaluation

1.2

Voraussetzungen

Das Fraunhofer ISE beschäftigt sich seit mehr als 15 Jahren mit der thermo- und elektrochemischen Erzeugung von Wasserstoff. Es kann auf eine große Expertise auf den Gebieten Prozessentwicklung/Anlagenbau/Gasreinigung und Modellierung zurückblicken. Während in der Vergangenheit die Reformierung u. a. von Methanol untersucht wurde, stand ab 2012 im Zusammenhang mit der Speicherung von Wasserstoff und der Gewinnung von flüssigen Energieträgern die Methanolsynthese aus CO₂ und H₂, d. h. die Umkehrreaktion der Methanolreformierung im Fokus. Beispielhaft kann das DBU-Projekt "MethaKats" angeführt werden, das zusammen mit der Universität Freiburg durchgeführt wurde. Dort war das Ziel, heterogene Katalysatoren für die Methanolsynthese aus CO₂ und H₂ zu entwickeln, die eine hohe Toleranz gegenüber Verunreinigungen und gleichzeitig eine hohe Aktivität aufweisen. Der Beitrag des Fraunhofer ISE bestand darin, eine Laboranlage für die Methanolsynthese zu planen, aufzubauen und zu testen. Gleichzeitig wurde das Global Warming Potential (GWP) dieses Prozesses in "MethaKats" untersucht.

Kurze Darstellung

1.3

Planung und Ablauf des Vorhabens

Übergeordnetes Ziel unseres Arbeitsschwerpunktes war die projektbegleitende Bewertung des Technologiepotentials des Gesamtkonzepts BioMethanol unter Berücksichtigung ökologischer und ökonomischer Gesichtspunkte. Die Grundlage zur Umsetzung des Arbeitsschwerpunkts bildete ein Fragenkatalog an die Projektpartner. In diesem wurden benötigte Informationen zu Stoff- und Energieströmen, Materialparametern, mikrobiotischen Eigenschaften und speziellen Prozessabläufen gezielt erfragt und festgehalten. Parallel hierzu erfolgte eine umfassende Literaturrecherche zu den Themen "Mikrobielle Elektrolyse" und "Mikrobielle Brennstoffzelle". Die Literaturrecherche bildete dann die Basis für eine MEZ (Mikrobielle Elektrolysezelle)-Kennwerttabelle in der die verschiedenen Parameter und Variablen dokumentiert und miteinander verglichen werden konnten. Um eine ganzheitliche Bewertung durchzuführen, war es zunächst notwendig, verschiedene Anlagenkonzepte zu entwickeln, die in Form von Verfahrensfließbildern dargestellt wurden. Für das favorisierte Konzept wurde anschließend sowohl eine Wirtschaftlichkeitsbetrachtung als auch eine Ökobilanzierung (Life-Cycle-Assessment) durchgeführt. Zu Beginn des Projekts waren die Daten erwartungsgemäß noch nicht sehr belastbar, weshalb sehr viele Annahmen und grobe Abschätzungen getroffen werden mussten. Unterstützend wurde für die LCA die Software Umberto® Next Universal beschafft, die auf die Datenbank ecoinvent® zurückgreift. Im letzten Projektjahr wurde dieser Evaluationsprozess vor dem Hintergrund der erzielten Projektergebnisse erneut durchlaufen.

I.4Wissenschaftlicher Stand zu Beginn des Vorhabens

Die Entfernung der organischen Kohlenstofffracht in Kläranlagen erfolgt bisher durch bakteriellen Abbau in einer aeroben Reinigungsstufe. Dieser Schritt erfordert den beträchtlichen Einsatz von elektrischer Energie (5-8 kW pro 10.000 Einwohner, Sievers et al. 2010), um die Oxidation der organischen Kohlenstoffverbindungen zu CO₂ zu ermöglichen. Die energetische Verwertung der im Abwasser enthaltenen Energie betrachtete nur die anaerobe Vergärung des Klärschlamms zu methanreichem Faulgas. Die Mikrobielle Elektrolyse ist, im Vergleich zur Mikrobiellen Brennstoffzelle, ein eher neuer Vertreter der Bioelektrochemischen Systeme (BES). Erste Schritte können auf Liu et al. zurückgeführt werden, der 2005 die Produktion von Wasserstoff in einer Mikrobiellen Elektrolyse-Zelle (MEZ) nachweisen konnte (Liu et al. 2005; Escapa et al. 2012a). Eine mikrobielle Elektrolyse größeren Maßstabs (~ 1000 L) wurde zum Zeitpunkt des Projektbeginns nur mit dem Abwasser eines kalifornischen Weinguts betrieben. Allerdings wurde deutlich, dass in der realisierten Zellkonfiguration ohne lonentauscher-Membran statt des angestrebten Wasserstoffs hauptsächlich Methan durch bakterielle Methanogenese gebildet wurde (Cusick et al.).

L Kurze Darstellung

1.5

Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Im Rahmen der Evaluation des Technologiepotentials in AP 5 wurde primär mit dem Institut für Mikrosystemtechnik, Universität Freiburg um Dr. Sven Kerzenmacher zusammengearbeitet. Dabei gab es intensiven, bilateralen Austausch zur Konstruktion und Performance der MEZ sowie der generellen System-Konfiguration und insbesondere zu folgenden Themen:

- Zellaufbau & verwendete Materialien
- Polarisationskurve
- Parameter der CSB-Reduktion, Coulomb-Effizienz, Kathodische-Konversions-Effizienz

Darüber hinaus wurden im Rahmen der halbjährlichen Statustreffen, bilateraler Treffen sowie in Telefonate Daten zu verschiedenen Aspekten des Vorhabens von den anderen Projektpartnern aufgenommen. Im Vordergrund standen besonders:

- Daten zur Leistungsfähigkeit des Katalysators
- Mikroorganismen-Wachstum
- Vergleichsdaten zur konventionellen Abwasserbehandlung

П

Eingehende Darstellung

II.1 Ergebnisse

Die Grundlage zur Umsetzung des Arbeitspaketes 5.1 ("Definition der Stoffströme und relevanter Parameter verschiedener Prozessvarianten") bildete ein Fragenkatalog an die Projektpartner. In diesem wurden benötigte Informationen zu Stoff- und Energieströmen, Materialparametern, mikrobiotischen Eigenschaften und speziellen Prozessabläufen gezielt erfragt und festgehalten. Parallel hierzu erfolgte eine umfassende Literaturrecherche zu den Themen "Mikrobielle Elektrolyse-" und "Mikrobielle Brennstoffzelle". Die Literaturrecherche bildete die Basis für eine MEZ-Kennwerttabelle in der die verschiedenen Parameter und Variablen dokumentiert und miteinander verglichen werden konnten. Aufbauend auf dieser Kennwerttabelle und dem Fragenkatalog wurde ein morphologischer Kasten erstellt. In Bezug auf das Projekt BioMethanol kann das Projektziel, die nachhaltige Erzeugung von Methanol mithilfe mikrobieller Elektrolyse, durch verschieden aufgebaute MEZ-Systeme erreicht werden. Diese Systeme wurden in dem Morpholgischen Kasten schrittweise durchdacht, entwickelt und miteinander verglichen. In Zusammenarbeit mit den Projektpartnern wurden diese Systementwürfe auf deren theoretisch mögliche Wasserstoffausbeute und Reinigungsleistung hin untersucht. Eine Übersicht zu dem methodischen Vorgehen im AP 5.1 bietet Abb. 01

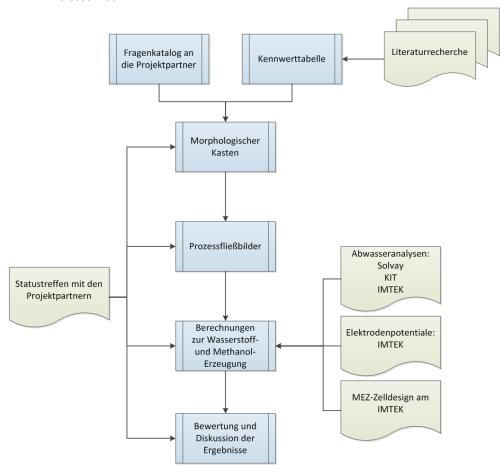


Abb. 01 Methodisches Vorgehen zur Prozessevaluation in AP 5.1

Die Mikrobiellen Elektrolysezellen (MEZ), im Stackdesign miteinander verschaltet (Abb. 02), werden hierbei durch (I) eine externe Spannungsquelle (vorzugsweise Regenerativstrom) oder (II) durch eine Mikrobielle Brennstoffzelle (MBZ) versorgt. Die Auslegung erfolgt auf Umgebungsdruck, dem MEZ-System ist somit eine H₂-Kompression nachgeschaltet, um den Wasserstoff auf den für die Methanolsynthese benötigten Druck von mehr als 30 bar zu erhöhen.

II
Eingehende Darstellung

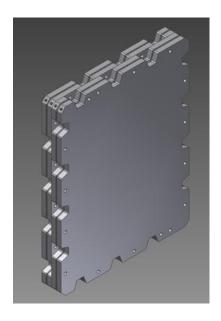
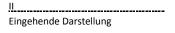


Abb. 02 Stackdesign zweier MEZ-Einheiten

Der Abwasserstrom der Rhodia Acetow GmbH bietet sich aufgrund der inhaltlichen Zusammensetzung, des konstanten Volumenstroms sowie gleichbleibender Temperatur für das System BioMethanol an. Für eine erste Evaluation orientierte man sich an den Zellmaßen der Testzellen am IMTEK (380 mm x 250 mm x 20 mm) sowie einer angenommenen hydraulischen Aufenthaltsdauer (HRT) von sechs Stunden. Auf Basis dieser Systemwerte ergaben sich erste aussagekräftige Berechnungsergebnisse. Zunächst wurde die Stromdichte-Potential-Charakteristik der Mikrobiellen Elektrolysezelle auf Basis von den am IMTEK verfügbaren tatsächlichen Messwerten für die Kathode sowie projizierten Werten für die Anode abgeschätzt. In Absprache mit dem Projektpartner IMTEK legte man den in diesem frühen Forschungsstadium realisierbar erscheinenden Betriebspunkt der Mikrobiellen Elektrolysezelle zu -0,3 Volt bei einer Stromdichte von 0,38 mA/cm² fest.

Eine wichtige Erkenntnis des Arbeitspaketes 5.1 war der limitierende Faktor der Anode. Die bisher erreichten Stromdichten waren noch zu gering. Eine Steigerung der Stromdichten würde es ermöglichen, die Größe des Gesamtsystems und somit die Investitionskosten stark zu verringern. Dieses Ziel wurde explizit den Projektpartnern IMTEK und KIT für die Arbeitsschwerpunkte 1 und 2 mit auf den Weg gegeben. Mit einem stark verkleinerten Systemvolumen ließe sich möglicherweise auch wieder ein unter Druck betriebenes System realisieren. Hierdurch könnte die nachfolgende Wasserstoffkompression eingespart werden.

Im Arbeitspaket 5.2 wurden auf Basis des vorhergehenden Arbeitspaketes (5.1 "Definition der Stoffströme und relevanter Parameter") verschiedene Verfahrensvarianten analysiert. Die in AP 5.1 verwendete Zellkonfiguration (Stackdesign) wurde dazu unverändert für die folgenden Betrachtungen herangezogen. Zur Ermittlung der Energiebedarfe und Reinigungsleistung der mikrobellen Elektrolyse wurden jedoch in Absprache mit dem IMTEK an den aktuellen Stand der dortigen



Forschung angepasste Betriebsparameter verwendet. Diese Betriebsparameter wurden in das in AP 5.1 erstellte Berechnungsmodell eingepflegt.

Die Kompression der Produktgase, Kohlenstoffdioxid sowie Wasserstoff, und die Methanolsynthese wurden mit dem Prozesssimulationsprogramm CHEMCAD® simuliert. Verschiedene Varianten der Energieversorgung des Systems wurden zum Vergleich herangezogen und nach ökonomischen Gesichtspunkten bewertet.

Die Basis der ökonomischen Bewertungen stellt eine Recherche von Anschaffungspreisen kostenrelevanter Komponenten der verschiedenen Varianten dar. Dazu wurde eine Recherche zu verschiedenen Szenarien der Energiemarkt-Preisentwicklung sowie der möglichen Entwicklung der Methanolverkaufspreise durchgeführt. Ebenso wurden mögliche Einsparungen von Abwasserabgaben durch eine Vorreinigung des Abwassers in den MEC berücksichtigt. Für die Betrachtungen wurde weiterhin der Abwasserstrom der Rhodia Acetow GmbH herangezogen. Der angenommene CSB-Umsatz wurde von 50 auf 60 % erhöht. Dieser Wert repräsentiert einen realistischen, in der Literatur oft erreichten Wert.

Bei der Wirtschaftlichkeit des Gesamtsystems BioMethanol bei Anwendung im industriellen Maßstab (AP5.3) wurden als kostentreibende Komponenten die MEA-Fläche ("Membrane Electrode Assembly") sowie der Zukauf von CO₂ identifiziert. Die hohen Kosten für die MEA haben Auswirkungen auf die Betriebskosten (Austausch nach 10 Jahren) und die Investitionssumme wobei die Membrankosten bis zu 50 % der Gesamtinvestition ausmachen. Die Menge an gewonnenem CO₂ ist stark abhängig vom pH-Wert des Abwassers, da die CO₂-Löslichkeit in Wasser mit zunehmendem pH-Wert ansteigt.

Ziel des Verbundprojekts BioMethanol in AP5 war die projektbegleitende Evaluation des Technologiepotenzials. Dazu wurden zunächst verschiedene Konfigurations- & Betriebsvarianten definiert und ökonomisch, sowie im Rahmen ihrer CO₂-Bilanz, evaluiert:

- 1. Strom-Versorgung mit deutschem Netzstrom
- 2. Strom-Versorgung durch netzunabhängiges Photovoltaik (PV)-Inselsystem
- 3. Strom-Versorgung durch Polymer-Elektrolyt-Membran-Brennstoffzelle
- 4. Strom-Versorgung mit zertifiziertem Grünstrom (70 % Wasser-, 30 %Windkraft)
- 5. Strom-Versorgung durch netzgekoppeltes PV-System (30 % Versorgungsanteil)

Die Varianten 1-3 stellten sich in einer Anfangs-Evaluation als wirtschaftlich nicht vielversprechend heraus, weswegen sich das Update der Evaluation in AP5.5 auf die Varianten 4-5 konzentrierte. Dazu wurde ein abschließendes Kernkonzept des BioMethanol-Prozesses erstellt (Abb. 03).

II .
Eingehende Darstellung

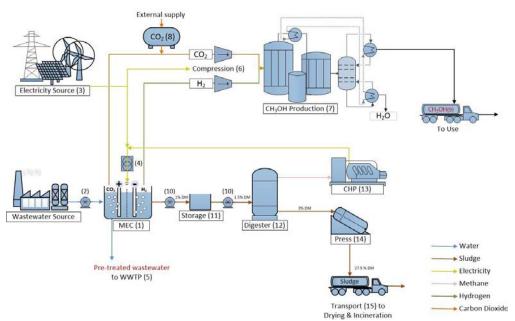


Abb. 03 Grafische Darstellung des BioMethanol-Systems

Anhand dieses Systems wurden abschließend die wirtschaftliche und ökologische Leistungsfähigkeit des Systems anhand verschiedener Szenarien untersucht. Alle Annahmen zur MEZ wurden in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Dr. Kerzenmacher festgelegt. Die CHEMCAD®-Simulation beruhte auf am Fraunhofer ISE vorhandene Modelle zur Methanolsynthese von CO₂, die im Zuge des BioMethanols-Projekts modifiziert wurden. Folgende Berechnungen sind erfolgt:

- Die benötigte Größe der MEZ als Kernkomponente des Systems wurde anhand der gewünschten CSB-Reduktion von 60 % und der angenommen, erreichbaren Stromdichte von 1 mA/cm² anhand der gängigen Gleichungen ausgelegt.
- Der Strombedarf der MEZ wurde durch den vorher berechneten Stromfluss und anhand einer Polarisationskurve ermittelt.
- Die Gasproduktion an Anode (CO₂) und Kathode (H₂) konnte durch die Stöchiometrie der Reaktionen an den Elektroden, sowie Coulomb- (40 %) und kathodischer Konversions-Effizienz (90 %) berechnet werden.
- Durch eine Gleichgewichts-Simulation in CHEMCAD® wurde anhand der in der MEZ gebildeten H₂-Menge die benötigte Menge an CO₂ sowie gebildete Menge an Methanol (CH₃OH) berechnet und die Methanol-Synthese sowie die Destillation dimensioniert.
- Der Strombedarf der Kompressoren wurde in CHEMCAD® berechnet
- Die Klärschlammmenge wurde anhand eines Regelwerks der Deutschen Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall mit Parametern für anaerobe Prozesse berechnet (Teichgräber und Hetschel 2016).
- Kennwerte zur Schlammbehandlung wurden der einschlägigen Literatur entnommen.

Wirtschaftlichkeit des BioMethanol-Systems

Die Bewertung der Wirtschaftlichkeit wurde anhand der Kapitalwertmethode berechnet. Die wichtigsten Input-Daten finden sich in **Tabelle 1**.

Tabelle 1: Zusammenfassung der wichtigsten Input-Parameter

Parameter	Wert
Diskontierungssatz [%]	7,4 %ª
Preis Membran-Elektroden-Einheit [€/m²]	7
Inflationsrate [%]	1,46 ^b
Abwasserkosten [€/m³]	1,99 // 1,64 ^c
Inflation Abwasserkosten [%]	1,9 ^d
PV-Einspeisetarif [ct€/kWh]	8,9 ^e

^a Wert in Übereinstimmung mit potentiellem Anlagenbetreiber

Darüber hinaus wurden vier verschiedene Markt-Szenarien untersucht, um die Unsicherheiten der kritischen Parameter miteinzubeziehen. Die Definition der vier Szenarien erfolgt in **Tabelle 2**.

Tabelle 2: Szenarien der Wirtschaftlichkeit des BioMethanol-Systems

Parameter /Szenario	Pessimistisch	Moderat	Optimistisch	EE-Markt
CH₃OH-Preis [€/t]	400ª	560ª	650ª	650ª
Strompreis [ct€/kWh]	13,5 ^b // 16,8 ^c	13,5 ^b // 16,8 ^c	13,5 ^b // 16,8 ^c	6,6 ^b // 9,1 ^c
Strompreis- Inflation [%/a]	3 ^d	1,6 ^e	1,3 ^f	1,3 ^f
CO ₂ -Quelle	100 % Zukauf	50 % Zukauf	0 % Zukauf	0 % Zukauf

^a pessimistische bis optimistische Annahme des mittleren Methanolpreises über 20 Jahre basierend auf dem Trend des "European posted contract price" April 2017: 450 €/t (Methanex Corporation)

^b mittlere Inflation in Deutschland 2006-2015 (National Statistics Buro Germany 2017a)

^c Abwasserkosten des Betreibers ohne (1,99 €) und mit BioMethanol-System, berechnet aus der Abwassersatzung der Stadt Freiburg(City of Freiburg, Germany)

^d Inflation der Abwasserkosten deutscher Haushalte 2005-2010 (National Statistics Buro Germany 2017b)

^e PV-Einspeisetarif 2016 (Federal Grid Buro Germany)

^b Industriestrompreis Deutschland ohne Stromsteuer (2016)

^c spezifischer Strompreis, basierend auf Gesamtkosten eines Preisangebots für 500 MWh/a (Rees 2016)

^d Extrapolation der deutschen Strompreisentwicklung von 1998-2016 (2016)

^e Mittlere Strompreisinflation, basierend auf Vorhersagen bis 2030 (Schlesinger et al. 2014)

^f Mittlere Strompreisinflation, basierend auf Vorhersagen bis 2050 (Schlesinger et al. 2014)

Über einen Zeitraum von 20 Jahren á 8.500 h/a Betrieb konnte unter keinen der gelisteten Bedingungen ein positiver Kapitalwert und damit eine Wirtschaftlichkeit festgestellt werden. Bei Betrieb mit Grünstrom wurde die folgende Kostenverteilung festgestellt (für alle Markt-Szenarien):

II.
Eingehende Darstellung

CAPEX: 31-42 % der Gesamtkosten

Davon entfallen

- 54 % MEZ Reaktor & Peripherie
- o 7 % Membran-Elektroden-Einheit (MEA)
- o 15 % Methanol Produktion/Kompression
- o 9 % Klärschlamm-Vergärung
- o 6 % Planung
- 9 % Unsicherheitsfaktor
- OPEX 58-69% der Gesamtkosten

Davon entfallen

- o 29-43 % Stromkosten
- o 21-34 % Instandhaltung & Versicherung
- o 0-15 % CO₂-Zukauf
- 10-16 % Personalkosten
- 4-6 % Klärschlammentsorgung
- o 3-5 % MEA-Austausch alle 5 Jahre
- o < 0.5 % Katalysatoraustausch alle 4 Jahre
 </p>
- o 9% Unsicherheitsfaktor

Für alle hier gezeigten Ergebnisse wird ein Preis von 7 €/m² Membran-Elektroden-Einheit der MEZ angenommen. Dieser Preis ist als äußerst optimistisch anzusehen und orientiert sich an Zielvorgaben von Sievers et al. 2010 für Mikrobielle Brennstoffzellen. Zur weiteren Analyse konzentrierte man sich auf das günstigste Szenario, um Bedingungen für einen wirtschaftlichen Betrieb zu definieren, die durch Systementwicklung oder die rechtlichen Rahmenbedingungen beeinflussbar sind (z.B. spezielle Strompreise für erneuerbares Methanol, Verstärkung des EU-ETS, Abbau von Subventionen für fossile Brennstoffe). Der Kapitalwert, im optimistischen "EE Markt"-Szenario (Tabelle 2) mit Grünstrom betrug -0,4 Mio. € mit Methanol-Gestehungskosten von 870 €/t. Aufbauend darauf wurde eine Sensitivitätsanalyse für die wichtigsten Parameter durchgeführt (Abb. 04.).

II Eingehende Darstellung

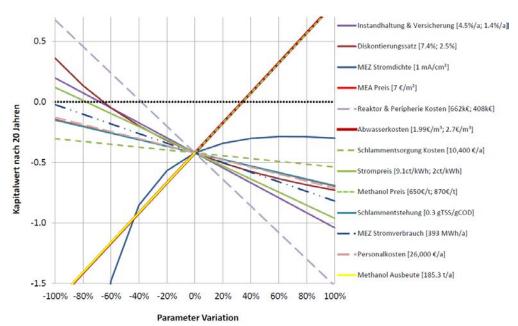


Abb. 04 Sensitivität des Kapitalwerts gegenüber der Variation verschiedener Input-Parameter für das Szenario "EE-Markt": Betrieb des BioMethanol-Systems mit Grünstrom

Die wichtigsten Ergebnisse im Überblick:

- Wie erwartet, zeigen die Marktpreise des Produkts Methanol, aber auch der vermiedenen Abwasserkosten einen sehr großen Einfluss auf den Kapitalwert
- Der Strompreis hat einen großen Einfluss auf den Kapitalwert
- Die Kosten für dem MEZ-Reaktor & Peripherie haben ebenfalls sehr großen Einfluss auf das Ergebnis, sogar vergleichsweise höher als der Strompreis
- Die MEZ-Stromdichte hat einen großen Einfluss auf den Kapitalwert, kann jedoch nicht unlimitiert der Kostenoptimierung dienen, da steigende Stromdichten auch steigende Stromkosten verursachen (durch steigenden Stromverbrauch Potentialerhöhungen an den Elektroden)
- Der Diskontierungssatz stellte ein wichtiger, methodisch-bedingter Parameter dar. Die Orientierung an den Opportunitätskosten des Betreibers erscheint legitim

Die Marktpreise der Produkte Methanol sowie vorgereinigtes Abwasser, lassen sich nicht beeinflussen. Das volatile Verhalten des Methanolpreises (Methanex Corporation) lässt keine Voraussage über dessen Entwicklung zu und eine Abwasserpreis-Teuerung über die angenommenen 1.9%/a hinaus ist nicht abzusehen. Der Strompreis, angenommen mit 9,1 ct/kWh für Abgaben-befreiten Grünstrom ist ein Hebel, an dem die Politik ansetzen könnte, sofern das untersuchte System als förderungswert angesehen wird. Zuerst einmal müsste verfügt werden, dass Grünstrom abgabenbefreit zur Verfügung steht. Darüber hinaus könnte die Mehrwertsteuerbefreiung zu einem Endpreis von ca. 6 ct/kWh führen. Eine Größe, die unmittelbar von den Entwicklern der MEZ beeinflusst werden kann, sind die Kosten von Reaktor und Peripherie, die einen großen Hebel zur Steigerung des Kapitalwerts darstellen. Interessanterweise ist die Sensitivität des Kapitalwerts zu den Reaktorkosten größer als zu den Stromkosten. Natürlich ist diese Beobachtung abhängig von den angenommenen Stromkosten, bleibt jedoch ebenfalls bei einem Strompreis von 16,8 ct/kWh bestehen.

Dahingehend lässt sich vermuten, dass es für die Abwasser-MEZ sinnvoll wäre kostengünstige Materialien zu verwenden, anstatt zu versuchen die Leistungsfähigkeit des Systems (z.B. durch Senkung des inneren Widerstandes) durch das Verwenden von teuren, high-end Materialien zu steigern. Darüber hinaus stellt der Elektrolyse-Gleichrichter/Transformator ein Hauptkostenfaktor (ca. 43%) des MEZ Reaktor & Peripherie dar. Der hohe Preis ergibt sich aus der Notwendigkeit die einzelnen MEZ elektrisch parallel zu betreiben, da ansonsten ein Kurzschluss von hydraulisch verbunden Zellen droht (Oliot et al. 2017). Ein anderes System-Design, könnte möglichweise den Einsatz einer Reihenschaltung ermöglichen, wodurch der Kostenanteil des Gleichrichter/Transformators signifikant sinken würde und sich bereits durch diese Maßnahme allein ein positiver Kapitalwert ergeben würde (vgl. Abb. 04). Ein zweiter wichtiger Faktor der System-Entwicklung scheint das Erreichen der angenommenen MEZ-Stromdichte von 1 mA/cm² zu sein. Diese sollte jedoch wie beschreiben nach Möglichkeit ohne den Einsatz von high-performance Materialien ermöglicht werden. Die Arbeiten der Gruppe von Dr. Kerzenmacher und Prof. Gescher an Wirbelschicht-Anode und selektiver Anreicherung exoelektrogener

Mikroorganismen gehen in diese Richtung und erscheinen vielversprechend.

I
Eingehende Darstellung

Ökobilanz des BioMethanol-Systems

Zusätzlich zur ökonomischen wurden im Rahmen des Verbundprojekts auch ökologische Aspekte des BioMethanol-Systems betrachtet. Der ökologische Vorteil eines Einsatzes der MEZ in der Abwasserbehandlung wird in vielen wissenschaftlicher Publikationen postuliert (Wang und Ren 2013). Bisher wurde in der Wissenschaft jedoch nur eine einzige Ökobilanz für eine MEZ, die eine 3%ige Wasserstoffperoxid-Lösung (H₂O₂) herstellt, angefertigt. Diese deutet auf einen Vorteil der MEZ durch die Substitution der konventionellen H₂O₂-Produktion hin (Foley et al. 2010). Aufgrund der bisher wenigen Untersuchungen scheint die weitere Erforschung der Ökobilanz von MEZ-Systemen dringend geboten (Escapa et al. 2016; Wang und Ren 2013) zumal das BioMethanol-System als Prozess des Carbon Capture & Utilization (Weiterverarbeitung des anodisch-gebildetem CO₂) das Potenzial zu einer erheblich verbesserten Treibhausgasbilanz im Vergleich zur aeroben Oxidation der organischen Abwasserbestandteile besitzt.

Die Ökobilanz des BioMethanol Systems wurde von cradle-to-gate, also von der Wiege bis zum Werkstor untersucht. Diese Bilanzgrenze erscheint sinnvoll, da sich ab Werkstor der Lebensweg einer Tonne BioMethanol bzw. einer Tonne fossilem Methanol nicht unterscheiden lassen und Methanol zu diversen Produkten weiterverarbeitet werden kann. Die Definition der Systemgrenzen ist in Abb. 05 dargestellt.

II Eingehende Darstellung

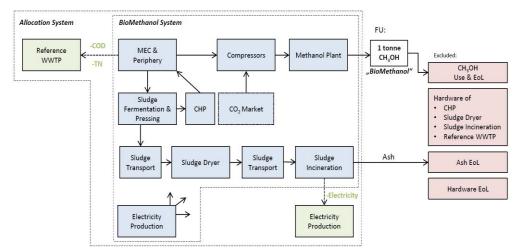


Abb. 05 LCA-Systemgrenzen zur Evaluation des BioMethanol-Systems: System-Komponenten innerhalb der gestrichelten Linie wurden in dieser Studie berücksichtigt. Die Impacts der grünen Boxen wurden dem System gutgeschrieben, entsprechend einem "consequential approach" (Abwasserbehandlung wird durch MEZ ersetzt, Stromproduktion durch Klärschlammverbrennung ersetzt Netzstrom). Hardware des vordergründigen Systems wurde als Material-Bedarf und zwei Herstellungsprozessen miteinbezogen (entsprechend der Hintergrund-Prozesse in der Ecoinvent v.3.3 Database). Die Hardware des "combined heat and power plant (CHP)", Schlammtrocknung & Verbrennung sowie der Referenz Abwasserbehandlung wurde nicht berücksichtigt, da diese Komponenten bereits vorhanden waren. Die Nutzungsphase der funktionellen Einheit (1 Tonne CH3OH) und "end-of-life (EoL)" Phasen wurden exkludiert. Die EoL Phase der Hardware des vordergründigen Systems wurde ebenfalls nicht berücksichtigt.

Das Ökobilanz-Modell wurde mit der Software Umberto NXT Universal® v.7.1.13.393 und Ecoinvent v.3.3 erstellt (Wernet et al. 2016). Das Impact-Assessment wurde mit den Modellen ReCiPe 2008 (H) und Cumulated Energy Demand durchgeführt. Entsprechend dem "wirtschaftlichsten" Szenario, wurde die Ökobilanz auf das Szenario "EE-Markt" (0), versorgt mit Grünstrom, fokussiert. Im Zuge der Interpretation der Ökobilanz soll die Herstellung einer Tonne Methanol mittels BioMethanol mit der aus Erdgas verglichen werden. Die Daten dieses Referenzprozesses stellte die Datenbank Ecoinvent v.3.3, Datensatz "methanol production [GLO]". Die Impact-Ergebnisse für dieses Szenario sind in 0 dargestellt:

II	
Eingehende Darstellung	

Tabelle 3: Ergebnisse des "consequential LCA" des BioMethanol-Systems und des Referenzprozesses fossiler Methanol Produktion (Ref) pro 1 Tonne CH₃OH am Werkstor

	Unit	Best	Worst	Base	Ref
GWP	kg CO2 Eq/t tснзон	-2,120	-120	-970	520
TAP	kg SO ₂ Eq/t t _{снзон}	-1,3	2,1	0,7	5,1
POFP	kg NMVOC Eq/t t _{снзон}	1,2	1,6	0,5	2,1
CEDF	GJ/t tснзон	-10,8	9,9	3	32,.1
CEDT	GJ/t t _{снзон}	-5,1	29,9	11,7	32,5
MDP	kg Fe-Eq/t tснзон	70	240	130	30
FEP	kg P-Eq/t tснзон	-1,1	0,8	0,2	0,1

Für das BioMethanol System wurden drei Szenarien definiert, in denen die Input Parameter variiert sind. Für die Definition von "Base-, Best-, Worst-Szenario vgl. **Tabelle 4** und den darüber stehenden Text. Alle Ergebnisse enthalten vermiedene Emissionen durch die Ersetzung der konventionellen Abwasserbehandlung, wodurch auch die negativen Werte zustande kommen (die als systemweite Verbesserungen interpretiert werden können). Die Brutto-Emissionen des BioMethanol-Systems sind in grafischer Form in Abb. 06 zu finden. Die farbigen Felder sollen den Vergleich der drei Szenarien des BioMethanol Systems mit dem Referenzprozess illustrieren mit rot = höchster Impact, grün = niedrigster Impact. GWP = Global Warming Potential; TAP = Terrestrial Acidification Potential; POFP = Photochemical Oxidant Formation Potential; CEDF = Cumulated Energy Demand Fossil; CEDT = Cumulated Energy Demand Total; MDP = Metal Depletion Potential; FEP = Freshwater Eutrophication Potential

In Abb. 06 wurde für die wichtigsten Input-Parameter der Berechnung, d.h. für jede Impact-Kategorie ein Base-, Best- und ein Worst-Case Szenario definiert. Diese Variation der Input-Parameter soll ein Stück weit die Unsicherheit der Ergebnisse widerspiegeln. In der Praxis der Ökobilanz gibt es bisher keine festgeschriebene Methode die Unsicherheit miteinzubeziehen, ein Vorhaben, das auf Grund der Datenverfügbarkeit oft schwierig ist (Matthews et al. 2015). Die Szenarien sind in Tabelle 4 exemplarisch für das GWP dargestellt.

II
Eingehende Darstellung

Tabelle 4: Base-, Best- und Worst Case Szenarien für das Global Warming Potential des BioMethanol-Systems

	Base	Best	Worst
MEZ Stromdichte [mA/cm²]	1	2	0.5
Membran-Typ	Polysulfone	Copolymer ^a	PTFE
Transport zur Schlammverbrennung [km]	200	600	100
Strommix	RE Mix	RE Mix	RE Mix + 176
MEZ-Stromverbrauch [%]	100	80	120
Abwasserbehandlung Stromverbrauch [kWh/kg COD _{deg}]	0.36	0.3	0.75
BiogasStromerzeugung [%]	85	100	125

^aMembran aus Acrylonitril-Butadien-Copolymer, Polyethylene und Nylon®-66(Maak 2008)

Um die Ergebnisse in Abb. 06 zu bewerten, wurde ein "Significance Heuristic" angewendet (Matthews et al. 2015) für das in diesem Fall ein Unterschied in einer Impact-Kategorie zweier Systeme als signifikant gewertet wird, wenn der Unterschied in Base-, Best- und Worst-Case mindestens 59 % des Impacts beträgt.

Aufgrund dieser Vereinfachung konnte folgende Aussagen gemacht werden: Die Funktionelle Einheit des BioMethanol-Systems weist bei Betrieb mit dem spezifizierten Grünstrom, der Gewinnung von CO₂ aus der MEZ und im Vergleich zu dem Referenzprozess fossile Methanol Produktion

- Ein signifikant niedrigeres (120-500 %) GWP auf
- Ein signifikant niedrigeres (59-125 %) TAP auf
- Ein insignifikant niedrigeres (23-76 %) POFP auf
- Ein signifikant niedrigeres (90-134 %) CEDF auf
- Ein insignifikant niedrigeres (8-116 %) CEDT auf
- Ein signifikant niedrigeres (90-134 %) CEDF auf
- Ein signifikant höheres (230-800 %) MDP auf
- In 2/3 Fällen ein signifikant höheres (200-800 %), in 1/3 Fällen ein signifikant niedrigeres (1.100%) FEP auf

Um Empfehlungen zur Verbesserung der Ökobilanz des BioMethanol-Systems zu machen, ist es zunächst wichtig die Prozesse zu erkennen, die den größten Teil zu den Emissionen beitragen. Die Struktur der potentiellen Emissionen bezüglich deren Emissionsquelle ist in Abb. 06 dargestellt.



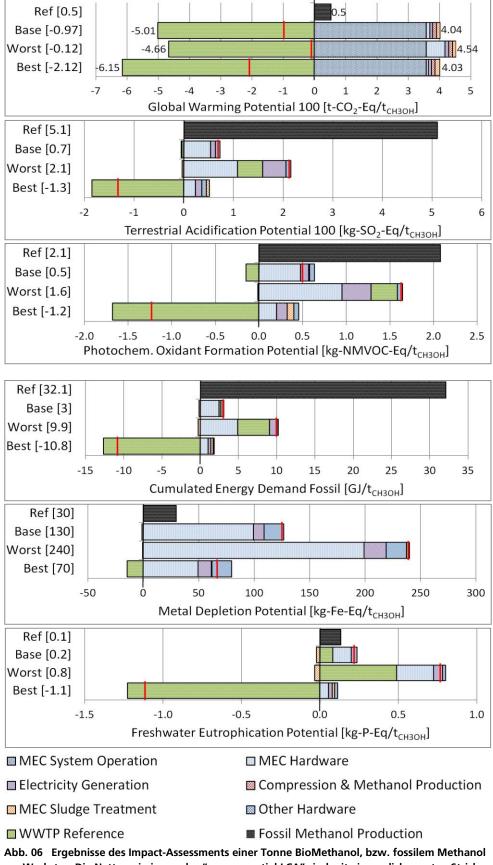


Abb. 06 Ergebnisse des Impact-Assessments einer Tonne BioMethanol, bzw. fossilem Methanol am Werkstor. Die Nettoemissionen des "consequential LCA" sind mit einem dicken roten Strich gekennzeichnet. Ref = Referenz – fossile CH₃OH-Synthese, Base = BioMethanol Base Case, Worst = BioMethanol Worst Case, Best = BioMethanol Best Case, MEC = Microbial Electrolysis Cell = MEZ

<u> </u>	
Eingehende Darstellung	

Aus der Abb. 06 geht hervor, dass für alle abgebildeten Impact-Kategorien die MEZ Hardware und die Stromerzeugung eine wichtige Rolle spielen. Für das GWP speziell gilt, dass die Oxidation des Abwasser-CSB, die hauptsächlich fossilem Ursprungs ist, ebenfalls einen Großteil der Brutto-Emissionen verursacht. Durch den gewählten "consequential approach" des Modells, wird allerdings angenommen, dass die Oxidation des Abwasser-CSB ohnehin im Klärwerk erfolgen wurde, sodass diese Emissionen gutgeschrieben, weil "vermieden" werden. Die Identifikation der für die Ökobilanz zentralen Komponenten diente als Grundlage weiterer Arbeiten, die zu folgenden Erkenntnissen führten:

- Der Betrieb des BioMethanol-Systems mit dem Deutschen Netzstrommix (2012) führt in allen Impact-Kategorien zu einer signifikant schlechteren Öko-Performance, sodass das System im Gegensatz zum Referenzprozess (fossile Methanol-Produktion) schlechter abschneidet. Der Betrieb des BioMethanol-Systems mit Netzstrom, der einen hohen Anteil an fossilen Erzeugern beinhaltet, ist aus umwelttechnischer Sicht unbedingt zu vermeiden.
- Der Zukauf von externem CO₂ (100 %) auf dem deutschen Markt führt zu einem GWP, das ca. 1 t CO₂-Eq./tCH₃OH höher als das des fossilen Referenzprozesses ist. Die Nutzung des CO₂ aus der MEZ Anode, ist aus diesem Grund unbedingt anzustreben. Bisher ist es unklar, ob genügend CO₂ aus der MEZ isoliert werden kann, da sich ein nicht unerheblicher Teil im anodenseitig basischen Abwasser löst. Andere CO₂-Quellen wie eine lokale Biogasanlage könnten ebenfalls in Betracht gezogen werden.
- Bezüglich der MEC-Hardware lässt sich feststellen, dass einerseits die MEZ-Stromdichte, durch den Einfluss auf die nötige MEZ-Gesamtgröße um den Referenz-Abwasserstrom zu behandeln, einen großen Einfluss auf den Impact-Wert hat. Aus der ökologischen Perspektive ist bei einem Betrieb mit Grünstrom eine MEZ-Stromdichte von ca. 1,6-1,7 mA/cm² optimal. Bei einem höheren Wert überwiegen die Emissionen des Mehrstromverbrauchs den Einsparungen durch ein verkleinertes System. Darüber hinaus sollte der Einsatz von potenziellen Materialien wie Kupfer vermieden werden, da dieser sich deutlich auf die Impact-Werte verschiedener Kategorien auswirkt. Dieser Befund ist stimmig zu den Ergebnissen der Wirtschaftlichkeitsbetrachtung, nach dem kostengünstige Materialien teuren, high-end Materialien wie Nafion® oder Kupfer vorgezogen werden sollen. Es wird empfohlen bei der weiteren Systementwicklung die Ökobilanz miteinzubeziehen, wenn das System einen Nachhaltigkeitsvorteil aufweisen soll.

II.
Eingehende Darstellung

II.2 Verwertung der Ergebnisse II.2.1

Schutzrechtsanmeldungen und deren Verwertung

Es sind keine Schutzrechtsanmeldungen erfolgt.

II.2.2 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende

Im Rahmen dieses Teilprojekts konnten präzise Anforderungen und Rahmenbedingungen erarbeitet werden, die Voraussetzungen für die Wirtschaftlichkeit des BioMethanol-Systems sind. Wesentliche Faktoren für die Wirtschaftlichkeit sind eine kostengünstigere Konstruktion der mikrobiellen Elektrolysezelle sowie die Erhöhung des Ertrags, insbesondere durch ein höherpreisigeres Produkt wie z. B. Dimethylether. Es wird davon ausgegangen, dass eine entsprechende technische Realisierung innerhalb der nächsten 5 Jahre möglich wäre. Voraussetzung dafür ist, dass im Rahmen eines Nachfolgeprojekts die gezielte Materialoptimierung und das *Up-Scaling* der etablierten Technologie auf den Maßstab von 200-1000 L demonstriert werden kann. Ein entsprechender Förderantrag wird momentan von den Projektpartnern vorbereitet.

II.2.3 Wissenschaftliche technische Erfolgsaussichten

Die wissenschaftlichen und technischen Erfolgsaussichten sind als vielversprechend zu bewerten. Zum einen wird auf Basis der Projektergebnisse ein Fachartikel mit dem Titel "Methanol Production based on the Bio-electrochemical Conversion of Industrial Wastewater – A combined Economic and Life Cycle Assessment" vorbereitet, der in einer internationalen Fachzeitschrift eingereicht werden soll. Bislang gibt es zur ökologischen und ökonomischen Betrachtung von mikrobiellen Elektrolysezellen in der Abwasserreinigung wenige veröffentlichte Arbeiten, so dass die Veröffentlichung der Projektergebnisse hier einen äußerst wichtigen wissenschaftlichen Beitrag darstellt.

Die wissenschaftlich-technische Anschlussfähigkeit ist zudem auch durch Nachfolgeprojekte sichergestellt, in deren Rahmen auf die erzielten Ergebnisse und Erfahrungen zurückgegriffen wird. So arbeiten die Projektpartner Fraunhofer ISE, KIT und Universität Freiburg weiterhin innerhalb des BMBF-Projekts "RECICL: Entwicklung von Kaskadenreaktoren zur Umsetzung biogener Abfallströme in Wasserstoff und Propionat" (Fördermaßnahme "Maßgeschneiderte biobasierte Inhaltsstoffe für eine wettbewerbsfähige Bioökonomie"; Laufzeit 2017-2020) zusammen. Im Rahmen des Projekts wird u.a. auch die wirtschaftliche und ökologische Evaluation eines neuartigen Produktionsprozesses auf Basis mikrobieller Elektrolysezellen durchgeführt. Darüber hinaus haben Fraunhofer ISE, Rhodia Acetow und die Universität Freiburg zusammen mit internationalen Partnern einen Förderantrag im Rahmen der Ausschreibung "ERANet Cofund on Biotechnologies: Biotechnology for a sustainable bioeconomy" gestellt. Ziel dieses Projektes ist die Entwicklung bioelektrochemischer Systeme zur kombinierten Abwasserreinigung und CO₂-Reduktion.

<u> </u>
Eingehende Darstellung

11.2.4

Qualifizierung von Mitarbeitern

Es wurden folgenden Bachelor- und Masterarbeiten durchgeführt.

- Christoph Hank (Masterarbeit)
 "Biomethanol Evaluierung des Technologiepotentials"
 Hochschule für Forstwirtschaft Rottenburg, 2014
- Michael Neuner (Masterarbeit)
 "Evaluierung eines neuen Verfahrens zur Herstellung von Methanol aus
 Abwasser"
 - Management Center Innsbruck, 2015
- Jan Streeck (Masterarbeit)
 Microbial Electrolysis Cell and Power to Methanol
 A perfect couple?

Techno-economic and environmental assessment of a waste-to-chemical system

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, 2017.

II.3 Fortschritte bei anderen Arbeitsgruppen

Die Potenzialabschätzung der MEZ zum Einsatz in einer kombinierten Abwasserbehandlung und Chemikalienproduktion ist Gegenstand aktueller Forschungsvorhaben (Lu und Ren 2016). In der Literatur sind eine Vielzahl von Konstruktionsmöglichkeiten sowie -materialien dokumentiert. Die Entwicklungsreife der MEZ steigt und bewegt sich langsam aus dem Laborstadium hin zu Pilotanlagen (Kadier et al. 2016; Escapa et al. 2016; Cusick et al. 2011). Derweil werden im Labormaßstab weiterhin neue Konstruktionen untersucht, um die kritischen Betriebsparameter wie erreichbare Stromdichten, Stromverbrauch und Materialeinsatz weiter zu optimieren (Deeke et al. 2015; Li et al. 2014). Escapa et al. 2016 definieren Kriterien, die für den erfolgsversprechenden Einsatz der MEZ im Abwasserbereich essentiell sind:

- Technische Machbarkeit
- Ökonomische Überlegenheit gegenüber konventioneller Abwasserbehandlung
- Umweltverträglichkeit

Während die MEZ als Ergänzung zur konventionellen Abwasserbehandlung auf einem guten Weg in Richtung technische Machbarkeit ist (Escapa et al. 2016), konnte ein ökonomische Vorteil der MEZ bisher noch nicht nachgewiesen werden. Die Leistungsdaten (bzgl. Stromdichte, H_2 -Produktion, Stromverbrauch, etc.) sind zu gering und der Preis der verwendeten Materialien zu hoch, als das zum jetzigen Zeitpunkt ein wirtschaftlicher Betrieb möglich wäre (Escapa et al. 2012b). Ergebnisse von Escapa et al. und Pant et al. deuten jedoch darauf hin, dass ein wirtschaftlicher Betrieb in naher Zukunft möglich ist (Pant et al. 2010; Escapa et al. 2012b). In dieser Hinsicht ist es extrem wichtig die Kennzahlen in erreichbarer Stromdichte und System-Widerstand zu optimieren (Sleutels et al. 2012; Escapa et al. 2012b). Sleutels et al. 2012 vermuten einen wirtschaftlichen Betrieb der MEZ bei Stromdichten von mindestens 20 A/m² und einem internen Widerstand von 80 m Ω/m^2 (

II .
Eingehende Darstellung

II.4 Veröffentlichungen aus dem Projekt

Im Rahmen der Forschungsarbeiten am Fraunhofer ISE wird momentan eine Veröffentlichung mit dem Titel "Methanol Production based on the Bio-electrochemical Conversion of Industrial Wastewater – A combined Economic and Life Cycle Assessment" vorbereitet. Die Autorenliste beinhaltet neben Wissenschaftlern am Fraunhofer ISE auch Dr. Sven Kerzenmacher.

Des Weiteren wurden Projektergebnisse auf folgenden Tagungen präsentiert:

- C. Hank, Umberto-User-Workshop am 23. September 2015 in Heidelberg "Biomethanol - Sustainable synthesis of the energy carrier methanol by the use of wastewater"
- Posterpräsentation auf dem Workshop Mikrobielle Brennstoff- und Elektrolysezellen – Energieffiziente Abwasserreinigung gekoppelt mit Stromerzeugung und Chemikalienproduktion am 21./22. November 2016 in Goslar im Rahmen der BMBF-Fördermaßnahme ERWAS "Energieeffiziente Wasserwirtschaft"
 - J. Streeck, C. Hank, R. J. White, A. Schaadt, C. Hebling "Techno-economic and ecological evaluation of wastewater based production of BioMethanol Preliminary Results"

Eingehende Darstellung

LITERATURVERZEICHNIS

- City of Freiburg, Germany: Stadtentwässerungssatzung. Online verfügbar unter
 - https://www.freiburg.de/pb/site/Freiburg/get/documents_E17754229 83/freiburg/daten/ortsrecht/15%20Entwaesserung/OrtsR_15_02.pdf, zuletzt geprüft am 21.04.017.
- Cusick, Roland D.; Bryan, Bill; Parker, Denny S.; Merrill, Matthew D.; Mehanna, Maha; Kiely, Patrick D. et al. (2011): Performance of a pilot-scale continuous flow microbial electrolysis cell fed winery wastewater. In: *Applied microbiology and biotechnology* 89 (6), S. 2053–2063. DOI: 10.1007/s00253-011-3130-9.
- Deeke, Alexandra; Sleutels, Tom; Donkers, Tim; Hamelers, Hubertus; Buisman, Cees; Ter Heijne, Annemiek (2015): Fluidized capacitive bioanode as a novel reactor concept for the microbial fuel cell. In: *Environ. Sci. Technol.* 49 (3), S. 1929–1935. DOI: 10.1021/es503063n.
- Escapa, A.; Gil-Carrera, L.; García, V.; Morán, A. (2012a): Performance of a continuous flow microbial electrolysis cell (MEC) fed with domestic wastewater. In: *Bioresource technology* 117, S. 55–62. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.04.060.
- Escapa, Adrián; Gómez, X.; Tartakovsky, B.; Morán, A. (2012b): Estimating microbial electrolysis cell (MEC) investment costs in wastewater treatment plants. Case study. In: *Int. J. Hydrogen Energy* 37 (24), S. 18641–18653. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2012.09.157.
- Escapa, Adrián; Mateos, R.; Martínez, E. J.; Blanes, J. (2016): Microbial electrolysis cells. An emerging technology for wastewater treatment and energy recovery. From laboratory to pilot plant and beyond. In: *Renew. Sustainable Energy Rev.* 55, S. 942–956. DOI: 10.1016/j.rser.2015.11.029.
- Federal Grid Buro Germany: Photovoltaic installations data submission and EEG-supported feed-in tariffs. Online verfügbar unter https://www.bundesnetzagentur.de/EN/Areas/Energy/Companies/Ren ewableEnergy/PV_data_tariffs/PV_statistic_node.html;jsessionid=856B B8DD3DF9799AC54127285787EE30, zuletzt geprüft am 11.07.2017.
- BDEW Strompreisanalyse Mai 2016. Haushalte und Industrie (2016). Federation for Energy- and Water Economy BDEW. Berlin, 24.05.2016. Online verfügbar unter https://www.bdew.de/internet.nsf/res/3F9FDCE65F1CAC8AC125804B0

043C947/\$file/160524_BDEW_Strompreisanalyse_Mai2016.pdf., Eingehende Darstellung zuletzt geprüft am 21.04.2016.

- Foley, Jeffrey M.; Rozendal, Rene A.; Hertle, Christopher K.; Lant, Paul A.; Rabaey, Korneel (2010): Life cycle assessment of high-rate anaerobic treatment, microbial fuel cells, and microbial electrolysis cells. In: *Environ. Sci. Technol.* 44 (9), S. 3629–3637. DOI: 10.1021/es100125h.
- Kadier, Abudukeremu; Kalil, Mohd Sahaid; Abdeshahian, Peyman; Chandrasekhar, K.; Mohamed, Azah; Azman, Nadia Farhana et al. (2016): Recent advances and emerging challenges in microbial electrolysis cells (MECs) for microbial production of hydrogen and value-added chemicals. In: *Renew. Sustainable Energy Rev.* 61, S. 501–525. DOI: 10.1016/j.rser.2016.04.017.
- Kokko, Marika; Bayerköhler, Frieder; Erben, Johannes; Zengerle, Roland; Kurz, Philipp; Kerzenmacher, Sven (2017): Molybdenum sulphides on carbon supports as electrocatalysts for hydrogen evolution in acidic industrial wastewater. In: *Appl. Energy* 190, S. 1221–1233. DOI: 10.1016/j.apenergy.2016.12.097.
- Li, Jian; Ge, Zheng; He, Zhen (2014): A fluidized bed membrane bioelectrochemical reactor for energy-efficient wastewater treatment. In: *Bioresour.Technol.* 167, S. 310–315. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.06.034.
- Liu, Hong; Grot, Stephen; Logan, Bruce E. (2005): Electrochemically Assisted Microbial Production of Hydrogen from Acetate. In: *Environ. Sci. Technol.* 39 (11), S. 4317–4320. DOI: 10.1021/es050244p.
- Lu, Lu; Ren, Zhiyong Jason (2016): Microbial electrolysis cells for waste biorefinery: A state of the art review. In: *Bioresour.Technol.* 215, S. 254–264. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.03.034.
- Maak, Maria (2008): Generation of the energy carrier hydrogen in context with electricity buffering generation through fuel cells. Hg. v. Icelandic New Energy. Online verfügbar unter http://www.needs-project.org/2009/Deliverables/RS1a%20D8.2%20Final%20report%20on %20hydrogen.pdf, zuletzt aktualisiert am 2008, zuletzt geprüft am 21.04.2017.
- Matthews, H. Scott.; Hendrickson, Chris; Matthews, Deanna (2015): Life Cycle Assessment: Quantitative Approaches for Decisions That Matter. Online verfügbar unter http://www.lcatextbook.com/.

II Eingehende Darstellung

Methanex Corporation (Hg.): Methanex Monthly Average Regional Posted Contract Price History. Online verfügbar unter https://www.methanex.com/our-business/pricing, zuletzt geprüft am 15.09.2017.

National Statistics Buro Germany (2017a): Verbraucherpreisindex für Deutschland: Veränderungen im gegenüber dem Vorjahr in %. Online verfügbar unter https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesamtwirtschaftUmwelt/Preise/Verbraucherpreisindizes/Verbraucherpreisindizes.html, zuletzt

aktualisiert am 21.04.2017, zuletzt geprüft am 21.04.2017.

- National Statistics Buro Germany (2017b): Wasserwirtschaft. Kosten für die Entsorgung von Abwasser aus privaten Haushalten 2005 bis 2010.

 Online verfügbar unter https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesamtwirtschaftUmwelt/Umwelt/UmweltstatistischeErhebungen/Wasserwirtschaft/Tabellen/Dur chschnittskostenAbwasserHaushalte2010.html, zuletzt aktualisiert am 21.04.2017, zuletzt geprüft am 21.04.2017.
- Oliot, Manon; Etcheverry, Luc; Mosdale, Renaut; Bergel, Alain (2017): Microbial fuel cells connected in series in a common electrolyte underperform. Understanding why and in what context such a set-up can be applied. In: *Electrochim. Acta* 246, S. 879–889. DOI: 10.1016/j.electacta.2017.06.114.
- Pant, Deepak; van Bogaert, Gilbert; Smet, Mark de; Diels, Ludo; Vanbroekhoven, Karolien (2010): Use of novel permeable membrane and air cathodes in acetate microbial fuel cells. In: *Electrochimica Acta* 55 (26), S. 7710–7716. DOI: 10.1016/j.electacta.2009.11.086.
- Rees, Nicole (2016): Non-binding offer for renewable electricity provision, 06.12.2016. Personal communication an Jan Streeck.
- Schlesinger, Michael; Lindenberger, Dietmar; Lutz, Christian (2014):
 Entwicklung der Energiemärkte– Energiereferenz-prognose. Hg. v.
 Federal Ministry for Economic Affairs and Energy. Institute of Energy
 Economics at the University of Cologne. Online verfügbar unter
 https://www.bmwi.de/Redaktion/DE/Publikationen/Studien/entwicklu
 ng-der-energiemaerkte-energiereferenzprognoseendbericht.pdf?__blob=publicationFile&v=7, zuletzt aktualisiert am
 21.04.2016, zuletzt geprüft am 21.04.2016.
- Sievers, Michael; Schläfer, Ottmar; Bormann, Hinnerk; Niedermeiser, Michael; Bahnemann, Detlef; Dillert, Ralf (2010): Machbarkeitsstudie

für die Anwendung einer mikrobiellen Brennstoffzelle im Abwasserund Abfallbereich. Hg. v. Deutsche Bundesstiftung Umwelt. Online

- verfügbar unter https://www.dbu.de/OPAC/ab/DBU-Abschlussbericht-AZ-26580.pdf, zuletzt geprüft am 23.05.2017.

 Sleutels, Tom H. J. A.; Ter Heijne, Annemiek; Buisman, Cees J. N.; Hamelers, Hubertus V. M. (2012): Bioelectrochemical systems: an outlook for
- Hubertus V. M. (2012): Bioelectrochemical systems: an outlook for practical applications. In: *ChemSusChem* 5 (6), S. 1012–1019. DOI: 10.1002/cssc.201100732.
- Teichgräber, Burkhard; Hetschel, Martin (2016): Dimensioning of Single-Stage Biological Wastewater Treatment in Accordance with DWA-A 131. In: *Korrespondenz Abwasser, Abfall* 63 (2), 97-102.
- Wang, Heming; Ren, Zhiyong Jason (2013): A comprehensive review of microbial electrochemical systems as a platform technology. In: *Biotechnology advances* 31 (8), S. 1796–1807. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.10.001.
- Wernet, Gregor; Bauer, Christian; Steubing, Bernhard; Reinhard, Jürgen; Moreno-Ruiz, Emilia; Weidema, Bo (2016): The ecoinvent database version 3 (part I). Overview and methodology. In: *Int. J. Life Cycle Assess.* 21 (9), S. 1218–1230. DOI: 10.1007/s11367-016-1087-8.