

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik

**Mehrzweckbioreaktor für Gasfermentationen
mit suspendierten oder immobilisierten
acetogenen Mikroorganismen**

Peter Riegler

Vollständiger Abdruck
der von der Fakultät für Maschinenwesen der Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktor-Ingenieurs
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr.-Ing. Klaus Drechsler
Prüfer der Dissertation: 1. Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz
2. Prof. Dr.-Ing. Kai-Olaf Hinrichsen

Die Dissertation wurde am 28.06.2018 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Maschinenwesen am 12.11.2018 angenommen.

Wir können den Wind nicht ändern, aber die Segel anders setzen.

Aristoteles

(384 - 322 v. Chr.)

*Für Linde Pankratz,
unseren Blitz aus Kitz.*

Danksagung

Diese Dissertation entstand während meiner Arbeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik der Technischen Universität München (TUM, Garching bei München, Deutschland) unter der Leitung von Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz.

Im Rahmen der Forschungsarbeiten wurde ich durch folgende Personen tatkräftig unterstützt:

Zu allererst möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz für das Vertrauen zur Bearbeitung dieses spannenden und innovativen Themas bedanken, das sich als perfekte Kombination aus den Themenbereichen Chemie, Biotechnologie, Verfahrenstechnik und Bioingenieurwesen herausstellte. Ich möchte ihm weiterhin meinen Dank für die Freiheiten bei der Bearbeitung dieses Themas, für die Eröffnung neuer Blickwinkel sowie seine konstruktive Kritik aussprechen. Vielen Dank für die professionelle Betreuung.

Ich möchte mich auch bei dem Co-Referenten Prof. Dr.-Ing. Kai-Olaf Hinrichsen und dem Prüfungsvorsitzenden Prof. Dr.-Ing. Klaus Drechsler für die Übernahme der jeweiligen Aufgabe bedanken.

Für die Zusammenarbeit und die angenehmen Treffen im Rahmen des Projektes, geht mein Dank an die Projektpartner des Instituts für Mikrobiologie und Biotechnologie der Universität Ulm (Prof. Dr. Peter Dürre und Prof. Dr. Bernhard Eikmanns) und des Instituts für Bioverfahrenstechnik der Universität Stuttgart (Prof. Dr.-Ing. Ralf Takors) mit ihren Doktoranden Flora Siebler, Maria Hermann, Sebastian Grenz, Sandra Weitz sowie Steffen Wirth. Mein besonderer Dank gilt meinen Projektkollegen am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik Dr.-Ing. Alexander Mayer und Dr. rer. nat. Kathrin Doll für die hervorragende Zusammenarbeit und gegenseitige Unterstützung. Es hat wirklich Spaß gemacht mit euch!

Im Rahmen der Gestaltung und Inbetriebnahme des Mehrzweckbioreaktors haben mich Norbert Werth (Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik) durch die Fertigung der Reaktoreinbauten, Dr. rer. nat. Marianne Hanzlik sowie Dr. rer. nat. Beate Rockel (Professur für Elektronenmikroskopie) bei den Aufnahmen im Rasterelektronenmikroskop, Ulrike Ammari (Lehrstuhl für Anorganische Chemie) bei der Elementaranalyse, Uli Ebner (Lehrstuhl für Medizintechnische Materialien und Implantate) bei der Fertigung des Flüssigkeitsverteilers und Manfred Bauer (Lehrstuhl für Produktentwicklung und Leichtbau) sowie Jerzy Kojro (Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik) bei elektrischen und elektronischen Problemstellungen unterstützt. Vielen Dank für die Hilfe!

Mein Dank gilt auch Dr. Thomas Meyer und seinen Vorgesetzten der SOPAT GmbH (www.sopat.de) für die Ermöglichung der Messungen der Blasendurchmesser.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen aktuellen und ehemaligen Kollegen sowie den Institutsangestellten des Lehrstuhls für Bioverfahrenstechnik, der Professur für Selektive Trenntechnik und des Fachgebiets für Systembiotechnologie an der Technischen Universität München für die großartige Zusammenarbeit und die gute Arbeitsatmosphäre. Mein besonderer Dank gilt Christian Burger, Christoph Mähler, Dr. rer. nat. Benjamin Kick, Johannes Hermann, Phillip Nowotny, Ingmar Polte, Dr.-Ing. Timm Severin, Dr.-Ing. Hannes Löwe, Torben Schädler und Anton Rückel.

Die vielfältige Unterstützung durch Studentinnen und Studenten möchte ich an dieser Stelle besonders hervorheben: Dominik Brunner, Annika Bringewatt, Kendra Gruber, Sebastian Maier, Thomas Chrusciel, Emmeran Bieringer und Moritz Stärz sowie Fereshteh Sadeqi, Arulselvan Ponnudurai und Dinesh Paudel.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie, meinen Freunden und vor allem meiner Freundin Antonia für das bedingungslose Verständnis, die Unterstützung und den Rückhalt bei den Hochs und Tiefs während der Erarbeitung dieser Dissertation danken.

Peter Riegler

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 2 | Problemstellung und Zielsetzung | 3 |
| 3 | Theoretische Grundlagen | 7 |
| 3.1 | Acetogenese..... | 7 |
| 3.1.1 | Verwendete Bakterienstämme..... | 8 |
| 3.1.2 | Heterotropher Stoffwechsel..... | 11 |
| 3.1.3 | Autotropher Stoffwechsel..... | 12 |
| 3.2 | Biofilme..... | 16 |
| 3.3 | Nachwachsende Rohstoffe als Kohlenstoffquelle..... | 20 |
| 3.3.1 | Synthesegas..... | 21 |
| 3.3.2 | Gasfermentation..... | 22 |
| 3.4 | Bioreaktoren für Gasfermentation..... | 24 |
| 3.4.1 | Rührkesselreaktoren..... | 25 |
| 3.4.2 | Blasensäulenreaktoren..... | 26 |
| 3.4.3 | Biofilmreaktoren..... | 29 |
| 3.4.4 | Membranreaktoren..... | 33 |
| 3.4.5 | Vergleich von Bioreaktoren für Gasfermentation..... | 34 |
| 3.5 | Verfahrenstechnische Grundlagen..... | 36 |
| 3.5.1 | Stofftransport..... | 36 |
| 3.5.2 | Blasencharakteristik und Gasgehalt..... | 48 |
| 3.5.3 | Leistungseintrag..... | 50 |
| 3.5.4 | Mischzeitcharakteristik..... | 51 |
| 3.5.5 | Verweilzeitcharakteristik von idealen und realen Reaktoren..... | 52 |
| 3.6 | Bioprozesstechnische Grundlagen..... | 55 |
| 3.6.1 | Mikrobielles Wachstum..... | 55 |
| 3.6.2 | Kinetik von Biomassewachstum und Produktbildung..... | 57 |
| 3.6.3 | Stoffbilanz von Bioprozessen..... | 60 |
| 4 | Material und Methoden | 65 |
| 4.1 | Der Mehrzweckbioreaktor..... | 65 |
| 4.1.1 | Rührkesselreaktor..... | 66 |
| 4.1.2 | Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf..... | 70 |
| 4.1.3 | Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf..... | 70 |
| 4.1.4 | Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom..... | 71 |
| 4.2 | Gasfermentation mit acetogenen Bakterien..... | 73 |
| 4.2.1 | Anaerobe Arbeitsweise..... | 73 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.2.2 | Medien: Zusammensetzung und Zubereitung | 74 |
| 4.2.3 | Stammhaltung und Vorkultur | 77 |
| 4.2.4 | Prozesstechnik..... | 78 |
| 4.3 | Myoglobin-Test..... | 82 |
| 4.4 | Festbettmaterial für Biofilmreaktoren | 84 |
| 4.4.1 | Trägermaterial..... | 84 |
| 4.4.2 | Vor- und Aufbereitung des Trägermaterials..... | 86 |
| 4.4.3 | Analyse im Rasterelektronenmikroskop | 86 |
| 4.4.4 | Elementaranalyse zur Biotrockenmassebestimmung | 87 |
| 4.5 | Methoden zur verfahrenstechnischen Analyse..... | 87 |
| 4.5.1 | Gas-Flüssig-Stofftransport | 88 |
| 4.5.2 | Blasendurchmesser und Gasgehalt | 89 |
| 4.5.3 | Leistungseintrag..... | 91 |
| 4.5.4 | Mischzeitcharakteristik..... | 92 |
| 4.5.5 | Charakterisierung des Rieselbettbiofilmreaktors | 93 |
| 4.6 | Methoden zur Prozessanalytik | 96 |
| 4.6.1 | Biotrockenmassebestimmung | 96 |
| 4.6.2 | Produktquantifizierung mittels HPLC-Analytik | 96 |
| 4.6.3 | Gasaufnahme und -umsatzbestimmung mittels Abgasanalytik..... | 97 |
| 5 | Gestaltung und Charakterisierung des Mehrzweckbioreaktors | 99 |
| 5.1 | Gestaltung des Mehrzweckbioreaktors | 99 |
| 5.1.1 | Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf..... | 99 |
| 5.1.2 | Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf | 105 |
| 5.1.3 | Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom..... | 110 |
| 5.2 | Verfahrenstechnische Charakterisierung des Mehrzweckbioreaktors.. | 115 |
| 5.2.1 | Gas-Flüssig-Stofftransport | 115 |
| 5.2.2 | Blasencharakteristik und Gasgehalt..... | 117 |
| 5.2.3 | Leistungseintrag..... | 121 |
| 5.2.4 | Mischzeitcharakteristik..... | 122 |
| 5.2.5 | Verweilzeitverhalten im Rieselbettbiofilmreaktor | 124 |
| 6 | Gasfermentationen in Suspensionsreaktoren | 127 |
| 6.1 | Satzprozesse mit <i>Clostridium acetikum</i> | 127 |
| 6.2 | Satzprozesse mit <i>C. carboxidivorans</i> | 133 |
| 6.3 | Vergleich von Gasfermentationen mit <i>C. acetikum</i> und <i>C. carboxidivorans</i> in Suspensionsreaktoren..... | 139 |
| 7 | Gasfermentation mit <i>Clostridium acetikum</i> in Biofilmreaktoren.... | 143 |
| 7.1 | Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf..... | 143 |
| 7.1.1 | Satzprozesse | 143 |
| 7.1.2 | Wiederholtes Satzverfahren..... | 146 |
| 7.1.3 | Kontinuierliche Prozessführung..... | 148 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| 7.2 | Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom | 156 |
| 7.2.1 | Kontinuierliche Prozessführung ohne Flüssigkeitszirkulation | 156 |
| 7.2.2 | Kontinuierliche Prozessführung mit Flüssigkeitszirkulation | 166 |
| 7.3 | Biotrockenmasse und Biofilmbildung | 167 |
| 7.4 | Reproduzierbarkeit | 170 |
| 7.5 | Vergleich von Biofilmreaktoren | 170 |
| 8 | Gasfermentation mit <i>Clostridium carboxidivorans</i> in Biofilmreaktoren..... | 173 |
| 8.1 | Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf | 173 |
| 8.1.1 | Satzprozess | 173 |
| 8.1.2 | Wiederholtes Satzverfahren ohne pH-Kontrolle | 176 |
| 8.1.3 | Wiederholtes Satzverfahren mit pH-Kontrolle | 178 |
| 8.1.4 | Kontinuierlicher Betrieb | 180 |
| 8.2 | Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom | 184 |
| 8.3 | Biotrockenmasse und Biofilmbildung | 187 |
| 8.4 | Reproduzierbarkeit | 187 |
| 8.5 | Vergleich von Biofilmreaktoren | 188 |
| 8.6 | Vergleich von Gasfermentationen mit <i>C. aceticum</i> und <i>C. carboxidivorans</i> | 189 |
| 9 | Zusammenfassung und Ausblick | 193 |
| 10 | Literaturverzeichnis | 201 |
| | Abkürzungs- und Symbolverzeichnis | 225 |
| | Anhang | 233 |
| A.1 | Bioreaktorperipherie | 233 |
| A.2 | Technische Zeichnungen | 238 |
| A.3 | Geräte, Materialien und Stammlösungen..... | 243 |
| A.3.1 | Geräte | 243 |
| A.3.2 | Materialien..... | 245 |
| A.3.3 | Chemikalien | 246 |
| A.3.4 | Stammlösungen | 248 |
| A.4 | Betriebsbedingungen der Langzeitstudien in den Biofilmreaktoren | 251 |
| A.5 | Weiterführende Ergebnisse | 255 |
| A.5.1 | Blasendurchmesser..... | 255 |
| A.5.2 | Benetzungsstudien im Rieselbettbiofilmreaktor | 256 |
| A.5.3 | Reproduzierbarkeit | 263 |

1 Einleitung

Während des 20. Jahrhunderts hat sich die Durchschnittstemperatur der Erdatmosphäre um 1,8 °C erhöht. Diese globale Klimaerwärmung ist schneller als jemals zuvor beobachtet und bringt das Ökosystem Erde aus dem Gleichgewicht. Sie verursacht längere und intensivere Hitzeperioden, Veränderungen in der Tier- und Pflanzenwelt, das Schmelzen von Gletschereis und dadurch die Erhöhung des Meeresspiegels. Damit werden die Landwirtschaft, die Vegetation und der menschliche Lebensraum ernsthaft bedroht. Nach aktuellen Prognosen werden diese Entwicklungen zum Beispiel durch regelmäßige Waldbrände, längere Dürreperioden und häufigere sowie intensivere Wirbelstürme zu spüren sein (NASA's Jet Propulsion Laboratory 2018).

Die Ursache der globalen Klimaerwärmung sind Treibhausgasemissionen, die zu 76 % aus Kohlenstoffdioxid (CO₂) bestehen. Im Jahr 2016 wurden weltweit 36,2 Gigatonnen CO₂ emittiert (Le Quéré *et al.* 2015). Die durchschnittliche CO₂-Konzentration in unserer Atmosphäre nahm seit 1950 um bis zu 25 % auf 407 ppm CO₂ (zum 17.04.2018) zu (NASA's Jet Propulsion Laboratory 2018) und ist die Hauptursache des rasanten Klimawandels. Um die negativen Einflüsse von CO₂ nicht weiter zu verstärken und die Erderwärmung auf eine Erhöhung um 1,5 °C zu beschränken, wurde im Dezember 2015 von 195 Ländern auf der Pariser Klimaschutzkonferenz (COP21) beschlossen, die CO₂-Emissionen zu reduzieren (Philp 2018). Die Europäische Union plant, diese bereits bis zum Jahr 2030 um 40 % zu verringern (European Commission 2015).

86 % des Treibhausgases CO₂ wurden 2014 aus fossilen Rohstoffen und industriellen Abgasen erzeugt (Edenhofer *et al.* 2014). Fossile Brennstoffe wie Kohle, Erdgas und Erdöl sind mit einem Marktanteil von mehr als 80 % im Jahr 2014 nach wie vor die wichtigsten Energieträger und Ausgangsstoffe für Basischemikalien weltweit (IEA Statistics 2018; Friedlingstein *et al.* 2014). Abgesehen von der Treibhausgasbelastung verlangt die Endlichkeit dieser fossilen Ressourcen ein Umdenken auf eine Politik mit erneuerbaren Energien (McGlade und Ekins 2015).

Die Suche nach CO₂-neutralen Alternativen zur Energie- und Kraftstoffgewinnung sowie Chemikalienproduktion in Industrie und Wissenschaft zeigte, dass die Kohlenstofffixierung von CO₂ sowohl thermochemisch über die Fischer-Tropsch-Synthese aber auch biokatalytisch über die sogenannte Gasfermentation mit der Verwendung industrieller CO₂-haltiger Abfallgase erfolgen kann (Liew *et al.* 2016; Daniell *et al.* 2016; Takors *et al.* 2018). Die biokatalytische Umsetzung von CO₂ benötigt dabei zur Reduktion des reaktionsträgen CO₂ zusätzlich Energie, die über Sonnenlicht (photoautotroph), über Wasserstoff (chemoautotroph) oder über Elektronen (Kathode) bereitgestellt werden kann (Dürre und Eikmanns 2015). Die Vorteile des – im Vergleich zum thermochemischen Ansatz – relativ jungen Ansatzes sind moderate Temperaturen (~22-60 °C), geringe Prozessdrücke (1-6 bar), eine hohe Produktspezifität, eine geringe Abhängigkeit des

Prozesses von der Zusammensetzung des Substratgases sowie gute Toleranzen gegenüber Verunreinigungen im Gegensatz zu den sehr anfälligen Metallkatalysatoren der Fischer-Tropsch-Synthese zum Beispiel gegenüber Schwefelverbindungen (Griffin und Schultz 2012).

Der Pionier der Gasfermentation, die Firma LanzaTech (Illinois, USA), zeigte bereits im Jahr 2008 in einem Pilotprojekt in Neuseeland die Produktion von $\sim 57 \text{ m}^3$ Ethanol pro Jahr durch die Verbrennung von CO zu CO_2 und dessen anschließende biokatalytische Fixierung. In den darauffolgenden Jahren (2012 und 2013) wurde die vorkommerzielle Produktion von bis zu 379 m^3 Ethanol pro Jahr in Verbundprojekten von LanzaTech mit dem Stahlherstellern BaoSteel *Group* und Beijing Shougang *Co. Ltd.* als Lieferanten der CO-haltigen Abfallgase in China gezeigt. Durch die Anwendung einfacher und kostengünstiger Bioreaktoren konnten die Treibhausgasemissionen bereits um über 60 %, im Vergleich zur konventionellen Synthese dieser preisgünstigen Basischemikalien aus fossilen Rohstoffen, reduziert und die Produktionskosten gesenkt werden (LanzaTech 2018). Damit zeigt LanzaTech ohne Zweifel die Robustheit, die Rentabilität sowie die Umsetzbarkeit und das Potential der Gasfermentation im großtechnischen Maßstab (Heijstra *et al.* 2017; Redl *et al.* 2017).

2 Problemstellung und Zielsetzung

Synthesegase, die zum Großteil aus Kohlenstoffmonoxid (CO), Kohlenstoffdioxid (CO₂) und Wasserstoff (H₂) bestehen, können von Mikroorganismen, den sogenannten acetogenen Bakterien, über biochemische Stoffwechselwege zu organischen Säuren und Alkoholen biokatalytisch umgesetzt werden (Liew *et al.* 2016). Dieser Prozess wird Gasfermentation genannt (Demirbas 2007). Die Umsetzung ausschließlich anorganischer Verbindungen wird als autotrophe Umsetzung bezeichnet.

Wissenschaftler aus aller Welt beschäftigen sich mit der Charakterisierung der biochemischen Stoffwechselwege und der Reaktionskinetik von sowohl natürlich vorkommenden als auch rekombinanten acetogenen Bakterienstämmen (Acharya *et al.* 2017; Kundiyana *et al.* 2011a; Mayer und Weuster-Botz 2017; Perez *et al.* 2013). Die Charakterisierung findet im Labormaßstab entweder in Anaerobflaschen oder in ideal durchmischten Rührkesselreaktoren mit hohem Leistungseintrag statt. Anaerobflaschen sind gasdichte Glasflaschen und werden primär verwendet, da sie einfach in der Handhabung und kostengünstig in der Beschaffung sind. Die Kontrolle des pH und des Drucks sowie eine kontinuierliche Begasung mit dem gasförmigen Substrat (Synthesegas) sind allerdings nur in vollständig kontrollierten Bioreaktoren möglich (Weuster-Botz 1999). Die häufigste Anwendung von Bioreaktoren sind Rührkesselreaktoren, in denen eine optimale Verfügbarkeit des Synthesegases durch eine kontinuierliche Begasung und ideale Rückvermischung mit mechanisch angetriebenen Rührwerken gewährleistet ist (Bengelsdorf *et al.* 2018). Rührkesselreaktoren im Labormaßstab schaffen eine ideale Umgebung für die Charakterisierung acetogener Bakterien. Dies ermöglicht es, organismusspezifische Informationen zu sammeln und optimale Betriebsbedingungen für die Synthesegasfermentation zu erforschen (Groher und Weuster-Botz 2016a).

Die Gasfermentationen im großtechnischen Maßstab werden aber nicht bei ideal durchmischten Bedingungen, wie sie im Laborrührkesselreaktor simuliert werden, durchgeführt, da dies für die meist niedrigpreisigen Produkte wie Acetat oder Ethanol nicht finanzierbar wäre. Im industriellen Maßstab fanden bisher Blasensäulenreaktoren Anwendung (Daniell *et al.* 2012). Blasensäulenreaktoren sind zylindrische Behälter mit kontinuierlicher Begasung vom Reaktorboden aus und stellen damit die einfachste und kostengünstigste Bauweise von Bioreaktoren dar (Chisti 1989). Eine mögliche Alternative sind Biofilmreaktoren, welche bisher vorrangig in der biologischen Abwasserbehandlung eingesetzt werden und ebenfalls kostengünstig im Aufbau und im Betrieb sind. Sie bieten eine inerte Oberfläche zur Anlagerung von Mikroorganismen. Die Aggregation von Mikroorganismen aneinander und an Oberflächen in Kombination mit der Bildung einer selbstproduzierten Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen, die den Zusammenhalt der Mikroorganismen sichert, wird Biofilmbildung bezeichnet (Flemming *et al.* 2007). Als inerte Oberfläche werden in der Regel Trägermaterialien aus zum Beispiel Kunststoff oder Keramik verwendet (Cowger *et al.* 1992; Shen *et al.* 2017). Zwei mögliche

Ausführungen von Biofilmreaktoren sind Festbettbiofilmreaktoren und Rieselbettbiofilmreaktoren. In Festbettbiofilmreaktoren ist das Festbett dauerhaft von der Flüssigphase umgeben, in Rieselbettbiofilmreaktoren ist im Gegensatz dazu die Gasphase die kontinuierliche Phase (Bredwell *et al.* 1999).

Die meisten Untersuchungen zur biokatalytischen Umsetzung von Synthesegasen mit acetogenen Bakterien werden allerdings in Rührkesselreaktoren im Labormaßstab durchgeführt (Demler und Weuster-Botz 2011; Acharya *et al.* 2017). Das Problem ist, dass die Übertragung der dabei gewonnenen Erkenntnisse in den großtechnischen Maßstab in der Regel nicht einfach ist, da die physikalischen Eigenschaften industrieller Reaktoren stark von jenen ideal durchmischter Laborrührkesselreaktoren abweichen.

Das erste Ziel dieser Arbeit war es daher, einen vollständig kontrollierbaren Mehrzweckbioreaktor zu gestalten, der die Möglichkeit für Untersuchungen zur Gasfermentation in vier verschiedenen Bioreaktortypen gleicher Dimension bietet. Neben dem Betrieb als klassischer Rührkesselreaktor sollte auch ein Betrieb als Blasensäulenreaktor, als Festbettbiofilmreaktor und als Rieselbettbiofilmreaktor ermöglicht werden. Hierzu war die reversible, nicht invasive Umrüstung eines kommerziellen Laborrührkesselreaktors mit Reaktoreinbauten aus Edelstahl geplant, um eine schnelle Verfügbarkeit der verschiedenen Bioreaktoren mit derselben Bioreaktorperipherie zu ermöglichen. Die physikalischen Eigenschaften der verschiedenen Bioreaktoren sollten hinsichtlich Leistungseintrag, Gas-Flüssig-Stofftransport sowie Misch- und Verweilzeitverhalten charakterisiert werden.

Bisher gibt es nur wenige Studien zu Gasfermentationen im Labormaßstab, die nicht Anaerobflaschen oder Rührkesselreaktoren nutzten (Chang *et al.* 2001; Hickey 2007; Devarapalli *et al.* 2017; Richter *et al.* 2013). Die Wechselwirkungen zwischen Bioreaktortyp und biokatalytischen Prozessleistungen suspendierter acetogener Bakterien sind allerdings nur dann quantifizierbar, wenn Untersuchungen mit denselben Zellen bei vergleichbaren Reaktionsbedingungen (Medienzusammensetzung, Temperatur, pH, Synthesegaszusammensetzung, Prozessführung) durchgeführt werden (Groher und Weuster-Botz 2016b). Das Problem ist, dass aktuelle Studien zur Gasfermentation mit suspendierten acetogenen Bakterien in unterschiedlichen Bioreaktoren aufgrund unterschiedlicher Reaktions- und Betriebsbedingungen keine Schlussfolgerungen zu den Wechselwirkungen zwischen Reaktortyp und Stoffwechselleistungen ermöglichen.

Das zweite Ziel dieser Arbeit war es daher, die autotrophe Umsetzung von Synthesegasen in unterschiedlichen Bioreaktoren (Rührkesselreaktor und Blasensäulenreaktor) mit suspendierten acetogenen Bakterien bei identischen Reaktionsbedingungen zu untersuchen. Als Modellorganismen wurden zwei acetogene Bakterien als klassische Vertreter für typische Gasfermentationen gewählt: einerseits *Clostridium aceticum*, das sowohl CO₂ in Kombination mit H₂, als auch CO und somit alle Hauptbestandteile von Synthesegasen zu Acetat verstoffwechseln kann, andererseits *Clostridium carboxidivorans*, das nicht nur

organische Säuren, sondern nachfolgend in einer zweiten Prozessphase auch Alkohole aus CO synthetisieren kann. Der Einfluss der Reaktoreigenschaften auf die Stoffwechsellleistung dieser acetogenen Modellorganismen sollte mit Hilfe kontrollierter Satzprozesse bei identischen Reaktionsbedingungen quantifiziert werden, um damit erstmalig einen direkten Vergleich zwischen Rührkesselreaktor und Blasensäulenreaktor mit suspendierten acetogenen Bakterien im Labormaßstab zu ermöglichen.

Als Alternative zu Blasensäulenreaktoren könnten für die industrielle biokatalytische Umsetzung von Synthesegasen prinzipiell auch Biofilmreaktoren verwendet werden (Daniell *et al.* 2012). Acetogene Bakterien benötigen für die autotrophe Umsetzung von Synthesegasen neben CO₂, H₂ und/oder CO weitere Nährstoffkomponenten, die in der Regel in der Flüssigphase gelöst sind. Aufgrund geringer Wachstumsraten und Zellausbeuten unter autotrophen Bedingungen ist die kontinuierliche Erneuerung der Flüssigphase (kontinuierlicher Betrieb) mit Verweilzeitentkopplung der acetogenen Bakterien von der Flüssigphase mit Biofilmreaktoren sinnvoll, um höhere volumetrische Produktivitäten zu erreichen (Kantzow *et al.* 2015; Shen *et al.* 2014a). Das Problem ist, dass die wenigen existierenden Studien zur Gasfermentation mit immobilisierten acetogenen Bakterien in unterschiedlichen Biofilmreaktoren aufgrund unterschiedlicher Reaktions- und Betriebsbedingungen sowie Dimensionen keine Schlussfolgerungen zu den Wechselwirkungen zwischen Reaktortyp und Stoffwechselleistungen ermöglichen.

Das dritte Ziel dieser Arbeit war es daher, die autotrophe Umsetzung von Synthesegasen in unterschiedlichen Biofilmreaktoren (Festbettbiofilmreaktor und Rieselbettbiofilmreaktor) mit immobilisierten acetogenen Bakterien bei vergleichbaren Prozessbedingungen zu untersuchen. Hierzu sollten zunächst unterschiedliche Trägermaterialien für die Immobilisierung von *Clostridium aceticum* und *Clostridium carboxidivorans* untersucht werden. Im Anschluss war es geplant, die Immobilisierung der acetogenen Bakterien im Festbettbiofilmreaktor im Satzverfahren zu ermöglichen. Weiterhin sollte die autotrophe Umsetzung von Synthesegasen beim kontinuierlichen Betrieb mit Verweilzeitentkopplung der acetogenen Bakterien von der Flüssigphase durch Biofilmbildung im Festbettbiofilmreaktor und im Rieselbettbiofilmreaktor untersucht und die Prozessleistung der acetogenen Bakterien in den beiden Biofilmreaktoren verglichen werden. Abschließend war es geplant, die autotrophe Umsetzung von Synthesegasen in Biofilmreaktoren mit jener in Suspensionsreaktoren zu vergleichen.

3 Theoretische Grundlagen

3.1 Acetogenese

Acetogene Mikroorganismen (Acetogene, engl. *acetogens*) bilden eine heterogene Gruppe obligat anaerober Bakterien, die den Acetyl-CoA-Stoffwechselweg für drei Anwendungen vorherrschend verwenden (Drake 1994):

- i. als Mechanismus für die reduktive Synthese von Acetyl-CoA aus CO₂
- ii. als Prozess der terminalen Elektronenannahme und -konservierung
- iii. zur Kohlenstofffixierung in Form von Biomasse

Als Substrat- und Energiequelle können meistens fakultativ CO₂ als Oxidationsmittel und H₂ als Reduktionsmittel, aber auch CO als alleinige Kohlenstoffquelle unter strikt anaeroben Bedingungen verwendet werden (Ragsdale 2004). Diese Form des Stoffwechsels, in dem nur anorganische Verbindungen umgesetzt werden, wird als Chemolithoautotrophie bezeichnet. Die Bakterien wachsen und produzieren auch, indem sie organismusspezifisch verschiedene Monosaccharide (zum Beispiel Glucose, Fructose, Xylose) heterotroph, das heißt auf Basis organischer Moleküle, verstoffwechseln (Drake *et al.* 2006).

Im Jahr 1932 wurde erstmals die Synthese von Acetat aus CO₂ und H₂ in Faulschlamm veröffentlicht (Fischer *et al.* 1932). Kurz darauf wurde das erste acetogene Bakterium, *Clostridium acetium*, aus alkalischem Schlammextrakt isoliert (Wieringa 1936, 1939). Anschließend wurde ein weiterer Mikroorganismus, *Moorella thermoacetica*, in Pferdefäkalien gefunden (Fontaine *et al.* 1942). Bis zu 100 Spezies aus 25 Gattungen konnten bisher aus sauerstoffarmen Lebensräumen der Erde isoliert werden (Collins *et al.* 1994). Diese waren beispielsweise Frisch-, Klär-, Kalt- und Warmwassersedimente (Andreesen *et al.* 1970), Verdauungstrakte (Bernalier 1996) sowie Schlicke, Schlämme und Erdreiche (Drake *et al.* 1997). Durch die vielfältigen Vorkommnisse dieser Bakterienart unterscheiden sich die Spezies auch in ihren optimalen Wachstumsbedingungen. Reaktionstechnische Untersuchungen zeigten mesophile (Balch *et al.* 1977), thermophile (Slepova 2006), psychrophile (Kotsyurbenko *et al.* 1995), alkaliphile (Wieringa 1939) und halophile (Zavarzin *et al.* 1994) Eigenschaften der Stämme. Das Hauptstoffwechselprodukt acetogener Mikroorganismen ist Essigsäure (Braun *et al.* 1981). Weitere Produkte sind organische Säuren wie Buttersäure (Krumholz und Bryant 1986) und Hexansäure (Ramió-Pujol *et al.* 2015b) oder Alkohole wie Ethanol (Kundiyana *et al.* 2011b), Butanol (Lynd *et al.* 1982), Hexanol (Phillips *et al.* 2015). Für weitere Stoffwechselprodukte und optimale Wachstumsbedingungen wird auf die detaillierte Literatur verwiesen (Drake *et al.* 2006; Acharya *et al.* 2015; Bengelsdorf *et al.* 2018).

In dieser Arbeit wurden zwei Bakterienstämme aus der Gattung der Clostridien, *Clostridium acetium* und *Clostridium carboxidivorans* P7, für Untersuchungen zum

chemolithoautotrophen Stoffwechsel verwendet. Deren Eigenschaften werden in den folgenden Abschnitten erläutert.

3.1.1 Verwendete Bakterienstämme

Clostridium aceticum

Der acetogene Mikroorganismus *Clostridium aceticum*^T (DSM 1496) wurde aus Schlamm als Reinkultur isoliert und war der erste Stamm, mit dem die Chemolithotrophie über CO₂ und H₂ bei anaeroben Bedingungen beschrieben wurde (Wieringa 1936, 1939). Später wurde bekannt, dass *C. aceticum* auch mit CO als alleinige Kohlenstoff- und Energiequelle wachsen und produzieren kann (Lux und Drake 1992). Der obligat-anaerobe Mikroorganismus kann unter anderem mit den Substraten Fructose, Ribose und Glutamat heterotroph wachsen (Braun und Gottschalk 1981; Braun *et al.* 1981). Das Hauptstoffwechselprodukt des Bakteriums ist Acetat (Ljungdahl 1986). Bei Hemmungen des Stoffwechselweges entsteht das Zwischenprodukt Formiat (Mayer und Weuster-Botz 2017). *C. aceticum* ist Gram-negativ, ungefähr 1 µm dick und 5 µm lang (Abbildung 3.1 A) und bildet terminale Endosporen. Es hat sein Temperaturoptimum bei 30 °C und bevorzugt einen alkalischen pH zwischen pH 8,0 und pH 8,3 (Braun *et al.* 1981). Die komplette Genomsequenz des stäbchenförmigen Bakteriums von 4,2 Mbp (engl. *mega base pairs*) wurde sequenziert (Poehlein *et al.* 2015). Die Desoxyribonukleinsäure (DNS) enthält 33 mol% Guanin und Cytosin (Braun *et al.* 1981). Die Acetatbildung von *C. aceticum* ist wachstumsassoziiert. Das Wachstumsverhalten ist Na⁺-abhängig und zeigte sein Optimum bei 60-90 mM Na⁺ bei Satzprozessen mit kontinuierlicher CO:N₂ (1:9) Begasung (30 °C, pH 8.0) (Mayer und Weuster-Botz 2017).

Bis jetzt sind wenige Studien zur autotrophen Prozessführungen mit *C. aceticum* bekannt: Die maximale Acetatkonzentration in Serumflaschen (50 mL Arbeitsvolumen, 30 °C, pH 8,5) von 37,8 mM (2,3 g L⁻¹) wurde autotroph bei einer Biotrockenmassekonzentration (BTM) von 0,8 g L⁻¹ und einem CO-Initialkopfraumpartialdruck von 1.571 mbar in drei Tagen erreicht (Sim *et al.* 2007). Mayer und Weuster-Botz (2017) zeigten Biotrockenmassekonzentrationen von bis zu 2,0 g L⁻¹ nach zwei Tagen im kontinuierlich begasten Rührkesselreaktor (1 L; 30 °C; pH 8; 6,8 W L⁻¹ Leistungseintrag, 10 L L⁻¹ h⁻¹ kontinuierliche Begasung, CO:N₂ 1:9) und eine Acetatkonzentration von 261,4 mM (15,7 g L⁻¹) nach drei Tagen. Die maximale Acetatkonzentration wurde in demselben Bioreaktor mit einem CO₂:H₂:N₂-Gasgemisch (12:10:3) mit 291,4 mM (17,3 g L⁻¹) bei einer maximalen Biotrockenmassekonzentration von 1,5 g L⁻¹ erreicht. Untersuchungen in Anaerobflaschen (163 mL; 30 °C; Schüttelfrequenz: 200 min⁻¹; 1,8 bar; CO:H₂:Ar 39:2:9) zeigten vergleichbare zeitliche Verläufe der Biotrockenmasse- und Acetatkonzentrationen sowie der CO-Aufnahmeraten für Satzprozesse mit *C. aceticum* mit L-Cystein-Hydrochlorid-Monohydrat- sowie Natriumsulfidkonzentrationen von bis zu 0,5 g L⁻¹. Die maximale Biotrockenmassekonzentration war 0,8 g L⁻¹, die maximale Acetatkonzentration 2,4 g L⁻¹ und die maximale CO-Aufnahmerate 5,8 mmol L⁻¹ h⁻¹ (Sim und Kamaruddin 2008).

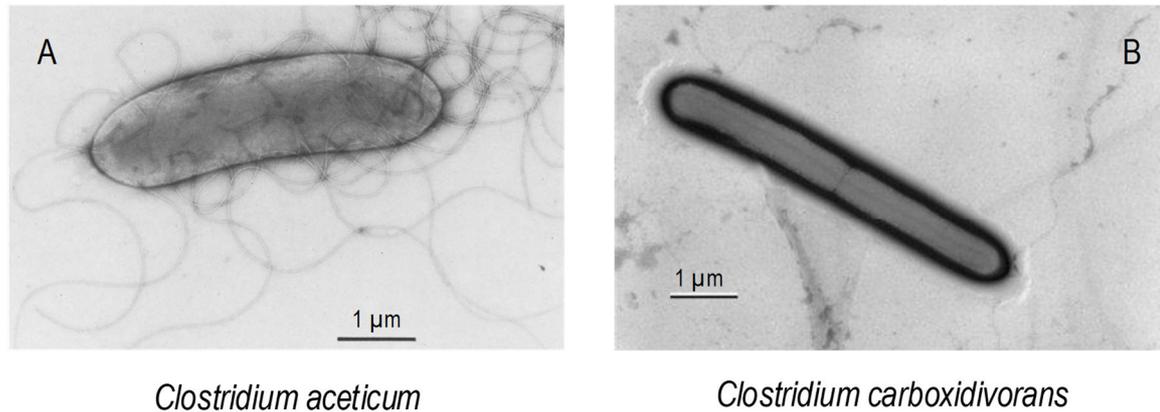


Abbildung 3.1: Aufnahme im Elektronenmikroskop von *C. acetivum* mit peritrichen Flagellen durch Braun *et al.* (1981) (links, A) und *C. carboxidivorans* durch Liou *et al.* (2005) (rechts, B).

Clostridium carboxidivorans

Der Stamm P7 (DSM 15243) wurde von Rossukon Laopaiboon als Sediment in einem landwirtschaftlichen Klärteich an der *Oklahoma State University* (Stillwater, Oklahoma, USA) isoliert. Im Jahr 2005 haben Liou *et al.* (2005) gezeigt, dass P7 chemolithoautotroph auf $\text{CO}_2:\text{H}_2$ und CO wachsen kann und diesen auf *Clostridium carboxidivorans* P7^T umbenannt. Das obligat anaerobe, acetogene Bakterium ist Grampositiv, 0,5 μm breit, 3,0 μm lang und kommt als freibewegliches Stäbchen alleine und in Paaren vor (siehe Abbildung 3.1 B). Es bildet terminale Sporen und wächst heterotroph unter anderem auf Glucose, Fructose, Galactose und Xylose (Liou *et al.* 2005). Das Temperaturoptimum liegt bei 37-40 °C. *C. carboxidivorans* ist sehr temperatur- und pH-tolerant zwischen 24 °C und 42 °C sowie pH 4,4 und pH 7,6. Das pH-Optimum liegt zwischen pH 5,0 und pH 7,0 (Liou *et al.* 2005; Acharya *et al.* 2015; Fernández-Naveira *et al.* 2016a). Eine detaillierte Analyse der Genomsequenz mit 5,65 Mbp wurde 2010 publiziert (Bruant *et al.* 2010). Die Desoxyribonukleinsäure (DNS) enthält 31-32 mol% Guanin und Cytosin.

Die Besonderheit von *C. carboxidivorans* gegenüber *C. acetivum* ist die natürliche Fähigkeit des Wildtypstammes zwei unterschiedliche Prozessphasen in Satzprozessen ohne pH-Kontrolle zu durchlaufen:

- i. Acidogenese: Das Stoffwechselprodukt Acetat wird bei vorteilhaftem pH > 5,0 primär gebildet und es erfolgt Wachstum. Die Akkumulation der gebildeten Säure senkt den pH.
- ii. Solventogenese: Die gebildeten Säuren werden aufgrund eines unvorteilhaften pH < 5,0 zu Alkoholen umgesetzt. Durch den Verbrauch der Säuren steigt der pH. Es erfolgt kein Wachstum mehr.

Die Stoffwechselprodukte des Metabolismus' von *C. carboxidivorans* sind Acetat, Ethanol, Butyrat, 1-Butanol, Hexanoat und 1-Hexanol. Informationen zu Einflussparametern auf den Stoffwechselweg von *C. carboxidivorans* wie Medienbestandteile oder die Temperatur sind für diese Arbeit nicht relevant und ausführlich in der Literatur beschrieben

(Ahmed *et al.* 2006; Phillips *et al.* 2015; Ramió-Pujol *et al.* 2015b; Fernández-Naveira *et al.* 2016b, 2016c; Abubackar *et al.* 2018).

In den letzten 13 Jahren wurden eine Vielzahl von Untersuchungen zur Gasfermentation mit *C. carboxidivorans* durchgeführt. Details sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst.

Tabelle 3.1: Maximale Produktkonzentrationen in Satzprozessen mit *C. carboxidivorans*.

| Substrat p _i , v/v | T, °C | pH ₀ , - | Produkt, mM | Produkt, g L ⁻¹ | Referenz | |
|---|----------|--------------------------------|----------------|-------------------------------|-----------|---|
| CO 1 | 33,0 | 5,75 | 91,6 | 5,50 | Acetat | (Fernández-Naveira <i>et al.</i> 2016c) |
| | | | 120,5 | 5,55 | Ethanol | |
| | | | 17,2 | 1,50 | Butyrat | |
| | | | 35,9 | 2,66 | 1-Butanol | |
| CO:CO ₂ :H ₂ :N ₂ 4:1:3:12 | 37,0 | unkontrolliert 5,75 | 31,0 | 1,86 | Acetat | (Ukpong <i>et al.</i> 2012) |
| | | | 43,0 | 1,98 | Ethanol | |
| | | | 0,7 | 0,06 | Butyrat | |
| | | | 7,1 | 0,52 | 1-Butanol | |
| CO:CO ₂ :H ₂ :N ₂ 4:3:1:12 (mixotroph) | 37,0 | unkontrolliert 6,0 (3 Tage) | 66,6 | 4,00 | Acetat | (Shen <i>et al.</i> 2014a) |
| | | | 249,6 | 11,50 | Ethanol | |
| CO:CO ₂ :H ₂ :N ₂ 8:2:8:7 (2 bar) | 25,0 | unkontrolliert 5,9 | 22,0 | 1,32 | Acetat | (Ramió-Pujol <i>et al.</i> 2015b) |
| | | | 17,0 | 0,78 | Ethanol | |
| | | | 6,0 | 0,52 | Butyrat | |
| | | | 7,7 | 0,57 | 1-Butanol | |
| | | | 6,0 | 0,70 | Hexanoat | |
| | | | 4,7 | 0,48 | 1-Hexanol | |
| CO:CO ₂ :H ₂ 7:1:2 (2,38 bar) | 37,0 | unkontrolliert 5,9 | 33,6 | 2,02 | Acetat | (Phillips <i>et al.</i> 2015) |
| | | | 70,5 | 3,25 | Ethanol | |
| | | | 7,3 | 0,64 | Butyrat | |
| | | | 14,7 | 1,09 | 1-Butanol | |
| | | | 3,1 | 0,36 | Hexanoat | |
| | | | 9,2 | 0,94 | 1-Hexanol | |

Die maximale Acetatkonzentration konnte in Satzprozessen im kontinuierlich begasten Rührkesselreaktor (1,2 L; 250 U min⁻¹; pH 5,75 (kontrolliert); 33 °C, kontinuierlicher Gasvolumenstrom bei 0,5 L L⁻¹ h⁻¹; 100 % CO) mit 91,6 mM (5,5 g L⁻¹) nach etwa 5 Tagen erreicht werden (Fernández-Naveira *et al.* 2016c). Deutlich weniger Produkt wurde im 7,5 L-Rührkesselreaktor (3,0 L Arbeitsvolumen; 150 U min⁻¹; pH₀ 5,75 (unkontrolliert); 37 °C) bei höherer kontinuierlicher Begasung (2 L L⁻¹ h⁻¹) mit einer anderen Synthesegasmischung (CO:CO₂:H₂:N₂ 4:1:3:12) erhalten. Im anfänglich mixotroph (Anfangskonzentration: 10 g L⁻¹ D-Fructose) betriebenen kontinuierlich begasten (30 L L⁻¹ h⁻¹; CO:CO₂:H₂:N₂ 4:3:1:12) suspendierten monolithischen Biofilmreaktor (8,0 L

Arbeitsvolumen; pH₀ 6 für drei Tage dann unkontrolliert, Flüssigvolumenstrom: 12 L h⁻¹) wurde die maximale Ethanolkonzentration von 249,6 mM (11,50 g L⁻¹) nach 15 Tagen Satzprozess veröffentlicht (Shen *et al.* 2014a). Zwei weitere Studien zeigten die Fähigkeit von *C. carboxidivorans* C₆-Moleküle zu synthetisieren (Phillips *et al.* 2015; Ramió-Pujol *et al.* 2015b). Phillips und seine Kollegen entdeckten den Effekt von Spurenelementen auf die Alkoholproduktion und erreichten 9,2 mM (0,94 g L⁻¹) 1-Hexanol in geschüttelten Anaerobflaschen (50 mL; 0-150 U min⁻¹; 37°C; 2,38 bar oder weniger; CO:CO₂:H₂ 7:1:2), während Ramió und Co-Autoren ähnliche Konzentrationen von 4,7 mM (0,48 g L⁻¹) 1-Hexanol bei 25 °C Medientemperatur, bei täglicher Synthesegaserneuerung im Kopfraum der Kulturröhrchen, quantifizierten (6 mL; 2 bar; CO:CO₂:H₂:N₂ 8:8:7:2).

Details zu kontinuierlichen Prozessen sind im Abschnitt 3.4 beschrieben und in Tabelle 3.5 zusammengefasst.

3.1.2 Heterotropher Stoffwechsel

Acetogene Mikroorganismen sind in der Lage neben CO₂, H₂ und CO auch organische Substrate chemoorganotroph zu verstoffwechseln. In Abbildung 3.2 ist der heterotrophe Stoffwechselweg vereinfacht am Beispiel einer Hexose dargestellt.

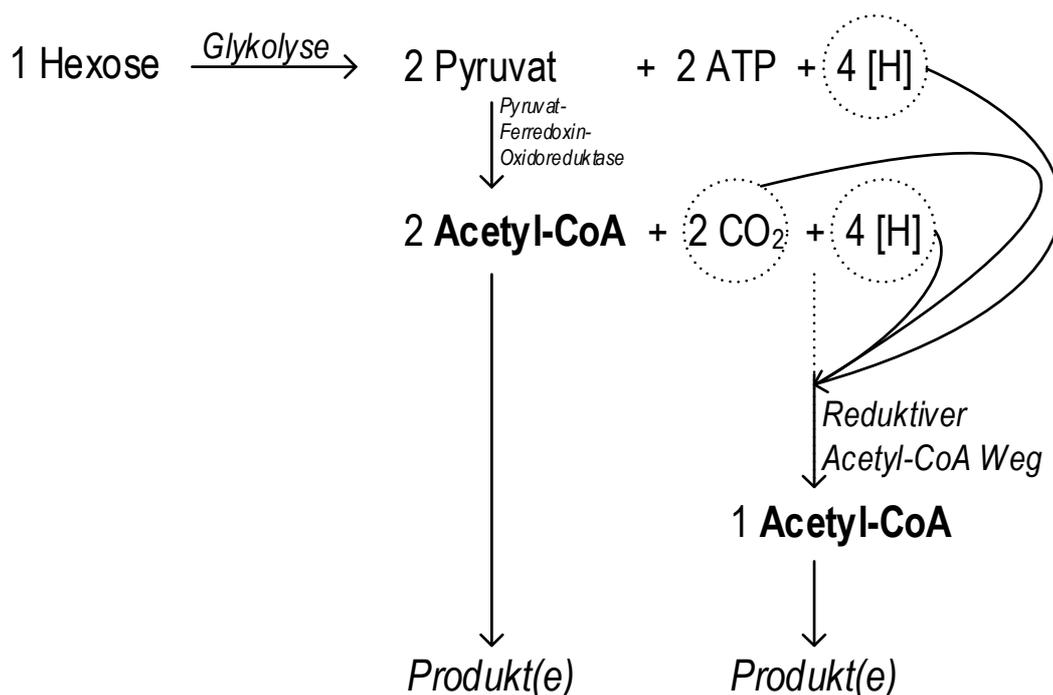


Abbildung 3.2: Vereinfachte Darstellung der enzymatischen Reaktionsabläufe einer heterotropen Verstoffwechslung am Beispiel einer Hexose nach Müller *et al.* (2004), Drake (1994) sowie Ljungdahl und Wood (1969). ATP entspricht der durch Substratkettenphosphorylierung gewonnenen Energie, [H] symbolisiert ein Reduktionsäquivalent (H⁺ + e⁻). Abkürzungen: ATP, Adenosintriphosphat; Acetyl-CoA, Acetyl Coenzym A.

Ein Mol Hexose wird über die Glykolyse zu zwei Mol Pyruvat gespalten. Dabei werden zwei Adenosintriphosphat (ATP) über Substratkettenphosphorylierung und vier Reduktionsäquivalente ([H]), was einem Proton (H⁺) und einem Elektron (e⁻) entspricht,

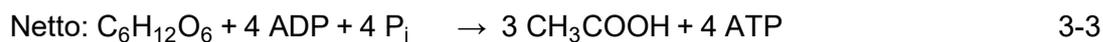
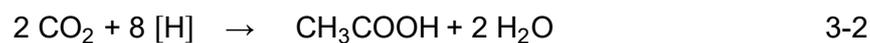
gewonnen. Zwei Mol Pyruvat werden über das Enzym Pyruvat-Ferredoxin-Oxidoreduktase unter Abspaltung von zwei Mol CO_2 und weiteren vier Reduktionsäquivalenten zu zwei Mol Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA) oxidiert. Zwei Mol gewonnenes CO_2 und die acht Reduktionsäquivalente werden in weiterer Folge über den reduktiven Acetyl-CoA-Stoffwechselweg zu einem Mol Acetyl-Coenzym A reduziert. Der Mechanismus ist detailliert im folgenden Abschnitt 3.1.3 beschrieben. Drei Mol Acetyl-Coenzym A können nun organismusspezifisch zu einem oder mehreren Produkten verstoffwechselt werden.

Wie bereits in Abschnitt 3.1.1 erläutert hat *C. aceticum* laut Literatur Acetat als primäres Stoffwechselprodukt (Braun *et al.* 1981). Die Reaktionsgleichungen und die Netto-Bilanzgleichung für die Acetat-Synthese aus Glucose sind in Gleichung 3-1 bis 3-3 zusammengefasst.

Oxidation:



Reduktion:



Aus einem Mol Glucose werden exergon drei Mol Acetat gebildet ($\Delta G^0 = -311 \text{ kJ mol}^{-1}$) (Müller *et al.* 2004).

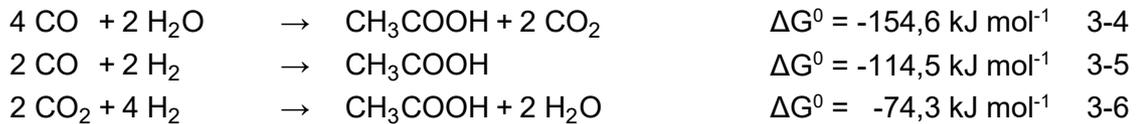
3.1.3 Autotropher Stoffwechsel

Acetogene Mikroorganismen können CO_2 , H_2 und CO chemolithoautotroph zur Energiekonservierung und Kohlenstofffixierung nutzen. Über 30 Jahre nach der ersten Entdeckung der autotrophen Acetatbildung aus CO_2 und H_2 (Fischer *et al.* 1932) konnten Wood und Ljungdahl 1969 erstmals einen Stoffwechselweg für *Moorella thermoacetica* (früher: *Clostridium thermoaceticum*) beschreiben (Ljungdahl und Wood 1965, 1969). Das wichtigste Zwischenprodukt dieses Stoffwechselweges ist Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA), welches zu weiteren Produkten, wie zum Beispiel Acetat, enzymatisch umgesetzt wird. Deshalb wird dieser bioenzymatische Stoffwechsel auch „reduktiver Acetyl-CoA Weg“ oder nach seinen Erfindern „Wood-Ljungdahl Stoffwechselweg“ genannt (Ragsdale 2008).

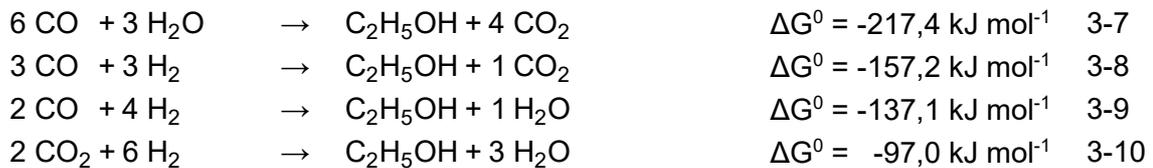
Die Nettogleichungen und die freien Standardenthalpien (ΔG^0) für die Bildung von Acetat, Ethanol, Butyrat, 1-Butanol, Hexanoat und 1-Hexanol aus CO , CO_2 und H_2 in wässrigem Medium sind in den Reaktionsgleichungen 3-4 bis 3-23 zusammengefasst (Fernández-Naveira *et al.* 2017b). Der Stoffwechselweg ist in einen Methyl- (engl. *eastern branch*) und einen Carbonylzweig (engl. *western branch*) aufgeteilt (Ragsdale 1997) und in Abbildung 3.3 dargestellt. Dieser funktioniert sowohl mit den Substraten $\text{CO}_2\text{:H}_2$, als auch mit CO als alleinige Kohlenstoff- und Energiequelle. Dabei wird CO über die biologische Wassergas-

Shift-Reaktion mit einer CO-Dehydrogenase (1) zu CO₂ und H₂ umgesetzt (Imkamp und Müller 2007) Für die reduktive Synthese von Acetyl-Coenzym A sind mehrere Reduktionsäquivalente ([H]) notwendig. Diese können über eine Hydrogenase (2) aus der Energiequelle H₂ gewonnen werden.

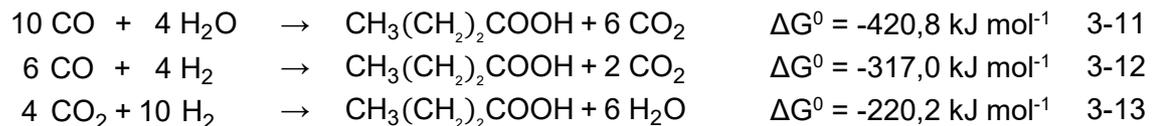
Essigsäure (CH₃COOH):



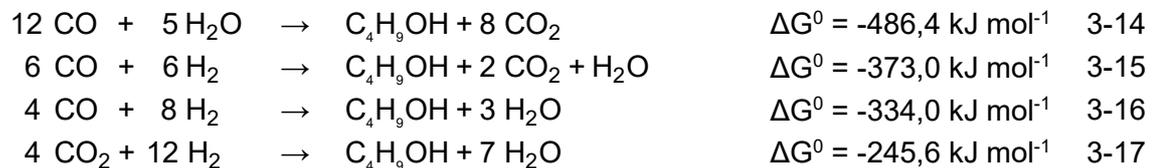
Ethanol (C₂H₅OH):



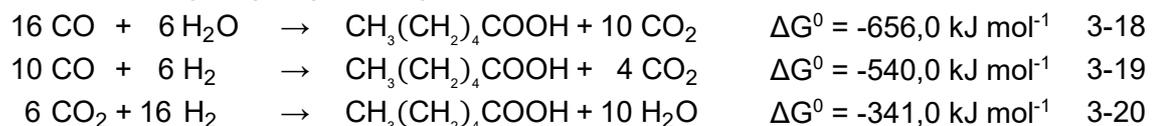
Buttersäure (CH₃(CH₂)₂COOH):



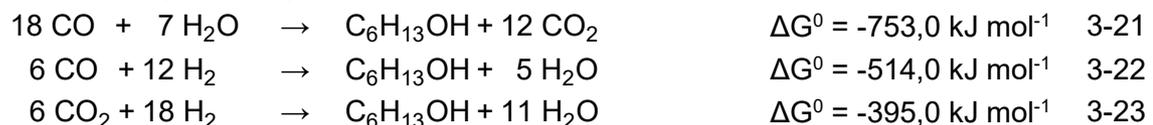
1-Butanol (C₄H₉OH):



Hexansäure (CH₃(CH₂)₄COOH):



1-Hexanol (C₆H₁₃OH):



Das Ausgangsmolekül des Methylzweiges ist CO₂, das mit zwei Reduktionsäquivalenten über eine Formiat-Dehydrogenase (3) zu Formiat reduziert wird. Mit Tetrahydrofolat (THF) wird unter dem Verbrauch von einem Adenosintriphosphat (ATP) in Anwesenheit von Formyl-Tetrahydrofolat Synthetase (4) Formyl-Tetrahydrofolat gebildet. Dieses reagiert unter Abspaltung von Wasser mit Methenyl-Tetrahydrofolat Cyclohydrolase (5) zu

Methenyl-Tetrahydrofolat. Die weitere Reduktion mit zwei Reduktionäquivalenten und Methylen-Tetrahydrofolat Dehydrogenase (6) ergibt Methylen-Tetrahydrofolat, das mit weiteren zwei Reduktionäquivalenten und Methylen-Tetrahydrofolat Reduktase (7) zu Methyl-Tetrahydrofolat reduziert wird. Darauf folgend wird Tetrahydrofolat (THF) wieder abgespalten, somit nicht verbraucht und kann zur erneuten reduktiven Verwertung von CO₂ im Methylzweig genutzt werden. Die Abspaltung erfolgt durch einen Corrinoid-Eisen-Schwefel-Protein-Komplex (CoFeS-P), der mit einer Methyltransferase (8) zu einem Methyl-Corrinoid-Eisen-Schwefel-Protein Komplex methyliert wird. Dieser wird mit Coenzym A (HS-CoA) sofort abgespalten und mit CO und einer Acetyl-CoA Synthetase (9) Acetyl-Coenzym A gebildet. CO wird aus dem Carbonylzweig genutzt. Die Bildung von CO bei CO-freien Substraten erfolgt über eine CO-Dehydrogenase (1) mit dem Verbrauch von zwei Reduktionsäquivalenten. Das gebildete zentrale Stoffwechselintermediat Acetyl-Coenzym A kann in weiterer Folge entweder für den Aufbau von Biomasse (Anabolismus) oder mit Monophosphat (P_i) und Phosphotransacetylase (10) unter Freisetzung von Coenzym A zu Acetylphosphat reagieren. Dieses wird dann über die Rückgewinnung von Adenosintriphosphat mit Acetatkinase (11) zu Acetat verstoffwechselt.

Mit CO₂:H₂-Substratgemischen werden so für zwei Mol CO₂ unter dem Verbrauch von acht Mol Reduktionsäquivalenten ein Mol Acetat gebildet. Das entspricht dem stöchiometrischen Verbrauch von vier H₂-Molekülen (siehe Reaktionsgleichung 3-6). Alle katalytisch verwendeten Moleküle (THF, CoFeS-P) wurden nicht verbraucht und eingesetztes Adenosintriphosphat rückgewonnen, sodass deren Nettobilanz gleich Null ist. An dieser Stelle soll darauf hingewiesen werden, dass aufgenommene Substrate wegen des Erhaltungsstoffwechsel und des Anabolismus nicht komplett stöchiometrisch zu Acetat umgesetzt werden können (Eden und Fuchs 1982). Nach Wood-Ljungdahl endet der Acetyl-CoA-Stoffwechselweg an dieser Stelle.

Einige acetogene Mikroorganismen können jedoch weitere Produkte aus Acetyl-Coenzym A synthetisieren (Min *et al.* 2013), wie es in Abbildung 3.3 am Beispiel von *C. carboxidivorans* gezeigt wird. Die Verteilung des Produktspektrums kann dabei von mehreren Faktoren wie für *C. carboxidivorans* der pH des Mediums (Fernández-Naveira *et al.* 2017a), die Medienbestandteile (Phillips *et al.* 2015) oder die Temperatur (Ramió-Pujol *et al.* 2015b) beeinflusst werden. Details zum Stoffwechsel von *C. carboxidivorans* für die Biokatalyse von Ethanol, Butyrat, 1-Butanol, Hexanoat und 1-Hexanol sollen im Folgenden erläutert werden:

Weitere Produkte werden ausgehend von Acetyl-Coenzym A oder den gebildeten Carbonsäuren synthetisiert. Generell können Säuren mittels Aldehyd:Ferredoxin Oxidoreduktase (12) durch die Oxidation von Ferredoxin (Fd) zu Aldehyden reduziert werden. Zur Bildung von Ethanol wird Acetyl-Coenzym A mit zwei Reduktionsäquivalenten und dem bifunktionellen Enzym Aldehyd/Alkohol Dehydrogenase (13) zu Acetaldehyd und mit zwei weiteren Reduktionsäquivalenten zu Ethanol reduziert (Köpke *et al.* 2011a).

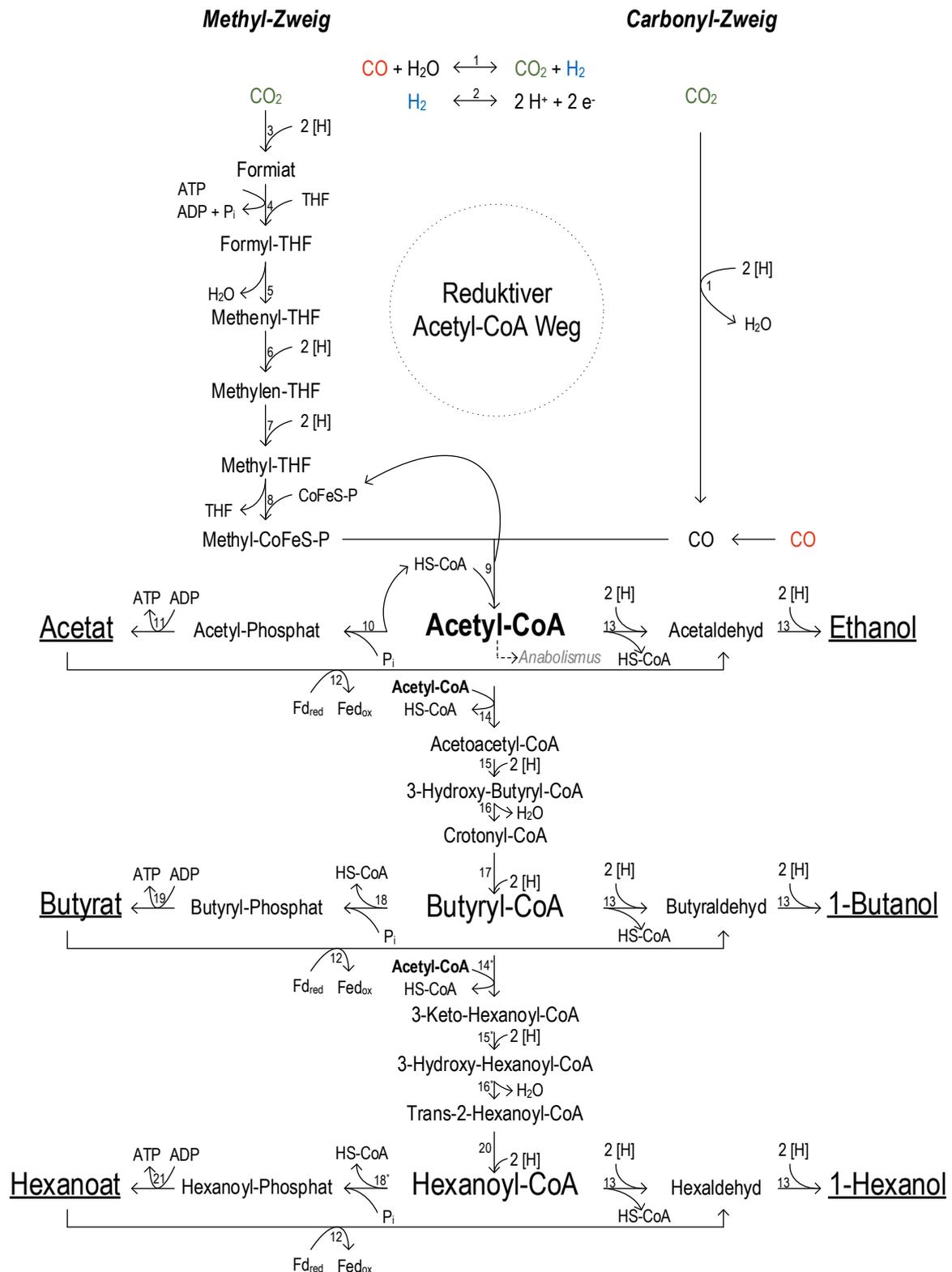


Abbildung 3.3: Darstellung der enzymatischen Reaktionsabläufe des reduktiven Acetyl-CoA Stoffwechselweges zu dem Produkt Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA) und dessen mögliche Weiterverarbeitung am Beispiel *C. carboxidivorans*, abgeändert nach Bengelsdorf *et al.* (2018). Die katalysierenden Enzyme sind als Zahlen (1-21) dargestellt und im Text detailliert angegeben. Abkürzungen: [H], Reduktionsäquivalent; H⁺, Proton; e⁻, Elektron; ATP, Adenosintriphosphat; ADP, Adenosindiphosphat; P_i, Monophosphat; THF, Tetrahydrofolat; CoFeS-P, Corrinoid-Eisen-Schwefel-Protein; HS-CoA, Coenzym A; Fd_{red/ox}, reduziertes/oxidiertes Ferredoxin; *, Enzyme nicht vollständig charakterisiert.

Die C₄-Moleküle Butyrat und 1-Butanol werden über Substratkettenverlängerung durch Kondensation zweier Acetyl-Coenzym A synthetisiert. Dabei wird Coenzym A abgespalten und Acetoacetyl-Coenzym A mit Hilfe einer Thiolase (14) gebildet. Dieses wird mit zwei Reduktionsäquivalenten mit 3-Hydroxy-Butyryl-Coenzym A Dehydrogenase (15) zu 3-Hydroxy-Butyryl-Coenzym A reduziert. Durch Abspaltung von Wasser mit Crotonase (16) wird Crotonyl-Coenzym A gebildet, welches mit zwei Reduktionsäquivalenten und Butyryl-Coenzym A Dehydrogenase (17) zu Butyryl-Coenzym A reduziert wird. Ausgehend von diesem Intermediat kann Butyrat ähnlich wie Acetat mit Phosphotransferase (18) über Butyryl-Phosphat mit dem Gewinn eines Adenosintriphosphats mittels Butyrat-Kinase (19) gebildet werden. 1-Butanol wird über das Intermediat Butyraldehyd über zweifache Reduktion mit je zwei Reduktionsäquivalenten und der bifunktionellen Aldehyd/Alkohol Dehydrogenase (13) hergestellt (Ezeji *et al.* 2007).

Die Synthese von C₆-Körpern wie Hexanoat und 1-Hexanol erfolgt ausgehend von Butyryl-Coenzym A durch Kondensation eines weiteren Acetyl-Coenzym A unter Abspaltung von Coenzym A. Hexanoyl-Coenzym A entsteht über die Intermediate 3-Keto-Hexanoyl-Coenzym A, 3-Hydroxy-Hexanoyl-Coenzym A und Trans-2-Hexanoyl-Coenzym A durch die enzymatische Reduktion und Wasserabspaltung mit einer zweiten Thiolase (14*), zweiten 3-Hydroxy-Butyryl-Coenzym A Dehydrogenase (15*), zweiten Crotonase (16*) und einer Trans-Enoyl-Coenzym A Reduktase (20). Die mit „Stern“ markierten Enzyme sind jenen bei der Synthese von Butyryl-Coenzym A sehr ähnlich, aber noch nicht vollständig charakterisiert (Seedorf *et al.* 2008; Fernández-Naveira *et al.* 2017b). Hexanoat wird, ähnlich wie bei Acetat und Butyrat, über Hexanoyl-Phosphat mit einer zweiten Phosphotransferase (18*) und einer Fettsäurenkinase (21) gewonnen. Die Synthese von 1-Hexanol erfolgt über die zweifache Reduktion von Hexanoyl-Coenzym A über Hexaldehyd mit der bifunktionellen Aldehyd/Alkohol Dehydrogenase (13).

Für weitere Details des reduktiven Acetyl-CoA Stoffwechselweges wird auf die weiterführende Literatur verwiesen (Daniell *et al.* 2012; Bengelsdorf *et al.* 2018; Bengelsdorf *et al.* 2013; Ljungdahl 1986; Ragsdale 1997, 2008; Ragsdale und Pierce 2008; Diekert und Wohlfarth 1994; Köpke *et al.* 2011b)

3.2 Biofilme

Die überwiegende Mehrheit der Untersuchungen von Mikroorganismen im Labormaßstab wird aktuell mit frei beweglichen Einzelzellen in Suspension, welche als Mikroorganismen in planktonischer Form bezeichnet werden, durchgeführt (Harrison *et al.* 2005). Die meisten Mikroorganismen leben aber nicht als reine Kulturen suspendierter Zellen, sondern als polymikrobielle Aggregate wie Filme, Matten, Flocken oder Schlämme, die zusammengefasst als Biofilme bezeichnet werden. Sie unterscheiden sich physiologisch und morphologisch von suspendierten Mikroorganismen und bilden sich an wasserhaltigen Grenzflächen aus (Flemming und Wingender 2010; Gilbert *et al.* 1993).

Biofilme sind *per definitionem* Aggregate von Mikroorganismen, in denen Zellen in einer meist selbstproduzierten Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS,

engl. *extracellular polymeric substances*) aneinander und/oder an inerten Oberflächen haften (Vert *et al.* 2012). Mögliche Besiedelungsflächen zur Biofilmbildung sind sowohl hydrophobe als auch hydrophile Oberflächen poröser oder nicht-poröser Struktur. Beispiele sind Sedimente und Erdreie sowie tierische und pflanzliche Gewebe aber auch Oberflächen in technischen Anlagen (Rohrleitungen), in Medizingeräten (endotrachealer Tubus) und sogar in Abdomina von Milchkühen. Die ersten Beobachtungen von Biofilmen wurden in Form von Zahnbelag beschrieben (Szewzyk und Szewzyk 2003; Harrison *et al.* 2005). Oberflächen zur Biofilmbildung werden allgemein als Substratum bezeichnet (Flemming *et al.* 2016).

Die meisten Biofilme treten mehrschichtig auf, wobei der Zusammenhalt hauptsächlich durch Wechselwirkungen in der Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen erfolgt und in der Regel nur eine Schicht im direkten Kontakt mit dem Substratum steht. Freibewegliche Biofilme, die nicht an eine inerte Oberfläche anhaften, werden als Biofilmflocken bezeichnet (Flemming *et al.* 2016). Ein Biofilm kann aus einer einzelnen oder aus multiplen mikrobiellen Kulturen bestehen (O'Toole *et al.* 2000). Dominierende Domänen in Biofilmen sind Bakterien, Pilze, Archaeen und Algen aber auch Protozoen und Hefen (Harrison *et al.* 2005). Biofilme existieren ubiquitär in allen Lebensräumen auch bei extremen Bedingungen, wie zum Beispiel in natürlichen heißen sowie hydrothermalen Quellen, auf Gletschereis oder in salzhaltigen Meeressedimenten (Szewzyk und Szewzyk 2003). Damit sind sie die am weitesten verbreitete und erfolgreichste Lebensform auf der Erde (Stoodley *et al.* 2002).

Der Lebenszyklus eines Biofilms und dessen Bildung (Abbildung 3.4) setzt sich aus sechs Phasen zusammen (Harrison *et al.* 2005).

- Phase 1: Freibewegliche, planktonische Mikroorganismen treiben in Suspension,
- Phase 2: Primäradsorption planktonischer Mikroorganismen an ein Substratum,
- Phase 3: irreversible Anlagerung und Aggregation von Mikroorganismen zu zuerst ein- und dann mehrlagigen Schichten sowie Bildung extrazellulärer polymerer Substanzen,
- Phase 4: Biomassewachstum und Biofilmbildung,
- Phase 5: Biofilmreifung,
- Phase 6: teilweise Freisetzung von Mikroorganismen.

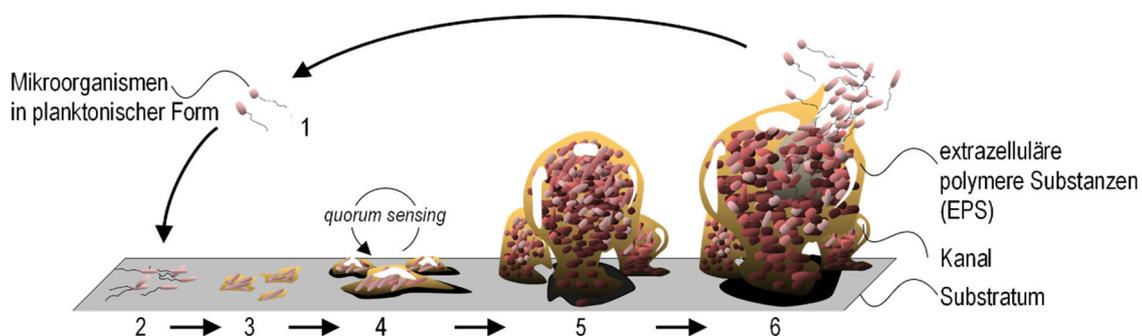


Abbildung 3.4: Schematische Darstellung des Lebenszyklus eines Biofilms aus multiplen mikrobiellen Kulturen (veranschaulicht durch unterschiedliche Farben) in sechs Phasen abgeändert nach Monroe (2007).

Die Bildung eines Biofilms verändert die Eigenschaften der immobilisierten Mikroorganismen und lässt mitunter auch neue Eigenschaften zum Vorschein kommen, die durch Studien mit suspendierten Mikroorganismen nicht vorherzusagen sind (Flemming *et al.* 2016). Sobald die Mikroorganismen irreversibel auf dem Substratum adsorbiert sind tauschen sie untereinander molekulare Signale aus, die die Zellteilung je nach Nährstoffverfügbarkeit regelt. Diese interzelluläre Kommunikation wird als *quorum sensing* bezeichnet (Lear und Lewis 2012).

Biofilme sind heterogene Matrizen mit unterschiedlichen Zonen. In ihnen variiert zum Beispiel der pH, die Temperatur und die Nährstoff- sowie Sauerstoffverfügbarkeit. Somit werden lokal aerobe und anaerobe Zonen ausgebildet. Dank der Heterogenität können multiple Spezies und Domänen mit unterschiedlichen optimalen Lebensbedingungen in einer mikrobiellen Gemeinschaft zusammenleben. Die Basis des Biofilms in der Nähe des Substratums ist meist kompakt, die Oberfläche oft locker, sodass passierende Fluidströme, wie zum Beispiel Wasser, die lokale Struktur verändern und Kanäle bilden können (Beyenal und Lewandowski 2002). Die robuste und vernetzte Struktur von Biofilmen wird überwiegend durch die Bildung einer inhomogenen Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) wie Polysacchariden, Desoxyribonukleinsäuren (DNS) und Proteinen mit eingelagerten anorganischen Bestandteilen ermöglicht. Die extrazellulären polymeren Substanzen umfassen mehr als 90 % der Trockenmasse eines Biofilms, während die restlichen 10 % Mikroorganismen sind. Die Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen hat multiple Funktionen, die in Tabelle 3.2 zusammengefasst sind. Die Stabilität der Matrix wird durch physikalisch-chemische Interaktionen wie Wasserstoffbrückenbindungen, Van-der-Waals-Wechselwirkungen, elektrostatische sowie ionische Anziehungs- und Abstoßungskräfte und die Verwicklung der Biopolymeren gewährleistet (Flemming und Wingender 2010). Der Aufbau einer Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen ist bei unterschiedlichen Dimensionen schematisch (A-C) sowie durch eine Aufnahme im Rasterelektronenmikroskop (D) in Abbildung 3.5 dargestellt.

Tabelle 3.2: Funktionen der extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) in bakteriellen Biofilmen nach Flemming und Wingender (2010)

| | Funktion | Beschreibung |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Adhäsion | Kolonialisierung an Oberflächen |
| 2 | Aggregation | Brückenbildung zwischen Zellen |
| 3 | Kohäsion | Bildung eines Polymernetzwerks |
| 4 | Wasserrückhaltevermögen | Fördert wasserhaltige Mikroumgebung |
| 5 | Schutzbarriere | Steigert Toleranz gegenüber Fremdkörpern |
| 6 | Sorption | Akkumulation (an)organischer Komponenten |
| 7 | Enzymaktivität | Verdauung exogener Nährstoffe |
| 8 | Nährstoffquelle | C-, N- sowie P-Quelle |
| 9 | Gentransfer | Austausch zwischen Biofilmzellen |
| 10 | Elektronentransfer | Erlaubt Redoxaktivitäten |
| 11 | Selbstreinigung | Ausschluss von Zellmaterial |
| 12 | Speicher | Bei Nährstoffüberschuss |
| 13 | Bindung | Akkumulation, Zurückhaltung und Stabilisierung |

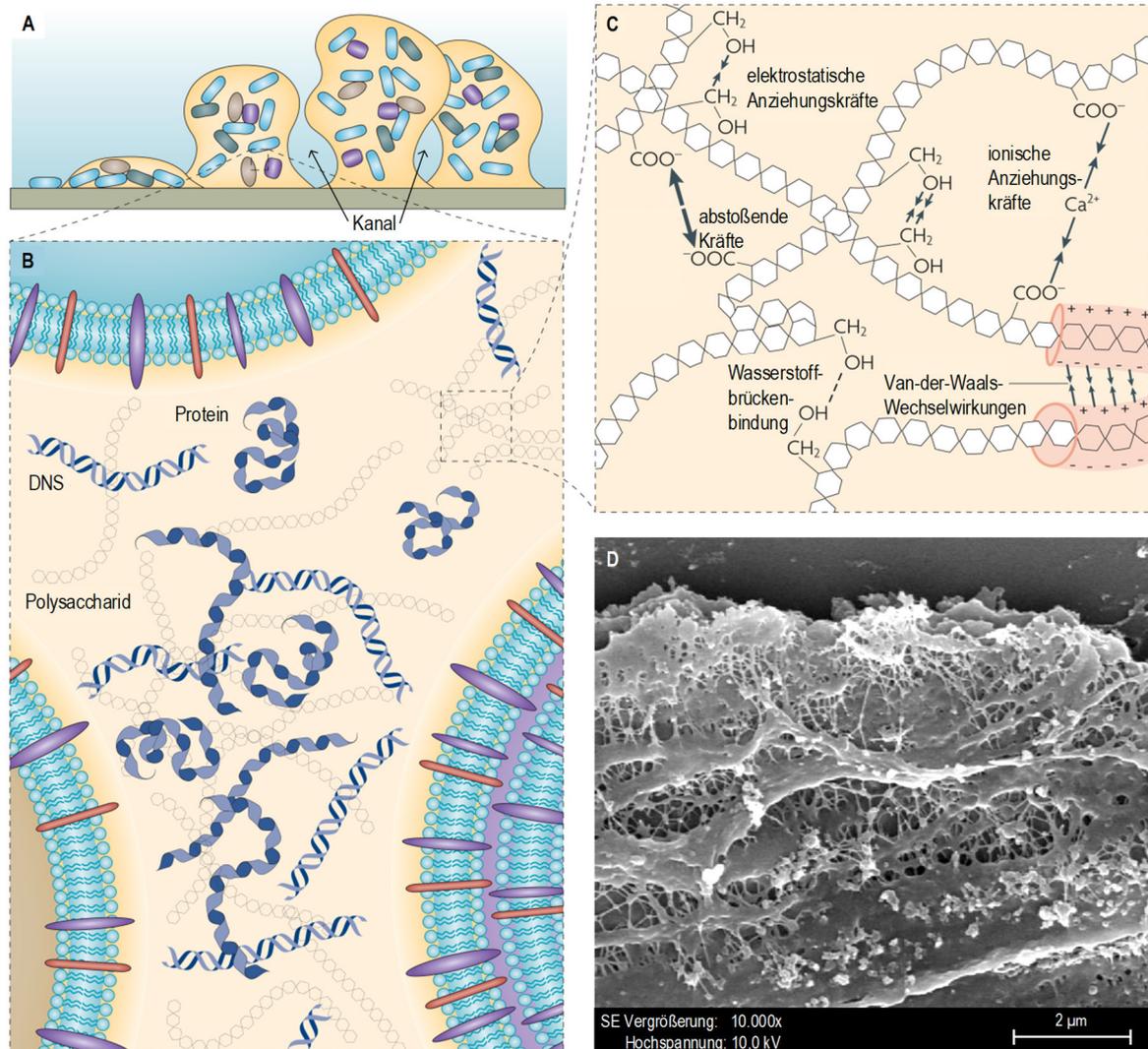


Abbildung 3.5: Schematische Darstellung der Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen bei unterschiedlichen Dimensionen, abgeändert von Flemming und Wingender (2010): A, inhomogene Struktur des Biofilms mit Kanälen und unterschiedlichen beziehungsweise im Biofilm genetisch veränderten Mikroorganismen (dargestellt durch unterschiedliche Farben); B, inhomogene Anordnung extrazellulärer polymerer Substanzen, wodurch unterschiedliche Zonen im Biofilm entstehen; C, Darstellung physikalisch-chemischer Interaktionen zwischen den verwickelten Biopolymeren. Mikroskopische Aufnahme eines Biofilms (D) in einem endotrachealen Tubus im Rasterelektronenmikroskop bei 10.000-facher Vergrößerung abgeändert nach Gil-Perotin *et al.* (2012).

Die Bildung der Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen ist ein dynamischer, energieaufwendiger Prozess, der von mehreren Faktoren abhängt: von der Nährstoffverfügbarkeit, von der Integration und Desintegration von extrazellulärem Material, von der Scherbeanspruchung, von den eingebetteten Mikroorganismen sowie ihrem Konkurrenzverhalten um Nährstoffe (Flemming *et al.* 2016). Sekrete von Mikroorganismen sowie Nährstoffe aus vorbeiströmenden Fluiden können in der Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen gebunden werden und lokal zur Verfügung stehen. Fragmente von lysierten Mikroorganismen können als Nährstoffquelle für andere Spezies dienen (Flemming *et al.* 2007). Die lokale Nährstoffverfügbarkeit in der Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen variiert sehr stark. Mikroorganismen in der Nähe von eingelagerten Nährstoffen sind sehr gut versorgt, während andere verhungern. Die Versorgung mit

Nährstoffen in Biofilmen (Stofftransport) erfolgt in der Regel diffusiv und kann in vielen Anwendungen der geschwindigkeitsbestimmende Schritt sein (Lewandowski *et al.* 1991; Siegrist und Gujer 1985).

Die Verfügbarkeit organischer Verbindungen beeinflusst den Aktivitätszustand der Mikroorganismen und kann eine Änderung im Lebenszyklus induzieren. Die Abnahme in der Substratkonzentration kann immobilisierte Mikroorganismen zum Beispiel in einen Ruhezustand versetzen, in denen sie zwar lebendig, aber nicht aktiv sind. Dieser Zustand kann die Adsorption beziehungsweise Desorption der Mikroorganismen unterstützen (Szewzyk und Szewzyk 2003; Szewzyk und Schink 1988; Lawrence *et al.* 1995).

Biofilme finden bei der Filtration von Trinkwasser, der Aufreinigung von Klärwasser, dem Abbau von Feststoffabfällen sowie in biotechnologischen Prozessen Anwendung (Flemming *et al.* 2016). Unerwünschte Biofilmbildung kann zum Beispiel zur Korrosion von Metallen (Harrison *et al.* 2005), zu Infektionen (Gil-Perotin *et al.* 2012) oder zum Befall von Implantaten im menschlichen Körper führen (Bjarnsholt *et al.* 2018).

Für weitere Details zu Biofilmen wird auf die weiterführende Literatur verwiesen (Flemming 1995; Flemming *et al.* 2000; Wingender *et al.* 1999; Hall-Stoodley *et al.* 2004; Chia *et al.* 2008; Denkhaus *et al.* 2007; Jahid und Ha 2012).

3.3 Nachwachsende Rohstoffe als Kohlenstoffquelle

Aktuell werden die meisten kohlenstoffbasierten Basischemikalien, Treibstoffe und Alkohole auf Basis von Kohle, Erdöl und Erdgas hergestellt (Verma *et al.* 2016). Aufgrund der Endlichkeit dieser fossilen Rohstoffe und der Freisetzung des umweltschädlichen Treibhausgases CO₂ wächst das Interesse für alternative Produktionsmöglichkeiten stetig. Diverse Lösungsansätze bietet der Einsatz nachwachsender Rohstoffe zur Kohlenstofffixierung.

Bei der Verwertung nachwachsender Rohstoffe wird zwischen erster und zweiter Generation unterschieden (Naik *et al.* 2010). Die Herstellung von zum Beispiel Bioethanol erster Generation erfolgt hauptsächlich über die Hefefermentation von zuckerhaltigen, biologischen Ressourcen wie zum Beispiel Weizen, Mais, Zuckerrüben, Zuckerrohr oder stärkehaltigen Pflanzen wie Kartoffeln (Quintero *et al.* 2008). Dieser Ansatz tritt in direkte Konkurrenz mit der Lebensmittelproduktion und erntet dafür immer wiederkehrend Kritik bei gesellschaftspolitischen Diskussionen (Chakravorty *et al.* 2009).

Für die Produktion von Wertstoffen zweiter Generation werden biologische Abfälle, die für den menschlichen und tierischen Verzehr ungeeignet sind, verstoffwechselt (Perlack *et al.* 2005). Laut Daniell und Co-Autoren gibt es drei Möglichkeiten der Herstellung (Daniell *et al.* 2012): der biochemische und der thermochemische Ansatz sowie die Gasfermentation. Die Vor- und Nachteile dieser Verfahren sind in Tabelle 3.3 zusammengefasst.

Die biochemische Produktion beschäftigt sich primär mit der biokatalytischen Verstoffwechslung lignozellulosehaltiger Rohstoffe wie forstwirtschaftlicher Kulturen,

winterharter Gräser, landwirtschaftlicher und anderer Abfälle (Mosier *et al.* 2005). Vorteilhaft sind die Selektivität des Prozesses und die Durchführbarkeit im großtechnischen Maßstab. Die Energiekonservierung ist aber gering, da der ligninhaltige Anteil (10-30 %) zurzeit noch nicht prozessiert werden kann (Bugg *et al.* 2011). Die enzymatische Spaltung der Lignocellulose in fermentierbare Zucker ist sehr energieaufwendig.

Tabelle 3.3: Zusammenfassung der Vor- und Nachteile verschiedener Ansätze zur Herstellung von Basischemikalien aus nachwachsenden Rohstoffen am Beispiel von Bioethanol, abgeändert nach Daniell *et al.* (2012)

| | Erste Generation | Zweite Generation | | |
|--------------------------|------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| | | heterotroph | bio-chemisch | thermo-chemisch |
| Nahrungsmittelkonkurrenz | hoch | variabel | gering | gering |
| Kohlenstofffixierung | hoch | gering | hoch | hoch |
| Rohmaterialverfügbarkeit | limitiert | limitiert | unlimitiert | unlimitiert |
| Gaszusammensetzung | - | - | stöchiometrisch | flexibel |
| Vorbereitungsaufwand | hoch | intensiv | hoch | gering |
| Selektivität | hoch | hoch | gering | hoch |
| Inhibitortoleranz | moderat | gering | gering | moderat |
| Kontaminationstoleranz | medium | gering | - | hoch |
| Temperatur | 33-37 °C | ≤60 °C | 150-300 °C | 22-60 °C |
| Reinigungskosten | gering-moderat | moderat | gering-moderat | moderat |

Für die thermochemische oder biokatalytische Weiterverarbeitung von Biomasse wird diese zu Synthesegas vergast.

3.3.1 Synthesegas

Biomasseabfälle können thermisch bei Temperaturen von etwa 950 °C zu kohlenstoffhaltigem Synthesegas zersetzt werden (van der Drift *et al.* 2001). Bei der industriellen Produktion von zum Beispiel Stahl werden außerdem kohlenstoffhaltige Abgase generiert, die als Substrat für die Produktion von Wertstoffen zweiter Generation dienen können. Die Reinheit und die Zusammensetzung des Ausgangsmaterials können stark variieren. Dies und das Herstellungsverfahren beeinflussen die Komponenten und die Gaszusammensetzung des Synthesegases stark (siehe Tabelle 3.4). Die Hauptbestandteile des Synthesegases sind CO, CO₂ und H₂. Weitere Komponenten sind Methan (CH₄), Ethen (C₂H₄), Ethan (C₂H₆), Benzen (C₆H₆), Toluol (C₇H₈), Dimethylbenzen (C₈H₁₀), Schwefelwasserstoff (H₂S), Schwefeldioxid (SO₂), Stickoxide (NO_x), Ammoniak (NH₃) oder schwere Teere (van der Drift *et al.* 2001; Xu *et al.* 2011).

Diese gasförmigen Kohlenstoffquellen können entweder thermochemisch (Fischer-Tropsch) oder biokatalytisch (Gasfermentation) umgesetzt werden: Bei der sogenannten Fischer-Tropsch-Synthese wird das gasförmige Edukt chemisch-katalytisch bei Temperaturen von 150-300 °C und Drücken von bis zu 200 bar über Kettenverlängerung

in verschiedene Basischemikalien umgesetzt (Davis 2009; Daniell *et al.* 2012; Griffin und Schultz 2012). Die Reaktion ist schnell und hat kurze Verweilzeiten im Reaktor. Allerdings sind die eingesetzten Katalysatoren (beispielsweise Eisen- oder Kobaltkatalysatoren) sehr kontaminationssensibel, vor allem gegenüber schwefelhaltigen Verbindungen (van Steen und Claeys 2008). Um dies zu vermeiden muss das Synthesegas vor dem Einsatz gereinigt werden. Diese Vorbereitung umfasst in etwa 60-70 % der gesamten Produktionskosten einer solchen großtechnischen Anlage (Dry 2002).

Tabelle 3.4: Synthesegaszusammensetzung bei der Verwendung unterschiedlicher Rohstoffe (hervorgehoben) in verschiedenen Herstellungsverfahren (kursiv). Angaben in vol%.

| | Kohle <i>Vergasung</i> | Rohbenzin <i>Dampfreformierung</i> | Biomasseabfälle <i>Vergasung</i> | Industrielle Abgase <i>Stahlproduktion</i> |
|-------------------------------|----------------------------------|--|--|--|
| CO | 59,4 | 6,7 | 5,3-16,1 | 44,0 |
| CO ₂ | 10,0 | 15,8 | 13,9-17,4 | 22,0 |
| H ₂ | 29,4 | 65,9 | 1,8-18,6 | 2,0 |
| N ₂ | 0,6 | 2,6 | 37,6-73,7 | 32,0 |
| CH ₄ | 0,0 | 6,3 | 0,6-13,4 | 0,0 |
| C ₂ H ₄ | k.A. | k.A. | 0,4-1,2 | k.A. |
| H ₂ S | k.A. | k.A. | < 2,3·10 ⁻² | k.A. |
| | <i>Sipma et al. (2006)</i> | <i>Sipma et al. (2006)</i> | <i>(van der Drift et al. 2001; Tirado-Acevedo et al. 2010)</i> | <i>Liew et al. (2013)</i> |

3.3.2 Gasfermentation

Eine attraktive Alternative bietet die Gasfermentation, ein Prozess in dem Synthesegas biokatalytisch und selektiv mit anaeroben, acetogenen Mikroorganismen zu Wertstoffen metabolisiert wird (Latif *et al.* 2014). Eine vereinfachte schematische Darstellung eines Gasfermentationsprozesses ist am Beispiel Bioethanol in Abbildung 3.6 dargestellt. Das Synthesegas kann wie bei der thermochemischen Umsetzung über Biomassevergasung generiert (a) oder aus industriellen Abfallgasen, wie zum Beispiel das Gichtgas des Hochofenprozesses bei der Stahlherstellung (b), gewonnen werden. Die biologischen Abfälle werden geliefert (1a), getrocknet (2a), in der Wirbelschicht vergast (3a) und anschließend über Zyklone (4a), Aschereformer (4b) und eine Gaswäsche (5a) für die Synthesegasfermentation in einem Synthesegastank bereitgestellt. Das industrielle Synthesegas wird je nach Herkunft gereinigt (2b). Die Umsetzung erfolgt in einem Bioreaktor (8) bei moderaten Temperaturen (organismusspezifisch zwischen 22 °C und 60 °C) und Atmosphärendruck (1 bar). Der Reinigungsaufwand des Synthesegases ist im Vergleich zur Fischer-Tropsch-Synthese aufgrund hoher Inhibitortoleranzen der meisten Mikroorganismen gering (Xu *et al.* 2011). Die biochemischen Stoffwechselwege garantieren eine hohe Selektivität, solange keine Limitierungs- oder Inhibierungseffekte auftreten (Ahmed und Lewis 2007; Acharya *et al.* 2015). Die Wahl der Gaszusammensetzung ist dadurch flexibel (Heiskanen *et al.* 2007).

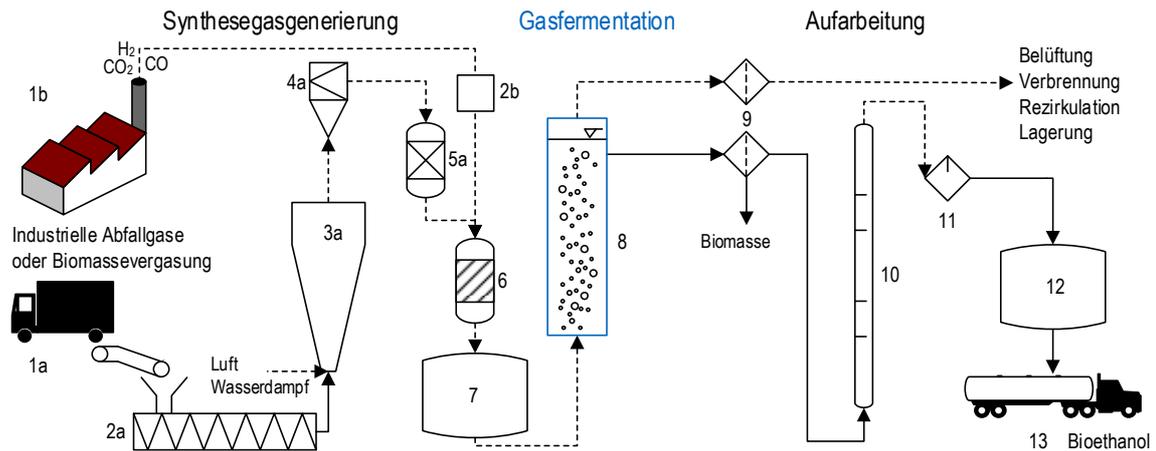


Abbildung 3.6: Vereinfachte schematische Darstellung des gesamten Gasfermentationsprozesses aus (a) Biomassevergasung oder (b) industriellen Abfallgasen am Beispiel von Bioethanol, abgeändert nach Mohammadi *et al.* (2011) und Phillips *et al.* (2017): 1a, Biomasseabfälle; 1b, industrielles Synthesegas; 2a, Biomassetrocknung und -beförderung; 2b, Vorreinigung; 3a, Wirbelschichtvergaser; 4a, Zyklone zur Partikelabtrennung; 5a, Aschereformer; 6, Gaswäsche; 7, Synthesegas-Tank; 8, Bioreaktor für biokatalytische Umsetzung des Synthesegases; 9, Filter; 10, Destillationskolonne zur Produktreinigung; 11, Trockner; 12, Bioethanoltank; 13, Produktverwertung. Strichlinien zeigen den Strom der Gasphase, Volllinien den Strom der Flüssigphase.

Der Synthesegasumsatz soll möglichst hoch sein. Das überschüssige Gas wird anschließend über einen Filter (9) zur Verbrennung, Rezirkulation oder Lagerung transportiert. Die Biomasse wird über einen Filter abgetrennt und der Wertstoff im Falle von Bioethanol via Rektifikation konzentriert (10), getrocknet (11) und für den Verkauf gelagert (12/13). Die biokatalytische Umsetzung des Synthesegases in Bioreaktoren ist eine von vielen Prozessschritten vom Rohstoff zum Endprodukt und wird in dieser Arbeit weiter untersucht. Für Details zu den anderen Teilprozessen wird auf die ausführliche Literatur verwiesen (Richardson *et al.* 2012; Phillips *et al.* 2017; Mondal *et al.* 2011; Sipma *et al.* 2006; Daniell *et al.* 2012; Liew *et al.* 2013).

Stoffwechselprodukte

Stoffwechselprodukte der Gasfermentation sind Ameisensäure, Essigsäure, Ethanol, Buttersäure, 1-Butanol, Hexansäure, 1-Hexanol, 2-3-Butandiol, Lactat, Isopropanol und weitere (Ramió-Pujol *et al.* 2015b; Köpke *et al.* 2011b; Ramachandriya *et al.* 2011). Die Hauptstoffwechselprodukte von *C. carboxidivorans* sind unter anderem C₂-, C₄- und C₆-Säuren. Die natürlichen Produkte dieses Wildtypstammes liegen in seinem bevorzugten pH-Bereich (pH ~6,0) überwiegend als das Anion der Säuren in wässriger Lösung vor. Die Dissoziationsgleichgewichte in Abhängigkeit des pH sind in Abbildung 3.7 dargestellt.

Industrielle Umsetzung

Das Potential der Gasfermentation zeigt sich in der vorindustriellen Realisierung dieser Technologie: Gasfermentationsprozesse wurden bereits erfolgreich im Pilotmaßstab durch die Unternehmen INEOS Bio, Coskata und LanzaTech durchgeführt (Tissera *et al.* 2017). LanzaTech, gegründet im Jahr 2005 in Auckland (Neuseeland), plant die kommerzielle Umsetzung an vier Standorten (China, Belgien, USA, Südafrika) bis Ende 2020 (LanzaTech 2018).

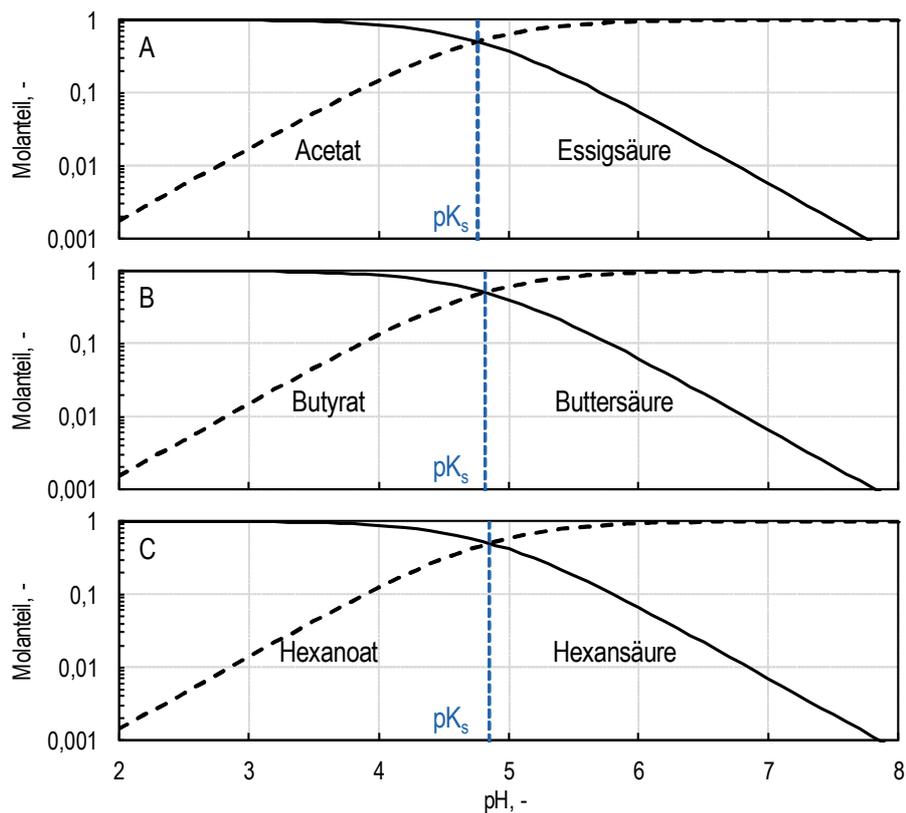


Abbildung 3.7: Dissoziationsgleichgewicht für A, Acetat/Essigsäure; B, Butyrat/Buttersäure; C, Hexanoat/Hexansäure in reinem Wasser bei 25 °C in Abhängigkeit des pH. Die Volllinien sind jeweils die Säureform, die Strichlinien die Anionenform der Säuren. Die gestrichelten Vertikalen markieren die pK_s-Werte: pK_s(Acetat/Essigsäure): 4,76; pK_s(Butyrat/Buttersäure): 4,82; pK_s(Hexanoat/Hexansäure): 4,85 nach Atkins und Paula (2012).

Der Bioreaktor ist für eine hohe Produktivität und hohe Synthesegasumsätze entscheidend. Da die Wertschöpfung der natürlichen Hauptstoffwechselprodukte acetogener Mikroorganismen Acetat und Ethanol relativ gering ist, müssen die Produktionskosten niedrig gehalten werden. Eine Möglichkeit ist die Verwendung einfacher und kostengünstiger Bioreaktoren. Die Anwendung unterschiedlicher Reaktoren im Bereich der Gasfermentation wurde in der Literatur beschrieben. Der folgende Abschnitt gibt einen Überblick:

3.4 Bioreaktoren für Gasfermentation

Ein Bioreaktor ist ein abgeschlossener Raum, in dem eine von Biokatalysatoren, Zellen oder Enzymen katalysierte Stoffumwandlung stattfindet (Chmiel 2011). Da Zu- und Abläufe sowie die Zustände in Bioreaktoren weitgehend gemessen werden können, ermöglichen sie eine Bilanzierung biotechnologischer Prozesse im kleinen und im großen Maßstab. Im Weiteren wird auf die Bioreaktortypen Rührkesselreaktor, Blasensäulenreaktor, Biofilmreaktor und Membranreaktor im Detail eingegangen:

3.4.1 Rührkesselreaktoren

Der Rührkesselreaktor (STR, engl. *stirred-tank reactor*) ist der für biotechnologische Anwendungen am häufigsten eingesetzte Reaktortyp. Die Hauptaufgaben sind Homogenisieren, Suspendieren und Dispergieren. Im Modell des idealen Rührkesselreaktors wird von ideal durchmischten, isotropen, isobaren und isothermen Bedingungen ausgegangen. Der Rührkesselreaktor für Laboruntersuchungen im Litermaßstab zeigt ein ähnliches Verhalten, wodurch die Annahme von idealen Bedingungen zulässig ist. Eine schematische Darstellung ist in Abbildung 3.8 A zu finden.

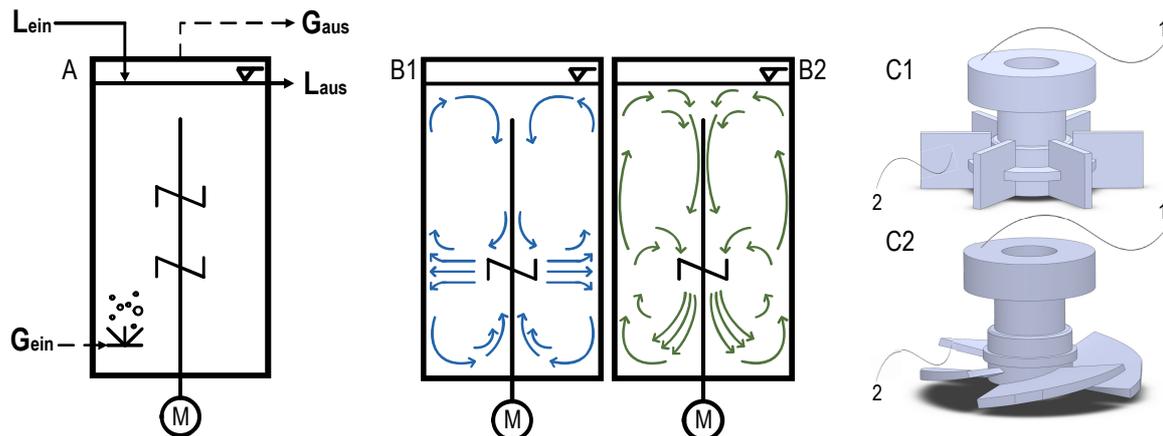


Abbildung 3.8: Schematische Darstellung eines Rührkesselreaktors: A, Funktionsprinzip mit Rührwerk von unten mit Ein- und Ausgang der Gas- (G) und der Flüssigphase (L); B, Visualisierung der Flüssigkeitsstromrichtungen im Rührkesselreaktor mit Strömungsbrechern für radial fördernde Scheibenrührer (B1) und axial fördernde Propellerrührer (B2), abgeändert nach Zlokarnik (1999); C, rechnerunterstützte graphische Darstellung eines Scheibenrührers (C1) und eines Propellerrührers (C2) bestehend aus einer Fixiermöglichkeit an der Rührwelle (1) und mehreren Turbinenblättern (2).

Typische Einbauten sind ein Rührwerk (mit Antrieb von oben oder von unten, normal zum Reaktorboden), Strömungsbrecher, Wärmetauscher (direkt in Suspension oder über die Reaktorwandfläche), Begasungsorgane und entsprechende Messsonden (Temperatur, pH, Redoxpotential, Antischaum). Die Durchmischung erfolgt durch die Auswahl und die Position eines oder mehrerer Rührertypen, wobei je nach Anwendung zwischen radialer und axialer Stromführung unterschieden wird. Die korrespondierenden Strömungsfelder sind schematisch in Abbildung 3.8 B1 beziehungsweise B2 dargestellt. Mögliche radiale Rührerarten sind Scheibenblatt- (Typ: Rushton, Abbildung 3.8 C1), Impeller-, Kreuzbalken- oder Gitterrührer. Für die axiale Strömungsführung werden primär Schrägblatt- oder Propellerrührer (Abbildung 3.8 C2) verwendet. Für Flüssigkeiten hoher Viskosität finden Anker- (radial) oder Wendelrührer (axial) Anwendung (Zlokarnik 1973). Durch das Rührwerk haben Rührkesselreaktoren den höchsten Leistungseintrag aller Reaktortypen ($>5 \text{ kW m}^{-3}$). Die lokale Energiedissipationsdichte ist in unmittelbarer Nähe des Rührers am höchsten (Geisler *et al.* 1993).

Die Begasung erfolgt je nach Anwendung über ein Belüftungsrohr, einen Gasverteilungsring oder eine Sintermetallfritte. In gerührten Reaktoren wird dies so

gewählt, dass die Versorgung ausreichend, der Rührer aber vom Gas nicht überflutet wird und den Kontakt zur Suspension verliert (Hass und Pörtner 2011; Bakker *et al.* 1994).

Die reaktionstechnische Charakterisierung acetogener Mikroorganismen für die Gasfermentation findet in der Regel in kontrollierten, ideal durchmischten Rührkesselreaktoren mit hohem Leistungseintrag und damit schnellem Stofftransport der gasförmigen Substrate statt. So konnte aufgrund der idealen Gasverfügbarkeit 1 M ($59,3 \text{ g L}^{-1}$) Acetat bei einer maximalen Raum-Zeit-Ausbeute von $12,6 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($0,75 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) mit dem Wildtypstamm *Acetobacterium woodii* nach drei Tagen im pH-kontrollierten Satzverfahren ($30 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 7,0; 1 bar) bei kontinuierlicher Begasung mit einem künstlichen Synthesegas ($30,0 \text{ L h}^{-1}$; $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 1:2:2) erreicht werden (Kantzow und Weuster-Botz 2016). Der Vergleich unterschiedlicher Biokatalysatoren in unterschiedlichen Bioreaktoren ist nicht sinnvoll, daher wurde die Prozessleistung unterschiedlicher acetogener Mikroorganismen im Rührkesselreaktor verglichen (Groher und Weuster-Botz 2016a, 2016b).

Weitere Untersuchungen acetogener Bakterien im Rührkesselreaktor sind ausführlich in der Literatur beschrieben (Mohammadi *et al.* 2011; Demler und Weuster-Botz 2011; Straub *et al.* 2014; Najafpour *et al.* 2004; Younesi *et al.* 2008; Kundiyana *et al.* 2011b; Mohammadi *et al.* 2012).

Der industrielle Einsatz von Rührkesselreaktoren für Gasfermentationen ist aufgrund des hohen Leistungseintrages und den damit verbundenen hohen Betriebskosten unrealistisch. Vielversprechender ist die Verwendung kostengünstiger Alternativen, welche im Folgenden vorgestellt werden.

3.4.2 Blasensäulenreaktoren

In Blasensäulenreaktoren wird die Flüssigphase über die Gasphase durchmischt. Der Leistungseintrag erfolgt ausschließlich über die Bildungs- und Expansionsenergie der Gasblasen (Schwister 2005). Auf die Verwendung mechanisch bewegter Bauteile wird komplett verzichtet (Weuster-Botz 1999). Dadurch ist ihre Anwendung weniger störanfällig und durch das Fehlen hoher lokaler Energiedissipationsdichten speziell für scherempfindliche Mikroorganismen oder Zellkulturen geeignet (Scragg 1991).

Blasensäulenreaktoren sind die einfachsten Bioreaktoren mit den geringsten Investitions-, Wartungs- und Betriebskosten (Asenjo 1994). Der Energiebedarf beträgt in etwa 20 % konventioneller Rührkesselreaktoren (Schwister 2005). Die Gasphase wird über Begasungsorgane am Reaktorboden des zylindrischen Kessels in den Reaktor eingetragen (siehe Abbildung 3.9 A1 und B1). Bei großen Höhe-zu-Durchmesser-Verhältnissen ist die Durchmischung ausreichend, bei kleineren kann diese durch mögliche Strömungsführungseinbauten verbessert werden (Chisti 1989). Diese Reaktoren werden als Blasensäulenreaktor mit Umlauf (engl. *gas-lift*) bezeichnet.

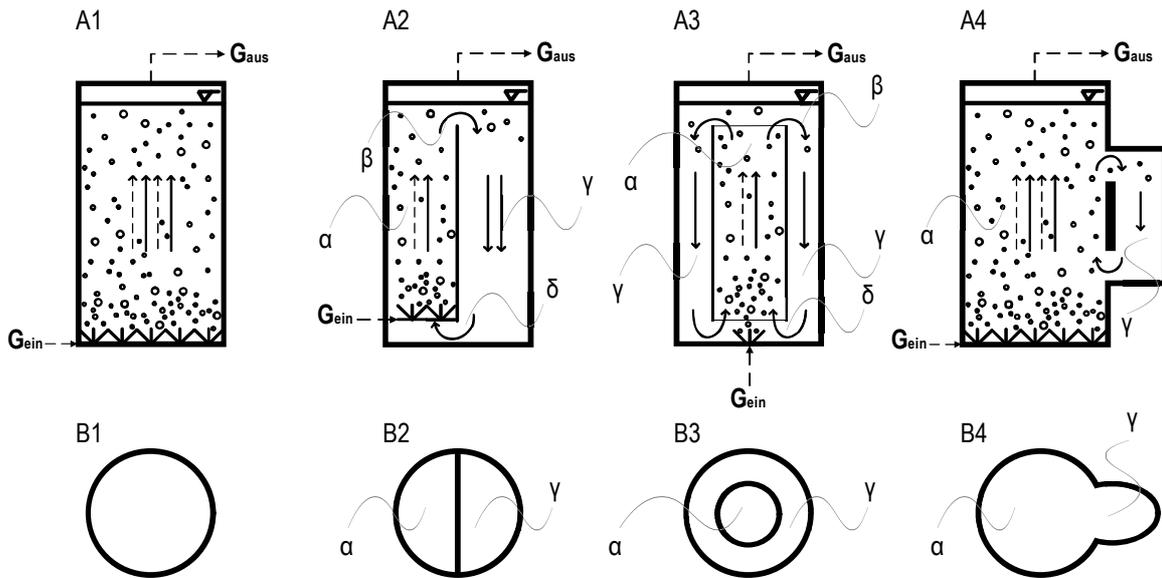


Abbildung 3.9: Schematische Darstellung unterschiedlicher Möglichkeiten des Gaseintrags und der Flüssigkeitsführung in Blasensäulenreaktoren: A, Frontalansicht; B, Ansicht von oben. 1, Blasensäulenreaktor; 2, Blasensäulenreaktor mit internem Umlauf durch ein planes Leitblech (innen); 3, Blasensäulenreaktor mit internem Umlauf durch ein konzentrisches Rohr (außen); 4, Blasensäulenreaktor mit externem Umlauf. α , Aufwärtsstrom; β , Gasabscheider; γ , Abwärtsstrom; δ , Basis. Abgeändert nach Chisti und Moo-Young M. (1987).

Der Umlauf kann intern im Reaktor über ein planares Leitblech (Abbildung 3.9 A2 und B2) oder sowohl innen als auch außen über ein konzentrisches Rohr (Abbildung 3.9 A3 und B3) erfolgen. Eine andere Möglichkeit ist die räumliche Trennung durch einen externen Rücklauf (Abbildung 3.9 A4 und B4). *Gas-lift*-Reaktoren bestehen aus einer begasten Zone, in der die Gasblasen durch den Auftrieb aufsteigen (α , Aufwärtsstrom, engl. *riser*). In dieser Zone ist der Gasgehalt am höchsten. Dadurch entsteht ein Dichteunterschied in der begasten und unbegasten Zone, der eine abwärtsgerichtete Flüssigkeitsströmung im Abstrom verursacht. Der Übergang im oberen Bereich wird als Gasabscheider (β , Gasabscheider, engl. *gas separator*) bezeichnet. Am Ende des nicht begasten Rücklaufes (γ , Abwärtsstrom, engl. *downcomer*) strömt Flüssigkeit über die Reaktorbasis (δ , Basis, engl. *base*) wieder zum Aufwärtsstrom, wodurch es zur kontinuierlichen Flüssigkeitsumwälzung kommt (Chisti und Moo-Young M. 1987).

Als weitere Möglichkeiten zur verbesserten Homogenisierung der pneumatisch betriebenen Reaktoren dienen kaskadisch angeordnete Lochplatten, homogen oder inhomogen gepackte Trägermaterialien oder statische Mischer. Die Begasung erfolgt je nach Anwendung über Lochplatten, Sinterplatten, Strahl- oder Venturidüsen, Schlitzstrahler oder mikroporöse Membrane, um möglichst kleine Gasblasen und damit eine größere Kontaktfläche für den Stofftransport zu erhalten. Hohe Viskositäten, hoher Gasbedarf (Schaumbildung) sowie Sedimentationseffekte limitieren die störungsfreie Anwendung eines pneumatisch betriebenen Bioreaktors (Storhas 1994).

Je nach Betriebszustand sind in Abhängigkeit der Gasleerrohrgeschwindigkeit und des Reaktordurchmessers homogene und heterogene Blasenströmungen beschrieben. Bei hohen Begasungsraten und kleiner Reaktorquerschnittsfläche kann es auch zur

sogenannten Kolbenströmung kommen. In diesem Fall koaleszieren die Gasblasen aufgrund des hohen Gasgehalts in der Flüssigkeit und bilden eine breite Blasendurchmesserverteilung. Díaz und Co-Autoren zeigten eine schematische Darstellung der drei Strömungsregime in Blasensäulenreaktoren (Abbildung 3.10) mit veranschaulichten Richtungen des Flüssigkeitsstroms (schwarze Pfeile). Bei der homogenen Blasenströmung liegen die Blasen dispergiert vor und es kommt zu axialer Flüssigkeitsrückvermischung (A). Bei hohen Gasleerrohrgeschwindigkeiten sind die unterschiedlichen Blasengrößen heterogen verteilt, sodass es zur Wirbelbildung des Flüssigstroms kommt (B). Bei turbulenten Strömungsverhältnissen kommt es kaum zum großflächigen Flüssigkeitsaustausch, sondern ausschließlich zur lokalen Vortexbildung (C) (Díaz *et al.* 2008). Weitere Details sind in der Literatur beschrieben (Ribeiro 2008; Bouaifi *et al.* 2001; Shah *et al.* 1982).

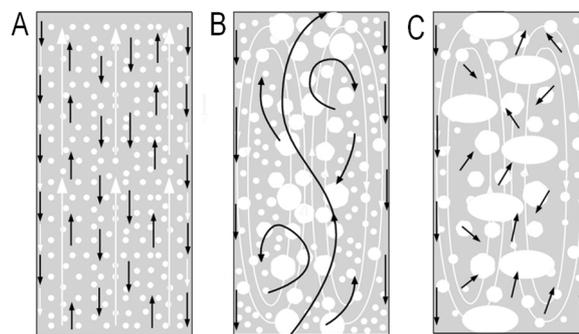


Abbildung 3.10: Schematische Darstellung von Strömungsregimen in Blasensäulenreaktoren (Díaz *et al.* 2008): A, homogen verstreutes Blasenfeld; B, Wirbelbildung durch breitere Blasengrößenverteilung; C, turbulentes Strömungsbild; schwarze Pfeile, Flüssigkeitsstrom; hellgraue Pfeile, Gasblasenstrom; dunkelgrau, Flüssigphase; hellgrau, Gasphase

Bello und Co-Autoren formulierten eine allgemeine Beziehung für die Flüssigkeitsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Gasleerrohrgeschwindigkeit und den geometrischen Eigenschaften des *Gas-lift*-Reaktors (Gleichung 3-24) (Bello *et al.* 1984).

Für einen Blasensäulenreaktor mit internem, innerem Rücklauf in einem konzentrischen Leitrohr wurden folgende Parameter ermittelt: $k = 0,66$; $\alpha = 0,75$ und $\beta = 0,33$ (Bello *et al.* 1984).

$$u_{L,r} = k \cdot \left(\frac{A_d}{A_r}\right)^\alpha u_{G,r}^\beta \quad 3-24$$

| | | |
|-----------|---|-------------------|
| $u_{L,r}$ | Flüssigleerrohrgeschwindigkeit im <i>riser</i> | m s^{-1} |
| k | Konstante in Abhängigkeit der Reaktorgeometrie und der Eigenschaften der Flüssigphase | - |
| A_d | Downcomer-Querschnittsfläche | m^2 |
| A_r | Riser-Querschnittsfläche | m^2 |
| $u_{G,r}$ | Gasleerrohrgeschwindigkeit im <i>riser</i> | m s^{-1} |
| α | Konstanter Exponent | - |
| β | Konstanter Exponent in Abhängigkeit der Reaktorgeometrie und der Strömungseigenschaften | - |

Ein schneller Gas-Flüssig-Stofftransport ist in Blasensäulenreaktoren bei geringer Gaslöslichkeit in der Flüssigphase nur dann möglich, wenn die Flüssigkeitssäule des zylindrischen Reaktors möglichst hoch ist ($H \sim 25\text{-}35\text{ m}$) und dadurch über den hydrostatischen Druck hohe Partialdrücke erreicht werden.

Einige Studien zeigten bereits den Einsatz acetogener Mikroorganismen in Blasensäulenreaktoren. In einem kontinuierlich begasten (12 L h^{-1} ; $\text{CO}:\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2\text{ 4:3:1:12}$) 8 L-Blasensäulenreaktor wurden mit *C. carboxidivorans* mixotroph ($c_0 = 10\text{ g L}^{-1}$ Fructose) maximale Konzentrationen von 79 mmol L^{-1} ($4,75\text{ g L}^{-1}$) Acetat und $141\text{ mmol L}^{-1}\text{ h}^{-1}$ ($6,5\text{ g L}^{-1}$) Ethanol nach 15 Tagen Satzprozess erhalten (Shen *et al.* 2014a). Weitere Untersuchungen zeigten geringere Produktkonzentrationen als im Rührkesselreaktor (Chang *et al.* 2001; Datar *et al.* 2004; Rajagopalan *et al.* 2002; Abubackar *et al.* 2011).

Aufgrund ihres großen Arbeitsvolumens und des guten Wärme- sowie Gas-Flüssig-Stofftransportes (Gopal und Sharma 1983) eignen sich Blasensäulenreaktoren sehr gut für eine kostengünstige, industrielle Applikation für Gasfermentation. Die Firma LanzaTech (Illinois, USA) zeigte bereits die technische Umsetzung von Synthesegas in Pilot-Blasensäulenreaktoren (Liew *et al.* 2016). Relevante Kriterien zur Auslegung und zur Maßstabsvergrößerung von Blasensäulenreaktoren sind die Blasenströmungen, der Gasgehalt, die Blasencharakteristik, der Stofftransport, das Mischverhalten und die geometrischen Bedingungen des Reaktors (Kantarci *et al.* 2005; Deckwer und Schumpe 1993). Details zu diesen Reaktoreigenschaften sind im Abschnitt 3.5 zu finden.

3.4.3 Biofilmreaktoren

Im Gegensatz zu den bereits präsentierten Reaktortypen liegen die Biokatalysatoren in Biofilmreaktoren mehrheitlich nicht in Suspension vor, sondern in Form von immobilisierter Biomasse. Die Adsorption und Biofilmbildung erfolgt in der Regel auf den Oberflächen von Trägermaterialien. Diese können aus Kunststoff, Sinterkeramik, Kalk-Natronglas, Glasfasern, Lavaschlacke, Metall oder Cordierit bestehen (Hickey 2007; Cowger *et al.* 1992; Bredwell *et al.* 1999; Shen *et al.* 2014a; Steger *et al.* 2017; Chatterjee *et al.* 1996). Die Positionierung im Bioreaktor erfolgt in Form eines homogen oder heterogen gepackten Festbettes oder eines Monolithen. Ist das Trägermaterial in der fluiden Phase frei beweglich, so handelt es sich um Wirbelschicht- beziehungsweise Fließbettbiofilmreaktoren (engl. *fluidized-bed biofilm reactor*). Das Festbett wird von der Flüssigphase umspült und die Mikroorganismen werden so mit Nährstoffen versorgt. In diesen Reaktoren gibt es bis zu fünf verschiedene Phasen:

- i. Feste Phase: inertes Trägermaterial
- ii. Feste Phase: immobilisierte Biokatalysatoren (Biofilm)
- iii. Feste Phase: suspendierte Zellen
- iv. Flüssigphase: Reaktionsmedium
- v. Gasphase: gasförmiges Substrat

Die Phasenanteile variieren mit der Betriebsweise des Biofilmreaktors.

Biofilmreaktoren werden in zwei weitere Untergruppen aufgeteilt: Festbettbiofilmreaktoren (engl. *packed-bed biofilm reactor*) und Rieselbettbiofilmreaktoren (engl. *trickle-bed biofilm reactor*). Eine schematische Darstellung der beiden Reaktorprinzipien ist in Abbildung 3.11 gezeigt.

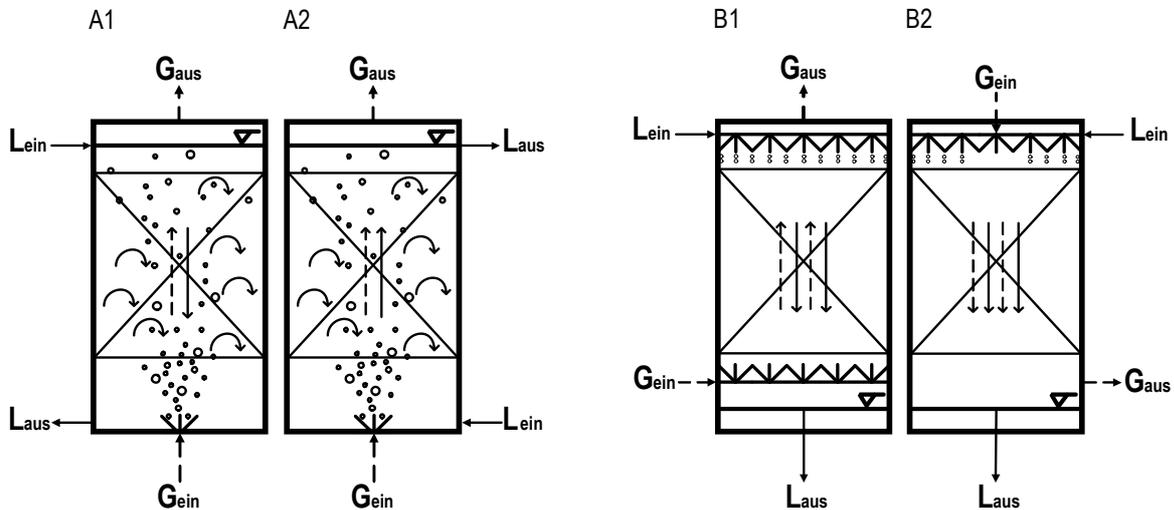


Abbildung 3.11: Schematische Darstellung von Biofilmreaktoren: A, Festbettbiofilmreaktor im Gegenstrom (A1) und im Gleichstrom (A2). Die Pfeile zeigen die Rückvermischung der Flüssigkeit durch den Homogenisierereffekt der inhomogenen Packung; B, Rieselbettbiofilmreaktoren im Gegenstrom (B1) und im Gleichstrom (B2). Das Trägermaterial ist als „X“ dargestellt. Abkürzungen: L, Flüssigphase; G, Gasphase.

Festbettbiofilmreaktoren

Das Festbett ist im Flüssigmedium vollständig und dauerhaft suspendiert. Die Biomasse kann sowohl immobilisiert auf dem inerten Trägermaterial oder in Suspension vorliegen. Festbettreaktoren können im Gegensatz zu Fließbettbiofilmreaktoren von oben und von unten durchströmt werden (Abbildung 3.11 A) (Kadic und Heindel 2014). Wird der sogenannte Lockerungspunkt des Festbettes durch den erhöhten Druckgradienten bei erhöhter Anströmgeschwindigkeit von unten überwunden, so geht der Festbettbetrieb in einen Fließbettbetrieb über (Chmiel 2011). Dies ist von der Geometrie, der Dichte der Packung und der Masse der einzelnen Trägermaterialpartikel abhängig.

Festbettbiofilmreaktoren können im Satz, diskontinuierlich oder kontinuierlich betrieben werden. Der Vorteil zu anderen Bioreaktoren ist, dass die immobilisierte Biomasse selbstständig im Reaktor bleibt und dadurch beim kontinuierlichen Betrieb bei effizienter Biofilmbildung wenig Verlust an Biokatalysatoren zu verzeichnen ist. Soll ein Stoffwechselprodukt durch eine Zustandsänderung (zum Beispiel Änderung des pH) vom Zwischenprodukt zum Endprodukt metabolisiert werden, kann das Flüssigmedium in Festbettbiofilmreaktoren diskontinuierlich erneuert werden (Devarapalli *et al.* 2016). Das Produkt wird dadurch nicht in der Form des Zwischenprodukts kontinuierlich ausgewaschen.

Die Homogenisierung der Flüssigphase wird entweder durch die Gasphase, durch Reaktoreinbauten wie im *Gas-lift* Reaktor oder durch eine Kreislaufpumpe ermöglicht.

Zusätzlich wirkt inhomogen verteiltes Trägermaterial wie statische Mischer, sodass es zusätzlich zur Vermischung der Flüssigphase kommt. Der Effekt ist in Abbildung 3.11 in Form von Pfeilen dargestellt.

Vorteile im Vergleich zum Betrieb anderer Reaktoren sind kostengünstige Zellrückhaltung und Betrieb sowie die Möglichkeit hoher Raum-Zeit-Ausbeuten, da eine hohe Dichte an Biomasse möglich ist. Dadurch kann es aber auch zu Stofftransportlimitierungen im Biofilm kommen, welche die Produktivität limitieren. Hauptproblem dieser Reaktoren ist die Immobilisierung von Mikroorganismen, da der Biofilm für den kontinuierlichen Betrieb dauerhaft stabil sein muss. Weitere Nachteile sind mögliche Strömungsunregelmäßigkeiten und Toträume aufgrund der inhomogenen Verteilung des Trägermaterials. Hohe lokale Biomassekonzentrationen können zusätzlich zum Verblocken von Öffnungen oder Hohlräumen führen und den Betrieb wartungsaufwendiger machen. Festbettbiofilmreaktoren sind bei kontrollierten Betriebsbedingungen kostengünstig und wenig fehleranfällig (Chmiel 2011).

Untersuchungen zur Gasfermentation zeigten das Potential von Festbettbiofilmreaktoren (Klasson *et al.* 1991; Bredwell *et al.* 1999; Gaddy 1998; Shen *et al.* 2017). In einem kontinuierlich begasten (12 L h^{-1} ; $\text{CO}:\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 4:3:1:12) 8 L-Biofilmreaktor mit einem Cordierit-basierten Monolithen (Durchmesser: 93 mm; Höhe: 305 mm; 0.31 Kanäle mm^{-2} ; spezifische Oberfläche: $1850 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$) wurden mit *C. carboxidivorans* mixotroph ($c_0 = 10 \text{ g L}^{-1}$ Fructose) maximale Konzentrationen von 100 mmol L^{-1} ($6,0 \text{ g L}^{-1}$) Acetat und $250 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($11,5 \text{ g L}^{-1}$) Ethanol nach 15 Tagen Satzprozess erhalten (Shen *et al.* 2014a). 650 mM Ethanol wurden nach 10 Tagen Satz- und 30 Tagen kontinuierlichem Betrieb eines Fließbettbiofilmreaktors (36 m^3 ; $37 \text{ }^\circ\text{C}$; pH_0 5,9 unkontrolliert) mit massiven Trägern aus Kunststoff (AnoxKaldnes K1™; Durchmesser: 9 mm; spezifische Oberfläche: $800 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$) mit *Clostridium ragsdalei* mit einer finalen Durchflussrate von $0,037 \text{ h}^{-1}$ und kontinuierlicher Begasung ($6 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}:\text{CO}_2:\text{H}_2$ 4:3:3) erreicht. Die Durchflussrate (D, engl. *dilution rate*) beschreibt den Anteil des Reaktionsvolumens, der in einer Zeiteinheit durch den Reaktor befördert wurde. Die immobilisierte Biomasse wurde auf 5 g L^{-1} geschätzt (Hickey 2007).

Rieselbettbiofilmreaktoren

Im Gegensatz zu Festbettbiofilmreaktoren ist in Rieselbettbiofilmreaktoren nicht die Flüssigphase, sondern die Gasphase die kontinuierliche Phase (Doran 2004). Das Festbett ist nicht in Flüssigmedium suspendiert, wodurch die Temperatur- und die pH-Kontrolle nur über das Zulaufmedium möglich ist. Die Biokatalysatoren befinden sich als immobilisierter Biofilm auf dem Festbettmaterial. Die Flüssigphase „rieselt“ im Schwerfeld über das inerte Trägermaterial vom oberen in den unteren Teil des Bioreaktors. Die Gaszufuhr kann im Gegenstrom (B1) oder im Gleichstrom (B2) erfolgen (Abbildung 3.11) (Devarapalli *et al.* 2017). Werden primär Säuren als Stoffwechselmetabolite gebildet, sinkt der pH des Mediums, welcher somit eine Funktion der Rieselbettbiofilmreaktorhöhe ist (Abbildung 3.12). Bei entsprechender Messsensorik ist der Eingangs-pH des Mediums (pH_{ein}) und der Ausgangs-pH (pH_{aus}) bekannt. Der Verlauf ist üblicherweise unbekannt. Eine näherungsweise Regelung ist über die Zulaufgeschwindigkeit möglich. Für hohe

Produktkonzentration bei gleichzeitig guter Flüssigkeitsbenetzung kann das Flüssigmedium rezykliert werden. Dabei ist eine Temperatur- und pH-Kontrolle möglich (Abbildung 3.12). Analog zum pH ändert sich der Partialdruck der umgesetzten Gaskomponente i aufgrund des Verbrauches vom Eingang (im Gegenstrom: unten; im Gleichstrom: oben) zum Ausgang. Eine grafische Darstellung über mögliche Verläufe von pH und des Partialdruckes über das Festbett ist in Abbildung 3.12 dargestellt.

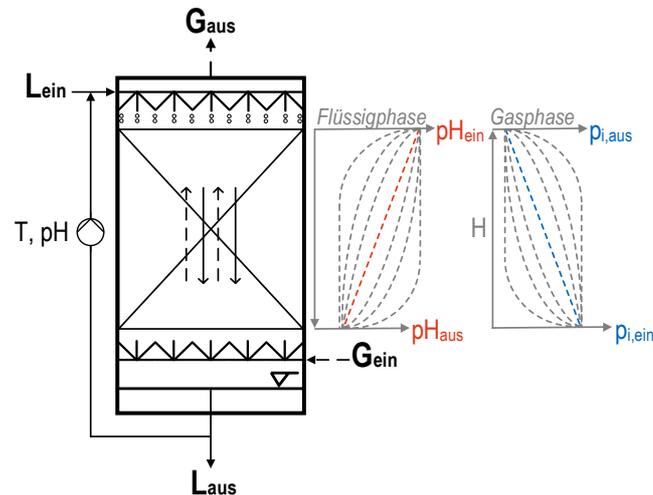


Abbildung 3.12: Schematische Darstellung eines Rieselbettbiofilmreaktors im Gegenstrom mit Flüssigkeitszirkulation. Die Graphen parallel zum Festbett zeigen den möglichen Verlauf des pH und des Partialdruckes der Komponente i (p_i). Das Trägermaterial ist als „X“ dargestellt. Abkürzungen: L, Flüssigphase; G, Gasphase; $pH_{ein} = pH_0$, Initial-pH; pH_{aus} , pH am Ende des Festbettes; $p_{i,ein} = p_{i,0}$, Eingangspartialdruck des Gases i ; $p_{i,aus}$, Ausgangspartialdruck des Gases i

Der Substratpartialdruck wird im Labormaßstab in Rieselbettbiofilmreaktoren näherungsweise über das arithmetische oder das logarithmische Mittel (Gleichung 3-25) des Eingangs- ($p_{i,ein}$) und des Ausgangspartialdrucks ($p_{i,aus}$) bestimmt (Kraume 2012; Devarapalli *et al.* 2016).

$$\bar{p}_i = \frac{p_{i,ein} - p_{i,aus}}{\ln\left(\frac{p_{i,ein}}{p_{i,aus}}\right)} \quad 3-25$$

| | | |
|-------------|--------------------------------------|-----|
| \bar{p}_i | Mittlerer Partialdruck des Gases i | bar |
| $p_{i,ein}$ | Eingangspartialdruck des Gases i | bar |
| $p_{i,aus}$ | Ausgangspartialdruck des Gases i | bar |

Im Gegensatz zum suspendierten Biofilmreaktor bildet sich nur eine dünne Flüssigkeitsschicht auf dem am Trägermaterial befindlichen Biofilm. Durch die geringere Flüssigfilmdicke reduziert sich der Gas-Flüssig-Stofftransportwiderstand. Im Biofilmreaktorvergleich wurden für Rieselbettbiofilmreaktoren die höchsten Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_{l,a}$) berichtet (Bredwell *et al.* 1999).

Potentielle Nachteile von Rieselbettbiofilmreaktoren sind ungleichmäßige Flüssigkeitsverteilungen mit möglicher Kanalbildung der Flüssigphase nach dem „Prinzip des geringsten Widerstandes“ oder Überflutung durch Verblockung der Querschnittsfläche oder des Abflusses bei hohen Flüssigkeitsströmen (Maiti und Nigam 2007; Doan *et al.* 2008).

Bis heute findet der Rieselbettbiofilmreaktor bis auf ein paar wenige Studien kaum Anwendung in der Gasfermentation (Cowger *et al.* 1992; Bredwell *et al.* 1999). Autotrophe Untersuchungen (37 °C; pH₀ 5,8) mit *Clostridium ragsdalei* in einem Rieselbettbiofilmreaktor (Arbeitsvolumen: 0,5 L; Durchmesser: 51 mm; Höhe: 610 mm) mit Glasperlen aus Natronkalkglas (Durchmesser: 6 mm) als Trägermaterial zeigten Gasumsätze von bis zu 91 % CO und 68 % H₂ bei sehr geringen Gasvolumenströmen (CO:H₂:CO₂:N₂ 38:28,5:28,5:5) von 1,38 L h⁻¹. Maximale Konzentrationen in der im Kreislauf geführten Flüssigkeit (200 mL min⁻¹) von 205 mmol L⁻¹ (12,3 g L⁻¹) Acetat und 124 mmol L⁻¹ (5,7 g L⁻¹) Ethanol wurden bei diskontinuierlicher Medienerneuerung erreicht. Der Prozess zeigte maximale Produktivitäten von 1,6 mmol Acetat L⁻¹ h⁻¹ und 0,8 mmol Ethanol L⁻¹ h⁻¹ beim Betrieb im Gleichstrom (Devarapalli *et al.* 2016). Durch den kontinuierlichen Betrieb bei Durchflussraten von 0,009 h⁻¹ und 0,012 h⁻¹ veränderten sich die Produktivitäten auf 1,1 mmol Acetat L⁻¹ h⁻¹ und 3,4 mmol Ethanol L⁻¹ h⁻¹. Die Durchflussrate (D, engl. *dilution rate*) beschreibt den Anteil des Reaktionsvolumens, der in einer Zeiteinheit durch den Reaktor befördert wurde. Die Konzentrationen wurden für Acetat um 38 % gesenkt und für Ethanol trotz des kontinuierlichen Betriebs um 286 % gesteigert. Der Gasumsatz erreichte Maximalwerte von 90 % für CO und 85 % für H₂ (Devarapalli *et al.* 2017).

3.4.4 Membranreaktoren

Ein weiterer vielversprechender Ansatz für die Gasfermentation ist die Begasung von Flüssigkeiten über poröse, nicht-poröse, hydrophile oder hydrophobe Membranen mit hoher spezifischer Oberfläche (Yasin *et al.* 2015; Abubackar *et al.* 2011; Shen *et al.* 2014b; Munasinghe und Khanal 2012). Diese bieten eine große Kontaktfläche für den Gas-Flüssig-Stofftransport und halten hohen Eingangsdrukken des Substratgases stand. Die Begasung kann über die Membranoberfläche von innen oder von außen erfolgen. Die Mikroorganismen können beim flüssigseitigen Kontakt auf der Membran Biofilme bilden und die Membranen dadurch zusätzlich als Zellrückhaltemodule verwendet werden. Die Geschwindigkeit des Gas-Flüssig-Stofftransports für CO wurde in unterschiedlichen Bioreaktoren quantifiziert. Dabei wurde auch ein Bioreaktor mit integriertem Polyurethan-Hohlfasermodul mit einer spezifischen Oberfläche von 100 m² m⁻³ bei abiotischen Bedingungen und verschiedenen Flüssigkeitszirkulationsraten und CO-Eingangsdrukken untersucht. Der Vergleich dieses Bioreaktors mit einem Bioreaktor mit konventioneller Blasensäulenbegasung zeigte eine Erhöhung des Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten für CO, einer reaktorspezifischen Kenngröße für den Gas-Flüssig-Stofftransport, um das 24-fache bei einer Flüssigkeitszirkulationsrate von 1.500 mL min⁻¹ und einem CO-Eingangsdruck von 2,06 bar (Munasinghe und Khanal 2010b, 2012). Nachteile von

Membranreaktoren sind die hohen Materialkosten der Membranen und die schwer kontrollierbare Biofilmbildung.

Shen *et al.* (2014b) zeigten maximale Konzentrationen von 133 mmol L^{-1} (8 g L^{-1}) Acetat und 347 mmol L^{-1} (16 g L^{-1}) Ethanol durch ein mixotrophes Satzverfahren ($c_0 = 10 \text{ g L}^{-1}$ Fructose) mit *C. carboxidivorans* in einem Rührkesselreaktor (8 L ; $37 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH}_0 6$; 200 U min^{-1}) mit Begasung ($\text{CO:H}_2\text{:CO}_2\text{:N}_2 4:1:3:12$, 2 bar) über ein Hohlfasermodule (mikroporös, hydrophob, Polypropylen, 40% Porosität, Porengröße im Mittel: $0,04 \text{ }\mu\text{m}$, spezifische Oberfläche $175 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$) im Bypass. Kontinuierliche autotrophe Untersuchungen im Anschluss zeigten maximale Produktivitäten von $2,0 \text{ mmol Acetat L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und $3,1 \text{ mmol Ethanol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bei einem Gasvolumenstrom von 18 L h^{-1} , einer Flüssigkeitszirkulationsrate von 200 mL min^{-1} und einer Durchflussrate von $0,04 \text{ h}^{-1}$ (Shen *et al.* 2014b).

Neben der blasenfreien Begasung können Membranreaktoren auch für den kontinuierlichen Betrieb mit Zellrückhaltung verwendet werden. Der Betrieb ($30 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH } 7,0$; 1 bar ; $11,9 \text{ W L}^{-1}$, 1.200 U min^{-1}) eines Rührkesselreaktors mit einem eingetauchten Mikrofiltrationsmodul (hydrophile Hohlfaser; Hochleistungskunststoff auf Basis von Polysulfonen; Länge: 30 cm ; Innendurchmesser: 1 mm ; Membrandicke: $0,25 \text{ mm}$; Porendurchmesser: $0,45 \text{ }\mu\text{m}$; Membranfläche: 75 cm^2) und mit kontinuierlicher Begasung ($30,0 \text{ L h}^{-1}$; $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2 1:2:2$) akkumulierte mit einer Durchflussrate von $0,35 \text{ h}^{-1}$ über 10 g L^{-1} Biomasse. Der Prozess zeigte eine Acetatbildungsrate von $104 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($6,2 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Durch den kontinuierlichen Betrieb wurden geringere Acetatkonzentrationen von 293 mmol L^{-1} ($17,6 \text{ g L}^{-1}$) im Vergleich zum Satzprozess erreicht (Kantzow *et al.* 2015).

Da Membranreaktoren in dieser Arbeit nicht näher betrachtet wurden, wird an dieser Stelle auf die ausführliche Literatur verwiesen (Munasinghe und Khanal 2010a, 2012; Abubackar *et al.* 2011; Shen *et al.* 2014b; Yasin *et al.* 2015).

3.4.5 Vergleich von Bioreaktoren für Gasfermentation

Eine direkte Gegenüberstellung der Prozessleistung in unterschiedlichen Bioreaktoren ist nur bei der Verwendung des gleichen acetogenen Bakteriums, der gleichen Vorkulturherstellung und den gleichen Reaktionsbedingungen (T , pH , P , Gaszusammensetzung, Begasungsrate, Medienzusammensetzung) möglich (Groher und Weuster-Botz 2016b).

Eine Arbeitsgruppe an der *Iowa State University* (USA) führte kontinuierliche, autotrophe Untersuchungen mit *Clostridium carboxidivorans* in fünf unterschiedlichen Bioreaktoren bei vergleichbaren Bedingungen durch:

- i. Rührkesselreaktor bei 600 U min^{-1} (Shen *et al.* 2017),
- ii. Blasensäulenreaktor (Shen *et al.* 2014a),
- iii. Festbettbiofilmreaktor (Festbett als Monolith, der dauerhaft von Suspension umgeben ist: Durchmesser: 93 mm ; Höhe: 305 mm ; $0,31 \text{ Kanäle mm}^{-2}$; spezifische Oberfläche: $1.850 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$) (Shen *et al.* 2014a),

- iv. Spezialform eines Rieselbettbiofilmreaktors (Festbett rotiert zwischen Gas- und Flüssigphase und ist zu 50 % in Suspension) gefüllt mit AnoxKaldnes K1™ (Durchmesser: 9 mm; spezifische Oberfläche: 500 m² m⁻³) als Trägermaterial (Shen *et al.* 2017),
- v. Rührkesselreaktor mit kontinuierlicher blasenfreier Begasung über ein Hohlfaserbegasungsmodul (mikroporös, hydrophob, Polypropylen, 40 % Porosität, Porengröße im Mittel: 0,04 µm, spezifische Oberfläche 175 m² m⁻³) im Bypass.

Tabelle 3.5: Vergleich der Acetat/Ethanolbildungsraten ($r_{\text{Acetat/Ethanol}}$) und der Umsätze von CO/H₂ ($\chi_{\text{CO/H}_2}$) in unterschiedlichen kontinuierlich begasteten (CO:CO₂:H₂:N₂ 4:3:1:12) Bioreaktoren mit kontinuierlicher Medienerneuerung mit *C. carboxidivorans* bei vergleichbaren Prozessbedingungen (37 °C; pH 4,5-pH 5,5). V_R, Arbeitsvolumen; D, Durchflussrate; L_Z, Flüssigkeitszirkulationsrate; G, Begasungsrate; r, Produktbildungsrate; χ , Gasumsatz; k.A., keine Angabe.

| Bioreaktor | V _R , L | D, h ⁻¹ | L _Z , mL min ⁻¹ | G, L h ⁻¹ | r _{Acetat} , mmol L ⁻¹ h ⁻¹ | r _{Ethanol} , mmol L ⁻¹ h ⁻¹ | χ_{CO} , - | χ_{H_2} , - | Source |
|---|-----------------------|-----------------------|--|-------------------------|---|--|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Rührkesselreaktor | k.A. | 0,04 | 0 | k.A. | k.A. | 1,80 | k.A. | k.A. | (Shen <i>et al.</i> 2017) |
| Blasensäulenreaktor | 8,0 | 0,02 | 500 | 18 | 0,80 | 1,40 | 0,54 | 0,71 | (Shen <i>et al.</i> 2014a) |
| Festbettbiofilmreaktor (Monolith) | 8,0 | 0,04 | 500 | 18 | 0,88 | 1,46 | 0,63 | 0,73 | (Shen <i>et al.</i> 2014a) |
| Rieselbettbiofilmreaktor | 1,2 | 0,04 | 0 | 18 | 4,25 | 6,04 | 0,30 | 0,85 | (Shen <i>et al.</i> 2017) |
| Rührkesselreaktor mit Hohlfaserbegasungsmodul im Bypass | 8,0 | 0,04 | 200 | 18 | 2,04 | 3,12 | 0,80 | 0,75 | (Shen <i>et al.</i> 2014b) |

Alle Reaktoren wurden zur gleichen Zeit inokuliert und für 15 Tage mixotroph ($c_0 = 10 \text{ g L}^{-1}$ Fructose) bei einer Begasung mit künstlichem Synthesegas (CO:CO₂:H₂:N₂ 4:3:1:12) im Satzverfahren kultiviert. Nur im horizontal rotierenden Festbettbiofilmreaktor wurde die Satzphase auf 7 Tage verkürzt. Der pH wurde für zwei Tage auf pH 6,0 kontrolliert und anschließend unkontrolliert zwischen pH 4,5 und pH 5,5 belassen. Da einige der Reaktoren Biofilmreaktoren sind und keine Angabe über den Zeitpunkt der Untersuchungen und die Menge der Biomasse gemacht wurde, hat der Vergleich auch nur bedingt Gültigkeit. Die Prozessleistungen bei vergleichbaren Bedingungen sind in Tabelle 3.5 zusammengefasst.

Die höchsten Acetat- und Ethanolproduktivitäten wurden im horizontal rotierenden Festbettbiofilmreaktor bei einer Drehzahl von 50 U min⁻¹, einem Kopfraumdruck von 2,04 bar, einer Begasungsrate von 15 L L⁻¹ h⁻¹ und einer Durchflussrate von 0,04 h⁻¹ erreicht: 4,25 mmol Acetat L⁻¹ h⁻¹ und 6,04 mmol Ethanol L⁻¹ h⁻¹ bei CO- und H₂- Umsätzen von 30 % und 85 %. Dies entspricht den maximal gemessenen Produktivitäten für autotrophe Prozesse mit *C. carboxidivorans*. Die anderen Reaktoren zeigten ihre maximalen Produktivitäten nicht unbedingt bei diesen Bedingungen. Die Autoren geben

keine Information über die Konzentrationen oder Produktivitäten der natürlichen Metabolite Butyrat, 1-Butanol, Hexanoat und 1-Hexanol.

Die überlegene Prozessleistung des Rieselbettbiofilmreaktors könnte an höheren Gas-Flüssig-Stofftransportraten im Kopfraum durch geringere Flüssigkeitswiderstände des dünneren Flüssigkeitsfilms liegen. Gleichzeitig ist der Mikroorganismus zu ~50 % der Zeit gut mit Medium versorgt und das Trägermaterial dauerhaft gut benetzt (Shen *et al.* 2017). Die Untersuchungen in anderen Reaktorprinzipien zeigten – wie erwartet – andere Ergebnisse, was die Wichtigkeit der Analysen und Vergleiche gleicher Prozesse in verschiedenen Bioreaktorkonzepten unterstreicht.

3.5 Verfahrenstechnische Grundlagen

Die Bioreaktoreigenschaften Wärme- und Stoffaustausch, Gasblasengrößenverteilung und Gasgehalt, Leistungseintrag, Mischverhalten sowie Verweilzeitcharakteristiken bei kontinuierlicher Betriebsweise ermöglichen den Vergleich von verschiedenen Bioreaktoren (Chmiel 2011).

3.5.1 Stofftransport

Der Gas-Flüssig-Stofftransport spielt eine zentrale Rolle bei Gasfermentationen, da das gasförmige Substrat über das Flüssigmedium für die Mikroorganismen verfügbar gemacht wird. Drei verbreitete Theorien erklären den Mechanismus näherungsweise: Bereits 1924 wurde anhand der Zweifilmtheorie postuliert, dass der Gas-Flüssig-Stofftransport diffusiv in zwei an der Grenzfläche befindlichen laminaren Grenzschichten nach dem 1. Fick'schen Gesetz erfolgt (Lewis und Whitman 1924). Diese Theorie wurde im Jahr 1935 mit einem Penetrationsmodell, das den Stoffübergang über instationäre Diffusion nach dem 2. Fick'schen Gesetz beschreibt, erweitert (Higbie 1935). Zwei Fluidelemente treffen an der Phasengrenzfläche für eine definierte Zeit aufeinander und werden ausgetauscht. Anwendungen dieses Modells findet sich zum Beispiel beim Stoffübergang in den Flüssigfilm des Rieselbettbiofilmreaktors (Chmiel 2011). 1951 wurde die Oberflächenerneuerungstheorie definiert, welche keine laminare, stagnierende Grenzschicht mehr annimmt. Stattdessen erneuert sich diese, basierend auf Wahrscheinlichkeit, ständig (Danckwerts 1951). Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Zweifilmtheorie verwendet:

Gas-Flüssig-Stofftransport nach der Zweifilmtheorie

Der Stofftransport von einer Gasblase ins Innere einer Zelle, wo die biokatalytische Reaktion erfolgt, ist mit seinen Transportwiderständen basierend auf der Zweifilmtheorie in Abbildung 3.13 dargestellt:

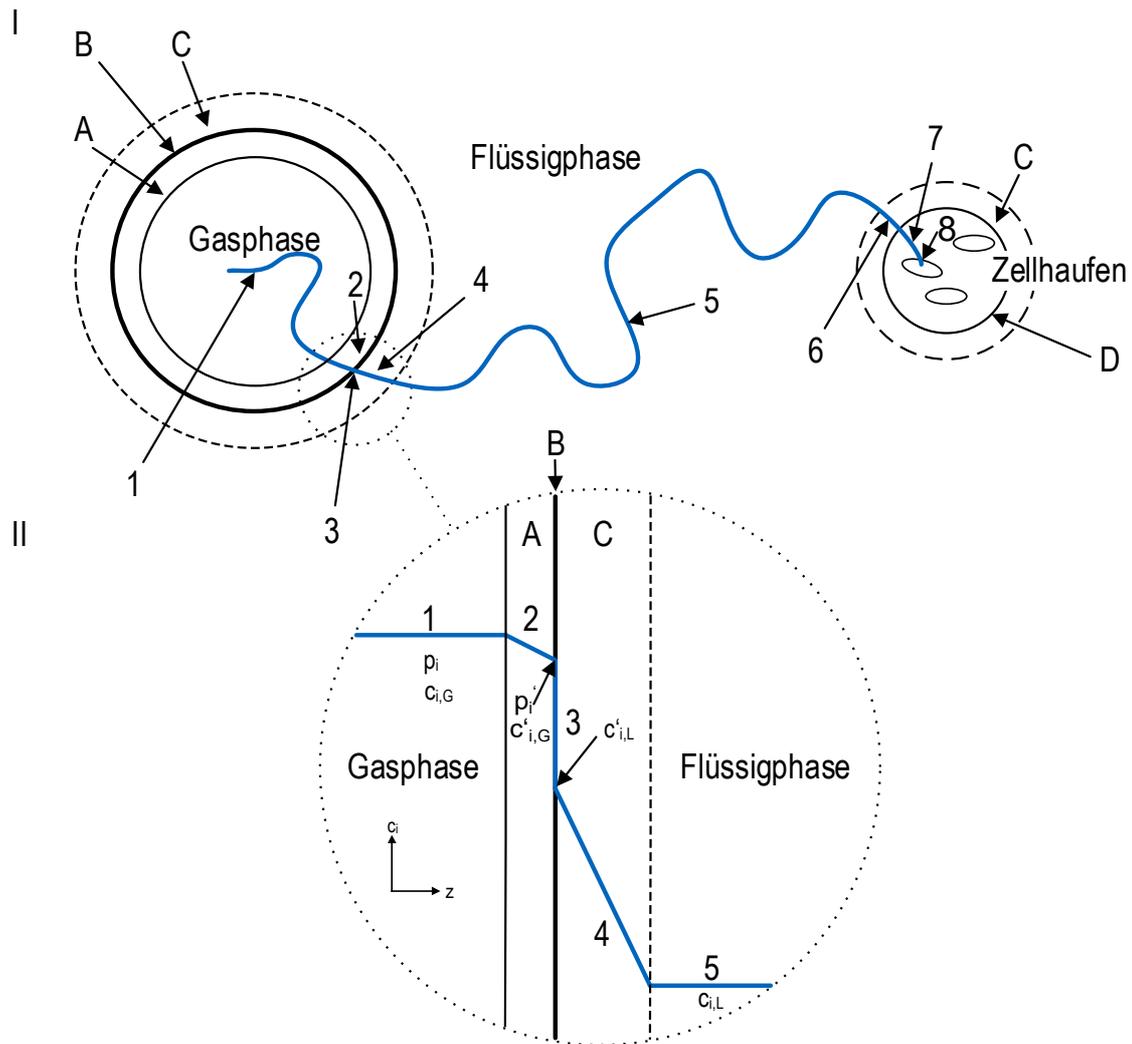


Abbildung 3.13: Vereinfachte Darstellung des Gas-Flüssig-Stofftransportes gemäß der Zweifilmtheorie, abgeändert nach Chmiel (2011). A, Grenzschicht der Gasphase; B, Gas-Flüssig-Grenzfläche; C, Grenzschicht der Flüssigkeit; D, Flüssig-Fest-Grenzfläche. I, schematische Darstellung des Stofftransportes von der Gasphase in die Flüssigphase in eine Zelle im Zellhaufen. Darstellung der Transportwiderstände: 1, Konvektiver Stofftransport in der Gasblase; 2, Diffusion vom Inneren der Gasblase zur Gas-Flüssig-Grenzfläche; 3, Stoffübergang an der Phasengrenzfläche; 4, Diffusion durch die laminare Grenzschicht der Flüssigkeit an der Gasblase; 5, konvektiver Stofftransport des gelösten Gases in der flüssigen Kernströmung, 6, Diffusion durch die laminare Grenzschicht der Flüssigkeit am Zellhaufen; 7, Diffusion durch den Zellverband; 8, Stoffübergang durch die Zellmembran. II, schematische Darstellung des geschwindigkeitsbestimmenden Stofftransportes der Komponente i von der Gasphase in die Flüssigphase an der Gas-Flüssig-Grenzfläche nach der Zweifilmtheorie: p_i , Partialdruck der Gaskomponente i in der Gasphase; $c_{i,G}$, Konzentration der Komponente i in der Gasphase; p_i' , Gasphasengrenzflächenpartialdruck; $c_{i,G}'$, Konzentration der Komponente i an der Phasengrenzfläche; $c_{i,L}'$, Flüssigkeitsgrenzflächenkonzentration; $c_{i,L}$, tatsächliche Gelöstkonzentration des Gases i .

Das Gas diffundiert vom Gasblasenkern (1) durch (2) eine gaseitige Grenzschicht (A) zur Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche (B), wo der Gas-Flüssig-Stoffübergang stattfindet (3). Um die Phasengrenzfläche befindet sich eine nicht durchmischte Flüssigkeitszone (C, laminare Grenzschicht), die vom Gas diffusiv überwunden wird (4). Anschließend nähert sich das Gas über konvektiven Stofftransport im gut durchmischten Bereich der Flüssigphase (5, Kernströmung) einem Zellhaufen, umgeben von einer laminaren

flüssigen Grenzschicht (C). Nach der Diffusion durch die Grenzschicht (6) zum Zellverband (7) über die Fest-Flüssig-Phasengrenze (D) und dem Stoffübergang durch die Zellmembran werden die intrazellulären Reaktionsplätze (8) erreicht (Chmiel 2011).

Der geschwindigkeitslimitierende Schritt ist der diffusive Stofftransport durch die flüssigkeitsseitige laminare Grenzschicht an der Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche, welcher in Abbildung 3.13 schematisch hervorgehoben ist. Alle weiteren Transportwiderstände werden in der mathematischen Darstellung dieser Theorie vernachlässigt (Hass und Pörtner 2011). Der Stofftransport in der gasseitigen (Index „G“) und der flüssigkeitsseitigen laminaren Grenzschicht (Index „L“) kann über das 1. Fick'sche Gesetz nach Gleichung 3-26 und 3-27 beschrieben werden.

$$j_{i,G} = \frac{\dot{n}_{i,G}}{A} = \frac{D_{i,j}^G}{\delta_G} \cdot (c_{i,G} - c'_{i,G}) = k_G \cdot (c_{i,G} - c'_{i,G}) \quad 3-26$$

$$j_{i,L} = \frac{\dot{n}_{i,L}}{A} = \frac{D_{i,j}^L}{\delta_L} \cdot (c'_{i,L} - c_{i,L}) = k_L \cdot (c'_{i,L} - c_{i,L}) \quad 3-27$$

| | | |
|-------------|---|-----------------------------------|
| j_i | Stoffstromdichte der Komponente i | $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ |
| \dot{n}_i | Diffusive Stofftransferrate der Komponente i | mol s^{-1} |
| A | Stoffaustauschfläche | m^2 |
| $D_{i,j}$ | Binärer Diffusionskoeffizient der Komponente i im Lösungsmittel j | $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ |
| δ | Grenzschichtdicke | m |
| k_G | Gasseitiger Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient | m s^{-1} |
| k_L | Flüssigkeitsseitiger Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient | m s^{-1} |
| c_i | Konzentration der Komponente i | mol L^{-1} |
| c'_i | Konzentration der Komponente i an der Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche | mol L^{-1} |

Durch Einführung der linearen Verteilungskoeffizienten zwischen Gas- und Flüssigphase (k_G und k_L) und Umformen der Gleichungen 3-26 und 3-27 werden Gleichung 3-28 und 3-29 erhalten. Details zur mathematischen Lösung wurden von Pauline Doran klar dargestellt (Doran 2013).

Der Gesamt-Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient (K) beschreibt den Einfluss des gaseitigen und des flüssigkeitsseitigen Stofftransportes für die jeweilige Seite. Für sehr gut lösliche Stoffe (wie zum Beispiel Ammoniak in Wasser) ist der flüssigkeitsseitige Widerstand sehr gering und der Gesamt-Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient (K_G) entspricht näherungsweise dem gaseitigen Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten (k_G). Gleichung 3-29 kann in diesem Fall vernachlässigt werden.

$$\frac{dc_{i,G}}{dt} = K_G a \cdot (c_{i,G} - c_{i,G}^*) \quad 3-28$$

$$\frac{dc_{i,L}}{dt} = K_L a \cdot (c_{i,L}^* - c_{i,L}) \quad 3-29$$

| | | |
|-------------|---|--------------|
| a | Volumenbezogene Phasengrenzfläche | $m^2 m^{-3}$ |
| K_G | Gesamt-Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient der Gasphase | $m s^{-1}$ |
| K_L | Gesamt-Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient der Flüssigphase | $m s^{-1}$ |
| $c_{i,G}^*$ | Konzentration, die mit der Kernströmung der Flüssigphase im Gleichgewicht ist | $mol L^{-1}$ |
| $c_{i,L}^*$ | Konzentration, die mit der Kernströmung der Gasphase im Gleichgewicht ist | $mol L^{-1}$ |

In der Gasfermentation wird mit schwer löslichen Gasen (CO, H₂ in Wasser) gearbeitet. Der Stofftransport kann deshalb über den flüssigseitigen Transportwiderstand alleine abgeschätzt werden, wobei der Gesamt-Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient (K_L) näherungsweise dem flüssigseitigen (k_L) entspricht (Gleichung 3-30) (Doran 2013).

$$\frac{dc_{i,L}}{dt} = k_L a \cdot (c_{i,L}^* - c_{i,L}) \quad 3-30$$

Daraus lässt sich die Gas-Flüssig-Stofftransportrate (MTR, engl. *mass transfer rate*) für die limitierenden Substrate Wasserstoff (HTR, engl. *H₂ transfer rate*) und Kohlenstoffmonoxid (COTR, engl. *CO transfer rate*) mit Gleichung 3-31 und 3-32 formulieren:

$$HTR = \frac{dc_{H_2}}{dt} = k_L a_{H_2} \cdot (c_{H_2}^* - c_{H_2}) \quad 3-31$$

$$COTR = \frac{dc_{CO}}{dt} = k_L a_{CO} \cdot (c_{CO}^* - c_{CO}) \quad 3-32$$

| | | |
|------|---|---------------------|
| HTR | Gas-Flüssig-Stofftransportrate für H ₂ (engl. <i>hydrogen transfer rate</i>) | $mol L^{-1} h^{-1}$ |
| COTR | Gas-Flüssig-Stofftransportrate für CO (engl. <i>carbon monoxide transfer rate</i>) | $mol L^{-1} h^{-1}$ |

Gas-Flüssig-Fest-Stofftransport in Biofilmen

In Biofilmreaktoren sind die Mikroorganismen überwiegend in Form eines Biofilmes auf einem Trägermaterial immobilisiert. Für die Versorgung der Mikroorganismen mit einem gasförmigen Substrat *i* müssen drei Stofftransportwiderstände (Abbildung 3.14) überwunden werden (Siegrist und Gujer 1985; Chmiel 2011):

- i. den Gas-Flüssig-Stofftransportwiderstand (W_1),
- ii. den Flüssig-Fest(Biofilm)-Stofftransportwiderstand (W_2) und
- iii. den Stofftransportwiderstand im Biofilm (W_3).

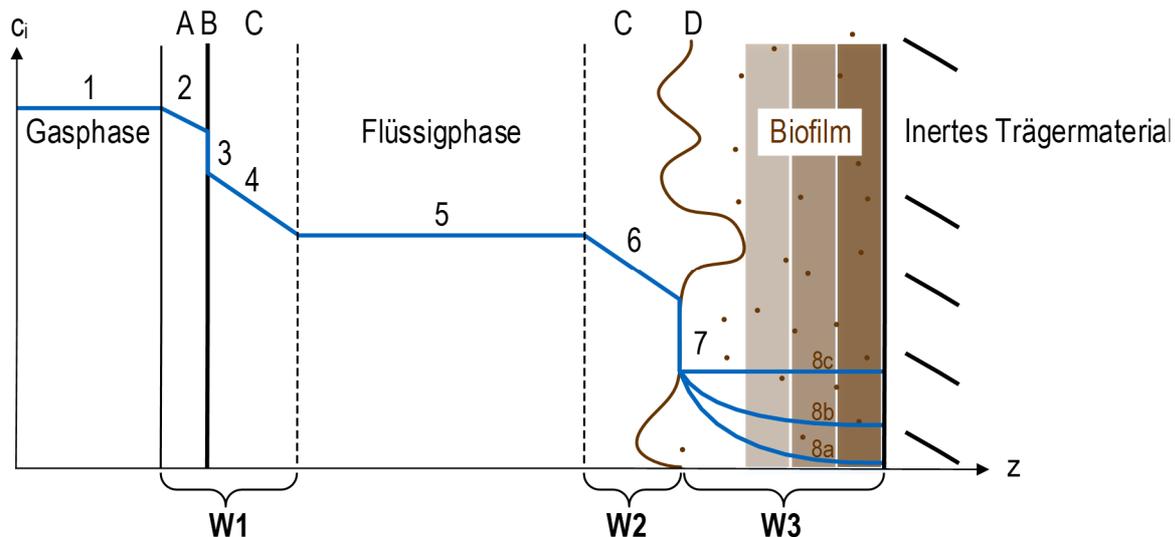


Abbildung 3.14: Schematische Darstellung des Gas-Flüssig-Fest-Stofftransportes von einer Gasblase in einen Biofilm mit drei Transportwiderständen (W) nach Chmiel (2011), Doran (2013), Williamson und McCarty (1976) sowie Siegrist und Gujer (1985): W_1 , Gas-Flüssig-Stofftransportwiderstand; W_2 , Flüssig-Fest-Stofftransportwiderstand; W_3 , Stofftransportwiderstand im Biofilm. Bezeichnungen: A, gaseitige laminare Grenzschicht; B, Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche; C, flüssigkeitsseitige laminare Grenzschicht; D Flüssig-Fest-Phasengrenzfläche; c_i , Konzentration der Komponente i ; z , Ortskoordinate.

Das Gas diffundiert gemäß der Zweifilmtheorie über konvektiven Stofftransport (1) zur gaseitigen laminaren Grenzschicht (A). Nach der Diffusion durch die gaseitige laminare Grenzschicht (2), dem Gas-Flüssig-Stoffübergang (3) durch die Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche (B) und der Diffusion (4) durch die flüssigkeitsseitige laminare Grenzschicht (C) nähert sich das gelöste Gas über konvektiven Stofftransport (5) dem Biofilm. Dieser ist wiederum von einer weiteren flüssigkeitsseitigen laminaren Grenzschicht (C) umgeben, welche über diffusiven Stofftransport bis zur Flüssig-Fest-Phasengrenzfläche überwunden wird (6). Nach dem Flüssig-Fest-Stoffübergang (7) durch die Flüssig-Fest-Phasengrenzfläche (D) erfolgt der diffusive Stofftransport (8) im Biofilm (Szewzyk und Szewzyk 2003).

Mikroorganismen in Biofilmen sind in der Regel von extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) umgeben (Flemming *et al.* 2007). Die Struktur des Biofilms variiert lokal je nach Umgebungsbedingungen, sodass der Flüssig-Fest-Stofftransport sowie der Stofftransport im Biofilm in Biofilmreaktoren nicht allgemein vernachlässigt werden kann (Siegrist und Gujer 1985). Drei Konzentrationsprofile im Biofilm sind in Abhängigkeit der Biofilmdicke möglich (Barwal und Chaudhary 2014):

- i. Die Konzentration der Komponente i nähert sich ab einer gewissen Biofilmtiefe (z') Null an ($c_i(z \geq z') \approx 0$). Dieses Profil wurde vor allem bei dicken Biofilmen beobachtet (Abbildung 3.14 8a).
- ii. Die Konzentration der Komponente i sinkt als Funktion der Biofilmtiefe (z), ist aber in allen Bereichen größer Null ($c_i(z) > 0$). Dieses Profil wurde überwiegend bei dünnen Biofilmen beobachtet (Abbildung 3.14 8b).

- iii. Die Konzentration der Komponente i ist über den gesamten Biofilm gleichmäßig verteilt und weist vernachlässigbare Gradienten auf ($c_i(z) > 0 \approx \text{konstant}$). Dieses Profil ist nur bei ausreichender Substratverfügbarkeit möglich (Abbildung 3.14 8c).

Lewandowski *et al.* (1991) beschrieben den diffusiven Stofftransport eines Gases i in einem Biofilm mit Gleichung 3-33.

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_{i,Bf} \cdot \left(\frac{\partial^2 c_i}{\partial z^2} \right) - \frac{u_{\max} \cdot c_i}{K_S + c_i} \quad 3-33$$

| | | |
|------------|--|------------------------------------|
| $D_{i,Bf}$ | Diffusionskoeffizient des Gases i im Biofilm | $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$ |
| u_{\max} | Maximale Reaktionsgeschwindigkeit | $\text{mol L}^{-1} \text{ s}^{-1}$ |
| K_S | Halbsättigungskonstante | mol L^{-1} |

Der Diffusionskoeffizient einer Komponente i im Biofilm ($D_{i,Bf}$) nimmt mit steigender Dichte des Biofilms ab. Der Diffusionskoeffizient von Sauerstoff wurde in unterschiedlichen Biofilmen auf beispielsweise 80-100 % (Williamson und McCarty 1976) beziehungsweise 20-100 % (Matson und Characklis 1976) des Diffusionskoeffizienten von Sauerstoff in Wasser geschätzt.

Für weitere Informationen zum Stofftransport in Biofilmen wird auf die weiterführende Literatur verwiesen. (Yang und Lewandowski 1995; Beyenal und Lewandowski 2002; Wäsche *et al.* 2002).

Löslichkeit von Gasen

Die Löslichkeit eines Gases i in einer Flüssigkeit kann für den Zustand unendlicher Verdünnung an der Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche bei Atmosphärendruck über das Henry'sche Gesetz beschrieben werden (Gleichung 3-34). Die für die schwerlöslichen Gase CO und H₂ gültige lineare Beziehung beschreibt die maximale Gelöstkonzentration eines Gases i in der Flüssigkeit j mit der Ionenstärke (I) bei der Temperatur (T) über den Henrykoeffizienten ($k_{H,i,j}$) (Henry 1803). Der Gesamtdruck entspricht der Summe der Partialdrücke aller Gase nach dem 1801 formulierten Gesetz von Dalton (Gleichung 3-35). Unter Annahme idealer Gase wird der Partialdruck (p_i) über das Produkt des Gasanteils (y_i) und des Gesamtdruckes (P) berechnet (Gleichung 3-35) (Gillespie 1930).

Die Gelöstkonzentration ($c_{i,L}^*$) beeinflusst den Stofftransport aufgrund des möglichen Gas-Flüssig-Konzentrationsgefälles nach Gleichung 3-30 und begründet damit geringe Gas-Flüssig-Stofftransportraten dieser Gase in wässrige Medien.

Der potentielle Stofftransport eines Gases i , kann nach dem 1. Fick'schen Gesetz (Gleichung 3-26 und 3-27) über den binären Diffusionskoeffizienten ($D_{i,j}$) beurteilt werden. Wilke und Chang zeigten eine Möglichkeit diesen näherungsweise zu bestimmen (Gleichung 3-37).

Der Assoziationsparameter für das Lösemittel Wasser ist 2,6. Das molare Volumen am Siedepunkt wurde für CO, H₂ und O₂ mit 25,6 cm³ mol⁻¹, 30,7 cm³ mol⁻¹ und 14,3 cm³ mol⁻¹ angenähert (Wilke und Chang 1955). Die Henry-Koeffizienten und binären

Diffusionskoeffizienten für CO, CO₂ und H₂ sind in Tabelle 3.6 für 30 °C und 37 °C in salzfreiem Wasser angegeben (Perry *et al.* 1997; Wilke und Chang 1955). Die Gaslöslichkeit ist zusätzlich in Abbildung 3.15 in Abhängigkeit der Temperatur und des Partialdruckes nach dem Henry'schen Gesetz grafisch dargestellt. Die Werte für Sauerstoff dienen als Referenz zum Vergleich mit aeroben Prozessen.

$$\text{Henry'sches Gesetz:} \quad c_{i,L}^* = k_{H_{ij}}(T,I,P) \cdot p_i \quad 3-34$$

$$\text{Dalton'sches Gesetz} \quad P = \sum_i p_i \quad 3-35$$

$$p_i = y_i \cdot P \quad 3-36$$

| | | |
|---------------------|--|---------------------------------------|
| $k_{H_{ij}}(T,I,P)$ | Henry-Koeffizient des Gases i in der Flüssigkeit j in Abhängigkeit der Temperatur T, der Ionenstärke I und des Gesamtdruckes P | mol L ⁻¹ bar ⁻¹ |
| P | Gesamtdruck | bar |
| p_i | Partialdruck des Gases i | bar |
| y_i | Molanteil des Gases i | - |

$$D_{i,j} = 7,4 \cdot 10^{-12} \cdot \frac{\sqrt{\phi_j \cdot M_j \cdot T}}{\eta_j(T) \cdot V_{M,i}} \quad 3-37$$

| | | |
|-----------|--|-----------------------------------|
| ϕ_j | Assoziationsparameter des Lösungsmittels j | - |
| M_j | Molare Masse des Lösungsmittels j | g mol ⁻¹ |
| η_j | Dynamische Viskosität des Lösungsmittels j | mPa s |
| $V_{M,i}$ | Molales Volumen des gelösten Gases i beim Siedepunkt bei 1 atm | cm ³ mol ⁻¹ |

Tabelle 3.6: Abgeschätzte Henry- und binäre Diffusionskoeffizienten in reinem Wasser bei Atmosphärendruck und 30 °C beziehungsweise 37 °C für CO, CO₂ und H₂ (O₂ als Referenz).

| | Henry-Koeffizient | | Binärer Diffusionskoeffizient | |
|-----------------|--|--------|---|-------|
| | mmol L ⁻¹ bar ⁻¹ | | 10 ⁻⁹ m ² s ⁻¹ | |
| | 30 °C | 37 °C | 30 °C | 37 °C |
| O ₂ | 1,168 | 1,063 | 2,75 | 3,24 |
| CO | 0,881 | 0,809 | 2,47 | 2,91 |
| CO ₂ | 29,489 | 25,032 | 2,32 | 2,74 |
| H ₂ | 0,755 | 0,736 | 3,90 | 4,60 |
| | Perry <i>et al.</i> (1997) | | Wilke und Chang (1955) | |

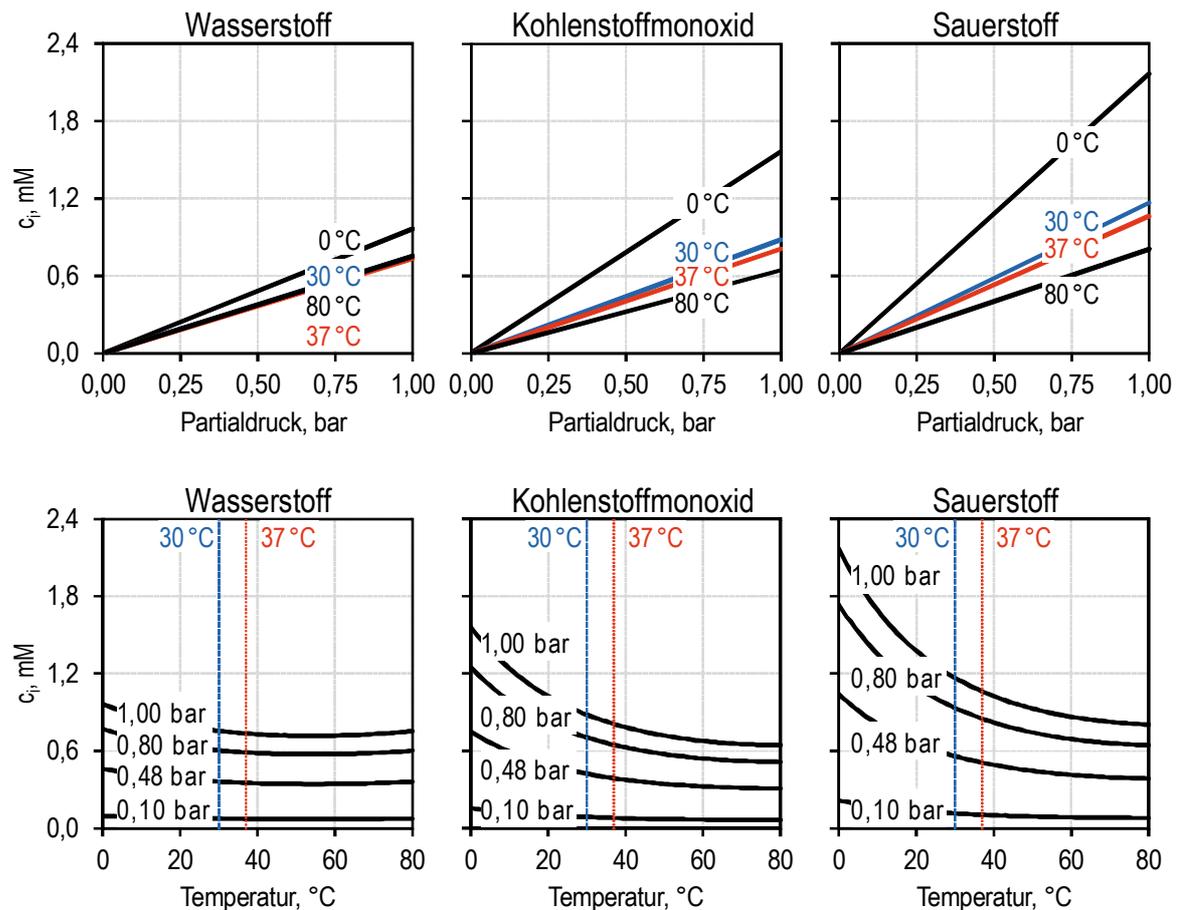


Abbildung 3.15: Maximale Gelöstkonzentration von H_2 und CO (O_2 als Referenz) an der Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche nach dem Henry'schen Gesetz (Gleichung 3-34) in reinem Wasser für unterschiedliche Temperaturen und Partialdrücke bei Atmosphärendruck nach Perry *et al.* (1997).

Das CO_2 -Carbonat-Dissoziationsgleichgewicht

Kohlenstoffdioxid ist sehr gut in wässrigem Medium löslich.

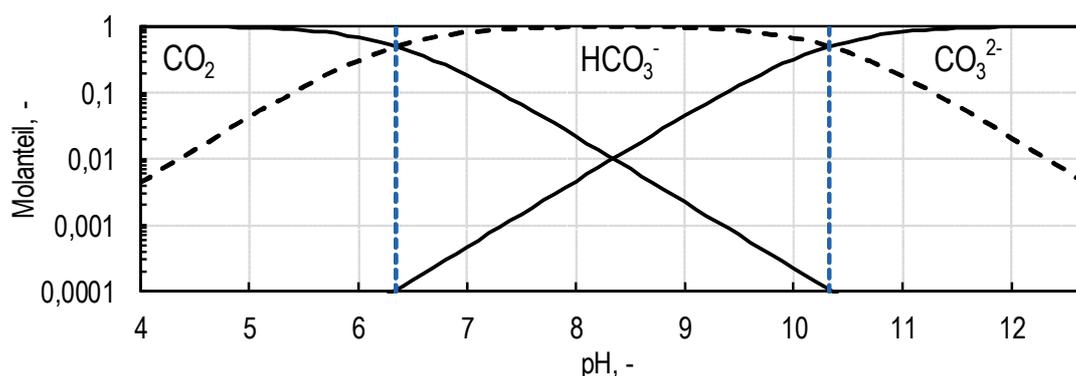
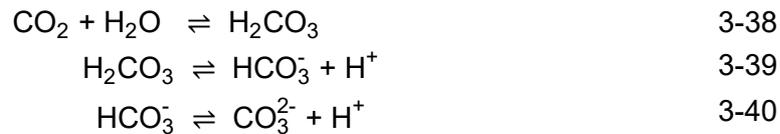


Abbildung 3.16: Dissoziationsgleichgewicht für $CO_2:HCO_3^-:CO_3^{2-}$ in reinem Wasser bei 25 °C in Abhängigkeit des pH. Die gestrichelten Vertikalen markieren die pK_s -Werte ($pK_{s,1} = 6,35$; $pK_{s,2} = 10,33$), nach Atkins und Paula (2012).

Das gelöste CO_2 reagiert in der Gleichgewichtsreaktion 3-38 mit Wasser zu Kohlensäure (H_2CO_3), wobei das Gleichgewicht auf der Seite des CO_2 liegt. Das gebildete H_2CO_3 ist eine schwache Säure und beeinflusst dadurch den pH. Sie zerfällt in Abhängigkeit vom

pH in Hydrogencarbonat (HCO_3^-) und Carbonat (CO_3^{2-}) nach den Reaktionsgleichungen 3-39 und 3-40.



Das Dissoziationsgleichgewicht ist in Abbildung 3.16 dargestellt. Kohlensäure liegt bei den untersuchten Reaktionsbedingungen mit *C. acetivum* (pH 8,0) größtenteils als Hydrogencarbonat und mit *C. carboxidivorans* (pH 4,5–pH 6,0) überwiegend als CO_2 (>70 %) vor.

Einflussgrößen auf den Stofftransport

Der Stofftransport für schwerlösliche Gase kann nach Gleichung 3-30 von drei Faktoren beeinflusst werden:

- i. dem flüssigseitigen Transferkoeffizienten (k_L),
- ii. der volumenspezifischen Austauschfläche (a),
- iii. dem Konzentrationsgefälle (Δc) zwischen der maximalen Gelöstkonzentration an der Phasengrenzfläche und der tatsächlichen Gelöstkonzentration.

Diese Faktoren können physikalisch oder chemisch beeinflusst werden. Anhand der Herleitung in Gleichung 3-26 und 3-27 kann eine Beziehung zwischen dem Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_L a$) und dem binären Diffusionskoeffizienten im Lösemittel j ($D_{i,j}$), der Flüssigfilmschichtdicke (δ_L) und der spezifischen Oberfläche der Gasblasen (A/V) in Gleichung 3-41 definiert werden.

$$k_L \cdot a \sim \frac{D_{i,j}}{\delta_L} \cdot \frac{A}{V} \quad 3-41$$

Der Transferkoeffizient (k_L) kann gemäß der Zweifilmtheorie durch die Steigerung des Diffusionskoeffizienten im Lösemittel j ($D_{i,j}$) und die Abnahme der Dicke der Flüssigfilm-grenzschicht (δ_L) erhöht werden. Ersterer kann durch höhere Temperaturen gesteigert werden. Letzterer wird durch die Eigenschaften der Flüssigkeit (Dichte, Viskosität) und die Strömungseigenschaften (relative Strömungsgeschwindigkeit der Flüssigphase) bestimmt. Geringe Flüssigfilmdicken in Rieselbettbiofilmreaktoren zeigten bereits hohe Gas-Flüssig-Stofftransportraten in autotrophen Untersuchungen (Bredwell *et al.* 1999; Devarapalli *et al.* 2017).

Die Möglichkeiten des Einflusses auf den Gas-Flüssig-Stofftransport sind über die Austauschfläche (a) vielfältiger als über den Transferkoeffizient (k_L). Gasblasen werden in Rührkesselreaktoren durch hohen Leistungseintrag zu kleinen Gasblasendurchmessern zerschlagen, wodurch ein hohes Oberflächen/Volumen-Verhältnis erreicht wird (Worden *et al.* 1997). Durch höhere Begasungsraten wird der Gasgehalt in der Flüssigphase in Rührkesselreaktoren erhöht und damit auch die Kontaktmöglichkeiten zum Gas-Flüssig-Stoffaustausch. Die Medienzusammensetzung bestimmt die Ionenstärke (I) der flüssigen

Phase und beeinflusst damit die Phasengrenzfläche aufgrund veränderter Oberflächenspannungen und damit das Koaleszenzverhalten.

Der Konzentrationsgradient (Δc) kann über die maximale Gelöstkonzentration an der Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche (Sättigungskonzentration) nach dem Henry'schen Gesetz (Gleichung 3-34) über die Temperatur und den Partialdruck des gasförmigen Substrats gesteuert werden.

Der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient

Die Beurteilung der Geschwindigkeit des Gaseintrags in Bioreaktoren erfolgt in der Literatur standardmäßig über den Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_L a$), da die separate Bestimmung des Transferkoeffizienten (k_L) und der volumenbezogenen Phasengrenzfläche (a) experimentell sehr aufwendig ist.

Der Einfluss des volumetrischen Energieeintrags und der Gasleerrohrgeschwindigkeit in Rührkesselreaktoren wird über Gleichung 3-42 beschrieben (Linek *et al.* 2012; Kopic und Heindel 2006). Reaktorspezifische Eigenschaften, inklusive der Position und der Art des Rührers, werden über die systemspezifische Konstante C berücksichtigt (Ungerman und Heindel 2007). Die Exponenten α und β nehmen für koaleszierendes Medium ungefähre Zahlenwerte von $\alpha = 0,4$ und $\beta = 0,5$ sowie für nicht-koaleszierendes Medium Zahlenwerte von $\alpha = 0,7$ und $\beta = 0,2$ ein (Bredwell *et al.* 1999).

$$k_L a = C \cdot \left(\frac{P}{V}\right)^\alpha \cdot u_g^\beta \quad 3-42$$

| | | |
|-----------------|---------------------------------|------------|
| C | Reaktorspezifische Konstante | - |
| α, β | Systemspezifische Exponenten | - |
| P/V | Volumetrischer Leistungseintrag | $W m^{-3}$ |
| u_g | Gasleerrohrgeschwindigkeit | $m s^{-1}$ |

Der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient ($k_L a$) in Blasensäulenreaktoren korreliert für heterogene Strömungen linear mit der Gasleerrohrgeschwindigkeit nach der Beziehung 3-43:

$$k_L a = k \cdot u_B^b \quad 3-43$$

| | | |
|-------|---|------------------|
| u_B | Blasenaufstiegsgeschwindigkeit | $m s^{-1}$ |
| k | Konstante abhängig vom Stoffsystem und dem Gaseintrag | $m^{-b} s^{b-1}$ |
| b | systemspezifischer Exponent | - |

Der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient ist nach Gleichung 3-41 gasspezifisch. Die Umrechnung eines bekannten Koeffizienten des Gases i für das Gas ii erfolgt über das Verhältnis der korrespondierenden Diffusionskoeffizienten nach Gleichung 3-44, da alle anderen Variablen konstant bleiben (Löser *et al.* 2005).

$$k_L a_{i,j} = k_L a_{ii,j} \cdot \frac{D_{ii,j}}{D_{i,j}} \quad 3-44$$

Die Abschätzung des Gas-Flüssig-Stofftransportes über das Penetrations- oder Oberflächenerneuerungsmodell zeigt einen radizierten Zusammenhang nach Gleichung 3-45. Experimentell ermittelte Daten für den Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten von Wasserstoff ($k_L a_{H_2}$) zeigten eine bessere Übereinstimmung als mit der Berechnung über die Zweifilmtheorie (Kodama *et al.* 1976; Flickinger 2010).

$$k_L a_{i,j} = k_L a_{ii,j} \cdot \sqrt{\frac{D_{ii,j}}{D_{i,j}}} \quad 3-45$$

Zur Bestimmung des Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_L a$) wird die Gelöstkonzentration (c_i) der Komponente i im Bioreaktor als Funktion der Zeit (t) gemessen. Zu Beginn der Messung ($t = t_0$) liegt die Gelöstkonzentration $c_{i,0}$ in der flüssigen Phase im Bioreaktor vor. Unter Annahme der Gültigkeit der Zweifilmtheorie für den Gas-Flüssig-Stofftransport schwerlöslicher Gase wird die Änderung der Gelöstkonzentration im Bioreaktor durch Integration von Gleichung 3-32 über einen linearen (Gleichung 3-46) beziehungsweise einen exponentiellen (Gleichung 3-47) Zusammenhang berechnet. Durch Fehlerquadratminimierung zwischen den gemessenen und den berechneten Verläufen der Gelöstkonzentrationen kann der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient abgeschätzt werden.

$$\ln\left(\frac{(c_i^* - c_0)}{(c_i^* - c_i)}\right) = k_L a \cdot (t - t_0) \quad 3-46$$

$$\frac{(c_i^* - c_0)}{(c_i^* - c_i)} = e^{-t \cdot k_L a} \quad 3-47$$

Die Bestimmung des Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten kann im Rieselbettbiofilmreaktor bei Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung eines gasförmigen Substrats mit der Berücksichtigung eines mittleren (Gleichung 3-46) oder eines logarithmischen (Gleichung 3-47) Konzentrationsgefälles des gasförmigen Substrates i über die Höhe des Reaktors abgeschätzt werden (Devarapalli *et al.* 2016; Sherwood *et al.* 1975; Garcia-Ochoa und Gomez 2009). Die Näherung der mittleren Substratkonzentration über das arithmetische Mittel ist für Laborreaktoren zulässig, wenn von idealer Rückvermischung ausgegangen werden kann. Die Näherung über die logarithmische Konzentrationsdifferenz ist ein Extremfall für schlanke industrielle Reaktoren, für die ideale Kolbenströmung angenommen werden kann. Für Untersuchungen, bei denen die ideale Rückvermischung nicht garantiert werden kann, ist der Bereich des Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten unter Berücksichtigung beider Grenzfälle anzugeben.

$$k_L a_i = - \frac{\frac{dn_i}{dt} \cdot \frac{1}{V_b}}{0,5 \cdot [c_i^*(p_{i,ein}) + c_i^*(p_{i,ein})]} \quad 3-48$$

$$k_L a_i = - \frac{\frac{dn_i}{dt} \cdot \frac{1}{V_b}}{\frac{c_i^*(p_{i,ein}) - c_i^*(p_{i,aus})}{\ln\left(\frac{c_i^*(p_{i,ein})}{c_i^*(p_{i,aus})}\right)}} \quad 3-49$$

| | | |
|-----------|------------------|---------------------|
| dn_i/dt | Gasaufnahme rate | mol h^{-1} |
| V_b | Bezugsvolumen | L |

Die Anwendung unterschiedlicher Bioreaktorprinzipien beeinflusst den Stofftransport. Dieser kann über den Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_L a$) quantifiziert werden. Eine Zusammenfassung der maximal gemessenen Werte für unterschiedliche Bioreaktoren ist in Tabelle 3.7 zu finden.

Die Werte für den Rührkesselreaktor (37 °C; 3,0 L; 0,5 M Na₂SO₄; $G_{\text{ein}} = 152 \text{ L h}^{-1}$; Druckluft) bei 1.500 U min⁻¹ und einem Leistungseintrag von 9 W L⁻¹ sind mit 2.281 h⁻¹ am höchsten (Puskeiler und Weuster-Botz 2005). In einem Blasensäulenreaktor (25 °C; 8,0 L Leitungswasser; $G_{\text{ein}} = 30 \text{ L h}^{-1}$; CO) wurde der vierfache Wert wie in einem *Gas-lift*-Reaktor (25 °C; 3,0 L Leitungswasser; $G_{\text{ein}} = 300 \text{ L h}^{-1}$; CO) mit Umlauf durch ein konzentrisches Rohr (Durchmesser: 55 mm; Höhe: 330 mm) gemessen (Munasinghe und Khanal 2010b; Shen *et al.* 2014a). Der Festbettbiofilmreaktor (25 °C; 8,0 L Leitungswasser; $G_{\text{ein}} = 30 \text{ L h}^{-1}$; CO) mit einem suspendierten Monolithen (Monolith Durchmesser: 93 mm; Höhe: 305 mm, 0,31 Kanäle mm⁻², spezifische Oberfläche: 1.850 m² m⁻³) zeigte ähnliche Gas-Flüssig-Stofftransporteigenschaften wie der Blasensäulenreaktor bei vergleichbaren Betriebsbedingungen in der gleichen Studie (Shen *et al.* 2014a). Die Messungen im Rieselbettbiofilmreaktor (37 °C; 0,5 L Fermentationsbrühe; $G_{\text{ein}} = 30 \text{ L h}^{-1}$; CO:CO₂:H₂:N₂ 38:28,5:28,5:5) erfolgten anhand von Gasaufnahme rates während gas-flüssig-stofftransportlimitierter autotropher Satzprozesse mit *Clostridium ragsdalei* nach Gleichung 3-49 und zeigen dadurch *in-situ* gemessene Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten von bis zu 1.012 h⁻¹ bei realistischen Betriebsbedingungen (Devarapalli *et al.* 2016). Untersuchungen zum Stofftransport in einem Rührkesselreaktor mit Hohlfaserbegasungsmodul (mikroporös, hydrophob, Polypropylen, 40 % Porosität, Porengröße im Mittel: 0,04 µm, spezifische Oberfläche 175 m² m⁻³) im Bypass (25 °C; 3,0 L Leitungswasser; $G_{\text{ein}} = 300 \text{ L h}^{-1}$; CO) zeigten Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten bis zu 1.096 h⁻¹.

Die Messungen der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten können nur bedingt miteinander verglichen werden, da die Messungen teilweise bei unterschiedlichen Bedingungen durchgeführt wurden (siehe Abschnitt 3.4.5). Dennoch zeigen die Daten den Einfluss der

Bioreaktoren und der Reaktionsbedingungen auf den Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten.

Tabelle 3.7: Zusammenfassung der höchsten in der Literatur publizierten Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten (k_{La}) in nicht-koaleszierendem Medium für unterschiedliche Bioreaktoren. *Untersuchungen wurden für Sauerstoff mit Druckluft durchgeführt und zum Vergleich im Rahmen dieser Arbeit mit Gleichung 3-45 für CO umgerechnet. Abkürzungen: V_R , Arbeitsvolumen; G , Eingangsgasvolumenstrom; L_z , Flüssigkeitszirkulationsrate.

| Bioreaktor | V_R , L | Begasung, | G , L h ⁻¹ | L_z , mL min ⁻¹ | k_{LaCO} , h ⁻¹ | Referenz |
|--|--------------|-----------------|----------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|--|
| Rührkessel- reaktor | 3,0 | Druckluft | 152,0 | - | (O ₂) 2.160 *2.281 | (Puskeiler und Weuster-Botz 2005) |
| Blasensäule | 8,0 | CO CO | 30,0 | 500 | 400 | (Shen <i>et al.</i> 2014a) (Munasinghe und Khanal 2010b) |
| <i>Gas-lift</i> Festbett- bioreaktor | 3,0 | (1,7 bar) | 300,0 | 0,5 | 91 | (Shen <i>et al.</i> 2014a) |
| Rieselbett- bioreaktor | 8,0 | CO | 30,0 | 500 | 450 | (Devarapalli <i>et al.</i> 2016) |
| Membran- bioreaktor | 8,0 | CO (2,0 bar) | 300,0 | 1.000 | 1.012 1.096 | (Shen <i>et al.</i> 2014b) |

Für die weitere detaillierte Beschreibung des Stofftransportes in Rührkesselreaktoren (Fujasová *et al.* 2007; Garcia-Ochoa und Gomez 2004; Kapic und Heindel 2006; Kapic *et al.* 2006; Linek *et al.* 1987; Linek *et al.* 1989; Linek *et al.* 1994; Linek *et al.* 1996; Havelka *et al.* 1998; Puskeiler und Weuster-Botz 2005; Schaepe *et al.* 2013), Blasensäulenreaktoren (Fadavi und Chisti 2005; Ferreira *et al.* 2013; Letzel *et al.* 1999; Li *et al.* 1995; Linek *et al.* 2005b; Linek *et al.* 2005a; Maalej *et al.* 2003; Munasinghe und Khanal 2010b), Biofilmreaktoren (Benadda *et al.* 1996; Benadda *et al.* 2000; Shen *et al.* 2014a; Devarapalli *et al.* 2017) und Membranbioreaktoren (Shen *et al.* 2014b; Munasinghe und Khanal 2012) wird auf die ausführliche Literatur verwiesen.

3.5.2 Blasencharakteristik und Gasgehalt

Die Blasengröße einer Gasblase wird von der Art der Bildung, der Dispersion und des Koaleszenzverhaltens im Flüssigmedium bestimmt. Durch möglichst kleine Blasen kann die volumenbezogene Phasengrenzfläche zum Stoffaustausch erhöht werden. Zusätzlich weisen kleinere Blasen eine geringere Aufstiegsgeschwindigkeit und damit längere Kontaktzeiten auf. Dadurch bleibt mehr Zeit für den Stoffübergang. Die Blasenauftstiegsgeschwindigkeit (u_B) ist für homogene Strömungen proportional zum Quotienten der Gasleerrohrgeschwindigkeit und des Gasgehalts (φ) nach der Beziehung 3-50.

Der Gasgehalt in Blasensäulenreaktoren korreliert für homogene Strömungen linear oder konvex mit der Gasleerrohrgeschwindigkeit (Díaz *et al.* 2008) und ist abhängig von der Höhe des Bioreaktors. In der Literatur ist der Gasgehalt für Blasensäulen im kleinen und

im großen Maßstab zwischen 0,4 % und 4,0 % (Weuster-Botz *et al.* 2001) beziehungsweise bis zu 25 % bei Atmosphärendruck (Letzel *et al.* 1999) beschrieben.

$$u_B \sim \frac{u_g}{\varphi} \quad 3-50$$

| | | |
|-----------|--------------------------------|-------------------|
| u_B | Blasenaufstiegsgeschwindigkeit | m s^{-1} |
| u_g | Gasleerrohrgeschwindigkeit | m s^{-1} |
| φ | Gasgehalt | - |

Das untere Limit fein dispergierter Gasblasen wird deutlich kleiner als 1 mm angegeben, da die Gasblasen im Vergleich zur Aufstiegsgeschwindigkeit schnell mit der Flüssigphase im Gleichgewicht stehen, sodass der Gasgehalt nicht mehr für den Gas-Flüssig-Stofftransport zur Verfügung steht. (Doran 2013). Vor allem bei Bioprocessen mit hochviskosen Flüssigkeiten sind größere Blasendurchmesser von Vorteil (Heijnen *et al.* 1980).

Die Blasengrößenverteilung ist ein Maß für die Homogenität der Gasblasen. Die Verteilungsbreite wird über Gleichung 3-51 mit dem Verteilungskoeffizienten (span) angegeben.

$$\text{span} = \frac{d_{B,90} - d_{B,10}}{d_{B,50}} \quad 3-51$$

| | | |
|-----------|--|---------------|
| span | Breite der Blasengrößenverteilung | - |
| $d_{B,Z}$ | Maximaler Blasendurchmesser für Z % aller Blasen | μm |

Jianyong Wu (1995) fasste die Erkenntnisse zum Gasblasenaustrag an der Flüssigkeitsoberfläche zusammen. Der beschriebene hydrodynamische Mechanismus ist in Abbildung 3.17 dargestellt:

Erreicht eine Gasblase die Flüssigkeitsoberfläche, bildet sich ein dünner, halbkugelförmiger Flüssigkeitsfilm um die Gasblase (A), welcher bei einer kritischen Filmdicke am Scheitel reißt (B). Das entstandene Loch expandiert schnell, während die Flüssigkeit mit großer Geschwindigkeit entlang der Gasblasenausbuchtung auf die Oberfläche zurückschlägt (C). Die Geschwindigkeit (u_F) kann über die Culic-Gleichung 3-52 abgeschätzt werden und wird für einen 2 μm -Wasserfilm mit 8 m s^{-1} angegeben (Wu 1995).

$$u_F = \sqrt{\frac{2 \cdot \sigma}{\rho_L \cdot \delta_{\text{Film}}}} \quad 3-52$$

| | | |
|------------------------|--|--------------------|
| u_F | Geschwindigkeit des zurückschlagenden Flüssigfilms | m s^{-1} |
| σ | Oberflächenspannung | N m^{-1} |
| ρ_L | Flüssigkeitsdichte | kg m^{-3} |
| δ_{Film} | Filmdicke | m |

Am unteren Scheitel der Gasblasenausbuchtung prallen die symmetrisch zurückschlagenden Strömungen aufeinander. Ein hoher Druck entsteht, sodass zwei entgegengesetzte Flüssigkeitsstrahlen erzeugt werden. Der eine wird in die Flüssigkeit, der andere in den Kopfraum beschleunigt. Der aufsteigende Flüssigkeitsstrahl kann Geschwindigkeiten von zum Beispiel 5 m s^{-1} erreichen. Abschließend kann der Strahl in einzelne Flüssigkeitstropfen aufbrechen (Wu 1995).

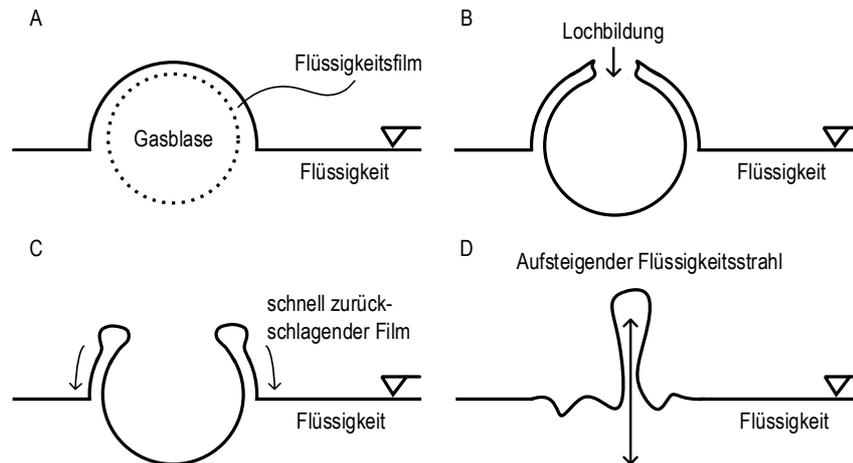


Abbildung 3.17: Hydrodynamischer Mechanismus des Zerplatzens einer Gasblase an der Flüssigkeitsoberfläche und seine Auswirkungen, abgeändert nach Wu (1995).

3.5.3 Leistungseintrag

Der Leistungseintrag in Rührkesselreaktoren erfolgt über das Rührwerk und wird mit der dimensionslosen Leistungs- oder Newtonzahl in Gleichung 3-53 beschrieben (Hortsch und Weuster-Botz 2009).

Die Bestimmung des Leistungseintrages in Rührkesselreaktoren kann über Kraft-, Drehmoment-, Dehnungs- oder elektrische Messungen erfolgen (Ascanio *et al.* 2004). Aufgrund des Gasgehaltes der Flüssigphase sinkt der Leistungseintrag in den Rührkesselreaktor bei gleichbleibender Rührerdrehzahl und steigender Begasungsrate (Chmiel 2011; Linek *et al.* 2012).

$$P = Ne \cdot \rho \cdot N^3 \cdot AD_{Rü}^5 \quad 3-53$$

| | | |
|-----------|-------------------------------|-------------------|
| P | Mechanischer Leistungseintrag | W |
| Ne | Dimensionslose Newtonzahl | - |
| N | Rührerdrehzahl | min^{-1} |
| $AD_{Rü}$ | Rührerdurchmesser | m |

Der Leistungseintrag pneumatisch durchmischter Reaktoren wird über die Gasblasenbildungsenergie, die isotherme Gasphasenexpansion, die Trägheitskräfte der verdrängten Flüssigkeit und ihrer Schubspannung berechnet (Gleichung 3-54). Die letzten beiden

Terme können für wässrige Medien vernachlässigt werden, woraus sich Gleichung 3-55 ergibt (Weuster-Botz *et al.* 2001).

$$\left(\frac{P}{V}\right) = \left(\frac{P}{V}\right)_0 + \left(\frac{P}{V}\right)_E + \left(\frac{P}{V}\right)_T + \left(\frac{P}{V}\right)_\eta \quad 3-54$$

$$\left(\frac{P}{V}\right) = \frac{6 \cdot u_g \cdot \sigma}{H_{FB} \cdot d_{B,n}} + \frac{u_g \cdot R \cdot T \cdot \bar{\rho}}{\bar{M} \cdot H_{FB}} \cdot \ln\left(\frac{P_1}{P_0}\right) \quad 3-55$$

$$P_1 - P_0 = \rho \cdot g \cdot H_{FB} \quad 3-56$$

| | | |
|--------------|--|-----------------------|
| (P/V) | Volumetrischer Leistungseintrag | $W m^{-3}$ |
| $(P/V)_0$ | Leistungseintrag der Blasenbildung | $W m^{-3}$ |
| $(P/V)_E$ | Leistungseintrag der Blasenexpansion | $W m^{-3}$ |
| $(P/V)_T$ | Leistungseintrag der Trägheitskräfte | $W m^{-3}$ |
| $(P/V)_\eta$ | Leistungseintrag der Schubspannung | $W m^{-3}$ |
| H_{FB} | Flüssigkeitshöhe über dem Begasungsorgan | m |
| R | Ideale Gaskonstante | $kJ K^{-1} kmol^{-1}$ |
| T | Temperatur | K |
| P_1 | Druck am Gaseingang | bar |
| P_0 | Druck im Kopfraum des Reaktors | bar |
| g | Erdbeschleunigung | $m s^{-2}$ |
| \bar{M} | Mittlere Molmasse | $kg kmol^{-1}$ |
| $\bar{\rho}$ | Mittlere Dichte der Gasmischung | $kg m^{-3}$ |

Die Gasblasenbildungsenergie ist nur in Blasensäulenreaktoren mit niedriger Flüssigkeitssäule (<5 m) relevant, da ihr Anteil sonst verhältnismäßig sehr klein wird. Typische Leistungseinträge im Labormaßstab sind für Rührkesselreaktoren größer als $1.000 W m^{-3}$ (Hortsch und Weuster-Botz 2009) und für Blasensäulenreaktoren zwischen 10 und $100 W m^{-3}$ (Weuster-Botz *et al.* 2001).

3.5.4 Mischzeitcharakteristik

Um eine isotrope Medien- oder Substratversorgung zu garantieren und gleichzeitig keine Hemmungen durch die Akkumulation von Stoffwechselmetaboliten zu erzeugen, ist die effektive Durchmischung eines Bioreaktors von entscheidender Bedeutung (Tan *et al.* 2011). Laut Villadsen *et al.* (2011) sind 60 % aller Komplikationen in der industriellen Biotechnologie auf Heterogenitäten im Bioreaktor zurückzuführen.

Ein Maß für die Effizienz der Durchmischung ist die Mischzeit (θ_{Mi}), die ein zugegebener Stoff zur gleichmäßigen Verteilung bis zur Mischgüte (M_i , Gleichung 3-57) benötigt (Kraume 2006).

Die Mischzeit einer Mischgüte kann auf mehrere Arten, wie auf Basis von Leitfähigkeit, Fluoreszenz, Entfärbung, Farbumschlag, Photonenfluss, radioaktiven Markern, pH oder

Temperatur, gemessen werden (Hiby 1979). Bei der Verwendung von Sondenmethoden ist deren Position von entscheidender Bedeutung (Zlokarnik 1999).

$$M_i = 1 - \frac{c_{GGW} - c(t)}{c_{GGW} - c(0)} = 1 - \frac{dc}{dc_0} \quad 3-57$$

| | | |
|-----------|---------------------------------------|------------|
| M_i | Mischgüte | - |
| c_{GGW} | Gleichgewichtskonzentration | $g L^{-1}$ |
| $c(t)$ | Konzentration zum Zeitpunkt t | $g L^{-1}$ |
| $c(0)$ | Konzentration zum Zeitpunkt $t = 0$ s | $g L^{-1}$ |

Untersuchungen in einem Rührkesselreaktor (10,8 L Wasser; 500 U min^{-1} ; Puls mit 10 mL 4,3 M NaCl-Lösung) für eine Mischgüte von 95 % zeigten eine Mischzeit (θ_{95}) von 9 s, welche nahezu unabhängig von der Gasleerrohrgeschwindigkeit (0-0,74 $cm s^{-1}$) war (Zhang *et al.* 2009). In einem Blasensäulenreaktor mit internem Umlauf (30 L salzfreies Wasser; Puls mit 1 mL gesättigter KCl-Lösung) variierte die Mischzeit (θ_{90}) von 75 s bis 20 s bei Gasleerrohrgeschwindigkeiten von 0,2 $cm s^{-1}$ und 5,5 $cm s^{-1}$ (Merchuk *et al.* 1996).

3.5.5 Verweilzeitcharakteristik von idealen und realen Reaktoren

Bei kontinuierlichen Prozessen kann ein eingegangenes Volumenelement (V_i) unterschiedlich lange im Reaktor verbleiben. Die Dauer wird Verweilzeit genannt. Bei allen Reaktoren bis auf den „idealen Rohreaktor“ (Definition siehe Seite 53) entsteht durch die unterschiedlichen hydraulischen Verweilzeiten eine Verweilzeitverteilung. Sie beschreibt die Wahrscheinlichkeit, dass ein Teilchen, das zum Zeitpunkt t_0 in den Reaktor eingetreten ist, diesen zum Zeitpunkt (t) wieder verlässt. Die Charakteristik kann standardmäßig über zwei Methoden ermittelt werden:

- i. eine Stoßmarkierung (Dirac-Impuls)
- ii. eine Stufenmarkierung

Bei ersterer wird eine definierte Menge an Markersubstanz aufgegeben und am Ausgang des untersuchten Reaktors gemessen. Das Signal ergibt die Verweilzeitdichtefunktion ($E(t)$), welche nach Gleichung 3-58, normiert auf die Gesamtteilchenmenge berechnet wird. Mögliche Markersubstanzen sind Elektrolyte, die per Leitfähigkeitsmessung bestimmt werden können (Hagen 2017).

$$E(t) = \frac{c(t)}{\int_0^\infty c(t) \cdot dt} \approx \frac{c(t)}{\sum_i c(t) \cdot \Delta t} \quad 3-58$$

| | | |
|--------|---|---------------|
| $E(t)$ | Verweilzeitdichtefunktion | - |
| $c(t)$ | Konzentration am Ausgang nach einer Zeit t | $mmol L^{-1}$ |

Bei der Stufenmarkierung wird die Markierungssubstanz (Marker) ab dem Zeitpunkt t_0 kontinuierlich aufgegeben. Es entsteht die Verweilzeitsummenfunktion ($F(t)$) nach Gleichung 3-59.

$$F(t) = \frac{c(t)}{c_{\text{Marker}}} \quad 3-59$$

| | | |
|---------------------|---------------------------------------|----------------------|
| $F(t)$ | Verweilzeitsummenfunktion | - |
| c_{Marker} | Konzentration der Markierungssubstanz | mmol L ⁻¹ |

Die Verweilzeitsummenfunktion ($F(t)$) wird aus der Verweilzeitdichtefunktion ($E(t)$) nach Gleichung 3-60 berechnet.

$$F(t) = \int_0^t E(t) \cdot dt \quad 3-60$$

Die mittlere hydraulische Verweilzeit wird über das integrale Produkt der Verweilzeitdichtefunktion mit der Zeit ermittelt (Gleichung 3-61). Handelt es sich um eine isochore, isotherme Reaktion entspricht sie der mittleren hydraulischen Verweilzeit τ . Diese wird über den Quotienten des Volumens und des konstanten Zu- und Ablaufstroms \dot{V} bestimmt (Gleichung 3-62).

$$\bar{t} = \int_0^{\infty} t \cdot E(t) \cdot dt \quad 3-61$$

$$\bar{t} = \tau = \frac{V}{\dot{V}} \quad 3-62$$

| | | |
|-----------|-----------------------------------|-------------------|
| \bar{t} | Mittlere hydraulische Verweilzeit | s |
| τ | Mittlere hydraulische Verweilzeit | s |
| \dot{V} | Zulauf-/Ablaufstrom | L s ⁻¹ |

Die normierte Darstellung erfolgt über die dimensionslose Zeit Θ (Gleichung 3-63) mit dem analogen Verweilzeitenspektrum (Gleichung 3-64) (Müller-Erlwein 2015).

$$\Theta = \frac{t}{\bar{t}} \quad 3-63$$

$$E(\Theta) = \bar{t} \cdot E(t) \quad 3-64$$

Verweilzeitenspektrum idealer Reaktoren

Ein ideales Strömungrohr (PFR, engl. *plug flow reactor*) ist ein kontinuierlich betriebener idealer Rohreaktor mit einem kolbenförmigen Geschwindigkeitsprofil. Alle infinitesimal kleinen Volumenelemente passieren den Reaktor unter Annahme keiner axialen Rückvermischung und totaler radialer Durchmischung mit der gleichen hydraulischen Verweilzeit. Dieser ideale Reaktor wird als anisotrop und stationär bezeichnet. Die Verweilzeitdichte-

funktion ist für die dimensionslose Zeit $\Theta = 1$ unendlich und alle anderen Zeitpunkte Null (Gleichung 3-65 und 3-66).

$$E(\Theta = 1) = \infty; \quad E(\Theta \neq 1) = 0 \quad 3-65$$

$$F(\Theta < 1) = 0; \quad F(\Theta \geq 1) = 1 \quad 3-66$$

Der ideal durchmischte, kontinuierliche Rührkesselreaktor (CSTR, engl. *continuous stirred-tank reactor*) ist isotrop und stationär. Für eine definierte zugegebene Pulsmenge einer Markiersubstanz stellt sich unmittelbar die maximale mittlere Konzentration nach Gleichung 3-67 ein.

$$E(\Theta) = e^{-\Theta} \quad 3-67$$

$$F(\Theta) = 1 - e^{-\Theta} \quad 3-68$$

Eine Rührkesselkaskade beschreibt eine definierte Menge (N_K) in Serie geschaltener idealer Rührkesselreaktoren mit identischem Volumen. Bei steigender Zahl an Reaktoren (N_K) nähert sich das Verweilzeitverhalten einem idealen Strömungsrohr an (Baerns *et al.* 2013).

Verweilzeitspektrum realer Reaktoren

Ideale Reaktoren zeigen Extreme der Durchmischung. Das ideale Strömungsrohr setzt keine, der ideale kontinuierlich betriebene Rührkesselreaktor vollständige Vermischung voraus. Diese Annahmen sind für Reaktoren in der Praxis oft näherungsweise gerechtfertigt, in anderen Fällen aber sehr fehlerbehaftet. Abweichungen vom idealen Strömungsrohrverhalten können durch axiale Dispersionsvorgänge, die Haftbedingung an der Rohrwand oder durch laminare Strömungen verursacht werden. In Rührkesselreaktoren sind Totzonen oder Kurzschlüsse problematisch. Konstruktionsbedingte Mängel können durch den Vergleich des Verweilzeitverhaltens mit idealen Reaktoren oft aufgezeigt werden (Müller-Erlwein 2015).

Das Mischverhalten von realen Reaktoren befindet sich demnach zwischen dem einen und dem anderen Extrem. Die Abschätzung erfolgt über das Modell der axialen Dispersion, das in Analogie zum 2. Fick'schen Gesetz dimensionslos mit der Einführung eines ortsunabhängigen axialen Dispersionskoeffizienten (D_{ax}) in Gleichung 3-69 definiert ist.

$$\frac{\partial c/c_0}{\partial \Theta} = 0 = \frac{D_{ax}}{u \cdot L} \cdot \frac{\partial^2 c/c_0}{\partial (z/L)^2} - \frac{\partial c/c_0}{\partial z/L} \quad 3-69$$

| | | |
|----------|--------------------------------|--------------|
| D_{ax} | Axialer Dispersionskoeffizient | $m^2 s^{-1}$ |
| u | Strömungsgeschwindigkeit | $m s^{-1}$ |
| L | Länge des Reaktors | m |
| z | Ortskoordinate | - |

Der Kehrwert des dimensionslosen Faktors in der Differentialgleichung 3-69 wird als die Bodenstein-Zahl (Bo) bezeichnet. Sie beschreibt das Verhältnis von Konvektionsstrom zu axialem Dispersionsstrom (Gleichung 3-70) (Hertwig und Martens 2012).

$$Bo = \frac{\text{Konvektion}}{\text{axiale Dispersion}} = \frac{u \cdot L}{D_{ax}} \quad 3-70$$

Je kleiner die Bodensteinzahl, desto größer die axiale Dispersion und die Ähnlichkeit mit dem Verhalten eines idealen Rührkesselreaktors. Ab einer Bodensteinzahl größer gleich 100 ist die Annahme von Pfropfenströmung näherungsweise gerechtfertigt.

$$Bo \rightarrow \infty \quad \text{Ideales Strömungsrohr (keine axiale Dispersion)} \quad 3-71$$

$$Bo \rightarrow 0 \quad \text{Idealer Rührkessel (totale Rückvermischung)} \quad 3-72$$

Der Verlauf der Verweilzeitspektren für den idealen Rührkessel, das ideale Strömungsrohr und realen Strömungsrohrreaktoren mit unterschiedlichen Bodensteinzahlen sind in Abbildung 3.18 grafisch dargestellt.

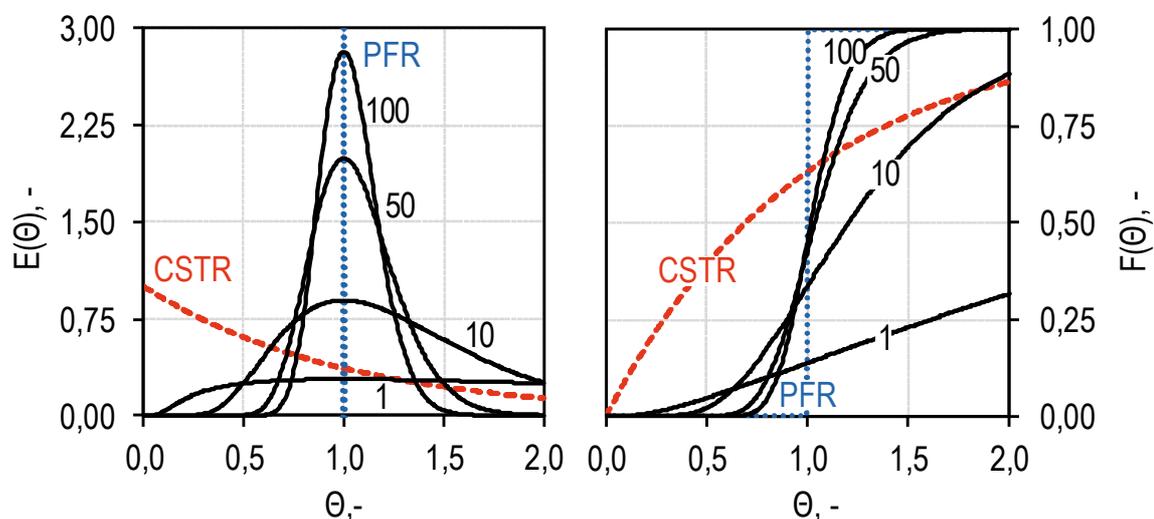


Abbildung 3.18: Darstellung der Verweilzeitdichtefunktion ($E(\Theta)$) und der Verweilzeitsummenfunktion ($F(\Theta)$) für die dimensionslose Zeit (Θ) für den idealen Rührkessel (CSTR, rote Strichlinie), reale Reaktoren mit unterschiedlichen Bodensteinzahlen (Zahlen in Abbildung, schwarze Volllinien) und ein ideales Strömungsrohr (PFR, blaue Punktlinie).

3.6 Bioprozesstechnische Grundlagen

Im Rahmen dieser Arbeit werden Bioprozesse in unterschiedlichen Bioreaktoren beurteilt. Diese Evaluierung erfolgte auf Basis bioprozesstechnischer Grundlagen, welche im Folgenden erläutert werden.

3.6.1 Mikrobielles Wachstum

Mikroorganismen benötigen zum Wachstum Nährstoffe wie organische Kohlenstoffquellen, Vitamine, Spurenelemente und Salze. Für Aerobier ist der Stofftransport von Sauerstoff oft maßgeblich für das mikrobielle Wachstum. Acetogene Mikroorganismen brauchen für den chemolithoautotrophen Stoffwechsel gasförmige Substrate wie CO , CO_2 und H_2 . Die Verfügbarkeit wird in der Regel über Flüssigmedien ermöglicht. Im

Satzverfahren können bei anfangs unlimitierten Nährstoffbedingungen sechs Wachstumsphasen definiert werden (Monod 1949). Der zeitliche Verlauf des natürlichen Logarithmus der Biomassekonzentration (c_x) eines Satzprozess und die Prozessphasen sind in Abbildung 3.19 schematisch dargestellt.

Zu Beginn stellt sich eine je nach Mikroorganismus und Prozessbedingung unterschiedlich lange Verzögerungsphase (engl. *lag phase*, I) ein. Sobald sich der Biokatalysator an die Umgebungsbedingungen angepasst hat, startet das Wachstum (Übergangsphase, II). Die Zellen wachsen exponentiell mit der spezifischen Wachstumsrate (μ_{exp}) (III) bis ein Nährstoffanteil limitierend wirkt und sich das Wachstum verlangsamt (IV). Aufgrund von Nährstoffmangel sterben einige Organismen. In der stationären Wachstumsphase befinden sich Wachstums- und Sterberate im Gleichgewicht (V). Überwiegt die Sterberate, so sinkt die Zellkonzentration (VI).

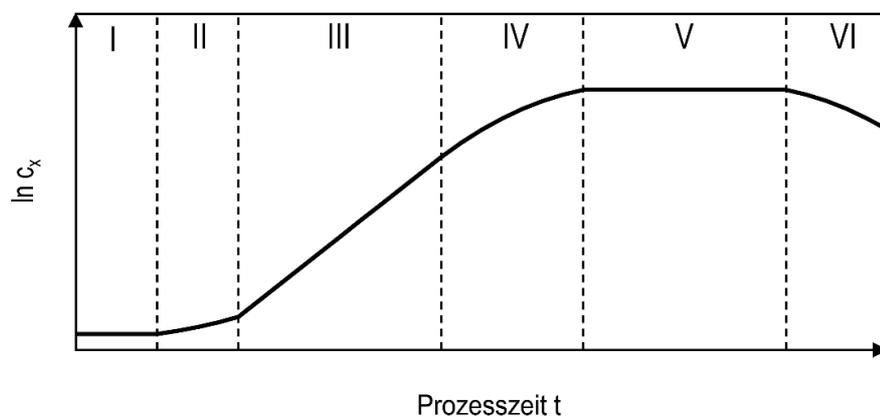


Abbildung 3.19: Darstellung der logarithmischen Änderung der Biomassekonzentration (c_x) über die Prozesszeit und der Wachstumsphasen von Mikroorganismen im anfangs unlimitierten Satzverfahren: I, Verzögerungsphase; II, Übergangsphase; III, exponentielle Wachstumsphase; IV, limitiertes Wachstum; V, stationäre Phase; VI, Absterbephase.

Das Wachstum kann unsegregiert und unstrukturiert mit Gleichung 3-73 beschrieben werden. Dabei wird die Biomasse als eine Gesamteinheit betrachtet.

$$\frac{dc_x}{dt} = \mu \cdot c_x = r_x \quad 3-73$$

| | | |
|-------|-----------------------------|-------------------------------|
| c_x | Biomassekonzentration | $L \cdot h^{-1}$ |
| μ | Spezifische Wachstumsrate | h^{-1} |
| r_x | Volumetrische Wachstumsrate | $g \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$ |

Durch Umformen wird die spezifische Wachstumsrate in Gleichung 3-74 definiert:

$$\mu \equiv \frac{1}{c_x} \cdot \frac{dc_x}{dt} = \frac{1}{c_x} \cdot r_x \quad 3-74$$

Die exponentielle Wachstumskinetik wird mit der maximal möglichen Wachstumsrate ($\mu = \mu_{\max} = \text{konstant}$; Phase III in Abbildung 3.19) und der Anfangsbiomassekonzentration ($c_{x,0}$) durch Integration von Gleichung 3-74 über die Zeit in Gleichung 3-75 dargestellt:

$$c_x = c_{x,0} \cdot e^{\mu_{\max} \cdot t} \quad 3-75$$

Analog werden volumetrische (r) und zellspezifische (q) Reaktionsgeschwindigkeiten für die Substrate/Produkte i nach Gleichung 3-76 und 3-77 definiert.

$$r_i = \frac{dc_i}{dt} = c_x \cdot q_i \quad 3-76$$

$$q_i \equiv \frac{1}{c_x} \cdot \frac{dc_i}{dt} = \frac{1}{c_x} \cdot r_i \quad 3-77$$

| | | |
|-------|---|-----------------------------------|
| c_i | Konzentration von Substrat/Produkt i | mol L^{-1} |
| r_i | Volumetrische Reaktionsgeschwindigkeit des Substrats/Produkts i | $\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ |
| q_i | Zellspezifische Reaktionsgeschwindigkeit des Substrats/Produkts i | $\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ |

Der Vergleich von zwei Raten erfolgt mittels des Ausbeutekoeffizienten ($Y_{i,j}$), der in Gleichung 3-78 definiert ist:

$$Y_{i,j} \equiv \frac{dc_i}{dc_j} = \frac{r_i}{r_j} = \frac{q_i}{q_j} \quad 3-78$$

$Y_{i,j}$ Ausbeutekoeffizient von i pro j -

3.6.2 Kinetik von Biomassewachstum und Produktbildung

Bei Bioprozessen wird zwischen zwei Arten von Medien unterschieden: dem definierten und dem komplexen Medium. Beim definierten Medium sind alle Medienbestandteile sowohl qualitativ als auch quantitativ bekannt, während beim komplexen Medium die Bestandteile (teilweise) aus qualitativ undefinierten und je nach Produktionscharge variierenden Extrakten kommen. Das Ziel von Bioprozessen ist es, maximale Wachstums- und Produktbildungsraten mit möglichst geringen Produktionskosten zu erzielen. Dazu müssen die Medienbestandteile für die biokatalytische Produktion in ausreichender Menge vorhanden sein, dürfen aber aus ökonomischer und ökologischer Sicht nicht verschwendet werden. Ist ein Medienbestandteil nicht ausreichend vorhanden, so wird von einer Limitierung gesprochen. Je nach Betriebsweise und Betriebsbedingung können auch mehrere Komponenten zugleich limitierend wirken (Chmiel 2011).

Unter der Annahme einer allein limitierenden Komponente wurde das Monod-Modell als sehr vereinfachte Darstellung formuliert (Gleichung 3-79). Üblicherweise ist die erste limitierende Komponente die Kohlenstoffquelle des Substrates (c_S) (Monod 1949).

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{c_S}{K_S + c_S} \quad 3-79$$

| | | |
|-------|---|---------------------|
| c_S | Konzentration des limitierenden Substrats S | mol L ⁻¹ |
| K_S | Affinitätskonstante des Substrates S | mol L ⁻¹ |

Das Monod-Modell beschreibt den Zusammenhang zwischen der spezifischen Wachstumsgeschwindigkeit (μ) eines Mikroorganismus und der Konzentration des allein limitierenden Substrats (c_S) und ist schematisch in Abbildung 3.20 dargestellt. Die Affinitätskonstante (K_S) beschreibt die Affinität des Mikroorganismus zu dem limitierenden Substrat. Bei geringen Affinitätskonstanten braucht der Mikroorganismus nur sehr geringe Substratkonzentrationen um die maximale spezifische Wachstumsrate (μ_{\max}) zu erreichen. Entspricht die Substratkonzentration der Affinitätskonstante ($c_S = K_S$), so ist die spezifische Wachstumsrate halbmaximal ($\mu = 0,5 \cdot \mu_{\max}$). Bei deutlich höheren Substratkonzentrationen ($c_S \gg K_S$) entspricht die spezifische Wachstumsrate näherungsweise ihrem Maximalwert ($\mu \approx \mu_{\max}$). In dieser Arbeit ist eine Limitierung für Konzentrationen des limitierenden Substrats kleiner dem optimalen Partialdruck beziehungsweise der korrespondierenden Gelöstkonzentration definiert ($c_S \leq c_{S,opt}$).

Für die Gültigkeit dieses Modell wird unstrukturiertes und unsegregiertes Wachstum angenommen. Weiterhin wird Zelltod vernachlässigt, sodass alle Zellen zur Zellteilung mit maximaler Kapazität berücksichtigt werden. Der Nährstoffbedarf einer Zelle zum Überleben wird als Erhaltungsstoffwechsel bezeichnet und im Monod-Modell nicht berücksichtigt.

Wird das Biomassewachstum durch einen Bestandteil im Reaktionsmedium verlangsamt, so wird von einer Inhibierung gesprochen. Eine Inhibierung kann entweder durch Substratüberschuss (Pfaffinger *et al.* 2016) oder durch die Akkumulation eines oder mehrerer Stoffwechselmetaboliten auftreten (Herrero 1983). Zur mathematischen Beschreibung des Einflusses eines inhibierenden Substrates wurde die Erweiterung des Monod-Modells mit einer Inhibierungskonstante (K_I) und einem Sensitivitätsfaktor (ω) vorgeschlagen (Andrews 1968; Pfaffinger *et al.* 2016).

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{c_S}{K_S + c_S + c_S \cdot \left(\frac{c_S}{K_I}\right)^\omega} \quad 3-80$$

$$c_{S,opt} = \sqrt[\omega+1]{\frac{K_S \cdot K_I^\omega}{\omega}} \quad 3-81$$

| | | |
|-------------|--------------------------------|---------------------|
| K_I | Inhibierungskonstante | mol L ⁻¹ |
| $c_{S,opt}$ | Optimale Substratkonzentration | mol L ⁻¹ |
| ω | Sensitivitätsfaktor | - |

Das Modell nach Andrews (1968) ist schematisch in Abbildung 3.20 dargestellt ($\omega = 1$). Ist die Inhibierungskonstante viel größer als die Affinitätskonstante ($K_i \gg K_s$), so ist die Wachstumsrate bei einer Substratkonzentration gleich der Affinitätskonstante oder der Inhibierungskonstante näherungsweise halbmaximal ($\mu(c_s = K_s) \approx \mu(c_s = K_i) \approx 0,5 \mu_{\max}$). Der Sensitivitätsfaktor (ω) ermöglicht eine Abschätzung der Wachstumskinetik bei hohen Konzentrationen des inhibierenden Substrats. Die optimale Substratkonzentration kann über die Wurzel des Produkts der Affinitätskonstante und der Inhibierungskonstante nach Gleichung 3-81 ermittelt werden.

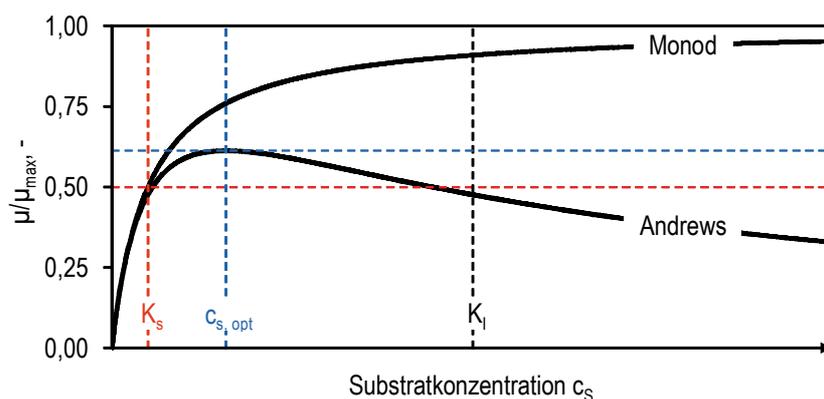


Abbildung 3.20: Schematische Darstellung formalkinetischer Modelle zur Beschreibung des Einflusses eines limitierenden Substrats (c_s) auf die Wachstumsrate des Biokatalysators (μ) nach Monod (1949) beziehungsweise des Einflusses eines sowohl limitierenden als auch inhibierenden Substrats nach Andrews (1968). Modellparameter: μ_{\max} , maximale Wachstumsrate; K_s , Affinitätskonstante; K_i , Inhibierungskonstante; $c_{s,opt}$, optimale Substratkonzentration.

Das Wachstumsverhalten von *C. aceticum* (1 L; 30 °C; pH 8; $p_{CO,ein} = 3-300$ mbar) und *C. carboxidivorans* (1 L; 37 °C; pH₀ 6; $p_{CO,ein} = 200-2.800$ mbar; $p_{CO_2,ein} = 200$ mbar) wurde bei geringen Biotrockenmassekonzentrationen ($BTM < 0,5$ g L⁻¹) im ideal-durchmischten Rührkesselreaktor mit hohem Leistungseintrag (7-15 kW m⁻³) bei unterschiedlichen CO-Partialdrücken untersucht und eine Substratüberschussinhibierung gemäß Gleichung 3-80 formuliert (Mayer 2018; Doll 2018). Die kinetischen Modellparameter der CO-Substratüberschussinhibierung sind in Tabelle 3.8 zusammengefasst. Als Konzentrationen wurden jeweils die mittleren Partialdrücke im Reaktor angegeben, da die CO-Gelöstkonzentrationen nicht gemessen wurden.

Tabelle 3.8: Kinetische Modellparameter (Gleichung 3-80) und abgeleitete Zustandsgrößen (Gleichung 3-81) der CO-Substratüberschussinhibierung von *C. aceticum* und *C. carboxidivorans*.

| | | <i>Clostridium aceticum</i> | <i>Clostridium carboxidivorans</i> |
|--------------------|-----------------|-----------------------------|------------------------------------|
| μ_{\max} | h ⁻¹ | 0,27 | 0,25 |
| $K_{s,CO}$ | mbar | 0,30 | 180,00 |
| $K_{i,CO}$ | mbar | 86,70 | 1.259,00 |
| ω | - | 1,00 | 2,62 |
| μ_{opt} | h ⁻¹ | 0,24 | 0,17 |
| $\bar{p}_{CO,opt}$ | mbar | 5,40 | 565,00 |
| | | (Mayer 2018) | (Doll 2018) |

Untersuchungen zur Wachstumskinetik von *C. aceticum* mit H₂ als Substrat (1 L; 30 °C; pH 8; p_{H₂,ein} = 102-845 mbar; p_{CO₂,ein} = 120 mbar) zeigten keine Inhibierungskinetik, aber hohe Affinität von *C. aceticum* zu H₂ (Mayer 2018).

Für weitere Modelle für das substratabhängige Wachstum von Mikroorganismen (Moser 1981) und den Einfluss von Inhibitoren (Edwards 1970; Aiba *et al.* 1968; Storhas 2013) wird auf die weiterführende Literatur verwiesen.

Die Produktbildung kann mit Gleichung 3-82 allgemein als Funktion der spezifischen Wachstumsrate (μ) beschrieben werden.

$$q_p = Z_1 + Z_2 \cdot \mu \quad 3-82$$

| | | |
|-------|---|-------------------------------------|
| q_p | Zellspezifische Reaktionsgeschwindigkeit des Produkts P | mol L ⁻¹ h ⁻¹ |
| Z_1 | Konstanter Faktor | mol L ⁻¹ h ⁻¹ |
| Z_2 | Konstanter Faktor | mol L ⁻¹ |

Nach Gleichung 3-82 kann die Produktbildung wachstumsassoziiert ($Z_1 = 0$; $Z_2 \neq 0$), teilweise wachstumsassoziiert ($Z_1 \neq 0$; $Z_2 \neq 0$) oder wachstumsentkoppelt ($Z_1 \neq 0$; $Z_2 = 0$) erfolgen. Für die wachstumsassoziierte Produktbildung können die formalkinetischen Modelle von Monod und Andrews auch für die Produktbildung angewandt werden (Chmiel 2011).

3.6.3 Stoffbilanz von Bioprozessen

Die Massenerhaltung in einphasigen, biotechnologischen Prozessen lässt sich über die Kontinuitätsgleichung mit der Masse (m) und dem Produkt aus dem Nabla-Operator ($\vec{\nabla}$) und der Massenstromdichte (\vec{j}) nach Gleichung 3-83 beschreiben.

$$\frac{\partial m}{\partial t} + \vec{\nabla} \cdot \vec{j} = 0 \quad 3-83$$

Über das 1. Fick'sche Gesetz ergibt sich die allgemeine Massenbilanz für die Komponente i . Diese besteht aus einem Diffusionsterm, einem Konvektionsterm und einem Reaktionsterm. Die Gleichung ist in Gleichung 3-84 dargestellt, wobei D_m die Diffusionsmatrix, \vec{u} das zeit- und ortabhängige konvektive Geschwindigkeitsfeld und r_{ij} die Reaktionsgeschwindigkeiten der Komponente i in allen Reaktion j sind (Doran 2004).

$$\frac{\partial m_i}{\partial t} = \vec{\nabla} (D \cdot \vec{\nabla} m_i) - \vec{\nabla} (\vec{u} \cdot m_i) + \sum_j r_{ij} \quad 3-84$$

Unter der Annahme von isotropen, isobaren und isothermen Reaktionsbedingungen wird die Stoffbilanz eines Bioprozesses im idealen Rührkesselreaktor über den Zulauf ($\dot{V}_{i,\text{ein}}$),

den Ablauf ($\dot{V}_{i,\text{aus}}$) und die Reaktion einer Komponente i (r_i) unter Berücksichtigung der Volumenänderung nach Gleichung 3-85 beschrieben (Nielsen *et al.* 2003; Kandiyoti 2009):

$$\text{Eingang} - \text{Ausgang} \pm \text{Reaktion} = \text{Akkumulation}$$

$$\dot{V}_{\text{ein}} \cdot c_{i,\text{ein}} - \dot{V}_{\text{aus}} \cdot c_{i,\text{aus}} \pm V_R \cdot r_i = V_R \cdot \frac{\partial c_i}{\partial t} + c_i \cdot \frac{\partial V_R}{\partial t} \quad 3-85$$

| | | |
|------------------------------|---|-----------------------------------|
| $\dot{V}_{i,\text{ein/aus}}$ | Eingangs-/Ausgangsvolumenstrom | L h^{-1} |
| $c_{i,\text{ein/aus}}$ | Konzentration der Komponente i im Eingangs-/Ausgangsvolumenstrom | mol L^{-1} |
| r_i | Volumetrische Reaktionsgeschwindigkeit der Komponente i | $\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ |
| c_i | Konzentration im Reaktionsgefäß zum Zeitpunkt t | mol L^{-1} |

Bioreaktoren können in drei Betriebsweisen verwendet werden: Satz-, halbkontinuierliche und kontinuierliche Verfahren. Für die mathematische Beschreibung der halbkontinuierlichen Betriebsweise wird auf die Literatur verwiesen (Chmiel 2011; Schügerl und Bellgardt 2000).

Satzbetrieb

Im Satzverfahren werden alle Nährstoffe im Flüssigmedium zu Beginn der Untersuchungen bereitgestellt und nicht erneuert. Die Begasung aerober oder anaerober Prozesse erfolgt aufgrund der geringen Löslichkeit oft dennoch kontinuierlich. Das Reaktionsvolumen bleibt dabei über die gesamte Prozesszeit unter Berücksichtigung von Probennahmen und der Zugabe von Titrations- sowie Antischaummittel näherungsweise konstant. Da der Zulauf- und Ablaufvolumenstrom in diesem Betrieb gleich Null ist wird Gleichung 3-85 zu Gleichung 3-76 vereinfacht. Die spezifischen Raten, sowie die Ausbeutekoeffizienten können im idealen Rührkesselreaktor mit Gleichung 3-77 und 3-78 berechnet werden (Bailey und Ollis 1991).

Kontinuierliche Betriebsweise

Beim kontinuierlichen Betrieb sind der Volumenstrom des Flüssigzulaufs und -ablaufs gleich ($\dot{V}_{\text{ein}} = \dot{V}_{\text{aus}} = \dot{V}$), um das Reaktionsvolumen konstant zu halten ($\frac{\partial V_R}{\partial t} = 0$). Diese Betriebsweise wird bei einem idealen Rührkesselreaktor „Chemostat“ genannt. Ist das Produkt i nicht im Zulaufmedium enthalten, so ist die Eingangskonzentration gleich Null. Die Konzentration des Produktes i im Ablaufs ($c_{i,\text{aus}}$) ist für kleine Reaktionsgeschwindigkeiten (r_i) gleich der Konzentration im Reaktor (c_i). Daraus ergibt aus Gleichung 3-85:

$$\frac{dc_i}{dt} = r_i + \frac{\dot{V}}{V_R} \cdot c_i \quad 3-86$$

Der Bezug des Zulaufvolumenstroms auf das Reaktionsvolumen ist als die Verdünnungsrate oder Durchflussrate (D , engl. *dilution rate*) nach Gleichung 3-87 definiert

und beschreibt den ausgetauschten Anteil des Reaktionsvolumens pro Zeiteinheit. Ihr Reziprokwert ist die mittlere hydraulische Verweilzeit.

$$D = \frac{\dot{V}}{V_R} = \frac{1}{\tau} \quad 3-87$$

| | | |
|--------|-----------------------------------|----------|
| D | Durchflussrate | h^{-1} |
| τ | Mittlere hydraulische Verweilzeit | h |

Die Raum-Zeit-Ausbeute am Reaktorausgang (r_i^*) kann dadurch mit der Konzentration ($c_i(t)$) zu jedem Zeitpunkt t über die Durchflussrate mit Gleichung 3-88 berechnet werden.

$$r_i^*(t) = D \cdot c_i(t) \quad 3-88$$

| | | |
|------------|--|---------------------|
| $r_i^*(t)$ | Raum-Zeit-Ausbeute am Reaktorausgang | $mol L^{-1} h^{-1}$ |
| $c_i(t)$ | Konzentration der Komponente i zum Zeitpunkt t | $mol L^{-1}$ |

Bei konstanten Prozessbedingungen kann sich im idealen Strömungsrohr nach frühestens einer hydraulischen Verweilzeit und im idealen Rührkessel nach frühestens fünf hydraulischen Verweilzeiten ein Fließgleichgewicht (engl. *steady-state*) einstellen. Hier sind Biomassekonzentration, Produktkonzentration und Substratkonzentration konstant ($\frac{dc_i}{dt} = 0$). In diesem Zustand kann, ausgehend von Gleichung 3-88, mit Hilfe der Durchflussrate (D) und der Gleichgewichtskonzentration (c_i^{GGW}) die Raum-Zeit-Ausbeute im Fließgleichgewicht (RZA_i) nach Gleichung 3-89 bestimmt werden. Für die Biomasse (c_x) bedeutet dies, dass die spezifische Wachstumsrate im idealen Rührkesselreaktor über die Durchflussrate eingestellt werden kann ($D = \mu$).

$$r_i = RZA_i = D \cdot c_i^{GGW} \quad 3-89$$

| | | |
|-------------|---|---------------------|
| RZA_i | Raum-Zeit-Ausbeute der Komponente i im Fließgleichgewicht | $mol L^{-1} h^{-1}$ |
| c_i^{GGW} | Konzentration der Komponente i im Fließgleichgewicht | $mol L^{-1}$ |

Die Durchflussrate beeinflusst das Bioprozessverhalten maßgeblich. Oben genanntes Fließgleichgewicht kann zum Beispiel nur erreicht werden, wenn die Durchflussrate kleiner als die maximale Wachstumsrate (μ_{max}) ist. Trifft dies nicht zu, so werden die Biokatalysatoren aus dem Reaktor gespült (engl. *wash-out*). Zellrückhaltesysteme wie Submersmembranen oder Trägermaterialien in Biofilmreaktoren können dieses Phänomen verhindern (Kantzow *et al.* 2015). Der Einfluss der Durchflussrate (D) auf die Prozessleistung ist in einem „x-D“-Diagramm mit der Annahme, dass kein limitierendes Substrat für den Erhaltungsstoffwechsel benötigt wird („ohne ES“) beziehungsweise, dass

ein limitierendes Substrat für den Erhaltungsstoffwechsel benötigt wird („mit ES“), grafisch in Abbildung 3.21 dargestellt.

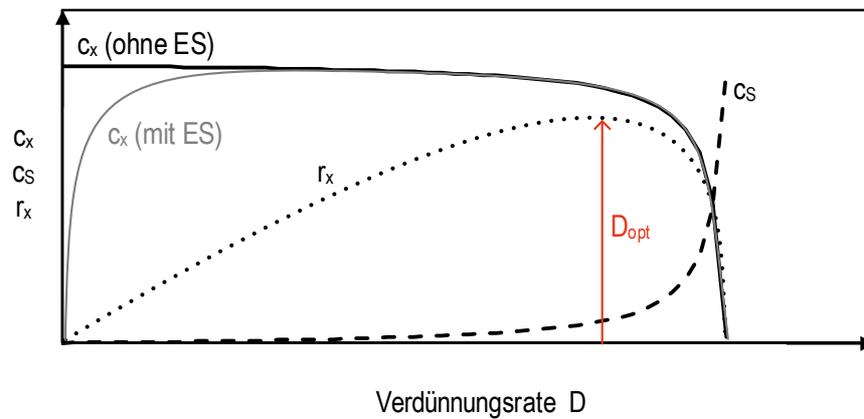


Abbildung 3.21: Darstellung der Änderung der Biomassekonzentration (c_x , Volllinie), der Substratkonzentration (c_s , Strichlinie) und der volumetrischen Biomassebildungsrate (r_x , Punktlinie) in Abhängigkeit der Durchflussrate (D) im idealen Rührkesselreaktor im Fließgleichgewicht als sogenanntes x-D-Diagramm, abgeändert nach (Chmiel 2011). Der Verlauf der Biomassekonzentration wurde für den Fall, dass ein limitierendes Substrat für den Erhaltungsstoffwechsel benötigt wird („mit ES“, graue Volllinie) und für den Fall, dass kein limitierendes Substrat für den Erhaltungsstoffwechsel benötigt wird („ohne ES“, schwarze Volllinie) dargestellt.

4 Material und Methoden

Im folgenden Kapitel werden die für diese Arbeit verwendeten Materialien zusammengefasst und die Methoden erklärt. Eine detaillierte Auflistung der Chemikalien und der Geräte ist im Anhang zu finden.

4.1 Der Mehrzweckbioreaktor¹

Unter einem Mehrzweckbioreaktor wird hier ein Bioreaktorsystem im Labormaßstab verstanden, das ausgehend vom klassischen Rührkesselreaktor durch gezielte Umbauten in einen Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf, einen Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf und einen Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom verwandelt werden kann. Im Rahmen dieser Arbeit wurde dieser Mehrzweckbioreaktor gestaltet, charakterisiert und für Gasfermentationen genutzt (Details siehe Kapitel 5). Die Grundlage dieses Mehrzweckbioreaktors war ein Kleinlaborfermenter (Typ KLF 3,7 L, Bioengineering AG, Wald, Schweiz), der standardmäßig als Rührkesselreaktor betrieben wird.

Der Kleinlaborfermenter bestand aus einem zylinderförmigen Kessel aus rostfreiem Edelstahl (Material: Stahl 316L) mit 12,5 cm Innendurchmesser (ID) und 30 cm Höhe (H). Der Reaktor war druckbeständig bis zu einem Druck von 3,5 bar und konnte dadurch *in-situ* sterilisiert werden (üblicherweise bei 121 °C für 20 min und 2 bar). Der Druck wurde über einen sterilisierbaren Relativ-Drucktransmitter (Silicium-Halbleiter) nach dem piezoresistiven Messprinzip am Reaktordeckel gemessen, über ein Regelmodul (IFM, engl. *intelligent front module*) angesteuert und mit einem stetigen, pneumatischen Regelventil in der Abluftleitung auf den Sollwert gebracht. Ein Sicherheitsventil verhinderte einen Gesamtdruck über 3,5 bar. Der Reaktor war durch 14 druckfeste Sterildurchführungen am Reaktordeckel, vier am Reaktorboden und vier an separaten Seitenstützen zugänglich. Im Zentrum des Kessels war eine Rührwelle mit 1,2 cm Durchmesser und 29,1 cm Länge angebracht, die durch einen externen Gleichstrommotor zwischen 5 Umdrehungen min^{-1} (U min^{-1}) und 1.500 U min^{-1} betrieben werden konnte.

Die Prozesskontrolle zur Regelung aller Prozessgrößen (Temperatur T, pH, Rührerdrehzahl N, Gesamtdruck P) wurde über eine Steuereinheit mit der Software BioSCADaLab (Version 7.2, Bioengineering AG, Wald, Schweiz) durchgeführt. Die Gaszufuhr erfolgte über vier unabhängige Massendurchflussregler (F-201CV-500-RGD-33-V, Bronkhorst High-Tech B.V., Ruurlo, Niederlande), welche die gewünschte Gaszusammensetzung, bestehend aus den Reinstgasen CO, CO₂, H₂ und N₂ (Air liquide Deutschland GmbH,

¹ Teile dieses Abschnitts wurden zum Patent angemeldet: Riegler P, Weuster-Botz D (Erfinder): A convertible bioreactor, a kit, and a method for converting a bioreactor. Anmeldung durch die Technische Universität München.

Europäische Patentanmeldung: EP1620303027.4 am 08.12.2016.

Weltweite Patentanmeldung: PCT/EP2017/081945 am 08.12.2017.

Düsseldorf, Deutschland), einstellten und über einen Zuluftfilter (Acro 50 Filter, EMFLON II, 0,2 μm , PALL corporation, Port Washington, USA) mit Gasflussraten bis zu 50 L h⁻¹ in den Mehrzweckbioreaktor leiteten. Die Partialdrücke wurden dabei mit dem Inertgas N₂ in Bezug auf den Gesamtdruck eingestellt.

Die Abluft verlief über einen Rückflusskühler, die Druckregelung, eine 250 mL-Flasche mit Trocknungsmittel (MuliDry, ThoMar OHG, Lüttau, Deutschland) und einen Abgasfilter (Acro50, Pall Corporation, Port Washington, USA) zu einem Massendurchflussmesser (F-111B-1K0-RGD-33-E, Bronkhorst High-Tech B.V., Ruurlo, Niederlande), welcher den Abgasvolumenstrom quantifiziert. Die Abgaszusammensetzung wurde im Zehn-Minuten-Takt über einen Abgasanalysator (490 Micro-Gaschromatograph, Agilent Technologies Sales & Services GmbH & Co.KG, Life Sciences & Chemical Analysis, Waldbronn, Deutschland) mit einem Mikro-GC-Kanal (CP-COX, mikrogepackt, 0,7 mm, 1 m) bestimmt.

Ein Bodenablassventil ermöglichte die Probenahme bei Untersuchungen mit erhöhtem Gesamtdruck. Zur pH-Regelung wurde eine pulsationsarme Schlauchpumpe (Peripex W1, Bioengineering AG, Wald, Schweiz), welche zentral über das Prozessleitsystem angesteuert wurde, verwendet. Die schematische Darstellung des Mehrzweckbioreaktors und seiner Peripherie ist in Abbildung 4.1 sowie in Abbildung A.1 im Anhang dargestellt.

4.1.1 Rührkesselreaktor

Der Kleinlaborfermenter wurde standardmäßig als Rührkesselreaktor (STR, engl. *stirred-tank bioreactor*) betrieben. Ein Schema des Reaktorprinzips (A-I), eine rechnerunterstützte graphische Darstellung (engl. *computer-aided design (CAD)*) des Rührkesselreaktors (A-II) und eine Fotografie mit einem Acrylglasrohr als Reaktorwand zur Visualisierung (A-III) sind in Abbildung 4.2 dargestellt: Das Arbeitsvolumen im Reaktor (V_R) betrug 2,0 L bei einem Gesamtvolumen von 3,7 L. Der Gaseintrag erfolgte am Reaktordeckel über ein Gasleitrohr und wurde über eine Sintermetallfritte im unteren Bereich des Bioreaktors dispergiert. Zwei radiale Rührorgane (Sechs-Blatt-Scheibenrührer, Typ Rushton, Dimensionen: Abbildung A.4 im Anhang) waren im Abstand von 9 cm beziehungsweise 14 cm von der Reaktorbasis parallel auf der Rührwelle montiert und wurden zur Homogenisierung und zur Gasdispersion bei Drehzahlen von 1.200 U min⁻¹ oder 1.500 U min⁻¹ verwendet. Zur Verbesserung der Durchmischung und Vermeidung von Thrombenbildung wurden vier Strömungsbrecher normal zueinander an der Reaktorwand angebracht. Die Temperaturregelung erfolgte über einen PID-Regler (engl. *proportional-integral-derivative*) über drei voneinander räumlich getrennte Einheiten: der Temperaturmesssonde als Messeinheit (Pt100, Bioengineering AG, Wald, Schweiz) und zwei Regeleinheiten, einem Heizstab (800 W) und einem Kühlstab (Leitungswasser). Der pH wurde mittels einer pH-Sonde (INPRO3100UD/120/PT100, Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Deutschland) über den Seitenstutzen gemessen.

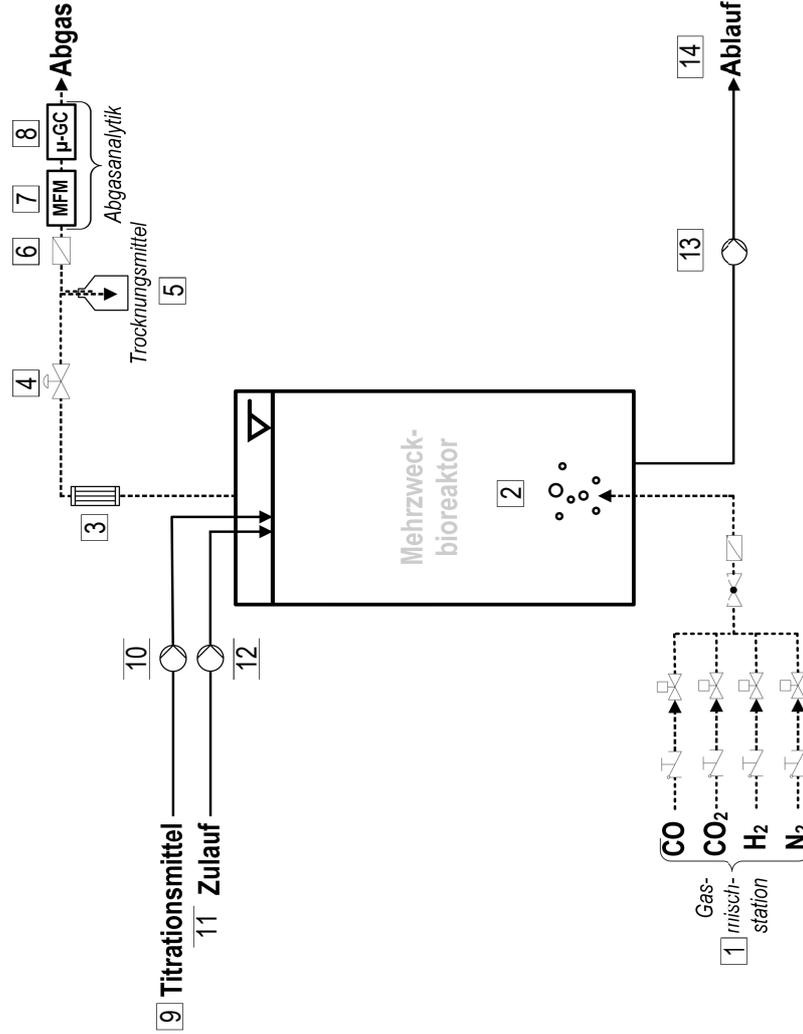
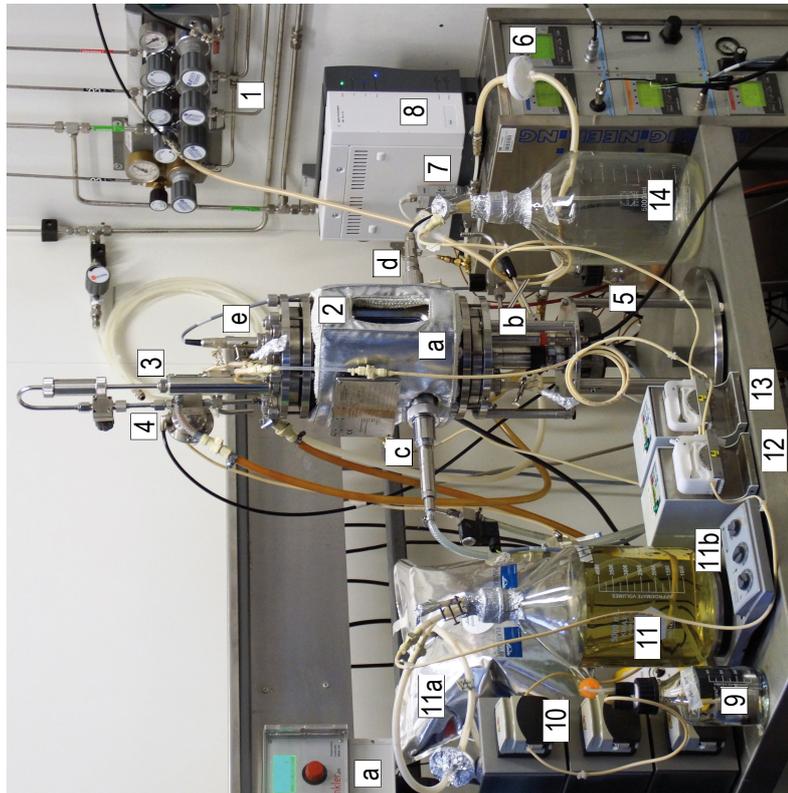


Abbildung 4.1: Fotografische (links) und schematische (rechts) Darstellung am Beispiel der kontinuierlichen Betriebsweise des Mehrzweckbioreaktors: 1, Gasmischstation für eine beliebige Gaszusammensetzung aus CO, CO₂, H₂ und N₂ aus Reinstgasen für einen eingestellten Gasvolumenstrom; 2, Mehrzweckbioreaktor; 3, Abgaskondensator; 4, pneumatisches Druckregelventil; 5, Flasche mit Trocknungsmittel; 6, Sterilfilter, 7, Massendurchflussmesser (MFM); 8, Mikro-Gaschromatograph (μ-GC); 9, Titrationsmittel (10 M KOH oder 3 M NaOH); 10, pulsationsarme, diskontinuierliche Peristaltikpumpe für Titrationsmittel; 11, anaerobes, steriles Zulaufmedium mit flexiblen Stickstoffreservoir für den Druckausgleich (11a) und Magnetrührer mit Heizplatte (11b); 12, kalibrierte Peristaltikpumpe für den Zulauf; 13, Peristaltikpumpe für den Flüssigkeitsablauf; 14, aerobe; sterile Ablaufflasche. Komponenten des Mehrzweckbioreaktors: a, Heizmantel mit manueller Regelung; b, pH-Sonde (von unten) mit Adapter; c, Kühlstab mit Adapter; d, Heizstab mit Adapter; e, Relativ-Drucktransmitter (Silicium-Halbleiter). Weitere Möglichkeiten der Prozessführung sind sowohl fotografisch als auch schematisch in Abbildung A.3 im Anhang dargestellt.

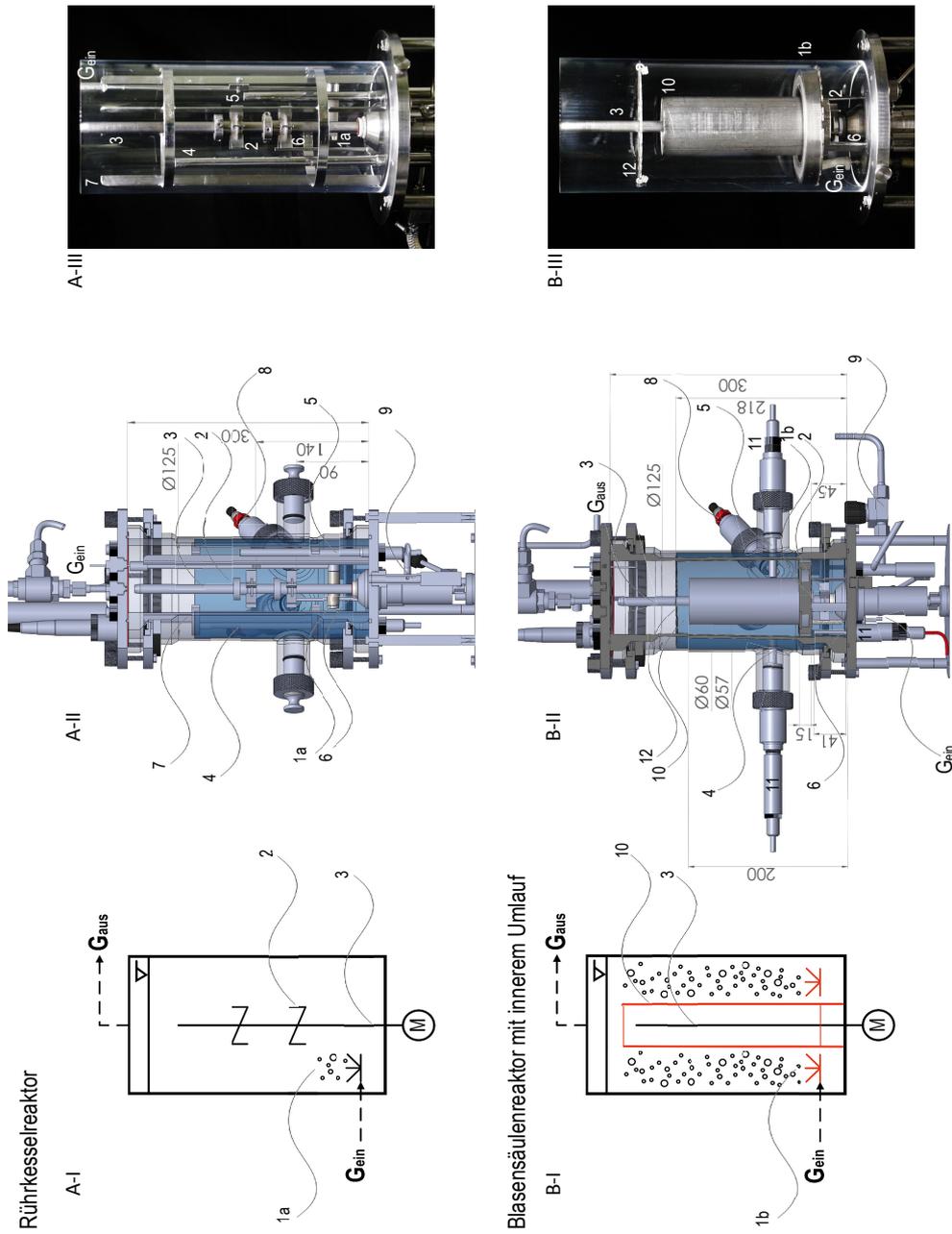
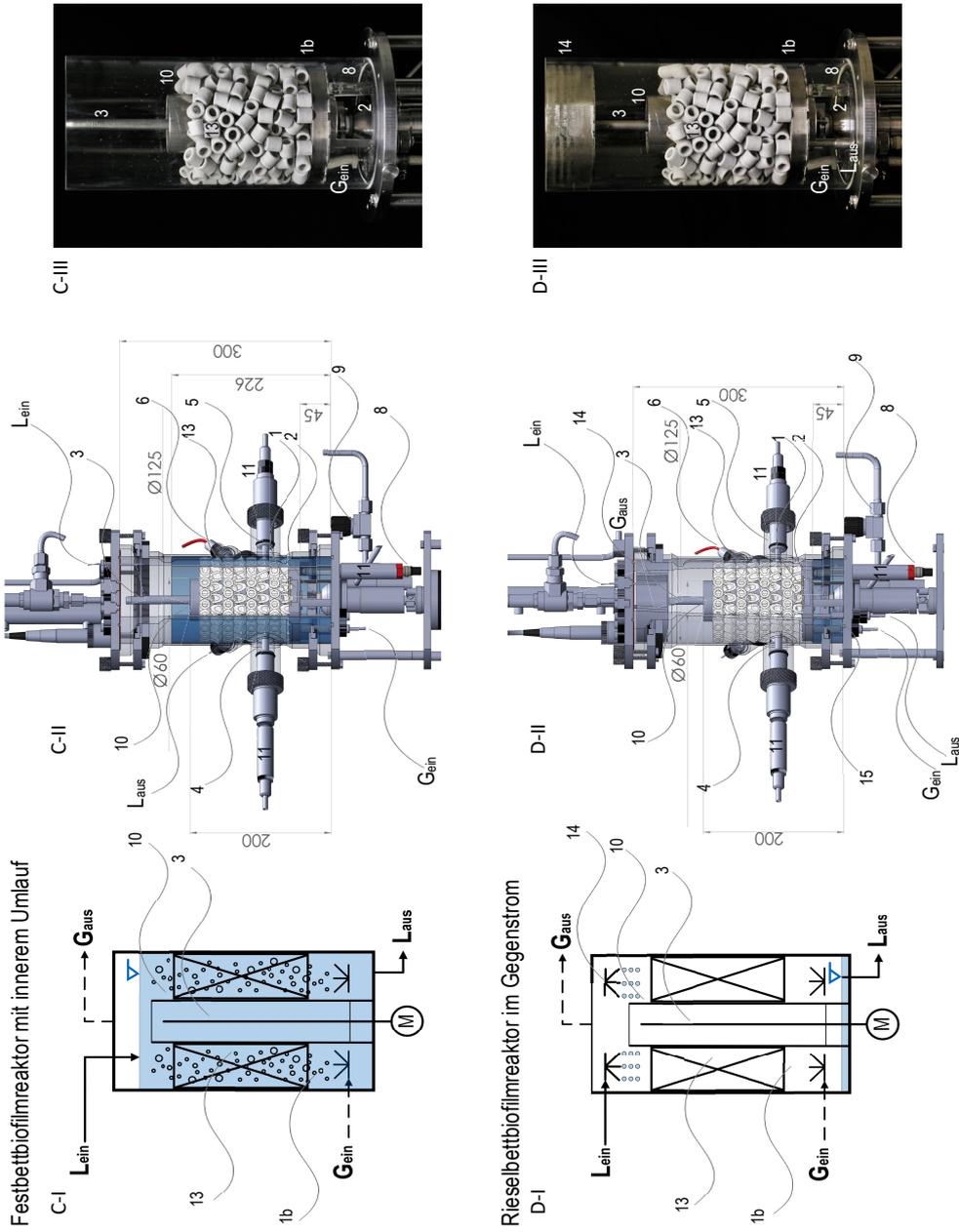


Abbildung 4.2: Darstellung des Mehrzweckbioreaktors: I; schematisch; II, CAD-Zeichnung (Dimensionen in Millimeter); III, Fotografie der Einbauten für die Bioreaktoren mit einem Acrylglasrohr als Reaktorwand zur Visualisierung; **A, Rührkesselreaktor**: 1a, Sintermetallfritte; 2, Sechs-Blatt-Scheibenrührer; 3, Rührwelle; 4, Kühlwelle; 5, Heizstab; 6, Temperatursensor; 7, Strömungsbrecher; 8, pH-Sonde; 9, Probenahmeventil; **B, Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf**: 1b, ringförmige Sintermetallfritte; 10, konzentrischer Edelstahlzylinder; 11, Adapter; 12, Lochplatte.



Fortsetzung Abbildung 4.2: **C, Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf**; 13, Trägermaterial Sera Soporax™; **D, Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom**; 14, Flüssigkeitsverteiler. Abkürzungen: G_{ein} , kontinuierlicher Eingangsgasvolumenstrom; G_{aus} , kontinuierlicher Ausgangsgasvolumenstrom; L_{ein} , Medienzulaufstrom; L_{aus} , Medienablaufstrom.

4.1.2 Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf

Zur Verwendung des Mehrzweckbioreaktors als Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (GLR, engl. *gas-lift bioreactor*) wurde der Rührkesselreaktor (siehe Abschnitt 4.1.1) nicht-invasiv umgebaut. Ein Schema des Reaktorprinzips (B-I), eine CAD-Zeichnung des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf (B-II) und eine Fotografie mit einem Acrylglasrohr als Reaktorwand zur Visualisierung (B-III) sind in Abbildung 4.2 dargestellt: Das Arbeitsvolumen (V_R) im Reaktor betrug 2,5 L. Die radialen Rührorgane, der Heizstab, der Kühlstab, die Temperaturmesssonde, die Strömungsbrecher und die Sintermetallfritte wurden aus dem Reaktor entfernt. Der innere Umlauf der Flüssigkeit sollte im Inneren eines konzentrischen, offenen Zylinders (Leitrohr mit ID: 5,7 cm, AD: 6,0 cm, H: 20,0 cm, siehe technische Zeichnung in Abbildung A.5 im Anhang) mit drei gleichgroßen Öffnungen am unteren Ende (H: 4,3 cm) als Raumtrenner erfolgen. Dies bildete die unbegaste Zone des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf (engl. *downcomer*). Der Zylinder wurde konzentrisch zur Rührwelle ins Reaktorinnere eingeführt. Eine ringförmige Sintermetallfritte (ID: 7,3 cm; AD: 11,8 cm; H: 1,5 cm; GKN Sinter Metals Filters GmbH, Radevormwald, Deutschland) war auf einer Edelstahl-Lochplatte (Lochdurchmesser LD: 0,8 cm, H: 0,1 cm) in einer Höhe von 4,5 cm montiert und sorgte bei Gasvolumenströmen über $6,25 \text{ L h}^{-1}$ für eine gleichmäßige Gasversorgung im äußeren Bereich des Zylinders (engl. *riser*). Die Begasung erfolgte von unten. Heiz- und Kühlstab wurden mit Hilfe von speziell angefertigten Adaptern über die Seitenstützen so in den Reaktor eingeführt, dass diese ausschließlich in der begasten, äußeren Zone mit der Flüssigkeit in Kontakt kamen und den Zylinder nicht berührten. Die Temperatursonde wurde über einen weiteren Adapter vom Boden eingebracht, sodass diese die ringförmige Sintermetallfritte oder die Lochplatte nicht berührte. Die Temperatur der Suspension wurde mit Hilfe einer maßangefertigten Heizmanschette (Winkler GmbH, Heidelberg, Deutschland) über den Stahlmantel und mit Hilfe des Kühlstabes auf den Sollwert geregelt. Der Heizstab wurde während der Untersuchungen zur Gasfermentation im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf nicht verwendet. Inhomogenitäten im unteren Bereich des Bioreaktors unterhalb der ringförmigen Sintermetallfritte wurden durch die Verwendung eines radialen Rührorgans (Sechs-Blatt-Scheibenrührer vom Typ Rushton, Dimensionen siehe Abbildung A.4 im Anhang) bei einer Drehzahl von 25 U min^{-1} vermieden. Der Austrag von Biomasse durch das Zerplatzen von Gasblasen an der Flüssigkeitsoberfläche wurde durch den Einbau einer Lochplatte (AD: $\sim 12,5 \text{ cm}$, LD: 0,8 cm, H: 0,1 cm) vermieden.

4.1.3 Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf

Um ähnliche Reaktoreigenschaften wie im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf zu ermöglichen, wurde der Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf (PBR, engl. *packed-bed biofilm reactor*) in Analogie zu der in Abschnitt 4.1.2 beschriebenen Vorgehensweise konstruiert. Ein Schema des Reaktorprinzips (C-I), eine CAD-Zeichnung des Festbettbiofilmreaktors mit innerem Umlauf (C-II) und eine Fotografie mit einem Acrylglasrohr als Reaktorwand zur Visualisierung (C-III) sind in Abbildung 4.2 dargestellt: Der

Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf konnte je nach Anwendung mit einem Arbeitsvolumen von 2,25 L oder 2,50 L betrieben werden. Der Blasensäulenreaktor wurde für die Verwendung als Festbettbiofilmreaktor mit geeignetem Trägermaterial (300 g Sera Siporax™, sera GmbH, Heinsberg, Deutschland, Details siehe Tabelle 4.3 in Abschnitt 4.4.1) in der begasten Zone befüllt. Die Packung reichte dabei nicht über das Leitrohr hinaus. Um die pH-Sonde durch das grobkörnige Trägermaterial nicht zu beschädigen, wurde diese anstatt der Temperatursonde mittels eines geeigneten Adapters am Reaktorboden so verbaut, dass sie nicht mit anderen Bauteilen in Kontakt kam ($H = 4,3$ cm). Die Temperatursonde wurde mit einem speziell angefertigten Adapter über einen Seitenstutzen verbaut. Für eine kontinuierliche Prozessführung konnte das Zulaufmedium über eine Anstechnadel über den Reaktordeckel in die Suspension zugeführt werden. Der Ablauf konnte entweder über den Reaktordeckel oder den Seitenstutzen durch Oberflächenabsaugung erfolgen.

4.1.4 Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom

Da das Festbett im Betrieb als Rieselbettbiofilmreaktor nicht von einer kontinuierlichen Flüssigphase umgeben ist, ist eine Inokulation mit einer frischen Vorkultur nicht möglich. Deshalb wurde der Betrieb des Rieselbettbiofilmreaktors (TBR, engl. *trickle-bed bioreactor*) in dieser Arbeit durch das Umschalten der Betriebsweise vom Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf zum Rieselbettbiofilmreaktor, nach einer Satz- und einer kontinuierlichen Phase mit kontinuierlicher Gaszufuhr und konstanter Durchflussrate, ermöglicht. Für diesen Betriebswechsel müssen im Vorfeld zur sterilen Prozessführung einige Modifikationen und Ergänzungen gemacht werden: Der Flüssigkeitsverteiler für den Rieselbettbiofilmreaktorbetrieb besteht aus einer ringförmigen Flüssigkeitswanne (ID: 5,70 cm, AD: 12,10 cm, Wandstärke: 0,16 cm) mit zylinderförmigen Laserbohrungen (400 μm , GFH GmbH, Deggendorf, Deutschland) und einer perforierten Platte im Innenbereich mit einer Vorrichtung zur Fixierung an der Rührwelle (Abbildung 4.3). Der Verteiler war in einer Höhe von 25 cm zentral an der Rührwelle fixiert. Der anaerobe Zulauf tropfte über eine Anstechnadel in die Wanne, der hydrostatische Druck stieg mit ansteigendem Flüssigkeitsspiegel in der Wanne, drückte die Flüssigkeit durch die Bohrungen und „rieselte“ damit auf das Festbett. Durch die Drehung des an der Rührwelle befestigten Flüssigkeitsvertellers mit 16-18 U min^{-1} wurde die Flüssigkeit gleichmäßig über das Festbett verteilt und tropfte in den Auffangbereich des Rieselbettbiofilmreaktors unter der ringförmigen Sintermetallfritte (Flüssigkeitsreservoir, blauer Bereich: D-II 15). Dort wurde die Flüssigkeit mit einem radialen Rührorgan vermischt, der pH gemessen und die überschüssige Flüssigkeit für den kontinuierlichen Betrieb über einen Absaugstutzen oberflächlich abgezogen. Die Gaszufuhr erfolgte über die Sintermetallfritte im Gegenstrom zur Flüssigphase.

Um vom Festbett- in den Rieselbettbiofilmreaktorbetrieb umschalten zu können, durfte der Festbettbiofilmreaktor ausschließlich mit einem Arbeitsvolumen von 2,25 L betrieben werden, damit ausreichend Platz für den Flüssigkeitsverteiler im Kopfraum des Reaktors verblieb. Dieser und der Absaugstutzen müssen vor der Sterilisationsphase in den Reaktor

eingesetzt werden. Ein Schema des Reaktorprinzips (D-I), eine CAD-Zeichnung des Rieselbettbiofilmreaktors im Gegenstrom (D-II) und eine Fotografie mit einem Acrylglasrohr als Reaktorwand zur Visualisierung (D-III) sind in Abbildung 4.2 dargestellt.

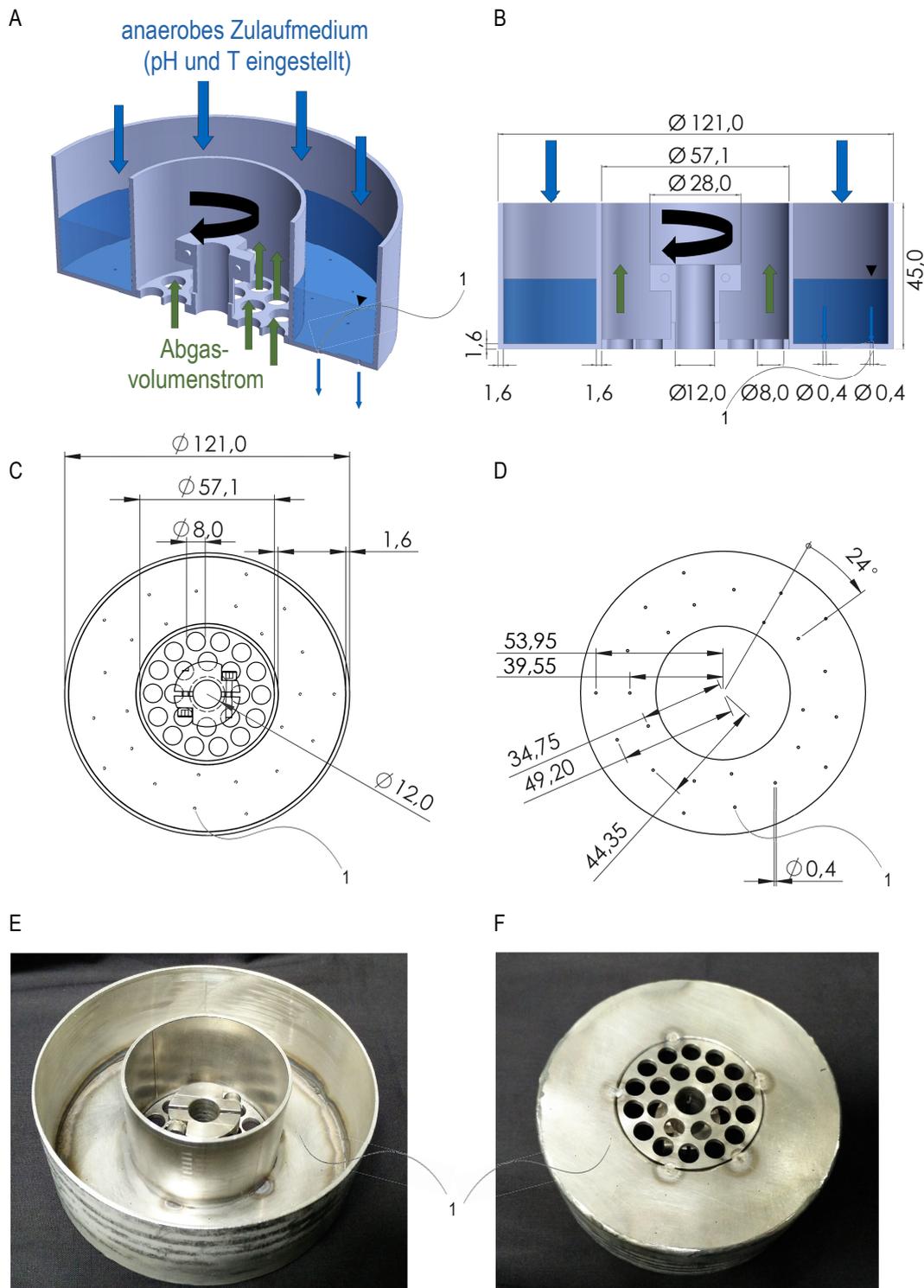


Abbildung 4.3: Darstellung des Flüssigkeitsverteilers für den Betrieb des Rieselbettbiofilmreaktors. A, Funktionsprinzip; B, Funktionsprinzip im Querschnitt von der Seite; C, Dimensionen des Verteilers von oben; D, Darstellung des Porenusters; E, fotografische Darstellung des Verteilers von oben und F, von unten. 1, Pore für den Flüssigkeitsdurchlass. Alle Dimensionen sind in Millimeter angegeben.

4.2 Gasfermentation mit acetogenen Bakterien

Im Rahmen dieser Arbeit wurden mehrere Ansätze zur Untersuchung der Prozessleistung der acetogenen Bakterien *Clostridium aceticum* und *Clostridium carboxidivorans* bei unterschiedlichen Bedingungen verwendet. Wichtige Randbedingungen sowie die Methodik werden in diesem Abschnitt beschrieben.

4.2.1 Anaerobe Arbeitsweise

Die acetogenen Bakterien *Clostridium aceticum* und *Clostridium carboxidivorans* sind strikt anaerobe Mikroorganismen, deren Metabolismus bereits durch Spuren von Sauerstoff gehemmt wird. Deshalb wurden die in dieser Arbeit eingesetzten Medien und Materialien stets unter Ausschluss von Sauerstoff verwendet (Hungate 1976; Willis 1976). Die Arbeit mit geöffneten Gefäßen wurde in einer Anaerobwerkbank (MB-Labstar ECO, M. Braun Inertgassysteme GmbH, Garching, Deutschland) durchgeführt. Die Anlage ist in Abbildung 4.4 dargestellt.

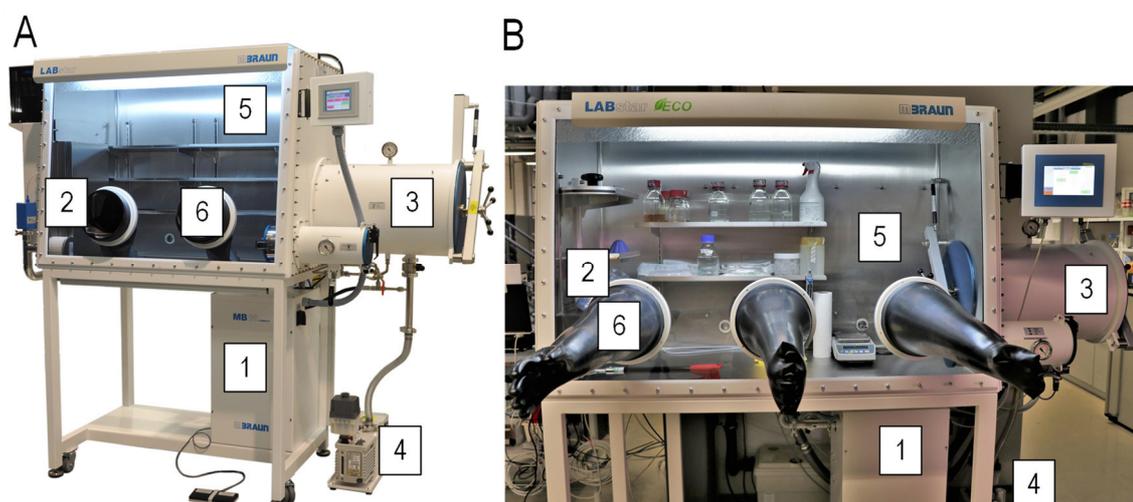


Abbildung 4.4: Darstellung der Anaerobwerkbank für Arbeiten unter kontrollierter Atmosphäre: (A) Modelldarstellung der MB-Labstar (M. Braun Inertgassysteme GmbH), (B) Darstellung der MB-Labstar am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik (TUM, Garching, Deutschland); (1) Kupferkatalysator mit Molsieb, (2) HEPA H13 Staubfilter, (3) kleine und große Schleuse, (4) Drehschiebervakuumpumpe, (5) gasdichter Raum unter kontrollierter Atmosphäre, (6) gasdichte Butylhandschuhe.

Diese Werkbank war für Arbeiten unter kontrollierter Atmosphäre ($N_2 \sim 100\%$, $O_2 < 1\%$) konzipiert und dafür mit einem automatisierten Gaszirkulationssystem (1) mit integriertem Kupferkatalysator (O_2 -Absorption) und Molsieb (H_2O -Absorption) ausgestattet. Partikel und Keime wurden über einen HEPA H13 Staubfilter (2) beim Gaseingang und -ausgang größtenteils abgetrennt. Geräte und anaerobe Kulturen konnten über eine große oder eine kleine Schleuse (3) durch dreifache Evakuierung der Kammer auf einen Druck von 0,2 bar mit einer Drehschiebervakuumpumpe (4) und anschließender Flutung mit Stickstoff ins Innere der Anaerobbank (5) gebracht und dort geöffnet werden. Über gasdichte Butylhandschuhe (6) war das Arbeiten unter Sauerstoffausschluss möglich. Die Werkbank hielt

dauerhaft einen Überdruck von $3,5 \cdot 10^{-3}$ bar um Sauerstoffdiffusion ins Innere zu minimieren.

Zur Herstellung von anaerobem vollentsalztem Wasser (VE-Wasser) und anaerober Medien wurde die Flüssigkeit für etwa 20 min in einem Heizpilz (WiseTherm heating mantle WHM 12015, witeg Labortechnik GmbH, Wertheim, Deutschland) gekocht um die Sauerstoffsättigungskonzentration zu senken. Der verbleibende Restsauerstoff wurde anschließend unter Abkühlung im Eisbad mit Stickstoff für 20 min entgast, das Gefäß dann gasdicht verschlossen und in die Anaerobwerkbank eingeschleust. Für die Medienherstellung wurde der Wasserverlust durch das Kochen mit einem Messzylinder und anaerobem Wasser bei sauerstofffreier Atmosphäre kompensiert. Abschließend wurden die gewünschten Volumina in beschichtete Anaerobflaschen (Duran Protect, DWK Life Sciences GmbH, Wertheim/Main, Deutschland) aliquotiert, mit Butylgummisepten und Lochkappen (Gerätebau Ochs, Laborfachhandel e.K., Bovenden/Lenglern, Deutschland) gasdicht verschlossen und im Standautoklav (VX-150, Systec GmbH, Linden, Deutschland) bei 121 °C für 20 min sterilisiert.

4.2.2 Medien: Zusammensetzung und Zubereitung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei unterschiedliche acetogene Bakterienstämme zur Gasfermentation verwendet. Im Weiteren wird die individuelle Medienzusammensetzung für jede Prozessführung für *Clostridium aceticum* beziehungsweise *Clostridium carboxidivorans* erläutert. Die Hersteller der Chemikalien sowie die korrespondierenden CAS-Nummern sind in Abschnitt A.3 im Anhang zusammengefasst.

Stammlösungen

Um regelmäßige Anwendungen einzelner Chemikalien anaerob, steril und möglichst einfach zu gewährleisten, wurden Stammlösungen für L-Cystein Hydrochlorid (50 g L^{-1}) als Reduktionsmittel, D-Fructose (250 g L^{-1}) und D-Glucose (250 g L^{-1}) als Kohlenstoffquelle für heterotrophe Vorkulturen hergestellt. Außerdem wurde eine phosphatgepufferte Salzlösung (PBS, engl. *phosphate buffered saline*, Zusammensetzung: siehe Tabelle A.12 im Anhang), 10 %-iges Polypropylenglycol (PPG) als Antischaummittel sowie eine 80 %-ige Glycerinlösung für die Kryokultur verwendet. Die Komponenten wurden eingewogen, in die Anaerobbank eingeschleust, dort mit anaerobem vollentsalztem Wasser auf die gewünschte Konzentration eingestellt und abschließend in beschichteten Anaerobflaschen sterilisiert. Die Stammlösungen wurden bei Raumtemperatur gelagert.

Vorkulturmedium

Für *C. aceticum* wurde das vom Leibniz-Institut Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) vorgeschlagene Medium DSM 135 verwendet (Mayer und Weuster-Botz 2017). Für *C. carboxidivorans* wurde ein Medium auf Basis der Publikation von Hurst und Lewis (2010) hergestellt. Die Medienzusammensetzungen sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst.

Tabelle 4.1: Zusammensetzung des Vorkulturmediums für *C. acetium* (CA-Medium) und *C. carboxidivorans* (CC-Medium).

| Medienkomponente | CA-Medium c, g L ⁻¹ | CC-Medium c, g L ⁻¹ |
|--|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure (MES) | - | 15,00 |
| CaCl ₂ · 2H ₂ O | - | 0,16 |
| Hefeextrakt | 2,00 | 1,00 |
| K ₂ HPO ₄ | 0,45 | - |
| KCl | - | 0,30 |
| KH ₂ PO ₄ | 0,33 | 0,30 |
| L-Cystein Hydrochlorid | 0,50 | 0,40 |
| MgSO ₄ · 7H ₂ O | 0,10 | 1,23 |
| NaCl | - | 2,40 |
| NaHCO ₃ | 10,00 | - |
| NH ₄ Cl | 1,00 | 3,00 |
| Spurenelementlösung (4 °C gelagert) | 20 mL L ⁻¹ | 10 mL L ⁻¹ |
| Vitaminlösung (-20 °C gelagert) | 20 mL L ⁻¹ | 10 mL L ⁻¹ |

Die Zusammensetzungen der Medien unterschieden sich in einigen Medienkomponenten. Die Bestandteile der jeweiligen Vitamin- und der Spurenelementlösungen sind in Tabelle A.9 beziehungsweise Tabelle A.10 im Anhang zusammengefasst. Zur Herstellung des anaeroben Vorkulturmediums wurden die Medienkomponenten, wie in Tabelle 4.1 beschrieben, eingewogen und, wie in Abschnitt 4.2.1 erklärt, anaerobisiert, in beschichtete Anaerobflaschen aliquotiert und sterilisiert. Für das Vorkulturmedium für *C. acetium* wurden L-Cystein Hydrochlorid und NaHCO₃ in separaten Flaschen eingewogen und erst in der Anaerobwerkbank unter Ausschluss von Sauerstoff dem Vorkulturmedium beigemischt. Für das Vorkulturmedium für *C. carboxidivorans* wurde L-Cystein Hydrochlorid nicht mit eingewogen, sondern in Form einer L-Cystein Hydrochlorid-Stammlösung (50 g L⁻¹) mit Hilfe von sterilen Einweg-Spritzen (BD Discardit II, Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA) und Einmal-Injektions-Kanülen (Sterican, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) unmittelbar vor der Verwendung anaerob und steril zugegeben.

Prozessmedium

Für den Satzbetrieb wurde die Medienzusammensetzung der Vorkulturmedien, wie in Tabelle 4.1 beschrieben, modifiziert:

Für das Prozessmedium für Untersuchungen mit *C. acetium* wurde die Hefeextraktkonzentration halbiert, um Komplexbestandteilkonzentrationen minimal zu halten. Die Vitamin- und Spurenelementkonzentrationen wurden verdoppelt, um mögliche Limitierungen zu vermeiden. Chemolithoautotrophe Satzprozesse mit *C. acetium* wurden mit zwei unterschiedlichen Gaszusammensetzungen untersucht: einerseits mit einem CO₂:H₂:N₂-Gasgemisch und andererseits mit einem CO:N₂-Gasgemisch. NaHCO₃ liegt bei pH 8 größtenteils als HCO₃⁻ vor und puffert den pH des Mediums in Satzprozessen mit

CO₂. Um weitere Kohlenstoffquellen zu vermeiden, wurden die Satzprozesse mit dem CO-Gasgemisch ausschließlich mit dem äquimolaren Anteil an NaCl anstelle von NaHCO₃ durchgeführt. Dabei war es wichtig zu beachten, dass die Na⁺-Ionenkonzentration äquimolar vorhanden war, da der Energiestoffwechsel und das Wachstum von *C. aceticum* von der Natriumkonzentration abhängig ist (Mayer und Weuster-Botz 2017). Zusätzlich wurden 1,0 mL L⁻¹ Antischaum (1:10 PPG) dem Reaktionsmedium beigelegt.

Für das Prozessmedium für Untersuchungen mit *C. carboxidivorans* wurde auf die Pufferkomponente 2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure verzichtet und 0,1 mL L⁻¹ Antischaum (1:10 PPG) hinzugefügt.

Bei der Herstellung der Medien wurden alle Medienbestandteile außer der Vitamine, L-Cystein Hydrochlorid und Antischaum eingewogen und mit aerobem vollentsalztem Wasser auf das gewünschte Volumen aufgefüllt. Dabei wurden die Volumina für die fehlenden Komponenten (Vitamine, L-Cystein Hydrochlorid, Antischaum und Inokulum) berücksichtigt. Die Medien wurden im Standautoklav autoklaviert. Im Zuge der Vorbereitungen für den Satzbetrieb wurden die fehlenden Komponenten dem Reaktionsmedium steril zugefügt. Die Vorgehensweise ist detailliert in Abschnitt 4.2.4 beschrieben.

Für den diskontinuierlichen Betrieb wurden die Medienkomponenten (mit Ausnahme von Vitaminen, L-Cystein Hydrochlorid, Antischaum) eingewogen und wie in Abschnitt 4.2.1 beschrieben anaerobisiert. Unmittelbar vor dem Einsatz wurde das Medium auf die gewünschte Temperatur im Wasserbad gebracht und die fehlenden Komponenten ergänzt. Die Vitamine wurden über einen Sterilfilter (Celluloseacetatmembran Minisart, 0,2 µm, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) dem anaeroben Medium hinzugefügt, der anaerobe, sterile Antischaum sowie L-Cystein Hydrochlorid über sterile Einmal-Spritzen und Einmal-Injektions-Kanülen. L-Cystein Hydrochlorid wurde als letzte Komponente beigelegt, um mögliche Rest-Gelöstsauerstoffanteile aus dem Medium zu reduzieren.

Zulaufmedium

Für das Zulaufmedium wurde die gleiche Medienzusammensetzung wie das Prozessmedium eingewogen. Mit Ausnahme der Vitamine, Antischaum und L-Cystein Hydrochlorid wurden die Medienkomponenten in vollentsalztem Wasser aerob gelöst, das Volumen der fehlenden Komponenten berücksichtigt und in einer 5 L-Flasche im Standautoklav sterilisiert. Die Flasche wurde vorab mit einem speziell angefertigten Verschluss versehen, der drei unterschiedliche Zugänge über Schnellverschlusskupplungen hatte: (1) einen Anschluss für die Gaszufuhr, (2) einen Druckausgleich und (3) einen Anschluss für die Zufuhr oder die Entnahme von Flüssigmedium. Das heiße Medium wurde nach Vollendung der Sterilisation im Wasser-Eis-Bad begast.

Für die kontinuierliche Prozessführung im Festbettbiofilmreaktor mit *C. aceticum* wurde das Zulaufmedium mit einem N₂:CO₂-Gasgemisch (22:3) für 3 h begast. Anschließend wurden die sterilfiltrierten Vitamine und der Antischaum über den dritten Anschluss während kontinuierlicher Begasung über eine Peristaltikpumpe (Prozesspumpe 501,

Watson-Marlow Fluid Technology Group, Falmouth, UK) in die Flasche gepumpt und für mindestens eine weitere Stunde begast. Für kontinuierliche Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor wurde das Zulaufmedium zu Beginn mit $10,0 \text{ mL L}^{-1}$ 10 M KOH versetzt und nach der Vitamin- und Antischaum-Zugabe für mindestens weitere 21 h im Wasserbad bei 30°C begast. Dabei stellte sich ein pH von $\text{pH} \sim 8,0$ ein. Für die Untersuchungen mit erhöhtem pH ($\text{pH} \sim 8,25$ beziehungsweise $\text{pH} \sim 8,40$) wurden $23,5 \text{ mL L}^{-1}$ beziehungsweise $42,0 \text{ mL L}^{-1}$ 10 M KOH in 4,5 L Zulaufmedium zu Beginn der Begasung zugegeben.

Das Zulaufmedium wurde für die kontinuierliche Prozessführung im Festbettbiofilmreaktor mit *C. carboxidivorans* einem $\text{N}_2:\text{CO}_2$ -Gasgemisch (4:1), für Experimente im Rieselbettbiofilmreaktor mit reinem Stickstoff begast. Die Begasungsdauer war für beide Begasungsstrategien ungefähr 4 h.

Das Zulaufmedium wurde bei 4°C gelagert und 24 h vor Verwendung auf Raumtemperatur temperiert. Für die Anwendung im Rieselbettbiofilmreaktor wurde dieses zusätzlich etwa 12 h vor dem Betrieb im Wasserbad temperiert.

4.2.3 Stammhaltung und Vorkultur

Bakterienstämme

Das Verhalten zweier Bakterienstämme wurde in vier unterschiedlichen Bioreaktoren untersucht: Beide acetogenen Bakterien, *Clostridium aceticum* (DSM 1496) beziehungsweise *Clostridium carboxidivorans* (DSM 15243) wurden gefriergetrocknet von der DSMZ erworben und im Vorkulturmedium für *C. aceticum* beziehungsweise im Wilkins-Chalgren Anaerobmedium (CM0643, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) heterotroph reaktiviert.

Heterotrophe Kryokultur

5 mL der reaktivierten *C. aceticum*-Suspension wurden in 500 mL CA-Vorkulturmedium überführt und heterotroph mit D-Fructose bei 30°C im Brutschrank (Wisecube WIS-20R, witeg Labortechnik GmbH, Wertheim, Deutschland) ungeschüttelt inkubiert. Das Ende der exponentiellen Wachstumsphase wurde über die optische Dichte bei 600 nm mit einem Einstrahlphotometer (Genesys 10S UV-VIS, Thermo Fisher Scientific, Neuss, Deutschland) bestimmt und bei $\text{OD}_{600} = 0,4$ in die Anaerobbank eingeschleust. Die Zellsuspension wurde mit der sterilen Glycerin-Stammlösung auf einen Gehalt von 10 % gebracht und in zuvor sterilisierte und anaerobisierte Hungate-Röhrchen überführt. Diese wurden mit Butylgummisepten und Lochkappen gasdicht verschlossen und bei -80°C gelagert.

5 mL der reaktivierten *C. carboxidivorans*-Suspension wurden in 50 mL Wilkins-Chalgren Anaerobmedium heterotroph mit D-Glucose im Brutschrank ungeschüttelt bei 37°C bis zu einer optischen Dichte von $\text{OD}_{600} = 0,7$ inkubiert und 40 vol% in 200 mL Wilkins-Chalgren Anaerobmedium überimpft. Bei einer optischen Dichte von $\text{OD}_{600} = 0,7$ wurde die Suspension in die Anaerobbank eingeschleust und wie die Kryokultur von *C. aceticum* aufgearbeitet und bei -80°C gelagert.

Heterotrophe Vorkultur und Zellernte

Um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sicher zu stellen, wurde in dieser Arbeit für jedes Experiment eine neue Vorkultur angesetzt. Diese wurde für alle Untersuchungen gleich durchgeführt. Die Zellen befanden sich dabei reproduzierbar in der exponentiellen Wachstumsphase.

Die heterotrophe Vorkultur von *C. aceticum* wurde zweistufig und heterotroph mit 10 g L^{-1} D-Fructose durchgeführt: 1 mL der aufgetauten Kryokultur wurde in 50 mL Vorkulturmedium bei $30 \text{ }^\circ\text{C}$ im Brutschrank für 70 h inkubiert, davon 5 mL in 500 mL Vorkulturmedium überimpft und bei $30 \text{ }^\circ\text{C}$ inkubiert. Nach etwa 18 h wurden die Zellen in der exponentiellen Wachstumsphase geerntet. Die Zellsuspension wurde in die Anaerobbank eingeschleust und in vier sterile und anaerobe Zentrifugenbecher (Nalgene Centifuge Bottle PPCO 1010, Thermo Fisher Scientific, Neuss, Deutschland) überführt und bei 4.500 U min^{-1} (3.620 rcf) in einer Standzentrifuge (ROTIXA 50RS, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland) für 30 min abzentrifugiert. In der Anaerobbank konnte dann der Überstand abdekantiert und die aufkonzentrierte Zellsuspension in 50 mL-Zentrifugationsröhrchen (Falcon 50 mL, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) überführt werden. Diese wurden für 20 min bei 4.500 U min^{-1} in der Standzentrifuge abzentrifugiert, in die Anaerobwerkbank eingeschleust, abdekantiert und in anaerober, steriler 1:10-phosphatgepufferten Salzlösung (PBS) resuspendiert. Das Experiment konnte dann mit dem Zellkonzentrat als Inokulum angeimpft werden.

Die heterotrophe Vorkultur von *C. carboxidivorans* wurde einstufig und heterotroph mit $5,0 \text{ g L}^{-1}$ D-Glucose durchgeführt: 2,5 mL aufgetaute Kryokultur wurden in 50 mL Vorkulturmedium mit $0,4 \text{ g L}^{-1}$ L-Cystein Hydrochlorid für 16 h bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ im Brutschrank inkubiert. Die Zellen wurden in der exponentiellen Phase wie oben beschrieben in Zentrifugationsröhrchen geerntet.

4.2.4 Prozesstechnik

Die Untersuchungen der Produktbildung und der Gasaufnahme von *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* wurden – wenn nicht explizit anders angegeben – bei Standardbedingungen (siehe Tabelle 4.2) und unterschiedlichen Betriebsweisen durchgeführt. Voruntersuchungen im ideal durchmischten Rührkesselreaktor mit *C. aceticum* im 1-Liter-Maßstab (Labfors 3, Infors AG, Bottmingen, Schweiz) zeigten bei den gewählten Standardbedingungen die höchsten Raum-Zeit-Ausbeuten (Mayer 2018). Untersuchungen mit unterschiedlichen $\text{CO}:\text{CO}_2$ -Gaszusammensetzungen mit *C. carboxidivorans* im 1 L-Maßstab (KLF2000, Bioengineering AG, Wald, Schweiz) zeigten vergleichbare spezifische Wachstumsraten bei 600 mbar und 800 mbar CO mit jeweils 200 mbar CO_2 (Doll *et al.* 2018). Als Standardbedingung wurde deshalb der höhere CO-Partialdruck gewählt, um gemäß Gleichung 3-32 möglichst hohe Gas-Flüssig-Stofftransportraten erzielen zu können.

Satzverfahren im Parallelansatz

Unter Satzverfahren im Parallelansatz werden Untersuchungen in Anaerobflaschen verstanden, die jeweils in Triplikaten durchgeführt wurden. Die Untersuchungen fanden in beschichteten Anaerobflaschen mit einem Gesamtvolumen von 0,5 L und einem Arbeitsvolumen von 0,1 L statt. Zur Vorbereitung wurden die Flaschen in der Anaerobbank mit anaerobem Vorkulturmedium befüllt, gasdicht verschlossen und autoklaviert. Der pH des Mediums wurde vor der Inokulation auf den gewünschten Wert eingestellt und während der Experimente nicht mehr kontrolliert. Die Flaschen wurden in einem Schüttler (Wisecube WIS-20R, witeg Labortechnik GmbH, Wertheim, Deutschland) bereits am Vortag über die Umgebungstemperatur auf die gewünschte Temperatur gebracht und bei 100 U min^{-1} geschüttelt, um das gasförmige Substrat aus dem Kopfraum in der Flüssigphase zu lösen.

Tabelle 4.2: Zusammenfassung der Standardbedingungen für die Untersuchungen von *C. acetium* beziehungsweise *C. carboxidivorans* in Anaerobflaschen (AF) oder im Satzprozess (SP).

| | Einheit | <i>C. acetium</i> | | <i>C. carboxidivorans</i> | |
|---|-----------------------------------|-------------------|---------|---------------------------|-------|
| | | AF | SP | AF | SP |
| Arbeitsvolumen | | | | | |
| Flasche | L | 0,1 | - | 0,1 | - |
| Rührkesselreaktor | L | - | 2,00 | - | 2,00 |
| Blasensäulenreaktor | L | - | 2,50 | - | 2,50 |
| Festbettbiofilmreaktor | L | - | 2,25 | - | 2,25 |
| | | | 2,50 | | 2,50 |
| Rieselbettbiofilmreaktor | L | - | 0,47 | - | 0,47 |
| Gesamtvolumen | L | 0,5 | 3,7 | 0,5 | 3,7 |
| Temperatur | °C | 30,0 | 30,0 | 37,0 | 37,0 |
| pH ₀ | - | 8,0 | 8,0 | 6,0 | 6,0 |
| Druck | bar | 2,0 | 1,0 | 2,0 | 1,0 |
| Gas- | | | | | |
| zusammensetzung | | | | | |
| CO ₂ :H ₂ :N ₂ | v/v | 1:4:0 | 3:12:10 | - | - |
| CO:N ₂ | v/v | - | 1:9 | - | - |
| CO:CO ₂ | v/v | - | - | 4:1 | 4:1 |
| Gasvolumenstrom | L L ⁻¹ h ⁻¹ | - | 10,0 | - | 5,0 |
| Rührerdrehzahl | | | | | |
| Rührkesselreaktor | U min ⁻¹ | - | 1.500 | - | 1.200 |
| Blasensäulenreaktor | U min ⁻¹ | - | 25 | - | 25 |
| Festbettbiofilmreaktor | U min ⁻¹ | - | 25 | - | 25 |
| Rieselbettbiofilmreaktor | U min ⁻¹ | - | 16-18 | - | 16-18 |
| Schüttelfrequenz | U min ⁻¹ | 100 | - | 100 | - |
| Inokulations-OD ₆₀₀ | - | 0,1/0,05 | 0,2 | 0,1 | 0,1 |

Unmittelbar vor den autotrophen Untersuchungen in den Anaerobflaschen wurden diese über einen Sterilfilter mit der gewünschten Gasmischung (für *Clostridium aceticum*: CO₂:H₂ 1:4, für *Clostridium carboxidivorans*: CO:CO₂ 4:1) für mindestens drei Minuten gespült. Danach wurde drei Mal ein Druck von 2,0 bar aufgebaut und dieser wieder abgelassen. Nach dem vierten Druckaufbau wurde der Druck nicht mehr abgebaut. Nachbegasungen während der Experimente wurden wie bei den Vorbereitungen durchgeführt. Die Experimente wurden mit einer initialen optischen Dichte (OD₆₀₀) von 0,1 gestartet. Zur Prozessanalytik wurden die optische Dichte (OD₆₀₀), der pH mit einem pH-Meter (PCE-PHD 2, PCE Deutschland GmbH, Meschede, Deutschland) und der Flaschendruck mit einem Handmanometer (WIKA Alexander Wiegand SE & Co. KG, Klingenberg, Deutschland) in regelmäßigen Abständen dokumentiert.

Satzbetrieb

Vier unterschiedliche Bioreaktoren (Rührkesselreaktor, Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf, Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf und Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom) wurden im Satzbetrieb untersucht. Der gewünschte Bioreaktor wurde, wie in Kapitel 4.1 detailliert beschrieben, zusammengebaut, auf Dichtheit geprüft und mit vollentsalztem Wasser *in-situ* sterilisiert. Nach dem Abkühlen wurde das vollentsalzte Wasser bei einem Überdruck von 0,1 bar aus dem Reaktor entfernt und aerobes, steriles Medium mit einem sterilen Schlauch (Watson-Marlow GmbH, Rommerskirchen, Deutschland) über eine Peristaltikpumpe in den Reaktor gepumpt. Die Vitaminlösung wurde aufgetaut und über einen Sterilfilter und ein Septum direkt im Reaktor dem Medium beigemischt. Auch Antischaum wurde steril zugegeben. Währenddessen wurde die gewünschte Temperatur im Reaktor gewählt und die Abgasanalytik gestartet. Abschließend wurde die gewünschte Gasmischung eingestellt, um das Medium über Nacht bei den gewünschten Partialdrücken zu sättigen. Unmittelbar vor der Inokulation wurde die entsprechende Menge an L-Cystein Hydrochlorid über die 50 g L⁻¹ Stammlösung hinzugefügt, um möglichen Restsauerstoff zur Gänze aus dem Reaktionsmedium zu entfernen. Satzprozesse wurden mit einer Start-OD₆₀₀ von 0,2 beziehungsweise 0,1 (für *C. aceticum* beziehungsweise *C. carboxidivorans*) inokuliert.

Diskontinuierliche Medienerneuerung (wiederholtes Satzverfahren)

Beim Betrieb des Festbettbiofilmreaktors mit innerem Umlauf wurde das anaerobe Flüssigmedium diskontinuierlich erneuert:

Dafür wurde anaerobes Medium, wie in Abschnitt 4.2.2 detailliert beschrieben, zubereitet und temperiert. Das verbrauchte Medium im Reaktor wurde bei einem Überdruck von 0,1 bar über ein Probenahmeventil am Boden des Reaktors entfernt. Dann wurden die gewünschten Parameter (Gaszusammensetzung, Gasvolumenstrom, etc.) eingestellt. Frisches Medium konnte im Anschluss gegen einen Überdruck von 0,1 bar über eine Peristaltikpumpe in den Reaktor gepumpt werden. Um Sauerstoffdiffusion aufgrund des entstehenden Unterdrucks in der Flasche so gering wie möglich zu halten, wurde der Druckabfall durch Volumenkompensation über ein flexibles Stickstoffreservoir (Plastigas-Beutel mit Ventil, 10 L, Linde AG, Pullach, Deutschland) ausgeglichen. Die Medienerneuerung dauerte in etwa 1 h. Währenddessen konnte der pH des Mediums

bereits kontrolliert werden. Unmittelbar vor dem Start des Experiments wurde der gewünschte Gesamtdruck eingestellt und die pH-Regelung bei Bedarf deaktiviert. Dieser Zeitpunkt wurde als Startzeit dokumentiert. Die diskontinuierliche Medienerneuerung wurde in dieser Arbeit im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf mit *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* durchgeführt.

Kontinuierliche Betriebsweise

Für den kontinuierlichen Betrieb wurde anaerobes Medium in Fünf-Liter-Flaschen, wie in Abschnitt 4.2.2 erklärt, zubereitet. Der Zulauf wurde über eine kalibrierte Peristaltikpumpe (Ismatec Reglo Digital, Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland) in den Reaktor gepumpt. Das Zulaufmedium wurde für den Betrieb im Festbettbiofilmreaktor mit einem Magnetrührer (neoMag digitaler Magnetrührer mit Heizung D-6010, neoLab Migge GmbH, Heidelberg, Deutschland) homogenisiert und für den Betrieb im Rieselbettbiofilmreaktor im Wasserbad (GFL-1083, GFL Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Deutschland) temperiert und geschüttelt. Über den Ablauf wurde mit einer weiteren Pumpe über Oberflächenabsaugung das Volumen im Reaktor konstant gehalten. Das Medium wurde in einer sterilen, aeroben 5 L-Flasche aufgefangen. Zum Druckausgleich wurde die Zulaufflasche mit einem flexiblen Stickstoffreservoir, die Ablaufflasche mit einem offenen Sterilfilter versehen. Der Aufbau ist in Abbildung 4.1 fotografisch und schematisch dargestellt.

Für die kontinuierliche Prozessführung bei erhöhtem Gesamtdruck im Festbettbiofilmreaktor musste eine spezielle druckbeständige Peristaltikpumpe (Masterflex, L/S Digital Miniflex Pump, Miniflex 2-Kanalkopf, 07525-20, Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland) mit einem druckbeständigen, autoklavierbaren Pumpschlauch (Tubing Mflex Pharmed, #13 25', Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland) verwendet werden. Da die Peristaltikpumpe nicht gegen Druck kalibriert werden konnte, wurde eine weitere 5 L-Flasche mit etwa 0,5 L anaerobem Medium als Medienreservoir zwischen Pumpe 1 und die druckbeständige Pumpe 2 installiert. Das Medium wurde damit bei einem eingestellten Zulaufvolumenstrom bei Atmosphärendruck exakt in die Medienreservoirflasche befördert. Das überschüssige Volumen in dieser Flasche wurde über Oberflächenabsaugung mit der druckbeständigen Pumpe gegen den erhöhten Gesamtdruck gepumpt. Der Ablauf wurde über eine dritte Pumpe über Oberflächenabsaugung abgezogen. Eine fotografische und schematische Visualisierung ist in Abbildung A.3 C im Anhang bereitgestellt.

Da der pH des Mediums im Rieselbettbiofilmreaktor durch die fehlende Suspension nicht geregelt werden konnte, musste dieser bereits im Zulauf kontrolliert werden. Eine Installation mit sieben Anschlüssen (a) vor der Zulaufpumpe ermöglicht mehrere Funktionen und ist in Abbildung 4.5 als CAD-Zeichnung und als Fotografie beigefügt und wird als „Sammelreservoir mit pH-Regelung“ bezeichnet: (1) Anschluss für den Zulauf vom frischem, sterilen, anaerobem Zulaufmedium, (2) Ablauf aus der pH-Flasche, (3) Druckausgleich mit Hilfe eines flexiblen Stickstoffreservoirs, (4) Basenzugang (1,0 M KOH bei Untersuchungen mit *C. aceticum* im Rieselbettbiofilmreaktor, 0,2 M NaOH bei Untersuchungen mit *C. carboxidivorans*), (5) Option für Säurezugang (nicht verwendet),

(6) Möglichkeit für den Zulauf und (7) Ablauf einer Flüssigkeitszirkulation mit pH-Regelung. In der Mitte der 250-Milliliter-Flasche (b) befindet sich eine pH-Sonde (c). Die Flüssigkeit wurde durch ein Magnetrührstäbchen homogenisiert und durch ein externes Wasserbad temperiert. Vor dem Betrieb wurde die pH-Sonde kalibriert, das Sammelreservoir auf Dichtheit geprüft, sterilisiert, erneut auf Dichtheit geprüft, mit Stickstoff über einen Sterilfilter für mindestens 1 h mit N₂ anaerobisiert und mit frischem, anaerobem Medium befüllt. Mögliche Anwendungen des Sammelreservoirs mit pH-Regelung sind in Abbildung A.3 E und F im Anhang dargestellt.

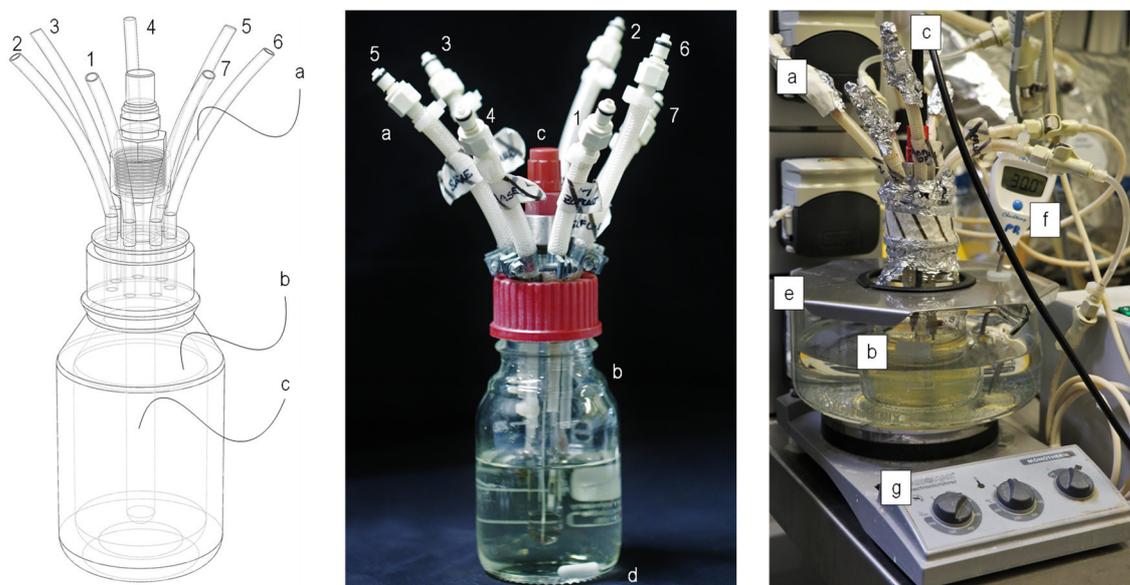


Abbildung 4.5: CAD-Zeichnung (links) und fotografische Darstellung (mittig und rechts) des Einsatzes des Sammelbehälters für den Betrieb der kontinuierlich betriebenen Biofilmreaktoren mit pH-Kontrolle und/oder Medienzirkulation. Bezeichnungen: a, sieben voneinander unabhängige Schläuche für Zu- und Ablauf; b, Sammelbehälter; c, pH-Sonde; d, Magnetrührstäbchen; e; Wasserbad; f, Temperaturmessung des Wasserbads; g, Magnetrührer mit Heizplatte. Die technische Zeichnung des Aufsatzes ist in Abbildung A.8 im Anhang zu finden.

4.3 Myoglobin-Test

Der Myoglobin-Test ist ein biochemischer Proteintest, um die CO-Gelöstkonzentration in wässrigen Medien zu quantifizieren. Er wurde in der Literatur beschrieben (Riggs und Heindel 2006; Kundu *et al.* 2003) und am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik in folgender Weise etabliert: Kohlenstoffmonoxid bindet äquimolar an die Quartärstruktur von reduziertem Myoglobin und kann photometrisch quantifiziert werden (Lehninger *et al.* 1993). Etwa 0,009 mM lyophilisiertes Myoglobin (≥ 90 % SDS-PAGE, salzfrei, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland), aerob gelöst in Phosphatpuffer (pH 7,0; 5,24 g L⁻¹ KH₂PO₄ und 10,71 g L⁻¹ K₂HPO₄), wurde photometrisch bei einer Wellenlänge von 409 nm über das Lambert-Beer'sche Gesetz quantifiziert (Gleichung 4-1). Dabei ist die Schichtdicke (L) der verwendeten Messküvette (Q-VETTES, halbmikro, glasklares Polystyrol, ratiolab GmbH, Dreieich, Deutschland) 1,0 cm und der Extinktionskoeffizient für gelöstes Myoglobin (ϵ_{Myo}) bei 408 nm 188 mM cm⁻¹ (Antonini und Brunori 1971).

$$c_{\text{Myo}} = \frac{A_{408}}{L \cdot \varepsilon_{\text{Myo}}} \quad 4-1$$

| | | |
|----------------------------|--------------------------------------|---------------------|
| c_{Myo} | Myoglobinkonzentration in Lösung | mM |
| A_z | Absorption bei der Wellenlänge Z nm | - |
| L | Länge der Messzelle | cm |
| ε_{Myo} | Extinktionskoeffizient von Myoglobin | mM cm ⁻¹ |

1,000 μL der Myoglobinlösung wurde vor der Messung mit 80 μL anaerobem 85 mM $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (85 % technische Qualität, CAS7775-14-6, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) reduziert (gelbe Färbung). 10 μL Probe wurde mit einer gasdichten Spritze (1701N, Nadellänge: 51 mm, Nadel-ID: 0.13 mm, Nadel-AD: 0.47 mm; Hamilton, Reno, USA) über ein Septum durch eine Bodenöffnung des Reaktors entnommen, direkt in die Myoglobinlösung injiziert und mit einem Vortexmischer (Vortex Mixer 7-2020, neoLab Migge GmbH, Heidelberg, Deutschland) durchmischt. Anschließend wurde ein Spektrum im Einstrahlphotometer aufgenommen (Absorption, 350-500 nm, 1.0 nm Schrittweite, Absorption, schnelle Messgeschwindigkeit). In Abbildung 4.6 A sind die Spektren einer Messung exemplarisch dargestellt.

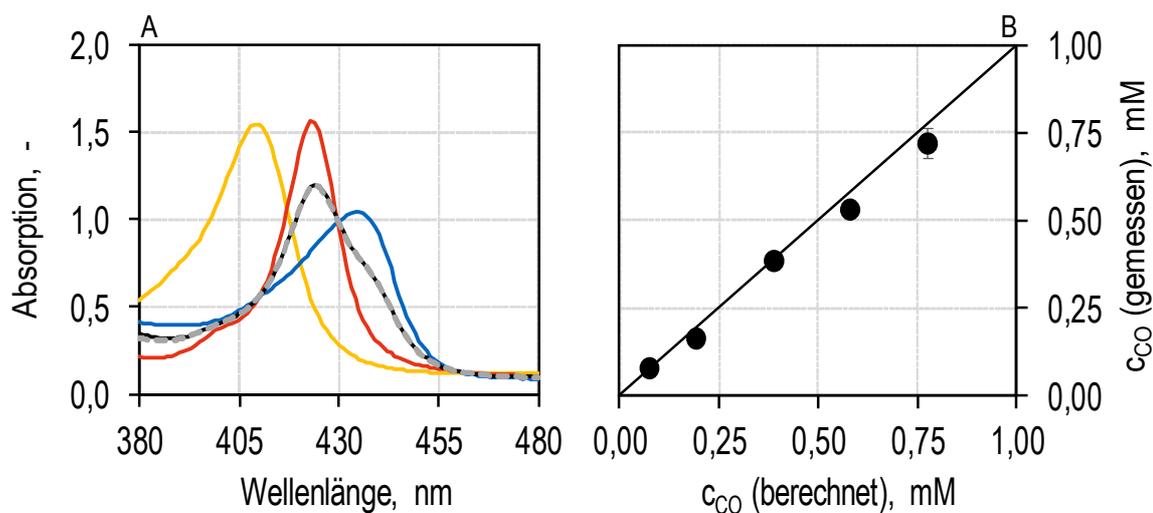


Abbildung 4.6: A, spektrale Messungen unterschiedlicher Zustände einer Myoglobin-Probe: gelöst (A_{max} bei 408 nm; gelb), reduziert (A_{max} bei 435 nm, blau), carbonyliert (A_{max} bei 424 nm, rot), unbekannte Sättigung (A_{max} zwischen ≥ 424 nm und ≤ 435 nm, schwarz). Die graue Strichlinie zeigt die numerische Lösung aus Gleichung 4-2. B, Gegenüberstellung der über das Henry'sche Gesetz berechneten (Gleichung 3-34) und der über den Myoglobin-Test gemessenen CO-Gelöstkonzentration (c_{CO}) (salzfreies Wasser; 37 °C).

Zur Kalibrierung des Tests wurden zwei weitere Spektren aufgenommen: zuerst eine Probe des reduzierten Myoglobins mit der maximalen Absorption bei 435 nm, um das Spektrum für 0 mM CO zu kennen. Anschließend wurde dieselbe Probe mit 100 % CO solange begast, bis die Probe komplett carbonyliert war (rote Färbung) und im Photometer vermessen, um die maximal messbare Konzentration zu kennen. Eine numerische Lösung

(A^*) für die unbekannte Probe wird über die Minimierung der Fehlerquadrate ($(A-A^*)^2 \rightarrow \min$) mit Gleichung 4-2 gefunden.

Die CO-Gelöstkonzentration (c_{CO}) konnte im Anschluss unter Berücksichtigung der eingesetzten Volumina mit Gleichung 4-3 berechnet werden:

$$A^* = x_{red} \cdot A_{red} + x_{carb} \cdot A_{carb} \quad 4-2$$

| | | |
|------------|---|---|
| A^* | Numerische Lösung des Spektrums | - |
| x_{red} | Reduzierter Anteil an Myoglobin | - |
| A_{red} | Spektrum der reduzierten Myoglobin-Probe | - |
| x_{carb} | Carbonylierter Anteil an Myoglobin | - |
| A_{carb} | Spektrum der carbonylierten Myoglobin-Probe | - |

$$c_{CO} = c_{Myo} \cdot x_{carb} \cdot \frac{V_t}{V_{Pr}} \quad 4-3$$

| | | |
|----------|------------------------|---------------|
| c_{CO} | CO-Gelöstkonzentration | mM |
| V_t | Gesamtvolumen | 1.090 μ L |
| V_{Pr} | Probenvolumen | 10 μ L |

Die Eignung des Tests wurde durch Messungen unter abiotischen Bedingungen mit unterschiedlichen CO-Partialdrücken (0,10 bar; 0,25 bar; 0,50 bar; 0,75 bar; 1,00 bar) bei 37 °C in salzfreiem Wasser im ideal durchmischten Rührkesselreaktor durchgeführt. Die Beurteilung erfolgte über die Korrelation der CO-Gelöstkonzentrationen des Myoglobin-Tests mit dem Henry'schen Gesetz (siehe Gleichung 3-34 mit Tabelle 3.6). Die Messdaten zeigten eine sehr gute Übereinstimmung und sind in Abbildung 4.6 B dargestellt.

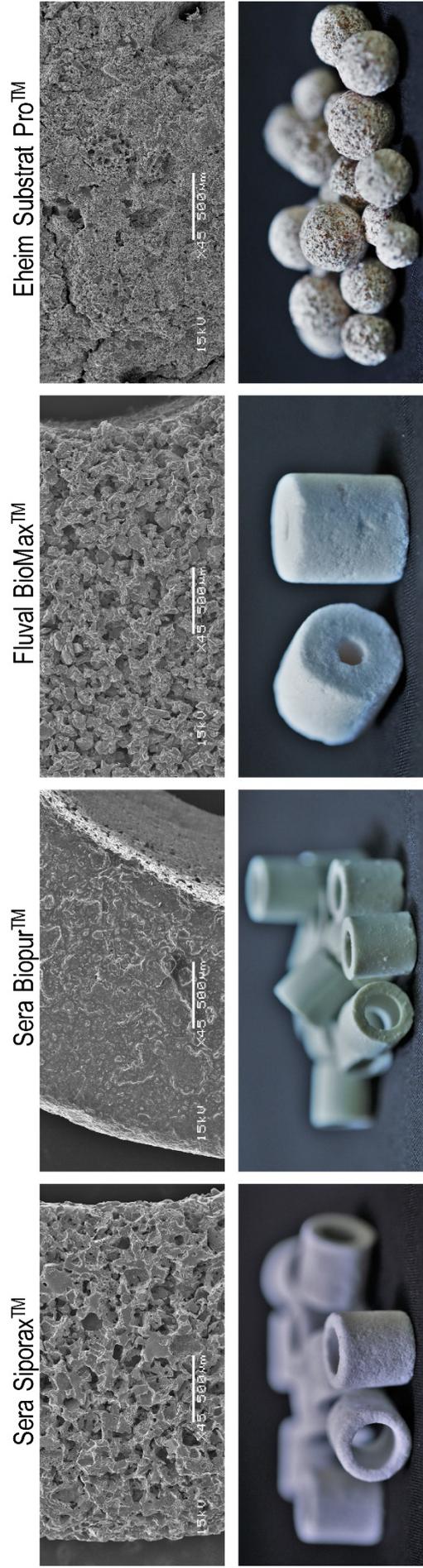
4.4 Festbettmaterial für Biofilmreaktoren

4.4.1 Trägermaterial

Für den Betrieb der Biofilmreaktoren (Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf und Rieselbettbiofilmreaktor) wurde ein inertes Trägermaterial benötigt, das sowohl auf die optische Dichte (OD_{600}) des Prozessmediums als auch den pH keinen Einfluss hat. Es wurden poröse und nicht poröse Materialien in Hohlzylinder- und Kugelform untersucht. Vier unterschiedliche Trägermaterialien wurden im Rahmen dieser Arbeit für eine Immobilisierung von *C. acetivum* und *C. carboxidivorans* überprüft; die korrespondierenden Eigenschaften sind in Tabelle 4.3 zusammengefasst.

Tabelle 4.3: Zusammenfassung der Spezifikationen, der Makrostruktur (45-fache Vergrößerung; obere Bildreihe) und fotografischer Darstellungen (untere Bildreihe) unterschiedlicher Trägermaterialien. Abkürzungen: k.A., keine Angabe; *(Stern), Herstellerangaben; +, Annahme 35 % mittlere Porosität.

| Trivialname Hersteller | Sera Sipurax™ sera GmbH | Sera Biopur™ sera GmbH | Fluval BioMax™ Fluval Aquatics | Eheim Substrat Pro™ EHEIM GmbH & Co. KG |
|---------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|
| Form | Hohlzylinder | Hohlzylinder | Hohlzylinder | Kugel |
| Material | Kalk-Natron-Glas | Keramik | Keramik | Gesinterter Glas |
| Höhe | 14,3 ± 0,1 mm | 10,3 ± 0,1 mm | 18,7 ± 0,7 mm | - |
| Innendurchmesser | 8,7 ± 0,3 mm | 5,8 ± 0,3 mm | 4,6 ± 0,3 mm | - |
| Außendurchmesser | 14,4 ± 0,1 mm | 10,1 ± 0,2 mm | 18,7 ± 0,2 mm | 8,4 ± 0,3 mm |
| Porosität | bis 70* | massiv | makroporös | makroporös |
| Porengröße | 60 - 300* | 0 | k.A. | k.A. |
| Masse | 1,1 ± 0,1 g Stück ⁻¹ | 1,1 ± 0,0 g Stück ⁻¹ | 6,5 ± 0,3 g Stück ⁻¹ | 0,4 ± 0,3 g Stück ⁻¹ |
| Materialdichte | 1.136* ± 99* | 2.042 ± 133 | - | - |
| Schüttdichte | 242 ± 3 kg m ⁻³ | 790 ± 5 kg m ⁻³ | 668 ± 6 kg m ⁻³ | 679 ± 2 kg m ⁻³ |
| Schüttdichte | 32,7 ± 0,5 % | 38,7 ± 0,2 % | 50,1 ± 0,4 % | 57,5 ± 0,2 % |



4.4.2 Vor- und Aufbereitung des Trägermaterials

Zur Vorbereitung des Trägermaterials wurde das Material mit vollentsalztem Wasser in zehn separaten Zyklen gewaschen und bei 80 °C im Trockenschrank (Universalschrank UN260, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Deutschland) getrocknet. Das trockene Material wurde in einen sauberen Behälter eingewogen, sterilisiert und in den Experimentalaufbau (beschichtete Anaerobflasche oder Mehrzweckbioreaktor) überführt.

Um mögliche Rückstände der Biosuspension auf dem Trägermaterial zu vermeiden, wurden zur Aufbereitung für weitere Analysen (Biotrockenmassebestimmung, qualitative Aufnahmen im Rasterelektronenmikroskop) mehrere Einzelproben aus dem Bioreaktor entfernt und als Waschvorgang in frischem Medium bei aeroben Bedingungen und Raumtemperatur für wenige Sekunden getaucht. Zur Isolation wurde ein Teil der Proben bei 80 °C im Trockenschrank getrocknet und gelagert. Der andere wurde bei -80 °C für mindestens 24 h eingefroren, bei -40 °C und einem Druck von $0,12 \cdot 10^{-3}$ bar für über 72 h gefriergetrocknet (Alpha 1-2 LDplus, Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Deutschland) und anschließend bei Raumtemperatur gelagert. Im Mehrzweckbioreaktor wurde an mehreren Stellen (oben, unten, Mitte, an der Reaktorwand und an der Außenwand des Leitrohres) beprobt.

4.4.3 Analyse im Rasterelektronenmikroskop

Mikroskopische Analysen im Rasterelektronenmikroskop (REM) (JEOL JSM-5900LV, JEOL (Germany) GmbH, Freising, Deutschland) geben qualitative Informationen über die Oberfläche des aufbereiteten Trägermaterials. Dabei kann festgestellt werden, ob sich die anaeroben Bakterien über Primäradsorption, Immobilisierung oder Biofilmbildung auf dem Träger angelagert haben und wie die morphologische Beschaffenheit des Materials und der Mikroorganismen ist. Vor den Analysen wurden die getrockneten Proben auf einem Stahlträger mit doppelseitigem Kohlenstoffklebeband fixiert und mit einem Aluminiumband als Erdung versehen. Für eine kontrastreiche Auflösung konnte die Probe bei 10^{-4} bar für 70 s in einer Sputter-Beschichtungsanlage (sputter coater, BAL-TEC SCD 005, BAL-TEC AG (Leica Biosystems), Balzers, Liechtenstein) mit Gold elektrisch leitfähig gemacht werden. Die mikroskopischen Aufnahmen wurden in einer gasdichten Analysenkammer im Hochvakuum (10^{-10} bar) durchgeführt. Die Sekundärelektronen wurden für alle Aufnahmen bei einer Hochspannung von 15 kV auf die Probe gerichtet beschleunigt. Die optische Blendeneinstellung (Strahlendurchmesser) wurde zwischen 22 mm und 28 mm gewählt. Um qualitative Informationen über die Verteilung der acetogenen Bakterien über die Materialoberfläche zu erhalten, wurden Proben von der Seite, von oben und durch Zerschlagen der Probe im Inneren der Poren untersucht. Vergleichende Untersuchungen der gefriergetrockneten und im Trockenschrank (80 °C) getrockneten Proben zeigten keine qualitativen Unterschiede durch die Probenaufbereitung.

4.4.4 Elementaranalyse zur Biotrockenmassebestimmung

Die Biotrockenmassekonzentration auf dem Trägermaterial wurde für ausgewählte Experimente über eine Elementaranalyse (C, H, N und S) nach dem Prinzip von dynamischer Spontanverbrennung und anschließender gaschromatographischer Auftrennung quantifiziert. Die gefriergetrockneten Feststoffproben, ein Konzentrat des analysierten acetogenen Bakteriums (abzentrifugiert, gefriergetrocknet) und ein aufbereiteter abiotischer Träger (Nullprobe) wurden separat mit einem Mörser zu einem feinkörnigen Pulver zerrieben. Wenige Milligramm des jeweiligen Analyten wurden in eine Schale aus Zinn eingewogen. Die Probe konnte anschließend in einem Quarzglasrohr im Inertgasstrom aus Helium mit Sauerstoffüberschuss in Anwesenheit eines Oxidationskatalysators in einem Elementaranalysator (EuroEA Elementaranalysator, HEKAtech GmbH, Wegberg, Deutschland) verbrannt werden. Die Elemente wurden stöchiometrisch nach der Reaktionsgleichung 4-4 umgesetzt (engl. *flash combustion*). Zinn oxidiert dabei exotherm und ermöglicht Temperaturen bis zu 1.800 °C.



In Anwesenheit von Kupfer werden die entstandenen Stickoxide und Schwefeloxid nach Gleichung 4-5 und 4-6 zu Stickstoff und Schwefeldioxid reduziert. Der für die vollständige Verbrennung notwendige Sauerstoff wird durch Oxidation von Kupfer komplett entfernt. Flüchtige Halogenverbindungen werden durch Silberwolle am Ende des Quarzrohres zurückgehalten. Die gasförmigen Verbindungen CO_2 , H_2O , N_2 und SO_2 werden im Gaschromatographen aufgetrennt und über Wärmeleitfähigkeitsdetektoren quantifiziert. Die Biotrockenmassekonzentration konnte mit Gleichung 4-7 berechnet werden. Die Analysen wurden extern an der Fakultät für Chemie (TUM Zentralanalytik, Garching, Deutschland) durchgeführt. (HEKAtech GmbH 2018)

$$x_i = \frac{(x_{i,P} - x_{i,aT})}{(x_{i,MO} - x_{i,aT})} \quad 4-7$$

| | | |
|------------|--|---|
| x_i | Anteil des Elements i | - |
| $x_{i,P}$ | Anteil des Elements i in der unbekanntenen Probe | - |
| $x_{i,aT}$ | Anteil des Elements i im der abiotischen Träger | - |
| $x_{i,MO}$ | Anteil des Elements i im Konzentrat des Mikroorganismus (MO) | - |

4.5 Methoden zur verfahrenstechnischen Analyse

Der Mehrzweckbioreaktors wurden nach der Inbetriebnahme für die untersuchten Reaktionsbedingungen verfahrenstechnisch charakterisiert. Die wesentlichen Methoden für die verfahrenstechnische Analyse sind in diesem Abschnitt zusammengefasst:

4.5.1 Gas-Flüssig-Stofftransport

Die Geschwindigkeit des Stofftransportes kann mit dem Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_L a_{O_2}$) bei unterschiedlichen Bedingungen quantitativ beschrieben werden. Für den Rührkesselreaktor (37 °C; 0,5 M Na₂SO₄) wurde dieser mit Gleichung 4-8 abgeschätzt, welche für einen vergleichbaren Rührkesselreaktor bestimmt wurde (Puskeiler und Weuster-Botz 2005).

$$k_L a_{O_2} = 8,67 \cdot 10^{-4} \cdot \left(\frac{P}{V}\right)^{0,979} \cdot u_g^{0,4} \quad 4-8$$

| | | |
|---------------|--|-------------------|
| $k_L a_{O_2}$ | Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient für Sauerstoff | s ⁻¹ |
| P/V | Volumetrischer Leistungseintrag | W m ⁻³ |
| u_g | Gasleerrohrgeschwindigkeit | m s ⁻¹ |

Im Blasensäulenreaktor und Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf wurde der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient bei abiotischen, nicht-koaleszierenden Bedingungen in 0,5 M NaSO₄-Lösung (≥ 98.5 %, CAS7757-82-6, Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe, Deutschland) bei 37°C und einem Arbeitsvolumen von 2,5 L experimentell für Sauerstoff bestimmt (Fadavi und Chisti 2005). Der Gasvolumenstrom wurde zwischen 6,25 L h⁻¹ und 50,00 L h⁻¹ variiert. Der Reaktor wurde kontinuierlich mit Stickstoff begast, um den Gelöstsauerstoff aus der Lösung zu entfernen. Bei 0 % Luftsättigung wurde die Begasung bei konstantem Gasvolumenstrom auf Druckluft gewechselt. Die Sauerstoffkonzentration wurde an zwei unterschiedlichen Positionen im begasteten Bereich (Aufstrom) des Blasensäulenreaktors beziehungsweise des Festbettbiofilmreaktors mit innerem Umlauf mit zwei vergleichbaren Sauerstoffsonden (OIM-PSt3-D12/L120-L2.5 und OEC-PSt7-YAU-YOD, Presens GmbH, Regensburg, Deutschland) gemessen. Ihre Ansprechzeiten (t_{An}) waren 5,9 s beziehungsweise 4,5 s. Die Ansprechzeit ist jene Zeit, welche die Sonde für den Sprung von 0 % zu 90 % der Sättigungskonzentration benötigt. Die Sonden waren über einen Seitenstutzen 3,2 cm oberhalb der ringförmigen Sintermetallfritte positioniert (H: 9,3 cm). Die Berechnung des Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten wurde durch Fehlerquadratminimierung der experimentell bestimmten und mit Gleichung 4-9 erhaltenen Daten durchgeführt (Fuchs *et al.* 1971; Puskeiler und Weuster-Botz 2005).

$$\frac{c_{O_2}^* - c_{O_2}(t)}{c_{O_2}^* - c_{O_2}(0)} = \left(\frac{1}{1 - t_{An} \cdot k_L a_{O_2}}\right) \cdot \left(e^{-(t-\Delta t) \cdot k_L a_{O_2}} - t_{An} \cdot k_L a_{O_2} \cdot e^{\left(-\frac{(t-\Delta t)}{t_{An}}\right)}\right) \quad 4-9$$

| | | |
|---------------|--|---------------------|
| $c_{O_2}^*$ | Sauerstoffgelöstsättigungskonzentration | mol L ⁻¹ |
| c_{O_2} | Sauerstoffgelöstkonzentration zum Zeitpunkt t | mol L ⁻¹ |
| t_{An} | Ansprechzeit der Gelöstsauerstoffsonden | s |
| $k_L a_{O_2}$ | Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient für Sauerstoff | s ⁻¹ |
| Δt | Verzögerungsterm | s |

Der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient für Sauerstoff (k_{LaO_2}) wurde anschließend mit Gleichung 3-45 und den Diffusionskoeffizienten aus Tabelle 3.6 auf die Gase CO und H₂ umgerechnet.

4.5.2 Blasendurchmesser und Gasgehalt

Blasendurchmesser

Der Blasendurchmesser wurde abiotisch mit einer zweidimensionalen fotooptischen Sonde (SOPAT GmbH, Berlin, Deutschland) über einen gebündelten Lichtstrahl fotografisch gemessen. Eine Hochgeschwindigkeitskamera nahm dabei 20 Bilder pro Sekunde (fps, engl. *frames per second*) bei maximaler Auflösung mit einem ladungsgekoppelten Sensor (CCD, engl. *charge-coupled device*) auf. Die Belichtung erfolgte über einen 2,5-Joule-geladenen Blitz mit einer Belichtungszeit von 6,5 μ s. Die Verwendung unterschiedlicher Adapter (Spiegel, Teflon) konnte die Messleistung der fotografischen Methode verbessern (Panckow *et al.* 2015). Bei den Messungen für diese Arbeit wurde ein Spiegel im Abstand von 0,7 cm zur Messsonde verwendet. Dadurch ergab sich ein Volumen der Messzelle von etwa 0,8 mL und einem Messvolumen von etwa 0,2 mL. Die Messungen wurden bei realistischen, abiotischen Prozessbedingungen *in-situ* im begasten Bereich (*riser*) des Mehrzweckbioreaktors an der Position des Heizstabes (H: 9,3 cm) 3,2 cm oberhalb der ringförmigen Sintermetallfritte durchgeführt. Die Analysen wurden im Blasensäulenreaktor oder im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf mit den jeweiligen Prozessmedien für *C. aceticum* (30 °C, CO:N₂ 1:9 beziehungsweise CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) beziehungsweise *C. carboxidivorans* (37 °C, CO:CO₂ 4:1) bei unterschiedlichen Gasvolumenströmen ($G_{\text{ein}} = 6,25 - 50 \text{ L}^{-1}$) bei einem Arbeitsvolumen von 2,5 L durchgeführt. Die genauen Betriebsbedingungen sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst.

Nach den Messungen wurde der Blasendurchmesser der Gasblasen in den Fotoaufnahmen mit einer automatisierten Bildauswertungssoftware analysiert. Die Software konnte dabei zwischen kugelförmigen und nicht-kugelförmigen Gasblasen unterscheiden sowie die Überlappung mehrerer Gasblasen detektieren (Maaß *et al.* 2012). Eine beispielhafte Darstellung der Analyse ist in Abbildung 4.7 dargestellt.

Die Anwendung dieser Messtechnik wurde auch für industrielle Anwendungen gezeigt (Panckow *et al.* 2017). Bis zu 7.257 Partikel wurden in dieser Arbeit pro eingestellter Betriebsbedingung vermessen, um eine aussagekräftige Blasengrößenverteilung zu erhalten. Aussagekräftige Kenndaten zur Beurteilung der Verteilungen wurden wie folgt gewählt: der mittlere Blasendurchmesser bezogen auf die Menge der Blasen ($d_{B,n}$, Gleichung 4-10), der Sauter-Durchmesser ($d_{B,\text{Sauter}}$, Gleichung 4-11), die Breite der Verteilung (span, Gleichung 3-51), der maximale und der minimale Blasendurchmesser für alle ($d_{B,\text{min}}$, $d_{B,\text{max}}$) beziehungsweise 95 % aller Blasen ($d_{B,n95}$; $F_n(d_{B,n95}) = 0,95$) sowie die Verteilzeitdichte- und die Verweilzeitsummenfunktion ($E_n(d_B)$ Gleichung 3-46, $F_n(d_B)$, Gleichung 3-47 in Abschnitt 3.5.5.). Die Messungen wurden in Zusammenarbeit mit SOPAT GmbH (Berlin, Deutschland) durchgeführt.

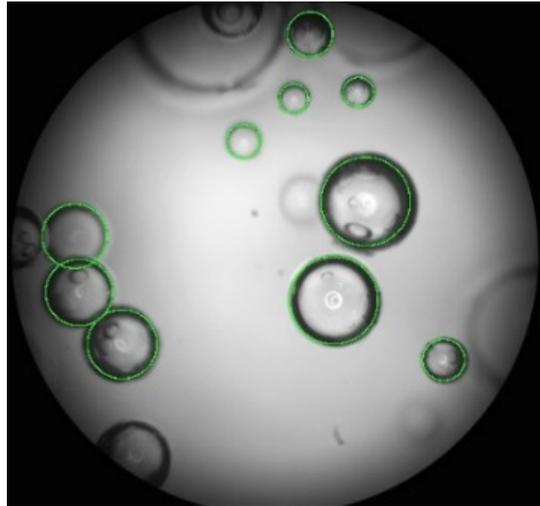


Abbildung 4.7: Beispielhafte Darstellung der Auswertung der Blasendurchmesser über eine automatisierte Bildauswertungssoftware. Die für die Auswertung herangezogenen kugelförmigen Blasen sind von der Software in grün umkreist. Das Bildmaterial wurde von der SOPAT GmbH zur Verfügung gestellt.

$$d_{B,n} = \sqrt{\int_{d_{B,\min}}^{d_{B,\max}} d_B \cdot E_n(d_B) \cdot d(d_B)} \approx \frac{\sum_{i=1}^N d_{B,i}}{n} \quad 4-10$$

| | | |
|--------------|--|--------------------|
| $d_{B,n}$ | Mittlerer anzahlbasierter Blasendurchmesser | μm |
| $d_{B,\min}$ | Minimaler Blasendurchmesser | μm |
| $d_{B,\max}$ | Maximaler Blasendurchmesser | μm |
| $E_n(d_B)$ | Verweilzeitdichte der Blasendurchmesser bezogen auf die Anzahl der Blasen bei d_B | μm^{-1} |
| n | Gesamtzahl aller gemessenen Partikel | - |

$$d_{B,\text{Sauter}} = \sqrt{\int_{d_{B,\min}}^{d_{B,\max}} d_B \cdot E_F(d_B) \cdot d(d_B)} \approx \frac{\sum_{i=1}^N d_{B,i}^3}{\sum_{i=1}^N d_{B,i}^2} \quad 4-11$$

| | | |
|-----------------------|---|--------------------|
| $d_{B,\text{Sauter}}$ | Sauter-Durchmesser | μm |
| $E_F(d_B)$ | Altersverteilung der Blasendurchmesser bezogen auf die Fläche der Blasen | μm^{-1} |

Gasgehalt

Der Gasgehalt in der Flüssigphase (φ , engl. *gas hold-up*) wurde über die Differenz des begasten und des unbegasten Flüssigvolumens in Bezug auf das begaste Flüssigvolumen im Mehrzweckbioreaktor bei Gasvolumenströmen von $6,25 \text{ L h}^{-1}$ und 50 L h^{-1} abiotisch nach Gleichung 4-12 bestimmt. Die Messungen wurden experimentell bei einem Arbeitsvolumen von $2,5 \text{ L}$ Leitungswasser bei kontinuierlicher Stickstoffbegasung durchgeführt. Das Volumen wurde über die Höhe des Flüssigkeitsspiegels für die zylindrische Form des Reaktors approximiert. Da die Reaktoreinbauten für beide Bioreaktoren unterhalb der unbegasten Flüssigkeitsoberfläche waren, konnte das umbaute Volumen vernachlässigt werden.

$$\varphi = \frac{V_G}{(V_G + V_L)} = \frac{V_t - V_L}{V_t} \approx \frac{h_g - h_{ug}}{h_g} \quad 4-12$$

| | | |
|-----------|---|----|
| φ | Gesamtgasgehalt der Flüssigphase | - |
| V_G | Volumen der Gasphase | L |
| V_L | Volumen der Flüssigphase | L |
| V_t | Gesamtvolumen | L |
| h_g | Höhe des Flüssigkeitsspiegels mit Begasung | mm |
| h_{ug} | Höhe des Flüssigkeitsspiegels ohne Begasung | mm |

4.5.3 Leistungseintrag

Der Leistungseintrag für den Rührkesselreaktor wurde mit einem Wattmeter (Digital Power Analyzer 2100, Valhalla Scientific, San Diego, USA) über die Differenz des Energieaufwands mit und ohne Flüssigkeit, bezogen auf das Flüssigkeitsvolumen, berechnet. Die Messungen wurden mit 2,0 L Leitungswasser ohne Begasung und bei einem Stickstoffgasvolumenstrom von 50 L h⁻¹ durchgeführt.

Im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf wurde der Leistungseintrag auf Basis des Blasendurchmessers abgeschätzt. Dieser wurde, wie in Abschnitt 4.5.1 beschrieben, bei unterschiedlichen Bedingungen gemessen. Die Grundlage der Berechnung ist die Annahme einer kleinen Blasensäule. Aufgrund der geringen Höhe leistet sowohl die Blasenbildungsenergie als auch die Blasenexpansionsenergie einen Beitrag. Die Berechnung erfolgte mit Gleichung 3-55 (Weuster-Botz *et al.* 2001) für die Druckdifferenz zwischen Gasein- (P_{ein}) und -ausgang (P_0) für eine Flüssigkeitshöhe über dem Begasungsorgan von $H_{\text{FB}} = 15,7$ cm gemäß Gleichung 3-56. Als nicht-koaleszierendes Medium wurde Wasser mit einer Oberflächenspannung von $\sigma(30 \text{ °C}) = 7,1 \cdot 10^{-2} \text{ N m}^{-1}$ und $\sigma(37 \text{ °C}) = 7,0 \cdot 10^{-2} \text{ N m}^{-1}$ sowie einer Dichte von $\rho_L(30 \text{ °C}) = 995,6 \text{ kg m}^{-3}$ und $\rho_L(37 \text{ °C}) = 993,3 \text{ kg m}^{-3}$ angenommen. Die mittlere Molmasse (\bar{M}) beziehungsweise Dichte ($\bar{\rho}$) der verwendeten Gasmischung wurde in Bezug auf den Volumenanteil jeder Gaskomponente mit der entsprechenden molaren Masse (M) und Dichte (ρ) aus Tabelle 4.4 additiv berechnet. Für die Erdbeschleunigung wurden $g = 9,81 \text{ m s}^{-2}$ und für die ideale Gaskonstante $R = 8,314 \text{ kJ K}^{-1} \text{ kmol}^{-1}$ angenommen.

Tabelle 4.4: Molare Masse sowie Dichte bei 30 °C beziehungsweise 37 °C der Gase CO, CO₂, H₂ und N₂ (National Institute of Standards and Technology 2017).

| | Molare Masse, kg kmol ⁻¹ | Dichte, | |
|-----------------|--|-----------------------------|-----------------------------|
| | | kg m ⁻³ 30 °C | kg m ⁻³ 37 °C |
| CO | 28,01 | 1,11 | 1,09 |
| CO ₂ | 44,00 | 1,75 | 1,71 |
| H ₂ | 2,02 | 0,08 | 0,08 |
| N ₂ | 28,01 | 1,11 | 1,09 |

4.5.4 Mischzeitcharakteristik

Die Mischzeit für eine Mischgüte von 90 % wurde mit einer am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik (TUM, Garching, Deutschland) etablierten Methode an zwei Positionen im Blasensäulenreaktor und Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf bestimmt.

Zwei voneinander unabhängige Sensorstreifen mit je vier, in 5 cm Abständen versehenen, Messpunkten detektieren die Salzkonzentration mit einer Abtastfrequenz von $7\text{-}9\text{ s}^{-1}$ mit einer Ansprechzeit von $723\text{ }\mu\text{s} \pm 10\text{ }\mu\text{s}$ (Severin *et al.* 2017). Die Sensoren wurden in der Reaktorbasis unterhalb der ringförmigen Sintermetallfritte und im oberen Bereich des Aufstroms positioniert (Abbildung 4.8). 15 mL einer 280 g L^{-1} NaCl-Lösung (zur Analyse, CAS7647-14-5, Labochem International, neoFroxx GmbH, Einhausen, Deutschland) wurden in die Mitte des Leitrohres des Blasensäulen- beziehungsweise Festbettbiofilmreaktors einmalig als Dirac-Impuls zugegeben. Die Aufzeichnung startete in demselben Moment.

Die Berechnung der Mischgüte erfolgte nach Gleichung 3-57 (Chmiel 2011). Die Mischzeit (θ_{90}) ist als jene Zeit definiert, in der die Konzentration im Reaktor maximal $\pm 10\%$ von der NaCl-Gleichgewichtskonzentration abweicht. Die Messungen wurden für Gasvolumenströme zwischen $6,25\text{ L h}^{-1}$ und 50 L h^{-1} Stickstoff und bei einem Arbeitsvolumen von $2,5\text{ L}$ Leitungswasser im Blasensäulenreaktor und im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf durchgeführt. Die Drehzahl des Sechs-Blatt-Scheibenrührers in der Reaktorbasis wurde auf 25 U min^{-1} eingestellt.

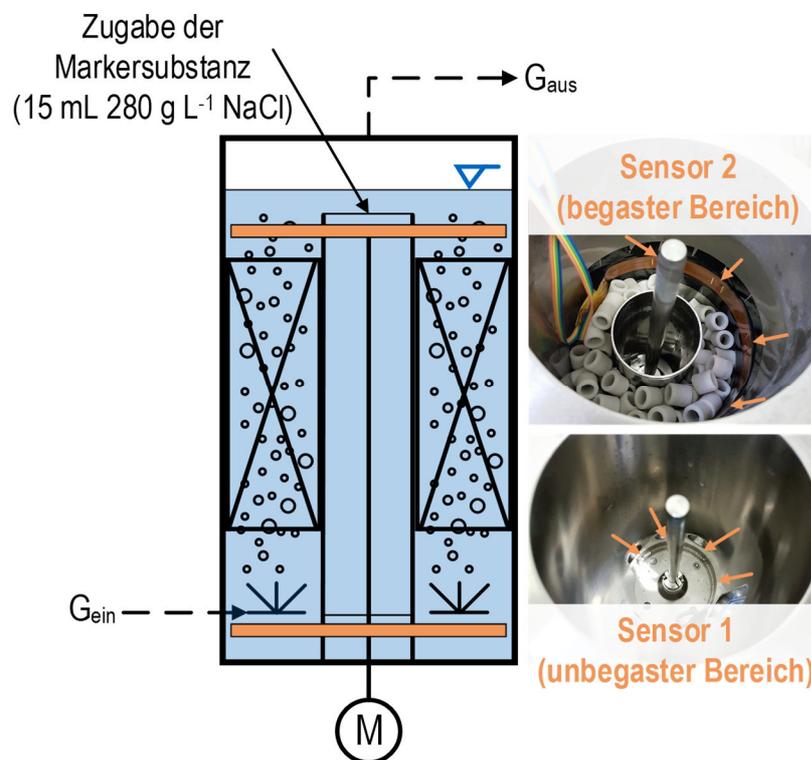


Abbildung 4.8: Schematische Darstellung des Experimentalaufbaus zur Bestimmung der Mischzeit am Beispiel des Festbettbiofilmreaktors. Die orangefarbenen Balken zeigen die Positionen der Sensorstreifen und die Pfeile zeigen die voneinander unabhängigen Messpunkte.

Mischzeituntersuchungen im Rührkesselreaktor (2 L Leitungswasser) wurden mit einer Leitfähigkeitssonde (LF 313T IDS, SI Analytics, Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG, Weilheim, Deutschland) im Seitenstutzen mit der Zugabe von 1 mL 3 M KCl an der Flüssigkeitsoberfläche durchgeführt. Die Ansprechzeit der Sonde war 5-6 s und die Messfrequenz 1 s^{-1} .

4.5.5 Charakterisierung des Rieselbettbiofilmreaktors

Grad der Benetzung im Rieselbettbiofilmreaktor

Das Prinzip des Flüssigkeitsverteilers des Rieselbettbiofilmreaktors ist detailliert in Abschnitt 4.1.4 beschrieben. Zur Evaluierung der Funktionalität des Verteilers wurde der Grad der Benetzung des Trägermaterials in einem Replikat des Rieselbettbiofilmreaktors qualitativ bestimmt (Abbildung 4.9).

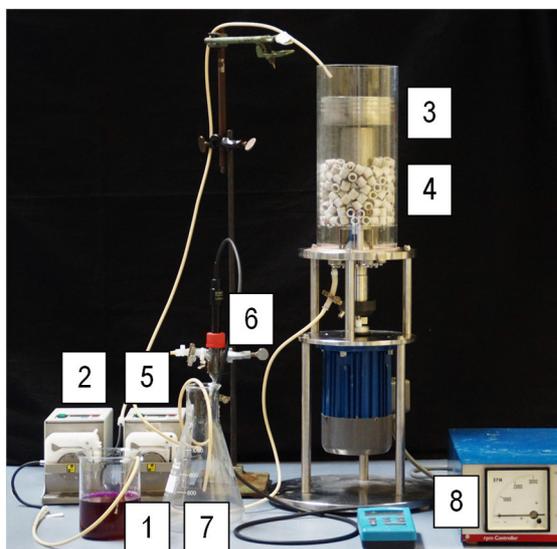


Abbildung 4.9: Fotografische Darstellung des Aufbaus des Rieselbettbiofilmreaktor-Replikats. Die Reaktorwand ist zur qualitativen, optischen Evaluierung des Grades der Benetzung mit einem Acrylglasrohr dargestellt. 1, modifiziertes Prozessmedium für Untersuchungen mit *C. acetivum* (pH ~8,0) mit Kresolrot; 2, Zulaufpumpe; 3, Flüssigkeitsverteiler; 4, abiotisches, mit Leitungswasser benetztes Trägermaterial; 5, Ablaufpumpe; 6, Flusszelle mit Leitfähigkeitssonde; 7, Ablaufbehälter; 8, Regler für das Rührwerk.

Ein modifiziertes Prozessmedium für *C. acetivum* (pH 8; exklusive Spurenelemente, Vitamine und L-Cystein Hydrochlorid) wurde mit dem Farbindikator Kresolrot (zur Analyse, CAS 1733-12-6, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) versetzt, damit die Flüssigkeit eine starke violette Färbung annimmt (1). Der Indikator lag in Lösung vor. Das Trägermaterial wurde in Leitungswasser befeuchtet. Das gefärbte Prozessmedium für *C. acetivum* wurde mit einem konstanten Volumenstrom über eine Zulaufpumpe (2) in den Flüssigkeitsverteiler (3) im Replikat befördert. Der Verteiler wurde solange gefüllt, bis der hydrostatische Druck des angesammelten Mediums die Flüssigkeit durch die Poren des Verteilers drückte. Die farbige Flüssigkeit tropfte auf das farbneutrale, feuchte Trägermaterial (4, Sera Siporax™, Sera GmbH, Heinsberg, Deutschland) und färbte dieses. Im unteren Bereich des Reaktors war anfangs eine geringe Menge Leitungswasser

vorgelegt, welche von einer Ablaufpumpe (5) kontinuierlich über eine 6,8 mL-Flusszelle mit einer Leitfähigkeitssonde (6; LF413T, Schott Instruments, SI Analytics, Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG, Weilheim, Deutschland) geführt und in einem Behälter (7) aufgefangen wurde. Das Rührwerk wurde mit einem Regler (8) auf $16-18 \text{ min}^{-1}$ eingestellt. Die Messungen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

Beim Start der Zulaufpumpe wurde eine Spiegelreflexkamera (Sony 65 Alpha, Sony Europe Limited, UK) mit einer Auslösefrequenz von 6 min^{-1} gestartet, welche die Farbänderung des Trägermaterials aufzeichnete. Die vollständige Benetzung wurde als der Zeitpunkt definiert, ab dem die Fotoaufnahmen keine Farbänderung mehr zeigten. Die Beurteilung erfolgte qualitativ.

Die illustrierte Methodik diente zusätzlich der Funktionalitätsevaluierung des Flüssigkeitsverteilers mit einer Zulaufrate (L) von 3 mL min^{-1} nach mehrtägigen Langzeitstudien mit dem Flüssigkeitsverteiler und acetogenen Mikroorganismen im Mehrzweckbioreaktor. Dabei wurde überprüft, ob die Biomasse im Reaktor die Durchströmbarkeit des Verteilers beispielsweise durch Verstopfen der Poren beeinflusst.

Verweilzeitcharakteristik

Die Verweilzeitcharakteristik des Rieselbettbiofilmreaktors wurde experimentell für das Festbett und mathematisch für das Gesamtsystem bestimmt, welches aus zwei Hauptkomponenten besteht: dem Festbett und dem Flüssigkeitsreservoir.

Die Messungen wurden im Rieselbettbiofilmreaktor-Replikat bei vier verschiedenen Flussraten bei Raumtemperatur durchgeführt. Als Vorbereitung wurde das Trägermaterial mit Leitungswasser befeuchtet und die Poren des Verteilers mit vollentsalztem Wasser benetzt: Die Zulaufpumpe pumpte das Medium mit 10 mL min^{-1} durch das Replikat bis die Leitfähigkeitsmessung in der Flusszelle konstant war (Leitfähigkeitswert des Mediums). Dies diente der gleichmäßigen Benetzung des Trägermaterials mit dem Prozessmedium. Nachdem die Pumpen (Zulauf und Ablauf) auf den Untersuchungsparameter kalibriert worden waren, wurde der Prozess für weitere 10 min kontinuierlich betrieben. Für die Verweilzeitcharakteristik wurden 15 mL einer mit Kresolrot-versetzten 280 g L^{-1} NaCl-Lösung in Form eines Dirac-Impulses in den Flüssigkeitsverteiler gegeben. Die Änderung der Leitfähigkeit wurde mit einer Messfrequenz von 12 min^{-1} so lange dokumentiert bis sie den ursprünglichen Wert des Mediums wieder erreicht hatte. Die Messungen wurden mit und ohne Trägermaterial (300 g Sera Siporax™) durchgeführt.

Die Berechnung des Verweilzeitspektrums im Festbett erfolgte über eine Transformationsmatrix (T_M) gemäß Gleichung 4-13. Diese ist eine Umrechnungsmatrix zwischen der zu jedem Zeitpunkt t in der Flusszelle gemessenen Konzentrationen (c_z) und der Konzentrationen unmittelbar nach dem Festbett (c_{aT}). Letztere konnten aus praktischen Gründen nicht direkt gemessen werden. Die Bestimmung der Transformationsmatrix erfolgte anhand der Leitfähigkeitsmessungen ohne Trägermaterial. Dabei wurde angenommen, dass c_{aT} zum Pulszeitpunkt (t_p) gleich der Pulskonzentration und zu allen anderen Zeitpunkten t gleich Null ist. Die Verweilzeitdichtefunktion des Festbettes wurde

anschließend unter Verwendung der ermittelten Matrix und der Leitfähigkeitsmessungen mit Trägermaterial anhand Gleichung 4-13 näherungsweise berechnet.

$$c_{aT} = T_M \cdot c_Z \quad 4-13$$

| | | |
|----------|--|------------|
| c_{aT} | Konzentrationsvektor unmittelbar nach dem Festbett für alle Zeitpunkte t | $g L^{-1}$ |
| T_M | Transformationsmatrix | - |
| c_Z | Gemessener Konzentrationsvektor in der Flusszelle für alle Zeitpunkte t | $g L^{-1}$ |

Die Verweilzeitcharakteristik des Gesamtsystems wurde auf Basis der Verweilzeitdichtefunktion des Festbettes erstellt: Anhand dieses Spektrums ist die Menge des Analyten, die das Flüssigkeitsreservoir zum Zeitpunkt t erreicht, bekannt. Durch den Sechsstufigen Scheibenrührer im Flüssigkeitsreservoir bei 16-18 U min⁻¹ und den sehr geringen Flussraten wird von einer idealen Rückvermischung (CSTR) ausgegangen. Die Verteilung der ankommenden Menge Analyt wurde im Intervall von 5 s nach Gleichung 3-67 additiv über die Zeit berechnet.

Die mittlere hydraulische Verweilzeit (\bar{t}) wurde basierend auf Gleichung 3-38, näherungsweise nach Gleichung 4-14 bestimmt (Levenspiel 1999).

$$\bar{t} \approx \frac{\sum_i t_i \cdot c_i \cdot \Delta t_i}{\sum_i c_i \cdot \Delta t_i} \quad 4-14$$

Als Kontrolle konnte die mittlere hydraulische Verweilzeit als der Zeitpunkt bestimmt werden, an dem die Fläche der Verweilzeitsummenfunktionen nach Gleichung 4-15 gleich sind.

$$\int_0^{\bar{t}} F(t) \cdot dt = \int_{\bar{t}}^{\infty} (1 - F(t)) \cdot dt \quad 4-15$$

Die Bodensteinzahl wurde durch Fehlerquadratminimierung von Gleichung 4-16 berechnet. Gleichung 4-16 ist für geringe Bodensteinzahlen ($Bo < 100$) und für offene oder geschlossene Systeme bei definierten Randbedingungen gültig. Diese geben vor, dass bis zum Eingang und ab dem Ausgang des geschlossenen Systems Pfropfenströmung herrschen muss. Bei offenen Systemen wird ungestörtes Strömungsverhalten beim Eingang beziehungsweise Ausgang der Strömung vorausgesetzt (Levenspiel 1999).

$$E(\Theta) = \frac{1}{2} \cdot \sqrt{\frac{Bo}{\pi}} \cdot e^{-Bo \cdot \frac{(1-\Theta)^2}{4\Theta}} \quad 4-16$$

4.6 Methoden zur Prozessanalytik

Zur Beurteilung der chemolithautotrophen Umsetzung von Synthesegas durch acetogene Mikroorganismen wurden wenige Milliliter der Biosuspension aus den Anaerobflaschen beziehungsweise dem Reaktor entnommen und aufbereitet. Die Methoden zur Prozessanalytik werden im folgenden Kapitel erklärt.

4.6.1 Biotrockenmassebestimmung

Zur Biotrockenmassebestimmung wurde die optische Dichte der Biosuspension bei einer Wellenlänge von 600 nm (OD_{600}) im Einstrahlphotometer (Genesys 10S UV-VIS, Thermo Fisher Scientific, Neuss, Deutschland) gemessen. Diese korreliert bis zu einem Wert von 0,3 über einen konstanten, stamm-spezifischen Faktor (f_i) nach Gleichung 4-17 linear mit der Biotrockenmassekonzentration (BTM). Für höhere Zelldichten wurde die Probe mit einer 1:10-phosphatgepufferten Salzlösung (PBS) im entsprechenden Verhältnis verdünnt.

$$BTM = f_{MO} \cdot OD_{600} \quad 4-17$$

| | | |
|------------|--|--------------------------|
| BTM | Biotrockenmassekonzentration | $g L^{-1}$ |
| f_{MO} | Stammspezifischer OD_{600} -BTM Korrelationsfaktor | $g L^{-1} OD_{600}^{-1}$ |
| OD_{600} | Optische Dichte bei 600 nm | - |

Der Korrelationsfaktor f_i wurde individuell für *C. aceticum* ($f_{CA} = 0,57 g L^{-1} OD^{-1}$) und *C. carboxidivorans* ($f_{CC} = 0,48 g L^{-1} OD^{-1}$) von Alexander Mayer beziehungsweise Kathrin Doll (Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik, TUM, Garching, Deutschland) bestimmt (Mayer und Weuster-Botz 2017; Doll *et al.* 2018).

4.6.2 Produktquantifizierung mittels HPLC-Analytik

Die in den chemolithoautotrophen Prozessen produzierten Metabolite (Acetat, Ethanol, Butyrat, Butanol, Hexanoat und Hexanol) konnten mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) quantifiziert werden. Die suspendierten Zellen wurden mit einem Filter (Spritzenvorsatzfilter, Chromafil RC-20/15 MS, 0,2 μm , Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) aus der Probe entfernt, das Filtrat in eine Rollrandlasche (N11, flacher Boden, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) überführt und mit einer Aluminiumkappe mit Septum (N11 Aluminium Bördelkappe, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) gasdicht verschlossen. Weitere 900 μL Filtrat wurden in einem gasdichten Mikrozentrifugiergefäß (Eppendorf safe-lock microcentrifuge tubes, 1,5 mL, polypropylene, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) mit gasdichtem Verschluss (engl. *safe-lock*) für die Hexanolaufbereitung überführt. Bis zur Weiterverarbeitung beziehungsweise Vermessung wurden alle Proben bei 4 °C gelagert. Für die

Hexanolaufbereitung wurden 900 μL des Filtrats mit 300 μL Ethylacetat ($\geq 99.5\%$, CAS147-78-8, Carl Roth GmbH+Co.KG, Karlsruhe, Deutschland) in einer Schwingmühle (MM200, Retsch GmbH, Haan, Deutschland) extrahiert. Die organische Phase wurde in eine Rollrandflasche mit Mikroinsatz (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) überführt und bis zur Messung bei 4 °C gelagert.

Die Proben wurden in einem HPLC-System (Finnigan Suerveyor, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) mit einer Vorsäule (Micro-Guard Cation H Cartridge, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) und gekoppelter Ionenaustauschchromatographiesäule (Aminex-HPX-87H, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) und einem Brechungsindex-Detektor (engl. *refractive index (RI)*, Finnigan Suerveyor RI Plus Detector, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) für maximal 120 min vermessen. Als Injektionsvolumen wurden 10 μL gewählt. Die Säulentemperatur wurde über einen Säulenofen (Thermostat, Jetstream 5-85 °C, Knauer Wissenschaftliche Geräte GmbH, Berlin, Deutschland) je nach Produktspektrum auf 60 °C (Acetat, Ethanol) beziehungsweise 40 °C (längerkettige Säuren und Alkohole) bei einer Flussrate von 0,6 mL min^{-1} 5 mM H_2SO_4 eingestellt. Mittels externer Standards wurde eine Kalibriergerade für die Auswertung der Chromatogramme erstellt.

4.6.3 Gasaufnahme und -umsatzbestimmung mittels Abgasanalytik

Zur Beurteilung chemolithoautotropher Prozesse war der Eingangsvolumenstrom der unterschiedlichen Gase bekannt. Der Abgasvolumenstrom konnte über die Abgasanalytik quantifiziert werden:

Das Abgas strömte vom Reaktor über eine Flasche mit Trocknungsmittel und einen Sterilfilter zu einem Massendurchflussmesser (MFM), der den Gesamtgasvolumenstrom misst. Da der Massendurchflussmesser nur auf ein Gas oder eine Gasmischung kalibriert sein kann, sich die Zusammensetzung aber durch den Verbrauch der Bakterien ändert, muss der gemessene Ausgangsgasvolumenstrom anhand eines Mischgaskoeffizienten (f_{MGK}) nach Gleichung 4-18 umgerechnet werden.

$$\dot{V}_{\text{Abgas}} = \dot{V}_{\text{MFM}} \cdot f_{\text{MGK}} \quad 4-18$$

| | | |
|--------------------------|---|-------------------|
| \dot{V}_{Abgas} | Tatsächlicher Gasvolumenstrom des Mischgases im Abgas | L h^{-1} |
| \dot{V}_{MFM} | Mittels MFM gemessener Gasvolumenstrom im Abgas | L h^{-1} |
| f_{MGK} | Mischgaskonversionsfaktor der Gaszusammensetzung | - |

Der Mischgaskoeffizient (f_{MGK}) wurde über den Anteil des Gases i (x_i) und den Gaskonversionsfaktor (f_i) für alle Gase i nach Gleichung 4-19 berechnet. Der Gaskonversionsfaktor wurde über die Steigung einer Kalibriergerade für verschiedene Gasvolumenströme des reinen Gases i im Massendurchflussmesser empirisch bestimmt.

$$f_{\text{MGK}} = \frac{1}{\sum x_i \cdot f_{K,i}^{-1}} \quad 4-19$$

| | | |
|-----------|--|---|
| x_i | Anteil des Gases i in der Gasmischung | - |
| $f_{K,i}$ | Gaskonversionsfaktor des Gases i für den MFM | - |

Die Gaszusammensetzung wurde mittels eines Mikro-Gaschromatographen (490 Micro GC, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) im 10-Minuten-Takt vermessen. Die chromatographische Trennung erfolgte über eine 1m Cox HI-Säule bei 80 °C und wurde mit Thermalleitfähigkeitsdetektoren (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) auf den Gehalt analysiert. Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte über eine Kalibrierung am Ende der Untersuchungen durch eine Kurzschlusschaltung des Eingangs- und Ausgangsgasvolumenstroms bei unterschiedlichen Gaszusammensetzungen. Eine Kalibriergerade ermöglichte die Korrelation der Peakflächen und der Gasanteile.

Zur Berechnung des Partialdruckes eines Gases i wurde der Volumengasanteil (x_i) mit dem Gesamtdruck (P) unter der Annahme idealer Gase nach Gleichung 3-36 multipliziert. Zur Bestimmung der Gasaufnahme (r_G) und -umsatzrate (χ_i) wurde das ideale Gasgesetz verwendet (Gleichung 4-20 und 4-21).

Gasaufnahme:
$$r_G = \frac{(\dot{V}_{G,\text{ein}} \cdot x_{i,\text{ein}} - \dot{V}_{G,\text{aus}} \cdot x_{i,\text{aus}})}{V_R} \cdot \frac{P}{R \cdot T} \quad 4-20$$

Gasumsatz:
$$\chi_i = \frac{r_G}{\frac{(\dot{V}_{G,\text{ein}} \cdot x_{i,\text{ein}})}{V_R} \cdot \frac{P}{R \cdot T}} \quad 4-21$$

| | | |
|------------------------------|---|---|
| r_G | Volumetrische Aufnahme­rate des Gases G | mol L ⁻¹ h ⁻¹ |
| $\dot{V}_{G,\text{ein/aus}}$ | Tatsächlicher Eingangs- /Ausgangsgasvolumenstrom | L h ⁻¹ |
| P | Gesamtdruck | bar |
| R | Ideale Gaskonstante | 0,08314 L bar K ⁻¹ mol ⁻¹ |
| χ_i | Gasumsatz | - |

Durch die Definition der volumetrischen Aufnahme­rate (r_G) der Gase G (CO, CO₂ und H₂) nach Gleichung 4-20 entsprechen positive Werte der Gasaufnahme­rate, während negative Aufnahme­raten nur durch die Bildung der Gase entstehen können und in dieser Arbeit als Bildungs­raten bezeichnet werden.

5 Gestaltung und Charakterisierung des Mehrzweckbioreaktors²

Der Mehrzweckbioreaktor ermöglicht den Betrieb eines konventionellen Rührkesselreaktors und drei weiterer Laborreaktoren. Folgende vier Ausführungen sind möglich:

- i. Rührkesselreaktor (STR; engl. *stirred-tank bioreactor*)
- ii. Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (GLR; engl. *gas-lift bioreactor*)
- iii. Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf (PBR; engl. *packed-bed biofilm reactor*)
- iv. Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom (TBR; *trickle-bed biofilm reactor*)

5.1 Gestaltung des Mehrzweckbioreaktors

5.1.1 Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf

Für eine optimale Nutzung des Volumens des zylinderförmigen Reaktors wurde das Prinzip des inneren Umlaufs mit einem Leitrohr gewählt (siehe Abbildung 4.2 B-I). Dafür wurde ein Edelstahlzylinder um die Rührwelle des Rührkesselreaktors konzentrisch zum Reaktorumfang eingebaut. Das Innere des Zylinders formte den Abstrom, der äußere Bereich den Aufstrom. Das begaste Volumen sollte möglichst groß sein. Die Rührwelle des Mehrzweckbioreaktors sollte nicht ausgebaut werden, um bei Bedarf eine Anwendung radialer oder axialer Rührer für die Unterstützung der Homogenisierung beziehungsweise die Beschleunigung des Flüssigkeitsstroms zu ermöglichen. Der minimale Innendurchmesser des Leitrohres wurde unter Berücksichtigung dieser Anwendungen gewählt. Für eine gute Gasversorgung und ausreichend schnelle Flüssigkeitszirkulation wurde das Flächenverhältnis der Querschnittsflächen des Aufstroms (A_r) und des Abstroms (A_d) aus Konstruktionsgründen mit 3,68 gewählt.

Die Begasung erfolgte im Aufstrom mit einer ringförmigen Sintermetallfritte mit einer Porosität von 31 % und einer mittleren Porengröße (MFP, engl. *mean flow pore size*) von 1,2 μm , um möglichst kleine Gasblasendurchmesser gleichmäßig über den Aufstromquerschnitt zu generieren. Untersuchungen zum Begasungsprofil der maßangefertigten Begasungseinheit mit Stickstoff bei einer vergleichbaren Wassersäule wie im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf, in einem mit Leitungswasser gefüllten 10-Liter-Becherglas zeigten eine gleichmäßige Begasung für Gasvolumenströme größer und

² Teile dieses Kapitels sind publiziert in: Riegler P, Chrusciel T, Mayer A, Doll K, Weuster-Botz D (2019): Reversible retrofitting of a stirred-tank bioreactor for gas-lift operation to perform synthesis gas fermentation studies. *Biochemical Engineering Journal*, 2019, 141:89–101. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.09.021>

gleich $6,25 \text{ L h}^{-1}$. Die Beurteilung erfolgte qualitativ. Fotoaufnahmen sind exemplarisch in Abbildung 5.1 gezeigt.

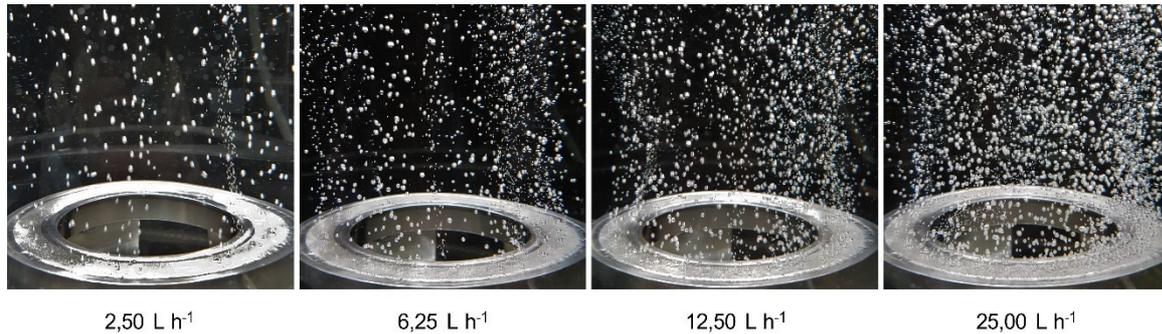


Abbildung 5.1: Begasungshomogenität der ringförmigen Sintermetallfritte mit reinem Stickstoff in Leitungswasser im 10-Liter-Becherglas bei unterschiedlichen Gasvolumenströmen.

Die ringförmige Sintermetallfritte wurde im äußeren Bereich des Edelstahlzylinders auf einer Lochplatte (Bohrungen: AD: 0,8 cm) in einer Höhe von 46 mm positioniert, um ausreichend Platz für mögliche Sensorik (T, pH) zu haben. Der Durchmesser der Lochplatte wurde identisch mit dem Reaktordurchmesser gewählt. Dadurch wurde das Leitrohr über die Reaktorwand im Reaktor fixiert. Die Flüssigkeitszirkulation konnte durch die Lochplatte erfolgen. Die ringförmige Sintermetallfritte belegte 72 % der Querschnittsfläche des Aufstroms, wodurch in 28 % dieser Fläche die Flüssigkeitszirkulation möglich war. Die Kontaktfläche der ringförmigen Sintermetallfritte zur Begasung betrug $28,8 \text{ cm}^2$. Dies entsprach 32 % der Aufstrom-Querschnittsfläche.

Das Arbeitsvolumen wurde mit 2,5 L gewählt um ein ausreichend großes Kopfraumvolumen zu ermöglichen. Die Höhe des Leitrohres wurde 18 mm unterhalb des Flüssigkeitsspiegels definiert ($H_{LR} = 20 \text{ cm}$), um ausreichend Volumen ($\sim 221 \text{ mL}$) für Probenahmen zur *offline*-Prozessanalytik zu haben.

Die Temperaturregelung im Rührkesselreaktor erfolgte mittels eines Heiz- und eines Kühlstabes. Der Wärmeaustausch war durch die ideale Rückvermischung im Rührkesselreaktor zufriedenstellend und zeigte keine negativen Effekte. Im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf kam es zum unmittelbaren Zelltod am Heizstab. Abbildung 5.2 A1 zeigt eine fotografische Aufnahme adsorbierter Bakterien nach einem Satzprozess bei Standardbedingungen mit *C. carboxidivorans* (Daten nicht gezeigt). Das Phänomen wird im Vergleich zum Rührkesselreaktor mit der Hypothese von geringeren Flüssigkeitsgeschwindigkeiten erklärt, wodurch die lokalen Temperaturspitzen in der Nähe des Heizstabes zum Zelltod führen. Zur Lösung dieses Problems wurde die Suspension nachfolgend nur mit einem speziell angefertigten Heizmantel über die Reaktorwand des Stahlkessels schonend temperiert.

Erste autotrophe Satzprozesse ($V_R = 2,5 \text{ L}$; $37 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH}_0 6$; 1 bar ; $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}:\text{CO}_2 4:1$) ohne pH-Kontrolle mit *C. carboxidivorans* zeigten zunächst massiven Zellaustrag an der Flüssigkeitsoberfläche des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf, der deutlich an den Biomasserückständen im Kopfraum des Reaktors (A2) und der geringen optischen Dichte (OD_{600}) der Zellsuspension (B) zu erkennen war (Abbildung

5.2). Eine mögliche Erklärung bietet der Mechanismus des Gasblasenaustritts aus der Flüssigkeit (siehe Abschnitt 3.5.2). Die Gasblasen steigen auf, ein dünner Flüssigkeitsfilm bildet sich am Scheitel der Gasblase und reißt bei einer kritischen Filmdicke. Die Gasblase tritt aus der Flüssigkeit. Die Flüssigkeit aber wird in zwei entgegengesetzte Richtungen der Vertikalen beschleunigt und erzeugt einen Flüssigkeitsstrahl mit hoher Energie. Es ist möglich, dass dieser Flüssigkeitsstrahl den Zellaustrag an der Flüssigkeitsoberfläche verursacht hat.

Zur Beseitigung dieses Phänomens wurde eine Lochplatte aus rostfreiem Edelstahl (Bohrungen: AD: 0,8 cm) mit dem Durchmesser des Reaktorquerschnitts direkt oberhalb der Flüssigkeitsoberfläche positioniert. Ein Vergleich desselben Satzprozesses mit und ohne Lochplatte an der Flüssigkeitsoberfläche und mit der Verwendung des Heizmantels anstatt des Heizstabes bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5 \text{ L}$; 37 °C ; $\text{pH}_0 6$; $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}:\text{CO}_2 4:1$) ohne pH-Kontrolle mit *C. carboxidivorans* zeigte vernachlässigbaren Zellaustrag im Kopfraum (Abbildung 5.2 A3). Der Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}) in Abbildung 5.2 B zeigt die charakteristische Wachstumskurve von Bakterien (siehe Abbildung 3.19), weshalb davon ausgegangen wird, dass das Problem behoben wurde.

Die Vermeidung des Zellaustrags mit der Lochplatte könnte damit erklärt werden, dass die Fläche für den Zellaustrag durch die Löcher deutlich verringert war. Eine zusätzliche Erklärung könnte die temporäre Anlagerung ausgetragener Biomasse an der Lochplatte und ein darauffolgendes Abwaschen dieser Biomasse durch die abtropfende Flüssigkeit sein. Die Verwendung der Lochplatte ist kostengünstig sowie nicht-invasiv und wurde im Rahmen dieser Arbeit für die Untersuchungen im Mehrzweckbioreaktor verwendet.

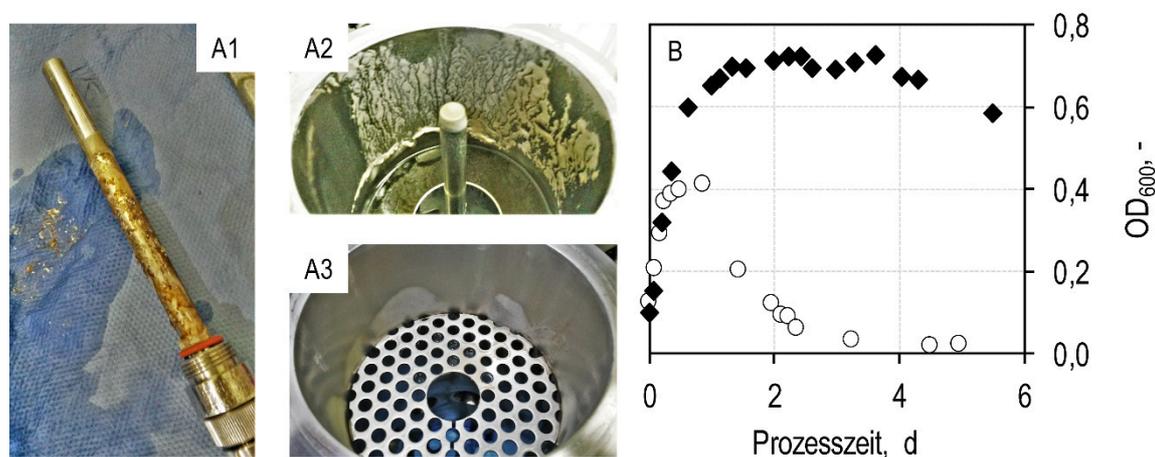


Abbildung 5.2: Exemplarische Darstellung aufgetretener Komplikationen bei der Inbetriebnahme des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf am Beispiel eines Satzprozesses mit *C. carboxidivorans* ($V_R = 2,5 \text{ L}$; 37 °C ; $\text{pH}_0 6$; 1 bar ; $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}:\text{CO}_2 4:1$) ohne pH-Kontrolle: A1, Heizstab mit adsorbierter Biomasse; A2, Kopfraum nach einem Satzprozess ohne Lochplatte; A3, Kopfraum nach einem Satzprozess mit Lochplatte; B, Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}) über die Prozesszeit im Satzprozess mit (◆) und ohne (○) Lochplatte.

Um die Homogenisierung im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf zu charakterisieren, wurden simultane Mischzeituntersuchungen nach Abschnitt 4.5.4 im oberen Bereich des Aufstroms (A, Aufstrom) und im unteren Bereich des Abstroms (B, Totraum) bei

unterschiedlichen N_2 -Begasungsraten ($2,5\text{-}20\text{ L L}^{-1}\text{ h}^{-1}$) mit Leitungswasser bei Raumtemperatur durchgeführt. Qualitätskriterium war eine Mischgüte von 90 %. Der zeitliche Verlauf der Mischgüte ist beispielhaft für einen N_2 -Gasvolumenstrom von $12,5\text{ L h}^{-1}$ ($5\text{ L L}^{-1}\text{ h}^{-1}$) in Abbildung 5.3 dargestellt (schwarz).

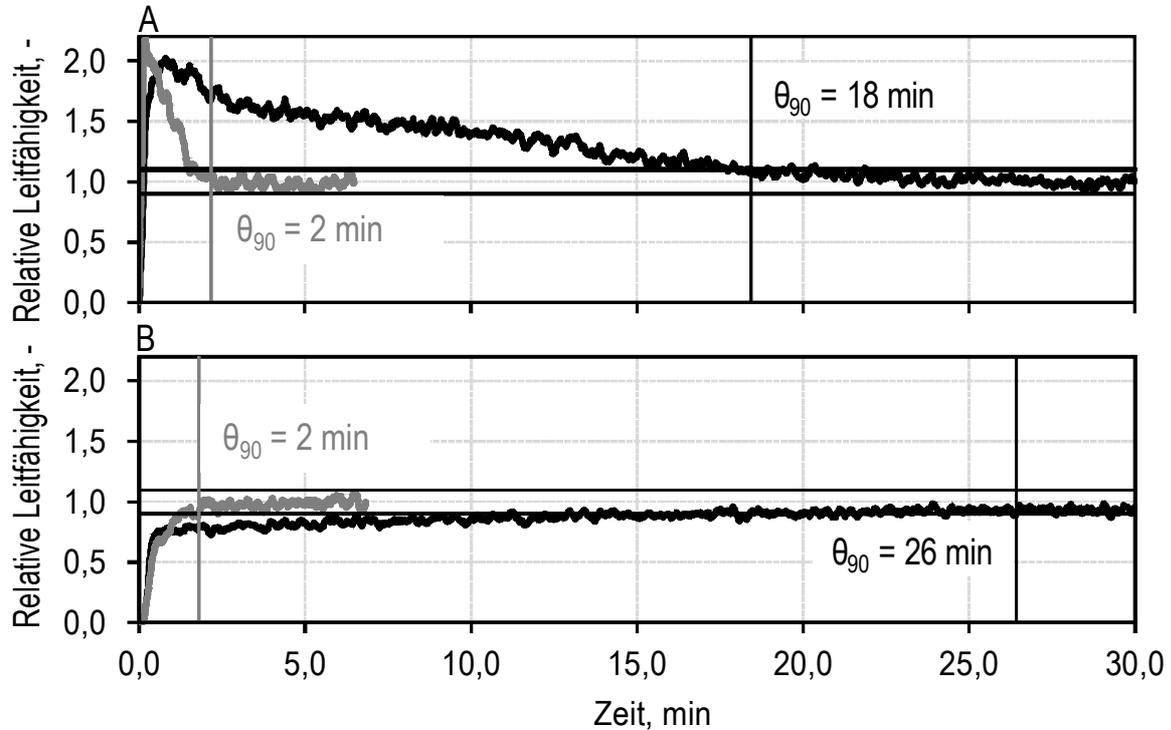


Abbildung 5.3: Zeitlicher Verlauf der relativen Leitfähigkeit im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf mit kontinuierlicher Stickstoffbegasung bei $12,5\text{ L h}^{-1}$ ($5\text{ L L}^{-1}\text{ h}^{-1}$) in $2,5\text{ L}$ Leitungswasser ohne (schwarz) und mit (grau) unterstützter Durchmischung am Boden des Reaktors (Totraumvolumen: $V_{TR} = 0,47\text{ L}$) durch einen Sechs-Blatt-Scheibenrührer ($N = 25\text{ U min}^{-1}$). $T \sim 18\text{ }^\circ\text{C}$. Puls: $15\text{ mL } 280\text{ g L}^{-1}\text{ NaCl}$ -Lösung. A, Messdaten der Sonde im oberen Bereich des Aufstroms; B, Messdaten in der Basis des Blasensäulenreaktors (Totraum). Die Vertikalen zeigen die Mischzeit bei einer Mischgüte von 90 % (θ_{90}), die Horizontalen die obere (1,1) und die untere (0,9) Grenze der gewünschten Mischgüte.

Alle Messungen zeigten einen schnellen Anstieg der relativen Leitfähigkeit nach der Zugabe der Markiersubstanz ($15\text{ mL } 280\text{ g L}^{-1}\text{ NaCl}$) in beiden Bereichen des Blasensäulenreaktors. Eine Mischgüte von 90 % wurde bei $12,5\text{ L h}^{-1}$ erst nach 18 min im Aufstrom beziehungsweise nach 26 min im Totraum erreicht. Als Grund wurde eine ungleichmäßige Durchmischung im Totraum (V_{TR}) unterhalb des Aufstroms des Blasensäulenreaktors vermutet (siehe Abbildung 5.4). Um diese Inhomogenitätseffekte zu minimieren, wurde ein radialfördernder Sechs-Blatt-Scheibenrührer (Typ Rushton, Dimensionen siehe Abbildung A.4 im Anhang) im Totraumvolumen an der Rührwelle auf einer Höhe von $3,3\text{ cm}$ positioniert (siehe Abbildung 5.4) und bei weiteren Mischzeituntersuchungen mit 25 U min^{-1} , 50 U min^{-1} und 100 U min^{-1} betrieben. Die Ergebnisse für 25 U min^{-1} sind beispielhaft in Abbildung 5.3 dargestellt (grau). Die Untersuchungen bei $5,0\text{ L L}^{-1}\text{ h}^{-1}$ mit 25 U min^{-1} zeigten geringere Mischzeiten von etwa 2 min. Diese waren im Aufstrom und in der Basis des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf vergleichbar. Die Daten der Mischzeituntersuchungen bei N_2 -Gasvolumenströmen von $2,5\text{-}20,0\text{ L L}^{-1}\text{ h}^{-1}$

zeigten einen vergleichbaren Einfluss des Sechs-Blatt-Scheibenrührers auf die Homogenisierung im Blasensäulen- sowie Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf. Aufgrund dieser Messdaten wurden in dieser Arbeit alle Experimente im Blasensäulen- sowie Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf mit dem Sechs-Blatt-Scheibenrührer in der Reaktorbasis bei 25 U min^{-1} durchgeführt. Die Verwendung des Rührers war nicht leistungseintragsrelevant (Daten nicht gezeigt).

Nach allen Änderungen bei der Gestaltung des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf wurde das Volumen der ergänzten Reaktoreinbauten (aus Abschnitt 4.1.2) mit 171 mL bestimmt. Die Reaktoreinbauten des Rührkesselreaktors (Strömungsbrecher, Begasungsrohr, Heizstab, Kühlstab, Temperatursensor und pH-Sonde) haben im Vergleich dazu ein Volumen von 55 mL.

Alle Spezifikationen des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf sind in Tabelle 5.1 zusammengefasst und schematisch in Abbildung 5.4 dargestellt.

Tabelle 5.1: Zusammenfassung der Spezifikationen des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf.

| Mehrzweckbioreaktor | | | |
|---|--|-------------------|-------|
| H_R | Reaktorhöhe | cm | 30,00 |
| ID_R | Reaktordurchmesser | cm | 12,50 |
| H_R/ID_R | Höhe-Durchmesser-Verhältnis | - | 2,40 |
| | Reaktorvolumen | L | 3,68 |
| Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf | | | |
| V_R | Arbeitsvolumen | L | 2,50 |
| V_r | Volumen im Aufstrom (begast) | L | 1,57 |
| V_d | Volumen im Abstrom (unbegast) | L | 0,46 |
| V_{TR} | Totraumvolumen (unbegast) | L | 0,47 |
| H_{LR} | Höhe des Leitrohres | cm | 20,00 |
| H_L | Höhe des Flüssigkeitsspiegel | cm | 21,77 |
| H_{FB} | Höhe des Flüssigkeitsspiegel über der Begasungseinheit | cm | 15,67 |
| $H_{\ddot{O}}$ | Höhe der Öffnungen des Leitrohres | cm | 4,30 |
| $H_{R\ddot{U}}$ | Höhe des Sechs-Blatt-Scheibenrührers | cm | 3,30 |
| A_r | Querschnittsfläche des Aufstroms | cm ² | 94,16 |
| A_d | Querschnittsfläche des Abstroms | cm ² | 25,61 |
| | A_r - A_d -Verhältnis | - | 3,68 |
| A_{SMF} | Querschnittsfläche der Sintermetallfritte | cm ² | 67,50 |
| A_{BF} | Begasungsfläche der Sintermetallfritte | cm ² | 29,85 |
| | A_{BF} - A_r -Verhältnis | - | 0,32 |
| A_L | Durchströmbare Querschnittsfläche des Aufstroms | cm ² | 26,66 |
| | Minimale Begasungsrate | L h ⁻¹ | 6,25 |
| | Volumen der Reaktoreinbauten | L | 0,17 |

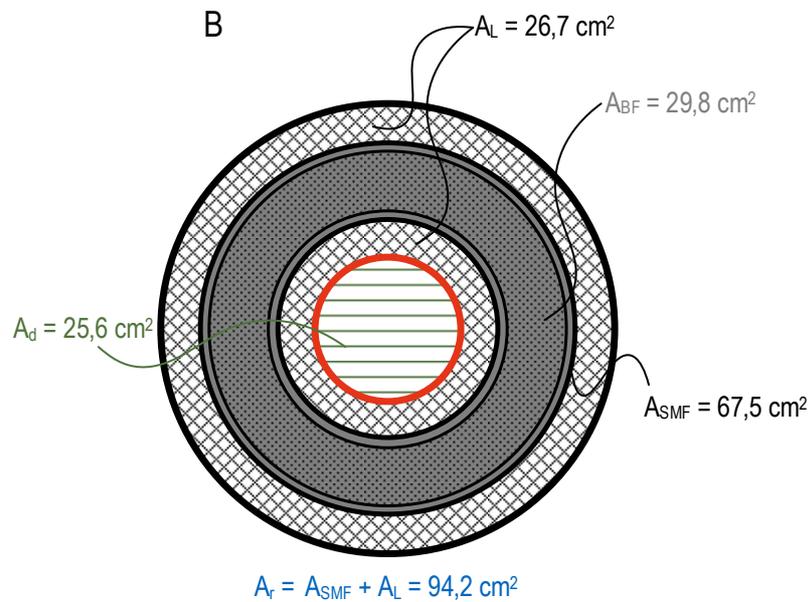
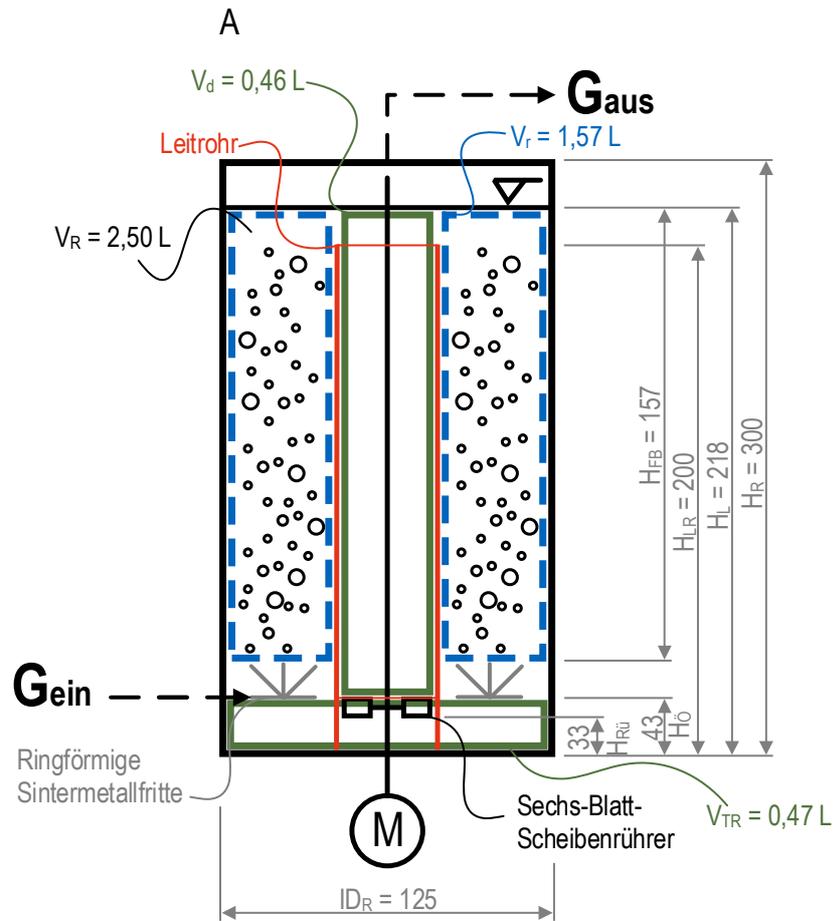


Abbildung 5.4: Schematische Darstellung der Spezifikationen des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf im vertikalen (A) und horizontalen Querschnitt (B). Die Abkürzungen sind im Detail in Tabelle 5.1 aufgelistet. Höhenmessungen sind in Millimeter angegeben.

5.1.2 Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf

Die Grundlage für den Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf bietet der Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf. Der Umbau erfolgte, wie in Abschnitt 4.1.3 beschrieben, durch den Einsatz von 300 g Trägermaterial.

Untersuchungen zur Eignung verschiedener Trägermaterialien

Die Eignung verschiedener Trägermaterialien (Sera Siporax™, Sera Biopor™, Fluval BioMax™ und Eheim Substrat Pro™) für die Untersuchungen der acetogenen Mikroorganismen *Clostridium aceticum* und *Clostridium carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf wurde in Voruntersuchungen in Anaerobflaschen im Satzverfahren im Parallelansatz überprüft (siehe Abschnitt 4.2.4). Details zu den unterschiedlichen Formen und Materialeigenschaften der potentiellen Trägermaterialien sind in Abschnitt 4.4.1 zusammengefasst.

Als Erstes wurde der Einfluss der Trägermaterialien auf die optische Dichte (OD_{600}) und den pH über mindestens drei Tage im jeweiligen Vorkulturmedium für *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* bei 30 °C oder 37° C im Schüttelinkubator bei 100 U min⁻¹ beobachtet. Im Anschluss wurden Untersuchungen mit *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* in Anaerobflaschen im Satzverfahren bei denselben Bedingungen mit etwa 7 g Trägermaterial bei autotrophen Bedingungen und einem Druck von 2 bar durchgeführt. Die Gaszusammensetzung für *C. aceticum* wurde mit H₂:CO₂ 4:1 und für *C. carboxidivorans* mit CO:CO₂ 4:1 gewählt. Der pH des Mediums zu Beginn war pH 7,8 für Untersuchungen mit *C. aceticum* und pH 6,0 mit *C. carboxidivorans*. Die Experimente wurden mit einer initialen optischen Dichte (OD_{600}) von 0,1 gestartet. Als Referenz wurden weitere drei Flaschen ohne Trägermaterial parallel untersucht.

Der Druckabfall durch den Gasverbrauch der acetogenen Bakterien wurde bei der Annäherung des Atmosphärendrucks wieder auf die Initialbedingungen kompensiert. Zur Untersuchung der Oberfläche des Trägermaterials auf mögliche Primäradsorption der Bakterien oder Biofilmbildung wurden die Prozesse in den Anaerobflaschen zu unterschiedlichen Zeitpunkten abgebrochen, das Trägermaterial aufbereitet (Abschnitt 4.4.2) und seine Oberfläche im Rasterelektronenmikroskop analysiert (Abschnitt 4.4.3).

Die abiotischen Untersuchungen zeigten keine signifikanten Änderungen der optischen Dichte (OD_{600}) und des pH über die untersuchte Prozesszeit. Für das Material Eheim Substrat Pro™ wurden absolut höhere optische Dichten (OD_{600}) gemessen. Die anderen Materialien zeigten dieselben Werte wie der Referenzansatz (Daten nicht gezeigt).

Der Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}) bei den Untersuchungen in Anaerobflaschen mit *C. aceticum* (Abbildung 5.5) zeigte keine signifikanten Unterschiede mit Ausnahme des Materials Eheim Substrat Pro™. Die optische Dichte (OD_{600}) stieg bei den Untersuchungen mit Eheim Substrat Pro™ nach neun Tagen bis zu einem Endwert von 4,1 nach 20 Tagen an (Daten nicht gezeigt). Die qualitative Beurteilung der Suspension in der Anaerobflasche ließ erkennen, dass Eheim Substrat Pro™ in viele Einzelteile zerfallen war.

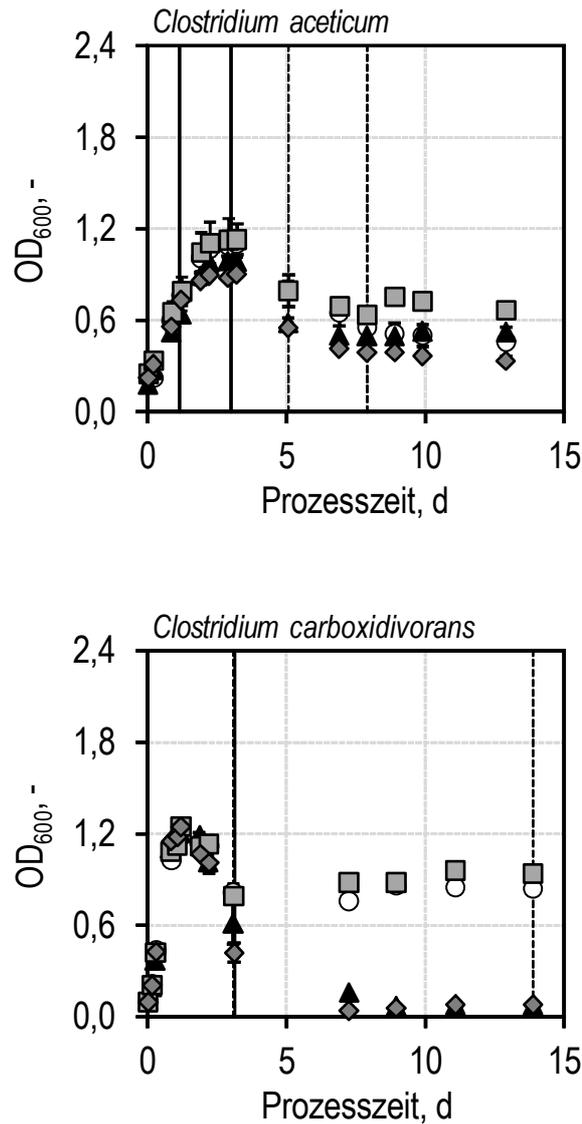


Abbildung 5.5: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}) autotropher Satzverfahren mit *C. acetivum* (oben: 30 °C; pH_0 7,8; $P_0 = 2$ bar; $H_2:CO_2$ 4:1) und *C. carboxidivorans* (unten: 37 °C; pH_0 6,0; $P_0 = 2$ bar; $CO:CO_2$ 4:1) in Anaerobflaschen im Schüttelinkubator bei 100 U min^{-1} mit unterschiedlichen Trägermaterialien: ○, Referenz (kein Trägermaterial); ▲, Sera Siporax™; ■, Sera Biopur™; ◆, Fluval BioMax™. Die vertikalen Volllinien zeigen die Zeitpunkte der Nachbegasung auf den Ausgangsdruck (P_0). Die gestrichelten Vertikalen zeigen den Zeitpunkt der Isolation von Trägermaterial aus einem der drei Ansätze.

Der Verlauf der Acetatkonzentration war für alle Ansätze mit *C. acetivum* vergleichbar mit der Referenz (Daten nicht gezeigt). Nach fünf Tagen und nach acht Tagen wurde je ein Ansatz mit Trägermaterial abgebrochen (gestrichelte Vertikale in Abbildung 5.6). Ab dem ersten Abbruch wurden keine Standardabweichungen mehr für diese Parallelansätze angegeben, da es sich dann nur noch um Zweifach- oder Einfachansätze handelte. Zweifachansätze zeigten eine gute Übereinstimmung (Daten nicht gezeigt).

Die Untersuchungen mit *C. carboxidivorans* zeigten signifikante Unterschiede im Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}) nach drei Tagen (Abbildung 5.5). In Untersuchungen mit den makroporösen Trägermaterialien Sera Siporax™ und Fluval BioMax™ wurde annähernd

die optische Dichte (OD_{600}) des abiotischen Mediums vor Inokulation erreicht. Die anderen Ansätze zeigten vergleichbar konstante Werte um 1,0. Der Verlauf der Produktkonzentrationen (Acetat, Ethanol, Butyrat und Butanol) war für alle Materialien mit Ausnahme von Eheim Substrat Pro™ vergleichbar. Untersuchungen mit Eheim Substrat Pro™ zeigten geringere Ethanol-, Butyrat- und 1-Butanolkonzentrationen (Daten nicht gezeigt). Je ein Ansatz mit Trägermaterial wurde nach drei Tagen und nach 14 Tagen abgebrochen.

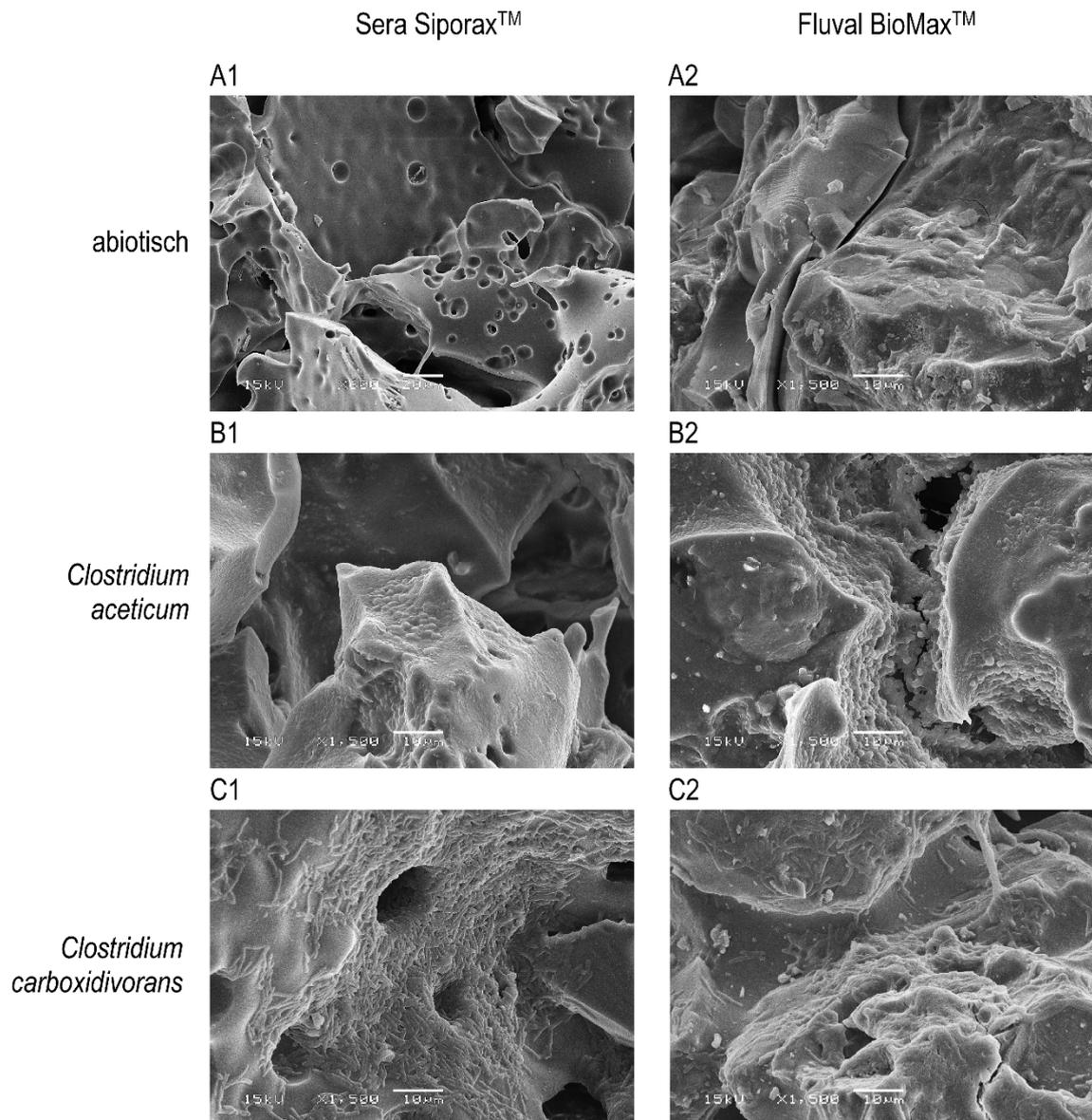


Abbildung 5.6: Aufnahmen der Trägermaterialoberfläche im Rasterelektronenmikroskop bei 600-facher (A1) und 1.500-facher (A2, B, C) Vergrößerung bei abiotischen Bedingungen (A), nach acht Tagen Satzprozess in Anaerobflaschen mit *C. aceticum* (B) und nach 14 Tagen Satzprozess in Anaerobflaschen mit *C. carboxidivorans* (C) mit Sera Siporax™ (1) und Fluval BioMax™ (2).

Die Aufnahmen der abiotischen Oberfläche der Materialien Sera Siporax™ und Fluval BioMax™ sowie nach den Untersuchungen in Anaerobflaschen mit *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* im Rasterelektronenmikroskop sind in Abbildung 5.6 dargestellt. Auf

den Oberflächen der Trägermaterialien Sera Siporax™ und Fluval BioMax™ konnte nach den Untersuchungen mit *C. aceticum* im Vergleich zu den mikroskopischen Aufnahmen der Oberflächen der abiotischen Trägermaterialien qualitative Unterschiede beobachtet werden. Die charakteristische Stäbchenform des Bakteriums war nicht zu erkennen (vergleiche Abbildung 3.1). Stattdessen konnten Kugelformen an der Oberfläche identifiziert werden.

Die Aufnahmen der Oberfläche des Trägermaterials nach den Untersuchungen in Anaerobflaschen mit *C. carboxidivorans* zeigten den adsorbierten Mikroorganismus in Stäbchenform. Die Aufnahmen zeigten, dass *C. carboxidivorans* bevorzugt an rauen Oberflächen des Materials adsorbierte und sowohl einzel-, als auch mehrschichtig an der Oberfläche vorlag.

Die mikroskopischen Analysen der anderen Materialien zeigten keine adsorbierten acetogenen Mikroorganismen (Aufnahmen nicht gezeigt).

Diskussion

Vier unterschiedliche Trägermaterialien wurden in Anaerobflaschen im unkontrollierten Satzverfahren untersucht, um ihren Einfluss auf die optische Dichte (OD_{600}), den pH und den Metabolismus der acetogenen Bakterien *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* zu quantifizieren. Dabei wurde auch beobachtet, ob sich die Mikroorganismen bereits durch Primäradsorption auf die Oberfläche des Trägermaterials anlagerten. Die Immobilisierung sowie die Biofilmbildung wurde mit *C. carboxidivorans* auf anderen Materialien wie zum Beispiel auf einem Cordierit-basierten Monolithen oder auf AnoxKaldnes K1™ publiziert (siehe Abschnitt 3.4.5) (Shen *et al.* 2014a; Shen *et al.* 2017).

Die abiotischen Untersuchungen zeigten keinen Einfluss des Trägermaterials auf die optische Dichte (OD_{600}) und den pH des Mediums bei den untersuchten Bedingungen. Dadurch wird angenommen, dass die Änderung aller Messgrößen ausschließlich durch biologische Aktivität erfolgte.

Die Materialien hatten keinen Einfluss auf die metabolische Aktivität von *C. aceticum*, da das Wachstum und die Produktbildung bei allen Ansätzen mit Ausnahme von Eheim Substrat Pro™ vergleichbar waren. Eheim Substrat Pro™ wurde vermutlich durch Stoffwechselprodukte angegriffen und dadurch zersetzt. Dadurch ist dieses Material für den universellen Gebrauch als Trägermaterial ungeeignet. Im Vergleich zu der Referenz wurde mit allen Materialien keine signifikante Abnahme der optischen Dichte (OD_{600}) gemessen, die Primäradsorption der Mikroorganismen auf dem Trägermaterial anzeigen könnte. Dennoch zeigten mikroskopischen Analysen im Rasterelektronenmikroskop Kugelformen, die in den Aufnahmen des abiotischen Trägers nicht beobachtet wurden. Die Kugelformen könnten Sporen von immobilisiertem *C. aceticum* sein, wie Braun und Co-Autoren die Sporenbildung von *C. aceticum* bereits darstellten (Braun *et al.* 1981).

Die Untersuchungen mit *C. carboxidivorans* zeigten keinen Einfluss der Trägermaterialien auf seine Produktbildung. Das acetogene Bakterium adsorbierte auf die Materialien Sera Siporax™ und Fluval BioMax™, was aus der Abnahme der optischen Dichte (OD_{600}) gefolgert und mit Aufnahmen im Rasterelektronenmikroskop bestätigt werden konnte.

Eine interessante Beobachtung ist, dass die Adsorption erst nach zwei Tagen bei geringem Druck des gasförmigen Substratgemisches begann und durch die Nachbegasung irreversibel war.

Die makroporösen Materialien Sera Siporax™ und Fluval BioMax™ sind den Voruntersuchungen zufolge für eine Anwendung im Festbettbiofilmreaktor geeignet. Die massive Keramik Sera Biopor™ zeigte keine negativen Effekte, allerdings neigten die Mikroorganismen auch nicht zu Anlagerung auf diesem Material. Das kugelförmige Material Eheim Substrat Pro™ musste ausgeschlossen werden, da es sich während der Voruntersuchungen zersetzt hatte. Die Auswahl des geeigneten Materials für den Festbettbiofilmreaktor wurde anhand der Form der Materialien getroffen. Sera Siporax™ hatte eine Wandstärke von 5,7 mm, Fluval BioMax™ 14,1 mm. Um Stofftransportlimitierungen durch das Material möglichst gering zu halten wurde das Trägermaterial mit der geringeren Wandstärke Sera Siporax™ als Standardmaterial gewählt.

Spezifikationen

Der Festbettbiofilmreaktor konnte mit 2,25 L und 2,50 L betrieben werden. Der Aufstrom wurde standardmäßig mit 300 g Sera Siporax™ bis zu einer Höhe von 173 mm \pm 2 mm im Reaktor und somit im Mittel bis 27 mm unterhalb des Leitrohres gefüllt. Das ergibt eine Festbetthöhe (H_F) von 11,2 cm und ein Füllvolumen von 1,06 L. Das Volumen der Reaktoreinbauten des Festbettbiofilmreaktors beträgt inklusive des Festbettes 505 mL. Alle Spezifikationen sind in Tabelle 5.2 zusammengefasst und in Abbildung 5.7 schematisch dargestellt.

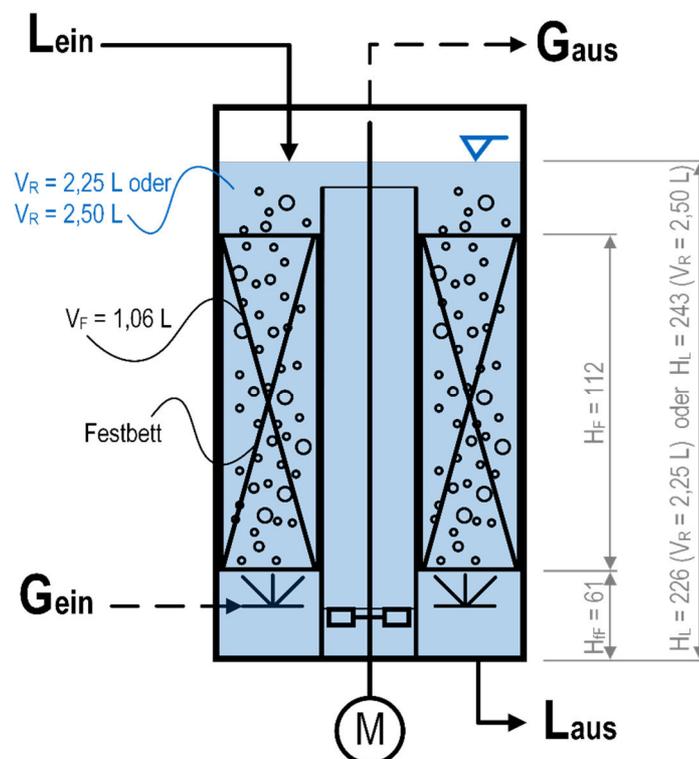


Abbildung 5.7: Schematische Darstellung der Spezifikationen des Festbettbiofilmreaktors mit innerem Umlauf im vertikalen Querschnitt. Die Abkürzungen sind im Detail in Tabelle 5.2 aufgelistet. Höhenmessungen sind in Millimeter angegeben.

Tabelle 5.2: Spezifikationen des Festbettbiofilmreaktors mit innerem Umlauf.

| Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf | | | | |
|---|--|---------------------|----|--------|
| V_R | Arbeitsvolumen | | L | 2,25 |
| | | | L | 2,50 |
| H_L | Höhe des Flüssigkeitsspiegels bei $V_R = 2,25$ L | | cm | 22,60 |
| H_L | Höhe des Flüssigkeitsspiegels bei $V_R = 2,50$ L | | cm | 24,33 |
| Festbett | | | | |
| V_{ZK} | | Zwischenkornvolumen | L | 0,71 |
| H_{FF} | | Positionshöhe | cm | 6,10 |
| V_F | | Volumen | L | 1,06 |
| m_F | | Masse | g | 300,00 |
| H_F | | Höhe | cm | 11,21 |
| Volumen der Reaktoreinbauten (inklusive Festbett) | | | L | 0,51 |

5.1.3 Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom

Die Konstruktion des Rieselbettbiofilmreaktors im Gegenstrom erfolgte auf Basis des Festbettbiofilmreaktors mit innerem Umlauf durch den Einsatz eines Flüssigkeitsverteilers auf der Rührwelle, wie in Abschnitt 4.1.4 beschrieben. Dieser wurde auf der technisch maximal möglichen Höhe von 25 cm positioniert. Das anaerobe Zulaufmedium wurde bei konstanter Flussrate in die Flüssigkeitswanne des Verteilers geleitet und über 25 Mikroporen (AD: 400 μm) auf das Festbett verteilt. Untersuchungen zur Funktionalität des Flüssigkeitsverteilers für die kontinuierliche Versorgung mit Zulaufmedium bei Zulaufraten von 1,1 mL min^{-1} , 7,2 mL min^{-1} beziehungsweise 13,9 mL min^{-1} zeigten nach einer Stunde Flüssigkeitsverluste von 8,8 %, 5,3 % beziehungsweise 0,7 % (Daten nicht gezeigt). Die größeren Verluste bei geringeren Flussraten sind auf Flüssigkeitsrückstände im Reaktor zurückzuführen, welche bei größeren Volumina nicht so stark ins Gewicht fallen. Der Gasstrom gelang über 8 mm-Bohrungen im Zentrum des Verteilers zur Abgasstrecke (siehe Abbildung 4.3).

Ein wichtiges Auslegungskriterium von Rieselbettbiofilmreaktoren ist die gleichmäßige Benetzung des Festbettes durch den Flüssigkeitsverteiler. Um die Benetzung des Festbettes zu beurteilen, wurden Benetzungsstudien (Abschnitt 4.5.5) mit dem pH-Indikator Kresolrot in einem Rieselbettbiofilmreaktor-Replikate (siehe Abbildung 4.9) bei Zulaufraten von 1,0 mL min^{-1} , 2,1 mL min^{-1} , 3,0 mL min^{-1} , 4,2 mL min^{-1} , 6,2 mL min^{-1} , 8,2 mL min^{-1} und 10,3 mL min^{-1} bei einer Rührerdrehzahl von 16-18 U min^{-1} durchgeführt. Die Leitfähigkeit des Abflussvolumenstroms wurde in einer Flusszelle mit einer Leitfähigkeitssonde gemessen.

Die Beurteilung der Benetzung erfolgte qualitativ über die violette Färbung des Trägermaterials Sera SiporaxTM. Die vollständige Benetzung wurde als der Zeitpunkt definiert, ab welchem qualitativ keine Farbänderung mehr beobachtet werden konnte. Die Untersuchungen mit der Zulauftrate 3,0 mL min^{-1} wurden in Triplikaten durchgeführt und zeigten einen Fehler der qualitativen Beurteilung von 4,8 %. Diese Flussrate wurde als Standardbedingung festgelegt. Alle Untersuchungen zeigten eine vollständige Benetzung

des Festbettvolumens. Eine Darstellung der Farbänderung über die Zeit ist für eine Zulauftrate von 3,0 mL min⁻¹ exemplarisch in Abbildung 5.8 gezeigt. Ausgewählte Bilder zu den Benetzungsstudien befinden sich im Anhang von Abbildung A.10 bis Abbildung A.23.

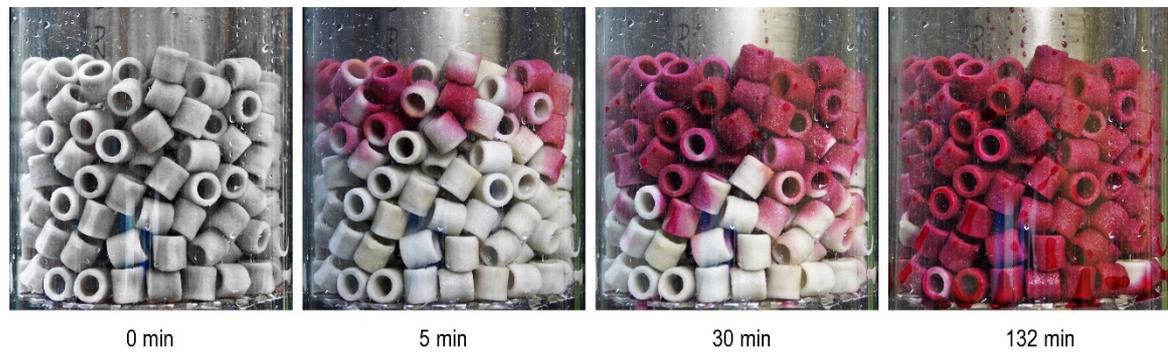


Abbildung 5.8: Exemplarische Darstellung einer Studie zur homogenen Benetzung im Rieselbettbiofilmreaktor bei einer Zulauftrate von 3,0 mL min⁻¹.

Bei allen untersuchten Zulaufraten wurde ein vergleichbares Volumen von 377 mL ± 19 mL für die vollständige Benetzung benötigt (siehe Abbildung 5.9 A). Die korrespondierenden Benetzungszeiten sind in Abbildung 5.9 B dargestellt. Aufgrund der Messdaten kann die Dauer der Benetzung für eine beliebige Zulauftrate mit Gleichung 5-1 näherungsweise berechnet werden.

$$t_b = 6.18 \cdot L^{-0,99} \tag{5-1}$$

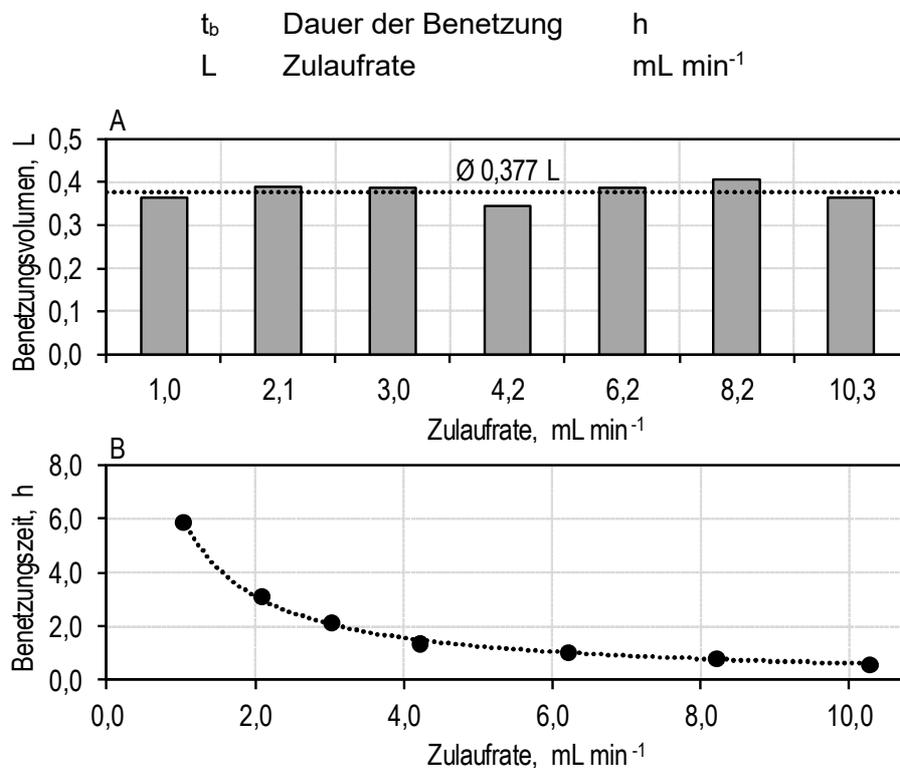


Abbildung 5.9: A, Benetzungsvolumina und B, Benetzungszeit für unterschiedliche Zulaufraten im Rieselbettbiofilmreaktor-Replikat.

Die Verweilzeitsummenfunktion ($F(t)$) wurde anhand von Leitfähigkeitsmessungen für alle Untersuchungen aufgenommen. Diese sind beispielhaft für die Zulaufsraten $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, $2,1 \text{ mL min}^{-1}$ und $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ in Abbildung 5.10 A dargestellt und zeigten ähnliche Verläufe bei erwartungsgemäß längeren Prozesszeiten bei geringeren Zulaufsraten. Zwei Verweilzeitsummenfunktionen der Triplikate bei einer Zulauftrate von $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ sind in Abbildung 5.10 B gezeigt. Diese sowie die dritte (Daten nicht gezeigt) zeigten eine sehr gute Übereinstimmung und damit Reproduzierbarkeit der Experimente. Da die Untersuchungen aus Kapazitätsgründen in einem Rieselbettbiofilmbioreaktor-Replikat durchgeführt werden mussten, wurde die Vergleichbarkeit des Replikats und des Originals bei Standardbedingungen ($L = 3,0 \text{ mL min}^{-1}$) durchgeführt. Die Verläufe waren sehr gut miteinander vergleichbar, weshalb die Untersuchungen im Replikat als repräsentativ erachtet wurden.

Die Betriebsweise des Rieselbettbiofilmreaktors musste zu Beginn so gewählt werden, dass die acetogenen Bakterien Zeit hatten sich auf das Trägermaterial anzulagern, zu wachsen und gleichmäßig über das Festbett zu verteilen. In dieser Arbeit wurden das Zellwachstum und die Immobilisierung im Trägermaterial mit einer eintägigen Satzphase und einem anschließenden kontinuierlichen Betrieb im Festbettbiofilmreaktor durchgeführt. Um zu überprüfen, ob Bakterien die Mikroporen des Flüssigkeitsverteilers verblocken, wurde ein sechstägiger Satzprozess im Festbettbiofilmreaktor mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,25 \text{ L}$, 30 °C ; $\text{pH } 8$; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 3:12:10) mit dem Flüssigkeitsverteiler im Kopfraum durchgeführt (Daten nicht gezeigt). Im Anschluss wurde die Verweilzeitsummenfunktion mit dem Flüssigkeitsverteiler aus dem Satzprozess bei einer Zulauftrate von 3 mL min^{-1} im Replikat aufgenommen und die Benetzung des Trägermaterials qualitativ beurteilt. Die aufgezeichnete Verweilzeitsummenfunktion ($F(t)$) ist im Vergleich zu abiotischen Bedingungen bei einer Zulauftrate von 3 mL min^{-1} in Abbildung 5.10 C (graue Strichlinie) dargestellt.

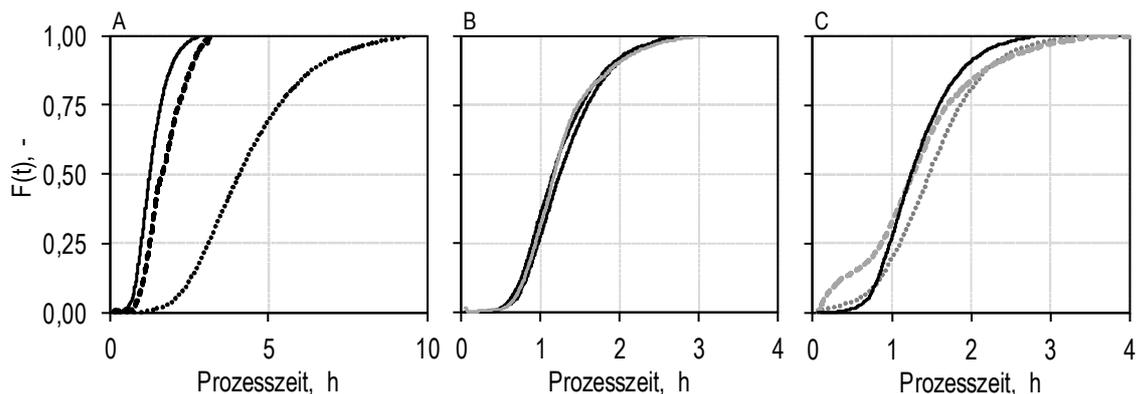


Abbildung 5.10: Darstellung der Verweilzeitsummenfunktion für Stufenmarkierungsexperimente bei Raumtemperatur mit 35 mL Leitungswasser im Flüssigkeitsreservoir: A, im Rieselbettbiofilmreaktor-Replikat bei unterschiedlichen Zulaufsraten: 3 mL min^{-1} (Volllinie), 2 mL min^{-1} (Strichlinie) und 1 mL min^{-1} (Punktlinie); B, bei 3 mL min^{-1} im Duplikat im Rieselbettbiofilmreaktor-Replikat (schwarz) und im Rieselbettbiofilmreaktor (grau); C, im Rieselbettbiofilmreaktor-Replikat bei 3 mL min^{-1} (schwarze Volllinie), nach einem Satzprozess im Festbettbiofilmreaktor ($V_R = 2,25 \text{ L}$; 30 °C ; $\text{pH } 8$; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 3:12:10) mit *C. aceticum* (graue Strichlinie) und mit einer Edelstahl-Lochplatte in einer Höhe von $22,6 \text{ cm}$ bei abiotischen Bedingungen (graue Punktlinie).

Die relative Leitfähigkeitskurve in Abbildung 5.10 C zeigte einen ähnlichen Verlauf wie jene bei abiotischen Standardbedingungen. Die vollständige Benetzung wurde bei abiotischen Bedingungen im Mittel nach $2,1 \text{ h} \pm 0,1 \text{ h}$ und bei biotischen Bedingungen nach $2,2 \text{ h}$ erreicht. *C. aceticum* hatte somit keinen Einfluss auf die Funktionalität des Flüssigkeitsverteilers nach einer sechstägigen Satzphase. Der anfangs schnellere Anstieg der Leitfähigkeit könnte an dem Kontakt des Verteilers mit der salzhaltigen Biosuspension liegen, während bei abiotischen Bedingungen der Verteiler mit salzfreiem Wasser gewaschen und vorbereitet wurde.

Der Einfluss der Edelstahl-Lochplatte (siehe Abschnitt 5.1.1) auf der Höhe der Flüssigkeitsoberfläche auf die Benetzung des Festbettes im Rieselbettbiofilmreaktor-Replikat wurde bei abiotischen Standardbedingungen ($L = 3 \text{ mL min}^{-1}$) untersucht. Die Verweilzeitsummenfunktion in Abbildung 5.10 C (graue Punktlinie) zeigte einen vergleichbaren Verlauf wie jene bei abiotischen Standardbedingungen. Die vollständige Benetzung wurde nach $2,3 \text{ h}$ erreicht. Die Edelstahl-Lochplatte hatte somit keinen Einfluss auf die Flüssigkeitsverteilung des Zulaufes im Rieselbettbiofilmreaktor-Replikat. Aus diesem Grund konnte die Edelstahl-Lochplatte auch bei Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor mit *C. carboxidivorans* verwendet werden.

Spezifikationen

Das Flüssigkeitsvolumen musste aufgrund des Platzbedarfs des Flüssigkeitsverteilers von $2,50 \text{ L}$ auf $2,25 \text{ L}$ reduziert werden. Der Flüssigkeitsverteiler wurde bei allen Experimenten zur gleichmäßigen Flüssigkeitsverteilung mit $16\text{-}18 \text{ U min}^{-1}$ gedreht.

Tabelle 5.3: Zusammenfassung der Spezifikationen des Rieselbettbiofilmreaktors.

| Rieselbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf | | | |
|--|--|----------------------------------|------------|
| V_R | Arbeitsvolumen des Festbettbiofilmreaktors | L | 2,25 |
| H_L | Höhe des Flüssigkeitsspiegels im Festbettbiofilmreaktor bei $V_R = 2,25 \text{ L}$ | cm | 22,60 |
| H_V | Höhe des Flüssigkeitsverteilers | cm | 4,50 |
| Festbett | | | |
| m_F | Masse | kg | 0,30 |
| V_F | Volumen | L | 1,06 |
| V_{Poren} | Porenvolumen von 300 g Sera Siporax™ im Rieselbettbiofilmreaktor (für mittlere Porosität von 35 %) | L | 0,12 |
| V_{Film} | Abgeschätztes Flüssigfilmvolumen bei $L = 1 \text{ mL min}^{-1}$ | L | 0,19 |
| | Abgeschätztes Flüssigfilmvolumen bei $L = 2 \text{ mL min}^{-1}$ | L | 0,23 |
| | Abgeschätztes Flüssigfilmvolumen bei $L = 3 \text{ mL min}^{-1}$ | L | 0,21 |
| | Abgeschätztes Flüssigfilmvolumen bei $L = 10 \text{ mL min}^{-1}$ | L | 0,15 |
| H_K | Höhe des Kopfraums | cm | 10,00 |
| Drehzahl des Flüssigkeitsverteilers | | | 16-18 |
| Zulaufraten | | | |
| | | mL min^{-1} | 1,0-10,3 |
| | | $\text{L g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ | 0,005-0,05 |
| | | $\text{L m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ | 153-1.575 |
| | | $\text{L L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ | 1,4-14,1 |
| V_{FR} | Volumen des Flüssigkeitsreservoirs | | 0,47 |

Zusätzlich wurde das Volumen im Flüssigkeitsreservoir (V_{FR}) mit Hilfe eines Sechs-Blatt-Scheibenrührers am unteren Ende der Rührwelle homogenisiert. Höhere Rührerdrehzahlen zeigten starke Zentrifugaleffekte auf die Flüssigkeitstropfen, sodass nur eine Benetzung der Reaktorwand und der äußeren Trägermaterialeinzelstücke beobachtet werden konnte. Geringere Rührerdrehzahlen wurden nicht untersucht, da eine möglichst gute Durchmischung der Flüssigkeit im 466 mL-Flüssigkeitsreservoir des Rieselbettbiofilmreaktors mit Sensorik erwünscht war. Hier fand die Probenahme für alle Untersuchungen in diesem Reaktor statt.

Für die Untersuchungen wurden 300 g Sera SiporaxTM verwendet. Diese Menge an Trägermaterial nimmt 1,06 L im begasten Bereich des Rieselbettbiofilmreaktors ein. Die maximale Porosität von Sera SiporaxTM wird vom Hersteller mit bis zu 70 % angegeben. Mit der Annahme einer mittleren Porosität von 35 % ergibt sich ein Gesamtporenvolumen des Festbettes von 0,12 L. Aufgrund der hydrophilen Eigenschaften von Sera SiporaxTM wird dieses als das Minimalarbeitsvolumen im Rieselbettbiofilmreaktor angegeben. Das tatsächliche Volumen kann in Abhängigkeit der Zulauftrate über die mittlere hydraulische Verweilzeit der Flüssigkeit im Festbett approximiert werden (vergleiche Abschnitt 5.2.5).

Die Spezifikationen des Rieselbettbiofilmreaktors sind in Tabelle 5.3 zusammengefasst und in Abbildung 5.11 schematisch dargestellt.

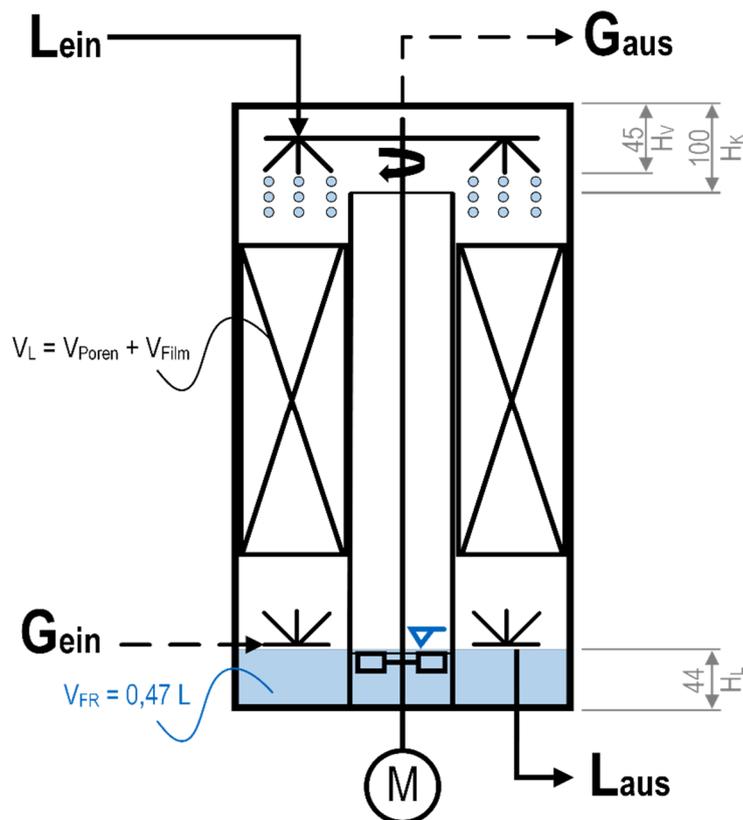


Abbildung 5.11: Schematische Darstellung der Spezifikationen des Rieselbettbiofilmreaktors im vertikalen Querschnitt. Die Abkürzungen sind im Detail in Tabelle 5.3 aufgelistet. Höhenmessungen sind in Millimeter angegeben.

5.2 Verfahrenstechnische Charakterisierung des Mehrzweckbioreaktors

5.2.1 Gas-Flüssig-Stofftransport

Der Gas-Flüssig-Stofftransport wird für die schlecht wasserlöslichen Substrate CO und H₂ über den Transportkoeffizienten (k_L), die Austauschfläche (a) und das treibende Konzentrationsgefälle (Δc) maßgeblich beeinflusst (siehe Abschnitt 3.5.1). Die ersten beiden Größen sind vom Bioreaktor und von der Betriebsweise abhängig und können gemeinsam als der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient ($k_{L,a}$) beschrieben werden.

Der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient wurde im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf ($V_R = 2,5$ L) und im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf ($V_R = 2,5$ L; 300 g Sera Siporax™) bei 37 °C für Sauerstoff bestimmt (siehe Abschnitt 4.5.1). Der Druckluftvolumenstrom wurde zwischen 2,6 L L⁻¹ h⁻¹ und 20 L L⁻¹ h⁻¹ variiert. Die Untersuchungen wurden in 2,5 L 0,5 M Na₂SO₄-Lösung durchgeführt, um nicht-koaleszierende Bedingungen zu ermöglichen. Die Messungen erfolgten im Aufstrom an zwei zueinander normalen Positionen über die Seitenstutzen des Reaktors. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.12 zusammengefasst.

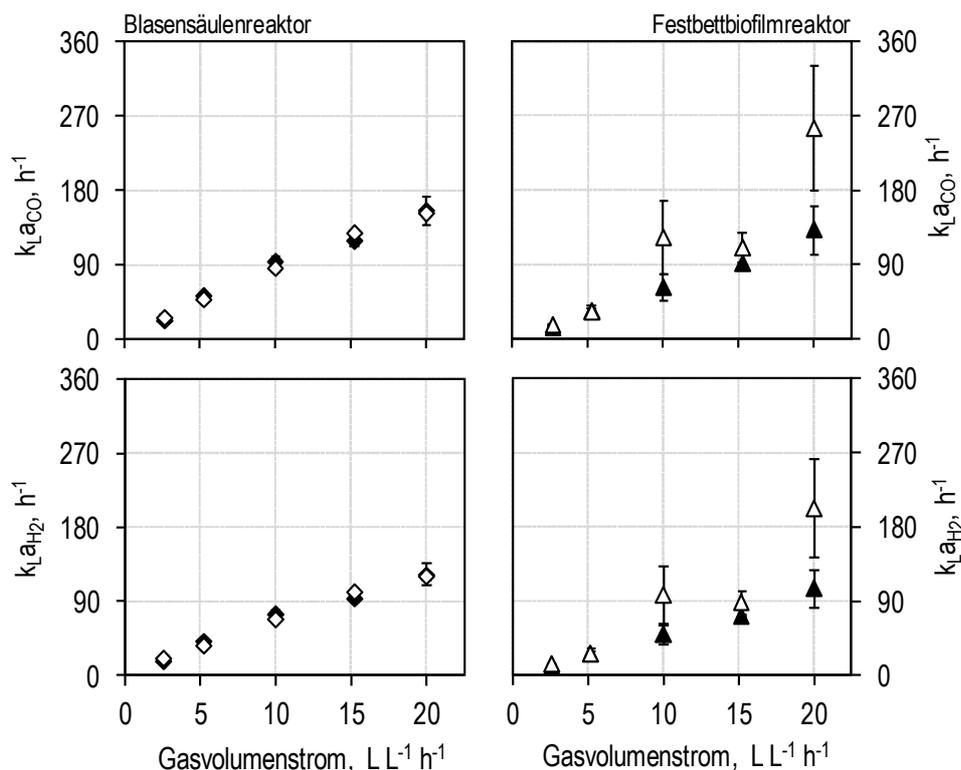


Abbildung 5.12: Volumetrischer Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient ($k_{L,a}$) für CO und H₂ im Blasensäulenreaktor ($V_R = 2,5$ L) mit innerem Umlauf (◇◆, links) und dem Festbettbiofilmreaktor ($V_R = 2,5$ L) mit innerem Umlauf (△▲, rechts) mit 300 g Trägermaterial (Sera Siporax™). Die Messungen erfolgten abiotisch an zwei zueinander normalen Positionen im Aufstrom (Position 1: schwarz; Position 2: weiß) in 2,5 L einer 0,5 M Na₂SO₄-Lösung bei 37 °C.

Der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient für den Rührkesselreaktor wurde über den volumetrischen Leistungseintrag und die Gasleerrohrgeschwindigkeit nach Gleichung 4-8 für Sauerstoff abgeschätzt und mit Gleichung 3-45 und Tabelle 3.6 für die Gase CO und H₂ abgeschätzt.

Im Blasensäulenreaktor wurden mittlere Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten von $24 \text{ h}^{-1} \pm 4 \text{ h}^{-1}$ bis $154 \text{ h}^{-1} \pm 13 \text{ h}^{-1}$ für CO und von $19 \text{ h}^{-1} \pm 3 \text{ h}^{-1}$ bis $122 \text{ h}^{-1} \pm 10 \text{ h}^{-1}$ für H₂ bei Gasvolumenströmen von $2,6 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bis $20 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ gemessen. Im Festbettbiofilmreaktor wurden im Mittel Werte von $15 \text{ h}^{-1} \pm 2 \text{ h}^{-1}$ bis $193 \text{ h}^{-1} \pm 84 \text{ h}^{-1}$ für CO und von $12 \text{ h}^{-1} \pm 2 \text{ h}^{-1}$ bis $153 \text{ h}^{-1} \pm 67 \text{ h}^{-1}$ für H₂ gemessen. Der Fehler der Messungen im Festbettbiofilmreaktor war signifikant größer. Die Standardabweichung erreicht Maximalwerte von 48 % des Mittelwertes. Die Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten des Rührkesselreaktors wurden für 37 °C, eine Rührerdrehzahl von 1.500 U min^{-1} und eine Begasungsrate von $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($u_g = 4,5 \cdot 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$) mit 1.726 h^{-1} für CO und 1.372 h^{-1} für H₂ und für 1.200 U min^{-1} und $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($u_g = 2,3 \cdot 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$) mit 989 h^{-1} für CO und 787 h^{-1} für H₂ berechnet.

Diskussion

Die Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten für CO und H₂ waren für die zwei gemessenen Positionen im Blasensäulenreaktor vergleichbar und stiegen näherungsweise linear mit dem Gasvolumenstrom. Auf Grundlage dieser Messungen wurde angenommen, dass der Gas-Flüssig-Stofftransport im Aufstrom des Blasensäulenreaktors isotrop verläuft. Im Festbettbiofilmreaktor wurden vergleichbare Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten wie im Blasensäulenreaktor erhalten. Der Fehler der Messungen war signifikant größer als im Blasensäulenreaktor. Ein Grund dafür könnte das Trägermaterial sein. Der Aufstieg der Gasblasen könnte durch das Trägermaterial zeitweise verhindert worden sein und zur Koaleszenz der Gasblasen führen. Da das Festbett im Festbettbiofilmreaktor eine inhomogene Packung ist, könnte es zu lokalen Unterschieden über den Querschnitt des Reaktors kommen und die größeren Standardabweichungen im Vergleich zum Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf erklären.

Die Abschätzungen für den Rührkesselreaktor bei Standardbedingungen zeigten einen 19- bis 20-fach höheren Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten als im Blasensäulenreaktor und einen 19- bis 30-fachen Wert im Festbettbiofilmreaktor.

Die erhaltenen Messdaten sind mit Literaturdaten vergleichbar. Es wurden maximale Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten für CO in *gas-lift*-Reaktoren von 91 h^{-1} beschrieben (Munasinghe und Khanal 2010b). Festbettbiofilmreaktoren zeigten Maximalwerte von 450 h^{-1} sowie 400 h^{-1} im Blasensäulenreaktor (siehe Absatz 3.5.1 und Tabelle 3.7) (Shen *et al.* 2014b). Die größeren Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten könnten an einem gesteigerten Gasgehalt durch die höhere Wassersäule dieses Reaktors (66 cm) liegen. Diese ist 3,6 Mal so hoch wie im untersuchten abiotischen Festbettbiofilmreaktor.

5.2.2 Blasencharakteristik und Gasgehalt

Der Blasendurchmesser wurde im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf und im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf für verschiedene Betriebsbedingungen untersucht.

Blasencharakteristik im abiotischen Blasensäulenreaktor

Der Blasendurchmesser im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf wurde mit einer optischen Sonde (Messzellenvolumen: $\sim 0,8$ mL) im Bereich des Aufstroms über einen Seitenstutzen an der Position des Heizstabes ($H = 9,3$ cm; $H_{FB} = 3,2$ cm) fotografisch bestimmt (siehe Abschnitt 3.5.2). Die Untersuchungen wurden mit den Prozessmedien für *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* unter den korrespondierenden abiotischen Standardbedingungen (siehe Tabelle 4.2) bei Gasvolumenströmen von $2,5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bis $20 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ beziehungsweise $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bis $20 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bei einem Arbeitsvolumen von $V_R = 2,5 \text{ L}$ durchgeführt. Der anzahlbasierte Blasendurchmesser im arithmetischen Mittel ($d_{B,n}$, Gleichung 4-10), der Sauter-Durchmesser ($d_{B,Sauter}$, Gleichung 4-11), der maximale anzahlbasierte Blasendurchmesser von 95 % der Blasen ($d_{B,n95}$) sowie die Verteilungsbreite (span_n , Gleichung 3-51) sind in Abbildung 5.13 dargestellt. Die Verweilzeitdichte- und Verweilzeitsummenfunktionen sind exemplarisch für die Volumenströme bei Standardbedingungen ($5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ oder $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) in Abbildung 5.14 gezeigt. Alle Verweilzeitspektren der anderen Eingangsgasvolumenströme sind im Anhang in Abbildung A.9 zusammengefasst.

Die Untersuchungen der beiden Satzmedien zeigen keine signifikanten Unterschiede. Durch die Änderung der Gaszusammensetzung von einem CO:N_2 - auf ein $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2$ -Gasgemisch im Prozessmedium für *C. aceticum* wurden vergleichbare Ergebnisse gemessen. Der maximale anzahlbasierte Blasendurchmesser von 95 % der Blasen ($d_{B,n95}$) war $466 \mu\text{m}$ bei CO_2 -haltiger, aber $963 \mu\text{m}$ bei CO_2 -freier Begasung. Bei genauer Betrachtung der Messdaten lässt sich erkennen, dass bei letzterer 92 % aller Gasblasen einen Blasendurchmesser von $500 \mu\text{m}$ oder kleiner hatten, die 95 %-Schwelle aber erst bei $963 \mu\text{m}$ überschritten wurde. Die Verteilungsbreite der Spektren span_n war im Mittel 2,3. Die Messung mit dem Prozessmedium für *C. aceticum* bei $15 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und CO_2 -haltiger Begasung ergab einen Wert von 8,7 und mit CO_2 -freier Begasung bei $20 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 28,7.

Die Messdaten zeigten in Abhängigkeit des Gasvolumenstroms signifikante Unterschiede: Der mittlere Blasendurchmesser ($d_{B,n}$) und der Sauterdurchmesser ($d_{B,Sauter}$) reichen von $211 \mu\text{m}$ bis $569 \mu\text{m}$ beziehungsweise $422 \mu\text{m}$ bis $1.208 \mu\text{m}$. Die Maximalwerte des Blasendurchmessers ($d_{B,n}$) wurden bei $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, die Minimalwerte bei $2,5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ erreicht. Der minimale und maximale gemessene Blasendurchmesser war $14 \mu\text{m}$ beziehungsweise $1.952 \mu\text{m}$.

Die Verweilzeitspektren zeigen eine breite Verteilung der Gasblasendurchmesser. Die höchste anzahlbasierte Gasblasendichte wurde bei geringen Durchmessern kleiner als $50 \mu\text{m}$ gemessen. Die Verweilzeitsummenfunktion zeigt abschnittsweise vertikale Verläufe, die kaum Blasen mit diesem Durchmesser bedeuten.

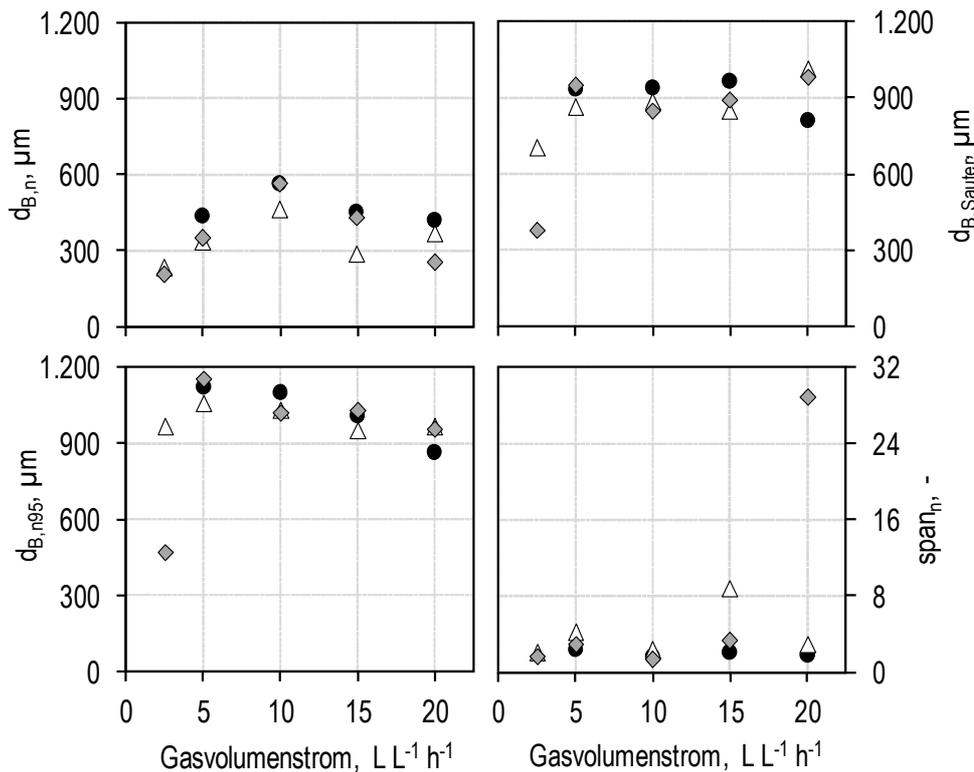


Abbildung 5.13: Der anzahlbasierte Blasendurchmesser im arithmetischen Mittel ($d_{B,n}$), der Sauter-Durchmesser ($d_{B,Sauter}$), der maximale anzahlbasierte Blasendurchmesser von 95 % der Blasen ($d_{B,n95}$) sowie die anzahlbasierte Verteilungsbreite ($span_n$) für Gasvolumenströme von $2,5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bis $20 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf ($V_R = 2,5 \text{ L}$): Δ , Prozessmedium für *C. aceticum*, $30 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 8, CO:N_2 1:9; \diamond , $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2$ 3:12:10; \bullet , Prozessmedium für *C. carboxidivorans*, $37 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 6, CO:CO_2 4:1.

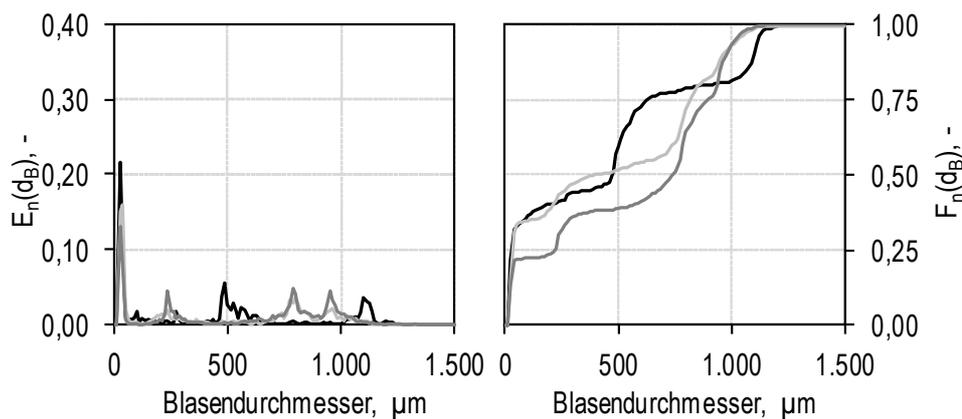


Abbildung 5.14: Anzahlbasierte Verweilzeitdichte- $E_n(d_B)$ und Verweilzeitsummenfunktion $F_n(d_B)$ im abiotischen Blasensäulenreaktor ($V_R = 2,5 \text{ L}$) mit innerem Umlauf bei unterschiedlichen Bedingungen: Prozessmedium für *C. aceticum*, $30 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 8, $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, CO:N_2 1:9 (hellgrau); $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2$ 3:12:10 (dunkelgrau); Prozessmedium für *C. carboxidivorans*, $37 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 6; $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; CO:CO_2 4:1 (schwarz).

Diskussion

Das Medium und der Gasvolumenstrom zeigten keinen Einfluss auf den Gasblasendurchmesser für die untersuchten Bedingungen. Die Verteilungsbreite im Mittel zeigte mit einem Wert von 2,3 eine breite Verteilung des Gasblasendurchmessers für alle Bedingungen. Die relativ hohe Verteilungsdichte für kleine Gasblasen zeigte den gewünschten Effekt der geringen mittleren Porengröße (MFP = 1,2 μm) der Sintermetallfritte kleine Primärblasendurchmesser für eine große Stoffaustauschfläche zu erzeugen. Es ist anzunehmen, dass die Porengrößenverteilung der Sintermetallfritte sehr breit war und die unterschiedlichen Porengrößen inhomogen über die Sintermetallfläche verteilt waren. Damit ist auch die breite Verteilung der Blasendurchmesser zu erklären.

Blasencharakteristik im abiotischen Festbettbiofilmreaktor

Der Gasblasendurchmesser wurde im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf mit dem Prozessmedium für *C. acetivum* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5 \text{ L}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 8) und kontinuierlicher $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2$ -Begasung (3:12:10) bei Gasvolumenströmen von $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ mit 300 g Trägermaterial (Sera Siporax™) gemessen. Die Verweilzeitdichte- und Verweilzeitsummenfunktion sind in Abbildung 5.15 dargestellt.

Der minimale Blasendurchmesser wurde bei $14 \mu\text{m}$, der maximale bei $1.494 \mu\text{m}$ gemessen. Die höchsten Verweilzeitdichten wurden bei beiden Bedingungen bei $25 \mu\text{m}$ und $188 \mu\text{m}$ erreicht. Bei einem Gasvolumenstrom von $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ wurde ein weiteres lokales Dichtemaximum zwischen $1.400 \mu\text{m}$ und $1.475 \mu\text{m}$ verzeichnet. Die optische Beobachtung des Verlaufes der Gasblasen im Festbettbiofilmreaktor durch das Sichtfenster zeigte, dass das Trägermaterial den Weg der Gasblasen beeinflusste, da es für große Gasblasen eine mechanische Barriere darstellt und diese vermutlich kaum zur Messsonde gelangen können.

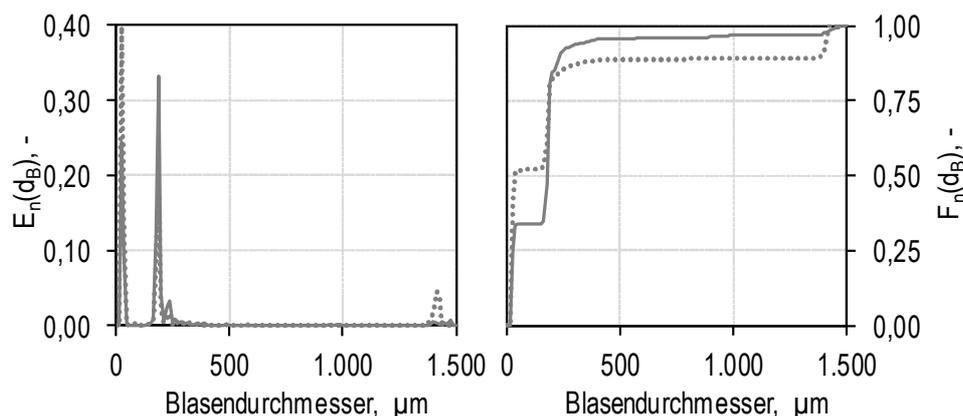


Abbildung 5.15: Anzahlbasierte Verweilzeitdichte- ($E_n(d_B)$) und Verweilzeitsummenfunktion ($F_n(d_B)$) im abiotischen Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf mit 2,5 L Prozessmedium für *C. acetivum* bei $30 \text{ }^\circ\text{C}$ und pH 8 mit kontinuierlicher $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2$ -Begasung (3:12:10) bei $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Volllinie) und $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Punktlinie).

Diskussion

Die Messungen im Festbettbiofilmreaktor zeigten eine zwei- bis dreigeteilte Blasendurchmesserverteilung bei hauptsächlich sehr kleinen Blasendurchmessern. Eine Erklärung

könnte im Vergleich zum Blasensäulenreaktor das Trägermaterial sein, das große Gasblasen blockiert. Diese könnten den Weg des geringsten Widerstands wählen oder koaleszieren und dann bei größeren Blasendurchmessern komplett oder teilweise aufsteigen. Die Position der Messsonde und das Messzellenvolumen ($\sim 0,8$ mL) hatten dabei eine entscheidende Rolle. Dennoch zeigten die Messungen im Festbettbiofilmreaktor einen klaren Unterschied der Blasencharakteristik im Vergleich zum Blasensäulenreaktor.

Untersuchungen zum Gasgehalt

Der Gasgehalt wurde im abiotischen Blasensäulenreaktor sowie Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf bei Gasvolumenströmen von $2,5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bis $20,0 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ N_2 mit $2,5 \text{ L}$ Leitungswasser bestimmt (siehe Abschnitt 3.5.2). Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.16 zusammengefasst.

Es wurden Gasgehalte von $0,14 \%$ bis $1,22 \%$ im Blasensäulenreaktor und von $0,18 \%$ bis $1,14 \%$ im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf bei Gasvolumenströmen von $2,5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bis $20 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ gemessen. Das entspricht einem absoluten Gasvolumen von $3,7 \text{ mL}$ bis $32,9 \text{ mL}$ beziehungsweise $5,5 \text{ mL}$ bis $34,4 \text{ mL}$.

Diskussion

Der Gasgehalt im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf ist im Vergleich zu anderen Reaktoren gering. Dies kann über die geringe Höhe des Aufstroms ($0,16 \text{ m}$) und die geringen Gasleerrohrgeschwindigkeiten ($2\text{-}15 \cdot 10^{-4} \text{ m s}^{-1}$) erklärt werden. Ein ähnlicher Reaktor mit Umlauf über ein konzentrisches Rohr (AD: $0,15 \text{ m}$; H: $1,22 \text{ m}$) zeigte Gasgehalte von bis zu 25% im Aufstrom bei Atmosphärendruck bei einer Gasleerrohrgeschwindigkeit von $0,25 \text{ m s}^{-1}$ (Letzel *et al.* 1999). Weuster-Botz *et al.* (2001) zeigten Gasgehalte von $0,2 \%$ bis $3,1 \%$ für Blasensäulen im Labormaßstab (200 mL) für Gasleerrohrgeschwindigkeiten von $0,001 \text{ m s}^{-1}$ bis $0,006 \text{ m s}^{-1}$.

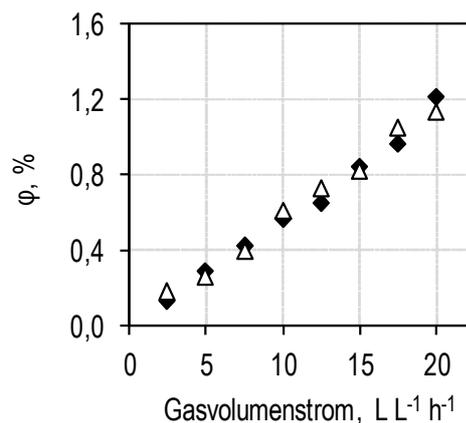


Abbildung 5.16: Gasgehalt (ϕ) in Abhängigkeit des Gasvolumenstroms (100% N_2): ◆, im abiotischen Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf ($V_R = 2,5 \text{ L}$); △, im abiotischen Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf ($V_R = 2,5 \text{ L}$).

5.2.3 Leistungseintrag

Der volumetrische Leistungseintrag wurde für den Rührkesselreaktor nach Abschnitt 4.5.3 mit 2 L Leitungswasser experimentell für Rührerdrehzahlen von 200 U min⁻¹ bis 1.500 U min⁻¹ bestimmt. Der Einfluss des Gasvolumenstroms wurde durch eine weitere Messung bei 50 L h⁻¹ N₂-Begasung analysiert. Für den Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf wurde der volumetrische Leistungseintrag mit Gleichung 3-56 abgeschätzt. Zur Berechnung wurden die anzahlbasierten mittleren Blasendurchmesser ($d_{B,n}$) im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf aus Abschnitt 5.2.2 für die untersuchten Prozessbedingungen verwendet. Die Höhe des Flüssigkeitsspiegels über der ringförmigen Sintermetallfritte (H_{FB}) war 15,7 cm. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.17 dargestellt.

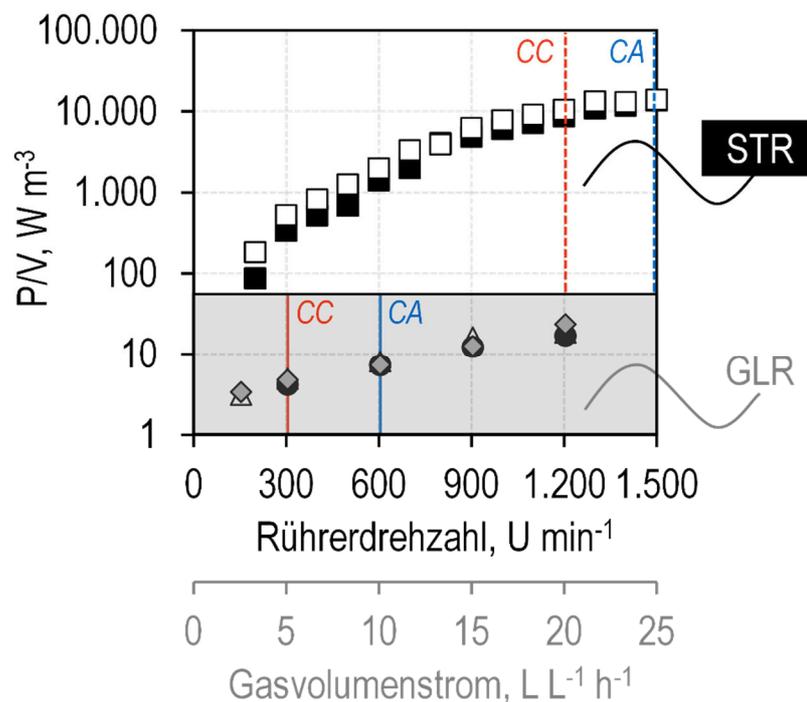


Abbildung 5.17: Volumetrischer Leistungseintrag (P/V) im Rührkesselreaktor mit 2,0 L Leitungswasser (weißer Bereich) und im Blasensäulenreaktor mit 2,5 L Leitungswasser (grauer Bereich). □, keine Begasung; ■, $G_{ein} = 50 L h^{-1} N_2$; Blasensäulenreaktor: △, Prozessmedium für *C. acetivum* mit NaCl, 30 °C, pH 8, CO:N₂ 1:9; ◆, CO₂:H₂:N₂ 3:12:10; ●, Prozessmedium für *C. carboxidivorans*, 37 °C, pH 6, CO:CO₂ 4:1. Die Vertikalen markieren die Standardbetriebsbedingungen für Satzprozesse mit *C. acetivum* („CA“, blau) und *C. carboxidivorans* („CC“, rot) im Rührkesselreaktor (Strichlinie) und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (Volllinie).

Der volumetrische Leistungseintrag im Rührkesselreaktor zeigte näherungsweise eine Potenzfunktion 3. Grades und geringere Werte bei einer Begasung von 50 L h⁻¹ N₂. Es wurden Leistungseinträge von 182 W m⁻³ bis 13.924 W m⁻³ ohne Begasung und 87 W m⁻³ bis 13.614 W m⁻³ mit Begasung von 200 U min⁻¹ bis 1.500 U min⁻¹ gemessen. Im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf wurden deutlich geringere Leistungseinträge von minimal 3,0 W m⁻³ bis maximal 22,7 W m⁻³ für Gasvolumenströme von 2,5 L L⁻¹ h⁻¹ bis 20 L L⁻¹ h⁻¹ berechnet. Das entspricht einem bis zu 4.640-fachen Leistungseintrag im Rührkesselreaktor.

Der Leistungseintrag im Blasensäulenreaktor bei Satzprozessen mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5 \text{ L}$; 30 °C ; $\text{pH } 8$) bei CO:N_2 -Begasung (1:9; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) ist $7,8 \text{ W m}^{-3}$ und bei $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2$ -Begasung (3:12:10; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) $7,0 \text{ W m}^{-3}$ (vergleiche vertikale Strichlinien in Abbildung 5.17). Der Leistungseintrag in Satzprozessen im Rührkesselreaktor bei gleichen Betriebsbedingungen und 1.500 U min^{-1} war um den Faktor 1.790 beziehungsweise 1.987 höher ($(P/V)_{\text{STR}} = 13.924 \text{ W m}^{-3}$) (vergleiche vertikale Volllinien in Abbildung 5.17). Untersuchungen mit *C. carboxidivorans* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5 \text{ L}$; 37 °C ; $\text{pH}_0 \text{ } 6$) mit CO:CO_2 -Begasung (4:1, $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) hatten einen Leistungseintrag von $4,0 \text{ W m}^{-3}$. Im Rührkesselreaktor war dieser bei 1.200 U min^{-1} um das 2.625-fache höher ($(P/V)_{\text{STR}} = 10.469 \text{ W m}^{-3}$).

Diskussion

Der Leistungseintrag im Rührkesselreaktor zeigte näherungsweise einen charakteristischen Verlauf in Abhängigkeit der Rührerdrehzahl nach Gleichung 3-53 (Hortsch und Weuster-Botz 2009). Die Begasungsrate reduzierte den Leistungseintrag im Rührkesselreaktor wie in der Literatur beschrieben (Chmiel 2011; Linek *et al.* 2012). Die Standardbedingungen der Satzprozesse im Rührkesselreaktor wurden bei Eingangsgasvolumenströmen (G_{ein}) von 10 L h^{-1} und 20 L h^{-1} gewählt. Da die Unterschiede im Leistungseintrag durch den Gasvolumenstrom allerdings gering waren, wurde für diese Bedingungen näherungsweise der Leistungseintrag ohne Begasung angenommen.

Die Leistungseinträge im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf sind mehrere Zehnerpotenzen geringer als im Rührkesselreaktor. Weuster-Botz *et al.* (2001) zeigte bereits geringe Leistungseinträge in Blasensäulen im 200 mL-Labormaßstab von 10 W m^{-3} bis 100 W m^{-3} für Gasleerrohrgeschwindigkeiten von $1\text{-}6 \cdot 10^{-3} \text{ m s}^{-1}$. Die Leistungseinträge sind für Gasleerrohrgeschwindigkeiten von $0,2\text{-}1,5 \cdot 10^{-3} \text{ m s}^{-1}$ im untersuchten Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf vergleichbar (siehe Abschnitt 3.5.3).

5.2.4 Mischzeitcharakteristik

Die Mischzeit (θ_{90}) für eine Mischgüte von 90 % wurde im abiotischen Rührkesselreaktor, im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf und im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf mit 300 g Sera Siporax™ bestimmt. Die Messungen wurden über eine Pulsmessung mit 15 mL einer 280 g L^{-1} NaCl-Lösung in 2,0 L (Rührkesselreaktor) beziehungsweise 2,5 L (Blasensäulenreaktor und Festbettbiofilmreaktor) durchgeführt (siehe Abschnitt 4.5.4). Im Rührkesselreaktor wurde die Rührerdrehzahl von 50 U min^{-1} bis 1.500 U min^{-1} bei einer N_2 -Begasung von $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ variiert. Im Blasensäulenreaktor und Festbettbiofilmreaktor wurde der N_2 -Gasvolumenstrom von $2,5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bis $20 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ verändert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5.18 dargestellt.

Im Rührkesselreaktor wurden bei Rührerdrehzahlen von 50 U min^{-1} bis 1.500 U min^{-1} Mischzeiten von $29 \pm 4 \text{ s}$ bis $6 \pm 1 \text{ s}$ bei einem N_2 -Gasvolumenstrom von $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und $24 \pm 6 \text{ s}$ bis $6 \pm 1 \text{ s}$ bei $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ gemessen.

Im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf wurden für Gasvolumenströme von $2,5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bis $20 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ Mischzeiten von $385 \pm 22 \text{ s}$ (6 %) bis $50 \pm 3 \text{ s}$ (7 %) im Abstrom und von $308 \pm 27 \text{ s}$ (9 %) bis $39 \pm 3 \text{ s}$ (6 %) im Aufstrom ermittelt. Im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf wurden analog Mischzeiten von $177 \pm 3 \text{ s}$ (1 %) bis $42 \pm 4 \text{ s}$ (10 %) im Abstrom und von $174 \pm 4 \text{ s}$ (2 %) bis $30 \pm 2 \text{ s}$ (5 %) im Aufstrom gemessen.

Die Mischzeit bei Standardbedingungen der autotrophen Satzprozesse entspricht im Rührkesselreaktor in etwa sechs Sekunden, im Blasensäulenreaktor 140 s ($5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) oder 85 s ($10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) und im Festbettbiofilmreaktor 80 s ($5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) oder 55 s ($10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

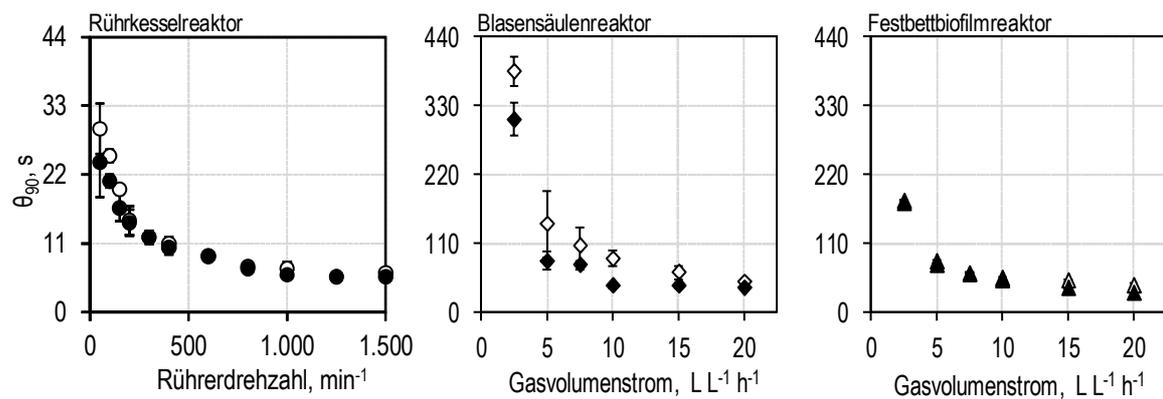


Abbildung 5.18: Mischzeiten (θ_{90}) für eine Mischgüte von 90 % im Rührkesselreaktor ($\circ\bullet$; 2,0 L), im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf ($\diamond\blacklozenge$; 2,5 L) und im Festbettbiofilmreaktor ($\triangle\blacktriangle$; 2,5 L) mit 300 g Sera SiporaxTM, gefüllt mit Leitungswasser: \circ , $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ oder \bullet , $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ N₂-Begasung; $\diamond\triangle$, Messsonde im unteren Bereich des Abstroms (weiß); $\blacklozenge\blacktriangle$, Messsonde im oberen Bereich des Aufstroms. Die Messung bei $15 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ wurde in Duplikaten durchgeführt.

Diskussion

Im Rührkesselreaktor wurden bis zu 64-fach oder 30-fach kürzere Mischzeiten (θ_{90}) als im Blasensäulenreaktor beziehungsweise dem Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf gemessen. Die Mischzeiten (θ_{90}) unterschieden sich im Rührkesselreaktor bei Rührerdrehzahlen kleiner als 200 U min^{-1} in Abhängigkeit von der Begasungsrate. Ab einer Drehzahl von 800 U min^{-1} entsprach die Mischzeit näherungsweise der Ansprechzeit der Messsonde.

Die zwei unterschiedlichen Messpositionen im Blasensäulenreaktor zeigten signifikante Unterschiede bei geringen Gasvolumenströmen. Mit steigender Begasungsrate nahm die Differenz der Mischzeiten (θ_{90}) von 77 s auf 11 s ab und verbesserte dadurch die Homogenisierung. Im Festbettbiofilmreaktor wurden keine Mischzeitunterschiede der Messpositionen festgestellt. Die Zeit zum Erreichen von 90 % der Gleichgewichtskonzentration war im Festbettbiofilmreaktor signifikant kürzer als im Blasensäulenreaktor. Eine mögliche Begründung ist der Effekt des Trägermaterials als statischer Mischer (Chmiel 2011). Die Standardabweichungen sind mit Trägermaterial auch deutlich geringer.

Die Erhöhung der Rührerdrehzahl des Sechs-Blatt-Scheibenrührers am Boden des Reaktors (Totraumvolumen V_{TR}) von 25 U min^{-1} auf 100 U min^{-1} zeigte bei einem N₂-

Gasvolumenstrom von $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ eine Abnahme der Mischzeit (θ_{90}) auf $32 \text{ s} \pm 1 \text{ s}$ im Blasensäulenreaktor und auf $38 \text{ s} \pm 2 \text{ s}$ im Festbettbiofilmreaktor (Daten nicht gezeigt). Die Verwendung von zwei axialen Rührorganen in einer Höhe von 8,0 cm und 16,0 cm im unbegasteten inneren Umlauf bei analogen 100 U min^{-1} senkte die Mischzeit im Blasensäulenreaktor bei einer N_2 -Begasungsrate von $5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ebenfalls auf $42 \text{ s} \pm 3 \text{ s}$ (Daten nicht gezeigt). Die Verwendung von radialen und axialen Rührern im Blasensäulenreaktor und Festbettbiofilmreaktor ermöglichte damit die Variation der Mischzeit im 2,5 L-Reaktor bei bereits sehr geringen Drehzahlen.

Der Vergleich zur Literatur zeigt repräsentative Messdaten. Zhang et. al (2009) bestimmte Mischzeiten von 9 s im Rührkesselreaktor bei 500 U min^{-1} . Mischzeiten von 20-75 s wurden bei deutlich höheren Begasungsraten ($0,2\text{-}5,5 \text{ cm s}^{-1}$) in einem *Gas-lift*-Reaktor erreicht (Merchuk et al. 1996).

5.2.5 Verweilzeitverhalten im Rieselbettbiofilmreaktor

Der Rieselbettbiofilmreaktor hat zwei Hauptbestandteile:

- i. das Festbett (1,06 L) und
- ii. das Flüssigkeitsreservoir (466 mL)

Beide Bereiche wiesen ein unterschiedliches Verweilzeitverhalten auf. Zur Beschreibung wurden die Verweilzeitdichte- und Verweilzeitsummenfunktion verwendet (siehe Abschnitt 3.5.5). Die Untersuchungen wurden nach Abschnitt 4.5.5 über Pulsmessungen mit 15 mL einer 280 g L^{-1} NaCl-Lösung durchgeführt. Diese wurden bei Zulaufsraten des Prozessmediums für *C. aceticum* von 1 mL min^{-1} , 2 mL min^{-1} , 3 mL min^{-1} und 10 mL min^{-1} untersucht. Die Berechnung für das Festbett erfolgte ohne Bezugsvolumen über den Vergleich von Pulsmessungen mit und ohne Festbett (vergleiche Gleichung 4-13). Das Verweilzeitverhalten im Gesamtsystem wurde über die Annahme eines idealen Rührkesselverhaltens im Flüssigkeitsreservoir berechnet (vergleiche Abschnitt 4.5.5). Die Verweilzeitspektren für das Festbett und das Gesamtsystem sind in Abbildung 5.19 dargestellt.

Die mittlere Verweilzeit im Festbett und im Gesamtsystem sowie die Bodensteinzahl im Festbett sind in Tabelle 5.4 zusammengefasst.

Tabelle 5.4: Bodensteinzahl B_o , mittlere Geschwindigkeit (\bar{u}) und mittlere hydraulische Verweilzeit (\bar{t}) im Festbett sowie im Gesamtsystem des Rieselbettbiofilmreaktors

| Zulauftrate, mL min^{-1} | Festbett | | | Gesamtsystem |
|--------------------------------------|--------------|---|------------------|------------------|
| | B_o , - | \bar{u} , 10^{-5} m s^{-1} | \bar{t} , h | \bar{t} , h |
| 1 | 9,70 | 1,04 | 2,99 | 10,26 |
| 2 | 10,73 | 1,62 | 1,92 | 5,50 |
| 3 | 11,01 | 2,68 | 1,16 | 3,58 |
| 10 | 6,03 | 12,25 | 0,25 | 1,00 |

Diskussion

Die Erhöhung der Zulauftrate zeigte erwartungsgemäß eine Erhöhung der mittleren Durchströmungsgeschwindigkeit durch das Festbett des Rieselbettbiofilmreaktors. Die Steigerung zeigte zwischen 1 mL min^{-1} und 3 mL min^{-1} näherungsweise einen linearen Zusammenhang zur Zulauftrate. Für 10 mL min^{-1} wurden deutlich höhere Geschwindigkeiten gemessen, sodass der lineare Zusammenhang keine Gültigkeit mehr hat.

Die Geschwindigkeit war um 28 % schneller als erwartet. Auch die Bodensteinzahl war mit 6,03 für alle untersuchten Bedingungen bei 10 mL min^{-1} am geringsten. Von 1 mL min^{-1} bis 3 mL min^{-1} stieg die Bodensteinzahl mit der Zulauftrate an. Dieses Phänomen kann möglicherweise über den Flüssigfilm im Festbett des Rieselbettbiofilmreaktors erklärt werden: Bei steigendem Medienstrom nimmt die Flüssigfilmdicke stetig zu. Zwischen 3 mL min^{-1} und 10 mL min^{-1} könnte die maximale Flüssigfilmdicke erreicht und das Festbett geflutet worden sein. Dadurch könnte der Transportwiderstand geringer und die Geschwindigkeit größer geworden sein. Als Konsequenz war auch die axiale Rückvermischung größer und dadurch die Bodensteinzahl kleiner. Die optimale Zulauftrate für den Rieselbettbiofilmreaktor ist auf Grundlage der Verweilzeitmessungen größer oder gleich 3 mL min^{-1} und kleiner als 10 mL min^{-1} .

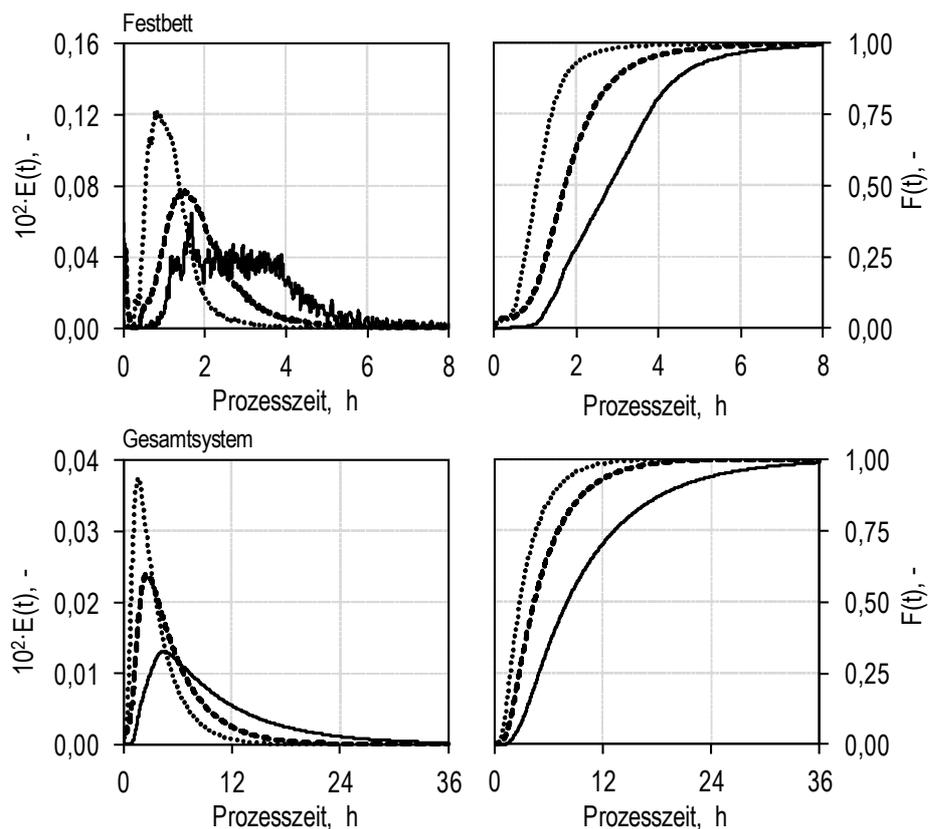


Abbildung 5.19: Verweilzeitdichte- ($E(t)$) und Verweilzeitsummenfunktion ($F(t)$) für unterschiedliche Zulaufraten mit Prozessmedium für *C. aceticum* im Festbett (oben) und im Gesamtsystem (unten) des Rieselbettbiofilmreaktors mit 300 g Sera Siporax™. Zulaufraten: 1 mL min^{-1} (Volllinie); 2 mL min^{-1} (Strichlinie); 3 mL min^{-1} (Punktlinie).

Die mittlere hydraulische Verweilzeit ist für die untersuchten Bedingungen im Gesamtsystem zwischen 2,8 und 4,0 Mal so groß wie im Festbett des Reaktors.

6 Gasfermentationen in Suspensionsreaktoren²

Nach der Gestaltung und der Charakterisierung des Mehrzweckbioreaktors wurden autotrophe Satzprozesse mit *Clostridium aceticum* und *Clostridium carboxidivorans* zunächst in den Suspensionsreaktoren Rührkesselreaktor und Blasenäulenreaktor mit innerem Umlauf durchgeführt. *C. aceticum* ist mit Acetat als Primärstoffwechselprodukt und mit seiner Fähigkeit, sowohl CO als auch CO₂ als Kohlenstoffquelle zu nutzen, ein repräsentatives acetogenes Bakterium für die konventionelle Gasfermentation. *C. carboxidivorans* ist im Gegensatz dazu ein klassisches *Clostridium*, das über eine pH-induzierte solventogene Produktionsphase Alkohole nach vorangegangener Säurebildung (acidogene Phase) synthetisieren kann (Details siehe Abschnitt 3.1).

6.1 Satzprozesse mit *Clostridium aceticum*

Autotrophe Satzprozesse wurden mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen (30 °C; pH 8; 1 bar) im Rührkesselreaktor ($V_R = 2,0$ L) und im Blasenäulenreaktor mit innerem Umlauf ($V_R = 2,5$ L) bei kontinuierlicher Begasung ($G_{\text{ein}} = 10$ L L⁻¹ h⁻¹) mit zwei Gasmischungen durchgeführt. Zum einen wurde ein CO-haltiges (CO:N₂ 1:9), zum anderen ein CO₂-haltiges Gasmisch (CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) gewählt. Für Untersuchungen mit CO als Substrat wurde NaHCO₃ mit der äquimolaren Na⁺-Ionenkonzentration durch NaCl im Medium ersetzt, damit gebundenes CO₂ und damit eine weitere Kohlenstoffquelle nicht im Prozessmedium vorgelegt war. Der Rührkesselreaktor wurde bei einer Rührerdrehzahl von 1.500 U min⁻¹ betrieben. Diese entsprach einem volumetrischen Leistungseintrag von fast 14 kW m⁻³. Es wurde von idealer Rückvermischung ausgegangen. Die Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten wurden bei diesen Bedingungen auf 1.726 h⁻¹ für CO und 1.372 h⁻¹ für H₂ geschätzt (siehe Abschnitt 5.2.1). Der volumetrische Leistungseintrag im Blasenäulenreaktor mit innerem Umlauf lag im Gegensatz dazu zwischen 7 W m⁻³ und 8 W m⁻³. Bei den untersuchten Standardbedingungen waren die Mischzeit für eine Mischgüte von 90 % 1,4 min ± 0,2 min und die Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten 89,6 h⁻¹ ± 6,5 h⁻¹ für CO und 71,2 h⁻¹ ± 5,2 h⁻¹ für H₂. Der Verlauf der Satzprozesse ist in Abbildung 6.1 und Abbildung 6.2 dargestellt.

Die Satzprozesse im Blasenäulenreaktor mit innerem Umlauf wurden bei Standardbedingungen (30 °C; pH 8; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 10$ L L⁻¹ h⁻¹) und der CO₂-haltigen Gasmischung (CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) in Triplikaten durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit autotropher Prozesse in dem konvertierbaren Bioreaktor zu quantifizieren. Die Prozessdaten sind in Abbildung A.24 und Tabelle A.19 im Anhang zusammengefasst.

² Teile dieses Kapitels sind publiziert in: Riegler P, Chrusciel T, Mayer A, Doll K, Weuster-Botz D (2019): Reversible retrofitting of a stirred-tank bioreactor for gas-lift operation to perform synthesis gas fermentation studies. *Biochemical Engineering Journal*, 2019, 141:89–101. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.09.021>

Bei der Verwendung eines CO-haltigen Gasgemisches (CO:N₂ 1:9) zeigte *C. aceticum* exponentielles Wachstum für 23,5 h im Rührkesselreaktor und 3,5 h im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf. Die maximale Biotrockenmassekonzentration (BTM_{max}) wurde mit 3,16 g L⁻¹ nach 45 h im Rührkesselreaktor und 0,46 g L⁻¹ nach 72 h im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf erreicht. Nach der exponentiellen Wachstumsphase wurde in beiden Reaktoren ein zeitlich begrenztes lineares Wachstum beobachtet.

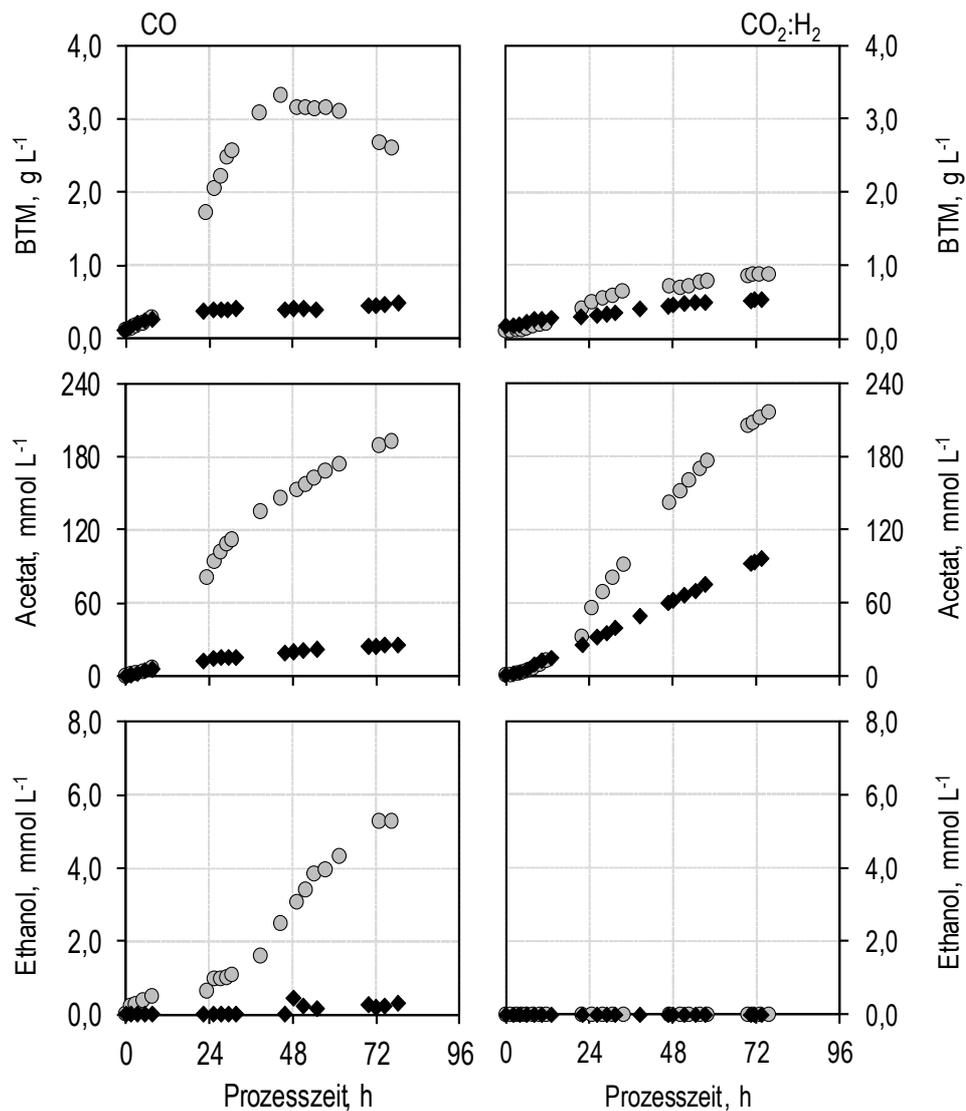


Abbildung 6.1: Zeitlicher Verlauf der Biotrockenmassekonzentration (BTM), der Acetat- sowie der Ethanolkonzentration autotropher Satzprozesse mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen (30 °C; pH 8; 1 bar) in zwei unterschiedlichen Suspensionsreaktoren: O, Rührkesselreaktor ($V_R = 2$ L) bei 1.500 U min^{-1} ($(P/V)_{STR} \sim 14 \text{ kW m}^{-3}$); ◆, Blasensäulenreaktor ($V_R = 2,5$ L) mit innerem Umlauf ($(P/V)_{GLR} = 7-8 \text{ W m}^{-3}$). Die Untersuchungen wurden mit kontinuierlicher Begasung ($G_{ein} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) und zwei Gasmischungen durchgeführt: links, CO:N₂ 1:9; rechts, CO₂:H₂:N₂ 3:12:10.

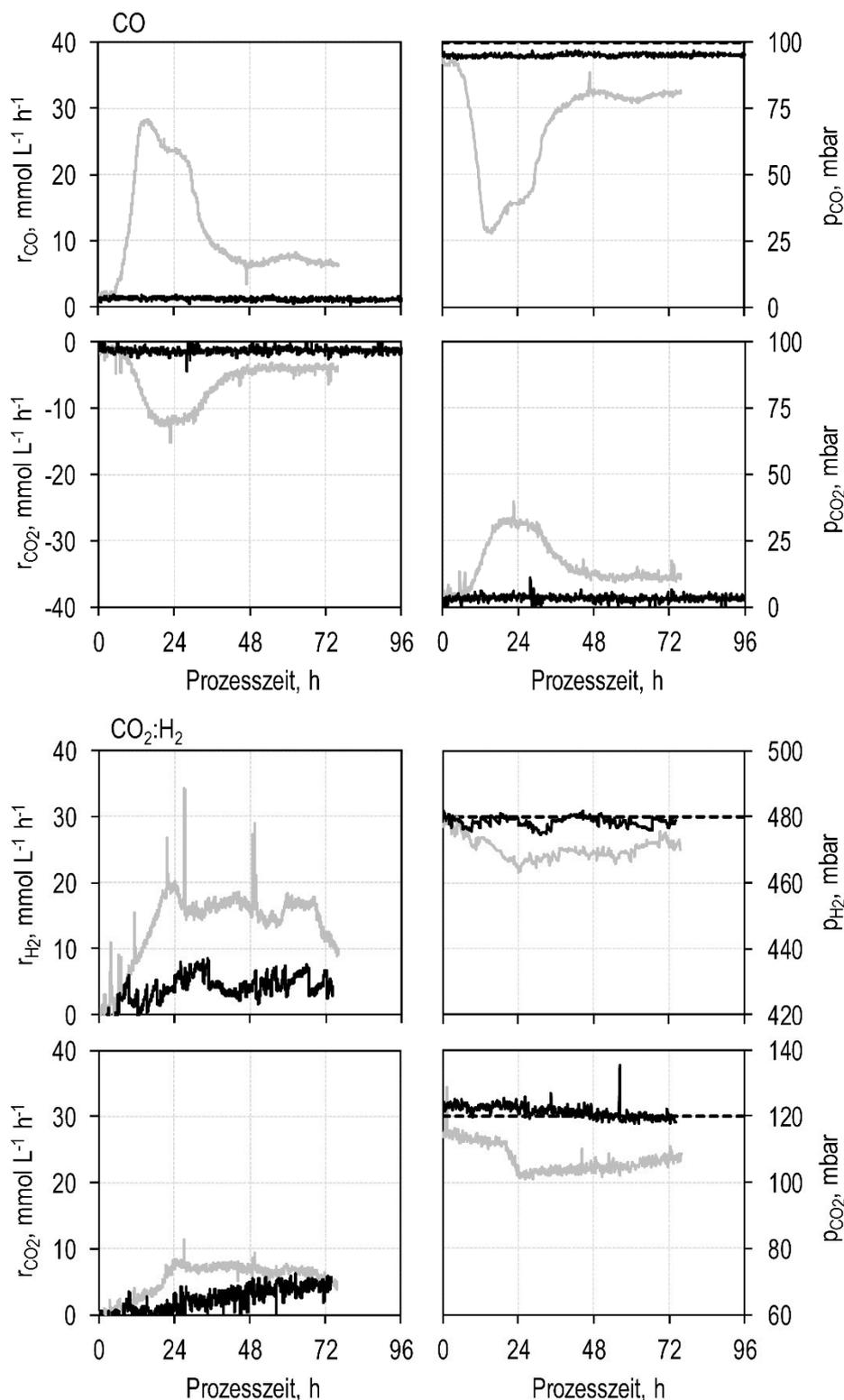


Abbildung 6.2: Zeitlicher Verlauf der Aufnahme- (positiv) oder Bildungsrate (negativ) (r_i) und der Partialdrücke (p_i) der Gase CO, H₂ und CO₂ autotropher Satzprozesse mit *C. acetivum* bei Standardbedingungen (30 °C; pH 8; 1 bar) in zwei unterschiedlichen Suspensionsreaktoren: hellgrau, Rührkesselreaktor ($V_R = 2,0$ L) bei 1.500 U min⁻¹ ($(P/V)_{STR} \sim 14$ kW m⁻³); schwarz, Blasensäulenreaktor ($V_R = 2,5$ L) mit innerem Umlauf ($(P/V)_{GLR} = 7-8$ W m⁻³). Die Untersuchungen wurden mit kontinuierlicher Begasung ($G_{ein} = 10$ L L⁻¹ h⁻¹) von unterschiedlichen Gasmischungen durchgeführt: oben, CO:N₂ 1:9; unten, CO₂:H₂:N₂ 3:12:10. Die gestrichelten Horizontalen kennzeichnen die Eingangspartialdrücke der Gase.

Die Konzentration des Stoffwechselprodukts Acetat zeigte in beiden Reaktoren einen ähnlichen Verlauf. Im Rührkesselreaktor wurden allerdings mit 190 mmol L^{-1} ($11,4 \text{ g L}^{-1}$) nach etwa drei Tagen ($\sim 72 \text{ h}$) Prozesszeit bei konstanten Betriebsbedingungen und kontinuierlicher Begasung eine deutlich höhere Acetatkonzentration als im Blasensäulenreaktor mit 25 mmol L^{-1} ($1,5 \text{ g L}^{-1}$) detektiert. Die Ethanolkonzentration im Rührkesselreaktor erreichte nach etwa drei Tagen ($\sim 72 \text{ h}$) einen Maximalwert von $5,3 \text{ mmol L}^{-1}$ ($0,24 \text{ g L}^{-1}$), während im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf nur Spuren von $0,02 \text{ mmol L}^{-1}$ ($0,01 \text{ g L}^{-1}$) Ethanol quantifiziert wurden.

Im Rührkesselreaktor konnten maximale CO-Aufnahmeraten von $28,4 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ bei CO-Partialdrücken von minimal 28 mbar erreicht werden. Durch die Umsetzung von CO zu Acetat wurde analog zur CO-Aufnahme CO_2 im stöchiometrischen Verhältnis 1:2 (siehe Reaktionsgleichung 3-4) produziert. Im Blasensäulenreaktor konnte kaum eine CO-Aufnahme oder eine CO_2 -Bildung gemessen werden.

Bei der Verwendung eines CO_2 : H_2 -haltigen Gasgemisches (CO_2 : H_2 : N_2 3:12:10) wurde im Rührkesselreaktor für 10,1 h und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf für 6,5 h exponentielles Wachstum unmittelbar nach der Inokulation beobachtet. Innerhalb von 72 h autotrophen Satzverfahren konnten maximale Biotrockenmassekonzentrationen von $0,9 \text{ g L}^{-1}$ und $0,5 \text{ g L}^{-1}$ erreicht werden. Nach etwa drei Tagen ($\sim 72 \text{ h}$) wurden maximale Acetatkonzentrationen von 207 mmol L^{-1} ($12,4 \text{ g L}^{-1}$) im Rührkesselreaktor sowie 91 mmol L^{-1} ($5,5 \text{ g L}^{-1}$) im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf quantifiziert. Ethanol wurde über die gesamte Prozesszeit in beiden Reaktoren nicht detektiert. Während des Satzprozesses wurden maximale H_2 -Aufnahmeraten von $20 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und $8 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ sowie CO_2 -Aufnahmeraten von $9 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und $6 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ für den Rührkesselreaktor beziehungsweise den Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf gemessen.

Der autotrophe Satzprozess wurde im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf in Triplikaten durchgeführt. Die exponentielle Wachstumsrate (μ_{exp}), die maximale Biotrockenmassekonzentration und die Acetatkonzentration nach etwa drei Tagen ($\sim 72 \text{ h}$) zeigten eine Standardabweichung von 5 %, 8 % und 3 %. In den Triplikaten wurde nach der exponentiellen Wachstumsphase eine lineare Acetatbildungsrate von $1,29 \pm 0,05 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (4 %) beobachtet.

Diskussion

Die Zeitverläufe der Biotrockenmasse- und der Stoffwechselmetabolitkonzentrationen Acetat und Ethanol bei denselben Betriebsbedingungen mit CO als Substrat zeigten im Rührkesselreaktor und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf signifikante Unterschiede. Nach etwa drei Tagen ($\sim 72 \text{ h}$) wurde im Rührkesselreaktor die 7,5-fache Acetatkonzentration bei einer 6,9-fachen maximalen Biotrockenmassekonzentration erreicht.

Eine mögliche Erklärung könnten geringere CO-Gas-Flüssig-Stofftransportraten (COTR) im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf im Vergleich zum Rührkesselreaktor aufgrund eines geringeren volumetrischen Leistungseintrags (0,06 %) und einen daraus resultier-

enden niedrigeren Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten (5,19 %) sein. Die Gas-Flüssig-Stofftransportrate für CO (Gleichung 3-32) ist, für den Extremfall, dass die CO-Gelöstkonzentration zum Zeitpunkt t gleich Null ist, maximal. Mit der maximalen CO-Gelöstkonzentration an der Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche (Gleichung 3-34) bei den untersuchten Standardbedingungen (30°C , $p_{\text{CO}} \approx 100 \text{ mbar}$) im Rührkesselreaktor ist $\text{COTR}_{\text{max}} \approx 152 \text{ mmol CO L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf $\text{COTR}_{\text{max}} \approx 8 \text{ mmol CO L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Durch eine höhere maximale Gas-Flüssig-Stofftransportrate für CO im Rührkesselreaktor konnte *C. aceticum* im Rührkesselreaktor vermutlich länger exponentiell wachsen. Diese Hypothese wird durch das frühere Ende der exponentiellen und den früheren Beginn der linearen Wachstumsphase im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf gestützt. Lineares Wachstum tritt bei Mikroorganismen in der Regel dann auf, wenn zumindest eine Nährstoffkomponente limitierend ist (vergleiche Abschnitt 3.6.2, Abbildung 3.20). Da die Untersuchungen mit Ausnahme der Bioreaktoreigenschaften bei identischen Bedingungen durchgeführt wurden, sind limitierende Medienkomponenten zu Beginn der Untersuchungen auszuschließen. Die geringeren maximalen CO-Gas-Flüssig-Stofftransportraten zeigten im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf kaum detektierbare CO-Aufnahmeraten (r_{CO}). Die Bildung des Stoffwechselprodukts CO_2 konnte trotz messbarer Acetatbildung vermutlich aufgrund seiner hohen Löslichkeit im wässrigen Medium im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf nicht detektiert werden.

Ein weiterer Effekt bei den Untersuchungen zur autotrophen Umsetzung von CO mit *C. aceticum* ist eine CO-Substratüberschussinhibierung in beiden Bioreaktoren. Mayer *et al.* (2018) zeigte eine starke CO-Überschussinhibierung von *C. aceticum* bei einem CO-Partialdruck von 100 mbar bei idealer Rückvermischung im Rührkesselreaktor. Der optimale mittlere CO-Partialdruck wurde mit $\bar{p}_{\text{CO,opt}} = 5,4 \text{ mbar}$ angegeben. Bei der autotrophen Umsetzung von CO mit *C. aceticum* im Rührkesselreaktor nahm der CO-Partialdruck über die Prozesszeit bis zu 28 mbar ab und näherte sich dabei dem optimalen mittleren Partialdruck an. Durch geringere Partialdrücke (bei weiterhin $p_{\text{CO}} > \bar{p}_{\text{CO,opt}}$) im Rührkesselreaktor stieg die spezifische Wachstumsrate von *C. aceticum* gemäß dem Kurvenverlauf von Abbildung 3.20, wodurch *C. aceticum* schneller wuchs. Die formalkinetische Beschreibung der Substratüberschussinhibierung von *C. aceticum* ist nur bei Biotrockenmassekonzentrationen kleiner $0,5 \text{ g L}^{-1}$ gültig (Mayer *et al.* 2018). Die CO-Substratüberschussinhibierung könnte somit zu den signifikanten Unterschieden der zeitlichen Verläufe der Biotrockenmassekonzentration und daraus folgenden Unterschieden in den Produktkonzentrationen beitragen.

Der Vergleich der autotrophen Satzprozesse im Rührkesselreaktor und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf mit einem $\text{CO}_2\text{:H}_2$ -Gasgemisch zeigte eine 1,9-fache maximale Biotrockenmasse- und eine 2,3-fache Acetatkonzentration nach etwa drei Tagen ($\sim 72 \text{ h}$). Der Unterschied der Prozessleistung von *C. aceticum* in den beiden Reaktoren ist deutlich geringer als mit CO als Substrat.

Das Reduktionsmittel H_2 war bei der autotrophen Umsetzung eines $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2$ -haltigen Gasgemisches die schwerlösliche Substratkomponente. Der H_2 -Gas-Flüssig-Stoff-

transport ist nach Gleichung 3-31 sowohl vom Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten als auch vom Konzentrationsgradienten abhängig. Ersterer war im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf für Wasserstoff um 20 % geringer als für CO. Da *C. aceticum* bei hohen H₂-Partialdrücken, im Gegensatz zu CO, keine extremen Inhibierungseffekte aufwies, konnten höhere H₂- als CO- Partialdrücke untersucht werden (Mayer 2018). Die maximale molare Löslichkeit von H₂ bei einem Partialdruck von 480 mbar ist nach Gleichung 3-34 und Tabelle 3.6 in salzfreiem Medium bei 30 °C 4,1 mal so hoch wie bei einem CO-Partialdruck von 100 mbar. Die maximale H₂-Gas-Flüssig-Stofftransportrate (HTR_{max}) war, unter Annahme des Extremfalles, dass kein H₂ in Lösung vorliegt, gleich HTR_{max} ≈ 498 mmol H₂ L⁻¹ h⁻¹ im Rührkessel und HTR_{max} ≈ 26 mmol H₂ L⁻¹ h⁻¹ im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf. Die maximale Gas-Flüssig-Stofftransportrate des limitierenden Substrats H₂ (p_{H₂} = 480 mbar) war demnach 3,3 mal so groß wie für CO (p_{CO} = 100 mbar).

Die H₂-Aufnahmerate (r_{H₂}) war im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf über den gesamten Prozessverlauf geringer als die maximale H₂-Gas-Flüssig-Stofftransportrate. Dennoch wurde im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf nach 6,5 h lineares Wachstum von *C. aceticum* beobachtet. Im Rührkesselreaktor zeigte *C. aceticum* frühestens ab 10,1 h lineares Wachstum. Dies deutet auf eine frühzeitige H₂-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung im Blasensäulenreaktor hin, da eine Medienlimitierung aufgrund identischer Reaktionsbedingungen im Rührkesselreaktor auszuschließen ist. Eine Erklärung dafür, dass die H₂-Aufnahmerate trotz vermuteter H₂-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung nicht erreicht wurde, könnten begaste und unbegaste Bereiche im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf sein. Da 0,93 L des Arbeitsvolumens (V_R = 2,5 L) unbegast waren, konnte in diesem Bereich kein H₂-Gas-Flüssig-Stofftransport stattfinden. *C. aceticum* könnte während der Zirkulation durch den unbegasteten Abstrom über das Totraumvolumen zum begasteten Bereich die gesamte Menge an gelöstem H₂ verstoffwechselt haben.

Die Prozessverläufe zeigten vermutlich aufgrund der höheren maximalen H₂- im Vergleich zu CO-Gas-Flüssig-Stofftransportraten ein späteres Ende der exponentiellen Wachstumsphase von *C. aceticum* nach 6,5 h mit CO₂:H₂ als Substrat als im Satzprozess mit CO als Substrat (t_{exp} = 3,5 h).

Beim Vergleich von CO und CO₂:H₂ als Substrat im Rührkesselreaktor, genauso wie im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf, wurden mit CO höhere maximale Biotrockenmasse- und mit CO₂:H₂ höhere maximale Acetatkonzentrationen erreicht. Eine mögliche Erklärung sind größere Änderungen der Gibbs-Energie für die Synthese von einem Mol Acetat mit CO (ΔG⁰ = -155 kJ mol⁻¹) im Vergleich zu CO₂:H₂ (ΔG⁰ = -74 kJ mol⁻¹) als Substrat (Fernández-Naveira *et al.* 2017b). Durch höhere Adenosintriphosphatausbeuten pro Elektronenpaar bei der Umsetzung von CO könnten geringere Acetatbildungsraten für den Aufbau von Biomasse ausreichend gewesen sein (Bertsch und Müller 2015). Dadurch waren auch höhere Biotrockenmassekonzentrationen bei geringeren Acetatkonzentrationen mit CO möglich. Mit CO₂:H₂ als Substrat muss als erster Schritt des reduktiven Acetyl-Coenzym A-Stoffwechselweges CO₂ reduziert werden. Eine erhöhte Acetatbildung

ist dabei womöglich aufgrund geringerer Adenosintri-phosphatausbeuten pro Mol Acetat und des Bedarfs der Regeneration an Reduktionsäquivalenten, die bei der Reduktion von CO_2 verbraucht werden, für den Aufbau von Biomasse notwendig. Dies wurde bereits für andere acetogene Mikroorganismen beobachtet (Savage *et al.* 1987; Daniel *et al.* 1990; Ragsdale und Pierce 2008).

Im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf wurde im Vergleich zum Rührkesselreaktor mit CO als Substrat kaum Ethanol produziert. Mit $\text{CO}_2\text{:H}_2$ als Substrat konnte in beiden Reaktoren keine Ethanolproduktion detektiert werden. Hohe CO-Partialdrücke zeigten bei *C. aceticum* starke Inhibierungseffekte (Mayer *et al.* 2018). Eine mögliche Begründung der beobachteten Alkoholproduktion von *C. aceticum* sind ungünstige CO-Gelöstkonzentrationen im Rührkesselreaktor durch den schnelleren Gas-Flüssig-Stofftransport. Diese könnten eine Ethanolproduktion fördern, um überschüssige Reduktionsäquivalente möglichst rasch zu verstoffwechseln (Ramió-Pujol *et al.* 2015a). Im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf könnten, im Falle einer Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung, aufgrund geringerer CO-Gelöstkonzentrationen keine ungünstigen Bedingungen herrschen, was die geringere Ethanolbildung begründen könnte. Eine andere Begründung könnten höhere Biotrockenmassekonzentrationen im Rührkesselreaktor im Vergleich zum Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf sein.

Die untersuchten Prozessgrößen in den Satzprozess-Triplikaten im Blasensäulenreaktor zeigten eine sehr gute Übereinstimmung, weshalb von einer guten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse im konvertierbaren Bioreaktor ausgegangen wird.

Der Vergleich von Untersuchungen mit *C. aceticum* aus der Literatur mit dieser Arbeit zeigte vergleichbare Biotrockenmasse- und Acetatkonzentrationen wie im Blasensäulenreaktor von $37,8 \text{ mmol L}^{-1}$ in Serumflaschen bei einem CO-Initialkopfraumpartialdruck von 1.571 mbar nach drei Tagen (Sim *et al.* 2007). Autotrophe Satzprozesse im kontinuierlich begasten ideal durchmischten Rührkesselreaktor zeigten ähnliche Biotrockenmasse- und Acetatkonzentrationen von $2,0 \text{ g L}^{-1}$ und $1,5 \text{ g L}^{-1}$ sowie 261 mM und 291 mM im 1 L-Maßstab, wie im 2 L-Maßstab des Mehrzweckbioreaktors (Mayer und Weuster-Botz 2017).

6.2 Satzprozesse mit *C. carboxidivorans*

Mit *C. carboxidivorans* wurden autotrophe Satzprozesse bei Standardbedingungen ($37 \text{ }^\circ\text{C}$; pH_0 6; 1 bar) ohne pH-Kontrolle im kontinuierlich begasten ($G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}:\text{CO}_2$ 4:1) Rührkesselreaktor ($V_R = 2,0 \text{ L}$) und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf ($V_R = 2,5 \text{ L}$) durchgeführt und verglichen. Der Rührkesselreaktor wurde bei einer Drehzahl von 1.200 U min^{-1} betrieben und dabei ideal durchmischt. Das entspricht einem Leistungseintrag von fast $10,5 \text{ kW m}^{-3}$ und einem abgeschätzten Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten von 989 h^{-1} für CO. Der Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf zeigte bei den untersuchten Betriebsbedingungen einen volumetrischen Leistungseintrag von 4 W m^{-3} , einen volumetrischen Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten von $49,7 \text{ h}^{-1} \pm 3,8 \text{ h}^{-1}$ für CO sowie eine Mischzeit (θ_{90}) von maximal $140 \text{ s} \pm 54 \text{ s}$. Mit einem

Myoglobin-Test (siehe Abschnitt 4.3) konnte die CO-Gelöstkonzentration über die gesamte Prozesszeit sowohl im Rührkesselreaktor als auch im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf im unteren Bereich des Bioreaktors gemessen werden. Im Rührkesselreaktor war dieser Bereich ideal durchmischt, im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf war dies der Bereich mit der schlechtesten Versorgung mit dem Gasgemisch (Totraumvolumen (V_{TR}): siehe Abbildung 5.4). Die Prozessverläufe der Biotrockenmassekonzentration, des pH und der Produkte Acetat, Ethanol, Butyrat, 1-Butanol, 1-Hexanol sowie die CO-Gelöstkonzentration sind in Abbildung 6.3 dargestellt. Die CO-Aufnahmeraten, die CO₂-Bildungsraten sowie deren Partialdrücke sind über die Prozesszeit in Abbildung 6.4 gezeigt.

Die Dauer der exponentiellen Wachstumsphase (t_{exp}) von *C. carboxidivorans* betrug 12,4 h im Rührkesselreaktor und 4,6 h im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf. Es wurden maximale Biotrockenmassekonzentrationen von 0,48 g L⁻¹ sowie 0,32 g L⁻¹ erreicht. Die CO-Gelöstkonzentration nahm im Blasensäulenreaktor in 4,8 h auf einen Wert unterhalb der Nachweisgrenze des Myoglobin-Tests ($c_{CO} \approx 0$ mM) ab. Im Rührkesselreaktor wurden am Ende der exponentiellen Wachstumsphase minimale CO-Gelöstkonzentrationen von 0,47 mM CO gemessen. Die CO-Aufnahmerate erreichte Maximalwerte von 14 mmol L⁻¹ h⁻¹ im Rührkesselreaktor und 7 mmol L⁻¹ h⁻¹ im Blasensäulenreaktor und analog dazu CO₂-Bildungsraten im stöchiometrischen Verhältnis von 2:1. Acetat und Ethanol wurden in beiden Reaktoren während der ersten 24 h unter Abnahme des pH primär gebildet. Anschließend wurde die Bildung längererkettiger Säuren (Butyrat, Hexanoat) in geringen Mengen gemessen (Hexanoatkonzentrationen nicht gezeigt). Acetat, Butyrat und Hexanoat wurden bei niedrigem pH zu den Alkoholen Ethanol, 1-Butanol und 1-Hexanol reduziert. Dadurch erfolgte ein Anstieg des pH. Die wichtigsten Prozessparameter und die Konzentrationen der Stoffwechselmetabolite nach etwa vier Tagen (~96 h) Satzprozess sind in Tabelle 6.1 zusammengefasst.

Tabelle 6.1: Produktkonzentrationen nach etwa vier Tagen (~96 h) Satzprozess mit *C. carboxidivorans* bei Standardbedingungen (37°C; pH₀ 6; 1 bar; $G_{ein} = 5$ L L⁻¹ h⁻¹; CO:CO₂ 4:1) ohne pH-Kontrolle im Rührkesselreaktor ($V_R = 2,0$ L) und Blasensäulenreaktor ($V_R = 2,5$ L).

| Produkt | Rührkesselreaktor | Blasensäulenreaktor |
|-----------|-------------------|---------------------|
| | c, mM | c, mM |
| Acetat | 3,6 | 7,2 |
| Ethanol | 25,7 | 32,3 |
| Butyrat | 0,9 | 1,1 |
| 1-Butanol | 10,5 | 5,1 |
| 1-Hexanol | 0,9 | 0,9 |

Diskussion

Die Prozessleistung des acetogenen Bakteriums *C. carboxidivorans* zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungen im Rührkesselreaktor und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf. Die exponentielle Wachstumsphase endete im Blasensäulenreaktor bereits 7,8 h früher als im Rührkesselreaktor. Die Quantifizierung der CO-Gelöstkonzentration zeigte, dass am Ende der exponentiellen Wachstumsphase nach 4,8 h an der Messposition kein CO in Lösung vorlag.

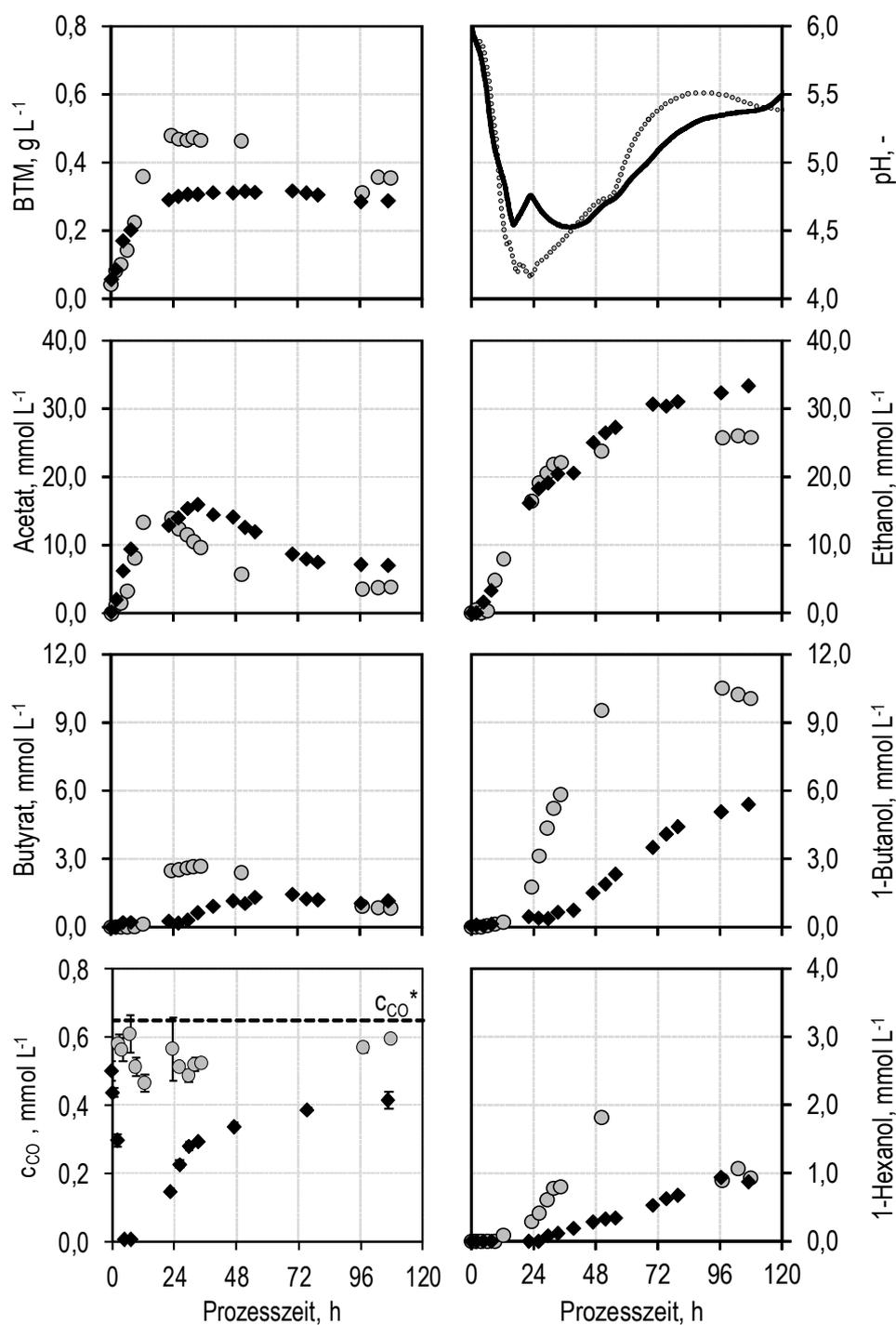


Abbildung 6.3: Zeitlicher Verlauf der Biotrockenmassekonzentration (BTM), des pH, der Produktkonzentrationen (Acetat, Ethanol, Butyrat, 1-Butanol und 1-Hexanol) sowie der CO-Gelöstkonzentration (c_{CO}) autotropher Satzprozesse mit *C. carboxidivorans* bei Standardbedingungen ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$; pH₀ 6 unkontrolliert; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 5\text{ L L}^{-1}\text{ h}^{-1}$; $\text{CO}:\text{CO}_2$ 4:1) in zwei unterschiedlichen Suspensionsreaktoren: \circ , Rührkesselreaktor ($V_R = 2\text{ L}$) bei 1.200 U min^{-1} ($(P/V)_{\text{STR}} = 10,5\text{ kW m}^{-3}$); \blacklozenge , Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf ($(P/V)_{\text{GLR}} = 4\text{ W m}^{-3}$). Die gestrichelte Horizontale kennzeichnet die maximale CO-Gelöstkonzentration (c_{CO}^*) bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ in salzfreiem Wasser nach Gleichung 3-34. Die CO-Gelöstkonzentration wurde in den ersten 96 h in Triplikaten und dann in Duplikaten gemessen.

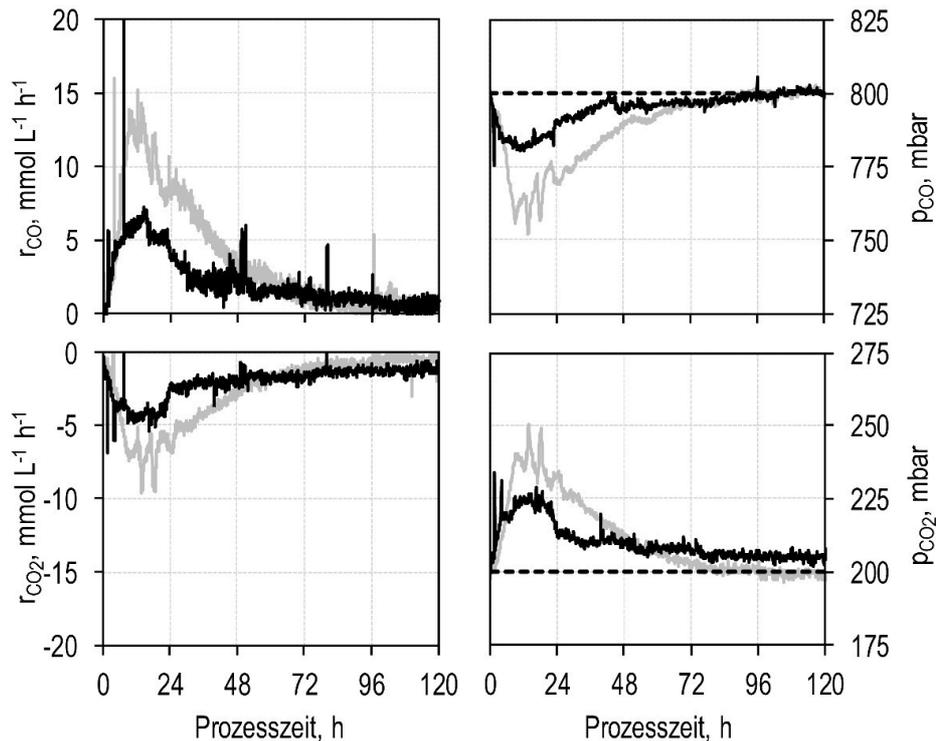


Abbildung 6.4: Zeitlicher Verlauf der Aufnahme- oder Bildungsrate (negative Aufnahme- oder Bildungsrate r_i) und der Partialdrücke (p_i) der Gase CO und CO₂ autotropher Satzprozesse mit *C. carboxidivorans* bei Standardbedingungen (37 °C; pH₀ 6; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; CO:CO₂ 4:1) ohne pH-Kontrolle in zwei unterschiedlichen Suspensionsreaktoren: hellgrau, Rührkesselreaktor (2,0 L) bei 1.200 U min^{-1} ($(P/V)_{\text{STR}} = 10.469 \text{ W m}^{-3}$); schwarz, Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf ($(P/V)_{\text{GLR}} = 4 \text{ W m}^{-3}$). Die gestrichelten Horizontalen kennzeichnen die Eingangs-Partialdrücke des Gasvolumenstroms.

Die CO-Limitierung entstand – wie bereits für autotrophe Satzprozesse mit *C. aceticum* diskutiert – aufgrund geringerer Leistungseinträge und daraus folgend geringerer Gas-Flüssig-Stofftransportraten im Blasensäulenreaktor im Vergleich zum Rührkesselreaktor. Untersuchungen bei geringeren Mischzeiten zeigten keine Verlängerung der exponentiellen Wachstumsphase oder Erhöhung der maximalen Biotrockenmasskonzentrationen (Daten nicht gezeigt). Somit unterscheidet sich der Prozess primär durch den geringeren volumetrischen Leistungseintrag, den Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten und damit den Gas-Flüssig-Stofftransport.

Die Gas-Flüssig-Stofftransportrate für CO (COTR, Gleichung 3-32) ist, für den Extremfall, dass die CO-Gelöstkonzentration zum Zeitpunkt t gleich Null ist, maximal. Mit der maximalen CO-Gelöstkonzentration an der Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche (Gleichung 3-34) bei den untersuchten Standardbedingungen (37°C, $p_{CO} \approx 800 \text{ mbar}$) im Rührkesselreaktor ist $\text{COTR}_{\text{max}} \approx 641 \text{ mmol CO L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf $\text{COTR}_{\text{max}} \approx 32 \text{ mmol CO L}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Die CO-Aufnahmeraten (r_{CO}) waren während des Satzprozesses im Rührkesselreaktor mit Maximalwerten von $14 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ deutlich geringer als die maximale Gas-Flüssig-Stofftransportrate für CO ($r_{CO} \ll \text{COTR}_{\text{max}}$). Im Rührkesselreaktor ist aufgrund hoher Leistungseinträge (P/V) und dadurch hoher Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_{L,a}$)

sowie hoher maximaler Gas-Flüssig-Stofftransportraten für CO ($COTR_{max}$) bei idealer Rückvermischung von keiner CO-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung auszugehen. Dies konnte mit der Quantifizierung der CO-Gelöstkonzentration über den Myoglobin-Test bestätigt werden ($c_{CO} \geq 0,47 \text{ mM}$).

Im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf wurden während des Satzprozesses durchweg geringere CO-Aufnahmeraten ($r_{CO,max} \approx 7 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) als die maximale Gas-Flüssig-Stofftransportrate für CO gemessen ($r_{CO} < COTR_{max}$). Dennoch wurde mit Hilfe des Myoglobin-Tests bei einer Prozesszeit von 4,8 h bis maximal 22,6 h kein CO in Lösung quantifiziert. Eine Erklärung dafür könnten unterschiedliche Messpositionen im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf sein. Die Messung des Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten (k_{LA}) erfolgte im Aufstrom des Blasensäulenreaktors (begaster Bereich), während die CO-Quantifizierung über den Myoglobin-Test im Totraumvolumen (unbegaster Bereich) erfolgte. Die schematische Darstellung in Abbildung 6.5 zeigt die unterschiedlichen Messpositionen. Ungefähr 37 % der Flüssigphase im Blasensäulenreaktor waren unbegast (V_d und V_{TR}). Während der Zirkulation der Flüssigphase wurden vermutlich ab dem oberen Ende des Abstroms die gelösten CO-Moleküle von suspendierten *C. carboxidivorans*-Zellen verbraucht. Dies könnte erklären, warum im Totraumvolumen des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf temporär kein CO in Lösung gemessen wurde.

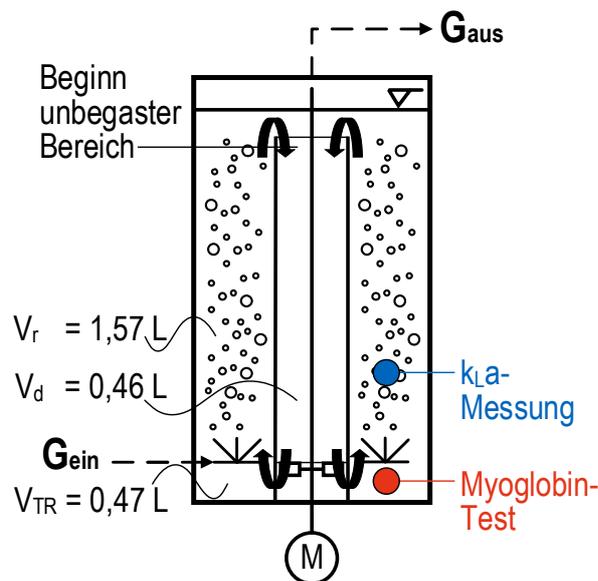


Abbildung 6.5: Schematische Darstellung der Messpositionen im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf für die Messungen des Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten (k_{LA}) und der CO-Gelöstkonzentration mit Hilfe des Myoglobin-Tests. Die Pfeile zeigen die Richtung des Flüssigkeitsstroms über den inneren Umlauf. Abkürzungen: V_r , begastetes Volumen im Aufstrom; V_d , unbegastetes Volumen im Abstrom; V_{TR} , Totraumvolumen (unbegast); $G_{ein/aus}$, Gasein/ausgang.

Die CO-Aufnahmeraten ($r_{CO} < COTR_{max}$) während des Satzprozesses mit *C. carboxidivorans* im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf lassen vermuten, dass der Gas-Flüssig-Stofftransport den Satzprozess nicht limitierte. Aufgrund von begasteten (1,57 L) und unbegasteten (0,93 L) Bereichen im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf konnte

allerdings gezeigt werden, dass der Gas-Flüssig-Stofftransport im unbegasteten Totraumvolumen des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf limitierend war. Dadurch war der Gas-Flüssig-Stofftransport während des Satzprozesses mit *C. carboxidivorans* im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf teilweise limitierend.

Die CO-Gelöstkonzentration war im Totraumvolumen des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf maximal 17,8 h unterhalb der Nachweisgrenze ($c_{CO} \approx 0$ mM). Dies wurde über den weiteren Prozessverlauf nicht mehr beobachtet. Ein Grund könnte der Verlauf des pH während des Satzprozesses ohne pH-Kontrolle sein, der in der acidogenen Phase ab- und in der solventogenen Phase wieder zunahm. Es wird vermutet, dass der pH den Prozess stärker dominiert als die geringeren maximalen CO-Gas-Flüssig-Stofftransportraten im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf im Vergleich zum Rührkesselreaktor.

Aufgrund der Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung wurde im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf bereits ab dem Ende der exponentiellen Wachstumsphase ($t_{exp, GLR} = 4,6$ h) ein linearer Anstieg der Acetatkonzentration beobachtet. Die Acetatbildung ist wachstumsassoziiert (Datar *et al.* 2004) und dadurch im Rührkesselreaktor über die ersten 12 h exponentiell. Die maximale Acetatkonzentration wurde im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf deshalb erst 10 h später erreicht als im Rührkesselreaktor. Analog dazu wurden die Maximalkonzentrationen der länger-kettigen C₄- und C₆-Produkte im Blasensäulenreaktor erst nach längeren Prozesszeiten erreicht.

Abbildung 6.3 zeigt, dass sich der Verlauf der Produktkonzentrationen in den beiden Reaktoren stark unterschied. Im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf wurden aber trotz deutlich geringerer maximal möglicher CO-Gas-Flüssig-Stofftransportraten ($COTR_{max}$) nach etwa vier Tagen (~96 h) vergleichbare Stoffmengen Kohlenstoff fixiert. Insgesamt wurden im Rührkesselreaktor 109,7 mmol und im Blasensäulenreaktor 109,2 mmol Kohlenstoff fixiert. Die Acetatkonzentration war im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf nach ~96 h in etwa doppelt so hoch wie im Rührkesselreaktor. Außerdem wurden 26 % mehr Ethanol im Blasensäulenreaktor, aber 108 % mehr 1-Butanol im Rührkesselreaktor gebildet. Die finalen 1-Hexanolkonzentrationen nach etwa vier Tagen (~96 h) Satzprozess waren vergleichbar. Der Vergleich der finalen Produktkonzentrationen nach vier Tagen Satzprozess (~96 h) im Rührkesselreaktor (STR) und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (GLR) sowie die Charakteristiken der beiden Reaktoren ist in Abbildung 6.6 grafisch dargestellt.

Der Vergleich der Satzprozesse mit *C. carboxidivorans* im Rührkesselreaktor und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf zeigte somit eine vergleichbare Produktivität in der Kohlenstofffixierung mit signifikanten Unterschieden in den finalen Produktkonzentrationen und damit im Produktspektrum. Die Unterschiede könnten mit der frühzeitigen teilweisen Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf begründet werden. Durch die CO-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung wird Acetat ab einer Prozesszeit von 4,6 h langsamer gebildet. Schneller ansteigende Acetatkonzentrationen im Rührkesselreaktor könnten das acetogene Bakterium zur Bildung von Butyrat und 1-Butanol zwingen. Höhere CO-Gelöstkonzentrationen könnten die notwendigen Reduktionsäquivalente dafür bereitstellen (Ramió-Pujol *et al.* 2015a).

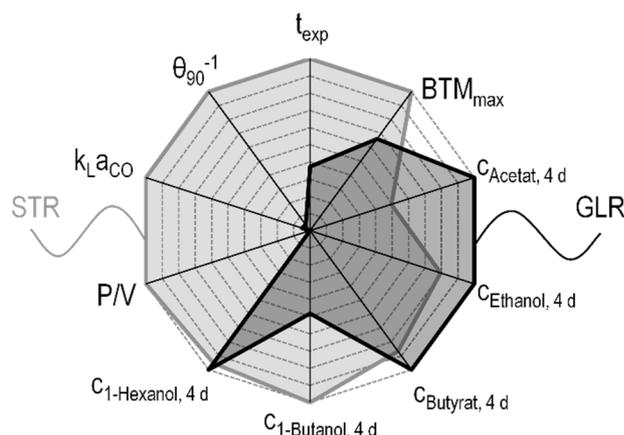


Abbildung 6.6: Normierter Vergleich der Dauer der exponentiellen Wachstumsphase (t_{exp}), der maximalen Biotrockenmassekonzentration (BTM_{max}), der Stoffwechselprodukte (c_i) nach vier Tagen (4 d), des volumetrischen Leistungseintrags (P/V), des CO-Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten (k_{LCO}) und der Mischgeschwindigkeit als reziproker Wert der Mischzeit für eine Mischgüte von 90 % (θ_{90}^{-1}) für autotrophe Satzprozesse mit *C. carboxidivorans* (37 °C; pH₀ 6; 1 bar; $G_{ein} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; CO:CO₂ 4:1) ohne pH-Kontrolle im Rührkesselreaktor (STR; $V_R = 2 \text{ L}$; grau) und dem Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (GLR; $V_R = 2,5 \text{ L}$; schwarz). Die Darstellung erfolgte über den relativen Bezug zu den Maximalwerten.

Die Bioreaktoreigenschaften beeinflussten die Geschwindigkeit der Produktbildung und das Produktspektrum aus C₂-, C₄- und C₆-Verbindungen in autotrophen Satzprozessen mit *C. carboxidivorans*. Die Untersuchungen ohne pH-Kontrolle zeigten trotz temporärer, teilweiser CO-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf die Fixierung vergleichbarer Stoffmengen Kohlenstoff. Dies zeigt, dass dieser Prozess durch den pH-induzierten metabolischen Wechsel von acetogener zu solventogener Phase stärker gelenkt wird als von der nachgewiesenen kurzzeitigen Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung in der acetogenen Phase.

6.3 Vergleich von Gasfermentationen mit *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* in Suspensionsreaktoren

Die Bioreaktoreigenschaften des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf schaffen durch längere Mischzeiten, geringere Leistungseinträge und niedrigere Gas-Flüssig-Stofftransportraten eine andere Umgebung für die Kultivierung acetogener Bakterien im Vergleich zum Rührkesselreaktor. Dadurch wird auch die Prozessleistung zur autotrophen Umsetzung von Synthesegas zu Acetat und anderen Stoffwechselprodukten maßgeblich beeinflusst. Die Unterschiede konnten in Satzprozessen mit *Clostridium aceticum* und *Clostridium carboxidivorans* in Abschnitt 6.1 beziehungsweise Abschnitt 6.2 gezeigt werden. Die Unterschiede waren für *C. aceticum* anders als für *C. carboxidivorans*. Der Vergleich der Bioreaktorcharakteristiken und der reaktionstechnischen Parameter ist für die Suspensionsreaktoren Rührkesselreaktor sowie Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf für beide acetogenen Bakterien in Abbildung 6.7 graphisch dargestellt.

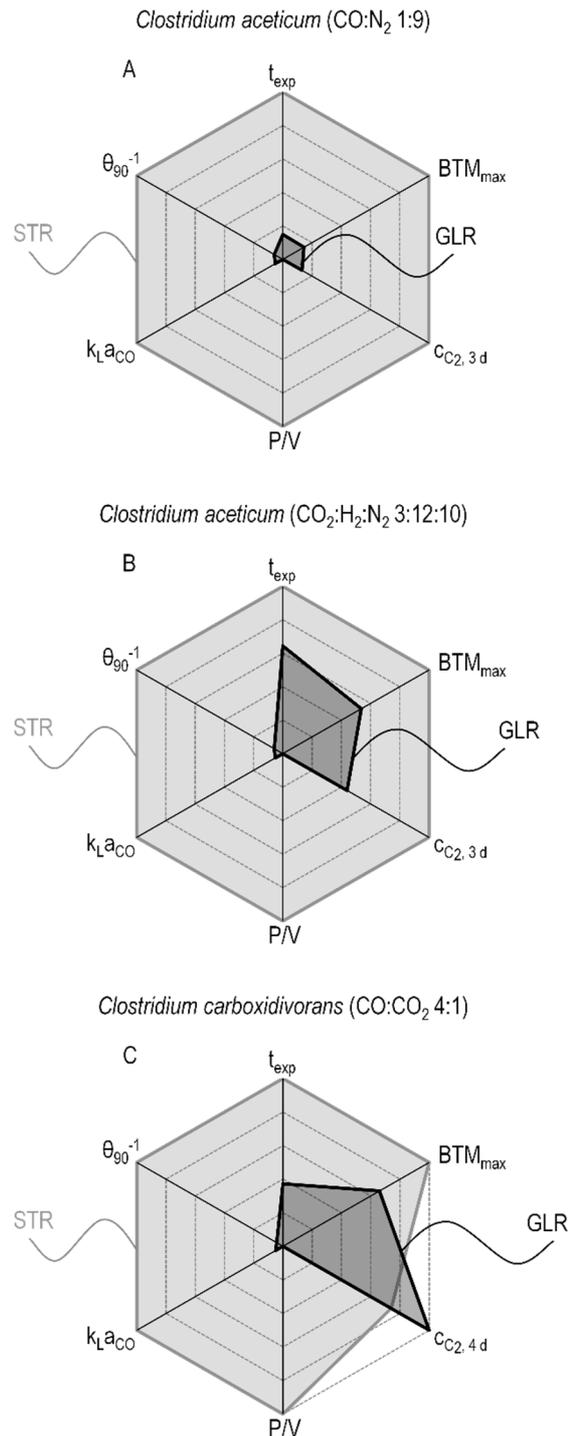


Abbildung 6.7: Graphischer Vergleich der Dauer der exponentiellen Wachstumsphase (t_{exp}), der maximalen Biotrockenmassekonzentration (BTM_{max}), der Summe der C₂-Stoffwechselprodukte (c_{C_2}) nach drei (3 d) beziehungsweise vier Tagen (4 d), des volumetrischen Leistungseintrags (P/V), des Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_L a_i$) des Gases i und der Mischgeschwindigkeit als reziproker Wert der Mischzeit für eine Mischgüte von 90 % (θ_{90}^{-1}) für autotrophe Satzprozesse im Rührkesselreaktor (STR; $V_R = 2,0$ L; **grau**) und dem Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (GLR; $V_R = 2,5$ L; **schwarz**): Autotrophe Satzprozesse A, mit *C. acetivum* (30 °C; pH 8; 1 bar; $G_{ein} = 10$ L L⁻¹ h⁻¹) mit CO als Substrat (CO:N₂ 1:9); B, mit CO₂:H₂ als Substrat (CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) sowie C, mit *C. carboxidivorans* (37 °C; pH₀ 6; 1 bar; $G_{ein} = 5$ L L⁻¹ h⁻¹; CO:CO₂ 4:1) ohne pH-Kontrolle. Die Darstellung erfolgte über den relativen Bezug zu den Maximalwerten der jeweiligen Betriebsbedingungen (normierte Darstellung).

Der Vergleich des Einflusses der Bioreaktoren auf die Prozessleistung von *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* zeigte, dass der Einfluss der Reaktoreigenschaften für die autotrophe Umsetzung von Synthesegas mit acetogenen Bakterien nicht pauschal erklärt werden kann. Die Untersuchungen bei 0,05 % des Leistungseintrags, 5 % des Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten und damit geringeren maximalen Gas-Flüssig-Stofftransportraten sowie bis zu 2.806 % der Mischzeit zeigten deutliche Unterschiede einerseits mit *C. aceticum*, einem typischen Acetogen mit Acetat als Primärstoffwechselprodukt, geringere finale Acetatkonzentrationen nach etwa drei Tagen (~72 h) als im Rührkesselreaktor. Andererseits wurden mit *C. carboxidivorans*, einem klassischen Vertreter in der Klasse der Clostridien für die reduktive Alkoholbildung, vergleichbare Stoffmengen Kohlenstoffatome bei unterschiedlichen Produktspektren im Rührkesselreaktor und Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf fixiert. Dies zeigt deutlich den Einfluss des Bioreaktors auf die Prozessleistung acetogener Mikroorganismen und wie wichtig es ist, diese bereits im Labormaßstab zu evaluieren.

7 Gasfermentation mit *Clostridium aceticum* in Biofilmreaktoren

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Untersuchungen zur Gasfermentation mit *Clostridium aceticum* in den Biofilmreaktoren Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf sowie Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom durchgeführt. Der Volumenbezug für die Bestimmung der Raum-Zeit-Ausbeute (vergleiche Gleichung 3-89) und der Gasaufnahme rate (vergleiche Gleichung 4-20) erfolgte in den Biofilmreaktoren aufgrund der aktiven Biomasse auf dem Trägermaterial nicht auf das Suspensionsvolumen sondern auf das Volumen des Festbettes (1,06 L) und wurde mit „pro Liter Festbettvolumen“ (L_F^{-1}) gekennzeichnet.

7.1 Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf

7.1.1 Satzprozesse

In Abschnitt 5.1.2 wurde festgestellt, dass Sera Siporax™ ein geeignetes Trägermaterial für die Immobilisierung von *C. carboxidivorans* in Biofilmreaktoren ist. Die Immobilisierung von *C. aceticum* hingegen konnte in Untersuchungen in Anaerobflaschen im Satzverfahren nicht nachgewiesen, sondern nur vermutet werden. Das Trägermaterial änderte das Wachstums- und Produktionsverhalten von *C. aceticum* nicht (vergleiche Abschnitt 5.1.2).

Die Eignung von Sera Siporax™ als Festbettmaterial und *C. acetium* als Biokatalysator in Biofilmreaktoren wurde im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf untersucht. Dies erfolgte in autotrophen Satzprozessen bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5$ L; 30 °C; pH 8; 1 bar) und kontinuierlicher Begasung ($G_{\text{ein}} = 10$ L L^{-1} h $^{-1}$) mit zwei unterschiedlichen Gasmischungen (CO:N₂ 1:9 oder CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) in Analogie zu Kapitel 6. Der zeitliche Verlauf der optischen Dichte (OD₆₀₀) und der Acetatkonzentration ist in Abbildung 7.1 dargestellt. Der Prozessverlauf der Untersuchungen im Blasensäulenreaktor bei identischen Bedingungen aus Abbildung 6.1 ist als Referenz in grau dargestellt. Die Untersuchungen mit einer CO₂:H₂-haltigen Gasmischung wurden für die ersten 24 Stunden in Triplikaten durchgeführt. Am Ende der Satzprozesse wurde das Trägermaterial aufbereitet (Abschnitt 4.4.2) und im Rasterelektronenmikroskop analysiert (Abbildung 7.2).

Die optische Dichte (OD₆₀₀) nahm für beide Gasmischungen im Festbettbiofilmreaktor in den ersten 12 h zu und danach wieder ab. Nach den einem Tag Satzbetrieb wurden optische Dichten (OD₆₀₀) von 0,08 mit einer Gasmischung aus CO:N₂ beziehungsweise 0,25 mit einer Gasmischung aus CO₂:H₂:N₂ erreicht. Im Blasensäulenreaktor mit innerem

Umlauf wurden analog optische Dichten (OD_{600}) von 0,66 beziehungsweise 0,56 gemessen.

Der zeitliche Verlauf der Acetatkonzentration zeigte bereits nach 3,0 h bei CO beziehungsweise nach 6,2 h bei $CO_2:H_2$ als Substrat einen linearen Verlauf mit einer näherungsweise konstanten Acetatbildungsrate (r_{Acetat}) von $0,32 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($CO:N_2$) oder $1,24 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1} \pm 0,29 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($CO_2:H_2:N_2$). Dies entsprach einer auf das Festbettvolumen bezogene Produktivität von $0,77 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($CO:N_2$) und $2,77 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1} \pm 0,78 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($CO_2:H_2:N_2$).

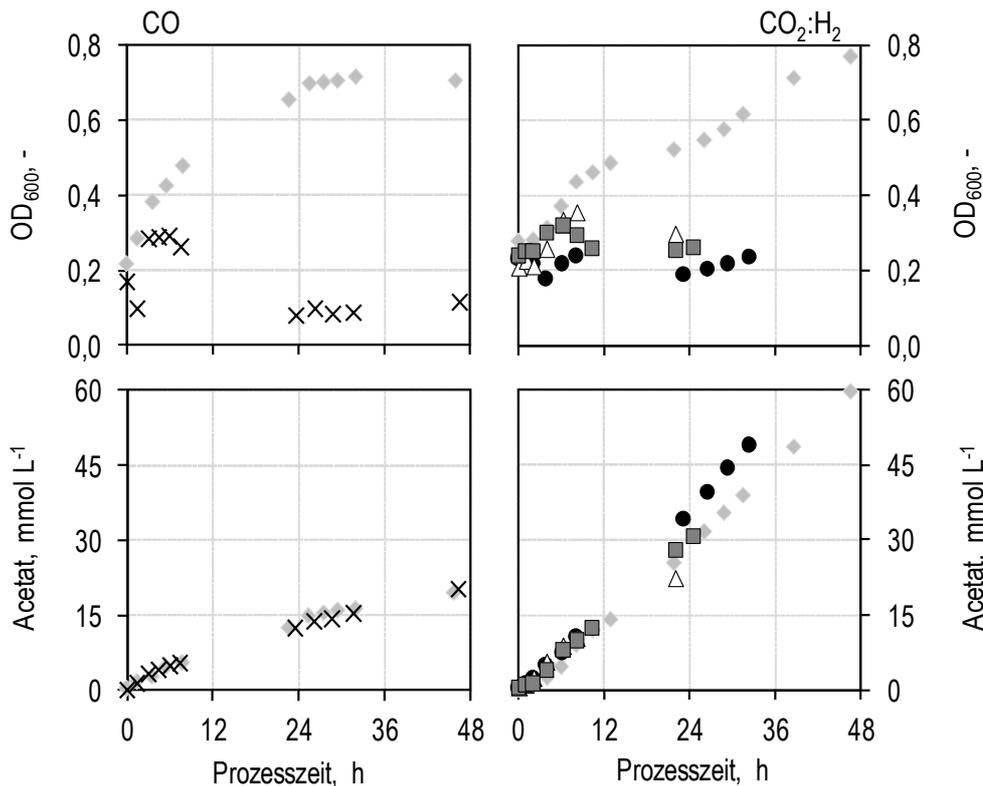


Abbildung 7.1: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte bei 600 nm (OD_{600}) und der Acetatkonzentration autotropher Satzprozesse mit *C. aceticum* im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5 \text{ L}$ oder $2,25 \text{ L}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 8; 1 bar) und kontinuierlicher Begasung ($G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) mit einer Gasmischung aus $CO:N_2$ (1:9; X; „CO“; linke Spalte) und $CO_2:H_2:N_2$ (3:12:10; ●■△ „ $CO_2:H_2$ “; rechte Spalte). Die Untersuchungen mit der $CO_2:H_2:N_2$ -Gasmischung wurden in Triplikaten durchgeführt. Die Verläufe bei identischen Bedingungen im Blasensäulenreaktor aus Abbildung 6.1 sind als Referenz angegeben (◇).

Diskussion

Die autotrophen Satzprozesse im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf zeigten für beide Gaszusammensetzungen geringere optische Dichten (OD_{600}) als im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf. Die beiden Bioreaktoren unterschieden sich in ihrem Aufbau ausschließlich durch 300 g Trägermaterial Sera SiporaxTM. Die lineare Acetatbildungsrate nach dem Ende der exponentiellen Phase war im Festbettbiofilmreaktor trotz geringerer Biotrockenmassekonzentrationen in Suspension mit $CO_2:H_2$ als Substrat mit jener im Blasensäulenreaktor vergleichbar ($r_{Acetat, GLR} = 1,29 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) und mit CO als Substrat sogar höher ($r_{Acetat, GLR} = 0,21 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Diese Beobachtung sowie die Aufnahmen

adsorbierter *C. aceticum*-Zellen an der Oberfläche von Sera Siporax™ im Rasterelektronenmikroskop (Abbildung 7.2) lassen vermuten, dass zwar weniger Bakterien in Suspension, aber durch die Immobilisierung nicht weniger Bakterien im Bioreaktor vorlagen.

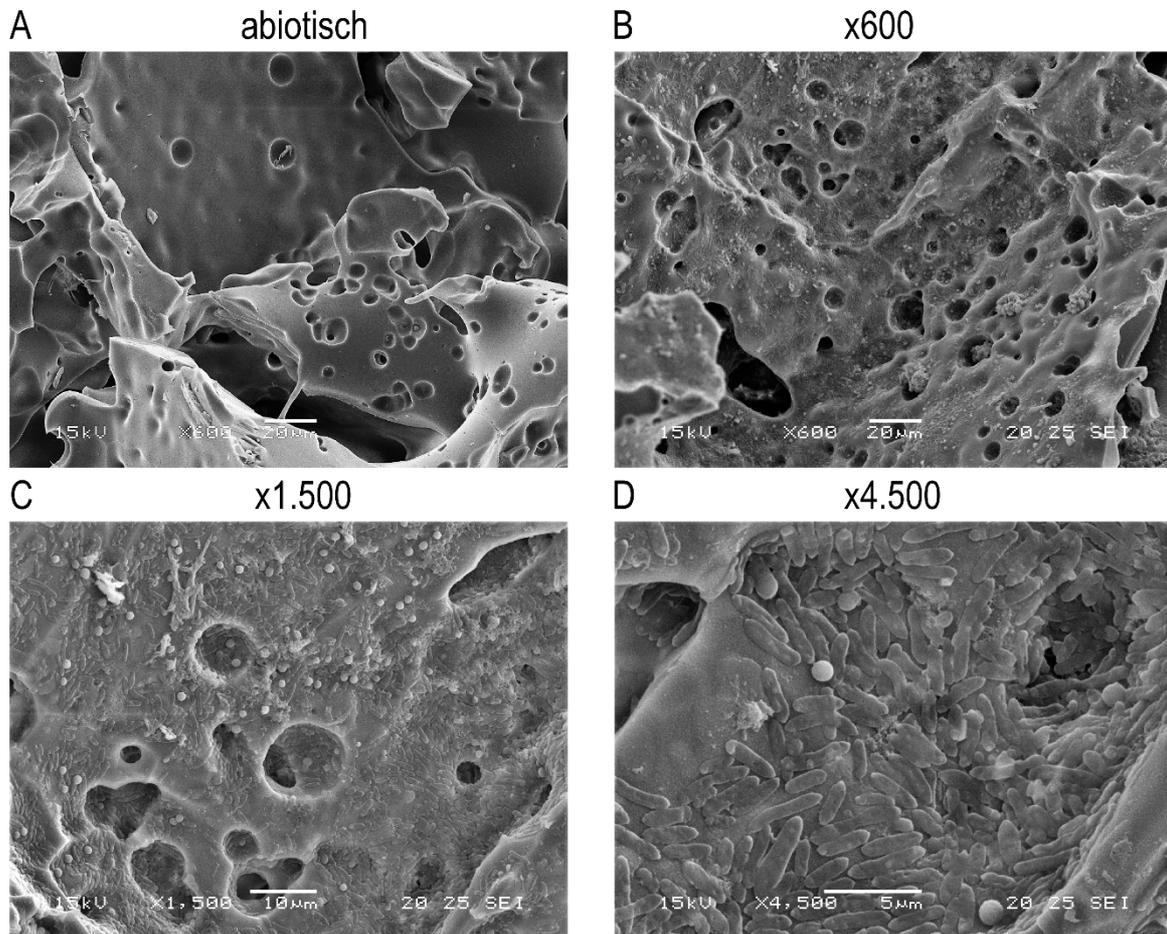


Abbildung 7.2: Beispielhafte Darstellung von Aufnahmen im Rasterelektronenmikroskop von der Oberfläche des abiotischen Trägermaterials Sera Siporax™ bei 600-facher Vergrößerung (A) sowie von immobilisiertem *C. aceticum* nach einem drei-tägigen Satzprozess im Festbettbiofilmreaktor mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5 \text{ L}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH } 8$; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) mit CO als Substrat (CO:N_2 1:9) bei drei Vergrößerungen B, 600-fach; C, 1.500-fach; D, 4.500-fach.

Unter der Annahme gleicher zellspezifischer Acetatbildungsraten (q_{Acetat}) im Festbettbiofilmreaktor wie im Blasensäulenreaktor konnte die immobilisierte Biotrockenmasse nach etwa einem Tag Satzbetrieb abgeschätzt werden (Tabelle 7.1). Die Berechnungen zeigten, dass in etwa $1,3 \text{ g}$ Biotrockenmasse mit CO und $0,40 \text{ g} \pm 0,25 \text{ g}$ mit $\text{CO}_2\text{:H}_2$ als Substrat im Trägermaterial immobilisiert sein müssten. Dies entspricht in etwa 92% (CO) beziehungsweise $49 \% \pm 21 \%$ ($\text{CO}_2\text{:H}_2$) der Gesamtbiotrockenmasse. Die Standardabweichungen zeigen eine große Varianz der Messdaten von bis zu 63% . Auch die optische Dichte (OD_{600}) der Triplikate zeigte große Unterschiede über die Prozesszeit (Abbildung 7.1). Dies war aufgrund des in der Literatur beschriebenen Lebenszyklus eines Biofilms zu erwarten (vergleiche Abschnitt 3.2). Am Beginn dieses Zyklus sind Mikroorganismen zunächst noch in ihrer planktonischen Form (in Suspension) und lagern sich durch Primäradsorption an eine inerte Oberfläche an. Zu diesem Zeitpunkt sind die Mikroorganismen noch nicht an die Oberfläche gebunden, sondern reversibel angelagert.

Das bedeutet, dass sie zu jedem Zeitpunkt entweder adsorbieren oder desorbieren können. Der Aufbau eines Biofilms dauert in der Regel je nach Mikroorganismus unterschiedlich lange (Oliveira *et al.* 2007). Nach etwa einem Tag Satzbetrieb im Festbettbiofilmreaktor war deshalb aufgrund geringer spezifischer Wachstumsraten von *C. aceticum* noch keine Biofilmbildung zu erwarten. Diese Hypothese wird auch durch die Aufnahmen im Rasterelektronenmikroskop (Abbildung 7.2) gestützt. An der Oberfläche von Sera Siporax™ konnten nur einlagige Schichten (*Monolayer*) von *C. aceticum* erkannt werden.

Tabelle 7.1: Zusammenfassung der Zustandsgrößen autotropher Satzprozesse im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (GLR) und dem Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf (PBR) mit *C. aceticum* bei $V_R = 2,25\text{-}2,50\text{ L}$; 30 °C ; $\text{pH } 8$; 1 bar ; $G_{\text{ein}} = 10\text{ L L}^{-1}\text{ h}^{-1}$ mit zwei unterschiedlichen Gasmischungen.

| | | CO:N ₂ (1:9) | | CO ₂ :H ₂ :N ₂ (3:12:10) | |
|------------------------------|--------------------------------------|-------------------------|-------|---|---------------|
| | | GLR | PBR | GLR | PBR |
| OD ₆₀₀ | - | 0,66 | 0,08 | 0,56 ± 0,04 | 0,25 ± 0,04 |
| BTM _{Suspension} | g | 0,94 | 0,11 | 0,80 ± 0,05 | 0,32 ± 0,05 |
| | g L ⁻¹ | 0,37 | 0,05 | 0,32 ± 0,02 | 0,14 ± 0,03 |
| r _{Acetat} | mmol L ⁻¹ h ⁻¹ | 0,21 | 0,32 | 1,29 ± 0,05 | 1,24 ± 0,29 |
| q _{Acetat} | mmol g ⁻¹ h ⁻¹ | 0,57 | - | 4,04 ± 0,36 | - |
| BTM _{immobilisiert} | g | - | 1,30 | - | 0,40 ± 0,25 |
| | g L ⁻¹ | - | 1,23 | - | 0,38 ± 0,24 |
| | g kg ⁻¹ | - | 4,32 | - | 1,33 ± 0,83 |
| Immobilisierter Anteil | % | - | 91,86 | - | 49,43 ± 21,30 |

7.1.2 Wiederholtes Satzverfahren

Während mehrerer Untersuchungen bei verschiedenen Bedingungen im Biofilmreaktor (siehe Tabelle A.16 im Anhang für eine detaillierte Auflistung der Reaktionsbedingungen) wurde die Stoffwechsellistung des im Festbettmaterial immobilisierten acetogenen Bakteriums *C. aceticum* durch wiederholte Satzverfahren untersucht (siehe Abschnitt 4.2.4). Es wurde ein Satzprozess im Festbettbiofilmreaktor direkt nach der Inokulation, nach 11 Tagen und nach 29 Tagen Betrieb durchgeführt. Am Ende der Untersuchungen wurde das Trägermaterial, isoliert, aufbereitet und sowohl seine Oberfläche im Rasterelektronenmikroskop analysiert (Abbildung 7.3) als auch die im Trägermaterial immobilisierte Biotrockenmasse mittels Elementaranalyse abgeschätzt. Der zeitliche Verlauf der optischen Dichte (OD₆₀₀) und der Acetatkonzentration ist in Abbildung 7.4 für die Satzphasen bei Standardbedingungen ($V_R = 2,25\text{ L}$; 30 °C ; $\text{pH } 8$; $G_{\text{ein}} = 10\text{ L L}^{-1}\text{ h}^{-1}$; CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) dargestellt.

Über die Prozesszeit von etwa 24 h wurden optische Dichten (OD₆₀₀) zwischen 0,21 und 0,53 gemessen. Die lineare Acetatbildungsrate erreichte 1,84 mmol L_F⁻¹ h⁻¹ von 6 h bis 22 h für die Untersuchungen nach der Inokulation, 2,95 mmol L_F⁻¹ h⁻¹ nach weiteren 10 Tagen und 3,47 mmol L_F⁻¹ h⁻¹ nach weiteren 17 Tagen kontinuierlicher Prozessführung

im Festbettbiofilmreaktor beziehungsweise im Rieselbettbiofilmreaktor. Der lineare Anstieg der Acetatkonzentrationen ist mit Linien gekennzeichnet. Über den Kohlenstoffgehalt konnte eine immobilisierte Biotrockenmasse von 6,25 g quantifiziert werden.

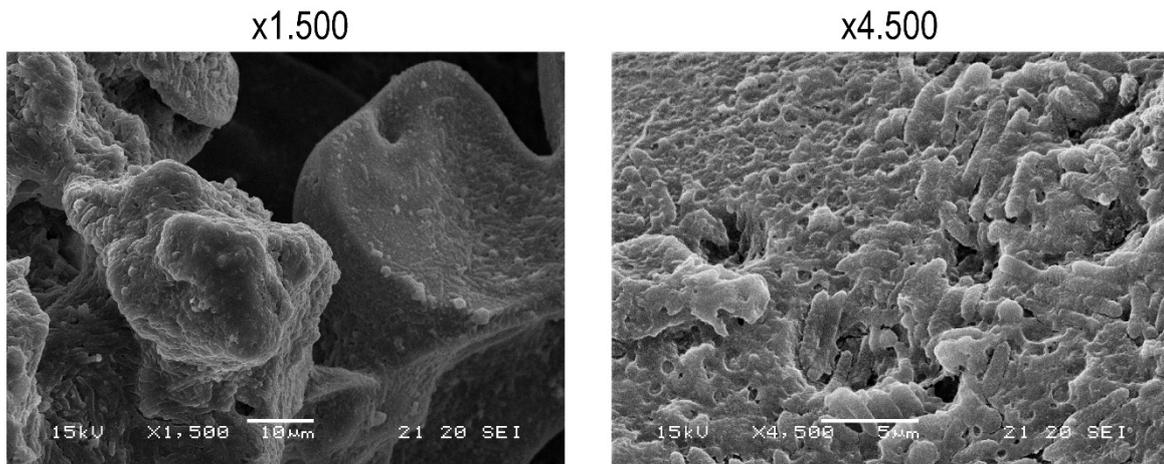


Abbildung 7.3: Aufnahmen der Oberfläche von Sera Siporax™ bei 1.500-facher (links) und 4.500-facher Vergrößerung im Rasterelektronenmikroskop nach 30 Tagen Betrieb bei unterschiedlichen Reaktions- und Betriebsbedingungen (siehe Tabelle A.16 im Anhang).

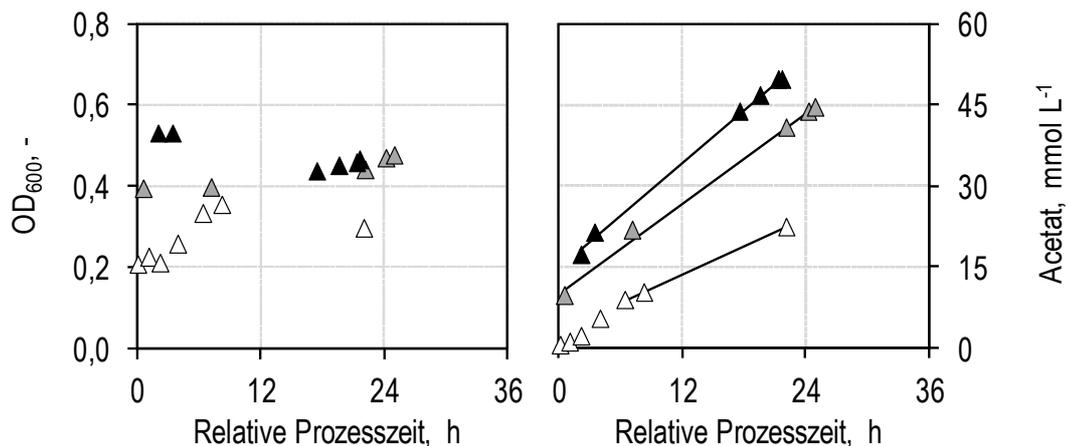


Abbildung 7.4: Optische Dichten bei 600 nm (OD_{600}) und Acetatkonzentration als Funktion der relativen Prozesszeit autotropher Satzprozesse mit *C. aceticum* im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf unter Standardbedingungen ($V_R = 2,25$ L; 30 °C; pH 8; 1 bar) und kontinuierlicher Begasung ($G_{ein} = 10$ L L⁻¹ h⁻¹) mit einer Gasmischung aus CO₂:H₂:N₂ (3:12:10) im wiederholten Satzverfahren: Δ , Satzphase nach der Inokulation; \triangle Satzphase nach 11 Tagen; \blacktriangle , Satzphase nach 29 Tagen. Zwischen den Satzphasen wurden Untersuchungen im kontinuierlich betriebenen Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom durchgeführt (Details in Tabelle A.16 im Anhang unter). Die Linien kennzeichnen den Bereich der linearen Approximation der Acetatbildungsrate. Die Startzeit der relativen Prozesszeit ist als jener Zeitpunkt definiert, an dem die Betriebsbedingungen konstant waren.

Diskussion

Die optische Dichte (OD_{600}) variierte während der eintägigen Satzprozesse stark. Dies wurde bereits bei den Satzversuchen mit *C. aceticum* in Triplikaten beobachtet (Abbildung 7.1). Eine Begründung könnte die ständige Adsorption beziehungsweise Desorption von Bakterienzellen auf und vom Trägermaterial sein (siehe Abschnitt 3.2). Die Acetatkonzentrationen

tration stieg für alle Satzprozesse linear. Die Umrüstzeiten, die Entfernung von verbrauchtem Medium und die Erneuerung mit anaerobem Frischmedium bei kontinuierlicher Begasung sowie die dadurch entstandenen Biotrockenmasseverluste zeigten keine Reduktion der Acetatbildung. Die Acetatbildungsrate stieg sogar über die Prozesszeit: Nach 11 Tagen wurde eine Steigerung von 60 % beziehungsweise nach 29 Tagen um 88 % gemessen. Eine Begründung dafür könnten höhere am Trägermaterial immobilisierte Biotrockenmassen sowie die höheren Biotrockenmassekonzentrationen in Suspension sein. Durch längere Prozesszeiten im Biofilmreaktor konnte vermutlich vermehrt Biomasse in Form von Biofilm im Trägermaterial angelagert werden. Aufnahmen im Rasterelektronenmikroskop (Abbildung 7.3) lassen die Bildung extrazellulärer polymerer Substanzen und damit eine Biofilmbildung vermuten. Im Vergleich zu den Aufnahmen nach einem sechstägigen Satzprozess im Festbettbiofilmreaktor konnten dichtere und mehrschichtige Ansammlungen (*Polylayer*) von *C. acetivum* qualitativ erkannt werden. Dabei war aber nur die Oberfläche von Sera Siporax™, vor allem an den Kanten des Materials, mit *C. acetivum* besiedelt. Aufnahmen der inneren Makroporen zeigten kaum adsorbierte *C. acetivum*-Zellen sowie keine Anzeichen auf Biofilmbildung (Aufnahmen nicht gezeigt).

Für die Untersuchungen direkt nach der Inokulation konnte – unter der Annahme, dass die spezifische Produktbildungsrate im Festbettbiofilmreaktor mit jener im Blasensäulenreaktor identisch war (vergleiche Abschnitt 7.1.1) – eine immobilisierte Biotrockenmasse von 0,1 g abgeschätzt werden. Dies entspricht lediglich 2 % der gemessenen Biotrockenmasse nach 30 Tagen und unterstützt die Hypothese höherer immobilisierter Biotrockenmassen bei längerem Prozessverlauf.

7.1.3 Kontinuierliche Prozessführung

In wiederholten Satzverfahren wurde gezeigt, dass *C. acetivum* teilweise durch Immobilisierung und/oder Biofilmbildung im Trägermaterial der Biofilmreaktoren Festbettbiofilmreaktor sowie Rieseltbettbiofilmreaktor zurückgehalten wird. Für hohe Biofilmkonzentrationen wurden im Rahmen dieser Arbeit drei Langzeitstudien („A, B und C“) mit *C. acetivum* durchgeführt. Unter einer Langzeitstudie wird ein Bioprozess verstanden, in dem mehrere Reaktionsbedingungen zeitlich nacheinander untersucht werden. Das bedeutet, dass ein Teil der immobilisierten Biomasse vorhergehende Reaktionsbedingungen miterlebt hat. Im Gegensatz zum Chemostaten werden die Biokatalysatoren nicht nach spätestens fünf hydraulischen Verweilzeiten aus dem Reaktor ausgetragen. Im Fließtext dieser Arbeit wurden nur ausgewählte Reaktionsbedingungen gezeigt. Eine detaillierte Auflistung aller Betriebseinstellungen wurde zur Vollständigkeit in Tabelle A.15 bis Tabelle A.17 im Anhang bereitgestellt.

Für den kontinuierlichen Betrieb im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf erfolgte die Inokulation wie in Satzprozessen mit einer etwa eintägigen Satzphase. Der kontinuierliche Betrieb wurde im Anschluss gestartet.

Variation der Durchflussrate

Um festzustellen, ob *C. aceticum* bei kontinuierlicher Prozessführung am Festbettmaterial Sera Siporax™ immobilisiert bleibt oder bevorzugt in Suspension vorliegt, wurden Untersuchungen bei Standardbedingungen (30 °C; pH 8; 1 bar, $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2$ 3:12:10) im kontinuierlichen Festbettbiofilmreaktor ($V_R = 2,5 \text{ L}$) mit einer Durchflussrate näherungsweise gleich der exponentiellen Wachstumsrate im Rührkesselreaktor mit $D_1 = 0,070 \text{ h}^{-1}$ gewählt. Anschließend wurde die Prozessleistung von *C. aceticum* im kontinuierlichen Festbettbiofilmreaktor bei zwei weiteren Durchflussraten ($D_2 = 0,70 \cdot D_1 = 0,049 \text{ h}^{-1}$ und $D_3 = 0,35 \cdot D_1 = 0,025 \text{ h}^{-1}$) untersucht. Die Untersuchungen fanden im Rahmen einer Langzeitstudie statt („Langzeitstudie A“). Der zeitliche Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetatkonzentration und Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute am Reaktorausgang (r_i^*) sowie der H_2 - oder CO_2 -Aufnahmeraten (r_i) und Partialdrücke (p_i) sind in Abbildung 7.5 dargestellt. Nach 14,1 Tagen musste das gesamte Medium im Festbettbiofilmreaktor aus technischen Gründen erneuert werden (gestrichelte Vertikale in Abbildung 7.5). Nach 21,1 Tagen wurden die Untersuchungen beendet, das Trägermaterial isoliert und dessen Oberfläche im Rasterelektronenmikroskop betrachtet. Ausgewählte Bilder der mikroskopischen Analyse sind in Abbildung 7.14 A dargestellt. Zusätzlich wurde das Trägermaterial gewaschen, gefriergetrocknet und die immobilisierte Biotrockenmasse nach Abschnitt 4.4.4 mittels Elementaranalyse (C, H, N, S) bestimmt.

Innerhalb des ersten Prozesstages wurden optische Dichten (OD_{600}) von 0,10 bis 0,14 und Acetatkonzentrationen bis zu 15 mmol L^{-1} gemessen. Die mittleren optischen Dichten ($\overline{\text{OD}}_{600}$), die erreichten Acetatkonzentrationen, die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten ($\text{RZA}_{\text{Acetat}}$) sowie die mittleren Gasaufnahmeleistungen (\bar{r}_i) von CO_2 und H_2 vor der Änderung der Betriebsbedingung sind in Tabelle 7.2 zusammengefasst.

Tabelle 7.2: Zusammenfassung der jeweils vor der Änderung der Betriebsbedingung finalen mittleren optischen Dichten ($\overline{\text{OD}}_{600}$), der Acetatkonzentrationen, der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten ($\text{RZA}_{\text{Acetat}}$) sowie die mittleren Substrataufnahmeraten (\bar{r}_i) für CO_2 und H_2 .

| | D h^{-1} | $\overline{\text{OD}}_{600}$ - | Acetat mmol L^{-1} | RZA_{Acetat} $\text{mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ | \bar{r}_{CO_2} $\text{mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ | \bar{r}_{H_2} $\text{mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ |
|-------|-----------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|--|--|---|
| D_1 | 0,070 | 0,17 | 23,8 | 4,0 | 10,5 | 14,6 |
| D_2 | 0,049 | 0,24 | 39,3 | 4,6 | 10,0 | 15,1 |
| D_3 | 0,025 | 0,28 | 78,0 | 4,6 | 7,6 | 16,7 |

Die Elementaranalyse zeigte über den Vergleich der Kohlenstoffanteile nach 21,1 Tagen eine Biotrockenmasse von 2,4 g beziehungsweise 8,1 g kg^{-1} Trägermaterial oder 2,3 g L^{-1} Festbett.

Diskussion

Die kontinuierliche Prozessführung im Festbettbiofilmreaktor zeigte für alle Durchflussraten vergleichbare Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten vor dem Umschalten auf die nächste Betriebsbedingung.

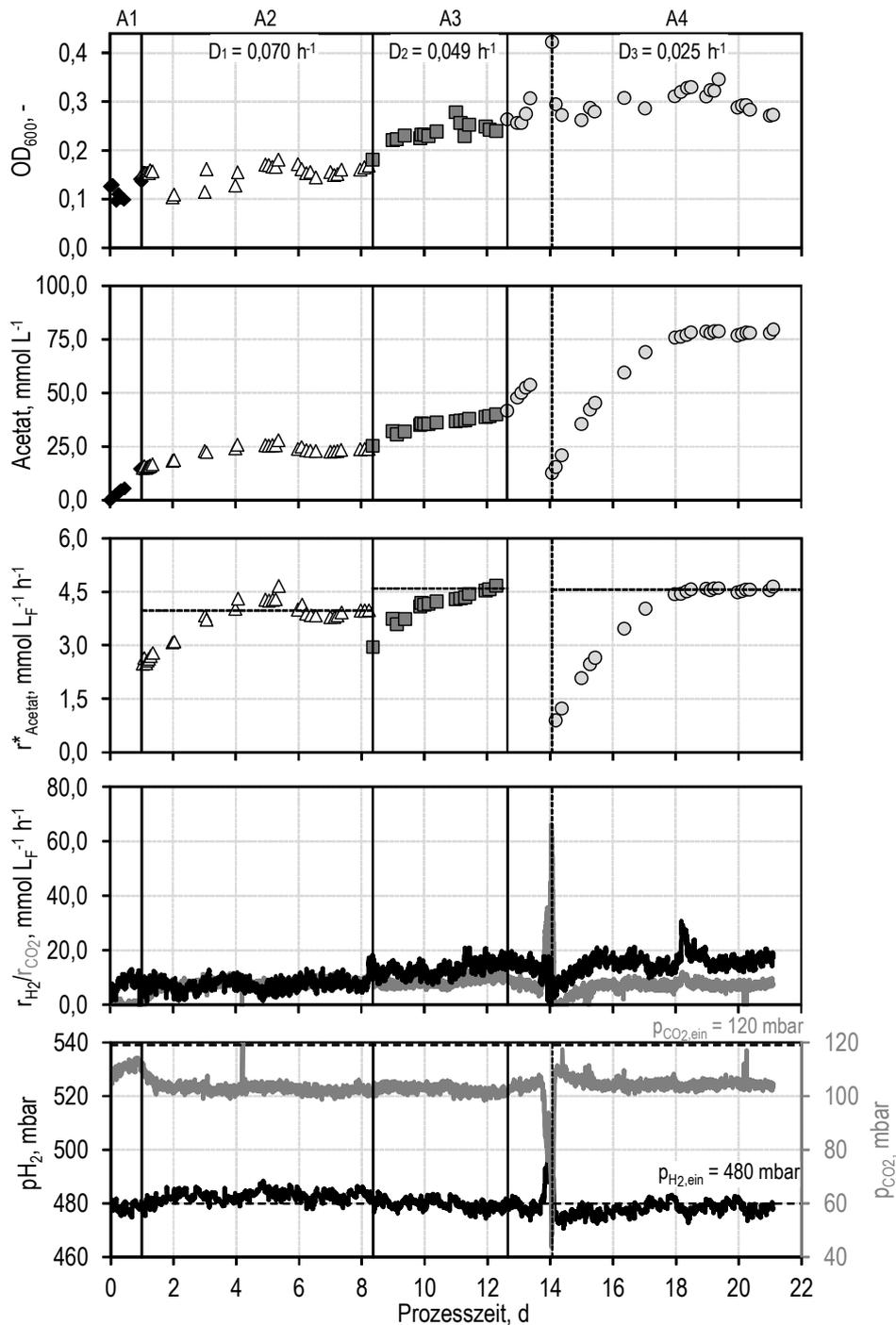


Abbildung 7.5: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetatkonzentration, der Raum-Zeit-Ausbeute am Rektorausgang (r^*_{Acetat}), der H_2 - und CO_2 -Aufnahmeraten (r_{H_2} , schwarz; r_{CO_2} , grau) sowie deren Partialdrücke (p_{H_2} , schwarz; p_{CO_2} , grau) für Gasfermentation mit *C. aceticum* unter Standardbedingungen ($V_R = 2,5 \text{ L}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH } 8$; 1 bar , $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2 \text{ } 3:12:10$) im Festbettbiofilmreaktor (Langzeitstudie „A“; Details Tabelle A.15 im Anhang). Der erste Tag wurde als Satzprozess geführt (A1). Anschließend wurden die Untersuchungen unter kontinuierlicher Medienerneuerung bei unterschiedlichen Durchflussraten durchgeführt: A2, $D_1 = 0,070 \text{ h}^{-1}$; A3, $D_2 = 0,049 \text{ h}^{-1}$; A4; $D_3 = 0,025 \text{ h}^{-1}$. Die Zeitpunkte der Änderungen der Durchflussrate sind mit Vertikalen gekennzeichnet. Nach 14,1 Tagen wurde das Medium im Reaktor komplett erneuert (gestrichelte Vertikale). Die gestrichelten Horizontalen kennzeichnen die jeweilige Raum-Zeit-Ausbeute vor der Änderung der Betriebsbedingung sowie die Eingangspartialdrücke.

Da die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute bei geringeren Durchflussraten (D_2 und D_3) im Vergleich zu D_1 nicht abnahm ist die Limitierung einer Medienkomponente (Medienlimitierung) im kontinuierlichen Betrieb auszuschließen. Die Acetatkonzentration war bei der geringsten Durchflussrate (D_3) bei vergleichbaren Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten erwartungsgemäß am höchsten. Da trotz erhöhter Acetatkonzentrationen bei einer Durchflussrate von $0,025 \text{ h}^{-1}$ (D_3) die Acetatbildung von *C. aceticum* nicht reduziert wurde, ist weiterhin eine Acetatinhibierung für Acetatkonzentrationen kleiner und gleich 78 mmol L^{-1} im Festbettbiofilmreaktor auszuschließen.

Wie in den Satzprozessen im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (siehe Abschnitt 6.1) wurden nur sehr geringe H_2 - und CO_2 -Aufnahmeraten gemessen. Eine Erklärung könnte eine teilweise H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung im Festbettbiofilmreaktor aufgrund geringer Leistungseinträge sein, da die mittleren H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten mit $71 \text{ h}^{-1} \pm 5 \text{ h}^{-1}$ im abiotischen Blasensäulenreaktor und $73 \text{ h}^{-1} \pm 35 \text{ h}^{-1}$ im abiotischen Festbettbiofilmreaktor vergleichbar waren (siehe Abschnitt 5.2.1). Die maximal mögliche H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransportrate ($\text{HTR}_{\text{max}} = 26,6 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$) konnte im kontinuierlichen Festbettbiofilmreaktor trotz einer vermuteten Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung nicht erreicht werden. Eine Erklärung könnten die unbegasteten Bereiche im Festbettbiofilmreaktor in Analogie zum Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf sein (vergleiche Kapitel 6). Die H_2 -Aufnahmeraten entsprechen näherungsweise dem stöchiometrischen Verhältnis von Acetat zu Wasserstoff (1:4) mit einem maximalen Fehler von 18 %. CO_2 wurde bei einer Durchflussrate von $0,025 \text{ h}^{-1}$ im stöchiometrischen Verhältnis von Acetat zu CO_2 (1:2) aufgenommen. Bei höheren Durchflussraten wurden bis zu 24 % mehr CO_2 , als für die stöchiometrische Acetatbildung notwendig wäre, aufgenommen. Die erhöhten CO_2 -Aufnahmeraten könnten mit der Sättigung des Zulaufmediums erklärt werden. Diese Hypothese wird durch steigende CO_2 -Aufnahmeraten bei steigender Durchflussrate gestützt. Der Anstieg der CO_2 -Aufnahme nach 14,1 Tagen wurde vermutlich durch die Medienerneuerung und eine darauffolgende Sättigung des Frischmediums verursacht.

Die H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransportrate im Festbettbiofilmreaktor kann durch eine Erhöhung des treibende Konzentrationsgefälles erhöht werden (Gleichung 3-31). Dieses kann durch die Steigerung der maximalen Gelöstkonzentration an der Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche nach dem Henry'schen Gesetz (Gleichung 3-34) mit sinkender Temperatur und steigendem Partialdruck erhöht werden. Da die metabolische Aktivität von *C. aceticum* bei $30 \text{ }^\circ\text{C}$ sein Optimum hat, wurde der H_2 -Partialdruck in weiteren Untersuchungen im kontinuierlich betriebenen Festbettbiofilmreaktor erhöht.

Variation des H_2 -Partialdrucks

Der H_2 -Partialdruck wurde im kontinuierlich betriebenen Festbettbiofilmreaktor ($D = 0,070 \text{ h}^{-1}$) mit *C. aceticum* unter Standardbedingungen ($V_R = 2,25 \text{ L}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH } 8$; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $p_{\text{CO}_2, \text{ein}} = 120 \text{ mbar}$; N_2 als Inertgas) schrittweise erhöht. Der maximal mögliche H_2 -Partialdruck bei konstantem CO_2 -Partialdruck bei Atmosphärendruck war 816 mbar . Für höhere H_2 -Partialdrücke wurde der Gesamtdruck im Festbettbiofilmreaktor dauerhaft auf $3,46 \text{ bar}$ erhöht. Dieser Druck wurde zur Simulation des hydrostatischen

Drucks am Boden einer ~24,6 m hohen industriellen Blasensäule verwendet. Bei diesen Bedingungen wurden sowohl die H₂-Partialdrücke 0,480 mbar H₂ und 0,816 mbar H₂ als auch die sukzessive Erhöhung um 840 mbar H₂ auf die H₂-Partialdrücke 1.656 mbar H₂, 2.496 mbar H₂ und 3.340 mbar H₂ untersucht. Abschließend wurden erneut Untersuchungen bei 480 mbar H₂ durchgeführt, um mögliche Änderungen des Biofilms im Reaktor beurteilen zu können. Alle Betriebsparameter wurden für mindestens fünf hydraulische Verweilzeiten durchgeführt.

Der Festbettbiofilmreaktor wurde zu Beginn für einen Tag als Satzprozess und anschließend kontinuierlich betrieben. Die Untersuchungen unter erhöhtem Gesamtdruck wurden nach einem fünftägigen kontinuierlichen Betrieb bei Standardbedingungen (C2) für 15 Tage durchgeführt. Eine genaue Auflistung des gesamten Ablaufs ist in Tabelle A.17 im Anhang zu finden. Die zeitlichen Verläufe der optischen Dichten (OD₆₀₀), der Acetatkonzentrationen, der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten am Reaktorausgang (r_i^*) sowie der H₂- und CO₂-Partialdrücke (p_i) sind in Abbildung 7.6 dargestellt. Die H₂-Partialdrücke entsprachen dem Eingangspartialdruck mit einer maximalen Abweichung von 5 %. Für den CO₂-Partialdruck wurden in der Regel Partialdrücke zwischen 100 mbar und dem Eingangspartialdruck 120 mbar gemessen.

Über den untersuchten Zeitraum wurden optische Dichten (OD₆₀₀) im Bereich von ~0,3 gemessen. Die Acetatkonzentration stieg in den ersten 24 h auf 30,5 mM. Die Acetatkonzentrationen und die auf das Festbettvolumen bezogene Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten der Untersuchungen bei kontinuierlicher Prozessführung sind in Tabelle 7.3 zusammengefasst. Die H₂- und CO₂-Aufnahmeraten konnten für die Untersuchungen unter erhöhtem Gesamtdruck nicht quantifiziert werden, da das pneumatische Regelventil bei den geringen Aufnahmeraten den Abgasvolumenstrom nicht ausreichend präzise regelte.

Tabelle 7.3: Zusammenfassung der jeweils vor der Änderung der Betriebsbedingung finalen Acetatkonzentrationen und der auf das Festbettvolumen bezogenen Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten (RZA_{Acetat}) bei Untersuchungen im kontinuierlichen Festbettbiofilmreaktor ($V_R = 2,25$ L; 30 °C; $G_{\text{ein}} = 10$ L L⁻¹ h⁻¹; $p_{\text{CO}_2,\text{ein}} = 120$ mbar, $D = 0,12$ h⁻¹) mit *C. aceticum* bei Variation des H₂-Eingangspartialdrucks ($p_{\text{H}_2,\text{ein}}$) und/oder des Gesamtdrucks (P).

| # | P, bar | $p_{\text{H}_2,\text{ein}}$, mbar | Acetat, mmol L ⁻¹ | RZA _{Acetat} , mmol L _F ⁻¹ h ⁻¹ |
|------------|-------------|---------------------------------------|---------------------------------|--|
| C2 | 1,00 | 480 | 32,43 | 4,87 |
| C3 | 3,46 | 480 | 15,23 | 2,28 |
| C4 | 3,46 | 816 | 22,62 | 3,39 |
| C5 | 3,46 | 1.656 | 36,18 | 5,43 |
| C6 | 3,46 | 2.496 | 45,14 | 6,77 |
| C7 | 3,46 | 3.340 | 40,62 | 6,10 |
| C8 | 1,00 | 480 | 39,49 | 5,93 |
| C22 | 1,00 | 480 | 32,32 | 4,85 |
| C24 | 1,00 | 816 | 54,82 | 8,23 |

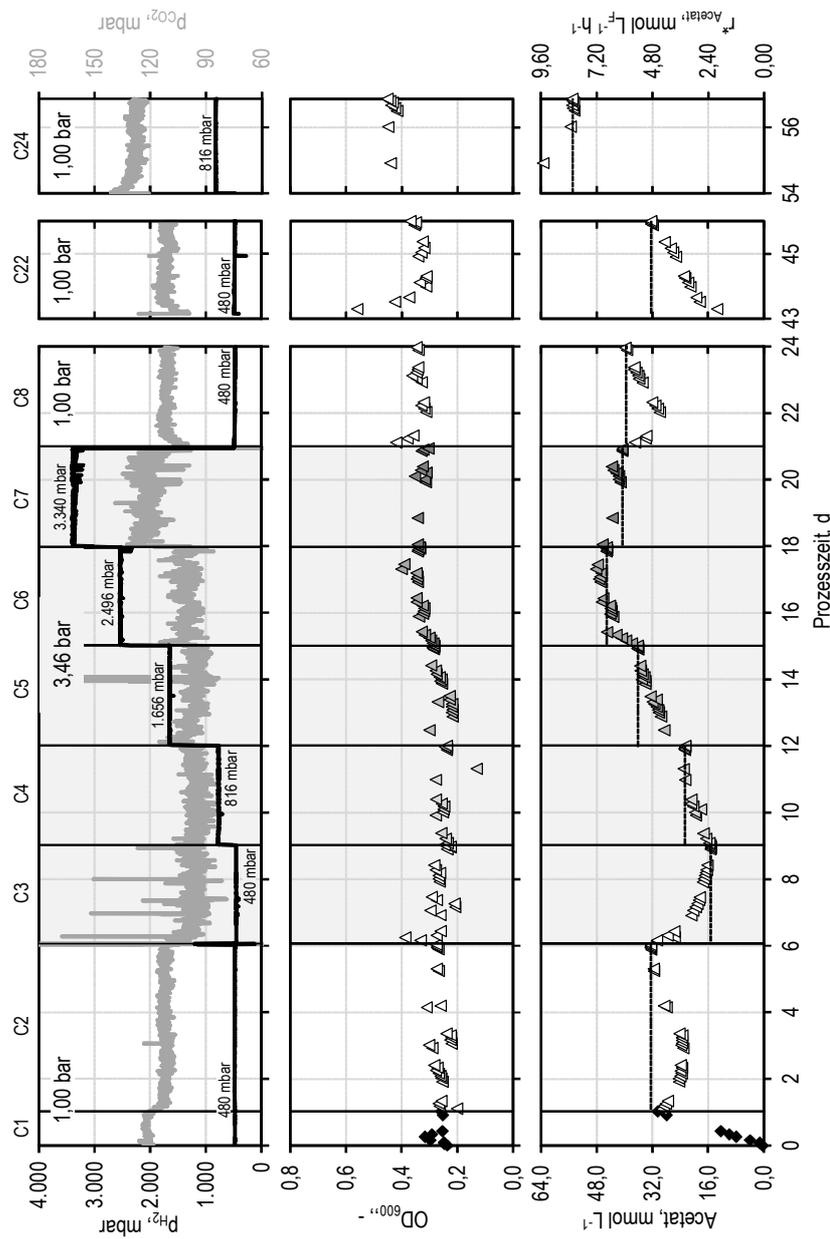


Abbildung 7.6: **Variation des H_2 -Partialdrucks und/oder des Gesamtdrucks:** Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetatkonzentration, der Raum-Zeit-Ausbeute am Reaktorausgang (r_{Acetat}^*) sowie des H_2 - und CO_2 -Partialdruckes (p_{H_2} , schwarz; p_{CO_2} , grau) für Untersuchungen zur Gasfermentation mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,25$ L; 30 °C; pH 8; $G_{ein} = 10$ L $L^{-1} h^{-1}$; $p_{CO_2, ein} = 0,120$ bar) im Festbettbioreaktor („Langzeitstudie C“, Details siehe Tabelle A.17 im Anhang). Die ersten 24 h wurden als Satzprozess ($p_{H_2, ein} = 0,480$ bar) geführt. Anschließend wurden Untersuchungen mit kontinuierlicher Medienerneuerung ($D = 0,070$ h^{-1}) bei variiertem H_2 -Partialdruck und Gesamtdruck durchgeführt. N_2 wurde als Inertgas verwendet: C1, $P = 1,00$ bar, $p_{H_2, ein} = 480$ mbar (Satzphase); C2, $P = 1,00$ bar, $p_{H_2, ein} = 480$ mbar; C3, $P = 3,46$ bar, $p_{H_2, ein} = 480$ mbar; C4, $P = 3,46$ bar, $p_{H_2, ein} = 816$ mbar; C5, $P = 3,46$ bar, $p_{H_2, ein} = 1.656$ mbar; C6, $P = 3,46$ bar, $p_{H_2, ein} = 2.496$ mbar; C7, $P = 3,46$ bar, $p_{H_2, ein} = 3.340$ mbar; C8, $P = 1,00$ bar, $p_{H_2, ein} = 480$ mbar; C22, $P = 1,00$ bar, $p_{H_2, ein} = 480$ mbar; C24, $P = 1,00$ bar, $p_{H_2, ein} = 816$ mbar. Die gestrichelten Horizontalen geben die jeweils finalen Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten vor den Änderungen der Reaktionsbedingungen an. Die Vertikalen zeigen den Zeitpunkt der Änderung der Betriebsbedingungen.

Diskussion

Die kontinuierliche Prozessführung nach der Satzphase zeigte eine Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute von $4,9 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$. Die Untersuchungen in „Langzeitstudie A“ (siehe Abbildung 7.5) bei identischen Betriebs- und Reaktionsbedingungen zeigten eine Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute von $4,0 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$. Die Reproduzierbarkeit der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute im kontinuierlichen Festbettbiofilmreaktor hatte somit einen Fehler von $\sim 18 \%$.

Abbildung 7.7 zeigt die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten der Untersuchungen im kontinuierlichen Festbettbiofilmreaktor als Funktion des H_2 -Eingangspartialdrucks ($p_{\text{H}_2,\text{ein}}$) bei Atmosphärendruck ($P = 1 \text{ bar}$, schwarz) und erhöhtem Gesamtdruck ($P = 3,46 \text{ bar}$, grau).

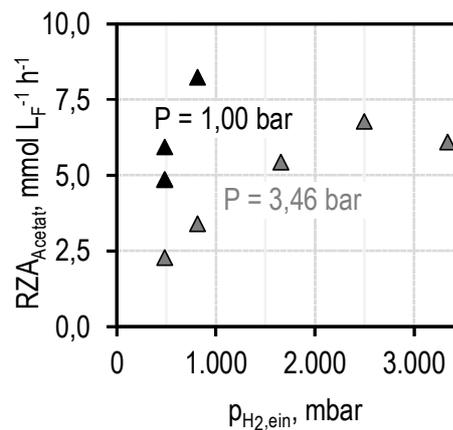


Abbildung 7.7: Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute als Funktion des H_2 -Eingangspartialdrucks ($p_{\text{H}_2,\text{ein}}$) für Untersuchungen zur Gasfermentation mit *C. aceticum* im Festbettbiofilmreaktor im kontinuierlichen Betrieb ($V_R = 2,25 \text{ L}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH } 8$; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $p_{\text{CO}_2,\text{ein}} = 120 \text{ mbar}$, $D = 0,07 \text{ h}^{-1}$) bei einem Gesamtdruck (P) von $1,0 \text{ bar}$ (schwarz) oder $3,46 \text{ bar}$ (grau) im Rahmen der „Langzeitstudie C“.

Die Erhöhung des Gesamtdruckes auf $3,46 \text{ bar}$ bei sonst gleichbleibenden Reaktionsbedingungen reduzierte die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute signifikant auf 47% der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute bei Atmosphärendruck. Eine Erklärung dafür könnte eine mögliche Drucksensibilität von *C. aceticum* sein, welche in dieser Studie erstmals beobachtet wurde. Untersuchungen mit *Escherichia coli* zeigten zum Beispiel eine Druckabhängigkeit eines Ionenkanals, welche den Stoffwechsel beeinflusste (Martinac *et al.* 1987). Der tödliche Effekt von Drücken sei für feste Phasen (wie es Biofilme sind) ausgeprägter als für flüssige Phasen (Timson und Short 1965). Die druckbedingte mechanische Zerstörung von Bakterien wird in der Lebensmittelindustrie bei Drücken von $1\text{-}6 \text{ kbar}$ im sogenannten Hochdruckverfahren (HPP, engl. *high-pressure processing*) durchgeführt (Huang *et al.* 2014; Spilimbergo *et al.* 2002). Aufgrund sehr geringer Drücke ($P = 3,46 \text{ bar}$) wird die mechanische Zerstörung von *C. aceticum* ausgeschlossen. Die für viele Bakterien in der Literatur beschriebenen biochemischen CO_2 -Effekte bei höheren Drücken (Misoph und Drake 1996; Molin 1983) sind für die hier gezeigten Untersuchungen vermutlich nicht relevant, da der CO_2 -Eingangspartialdruck durch die Reduktion des CO_2 -Anteils konstant bei $p_{\text{CO}_2,\text{ein}} = 120 \text{ mbar}$ gehalten wurden. Der Ausgangspartialdruck (p_{CO_2}) wich nur um wenige Prozent vom Eingangspartialdruck ab (Abbildung 7.6). An dieser Stelle muss allerdings angemerkt werden, dass die Löslichkeit von Gasen mit dem Gesamtdruck steigt

(Carroll 1999; Smith und Harvey 2007). Die Änderung der Löslichkeit bei gleichbleibendem H_2 - beziehungsweise CO_2 -Eingangspartialdruck bei erhöhtem Gesamtdruck könnte den Stoffwechsel von *C. aceticum* beeinflusst haben. Eine weitere mögliche Erklärung der reduzierten Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute bei erhöhtem Gesamtdruck könnte die Reduktion des Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_{L,a}$) sein. Dieser könnte durch eine Abnahme der volumenbezogenen Phasengrenzfläche (a) bei erhöhtem Gesamtdruck in Festbettbiofilmreaktoren reduziert worden sein und damit den H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransport gesenkt haben (Benadda *et al.* 1996; Maalej *et al.* 2003).

Die sukzessive Erhöhung des H_2 -Eingangspartialdrucks ($p_{H_2, \text{ein}}$) steigerte die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute bei einem Gesamtdruck von 3,46 bar bis zu einem H_2 -Eingangspartialdruck von 2.496 mbar. Die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute konnte im Vergleich zu den Untersuchungen bei $p_{H_2, \text{ein}} = 480$ mbar und $P = 3,46$ bar (C3) auf den 3-fachen Wert erhöht werden. Die weitere Steigerung des H_2 -Eingangspartialdrucks auf $p_{H_2, \text{ein}} = 3.340$ mbar erhöhte die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute nicht. Eine Begründung könnte die kontinuierliche Sättigung des Prozessmediums mit H_2 im Festbettbiofilmreaktor sein. Höherere H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransportraten als die H_2 -Aufnahmeraten von *C. aceticum* könnten zur H_2 -Sättigung und dadurch zu einer H_2 -Substratüberschussinhibierung geführt haben.

Die Prozessführung nach den Untersuchungen unter erhöhtem Gesamtdruck bei Standardbedingungen (C8: $P = 1$ bar; $p_{H_2, \text{ein}} = 480$ mbar) zeigte nach einer Gesamtprozesszeit von 24 Tagen eine um 22% höhere Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute als nach 6 Tagen (C2). Die Prozessführung bei erhöhtem Gesamtdruck scheint das Biomassewachstum durch bessere Substratverfügbarkeit gefördert zu haben. Die Biomasse könnte sich an das Trägermaterial angelagert haben. Eine höhere immobilisierte Biotrockenmassekonzentration könnte die erhöhte Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute nach 24 Tagen (C8) erklären. Die Untersuchungen wurden bei denselben Betriebsbedingungen nach 46 Tagen wiederholt (C22). Die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute war zu diesem Zeitpunkt wieder mit den Untersuchungen nach 6 Tagen (C2) vergleichbar. Es wird vermutet, dass die immobilisierte Biomasse aufgrund eines geringeren Gas-Flüssig-Stofftransportes bei Atmosphärendruck nicht im aktiven Zustand gehalten werden konnten. Szewzyk und Szewzyk (2003) veröffentlichten, dass Mikroorganismen im Biofilm bei Nährstoffmangel in einen inaktiven Zustand übergehen (siehe Abschnitt 3.2).

Ab einer Prozesszeit von 53,5 Tagen der „Langzeitstudie C“ wurde der H_2 -Eingangspartialdruck bei Atmosphärendruck auf das 1,7-fache erhöht (C24: $P = 1$ bar, $p_{H_2, \text{ein}} = 816$ mbar) und damit die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute um den Faktor 1,7 im Vergleich zu den Untersuchungen nach 46 Tagen (C22: $P = 1$ bar, $p_{H_2, \text{ein}} = 480$ mbar) gesteigert. Die Untersuchungen zeigten, dass die Erhöhung der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute mit der Erhöhung der maximalen H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransportrate (HTR_{max}) im stöchiometrischen Verhältnis möglich war. Aus diesem Grund wird angenommen, dass die autotrophe Umsetzung von $CO_2:H_2$ im kontinuierlichen Festbettbiofilmreaktor durch den Gas-Flüssig-Stofftransport limitiert war.

7.2 Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom

Der Aufbau des Rieselbettbiofilmreaktors erfolgte durch die Ergänzung eines Flüssigkeitsverteilers (siehe Abbildung 4.3) im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf. Der Betrieb erfolgte bei einer Drehzahl von 16-18 U min⁻¹. Die Untersuchungen mit *C. aceticum* wurden nach einer eintägigen Satzphase bei Standardbedingungen ($V_R = 2,25$ L; 30 °C; pH 8; $G_{\text{ein}} = 10$ L L⁻¹ h⁻¹; CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) und einer anschließenden kontinuierlichen Prozessführung im Festbettbiofilmreaktor ($D = 0,073$ h⁻¹ ± 0,004 h⁻¹) gestartet. Im Anschluss wurde das Prozessmedium um das Festbett entfernt und unterschiedliche Prozessbedingungen wurden eingestellt. Die Untersuchungen fanden in zwei Langzeitstudien statt („B“ und „C“; Tabelle A.16 und Tabelle A.17 im Anhang).

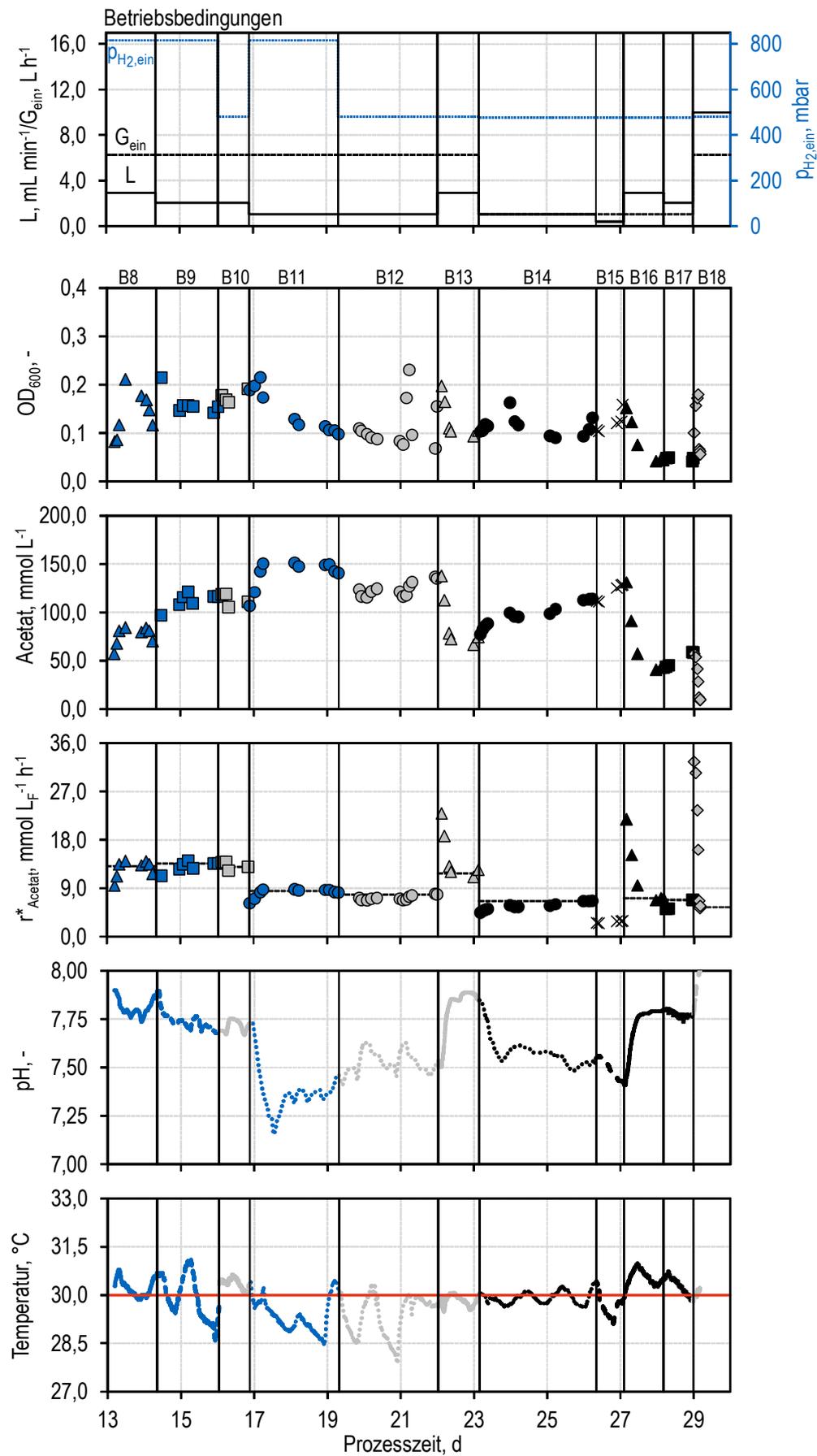
7.2.1 Kontinuierliche Prozessführung ohne Flüssigkeitszirkulation

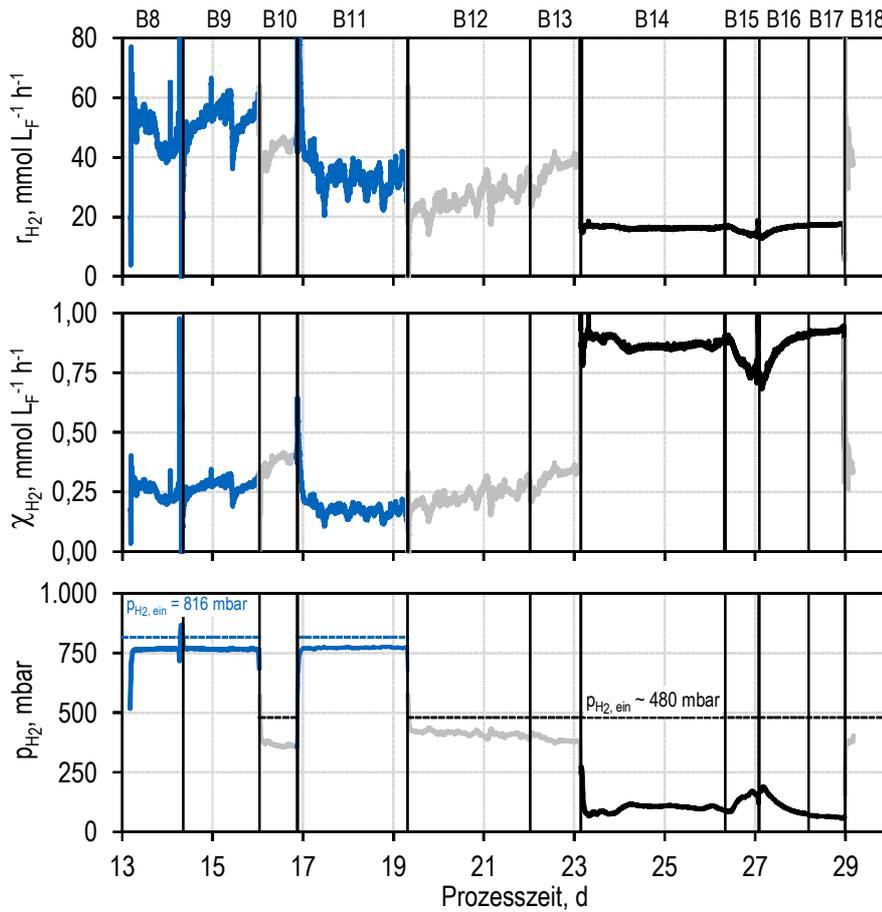
Bei den Untersuchungen zur Gasfermentation mit *C. aceticum* im Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom (~30 °C; pH_{ein} ~8; 1 bar, p_{CO₂,ein} = 120 mbar; N₂ als Inertgas) wurde der Einfluss der Zulauftrate bei unterschiedlichen H₂-Partialdrücken und Eingangsgasvolumenströmen ohne Flüssigkeitszirkulation auf die Prozessleistung von *C. aceticum* im Rahmen einer Langzeitstudie („B“) beobachtet.

Der pH des Zulaufmediums wurde mit NaHCO₃ auf pH 8 gepuffert und während der kontinuierlichen Prozessführung nicht geregelt. Die pH-Messung und die Probenahme erfolgten im Flüssigkeitsreservoir im unteren Bereich des Bioreaktors (V_{FR} in Abbildung 5.11). Die Reaktionsbedingungen sind in Tabelle 7.4 zusammengefasst. Der Prozessverlauf ist in Abbildung 7.8 dargestellt.

Tabelle 7.4: Zusammenfassung der Betriebsbedingungen und finalen Messergebnisse vor der Änderung auf die nächste Betriebsbedingung bei der kontinuierlichen Gasfermentation mit *C. aceticum* im Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom unter Standardbedingungen (**grau**), bei erhöhtem H₂-Eingangspartialdruck (**blau**) und bei reduziertem Gasvolumenstrom (**schwarz**): G_{ein} , Eingangsgasvolumenstrom; $p_{\text{H}_2,\text{ein}}$, H₂-Eingangspartialdruck; L , Zulauftrate; RZA , Raum-Zeit-Ausbeute; \bar{r}_{H_2} , mittlere H₂-Aufnahmerate; $\bar{\lambda}_{\text{H}_2}$, mittlerer H₂-Umsatz; \bar{p}_{H_2} , mittlerer H₂-Partialdruck; pH_{min}, minimaler pH. Weitere Details der Langzeitstudie („B“) sind in Tabelle A.16 zu finden.

| # | G_{ein} , L h ⁻¹ | $p_{\text{H}_2,\text{ein}}$, mbar | L , mL min ⁻¹ | Acetat, mmol L ⁻¹ | RZA_{Acetat} , mmol L ⁻¹ h ⁻¹ | \bar{r}_{H_2} , - | $\bar{\lambda}_{\text{H}_2}$, - | $\bar{p}_{\text{H}_2,\text{lin}}$, mbar | $\bar{p}_{\text{H}_2,\text{log}}$, mbar | pH _{min} , - |
|-----|---|---------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---|-------------------------------|-------------------------------------|---|---|--------------------------|
| B8 | 6,25 | 816 | 2,93 | 78,7 | 13,1 | 45,6 | 0,24 | 792 | 792 | 7,73 |
| B9 | 6,25 | 816 | 2,05 | 116,7 | 13,6 | 55,7 | 0,29 | 791 | 791 | 7,68 |
| B10 | 6,25 | 480 | 2,05 | 111,2 | 13,0 | 45,4 | 0,40 | 421 | 418 | 7,67 |
| B11 | 6,25 | 816 | 1,03 | 145,4 | 8,5 | 34,9 | 0,18 | 795 | 794 | 7,15 |
| B12 | 6,25 | 480 | 1,03 | 134,4 | 7,8 | 30,4 | 0,27 | 442 | 441 | 7,41 |
| B13 | 6,25 | 480 | 2,93 | 70,7 | 11,8 | 38,6 | 0,34 | 430 | 428 | 7,50 |
| B14 | 1,05 | 476 | 1,03 | 113,4 | 6,6 | 16,4 | 0,86 | 288 | 241 | 7,48 |
| B15 | 1,05 | 476 | 0,40 | - | - | - | - | - | - | 7,41 |
| B16 | 1,05 | 476 | 2,93 | 42,8 | 7,1 | 17,0 | 0,89 | 277 | 220 | 7,41 |
| B17 | 1,05 | 476 | 2,05 | 58,8 | 6,9 | 17,5 | 0,92 | 268 | 202 | 7,74 |
| B18 | 6,25 | 480 | 10,00 | 9,7 | 5,5 | 39,3 | 0,34 | 430 | 428 | 7,78 |

Abbildung 7.8: Untersuchungen im Rieselfbettbiofilmreaktor mit *C. aceticum* (Tabelle 7.4).



Fortsetzung Abbildung 7.8: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetatkonzentration, der Raum-Zeit-Ausbeute am Reaktorausgang (r_{Acetat}^*) sowie des pH und der Temperatur, der H₂-Aufnahmeraten (r_{H_2}), der H₂-Umsätze (χ_{H_2}) und der H₂-Partialdrücke (p_{H_2}) für Untersuchungen zur Gasfermentation mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen (30 °C; $p_{H_{\text{ein}}} \sim 8$; 1 bar, $p_{CO_2, \text{ein}} = 120 \text{ mbar}$) im Rieselbettbiofilmreaktor („Langzeitstudie B“, Details siehe Tabelle A.16 im Anhang) mit kontinuierlicher Prozessführung bei variiertem Zulaufstrom $L = L_{\text{ein}} = L_{\text{aus}}$, H₂-Eingangspartialdruck $p_{H_2, \text{ein}}$ und Eingangsgasvolumenstrom G_{ein} nach Tabelle 7.4. N₂ wurde als Inertgas verwendet. Die Vertikalen zeigen den Zeitpunkt der Änderung der Betriebsbedingung.

Der Betrieb des Rieselbettbiofilmreaktors war erfolgreich. Es konnten vergleichbare Abflussraten wie Zulaufströme gemessen und damit gezeigt werden, dass der kontinuierliche Betrieb möglich war (Daten nicht gezeigt). Es wurden optische Dichten (OD_{600}) im Bereich von 0,04 bis 0,23 gemessen. Die Temperatur war stets im Bereich zwischen 28 °C und 31 °C. Der mittlere H₂-Partialdruck wurde für die Grenzfälle eines linearen und eines logarithmischen (Gleichung 3-25) Konzentrationsgefälles berechnet. Die Acetatkonzentrationen, die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute (RZA_{Acetat}), die mittlere H₂-Aufnahmerate (\bar{r}_{H_2}), der mittlere H₂-Umsatz ($\bar{\chi}_{H_2}$) und der mittlere H₂-Partialdruck (\bar{p}_{H_2}) vor der Änderung auf die nächste Betriebsbedingung sowie der minimale pH sind für alle Bedingungen ebenfalls in Tabelle 7.4 zusammengefasst. Die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten sowie die H₂-Umsätze sind für alle Bedingungen in Abbildung 7.9 dargestellt.

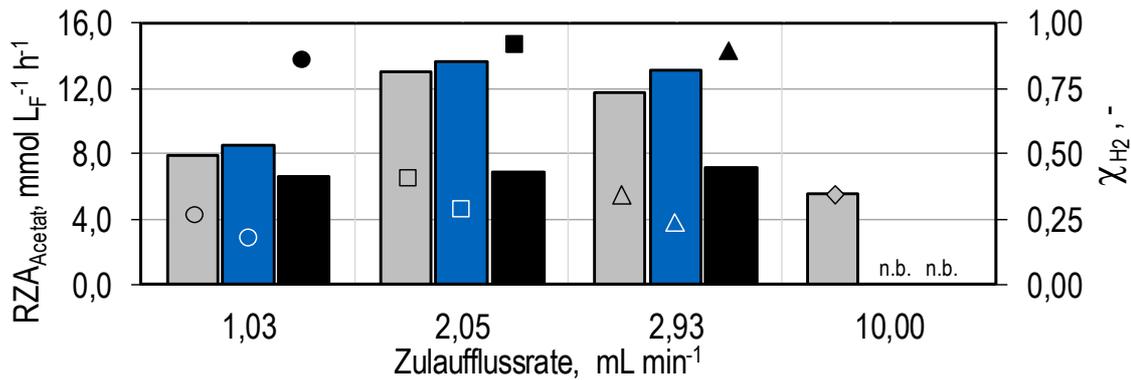


Abbildung 7.9: Zusammenfassung der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten (RZA_{Acetat} , Balken) und der H_2 -Umsätze (χ_{H_2} , Symbole) bei Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor mit *C. aceticum* (30 °C, 1 bar, $p_{\text{CO}_2,\text{ein}} = 120$ mbar) in Abhängigkeit der Zulauftrate bei unterschiedlichen Betriebsbedingungen: grau; $G_{\text{ein}} = 6,25$ L h⁻¹, $p_{H_2,\text{ein}} = 480$ mbar; blau; $G_{\text{ein}} = 6,25$ L h⁻¹, $p_{H_2,\text{ein}} = 816$ mbar; schwarz, $G_{\text{ein}} = 1,05$ L h⁻¹, $p_{H_2,\text{ein}} = 476$ mbar. Abkürzung: n.b., nicht bestimmt.

Diskussion

Die Änderung der Zulauftrate von 2 mL min⁻¹ auf 3 mL min⁻¹ bei Standardbedingungen ($p_{H_2,\text{ein}} = 480$ mbar, $G_{\text{ein}} = 6,25$ L h⁻¹) zeigte keine Erhöhung der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute. Diese war für beide Bedingungen vergleichbar. Die Reduktion der Zulauftrate von 3 mL min⁻¹ auf 1 mL min⁻¹ zeigte jedoch eine Abnahme der Raum-Zeit-Ausbeute um 33 %. Da die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten für alle drei Zulaufraten bei erhöhtem H_2 -Eingangspartialdruck ($p_{H_2,\text{ein}} = 816$ mbar) mit den Untersuchungen bei $p_{H_2,\text{ein}} = 480$ mbar innerhalb des Messfehlers von ~8 % vergleichbar waren, wurde eine H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung ausgeschlossen. Der H_2 -Umsatz war bei gleichbleibendem Eingangsgasvolumenstrom und erhöhtem Partialdruck bei vergleichbaren Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten erwartungsgemäß reduziert. Die H_2 -Aufnahmeraten entsprachen mit einer maximalen Abweichung von 18 % näherungsweise dem stöchiometrischen Verhältnis (Reaktionsgleichung 3-6). Die Abweichungen sind auf Messungenauigkeiten der HPLC-Analytik, der Zulauftrate sowie der Abgasanalytik zurückzuführen.

Die weitere Erhöhung der Zulauftrate von 3 mL min⁻¹ auf 10 mL min⁻¹ reduzierte die Raum-Zeit-Ausbeute auf die Hälfte. Die H_2 -Aufnahmerate war um 78 % höher als über das stöchiometrische Verhältnis notwendig. Eine Erklärung dafür könnte eine Kanalbildung der Flüssigphase sein. In diesem Fall würde die Flüssigkeit über das Festbett strömen, aber kaum mit dem Biofilm in Kontakt treten. H_2 könnte über den Gas-Flüssig-Stofftransport in die Flüssigphase diffundiert sein und dadurch eine erhöhte H_2 -Aufnahmerate vorgetäuscht haben. H_2 wurde aber nicht vollständig zu Acetat verstoffwechselt, wie über die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute gezeigt werden konnte. Gelöstes H_2 könnte somit über die Flüssigphase aus dem Rieselbettbiofilmreaktor ausgetragen worden sein.

Eine mögliche Erklärung dafür, dass die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute mit geringerer Zulauftrate ($L = 1$ mL min⁻¹) abnahm, ist eine mögliche Flüssig-Biofilm-Stofftransportlimitierung. Die gewählte Zulauftrate könnte den Stofftransport in der Flüssigrenzschicht minimiert haben. Im Flüssigkeitsreservoir wurden bei einer Zulauftrate von 1 mL min⁻¹ Minimalwerte des pH von $pH_{\text{min}} 7,15$ gemessen. *C. aceticum* ist bekanntlich sehr pH-

sensibel und hat sein pH-Optimum bei 8,0-8,3 (Braun *et al.* 1981). Der geringe pH entstand aufgrund hoher Acetatkonzentrationen bei geringeren Zulaufzeiten und könnte den Metabolismus von *C. aceticum* bereits ab einer unbekanntenen Höhe beeinflusst und somit die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute reduziert haben. Ein weiterer möglicher Grund für die Abnahme der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute könnte eine Produktinhibierung durch das Stoffwechselprodukt Acetat ($C_{\text{Acetat,max}} \approx 151 \text{ mmol L}^{-1}$) sein.

Die Reduktion des Eingangsgasvolumenstroms von $6,25 \text{ L h}^{-1}$ auf $1,05 \text{ L h}^{-1}$ führte zur Reduktion der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute auf $\sim 6,9 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ und der H_2 -Aufnahmerate auf $\sim 17 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ aber zu einer Steigerung des H_2 -Umsatzes auf Spitzenwerte von 92 %. Die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute, die H_2 -Aufnahmerate und der H_2 -Umsatz waren für die drei untersuchten Zulaufzeiten vergleichbar. Eine Erklärung könnte eine Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung aufgrund des geringen Eingangsgasvolumenstroms und des hohen H_2 -Umsatzes sein. Im Bezug auf das stöchiometrische Verhältnis der autotrophen Acetatproduktion (Reaktionsgleichung 3-6) können bei vollständigem Umsatz des kontinuierlich geförderten H_2 ($20 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$) maximal $5 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ Acetat produziert werden. Die Messungen im Rieselbettbiofilmreaktor zeigten um $\sim 38 \%$ höhere Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten. Mögliche Gründe könnten Messungenauigkeiten der HPLC-Analytik oder der Zulaufzeit sein. Für eine Klärung der Unterschiede wurden die Untersuchungen bei einer Zulaufzeit von 3 mL min^{-1} wiederholt.

Variation des Eingangsgasvolumenstroms

In einer weiteren Langzeitstudie („C“, siehe C17-C21 in Tabelle A.17) wurde überprüft, ob durch sukzessive Reduktion des Eingangsgasvolumenstroms die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute konstant gehalten und der H_2 -Umsatz gesteigert werden konnte. Die Untersuchungen zur Variation des Eingangsgasvolumenstroms wurden bei Standardbedingungen ($30 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH}_{\text{ein}} \sim 8$; $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 3:12:10) und einer Zulaufzeit von 3 mL min^{-1} nach 36 Tagen Betrieb im Festbettbiofilmreaktor durchgeführt. Zur Sicherstellung, dass die dargestellten Erkenntnisse reproduzierbar waren und der auf dem Festbett immobilisierte Biofilm keine anderen Grundvoraussetzungen aufgrund seiner Vorgeschichte darstellte, wurden am Anfang die Untersuchungen bei einem Eingangsgasvolumenstrom von $6,25 \text{ L h}^{-1}$ wiederholt. Im Anschluss wurden die weiteren Eingangsgasvolumenströme von $4,17 \text{ L h}^{-1}$, $3,13 \text{ L h}^{-1}$, $2,08 \text{ L h}^{-1}$ und $1,05 \text{ L h}^{-1}$ untersucht (Abbildung 7.10).

Während der Prozesszeit von 36-43 Tagen von „Langzeitstudie C“ wurden optische Dichten (OD_{600}) im Bereich von 0,12 und 0,28 gemessen. Die Temperatur variierte in einem Bereich von $27,7 \text{ }^\circ\text{C}$ und $31,2 \text{ }^\circ\text{C}$. Der pH erreichte Minimalwerte von pH 7,7. Die Acetatkonzentrationen, die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute ($\text{RZA}_{\text{Acetat}}$), die mittlere H_2 -Aufnahmerate (\bar{r}_{H_2}), der mittlere H_2 -Umsatz ($\bar{\lambda}_{\text{H}_2}$) und der mittlere H_2 -Partialdruck (\bar{p}_{H_2}) vor Änderung der Betriebsbedingung sind in Tabelle 7.5 zusammengefasst. Die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten und die H_2 -Umsätze sind als Funktion des Eingangsgasvolumenstroms in Abbildung 7.11 dargestellt.

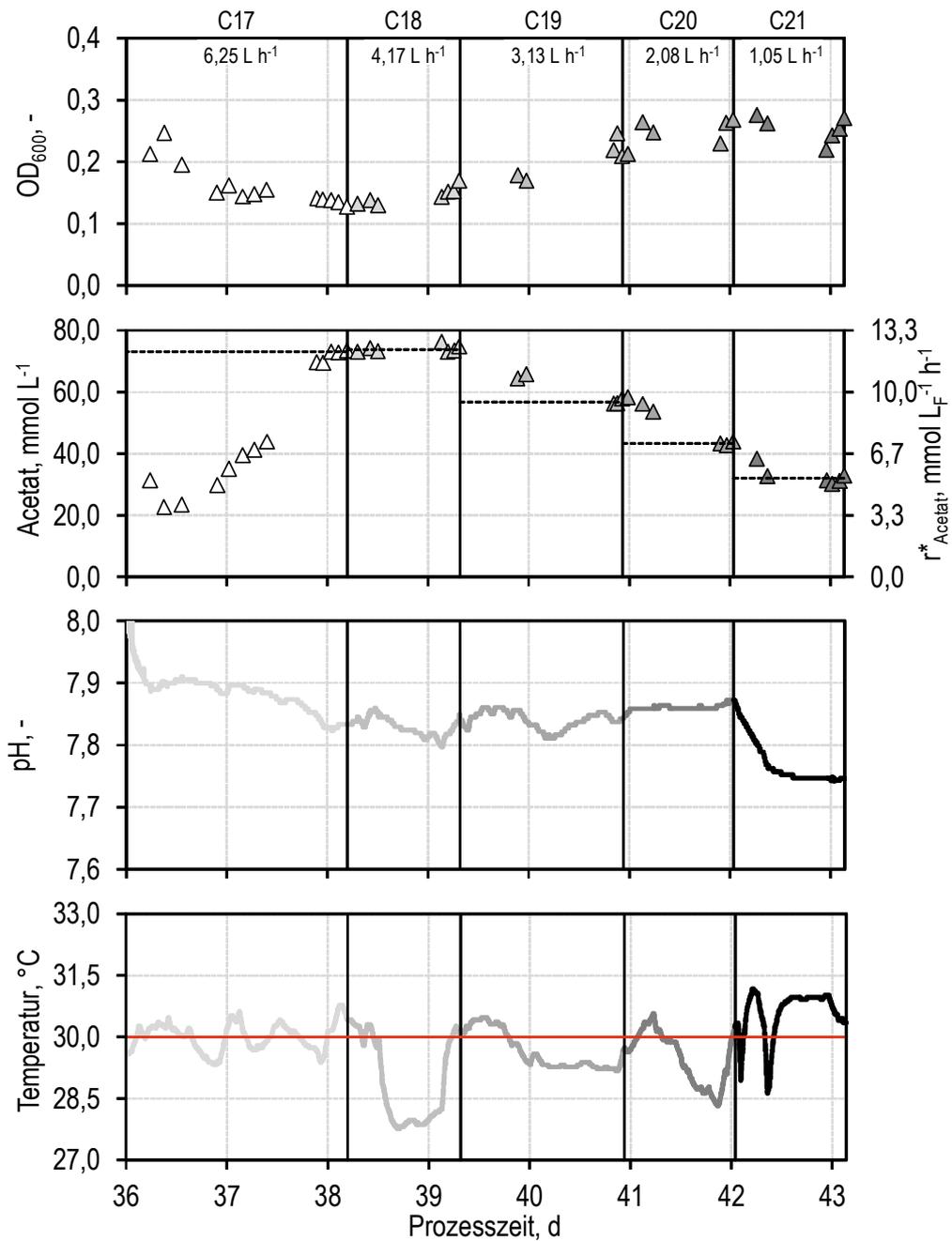
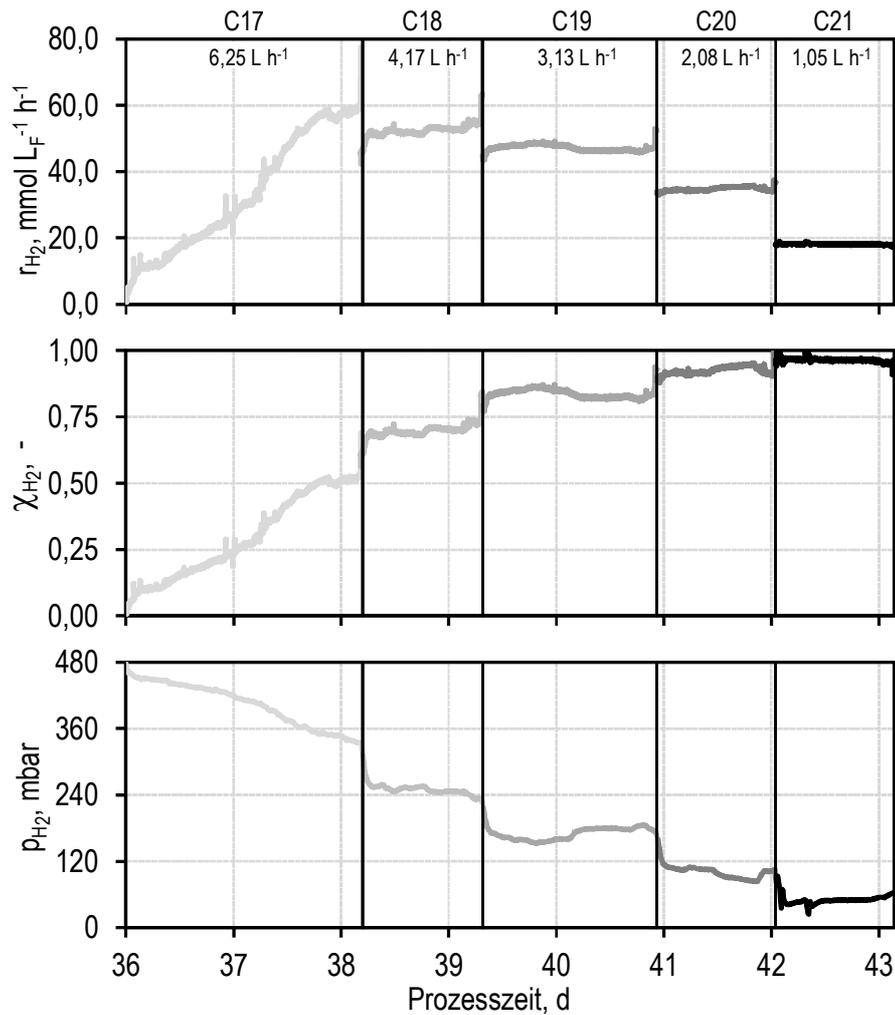


Abbildung 7.10: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetatkonzentration, der Raum-Zeit-Ausbeute am Reaktorausgang (r^*_{Acetat}) sowie des pH und der Temperatur für Untersuchungen zur Gasfermentation mit *C. aceticum* unter Standardbedingungen (30°C ; $\text{pH}_{\text{ein}} \sim 8$; 1 bar, $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 3:12:10) im Rieselbettbiofilmreaktor („Langzeitstudie C“, Details siehe Tabelle A.16 im Anhang) mit kontinuierlicher Prozessführung bei einer Zulauftrate von $L = L_{\text{ein}} = L_{\text{aus}} = 3 \text{ mL min}^{-1}$ und variiertem Eingangsgasvolumenstrom (G_{ein}): C17, $G_{\text{ein}} = 6,25 \text{ L h}^{-1}$; C18, $G_{\text{ein}} = 4,17 \text{ L h}^{-1}$; C19, $G_{\text{ein}} = 3,13 \text{ L h}^{-1}$; C20, $G_{\text{ein}} = 2,08 \text{ L h}^{-1}$; C21, $G_{\text{ein}} = 1,05 \text{ L h}^{-1}$. Die Vertikalen zeigen den Zeitpunkt der Änderung der Betriebsbedingung.



Fortsetzung Abbildung 7.10: Zeitlicher Verlauf der H₂-Aufnahmeraten (r_{H_2}), H₂-Umsätze (χ_{H_2}) und H₂-Partialdrücke (p_{H_2}) bei Untersuchungen zur Gasfermentation mit *C. aceticum* unter Standardbedingungen (30 °C; $p_{H_{ein}} \sim 8$; 1 bar, CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) im Rieselbettbiofilmreaktor („Langzeitstudie C“, Details siehe Tabelle A.16 im Anhang) mit kontinuierlicher Prozessführung bei einer Zulauftrate von $L = L_{ein} = L_{aus} = 3 \text{ mL min}^{-1}$ und variiertem Eingangsgasvolumenstrom (G_{ein}): C17, $G_{ein} = 6,25 \text{ L h}^{-1}$; C18, $G_{ein} = 4,17 \text{ L h}^{-1}$; C19, $G_{ein} = 3,13 \text{ L h}^{-1}$; C20, $G_{ein} = 2,08 \text{ L h}^{-1}$; C21, $G_{ein} = 1,05 \text{ L h}^{-1}$. Die Vertikalen zeigen den Zeitpunkt der Änderung der Betriebsbedingung.

Tabelle 7.5: Zusammenfassung der jeweils vor der Änderung der Betriebsbedingung finalen Acetatkonzentrationen, der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten (RZA_{Acetat}), der mittleren H₂-Aufnahmeraten (\bar{r}_{H_2}), der mittleren H₂-Umsätze ($\bar{\chi}_{H_2}$) und der mittleren H₂-Partialdrücke (\bar{p}_{H_2}) für unterschiedliche Eingangsgasvolumenströme (G_{ein}) im Rieselbettbiofilmreaktor für Gasfermentationen mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen (30 °C; $p_{H_{ein}} \sim 8$; 1 bar; CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) und einer Zulauftrate von 3 mL min^{-1} .

| # | G_{ein} , L h ⁻¹ | Acetat, mmol L ⁻¹ | RZA_{Acetat} , mmol L _F ⁻¹ h ⁻¹ | \bar{r}_{H_2} , mmol L _F ⁻¹ h ⁻¹ | $\bar{\chi}_{H_2}$, - | $\bar{p}_{H_2,lin}$, mbar | $\bar{p}_{H_2,log}$, mbar |
|-----|----------------------------------|---------------------------------|---|--|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| C17 | 6,25 | 73,12 | 12,19 | 56,33 | 0,50 | 408 | 404 |
| C18 | 4,17 | 73,72 | 12,29 | 52,28 | 0,70 | 357 | 343 |
| C19 | 3,13 | 56,80 | 9,47 | 47,15 | 0,84 | 329 | 305 |
| C20 | 2,08 | 43,26 | 7,21 | 34,74 | 0,92 | 291 | 244 |
| C21 | 1,05 | 31,97 | 5,33 | 18,13 | 0,96 | 269 | 200 |

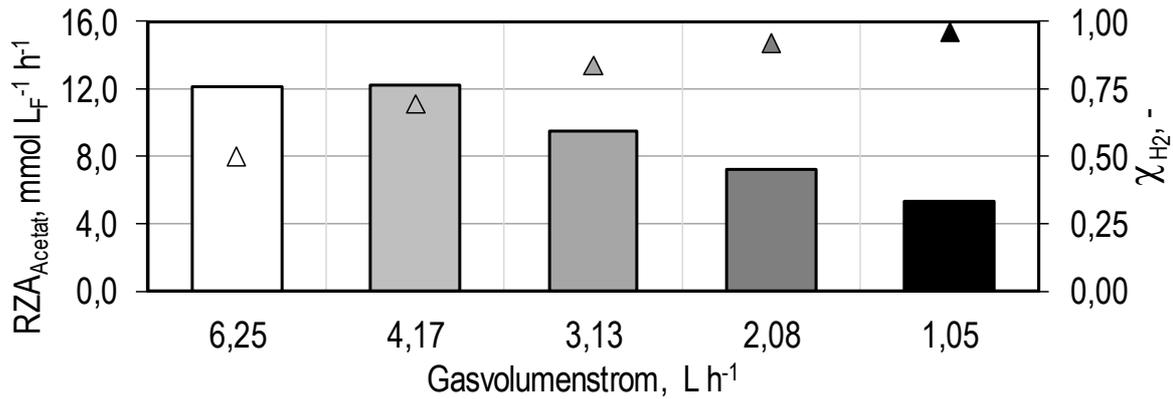


Abbildung 7.11: Zusammenfassung der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten (RZA_{Acetat} , Balken) und der H_2 -Umsätze (χ_{H_2} , Symbole) bei Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor mit *C. aceticum* (30 °C, 1 bar, $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 3:12:10) bei einer Zulauftrate von 3 mL min^{-1} als Funktion des Eingangsgasvolumenstroms (G_{ein}).

Diskussion

Der Betrieb des Rieselbettbiofilmreaktors bei einem Eingangsgasvolumenstrom von $6,25 \text{ L h}^{-1}$ in „Langzeitstudie C“ (C17) nach 36 Tagen zeigte eine vergleichbare Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute ($RZA_{\text{Acetat}} = 12,2 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$) wie bei identischen Prozessbedingungen in „Langzeitstudie B“ (B13) nach 22 Tagen ($RZA_{\text{Acetat}} = 11,8 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$). Dies zeigte eine gute Reproduzierbarkeit der Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor.

Die Untersuchungen nach 36 Tagen in „Langzeitstudie C“ zeigten für die Eingangsgasvolumenströme $6,25 \text{ L h}^{-1}$ (C17) und $4,17 \text{ L h}^{-1}$ (C18) vergleichbare Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten. Erwartungsgemäß stieg der H_2 -Umsatz bei vergleichbaren H_2 -Aufnahmeraten von 50 % auf 70 %. Die weitere schrittweise Reduktion des Eingangsgasvolumenstroms führte zu einer Abnahme der Raum-Zeit-Ausbeute um 23 % (für $G_{\text{ein}} = 3,13 \text{ L h}^{-1}$), 41 % (für $G_{\text{ein}} = 2,08 \text{ L h}^{-1}$) und 57 % (für $G_{\text{ein}} = 1,05 \text{ L h}^{-1}$). Der H_2 -Umsatz stieg auf Maximalwerte von 96 %. Durch den nahezu vollständigen Umsatz und die reduzierte Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute ist ab einem Eingangsgasvolumenstrom von $3,13 \text{ L h}^{-1}$ von einer H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung auszugehen.

Die maximal mögliche Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute bei kontinuierlicher Begasung mit $1,05 \text{ L h}^{-1}$ ($20 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$) ist $5 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$. Mit einem Umsatz von 96 % und einer Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute von $5,3 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ wurde der stöchiometrische Umsatz von H_2 gezeigt.

Unter der Annahme einer Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung wurde der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient (k_{LaH_2}) für die Gasvolumenströme $3,13 \text{ L h}^{-1}$, $2,08 \text{ L h}^{-1}$ und $1,05 \text{ L h}^{-1}$ im Rieselbettbiofilmreaktor für zwei Grenzfälle abgeschätzt: Zum einen wurde eine ideale Kolbenströmung der Gasphase mit einem logarithmischen Konzentrationsgefälle angenommen (Gleichung 3-49) (Devarapalli *et al.* 2016; Sherwood *et al.* 1975; Garcia-Ochoa und Gomez 2004). Folgende Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten (k_{LaH_2}) wurden berechnet: 1.025 h^{-1} (für $G_{\text{ein}} = 3,13 \text{ L h}^{-1}$), 942 h^{-1} (für $G_{\text{ein}} = 2,08 \text{ L h}^{-1}$) und 600 h^{-1} (für $G_{\text{ein}} = 1,05 \text{ L h}^{-1}$). Zum anderen wurde die ideale Rückvermischung mit einem linearen Konzentrationsgefälle (Gleichung 3-48) angenommen. Folgende Gas-Flüssig-

Stofftransportkoeffizienten (k_{LaH_2}) wurden berechnet: 949 h^{-1} (für $G_{\text{ein}} = 3,13 \text{ L h}^{-1}$), 791 h^{-1} (für $G_{\text{ein}} = 2,08 \text{ L h}^{-1}$) und 446 h^{-1} (für $G_{\text{ein}} = 1,05 \text{ L h}^{-1}$). Als Bezugsvolumen ($V_b = 0,21 \text{ L}$) wurde die Menge Medium im Festbett über die mittlere hydraulische Verweilzeit bei 3 mL min^{-1} abgeschätzt. Diese entspricht in etwa 175 % des Gesamtporenvolumens des Festbettes ($0,12 \text{ L}$, siehe Tabelle 5.3). Zur Berechnung wurde die Sättigungskonzentration (Gleichung 3-34) nach dem Henry'schen Gesetz abgeschätzt.

Die anhand der H_2 -Aufnahmerate berechneten H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten zeigten deutlich höhere Werte als jene des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf beziehungsweise des Festbettbiofilmreaktors mit innerem Umlauf (vergleiche Abbildung 5.12). Die H_2 -Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten liegen in einem ähnlichen Bereich wie jene für CO , die von Devarapalli *et. al* (2016) für Gasfermentationen mit *Clostridium ragsdalei* im Rieselbettbiofilmreaktor bei gas-flüssig-stofftransportlimitierenden Bedingungen publiziert wurden ($k_{LaCO,max} = 1.012 \text{ h}^{-1}$, vergleiche Abschnitt 3.5.1).

Variation des Zulauf-pH

Die Untersuchungen bei unterschiedlichen Zulaufraten im Rieselbettbiofilmreaktor zeigten bei einer Zulauftrate von 1 mL min^{-1} deutlich geringere Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten als bei 2 mL min^{-1} und 3 mL min^{-1} . Mögliche Gründe könnten der pH-Abfall oder eine Acetatinhibierung sein. In der Literatur ist für das Wachstum von *C. aceticum* ein pH-Optimum von 8,0 bis 8,3 beschrieben (Braun *et al.* 1981).

Nach etwa 30 Tagen wurde deshalb in „Langzeitstudie C“ im Rieselbettbiofilmreaktor untersucht, ob ein höherer pH_{ein} des Zulaufmediums die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute bei mit einer Zulauftrate von 1 mL min^{-1} steigern könnte. Dabei wurde das anaerobe Zulaufmedium über einen anaeroben, sterilen Sammelbehälter (siehe Abbildung 4.5) mit pH-Regelung geleitet und auf $pH_{\text{ein}} 8,25$ (C14) beziehungsweise $pH_{\text{ein}} 8,4$ (C15) geregelt. Da der pH im Sammelreservoir des Rieselbettbiofilmreaktors dennoch Minimalwerte von pH 7,45 erreichte, wurden in derselben Langzeitstudie nach 58,4 Tagen weitere Untersuchungen mit Zulaufmedium durchgeführt, das den pH in einem ungefähren Bereich von $\sim 8,25$ beziehungsweise $\sim 8,4$ pufferte (siehe Abschnitt 4.2.2). Die Prozessverläufe sind in Abbildung 7.12 dargestellt.

Während der Untersuchungen wurden optische Dichten (OD_{600}) im Bereich von 0,08 bis 0,30 gemessen. Die Temperatur im Festbett variierte zwischen $27,9 \text{ }^\circ\text{C}$ und $31,2 \text{ }^\circ\text{C}$. Es wurden Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten von $7,5 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ für einen geregelten pH 8,25 und $5,0 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ für einen geregelten pH 8,4 sowie $7,3 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ für einen gepufferten pH $\sim 8,25$ und $6,1 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ für einen gepufferten pH $\sim 8,4$ erreicht.

Diskussion

Die Untersuchungen mit erhöhtem pH des Zulaufmediums zeigten bei $pH_{\text{ein}} 8,25$ vergleichbare Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten bei geregelten (96 %) und gepufferten (93 %) Bedingungen im Vergleich zu Standardbedingungen mit $pH_{\text{ein}} \sim 8$ (100%).

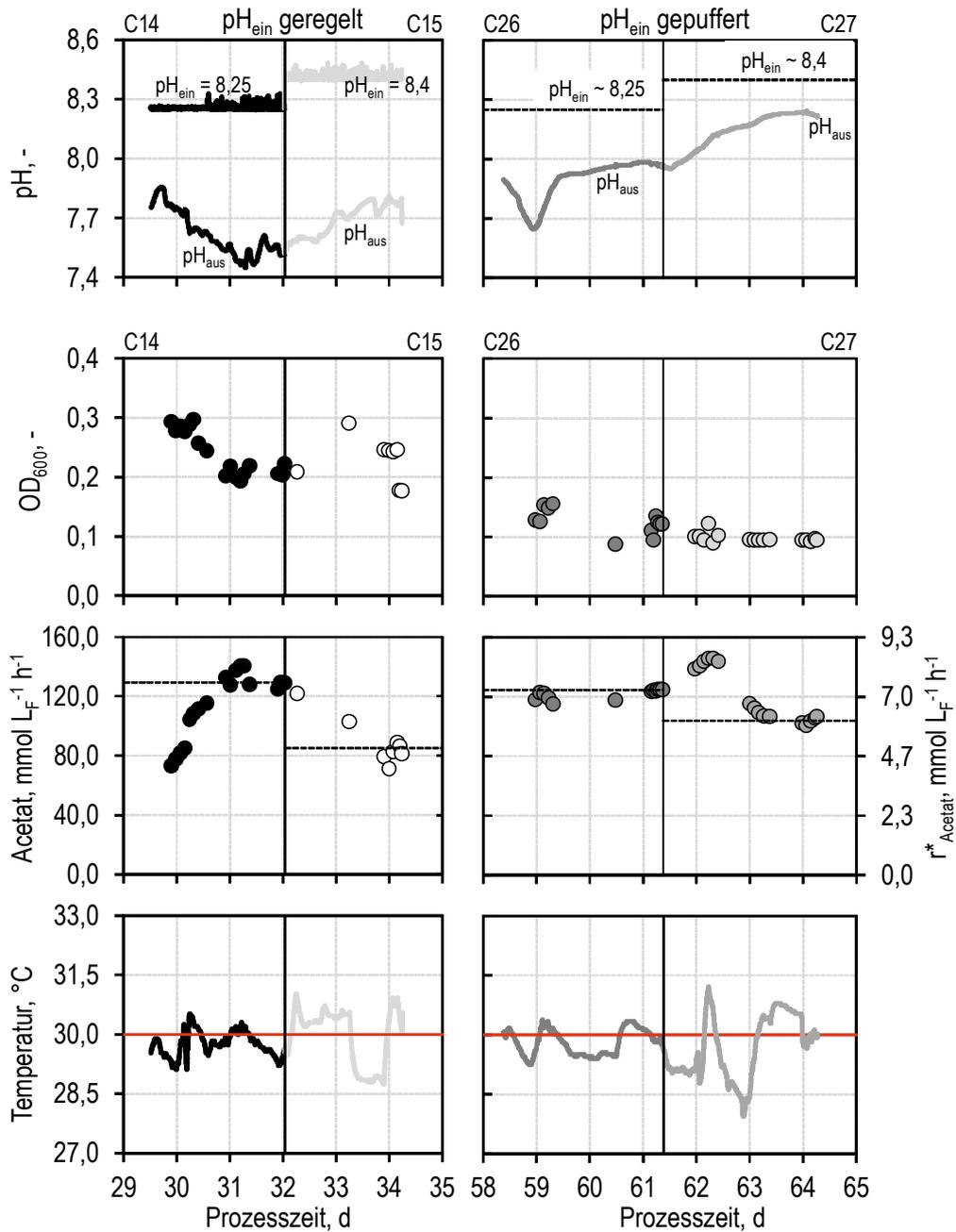


Abbildung 7.12: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetatkonzentration, der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute am Reaktoraustritt (r^*_{Acetat}), des pH des Zulaufmediums (pH_{ein}) sowie im Sammelreservoir am Boden des Reaktors (pH_{aus}) und der Temperatur im Festbett bei Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor unter Standardbedingungen (30 °C; 1 bar; $G_{ein} = 6,25 \text{ L h}^{-1}$; $CO_2:H_2:N_2$ 3:12:10) mit einer Zulauftrate von 1 mL min^{-1} mit unterschiedlichem pH des Zulaufmediums im Rahmen von „Langzeitstudie C“ (Tabelle A.17): C14, $pH_{ein} = 8,25$ (geregelt); C15, $pH_{ein} = 8,40$ (geregelt); C26, $pH_{ein} = 8,25$ (gepuffert); C27, $pH_{ein} = 8,40$ (gepuffert). Die gestrichelten Horizontalen kennzeichnen den pH des Zulaufmediums sowie die jeweils vor der Änderung der Betriebsbedingung finalen Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten. Die Vertikalen zeigen den Zeitpunkt der Änderung der Betriebsbedingung.

Eine Erhöhung auf pH_{ein} 8,4 reduzierte die Acetatproduktivität im Fließgleichgewicht auf 77 % für geregelte und auf 63 % für gepufferte Bedingungen in Bezug zu den Untersuchungen bei Standardbedingungen mit $\text{pH}_{\text{ein}} \sim 8$. Es wird deshalb angenommen, dass der pH des Zulaufmediums nicht maßgeblich für die reduzierten Acetatbildungsraten bei 1 mL min^{-1} verantwortlich war. Die reduzierten Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten bei pH_{ein} 8,4 könnten durch Änderungen der Ionenstärke im Zulaufmedium durch große Mengen Titrationsmittel begründet werden, wie es bereits für die Na^+ -Ionenkonzentration für *C. aceticum* berichtet wurde (Mayer und Weuster-Botz 2017).

7.2.2 Kontinuierliche Prozessführung mit Flüssigkeitszirkulation

In der Literatur wird der Betrieb von Rieselbettbiofilmreaktoren in Kombination mit einer Flüssigkeitszirkulation beschrieben (Devarapalli *et al.* 2016; Devarapalli *et al.* 2017). Diese hat den Vorteil den pH des Mediums zu kontrollieren und die Benetzung zu fördern.

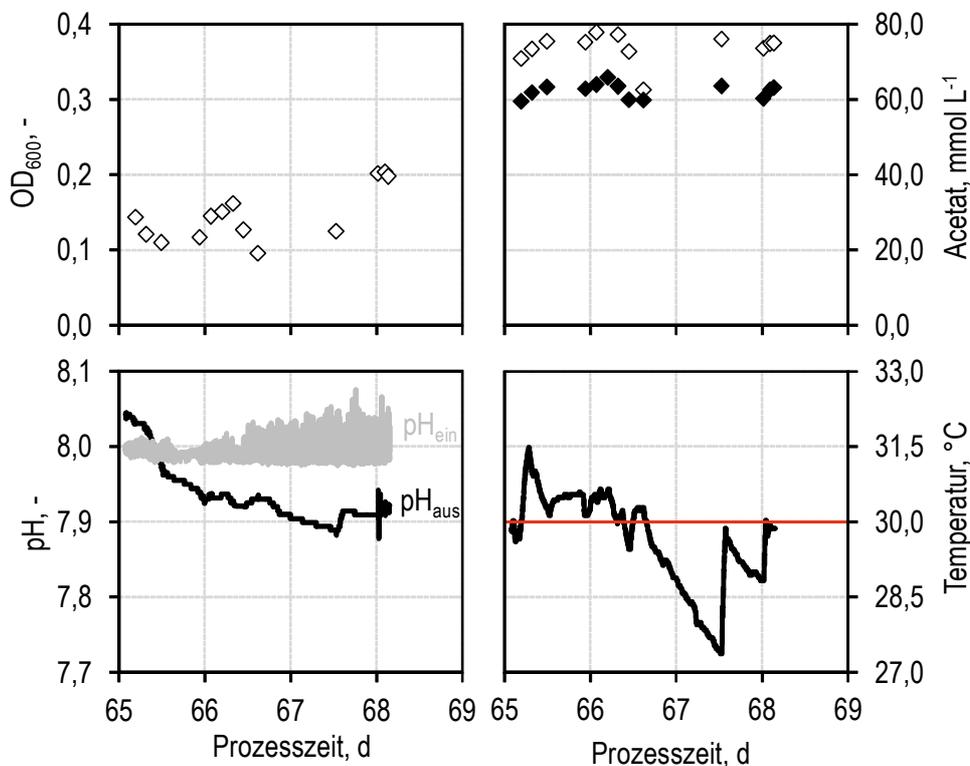


Abbildung 7.13: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetatkonzentration, des pH im Flüssigkeitsreservoir am Boden des Rieselbettbiofilmreaktors und der Temperatur für Gasfermentation mit *C. aceticum* im Rieselbettbiofilmreaktor bei Standardbedingungen ($30 \text{ }^\circ\text{C}$; pH_{ein} 8; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 6,25 \text{ L h}^{-1}$; $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 3:12:10) und Flüssigkeitszirkulation (10 mL min^{-1}) bei einer Durchflussrate von $0,13 \text{ h}^{-1}$. Die rote Horizontale kennzeichnet die optimale Prozesstemperatur für *C. aceticum* ($30 \text{ }^\circ\text{C}$). Die Acetatkonzentration wurde im Flüssigkeitsreservoir (\diamond) und im Ablauf der kontinuierlichen Prozessführung (\blacklozenge) gemessen.

Es wurden Untersuchungen zur Gasfermentation im kontinuierlich betriebenen Rieselbettbiofilmreaktor (300 g Sera SiporaxTM) bei Standardbedingungen ($30 \text{ }^\circ\text{C}$; pH_{ein} 8; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 6,25 \text{ L h}^{-1}$; $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 3:12:10) mit Flüssigkeitszirkulation ($L_z = 10 \text{ mL min}^{-1}$) und einer Durchflussrate von $D = 0,13 \text{ h}^{-1}$ durchgeführt. Der pH wurde im Sammelbehälter

(siehe Abbildung 4.5) mit 1 M KOH auf pH 8 geregelt. Das Bezugsvolumen für die Berechnung der Durchflussrate war 1,12 L, bestehend aus dem Sammelreservoirvolumen (466 mL), dem Volumen im Flüssigkeitssammelbehälter mit pH-Regelung (139 mL), dem Volumen im Flüssigkeitsverteiler bei $L_z = 10 \text{ mL min}^{-1}$ (366 mL) und dem Volumen im Festbett (153 mL). Der Prozessverlauf ist in Abbildung 7.13 dargestellt.

Die optische Dichte (OD_{600}) erreichte Maximalwerte von 0,2. Die Temperatur variierte in einem Bereich von 27,4 °C und 31,5 °C. Der pH im Flüssigkeitsreservoir am Boden des Rieselbettbiofilmreaktors erreichte Minimalwerte von pH 7,88. Die Acetatkonzentration im Flüssigkeitsreservoir erreichte im Fließgleichgewicht Werte von 74,9 mmol L⁻¹ und im Ablaufstrom 62,4 mmol L⁻¹. Die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute im Fließgleichgewicht war in Bezug auf das Festbettvolumen im Ablauf 8,8 mmol L_F⁻¹ h⁻¹.

Diskussion

Die Prozessführung kann mit den Untersuchungen ohne Flüssigkeitszirkulation nicht verglichen werden, da die Volumenverhältnisse und damit die Konzentrationen und Produktivitäten unterschiedlich sind. Dennoch konnte gezeigt werden, dass der Rieselbettbiofilmreaktor sowohl mit als auch ohne Flüssigkeitszirkulation betrieben werden kann.

7.3 Biotrockenmasse und Biofilmbildung

Im Rahmen der Untersuchungen mit *C. aceticum* in Biofilmreaktoren bei unterschiedlichen Reaktionsbedingungen wurden Satzprozesse mit CO beziehungsweise CO₂:H₂ als Substrat sowie drei kontinuierliche Langzeitstudien („A, B und C“, Tabelle A.15 bis Tabelle A.17) mit CO₂:H₂ als Substrat durchgeführt. Während dieser wurden geringe optische Dichten (OD_{600}) in Suspension, aber hohe Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten gemessen.

Mikroskopische Aufnahmen im Rasterelektronenmikroskop bestätigten, dass *C. aceticum* immobilisiert auf dem Trägermaterial Sera Siporax™ vorlag. Beispielhafte Aufnahmen der Oberfläche des Trägermaterials im Rasterelektronenmikroskop sind mit unterschiedlichen Vergrößerungen für Untersuchungen im Satzbetrieb und im kontinuierlichen Betrieb mit CO₂:H₂ als Substrat in Abbildung 7.14 gezeigt.

Die Aufnahmen zeigten, dass *C. aceticum* bei Satzprozessen bereits adsorbiert vorlag. Die charakteristische Stäbchenform des Bakteriums war noch klar erkennbar (PrimäradSORPTION, vergleiche Abbildung 3.1). Nach längeren Prozesszeiten bei teilweise kontinuierlichem Betrieb der Biofilmreaktoren war diese nur noch vereinzelt im Trägermaterial erkennbar (siehe Abbildung 7.14 A-C). Stattdessen konnte die Agglomeration von *C. aceticum* in mehrlagigen Schichten (Polylayer) in einer Matrix beobachtet werden. Es wird vermutet, dass *C. aceticum* unter anaeroben und autotrophen Bedingungen eine Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen ausgebildet hat. Die Produktion extrazellulärer polymerer Substanzen wurde bei der Biofilmbildung mehrheitlich beschrieben (Flemming und Wingender 2010; Harrison *et al.* 2005; Szewzyk und Szewzyk 2003).

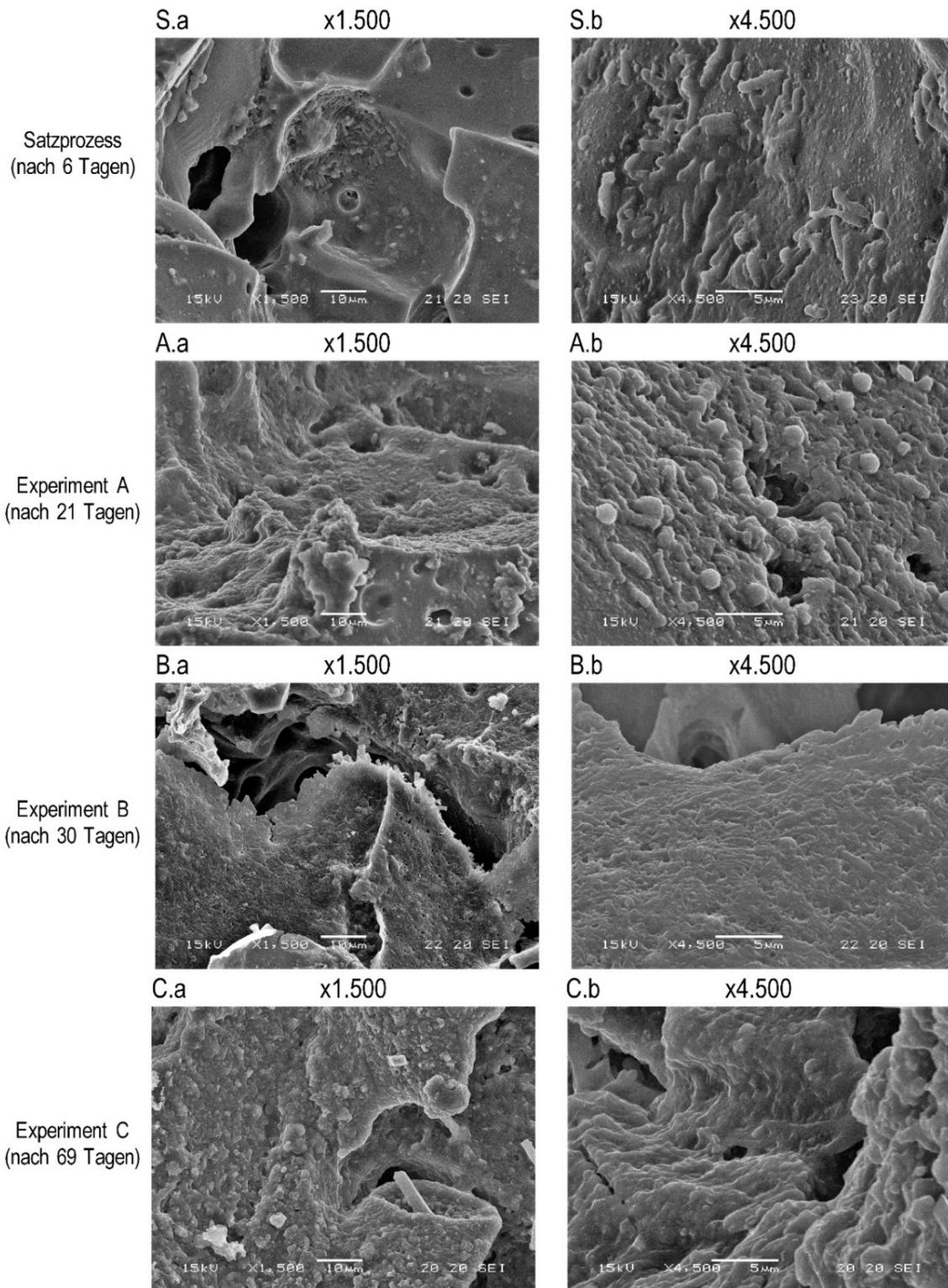


Abbildung 7.14: Zusammenfassung ausgewählter Bildmaterialien bei unterschiedlichen Vergrößerungen (a, 1.500-fach; b, 4.500-fach) der mikroskopischen Analysen im Rasterelektronenmikroskop nach Untersuchungen im Biofilmreaktor: S, nach 6 Tagen Satzprozess mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,25 \text{ L}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH } 8$; $10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2$ 3:12:10); A, nach 21 Tagen „Langzeitstudie A“ (Details siehe Tabelle A.15 im Anhang); B, nach 30 Tagen „Langzeitstudie B“ (Details siehe Tabelle A.16 im Anhang); C, nach 69 Tagen „Langzeitstudie C“ (Details siehe Tabelle A.17 im Anhang).

An dieser Stelle soll angemerkt werden, dass die vermutete Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen auch ein Artefakt der Probenaufbereitung sein könnte. Es wird aber vermutet, dass dies nicht der Fall ist, da die qualitativen Analysen mikroskopischer Aufnahmen im Rasterelektronenmikroskop nach einem sechstägigen Satzprozess diese Matrix nicht zeigten.

Das biotische Trägermaterial Sera Siporax™ wurde von oben, von der Seite und innerhalb seiner Makroporen im Rasterelektronenmikroskop analysiert. Das Zellwachstum fand primär an der Oberfläche des Trägers statt. In den Poren konnten nur vereinzelt *C. aceticum*-Zellen und kaum Biofilmbildung dokumentiert werden (Aufnahmen nicht gezeigt). Es wurden außerdem Proben aus dem oberen, dem mittleren und dem unteren Bereich des Biofilmreaktors entnommen, um mögliche lokale Unterschiede beurteilen zu können. Die Analysen zeigten aber keine Unterschiede in der qualitativen Beurteilung (Aufnahmen nicht gezeigt).

Die Biotrockenmasse auf dem Trägermaterial wurde nach dem Ende der Prozessführung im Zweifachansatz bestimmt (siehe Abschnitt 4.4.4). Die Gesamtbiotrockenmasse wurde auf die Packungsmasse (0,3 kg) und das Packungsvolumen (1,1 L) bezogen und ist in Tabelle 7.6 zusammengefasst. Für eintägige Satzprozesse (S) im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf wurde die immobilisierte Biotrockenmasse unter Annahme gleicher zellspezifischer Acetatbildungsraten wie im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf bei identischen Reaktionsbedingungen berechnet (siehe Abschnitt 7.1.1) und für den Vergleich mit kontinuierlichen Prozessführungen in Tabelle 7.6 angegeben.

Tabelle 7.6: Zusammenfassung der auf 300 g Sera Siporax™ immobilisierten Biotrockenmasse nach einem Satzversuch (S) und nach den Langzeitstudien „A, B und C“ (Berechnung über Kohlenstoffanteilvergleich nach Gleichung 4-7). Details zu den Reaktionsbedingungen der Untersuchungen sind in Tabelle A.15 bis Tabelle A.17 im Anhang aufgelistet. Die immobilisierte Biotrockenmasse im Satzversuch wurde nach etwa einem Tag Satzbetrieb geschätzt (vergleiche Abschnitt 7.1.1).

| | | S | A | B | C |
|---|--------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Gesamtprozesszeit | d | 0,93 | 21,11 | 30,09 | 69,17 |
| Biotrockenmasse | g | 0,40 | 2,43 | 6,25 | 8,64 |
| Biotrockenmasse pro Festbettmasse | g kg ⁻¹ | 1,33 | 8,09 | 20,82 | 28,73 |
| Biotrockenmasse pro Festbettvolumen | g L ⁻¹ | 0,38 | 2,30 | 5,92 | 8,19 |
| (Maximale) Biotrockenmassekonzentration in Suspension | g L ⁻¹ | 0,14 | 0,24 | 0,13 | 0,32 |
| (Maximale) Biotrockenmasse in Suspension | g | 0,32 | 0,60 | 0,25 | 0,72 |
| (Maximaler) Biotrockenmasseanteil in Suspension | % | 50,57 | 19,89 | 3,91 | 7,66 |

Tabelle 7.6 zeigt einen Anstieg der Biotrockenmasse mit der Gesamtprozesszeit. Dies stärkt die Hypothese, dass *C. aceticum* über eine längere Prozesszeit einen dickeren Biofilm ausbildet. Die immobilisierte Biotrockenmasse wurde für die Langzeitstudien über den Kohlenstoffanteil berechnet. Die extrazellulären polymeren Substanzen in der Biofilmmatrix bestehen zum großen Teil aus kohlenstoffhaltigen Polysacchariden, und Desoxyribonucleinsäuren und Proteinen (Flemming *et al.* 2007). Der Kohlenstoffanteil

dieser Substanzen war bei der Berechnung der Biotrockenmasse inkludiert. Flemming und Wingender (2010) postulierten, dass in etwa 10 % der Trockenmasse eines Biofilms Mikroorganismen sind und die restlichen 90 % extrazelluläre polymere Substanzen. Unter der Voraussetzung, dass das Kohlenstoffverhältnis zwischen der Biotrockenmasse und den extrazellulären polymeren Substanzen für alle Langzeitstudien vergleichbar war, kann an dieser Stelle angenommen werden, dass die immobilisierte Biotrockenmasse von *C. aceticum* und die Menge extrazellulärer Substanzen mit der Gesamtprozesszeit anstiegen.

Während der Untersuchungen zur autotrophen Umsetzung von Synthesegasen in den Biofilmreaktoren in den Langzeitstudien „A, B, und C“ wurde eine maximale optische Dichte (OD_{600}) von 0,56 dokumentiert. Dies entspricht einer maximalen Biotrockenmassekonzentration von $0,32 \text{ g L}^{-1}$ (Gleichung 4-17). Unter Berücksichtigung des Suspensionsvolumens und der am Festbett immobilisierten Biotrockenmasse entspricht dies einem maximalen Biotrockenmasseanteil in Suspension von 19,9 %. Im eintägigen Satzprozess wurde ein maximaler Biotrockenmasseanteil in Suspension von 50,6 % abgeschätzt. Da für die Versorgung von suspendierten Zellen im Gegensatz zur Versorgung immobilisierter Zellen nur ein Gas-Flüssig-Stofftransportwiderstand überwunden werden muss und nicht die Stofftransportwiderstände Flüssig-Biofilm oder im Biofilm ist anzunehmen, dass suspendierte *C. aceticum*-Zellen zur Prozessleistung in Biofilmreaktoren beitragen.

7.4 Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit der Gasfermentation im kontinuierlich betriebenen Festbettbiofilmreaktor mit *C. aceticum* wurde bei einer Durchflussrate von $D = 0,070\text{-}0,078 \text{ h}^{-1}$ und Standardbedingungen ($30 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 8; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2 \text{ 3:12:10}$) in Triplikaten gezeigt. Die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute variierte um 13 %. Die Prozessverläufe sind in Abbildung A.25 im Anhang dargestellt.

Die Reproduzierbarkeit der kontinuierlichen Prozessführung im Rieselbettbiofilmreaktor bei Standardbedingungen ($30 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH}_{\text{ein}} \sim 8$; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 6,25 \text{ L h}^{-1}$; $\text{CO}_2\text{:H}_2\text{:N}_2 \text{ 3:12:10}$; $L = 3 \text{ mL min}^{-1}$) in „Langzeitstudie B“ nach 22 Tagen wurde in „Langzeitstudie C“ nach 36 Tagen und nach 68 Tagen gezeigt. Die Standardabweichungen der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute und der H_2 -Aufnahme waren 8 % und 19 % (Abbildung A.26 im Anhang). Die Ergebnisse zeigen eine gute Reproduzierbarkeit.

7.5 Vergleich von Biofilmreaktoren

Die Untersuchungen mit *C. aceticum* im Rieselbettbiofilmreaktor zeigten im Vergleich zum Festbettbiofilmreaktor höhere Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten. Im kontinuierlich betriebenen Festbettbiofilmreaktor wurden maximale Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten von $8,2 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ beobachtet. Im Vergleich dazu wurden im Rieselbettbiofilmreaktor Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten von bis zu $13,6 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ gemessen.

Der kontinuierliche Betrieb in den Biofilmreaktoren Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf und Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom zeigte deutliche Unterschiede in der Prozessleistung von *C. aceticum*. Während im Festbettbiofilmreaktor eine Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung bei geringen H₂-Umsätzen vermutet wurde, konnte diese im Rieselbettbiofilmreaktor ausschließlich für hohe H₂-Umsätze beobachtet werden. Die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute ist im Rieselbettbiofilmreaktor bei Standardbedingungen ($p_{\text{H}_2, \text{ein}} = 0,48 \text{ bar}$) in etwa 142 % höher als im Festbettbiofilmreaktor. Dies ist vermutlich durch einen besseren Gas-Flüssig-Stofftransport zu begründen, welcher sich auch durch einen bis zu 14-fach höheren H₂-Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten bei den untersuchten Bedingungen zeigte.

Zum aktuellen Stand der Technik ist dies die erste Studie mit *C. aceticum* in Biofilmreaktoren. Devarapalli *et al.* (2017) zeigten bereits das Potential von Rieselbettbiofilmreaktoren im kontinuierlichen Betrieb mit *Clostridium ragsdalei* mit maximalen Raum-Zeit-Ausbeuten von 1,1 mmol Acetat L⁻¹ h⁻¹ und 3,4 mmol Ethanol L⁻¹ h⁻¹ mit maximalen Gasumsätzen von 90 % für CO und 85 % für H₂ (vergleiche Abschnitt 3.4.3). Im Rahmen dieser Arbeit wurden Raum-Zeit-Ausbeuten von bis zu 13,6 mmol Acetat L_F⁻¹ h⁻¹ und H₂-Umsätze bis zu 96 % gezeigt. Damit wurden mit *C. aceticum* um 200 % mehr Stoffmengen Kohlenstoff im Rieselbettbiofilmreaktor fixiert als bei den publizierten Untersuchungen in einem Rieselbettbiofilmreaktor mit *Clostridium ragsdalei*.

8 Gasfermentation mit *Clostridium carboxidivorans* in Biofilmreaktoren

Das Verhalten von *C. carboxidivorans* wurde im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf und im Rieselfestbettbiofilmreaktor im Gegenstrom untersucht. Dies erfolgte unter anderem in einer Langzeitstudie von 28 Tagen bei unterschiedlichen Reaktionsbedingungen. Da *C. carboxidivorans* durch die Immobilisierung in den Biofilmreaktoren verblieb und nicht wie im Chemostaten nach spätestens fünf hydraulischen Verweilzeiten den Bioreaktor verließ, könnten die vorhergehenden Reaktionsbedingungen die Untersuchungen beeinflusst haben. Aus diesem Grund wurden alle Reaktionsbedingungen in Tabelle A.18 im Anhang zusammengefasst („Langzeitstudie D“).

8.1 Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf

8.1.1 Satzprozess

Das Adsorptionsverhalten von *C. carboxidivorans* auf Sera Siporax™ wurde im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5 \text{ L}$; 37 °C ; $\text{pH}_0 \text{ 6}$; $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}:\text{CO}_2 \text{ 4:1}$) im Satzprozess ohne pH-Kontrolle untersucht. Der Prozessverlauf ist in Abbildung 8.1 dargestellt. Die Prozessdaten des Satzprozesses mit *C. carboxidivorans* im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf bei identischen Betriebsbedingungen sind als Referenz in grau gezeigt. Die CO-Gelöstkonzentration wurde mit einem Myoglobin-Test am Reaktorboden des Festbettbiofilmreaktors in Triplikaten bestimmt. Nach 12 Tagen im Satzbetrieb wurde der Satzprozess beendet, das Trägermaterial gewaschen, bei 80 °C im Trockenschrank gelagert und dessen Oberfläche im Rasterelektronenmikroskop auf adsorbierte *C. carboxidivorans* analysiert. Ausgewählte mikroskopische Aufnahmen sind in Abbildung 8.2 zu sehen.

Der Prozessverlauf der optischen Dichte (OD_{600}), des pH und der Stoffwechselprodukte war im Festbettbiofilmreaktor und im Blasensäulenreaktor in den ersten 8 h des Satzprozesses vergleichbar. Nach den ersten 24 h wurde bereits eine deutlich geringere optische Dichte (OD_{600}) bei pH 4,47 dokumentiert. Nach 48 h wurde eine optische Dichte (OD_{600}) von 0,05 gemessen. Nach 72 h war die optische Dichte bis zum Ende des Satzprozesses unterhalb der Nachweisgrenze. Der Verlauf der Produktkonzentrationen und des pH war für die ersten zwei Tage für beide Reaktoren vergleichbar.

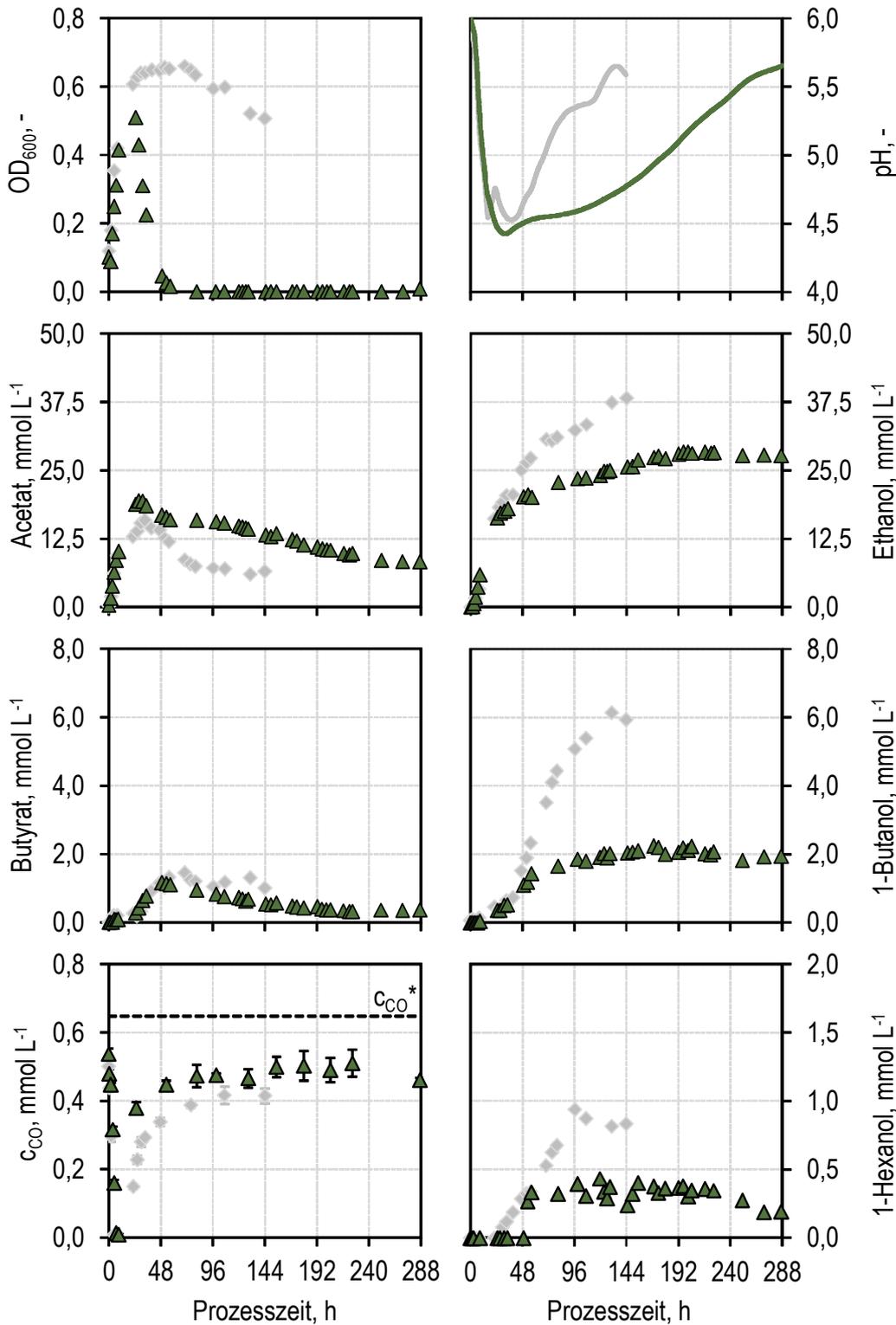


Abbildung 8.1: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), des pH, der Acetat-, Ethanol-, Butyrat-, 1-Butanol-, 1-Hexanol- und CO -Gelöstkonzentration (c_{CO}) eines Satzprozesses mit *C. carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf (300 g Sera Siporax™) bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5$ L, 37 °C; pH_0 6,; 1 bar, $G_{ein} = 5$ L L⁻¹ h⁻¹, $CO:CO_2$ 4:1) ohne pH-Kontrolle (▲). Als Referenz ist der Satzprozess im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf aus Abbildung 6.3 bei denselben Bedingungen dargestellt (◆). Die gestrichelte Horizontale kennzeichnet die maximale CO -Gelöstkonzentration (c_{CO}^*) in salzfreiem Wasser bei 37 °C nach Gleichung 3-3 und Tabelle 3.6. Die Quantifizierung der CO -Gelöstkonzentration wurde bei einer Prozesszeit von 5 h in Duplikaten und sonst in Triplikaten durchgeführt.

Sobald sich die optische Dichte (OD_{600}) dem Wert Null näherte, nahm die Produktbildungsrate von Ethanol, 1-Butanol und 1-Hexanol ab. Acetat wurde analog langsamer zu Alkoholen umgesetzt. In vier Tagen Satzprozess wurden $15,6 \text{ mmol L}^{-1}$ Acetat, $23,5 \text{ mmol Ethanol L}^{-1}$, $0,8 \text{ mmol Butyrat L}^{-1}$, $1,9 \text{ mmol 1-Butanol L}^{-1}$ und $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ 1-Hexanol gebildet. Hexanoat wurde während des Satzprozesses in Spuren quantifiziert. Die CO-Gelöstkonzentration nahm nach Inokulation rapide ab und war nach etwa 7 h unterhalb der Nachweisgrenze. Nach etwa 25 h wurde wieder eine CO-Gelöstkonzentration von $0,4 \text{ mM}$ gemessen.

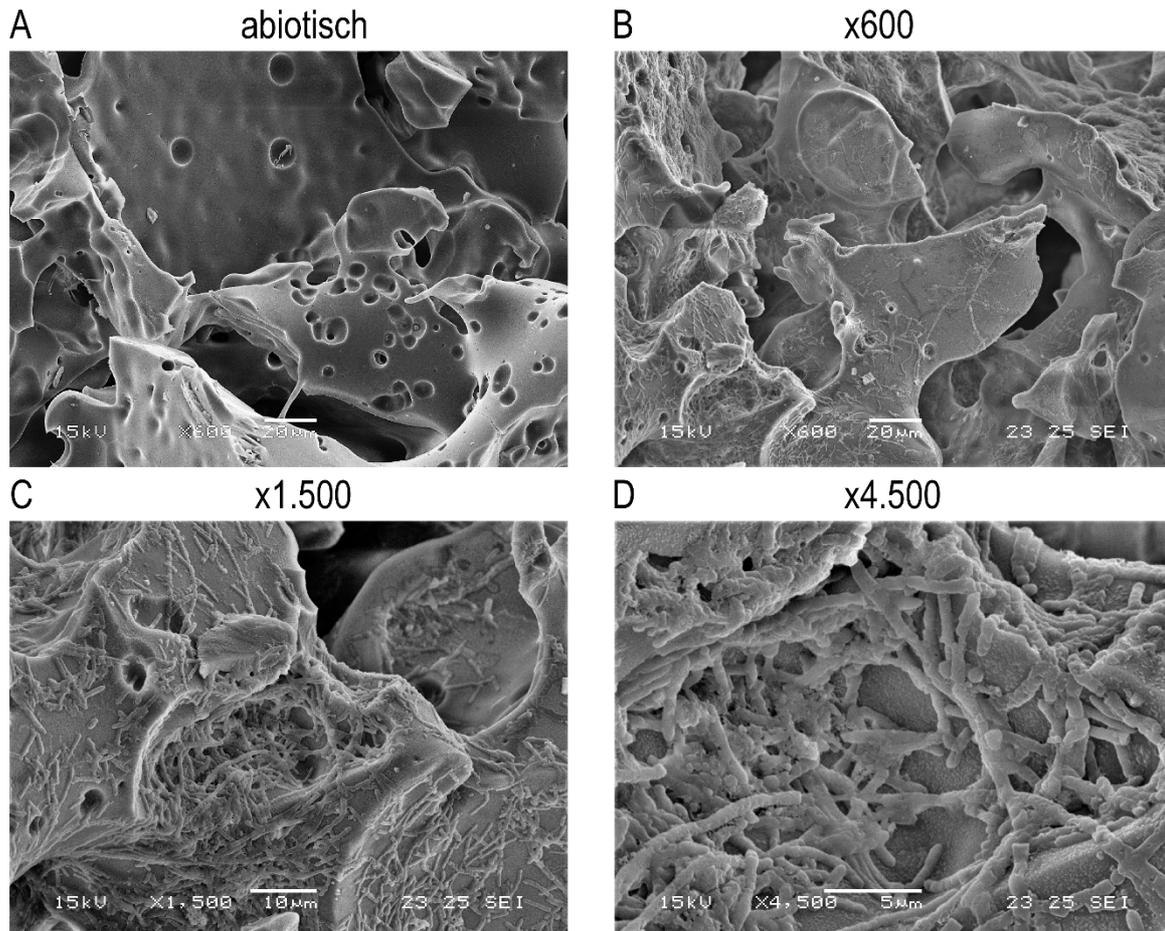


Abbildung 8.2: Ausgewählte Aufnahmen der inneren Makroporen von Sera Siporax™ nach 12 Tagen Satzbetrieb im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf mit *C. carboxidivorans* unter Standardbedingungen ($V_R = 2,5 \text{ L}$; $37 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH}_0 6$; 1 bar ; $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}:\text{CO}_2 4:1$) im Rasterelektronenmikroskop (15 kV) bei unterschiedlichen Vergrößerungen: A, 600-fach; B, 1.500-fach; C, 4.500-fach.

Diskussion

Die Abnahme der optischen Dichte (OD_{600}) bedeutete eine Abnahme der Biotrockenmassekonzentration in Suspension und deutete auf eine Adsorption von *C. carboxidivorans* im Festbettmaterial. Die Aufnahmen im Rasterelektronenmikroskop bestätigten die Immobilisierung der acetogenen Bakterien auf dem Trägermaterial. Die optische Dichte (OD_{600}) zeigte im Vergleich zum Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf in den ersten 8 h kaum Unterschiede. Es sah so aus, als ob *C. carboxidivorans* erst bei geringerem pH an das Trägermaterial adsorbierte, was durch die deutliche Abnahme der

optischen Dichte (OD_{600}) zu vermerken war. Ab dem Zeitpunkt der nahezu vollständigen Immobilisierung aller Bakterienzellen wurde auch eine Abnahme der Produktbildungsrate beobachtet. Nach etwa 8 h war die CO-Gelöstkonzentration, wie im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf, im Totraumvolumen unterhalb der Nachweisgrenze des Myoglobin-Tests ($c_{CO} \approx 0$ mM). Dies könnte wiederum mit einer teilweisen CO-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung begründet werden, welche auch die exponentielle Wachstumsphase von *C. carboxidivorans* beendete. Etwa 25 h nach Inokulation bis zum Ende des Satzprozesses wurde durchgängig CO in Lösung im Totraumvolumen gemessen, weshalb von keiner weiteren CO-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung auszugehen war.

Da mit Ausnahme des Trägermaterials keine Unterschiede im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf im Vergleich zum Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf vorlagen, ist anzunehmen, dass die Unterschiede in der Prozessleistung von *C. carboxidivorans* aufgrund seiner Immobilisierung entstanden. In Biofilmreaktoren gibt es für den Gas-Flüssig-Fest-Stofftransport drei wesentliche Stofftransportwiderstände: den Gas-Flüssig-Stofftransport, den Flüssig-Biofilm-Stofftransport und den Stofftransport innerhalb des Biofilms (vergleiche Abbildung 3.14). Die gemessenen zeitlichen Verläufe der Stoffwechselmetabolite zeigten im Vergleich zum Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf bei identischen Bedingungen eine langsamere Akkumulation. Da der Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient für beide Bioreaktoren vergleichbar war, sind Unterschiede im Gas-Flüssig-Stofftransport auszuschließen. Aus diesem Grund ist anzunehmen, dass entweder der Stofftransport Flüssig-Biofilm oder innerhalb des Biofilms der limitierende Schritt bei der autotrophen Umsetzung von CO mit *C. carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor war.

Szewzyk und Szewzyk (2003) beschrieben weiterhin, dass die Aktivität von Mikroorganismen in Biofilmen stark von der Nährstoffverfügbarkeit abhängig ist. Bei Nährstoffmangel können sie in einen so genannten Ruhezustand übergehen um Energie zu sparen. Dies unterstützt wiederum die Hypothese einer Stofftransportlimitierung in der Flüssig-Biofilm-Grenzschicht oder im Biofilm.

8.1.2 Wiederholtes Satzverfahren ohne pH-Kontrolle

Im Rahmen einer Langzeitstudie im Biofilmreaktor („Langzeitstudie D“; siehe Tabelle A.18 im Anhang) wurde überprüft, ob durch längere Prozesszeiten höhere immobilisierte Biotrockenmassekonzentrationen und dadurch eine höhere Produktivität von *C. carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf erreicht werden konnten. Dazu wurden dreitägige Untersuchungen im Satzbetrieb unter Standardbedingungen ($V_R = 2,25$ L; 37 °C; pH_0 6; $G_{ein} = 5$ L L⁻¹ h⁻¹; CO:CO₂ 4:1) ohne pH-Kontrolle nach 19,6 Tagen und nach 25,4 Tagen durchgeführt. Die Prozessverläufe sind zusammen mit dem Satzprozess bei gleichen Prozessbedingungen (Abbildung 8.1) in Abbildung 8.3 dargestellt.

Die Untersuchungen zeigten eine Zunahme der optischen Dichte (OD_{600}) während der ersten 24 h nach der Erneuerung des anaeroben Mediums zu Maximalwerten von 0,35 (19,6 d) beziehungsweise 0,53 (25,4 d). Im Anschluss nahm die optische Dichte (OD_{600}) bei einem pH kleiner als pH 4,86 wieder ab.

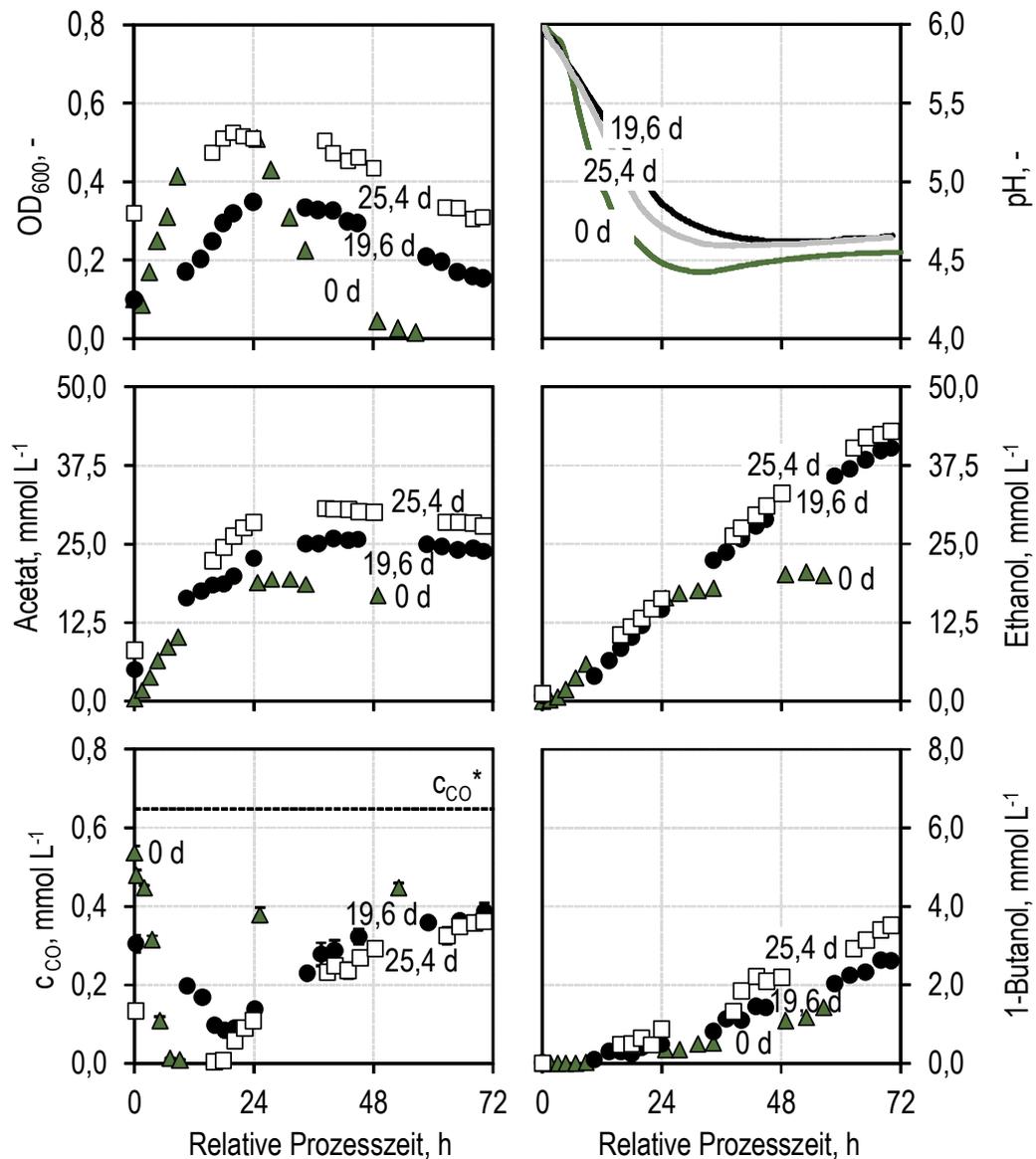


Abbildung 8.3: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), des pH, der Acetat-, Ethanol-, Butyrat-, 1-Butanol-, 1-Hexanol- und CO-Gelöstkonzentration (c_{CO}) von Satzprozessen mit *C. carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf (300 g Sera Siporax™) ohne pH-Kontrolle nach unterschiedlichen Prozesszeiten: ▲, nach Inokulation und bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5$ L; 37 °C; pH_0 6; 1 bar, $G_{ein} = 5$ L L⁻¹ h⁻¹, CO:CO₂ 4:1, siehe auch Abbildung 8.1) als Referenz. Wiederholtes Satzverfahren nach 19,6 Tagen (●) oder nach 25,4 Tagen (□) einer Langzeitstudie im Biofilmreaktor (Details siehe Tabelle A.18). Der Start der relativen Prozesszeit ist als Zeitpunkt stabiler Prozessbedingungen nach der Medienerneuerung definiert. Die gestrichelte Horizontale zeigt die maximale CO-Gelöstkonzentration (c_{CO}^*) in salzfreiem Wasser bei 37 °C nach Gleichung 3-34 und Tabelle 3.6. Die Quantifizierung der CO-Gelöstkonzentration erfolgte in Triplikaten.

Im wiederholten Satzprozess nach 19,6 Tagen wurden keine CO-Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze ($c_{CO} \approx 0$ mM) wie in jenem Satzprozess nach 25,4 Tagen ab einer relativen Prozesszeit (Prozesszeit nach der Medieneerneuerung) von etwa 16 h. In etwa 70 h Prozesszeit wurden 39,4 mmol Ethanol L⁻¹ und 2,6 mmol 1-Butanol L⁻¹ im Satzprozess nach 19,6 Tagen sowie 41,8 mmol Ethanol L⁻¹ und 3,5 mmol 1-Butanol L⁻¹ im Satzprozess nach 25,4 Tagen produziert. Es wurde eine maximale Butyratproduktion von 0,4 mmol L⁻¹ nach etwa 65 h detektiert (Daten nicht gezeigt). Hexanoat wurde nur in Spuren quantifiziert. 1-Hexanol wurde nicht detektiert.

Diskussion

Nach der Medieneerneuerung wächst *C. carboxidivorans* verstärkt in Suspension, was in der Zunahme der optischen Dichte (OD₆₀₀) zu erkennen war. Bei einem geringeren pH wechselt der Mikroorganismus mehrheitlich von der acetogenen Phase in die solventogene Phase und reduziert vermehrt Säuren zu Alkoholen, um den pH zu erhöhen (Hurst und Lewis 2010). Es scheint, als ob *C. carboxidivorans* nach der Medieneerneuerung erneut bei geringem pH an das Trägermaterial adsorbierte.

Die Satzprozesse zeigten nach etwa drei Tagen für die Satzprozesse nach 19,6 Tagen beziehungsweise 25,4 Tagen 173 % und 183 % der Ethanol- sowie 157 % und 212 % der 1-Butanolproduktion im Vergleich zu den Untersuchungen direkt nach der Inokulation. Es wird deshalb vermutet, dass über die Prozesszeit der Langzeitstudien mehr Biomasse immobilisiert werden konnte. Durch höhere immobilisierte Biomassekonzentrationen könnte die gesteigerte Produktbildung erklärt werden.

Des Weiteren wurde beobachtet, dass die optische Dichte (OD₆₀₀) in den Satzprozessen nach 19,6 Tagen sowie 25,4 Tagen deutlich langsamer abnahm als in dem Satzprozess direkt nach der Inokulation. In Abschnitt 8.1.1 wurde gezeigt, dass die Produktivität von *C. carboxidivorans* aufgrund seiner Immobilisierung auf Sera Siporax™ reduziert wurde. Als Begründung wurde eine Stofftransportlimitierung in der Flüssig-Biofilm-Grenzschicht oder im Biofilm vermutet. Die erhöhte Produktivität der Satzprozesse nach 19,6 Tagen sowie 25,4 Tagen könnte somit auch durch höhere Biotrockenmassekonzentrationen in Suspension und einen dadurch möglicherweise schnelleren Stofftransport aufgrund geringerer Stofftransportwiderstände erklärt werden.

8.1.3 Wiederholtes Satzverfahren mit pH-Kontrolle

Die Untersuchungen im Satzprozess ohne pH-Kontrolle zeigten eine Abnahme der optischen Dichte (OD₆₀₀) und die Immobilisierung von *C. carboxidivorans* nach etwa 24 h Prozesszeit bei einem pH kleiner als pH 4,9. Um festzustellen, ob die Anlagerung von *C. carboxidivorans* durch den pH des Mediums induziert wurde, wurden Satzprozesse mit *C. carboxidivorans* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,25$ L; 37 °C; pH 6; 1 bar; $G_{ein} = 5$ L L⁻¹ h⁻¹; CO:CO₂ 4:1) mit pH-Kontrolle im wiederholten Satzverfahren im Festbett-biofilmreaktor mit innerem Umlauf durchgeführt. Die Erneuerung des Mediums erfolgte jeweils nach etwa drei Tagen im Satzbetrieb. Die Untersuchungen erfolgten zeitlich direkt nacheinander. Der Prozessverlauf der Untersuchungen ist in Abbildung 8.4 dargestellt.

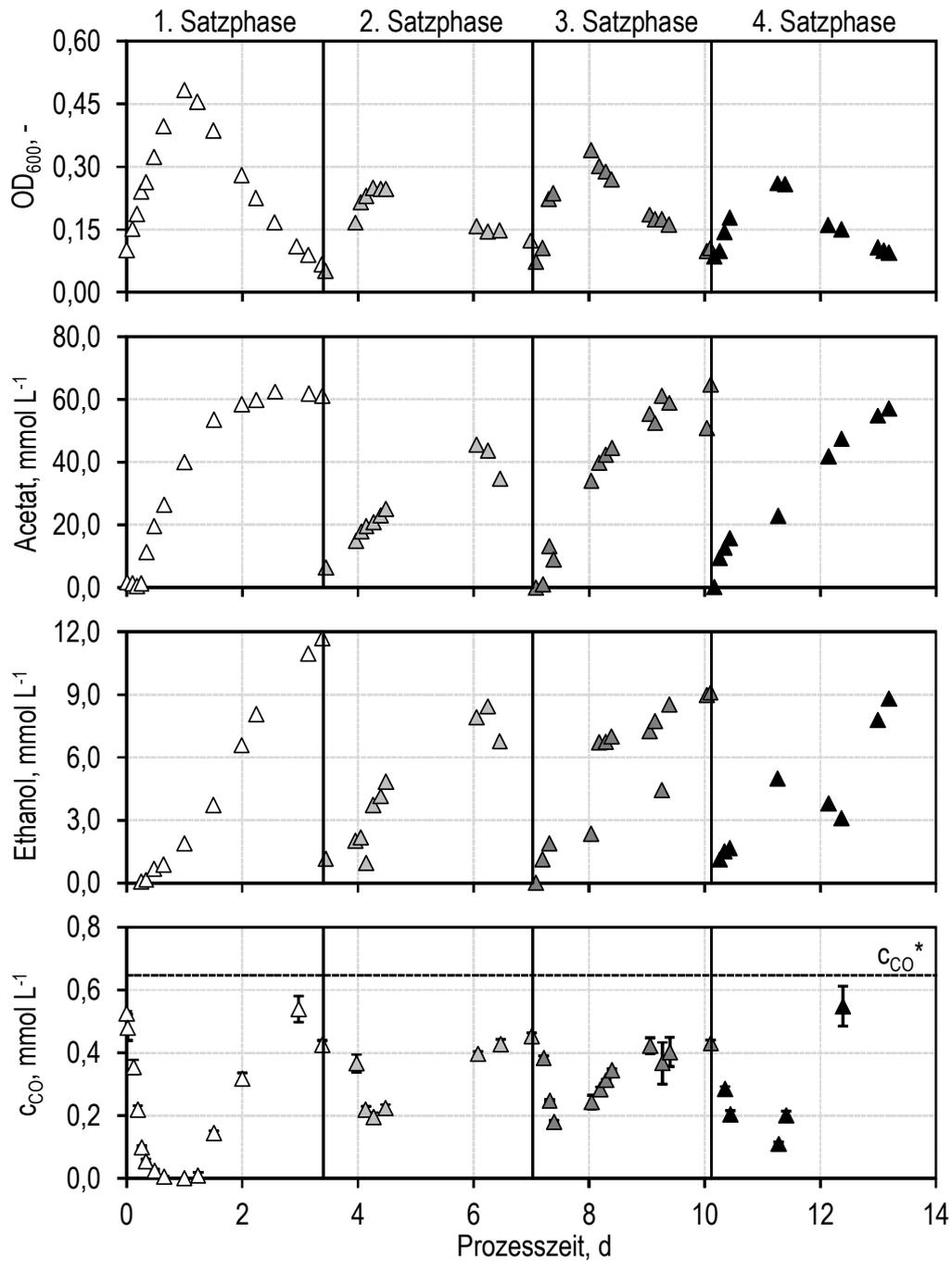


Abbildung 8.4: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetat-, Ethanol- und CO -Gelöstkonzentration (c_{CO}) von Untersuchungen im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf (300 g Sera Siporax™) mit *C. carboxidivorans* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,25$ L; 37 °C; pH 6; 1 bar, $G_{ein} = 5$ L L⁻¹ h⁻¹; $CO:CO_2$ 4:1) mit pH-Kontrolle im wiederholten Satzverfahren. Die Vertikalen kennzeichnen die Zeitpunkte der Erneuerung des anaeroben Prozessmediums. Die gestrichelte Horizontale zeigt die maximale CO -Gelöstkonzentration (c_{CO}^*) in salzfreiem Wasser bei 37 °C nach Gleichung 3-34 und Tabelle 3.6. Die CO -Gelöstkonzentration wurde in Triplikaten gemessen. Bei der Produktquantifizierung mittels HPLC-Analytik traten für die Proben nach 3,4 Tagen Komplikationen auf (stärkeres Rauschen der Messdaten).

Die optische Dichte (OD_{600}) nahm für alle vier Satzphasen während der ersten 24 h zu und anschließend wieder ab. In der ersten bis vierten Satzphase wurde jeweils eine maximale optische Dichte (OD_{600}) von 0,48, 0,25, 0,34 und 0,26 gemessen. Der Verlauf der Acetat- und Ethanolkonzentration ist für die erste, dritte und vierte Satzphase vergleichbar. Die CO-Gelöstkonzentration war nach etwa 15 h unterhalb der Nachweisgrenze des Myoglobin-Tests ($c_{CO} \approx 0$ mM). Nach etwa 1,5 Tagen wurde wieder 0,14 mM CO in Lösung quantifiziert. Über den weiteren Prozessverlauf konnten ausschließlich CO-Gelöstkonzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze dokumentiert werden.

Diskussion

Das Wachstum von *C. carboxidivorans* wurde in den vier Satzphasen am ersten Tag nach der Inokulation oder Medieneerneuerung in Suspension beobachtet. Eine anschließende Abnahme der optischen Dichte (OD_{600}) wurde bei allen Untersuchungen mit pH-Kontrolle gemessen.

Die Medieneerneuerung zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Produktbildung von Acetat und Ethanol in der dritten und vierten Satzphase. Die Stoffwechselmetabolite Butyrat, 1-Butanol, Hexanoat und 1-Hexanol wurden aufgrund der pH-Kontrolle nur in Spuren quantifiziert (Daten nicht gezeigt).

Die diskontinuierliche Medieneerneuerung im Festbettbiofilmreaktor ist somit mit immobilisierten *C. carboxidivorans* problemlos möglich und beeinflusst die Prozessleistung des Bakteriums nicht.

8.1.4 Kontinuierlicher Betrieb

Untersuchungen im Festbettbiofilmreaktor mit kontinuierlicher Medieneerneuerung mit einer Durchflussrate von $D = 0,12 \text{ h}^{-1}$ wurden unter Standardbedingungen ($V_R = 2,25 \text{ L}$; $37 \text{ }^\circ\text{C}$; pH_0 6; 1 bar, $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}:\text{CO}_2$ 4:1) mit und ohne pH-Kontrolle durchgeführt. Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen der 28-tägigen Langzeitstudie („Langzeitstudie D“, Details siehe Tabelle A.18 im Anhang). Um das Biomassewachstum zu fördern und die acetogenen Bakterien auf dem Trägermaterial Sera Siporax™ zu immobilisieren, wurden die ersten zwei Tage der Langzeitstudie als Satzprozess bei Standardbedingungen mit pH-Kontrolle (pH 6) geführt. Dies entspricht denselben Bedingungen des ersten Satzprozesses in Abbildung 8.4. Somit konnte die Reproduzierbarkeit der Prozesse mit *C. carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor beurteilt werden. Eine Gegenüberstellung der beiden Satzprozesse ist in Abbildung A.27 im Anhang gezeigt.

Anschließend wurde die kontinuierliche Prozessführung bei $D = 0,12 \text{ h}^{-1}$ für fünf mittlere hydraulische Verweilzeiten (τ) zuerst mit und anschließend ohne pH-Kontrolle (pH 6) gestartet. Bei den Untersuchungen ohne pH-Kontrolle wurde das anaerobe, sterile Zulaufmedium zuerst in einem anaeroben und sterilen Sammelreservoir auf pH 6 geregelt. Zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit wurde die kontinuierliche Prozessführung mit pH-Kontrolle nach 22,6 Tagen wiederholt. Der Prozessverlauf ist in Abbildung 8.5 dargestellt.

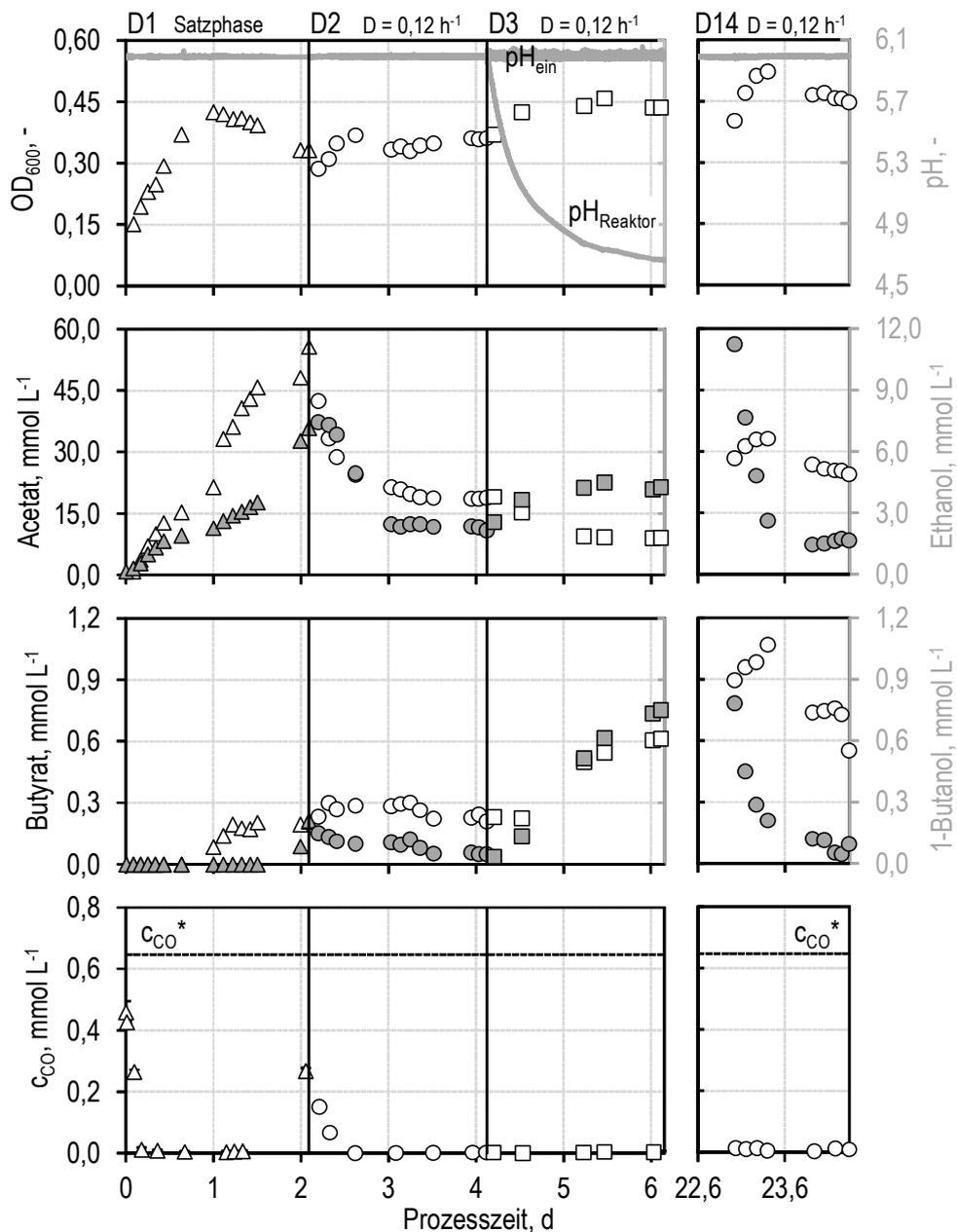


Abbildung 8.5: Zeitliche Änderung der optischen Dichte (OD_{600} , weiße Symbole), des pH (graue Linie), der Acetat- (weiß), Ethanol- (grau), Butyrat- (weiß), 1-Butanol- (grau) und CO -Gelöstkonzentration (c_{CO}) bei Untersuchungen im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf mit *C. carboxidivorans* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,25$ L; 37 °C; 1 bar; $G_{ein} = 5$ L L⁻¹ h⁻¹; $CO:CO_2$ 4:1) und unterschiedlicher Prozessführung im Rahmen der „Langzeitstudie D“ (Details siehe Tabelle A.18 im Anhang). Die Vertikalen kennzeichnen die Änderung der Prozessstrategie: D1, Satzphase mit pH-Kontrolle (pH 6); D2 und D14, kontinuierlicher Betrieb bei einer Durchflussrate von $D = 0,12$ h⁻¹ mit pH-Kontrolle (pH 6); D3, kontinuierlicher Betrieb bei einer Durchflussrate von $D = 0,12$ h⁻¹ ohne pH-Kontrolle (Zulauf-pH 6, geregelt). Die gestrichelte Horizontale zeigt die maximale CO -Gelöstkonzentration (c_{CO}^*) in salzfreiem Wasser bei 37 °C nach Gleichung 3-34 und Tabelle 3.6. Die Bestimmung der CO -Gelöstkonzentration erfolgte in Triplikaten.

Die optische Dichte (OD_{600}) stieg im Satzprozess mit pH-Kontrolle – wie bereits zuvor beobachtet – in den ersten 24 h auf einen Maximalwert von 0,43 an. Im weiteren Prozessverlauf nahm diese bis zu einem Minimalwert von 0,33 nach 50 h bis zum Wechsel in die kontinuierliche Prozessführung ab. Die optische Dichte (OD_{600}) nahm im Laufe des Prozesses bis zu einem Wert von 0,36 zu. Die Wiederholung der kontinuierlichen Prozessführung ohne pH-Kontrolle nach 22,6 Tagen zeigte einen ähnlichen Verlauf mit einer maximalen optischen Dichte (OD_{600}) von 0,46. Die Änderung zu einer Prozessführung ohne pH-Kontrolle reduzierte die optische Dichte (OD_{600}) nicht, sondern steigerte sie auf 0,44.

Die Konzentrationen der Produkte Acetat, Ethanol, Butyrat sowie 1-Butanol und die auf das Festbettvolumen bezogenen Raum-Zeit-Ausbeuten sind in Tabelle 8.1 zusammengefasst sowie in Abbildung 8.6 dargestellt. Hexanoat und 1-Hexanol wurden in Spuren quantifiziert.

Tabelle 8.1: Zusammenfassung der jeweils vor der Änderung der Betriebsbedingung finalen Produktkonzentrationen und der auf das Festbettvolumen bezogenen Raum-Zeit-Ausbeuten der Produkte bei kontinuierlicher Prozessführung ($D = 0,12 \text{ h}^{-1}$) im Festbettbiofilmreaktor unter Standardbedingungen ($V_R = 2,25 \text{ L}$; $37 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 6 oder $\text{pH}_{\text{ein}} 6,0$; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}:\text{CO}_2$ 4:1).

| # | Prozessführung | Acetat | Ethanol | Butyrat | 1-Butanol | |
|-----|-------------------|---|---------|---------|-----------|------------------------------------|
| | | | | | | Konzentration, mol L^{-1} |
| D2 | mit pH-Kontrolle | 18,72 | 2,30 | 0,23 | 0,05 | |
| D14 | mit pH-Kontrolle | 25,01 | 1,67 | 0,68 | 0,06 | |
| D3 | ohne pH-Kontrolle | 9,09 | 4,26 | 0,61 | 0,75 | |
| | | Raum-Zeit-Ausbeute, $\text{mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ | | | | |
| D2 | mit pH-Kontrolle | 4,79 | 0,59 | 0,06 | 0,01 | |
| D14 | mit pH-Kontrolle | 6,40 | 0,43 | 0,17 | 0,02 | |
| D3 | ohne pH-Kontrolle | 2,33 | 1,09 | 0,16 | 0,19 | |

Die CO-Gelöstkonzentration nahm in den ersten 4,4 h bis unterhalb der Nachweisgrenze des Myoglobin-Tests ($c_{\text{CO}} \approx 0 \text{ mM}$) ab. Nach etwa zwei Tagen wurden 0,3 mM CO in Lösung quantifiziert. Die optische Dichte (OD_{600}) nahm nach einem Tag ab. Während der kontinuierlichen Prozessführung nahm die CO-Gelöstkonzentration in den ersten 2,6 h wieder bis unterhalb der Nachweisgrenze des Myoglobin-Tests ($c_{\text{CO}} \approx 0 \text{ mM}$) ab. Während des weiteren kontinuierlichen Betriebs wurde durchgehend kein CO in Lösung quantifiziert.

Diskussion

Die Satzprozesse mit *C. carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor waren reproduzierbar (siehe Abbildung A.27 im Anhang). Der Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetat-, Ethanol- sowie der CO-Gelöstkonzentration war vergleichbar.

Die optische Dichte (OD_{600}) nahm mit dem Wechsel vom Satzbetrieb auf den kontinuierlichen Betrieb zu. Eine Begründung kann die bessere Versorgung der Bakterien mit Medienbestandteilen sein, die das Wachstum in Suspension fördern.

Der Wechsel zum kontinuierlichen Betrieb zeigte eine erwartungsgemäße Abnahme der Produktkonzentrationen. Aufgrund der CO-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung im Totraumvolumen des Festbettbiofilmreaktors wurde innerhalb von 2,6 h bereits das gesamte CO in Lösung verbraucht. Durch die Änderung auf eine Prozessführung ohne pH-Kontrolle wurde das Produktspektrum, wie in der Literatur beschrieben (Ukpong *et al.* 2012), zu den Produkten Ethanol, Butyrat und 1-Butanol verschoben. Die Raum-Zeit-Ausbeute erhöhte sich um 85 % für Ethanol, um 170 % für Butyrat und um 1.361 % für 1-Butanol.

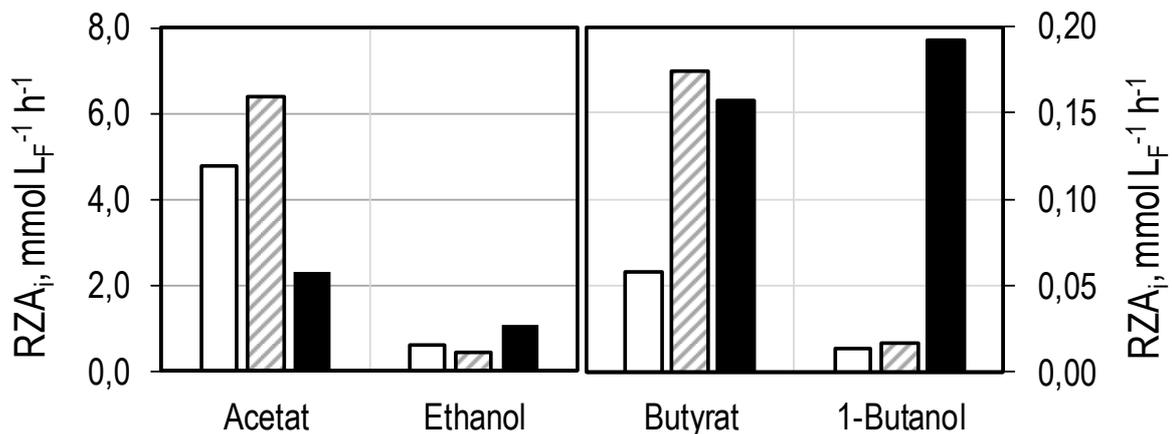


Abbildung 8.6: Zusammenfassung der Raum-Zeit-Ausbeuten vor Änderung der Betriebsbedingung in „Langzeitstudie D“ (Details siehe Tabelle A.18 im Anhang) für die Produkte Acetat, Ethanol, Butyrat und 1-Butanol im Festbettbiofilmreaktor (37 °C, 1 bar, $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, CO:CO₂ 4:1, $D = 0,12 \text{ h}^{-1}$) mit (pH 6; weiß: D2, grau schraffiert: D14) und ohne (pH 6; schwarz, D3) pH-Kontrolle. Abkürzungen: G_{ein} , Eingangsgasvolumenstrom, D, Durchflussrate.

Die Wiederholung der Untersuchungen im kontinuierlichen Festbettbiofilmreaktor mit pH-Kontrolle nach 22,6 Tagen zeigte 134 % der Acetat-, 72 % der Ethanol- und 124 % der 1-Butanol-Raum-Zeit-Ausbeute im Vergleich zu dem kontinuierlichen Betrieb nach 2,1 Tagen (D2). Dies zeigte, dass die Raum-Zeit-Ausbeuten etwa 20 Tage später nicht reproduziert werden konnten, da sich die Biomasse verändert hatte.

Die Quantifizierung der CO-Gelöstkonzentration zeigte nach 2,6 d im kontinuierlich betriebenen Festbettbiofilmreaktor dauerhaft CO-Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze ($c_{\text{CO}} \approx 0 \text{ mM}$).

Die Untersuchungen zeigten den erfolgreichen kontinuierlichen Betrieb des Festbettbiofilmreaktors mit innerem Umlauf mit *C. carboxidivorans*. In Satzprozessen wurde festgestellt, dass sich *C. carboxidivorans* bei allen untersuchten Bedingungen (pH unkontrolliert/kontrolliert, CO limitiert/unlimitiert) nach etwa 24 h auf Sera Siporax™ anlagerte.

8.2 Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom

Die Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor fanden im Zuge der „Langzeitstudie D“ (siehe Tabelle A.18 im Anhang) unter Standardbedingungen (37 °C; pH_{ein} 6; CO:CO₂ 4:1) statt. Es wurde der Einfluss der Zulauftrate (1 mL min⁻¹; 3 mL min⁻¹ und 10 mL min⁻¹) sowie der Medienzirkulation bei D = 0,12 h⁻¹ untersucht. Die pH-Kontrolle war im Rieselbettbiofilmreaktor nicht möglich. Der pH des Zulaufmediums wurde vor dem Reaktoreingang auf pH 6 geregelt.

Tabelle 8.2: Zusammenfassung der jeweils vor der Änderung der Betriebsbedingung finalen Produktkonzentrationen und Raum-Zeit-Ausbeuten im Rieselbettbiofilmreaktor mit *C. carboxidivorans* unter Standardbedingungen (37 °C; pH_{ein} 6,0; CO:CO₂ 4:1). Abkürzungen: L, Zulauftrate; G_{ein}, Eingangsgasvolumenstrom.

| # | L | G _{ein} | Acetat | Ethanol | Butyrat | 1-Butanol |
|-----|----------------------|-------------------|---|---------|---------|-----------|
| | mL min ⁻¹ | L h ⁻¹ | | | | |
| | | | Konzentration, mmol L ⁻¹ | | | |
| D7 | 1,0 | 6,25 | 14,04 | 7,81 | 0,71 | 0,77 |
| D5 | 3,0 | 6,25 | 9,86 | 1,71 | 0,20 | 0,05 |
| D9 | 3,0 | 6,25 | 11,50 | 3,04 | 0,21 | 0,12 |
| D6 | 3,0 | 3,13 | 11,09 | 1,78 | 0,13 | 0,04 |
| D11 | 2,2 | 6,25 | 22,05 | 4,74 | 0,63 | 0,16 |
| | | | Raum-Zeit-Ausbeute, mmol L _F ⁻¹ h ⁻¹ | | | |
| D7 | 1,0 | 6,25 | 0,80 | 0,44 | 0,04 | 0,04 |
| D5 | 3,0 | 6,25 | 1,68 | 0,29 | 0,03 | 0,01 |
| D9 | 3,0 | 6,25 | 1,96 | 0,52 | 0,04 | 0,02 |
| D6 | 3,0 | 3,13 | 1,89 | 0,30 | 0,02 | 0,01 |
| D11 | 2,2 | 6,25 | 2,82 | 0,61 | 0,08 | 0,02 |

Vor dem Beginn des Betriebs im Rieselbettbiofilmreaktor und zwischen den Untersuchungen mit unterschiedlichen Zulaufraten wurde eine zweitägige Satzphase mit pH-Kontrolle (pH 6) durch eine diskontinuierliche Medienerneuerung durchgeführt, um den immobilisierten Biofilm auf dem Festbett bei Standardbedingungen zu regenerieren. Der Prozessverlauf der Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor ist in Abbildung 8.7 dargestellt.

Die optische Dichte (OD₆₀₀) nahm über die Prozesszeit im Rieselbettbiofilmreaktor ab und zeigte durchgehend Werte geringer als 0,06. Die Konzentrationen sowie die auf das Festbettvolumen bezogene Raum-Zeit-Ausbeuten sind für die Produkte Acetat, Ethanol, Butyrat und 1-Butanol in Tabelle 8.2 zusammengefasst. Hexanoat und 1-Hexanol wurden nur in Spuren detektiert (Daten nicht gezeigt). Die Konzentrationen bei einer Zulauftrate von 10 mL min⁻¹ waren aufgrund der hohen Zulauftrate (L) kaum detektierbar. Die Temperatur variierte zwischen 34,5 °C und 38,2 °C.

Durch eine Medienzirkulation (L_z = 10 mL min⁻¹; D = 0,12 h⁻¹; siehe Abbildung 8.7 D11) mit pH-Kontrolle (pH 6) konnten vor Änderung der Betriebsbedingung am Reaktorausgang 56,7 mmol_C fixiert werden. Das entspricht einer Raum-Zeit-Ausbeute von 7,3 mmol_C L_F⁻¹ h⁻¹.

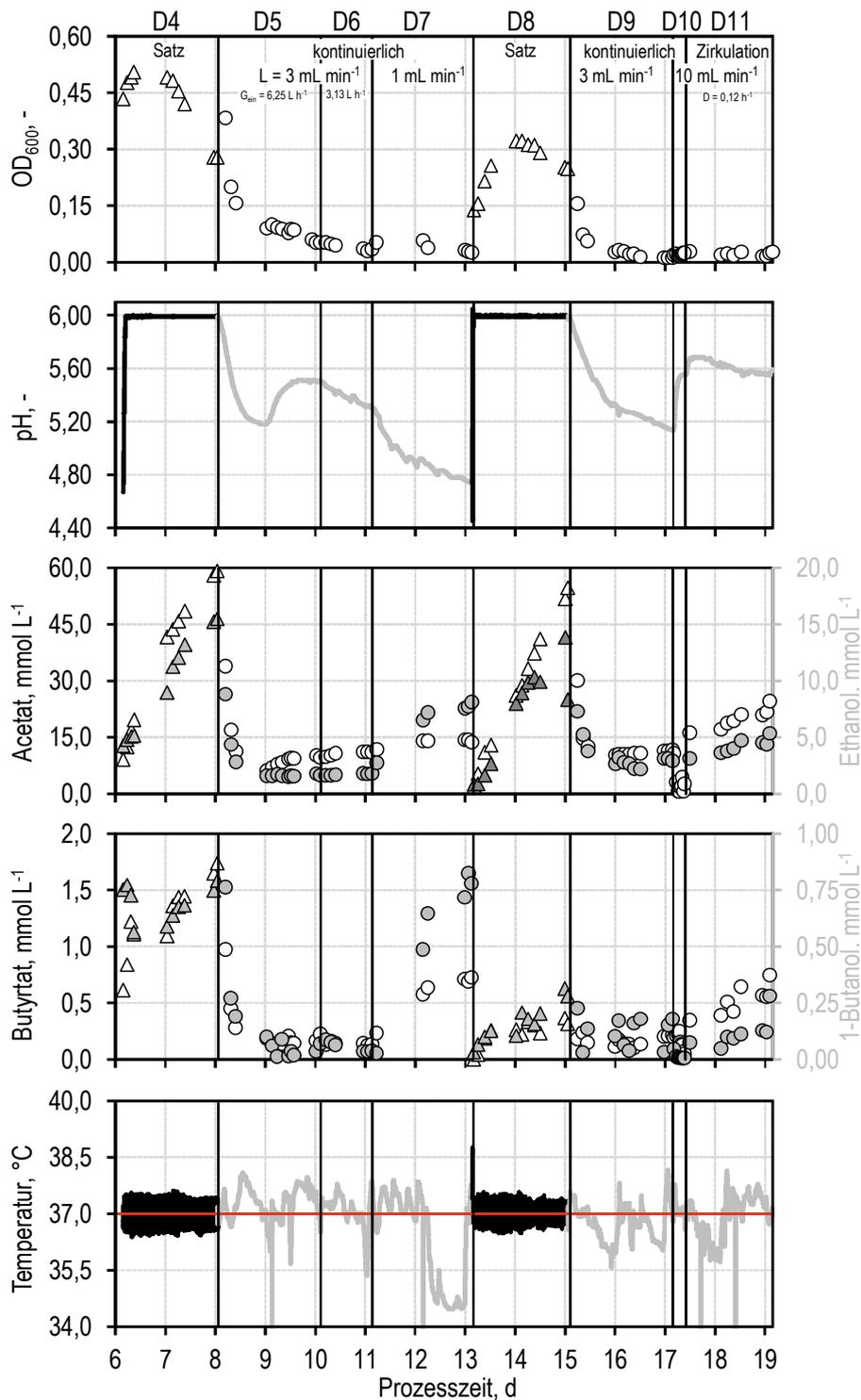


Abbildung 8.7: Zeitliche Änderung der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetat-, Ethanol-, Butyrat- und 1-Butanolkonzentration sowie des pH und der Temperatur im Festbettbiofilmreaktor und im Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom mit *C. carboxidivorans* bei Standardbedingungen ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$; 1 bar; $\text{CO}:\text{CO}_2$ 4:1) und unterschiedlicher Prozessführung im Rahmen der „Langzeitstudie D“ (Details siehe Tabelle A.18 im Anhang): D4 und D8, Satzprozess im Festbettbiofilmreaktor mit pH-Kontrolle ($G_{\text{ein}} = 5\text{ L L}^{-1}\text{ h}^{-1}$); kontinuierliche Prozessführung im Festbettbiofilmreaktor bei D5, $L = 3\text{ mL min}^{-1}$, $G_{\text{ein}} = 6,25\text{ L h}^{-1}$; D6, $L = 3\text{ mL min}^{-1}$, $G_{\text{ein}} = 3,13\text{ L h}^{-1}$; D7, $L = 1\text{ mL min}^{-1}$, $G_{\text{ein}} = 6,25\text{ L h}^{-1}$; D9, $L = 3\text{ mL min}^{-1}$, $G_{\text{ein}} = 6,25\text{ L h}^{-1}$ oder D10, $L = 10\text{ mL min}^{-1}$, $G_{\text{ein}} = 6,25\text{ L h}^{-1}$. Nach 17,4 Tagen wurde der Rieselbettbiofilmreaktor mit Flüssigkeitszirkulation bei 10 mL min^{-1} und $D = 0,12\text{ h}^{-1}$ betrieben (D11). Die rote Horizontale kennzeichnet die Solltemperatur, die Vertikalen zeigen den Zeitpunkt des Bedingungswechsels.

Diskussion

Die Satzprozesse im Festbettbiofilmreaktor mit pH-Kontrolle vor den Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor mit *C. carboxidivorans* und nach 13,2 Tagen zeigten vergleichbare Zeitverläufe der optischen Dichte (OD_{600}) sowie der Acetat- und Ethanolkonzentration. Daher wird angenommen, dass der Einfluss der vorhergehenden Prozessbedingungen auf immobilisierte *C. carboxidivorans* vernachlässigbar war.

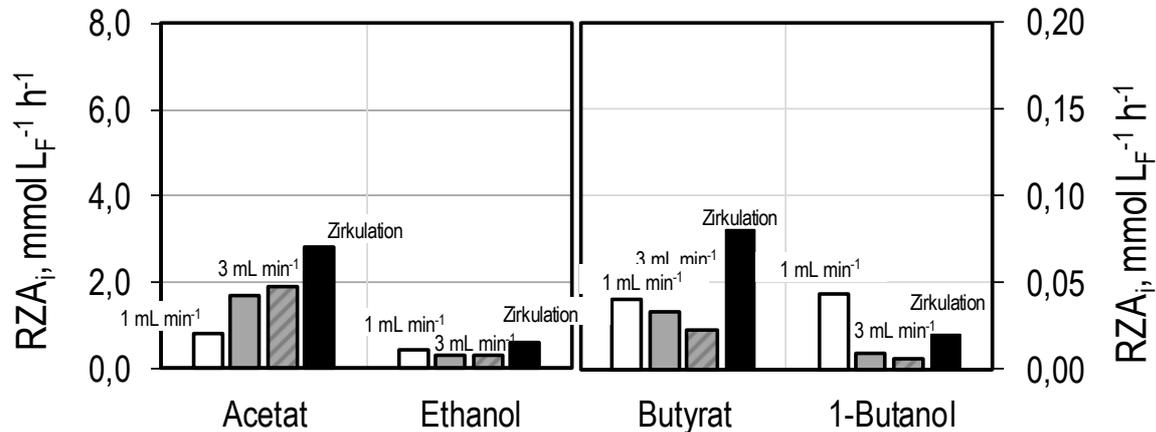


Abbildung 8.8: Zusammenfassung der Raum-Zeit-Ausbeuten vor Änderung der Betriebsbedingung in „Langzeitstudie D“ (Details siehe Tabelle A.18 im Anhang) für die Produkte Acetat, Ethanol, Butyrat und 1-Butanol im Rieselbettbiofilmreaktor (37 °C, $pH_{\text{ein}} 6$, 1 bar): weiß, $L = 1 \text{ mL min}^{-1}$, $G_{\text{ein}} = 6,25 \text{ L h}^{-1}$ (D7); grau, $L = 3 \text{ mL min}^{-1}$ bei $G_{\text{ein}} = 6,25 \text{ L h}^{-1}$ (D5, gefüllt) und $G_{\text{ein}} = 3,13 \text{ L h}^{-1}$ (D6, schraffiert); schwarz, Medienzirkulation mit 10 mL min^{-1} bei $D = 0,12 \text{ h}^{-1}$ und $G_{\text{ein}} = 6,25 \text{ L h}^{-1}$ (D11). Abkürzungen: G_{ein} , Eingangsgasvolumenstrom, D , Durchflussrate; L , Zulauftrate.

Bei einer Zulauftrate von 3 mL min^{-1} wurden trotz der besseren Gas-Flüssig-Stofftransporteigenschaften des Rieselbettbiofilmreaktors sehr geringe Raum-Zeit-Ausbeuten erzielt. Die Reduktion des Eingangsgasvolumenstroms von $6,25 \text{ L h}^{-1}$ auf $3,13 \text{ L h}^{-1}$ zeigte keine Änderung der Produktivität, sodass von keiner Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung ausgegangen wird.

Die Reduktion der Zulauftrate von 3 mL min^{-1} auf 1 mL min^{-1} zeigte eine Verschiebung des Produktspektrums von Acetat zu Butyrat und 1-Butanol. Dies könnte durch einen geringeren pH im Festbett erklärt werden. Bei den Untersuchungen wurde bei einer Zulauftrate von 3 mL min^{-1} ein minimaler pH im Flüssigkeitsreservoir von $pH_{\text{min}} 5,18$ und bei 1 mL min^{-1} $pH_{\text{min}} 4,74$ gemessen. Durch die längere mittlere hydraulische Verweilzeit des Mediums im Festbett und dadurch höheren Säurekonzentrationen kommt es zu einem geringeren pH. Durch den zweiphasigen Metabolismus von *C. carboxidivorans* könnten gebildete Säuren bei geringerem pH auf geringeren Höhen des Festbettes zu Alkoholen verstoffwechselt werden. Die Trennung der acidogenen und solventogenen Phase ist somit bereits im Labormaßstab im 11,2 cm hohen Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom möglich und könnte eventuell mit größeren Reaktorhöhen für die Produktion von Alkoholen mit *C. carboxidivorans* genutzt werden.

Die Produktkonzentrationen bei den Untersuchungen bei 10 mL min^{-1} waren die meiste Zeit unterhalb der Nachweisgrenze. Der Medienverbrauch war für die metabolische

Aktivität von *C. carboxidivorans* im Rieselbettbiofilmreaktor mit einer Zulauftrate von 10 mL min^{-1} vermutlich zu hoch.

Die Untersuchungen mit einer Durchflussrate von $D = 0,12 \text{ h}^{-1}$ und einer Medienzirkulationsrate von 10 mL min^{-1} zeigten höhere Raum-Zeit-Ausbeuten von Acetat, Ethanol und Butyrat. Die Raum-Zeit-Ausbeute mit 1-Butanol war geringer als bei 1 mL min^{-1} . Dies könnte an der pH-Regelung auf pH 6 im Sammelreservoir der Zirkulationstrecke und dem daraus resultierenden höheren minimalen pH von $\text{pH}_{\text{min}} 5,54$ am Ende des Festbettes liegen. Der höhere pH lässt immobilisierte *C. carboxidivorans* kaum in die solventogene Phase übergehen, wodurch die Produktion von 1-Butanol wie bei Satzprozessen mit pH-Kontrolle deutlich reduziert war. Durch die Zirkulation der Flüssigphase wurde *C. carboxidivorans* mit mehr Flüssigkeit pro Zeit versorgt, dieses aber durch die Rezyklierung nicht verbraucht. Dadurch konnten im Vergleich zu Untersuchungen ohne Flüssigkeitszirkulation bis zu 2,6-fach höhere Raum-Zeit-Ausbeuten erzielt werden.

8.3 Biotrockenmasse und Biofilmbildung

Das Trägermaterial Sera SiporaxTM wurde nach der Langzeitstudie („D;“ Details zu den Reaktionsbedingungen siehe Tabelle A.18) aufbereitet (Abschnitt 4.4.2) und auf den Elementgehalt (C, H, N und S) analysiert. Auf Basis der Kohlenstoffmenge konnte eine Biotrockenmasse von $4,13 \text{ g}$ und eine Biotrockenmassekonzentration von $13,76 \text{ g kg}^{-1}$ sowie $3,91 \text{ g L}^{-1}$ im Zweifachansatz bestimmt werden. Die Konzentrationen sind auf die Masse des Trägermaterials ($0,30 \text{ kg}$) und das Festbettvolumen ($1,06 \text{ L}$) bezogen.

In dieser Langzeitstudie wurde eine maximale optische Dichte (OD_{600}) von $0,57$ gemessen. Dies entspricht gemäß Gleichung 4-17 einer maximalen Biotrockenmassekonzentration in Suspension von $0,27 \text{ g L}^{-1}$ mit einer, in Bezug auf das Suspensionsvolumen des Festbettbiofilmreaktors ($V_R = 2,25 \text{ L}$), Biotrockenmasse in Suspension von $0,61 \text{ g}$. Dies entspricht einem maximalen Biotrockenmasseanteil in Suspension von $12,91 \%$.

Die mikroskopischen Analysen im Rasterelektronenmikroskop nach der Langzeitstudie mit *C. carboxidivorans* im kontinuierlich betriebenen Festbettbiofilmreaktor respektive Rieselbettbiofilmreaktor bei unterschiedlichen Betriebsbedingungen (Details siehe Tabelle A.18 im Anhang) in Abbildung 8.9 zeigten die Immobilisierung des acetogenen Bakteriums und dessen Biofilmbildung.

8.4 Reproduzierbarkeit

Die Untersuchungen mit *C. carboxidivorans* mit pH-Kontrolle wurden im Festbettbiofilmreaktor im Satzbetrieb ($37 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 6, 1 bar, $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $\text{CO}:\text{CO}_2$ 4:1) im Duplikat durchgeführt. Die vergleichende Darstellung über die Prozesszeit ist in Abbildung A.27 im Anhang zu finden und zeigt eine gute Reproduzierbarkeit.

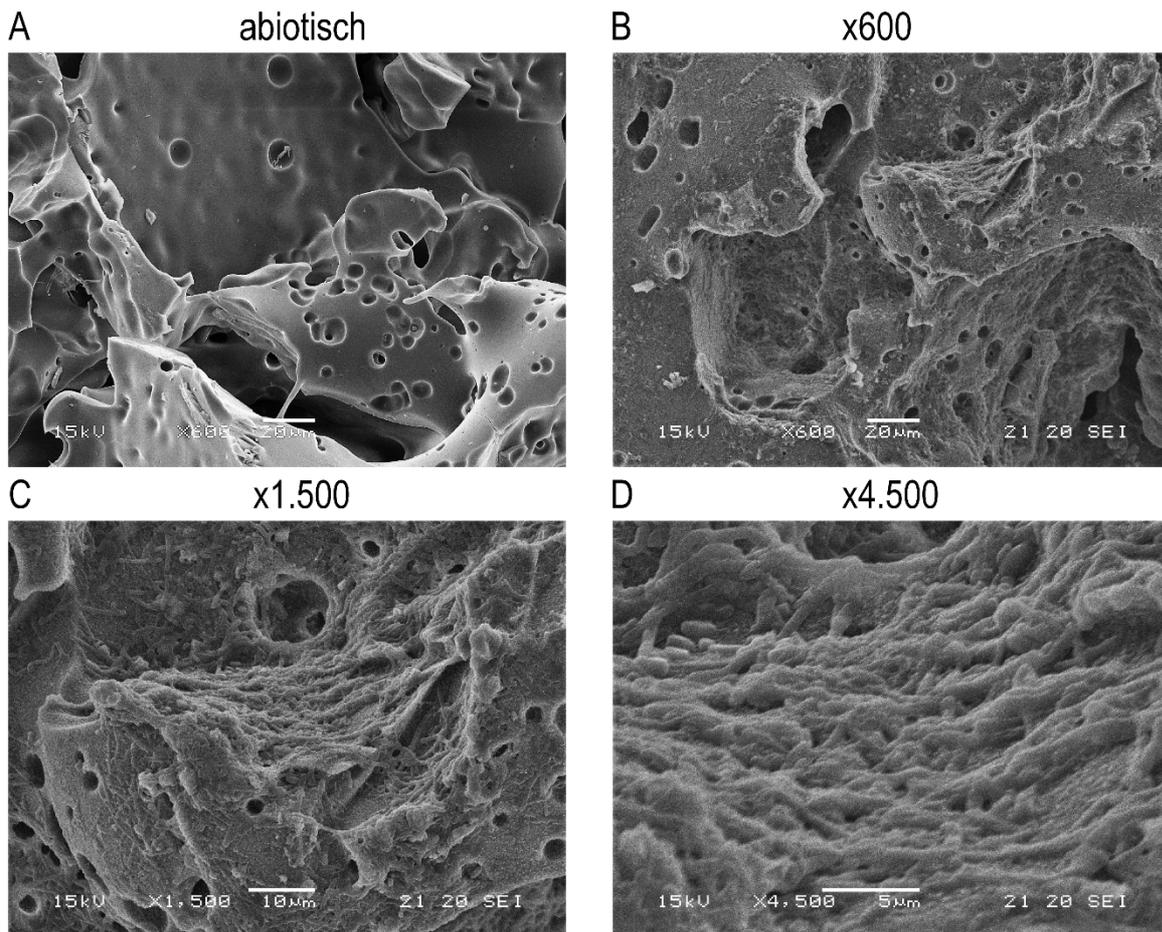


Abbildung 8.9: Ausgewählte mikroskopische Aufnahmen der Oberfläche von Sera Siporax™ im Rasterelektronenmikroskop bei 15 kV nach einer Langzeitstudie mit *C. carboxidivorans* bei variierten Betriebsbedingungen (Details siehe Tabelle A.18 im Anhang) bei unterschiedlichen Vergrößerungen: A, 600-fach (abiotisch als Referenz); B, 600-fach; C, 1.500-fach; D, 4.500-fach.

8.5 Vergleich von Biofilmreaktoren

Die Untersuchungen mit *C. carboxidivorans* in kontinuierlich betriebenen Biofilmreaktoren zeigten unterschiedliche Raum-Zeit-Ausbeuten für die Stoffwechselprodukte Acetat, Ethanol, Butyrat und 1-Butanol. Der Vergleich der Biofilmreaktoren zeigte, dass im Festbettbiofilmreaktor trotz der gezeigten CO-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung die bis zu 4,9-fache Stoffmenge Kohlenstoff im Vergleich zum Rieselbettbiofilmreaktor fixiert werden konnten. Es wird vermutet, dass *C. carboxidivorans* durch die Produktion extrazellulärer polymerer Substanzen einen Biofilm ausbildet und es dadurch zu einer zusätzlichen Stofftransportlimitierung an der Flüssig-Biofilm-Grenzfläche oder innerhalb des Biofilms kommt. Die höheren Raum-Zeit-Ausbeuten im Festbettbiofilmreaktor könnten mit höheren Biotrockenmassekonzentrationen in Suspension erklärt werden, welche aufgrund geringer Mengen an gelöstem CO dieses größtenteils verstoffwechseln könnten.

Prozessdaten von Untersuchungen zur Gasfermentation in unterschiedlichen Biofilmreaktoren mit *C. carboxidivorans* bei vergleichbaren Reaktionsbedingungen liegen vor (vergleiche Abschnitt 3.4.5): In einem Festbettbiofilmreaktor (37 °C ; $G_{\text{ein}} = 18\text{ L h}^{-1}$;

CO:CO₂:H₂:N₂ 4:3:10:12; Lz = 500 mL min⁻¹) mit einem Cordierit-basierten Monolithen als Trägermaterial (Durchmesser: 93 mm; Höhe: 305 mm, 0,31 Kanäle mm⁻², spezifische Oberfläche: 1850 m² m⁻³) wurden maximale Raum-Zeit-Ausbeuten von 1,0 mmol Acetat L⁻¹ h⁻¹ und 2,1 mmol Ethanol L⁻¹ h⁻¹ bei einer Durchflussrate von 0,02 h⁻¹ ohne pH-Kontrolle (pH 4,5-5,5) erreicht (Shen *et al.* 2014a). Über die Produkte Butyrat, 1-Butanol, Hexanoat und 1-Hexanol gibt es keine Angaben. Im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf in dieser Arbeit wurden bei einer Durchflussrate von D = 0,12 h⁻¹ autotroph maximale Raum-Zeit-Ausbeuten von 2,3 mmol Acetat L_F⁻¹ h⁻¹ und 1,1 mmol Ethanol L_F⁻¹ h⁻¹ ohne pH-Kontrolle erreicht. Die Summe fixierter Kohlenstoffatome ist mit jener im monolithischen Festbettbiofilmreaktor bei optimalen Bedingungen vergleichbar. Mit pH-Kontrolle konnten in dieser Arbeit sogar Raum-Zeit-Ausbeuten bis zu 6,4 mmol Acetat L_F⁻¹ h⁻¹ und 0,4 mmol Ethanol L_F⁻¹ h⁻¹ erzielt werden. Dies entspricht der Fixierung der 2,2-fachen Stoffmenge Kohlenstoff im Vergleich zu den Untersuchungen im monolithischen Festbettbiofilmreaktor bei optimalen Bedingungen.

8.6 Vergleich von Gasfermentationen mit *C. aceticum* und *C. carboxidivorans*

Die Untersuchungen mit *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* in verschiedenen Bioreaktoren zeigten die Prozessleistungen zweier unterschiedlicher acetogener Bakterien bei unterschiedlichen Bioreaktoreigenschaften.

Ein Vergleich ausgewählter Untersuchungen mit *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* in Biofilmreaktoren ist in Abbildung 8.10 dargestellt.

Die Untersuchungen mit *C. aceticum* im Festbettbiofilmreaktor ließen eine Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung vermuten. Durch die Erhöhung des H₂-Eingangspartialdrucks auf 816 mbar konnte die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute erhöht werden. Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor bei verbessertem Gas-Flüssig-Stofftransport erhöhte die Raum-Zeit-Ausbeute weiter um bis zu 66 %. Die Untersuchungen mit *C. carboxidivorans* im kontinuierlichen Festbettbiofilmreaktor zeigten eine dauerhafte CO-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung im Totraumvolumen des Biofilmreaktors. Es wird daher vermutet, dass *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* beide im Festbettbiofilmreaktor primär durch den Gas-Flüssig-Stofftransport limitiert waren. Der Betrieb des Rieselbettbiofilmreaktors bei einer Zulauftrate von 3 mL min⁻¹ zeigte trotz verbesserter Gas-Flüssig-Stofftransporteigenschaften im Rieselbettbiofilmreaktor eine geringere Raum-Zeit-Ausbeute als im Festbettbiofilmreaktor. Es wird deshalb vermutet, dass die Untersuchungen im Rieselbettbiofilmreaktor mit *C. carboxidivorans* im Gegensatz zu jenen mit *C. aceticum* über den Flüssig-Biofilm-Stofftransport oder den Stofftransport innerhalb des Biofilms limitiert waren. Eine Erhöhung der Flüssigkeitsströmungsgeschwindigkeit durch das Festbett durch eine Medienzirkulation erhöhte die Raum-Zeit-Ausbeuten (Abbildung 8.10). Mit steigender Flüssigkeitsströmungsgeschwindigkeit durch das Festbett wird auch der Flüssig-Biofilm-Stofftransport erhöht. Die Erhöhung der Raum-Zeit-Ausbeute durch die

Medienzirkulation stützt somit die Hypothese einer Flüssig-Biofilm-Stofftransportlimitierung.

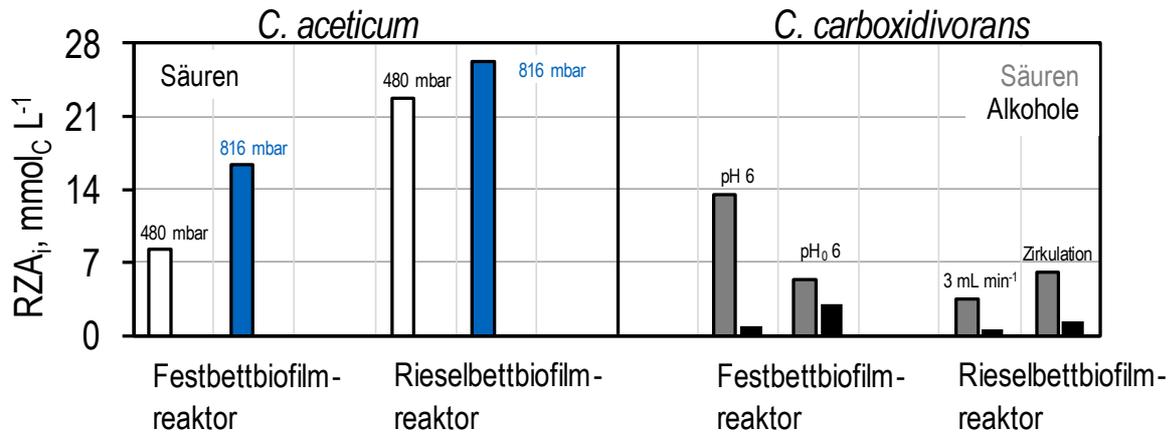


Abbildung 8.10: Vergleich der Raum-Zeit-Ausbeuten der fixierten Stoffmengen Kohlenstoff der gebildeten Säuren/Alkohole für Untersuchungen mit *C. aceticum* (links, 30 °C, pH₀ 8, 1 bar, pCO_{2,ein} = 120 mbar; N₂ als Inertgas) im Festbettbiofilmreaktor (V_R = 2,25 L; D = 0,07 h⁻¹; G_{ein} = 10 L L⁻¹ h⁻¹) sowie im Rieselbettbiofilmreaktor (L = 3 mL min⁻¹, G_{ein} = 6,25 L h⁻¹): weiß, pH_{2,ein} = 480 mbar; blau, pH_{2,ein} = 816 mbar beziehungsweise *C. carboxidivorans* (rechts, 37 °C; pH₀ 6, 1 bar, CO:CO₂ 4:1) im Festbettbiofilmreaktor (V_R = 2,25 L; D = 0,12 h⁻¹; G_{ein} = 5 L L⁻¹ h⁻¹) mit (pH 6) und ohne pH-Kontrolle sowie im Rieselbettbiofilmreaktor (G_{ein} = 6,25 L h⁻¹) bei einer Zulauftrate von 3 mL min⁻¹ beziehungsweise einer Zirkulationsrate von 10 mL min⁻¹ mit D = 0,12 h⁻¹. Die Säuren sind in grauen, die Alkohole in schwarzen Balken dargestellt. Abkürzungen: G_{ein}, Eingangsgasvolumenstrom, D, Durchflussrate; L, Zulauftrate; pH_{2,ein}, H₂-Eingangspartialdruck; pCO_{2,ein}, CO₂-Eingangspartialdruck; V_R, Arbeitsvolumen.

Durch Untersuchungen im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf und Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf konnten Satzprozesse mit suspendierten und mit immobilisierten *C. aceticum* beziehungsweise *C. carboxidivorans* verglichen werden (Abbildung 8.11). Die Satzprozesse mit *C. aceticum* zeigten eine stabile Prozessleistung mit konstanter Acetatbildung bei einer vermuteten CO- oder H₂-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung ab einer Prozesszeit von etwa 3,5 h beziehungsweise 6,5 h. Bei der Primäradsorption von *C. aceticum* im Trägermaterial des Festbettbiofilmreaktors konnte keine Reduktion der Acetatbildung im Vergleich zum Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf festgestellt werden. Dadurch wird wiederum vermutet, dass der Satzprozess mit *C. aceticum* primär durch den Gas-Flüssig-Stofftransportwiderstand limitiert war und nicht durch den Stofftransportwiderstand an der Flüssig-Biofilm-Phasengrenzfläche beziehungsweise innerhalb des Biofilms. Im Gegensatz dazu reduzierte die Primäradsorption von *C. carboxidivorans* auf dem Trägermaterial Sera Siporax™ die Produktbildungsrate im Satzprozess im Festbettbiofilmreaktor im Vergleich zu dem Satzprozess mit suspendierten Zellen im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf. Untersuchungen mit diskontinuierlicher Medienerneuerung zeigten die erneute Desorption von *C. carboxidivorans* und sein Wachstum in Suspension. Daher wird wiederum vermutet, dass *C. carboxidivorans* in der solventogenen Phase durch den Stofftransport Flüssig-Biofilm beziehungsweise innerhalb des Biofilms limitiert war.

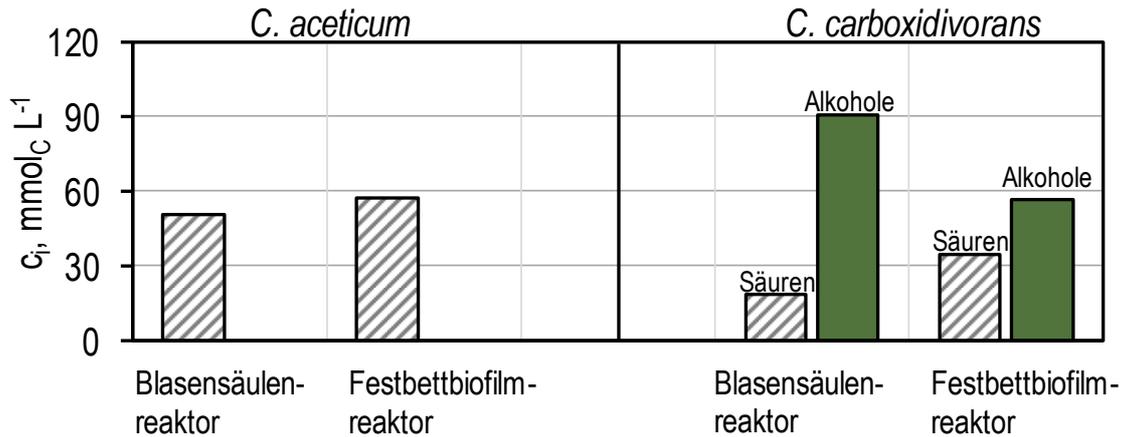


Abbildung 8.11: Vergleich der Stoffmengenkonzentration von fixiertem Kohlenstoff in etwa drei Tagen Satzprozess (30 °C, pH 8, 1 bar, $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, CO:N_2 1:9) mit *C. acetium* beziehungsweise in etwa vier Tagen Satzprozess (37 °C, pH₀ 6, 1 bar, $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, CO:CO_2 4:1) mit *C. carboxidivorans* ohne pH-Kontrolle im Blasensäulenreaktor mit suspendierten Mikroorganismen und im Festbettbiofilmreaktor mit immobilisierten Mikroorganismen. Abkürzungen: G_{ein} , Eingangsgasvolumenstrom.

Die Prozessführung in Biofilmreaktoren änderte die Stoffwechsellleistung von *C. carboxidivorans*, aber nicht von *C. acetium*. Aus diesem Grund kann die Anwendung von Biofilmreaktoren für die autotrophe Umsetzung von Synthesegasen nicht allgemein empfohlen werden, sondern muss individuell für jedes acetogene Bakterium untersucht werden.

9 Zusammenfassung und Ausblick

Die Endlichkeit fossiler Rohstoffe sowie die Belastung des ökologischen Systems der Erde durch Treibhausgasmissionen fordern ein zeitnahes Umdenken auf eine Politik mit erneuerbaren Energien (McGlade und Ekins 2015). Eine Möglichkeit der Reduktion von Treibhausgasemissionen (die zu 76 % aus CO₂ bestehen) ist die biokatalytische CO₂-Fixierung mit acetogenen Bakterien. Dieser Prozess wird Gasfermentation genannt.

Wissenschaftler aus aller Welt forschen an der Charakterisierung der biochemischen Eigenschaften acetogener Bakterien und an Möglichkeiten nicht natürliche Produkte mit diesen Mikroorganismen produzieren zu können (Ramachandriya *et al.* 2016; Schiel-Bengelsdorf und Dürre 2012; Köpke *et al.* 2010; Abubackar *et al.* 2016). Die meisten Forschungsarbeiten werden im Labormaßstab in sogenannten Anaerobflaschen (Ollivier *et al.* 1985; Suresh *et al.* 2009; Fernández-Naveira *et al.* 2016b) oder zur vollständigen Prozesskontrolle in ideal durchmischten Rührkesselreaktoren durchgeführt (Mayer und Weuster-Botz 2017; Kundiyana *et al.* 2011a; Phillips *et al.* 1993). Gasfermentationsprozesse im großtechnischen Maßstab können aber nicht bei ideal durchmischten Bedingungen, wie es Laborrührkesselreaktoren simulieren, erfolgen, weil es nicht wirtschaftlich wäre. Die industrielle Herstellung der niedrigpreisigen Produkte, wie Ethanol, über Gasfermentation erfolgt aus Kostengründen in sehr einfachen und preisgünstigen Bioreaktoren wie Blasensäulenreaktoren (Daniell *et al.* 2012). Die Übertragbarkeit von Gasfermentationsprozessen aus Rührkesselreaktoren im Labormaßstab in Blasensäulenreaktoren ist nicht einfach und häufig fehlerbehaftet (Bengelsdorf *et al.* 2018).

Das erste Ziel dieser Arbeit war es daher, einen vollständig kontrollierbaren Mehrzweckbioreaktor zu gestalten, der die Möglichkeit für Untersuchungen zur Gasfermentation in vier verschiedenen Bioreaktortypen gleicher Dimension bietet. Neben dem Betrieb als klassischer Rührkesselreaktor sollte auch ein Betrieb als Blasensäulenreaktor, als Festbettbiofilmreaktor und als Rieselbettbiofilmreaktor ermöglicht werden.

Ein Kleinlaborfermenter mit einem Volumen von 3,7 L, der standardmäßig als Rührkesselreaktor betrieben wird, wurde nicht invasiv und reversibel, primär durch den Einsatz *in-situ* sterilisierbarer Einbauten aus Edelstahl als Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (engl. *gas-lift bioreactor*) mit einem Arbeitsvolumen von 2,5 L gestaltet. In etwa 63 % des Arbeitsvolumens wurden kontinuierlich begast, während die restlichen 37 % über den unbegasteten inneren Umlauf zirkulierten.

Für die Anwendung des Mehrzweckbioreaktors als Festbettbiofilmreaktor (engl. *packed-bed bioreactor*) wurden 300 g eines Trägermaterials in den begasteten Bereich des Blasensäulenreaktors ergänzt.

Beim abiotischen Betrieb des Rieselbettbiofilmreaktors konnte die vollständige Benetzung des Trägermaterials bei Zulaufraten von 1,0 mL min⁻¹ bis 10,3 mL min⁻¹ und Umdrehungs-

geschwindigkeiten des Flüssigkeitsverteilers von $16\text{--}18\text{ U min}^{-1}$ gezeigt werden. Damit war es möglich, den Rieselbettbiofilmreaktor für Untersuchungen zur autotrophen Umsetzung von Synthesegasen mit acetogenen Bakterien zu verwenden.

Eine zusammenfassende Darstellung der vier Bioreaktortypen des Mehrzweckbioreaktors – mit einem Acrylglasrohr als Reaktorwand zur Visualisierung – ist in Abbildung 9.1 dargestellt.

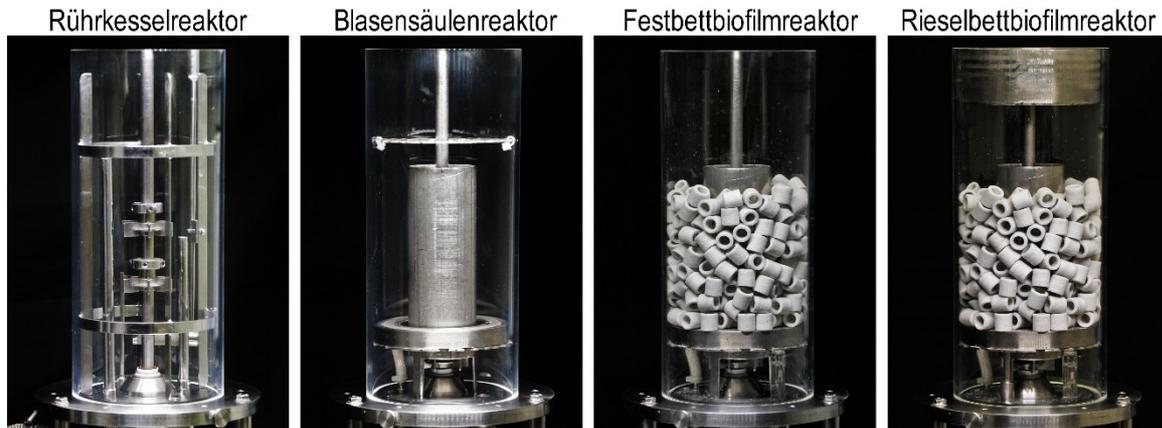


Abbildung 9.1: Mehrzweckbioreaktor zum unabhängigen Betrieb von vier Bioreaktortypen im Labormaßstab bei vergleichbaren Dimensionen. Das Acrylglasrohr dient als Reaktorwand zur Visualisierung (eine detaillierte Beschreibung aller Reaktorkomponenten ist in Abschnitt 4.1 mit Abbildung 4.2 zu finden).

Im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf wurden mittlere anzahlbasierte Blasendurchmesser von $223\text{--}533\text{ }\mu\text{m}$ gemessen. Es konnten bis zu 2.625-fach geringere volumetrische Leistungseinträge im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (bis zu 23 W m^{-3}) im Vergleich zum Rührkesselreaktor (bis zu 14 kW m^{-3}) abgeschätzt werden. Der volumetrische Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient wurde mit Maximalwerten von 154 h^{-1} für CO und 122 h^{-1} für H_2 im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf sowie 193 h^{-1} für CO und 153 h^{-1} für H_2 im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf quantifiziert. Die Abschätzung des volumetrischen Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_{\text{L}a}$) im Rieselbettbiofilmreaktor zeigte Maximalwerte von 1.025 h^{-1} für H_2 . Dies entspricht einem 8,4-beziehungsweise 6,7-fachen Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_{\text{L}a}$) im Vergleich zu den Maximalwerten im Blasensäulenreaktor respektive Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf. In Abhängigkeit des Eingangsgasvolumenstroms wurden Mischzeiten für eine Mischgüte von 90 % von 385 s bis 49 s im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf und 177 s bis 42 s im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf quantifiziert. Dies entspricht bis zu 77-fach längeren Mischzeiten im Vergleich zum Rührkesselreaktor bei 1.500 U min^{-1} . Der maximale Gasgehalt im Blasensäulenreaktor beziehungsweise Festbettbiofilmreaktor wurde mit 1,1-1,2 % bestimmt. Die mittlere hydraulische Verweilzeit im Festbett des Rieselbettbiofilmreaktors variierte in Abhängigkeit der Zulauftrate ($1\text{--}10\text{ mL min}^{-1}$) von 15 min bis 3 h bei mittleren Flüssigkeitsströmungsgeschwindigkeiten durch das Festbett des Rieselbettbiofilmreaktors von $1\text{--}12 \cdot 10^{-5}\text{ m s}^{-1}$.

Die Wechselwirkungen zwischen Bioreaktortyp und der biokatalytischen Prozessleistungen suspendierter acetogener Bakterien ist nur über den Vergleich von Bioreaktoren

vergleichbarer Dimension mit denselben Zellen bei identischen Reaktionsbedingungen (Medienzusammensetzung, Temperatur, pH, Synthesegaszusammensetzung, Prozessführung) quantifizierbar (Groher und Weuster-Botz 2016a).

Das zweite Ziel dieser Arbeit war es daher, die autotrophe Umsetzung von Synthesegasen in den Suspensionsreaktoren Rührkesselreaktor und Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf bei identischen Reaktionsbedingungen mit den acetogenen Mikroorganismen *Clostridium aceticum* und *Clostridium carboxidivorans* zu untersuchen. *C. aceticum* ist mit Acetat als Primärstoffwechselprodukt und mit seiner Fähigkeit, sowohl CO als auch CO₂ als Kohlenstoffquelle zu nutzen, ein repräsentatives acetogenes Bakterium für die konventionelle Gasfermentation. *C. carboxidivorans* ist im Gegensatz dazu ein klassisches *Clostridium*, das über eine pH-induzierte solventogene Produktionsphase Alkohole nach vorangegangener Säurebildung (acidogene Phase) synthetisieren kann.

Autotrophe Satzprozesse im Rührkesselreaktor mit hohem Leistungseintrag ($P/V = 10,5\text{--}14,0 \text{ kW m}^{-3}$) und im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf ($P/V = 4\text{--}9 \text{ W m}^{-3}$) mit *C. aceticum* respektive *C. carboxidivorans* zeigten deutliche Unterschiede in den maximalen Biotrockenmassekonzentrationen sowie den finalen Produktkonzentrationen. Ein grafischer Vergleich der physikalischen Eigenschaften der Bioreaktoren bei den untersuchten Reaktionsbedingungen sowie von Zustandsgrößen der Bioprozesse ist für die Suspensionsreaktoren Rührkesselreaktor (STR) sowie Blasensäulenreaktor (GLR) mit innerem Umlauf für beide acetogenen Bakterien in Abbildung 9.2 dargestellt.

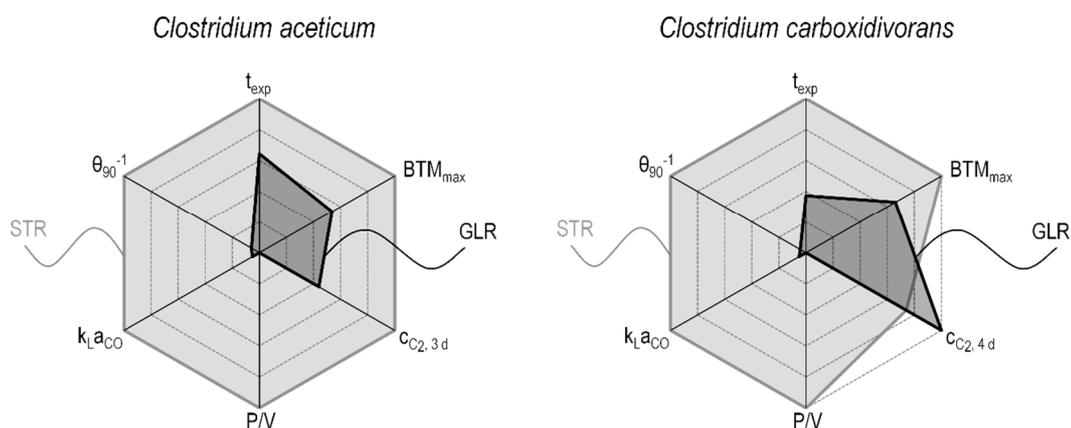


Abbildung 9.2: Vergleich der Prozessleistung acetogener Bakterien in unterschiedlichen Suspensionsreaktoren bei identischen Reaktionsbedingungen: Relativer Vergleich der Dauer der exponentiellen Wachstumsphase (t_{exp}), der maximalen Biotrockenmassekonzentration (BTM_{max}), der Konzentrationen der C₂-Produkte nach drei (3 d) oder vier Tagen (4 d), des volumetrischen Leistungseintrages (P/V), des volumetrischen Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizienten ($k_L a$) der Substrate CO oder H₂ sowie der Mischgeschwindigkeit als reziproker Wert der Mischzeit für eine Mischgüte von 90 % (θ_{90}^{-1}) für autotrophe Satzprozesse mit *C. aceticum* (30 °C; pH 8; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) sowie mit *Clostridium carboxidivorans* (37 °C; pH₀ 6; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 5 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; CO:CO₂ 4:1) ohne pH-Kontrolle im Rührkesselreaktor (STR; $V_R = 2,0 \text{ L}$) und Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (GLR; $V_R = 2,5 \text{ L}$). Die Daten sind relativ auf die Maximalwerte der jeweiligen Bedingung bezogen (normierte Darstellung).

Die Untersuchungen mit *C. aceticum* und CO als Substrat zeigten eine 7,5-fach höhere Acetatkonzentration im Rührkesselreaktor nach drei Tagen Satzbetrieb, vermutlich aufgrund einer frühzeitigen Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf sowie einer CO-Substratüberschussinhibierung bei einem CO-Partialdruck größer 5 mbar. Erhöhte maximale Gas-Flüssig-Stofftransportraten im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf mit CO₂:H₂ als Substrat zeigten nur noch eine 2,3-fach höhere Acetatkonzentration nach drei Tagen Satzprozess im Rührkesselreaktor im Vergleich zum Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf.

Bei dem Vergleich von Untersuchungen mit *C. carboxidivorans* in den Suspensionsreaktoren Rührkesselreaktor sowie Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf wurde eine lokale CO-Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung im unbegasteten Bereich des Blasensäulenreaktors mit innerem Umlauf gezeigt. Diese könnte höhere Ethanol-, aber geringere 1-Butanolkonzentrationen im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf im Vergleich zum Rührkesselreaktor erklären. Im Rührkesselreaktor wurden 87 % mehr C₄-Produkte gebildet, während im Blasensäulenreaktor 35 % mehr C₂-Produkte gebildet wurden. Trotzdem wurden, im Gegensatz zu den Satzprozessen mit *C. aceticum*, in den Satzprozessen mit *C. carboxidivorans* vergleichbare Stoffmengen Kohlenstoff (~109 mmol_C) fixiert.

Damit wurden erstmalig Studien bei identischen autotrophen Reaktionsbedingungen in einem Rührkesselreaktor und einem Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf mit zwei unterschiedlichen acetogenen Bakterien im Labormaßstab verglichen. Die Untersuchungen zeigten, dass der Einfluss des Bioreaktors auf die biokatalytische Prozessleistung acetogener Bakterien nicht pauschal erklärt werden kann. Bei Satzprozessen mit *C. aceticum* schien eine vermutete Gas-Flüssig-Stofftransportlimitierung die Prozessleistung des acetogenen Bakteriums zu dirigieren, während bei Satzprozessen mit *C. carboxidivorans* der pH entscheidend zu sein schien. Somit sind Untersuchungen bei vergleichbaren Reaktionsbedingungen in unterschiedlichen Bioreaktoren sehr wichtig.

Eine weitere Möglichkeit zur kostengünstigen industriellen biokatalytischen Umsetzung von Synthesegasen bieten Biofilmreaktoren. Um die Raum-Zeit-Ausbeuten von Gasfermentationsprozessen zu erhöhen, kann die Flüssigphase kontinuierlich erneuert werden. In ihr sind Nährstoffe gelöst, die zusätzlich zum gasförmigen Substrat für den Stoffwechsel acetogener Bakterien notwendig sind. Aufgrund geringer Wachstumsraten der acetogenen Bakterien ist eine Verweilzeitentkopplung der acetogenen Bakterien von der Flüssigphase im kontinuierlichen Betrieb sinnvoll (Kantzow *et al.* 2015; Bredwell *et al.* 1999).

Das dritte Ziel dieser Arbeit war es daher, die autotrophe Umsetzung von Synthesegasen in den Biofilmreaktoren Festbettbiofilmreaktor und Rieseltbettbiofilmreaktor mit *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* zu untersuchen.

Die Anwesenheit von vier unterschiedlichen Trägermaterialien für die Anwendung in den Biofilmreaktoren zeigte bei Untersuchungen in Anaerobflaschen unter autotrophen

Bedingungen keine Änderung des Wachstums- und des Produktionsverhaltens von *C. aceticum* beziehungsweise *C. carboxidivorans*. Aufgrund der vollständigen Adsorption von *C. carboxidivorans* auf dem einem Trägermaterial aus makroporösem Kalk-Natron-Glas (Sera Siporax™) in den Anaerobflaschen wurde dieses als Standardträgermaterial festgelegt.

Untersuchungen zur autotrophen Umsetzung eines CO-haltigen beziehungsweise eines CO₂:H₂-haltigen Gasgemisches mit *C. aceticum* im Festbettbiofilmreaktor im Satzbetrieb zeigten die Primäradsorption von *C. aceticum* im Trägermaterial und vergleichbare Acetatbildungsraten (r_{Acetat}) wie im Blasensäulenreaktor. Im Festbettbiofilmreaktor wurden zum Beispiel mit CO₂:H₂ als Substrat lineare Acetatbildungsraten von $1,2 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1} \pm 0,3 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ im Vergleich zu $1,3 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1} \pm 0,1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf erreicht. Aus diesem Grund wird vermutet, dass der Gas-Flüssig-Stofftransport mit immobilisierten *C. aceticum*-Zellen und nicht der Stofftransport Flüssig-Biofilm oder innerhalb des Biofilms limitierend war. Die maximale Acetatbildungsrate im Rührkesselreaktor war mit $4,7 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ aufgrund größerer Stofftransportraten um ~267 % höher als im Blasensäulen- beziehungsweise Festbett-biofilmreaktor. Abbildung 9.3 zeigt die Acetatbildungsraten der Untersuchungen mit *C. aceticum* und CO₂:H₂ als Substrat im Festbettbiofilmreaktor im Satzbetrieb im Vergleich zu den Suspensionsreaktoren.

Die kontinuierliche Prozessführung im Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf erhöhte die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute ($\text{RZA}_{\text{Acetat}}$) bei Untersuchungen mit *C. aceticum* mit CO₂:H₂ als Substrat in Bezug auf das Festbettvolumen im Vergleich zu den Satzprozessen um 48 % auf $4,1 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1} \pm 0,6 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$. Der maximale H₂-Gas-Flüssig-Stofftransport wurde durch die Erhöhung des H₂-Eingangspartialdrucks um den Faktor 1,7 erhöht. Dies erhöhte die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute analog um das 1,7-fache ($8,2 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Untersuchungen zur autotrophen Umsetzung von Synthesegas mit *C. aceticum* im Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom zeigte deutlich höhere H₂-Aufnahmeraten (bis zu $56,3 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$) und H₂-Umsätze (bis zu 96 %) im Vergleich zum Festbettbiofilmreaktor. Durch den verbesserten Gas-Flüssig-Stofftransport im Rieselbettbiofilmreaktor konnte auch die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute bei vergleichbaren Reaktionsbedingungen auf Spitzenwerte von $11,4 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1} \pm 0,9 \text{ mmol L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$ erhöht werden.

Eine grafische Darstellung in Abbildung 9.3 zeigt die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten ausgewählter Untersuchungen mit *C. aceticum* und CO₂:H₂ als Substrat in Biofilmreaktoren bei kontinuierlichem Betrieb.

Nach bis zu 69 Tagen Betrieb des Festbettbiofilm- beziehungsweise des Rieselbettbiofilmreaktors mit *C. aceticum* konnte die Aggregation und Biofilmbildung von *C. aceticum* an der Oberfläche des Trägermaterials qualitativ beobachtet werden. Eine Aufnahme bei 4.500-facher Vergrößerung im Rasterelektronenmikroskop in Abbildung 9.3 zeigt aggregierte *C. aceticum*-Zellen in einer Matrix. Es wird vermutet, dass die Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen besteht, welche durch die Biofilmbildung von

C. aceticum produziert wurden. Es konnten innerhalb von 21 Tagen 2,4 g und innerhalb von 69 Tagen 8,6 g Biotrockenmasse auf 300 g Trägermaterial immobilisiert werden. Der Anstieg der Biotrockenmasse über die Dauer des Betriebs lässt vermuten, dass immobilisierte *C. aceticum*-Zellen dauerhaft im Trägermaterial wachsen und einen dickeren Biofilm aufbauen.

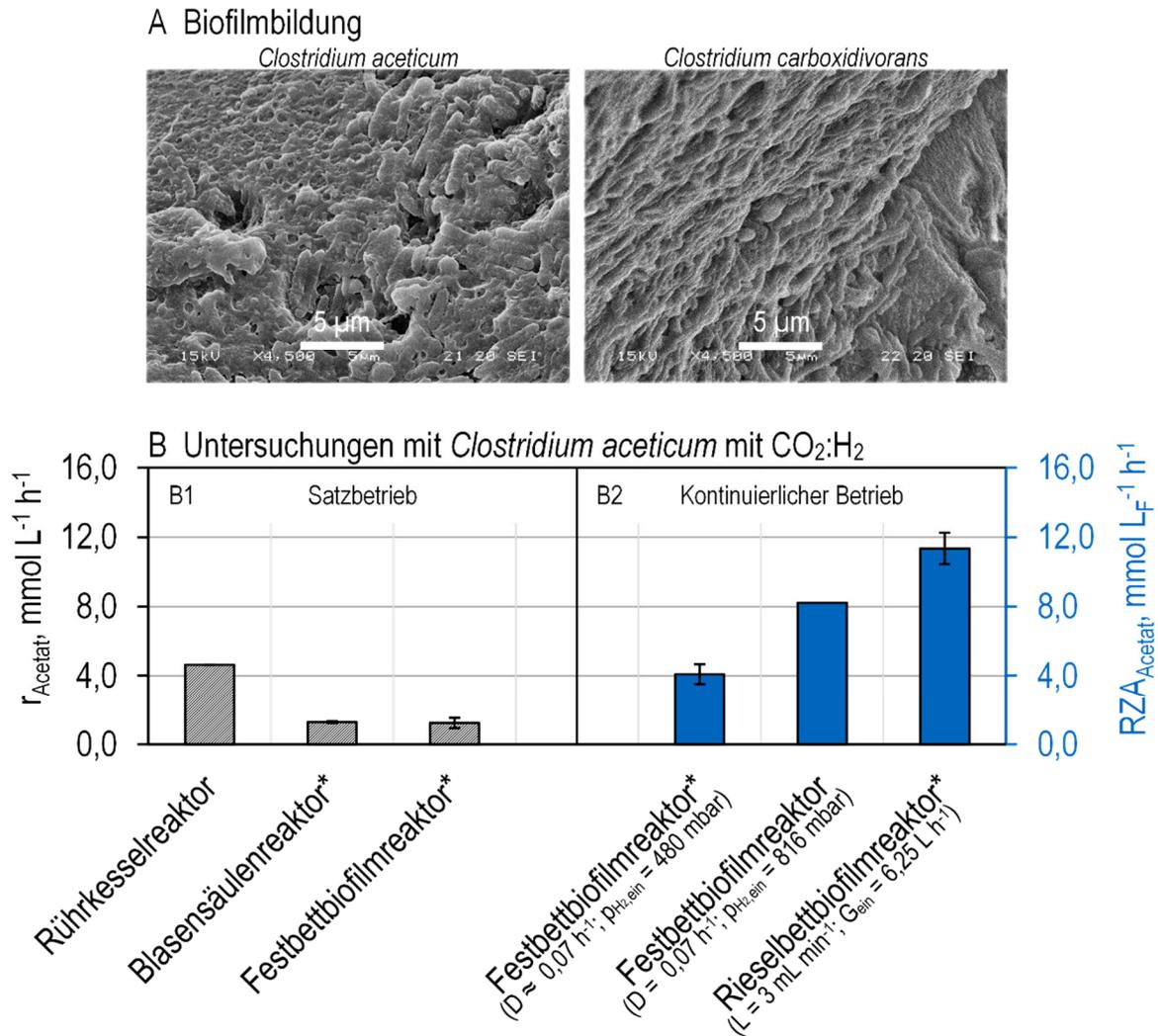


Abbildung 9.3:

A, Biofilmbildung von *Clostridium aceticum* (links) sowie *Clostridium carboxidivorans* (rechts) als Aufnahme im Rasterelektronenmikroskop bei 4.500-facher Vergrößerung;

B, Vergleich von Untersuchungen mit *C. aceticum* in unterschiedlichen Bioreaktoren bei 30 °C, pH 8, 1 bar, $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $p_{\text{H}_2,\text{ein}} = 480 \text{ mbar}$ und $p_{\text{CO}_2,\text{ein}} = 120 \text{ mbar}$ (wenn nicht anders angegeben). N₂ wurde als Inertgas verwendet. B1, Satzbetrieb; B2, kontinuierlicher Betrieb. Die mit einem Stern (*) markierten Untersuchungen wurden in Triplikaten durchgeführt (vergleiche Abbildung A.24 bis Abbildung A.26 im Anhang). Abkürzungen: G_{ein} , Eingangsgasvolumenstrom; $p_{\text{H}_2,\text{ein}}$, H₂-Eingangspartialdruck, $p_{\text{CO}_2,\text{ein}}$ = CO₂-Eingangspartialdruck; D, Durchflussrate; L, Zulauf-rate; r_{Acetat} , Acetatbildungsrate im Satzbetrieb; RZA_{Acetat} , Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute im kontinuierlichen Betrieb.

Untersuchungen mit *C. carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor zeigten im Satzbetrieb – im Kontrast zu den Untersuchungen mit *C. aceticum* – Unterschiede in den zeitlichen

Konzentrationsverläufen im Vergleich zum Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf. So konnten nach vier Tagen im Festbettbiofilmreaktor nur 84 % der Stoffmenge Kohlenstoff (hauptsächlich in Form von Acetat) fixiert werden, die im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf bei identischen Reaktionsbedingungen fixiert wurde. Aus diesem Grund wird vermutet, dass der Flüssig-Fest-Stofftransportwiderstand oder der Stofftransportwiderstand innerhalb des Biofilms größer war als der Gas-Flüssig-Stofftransportwiderstand.

Der kontinuierliche Betrieb im Festbettbiofilmreaktor zeigte die Fixierung von bis zu $13,7 \text{ mmol}_C \text{ L}_F^{-1} \text{ h}^{-1}$. Eine Erhöhung der kontinuierlichen Kohlenstofffixierung im Rieselbettbiofilmreaktor bei unterschiedlichen Betriebsbedingungen war nicht möglich. Im Festbettbiofilmreaktor konnte somit die bis zu 1,9-fache Stoffmenge Kohlenstoff im Vergleich zum kontinuierlich betriebenen Rieselbettbiofilmreaktor fixiert werden. Dies bekräftigte die Hypothese, dass der Flüssig-Fest-Stofftransportwiderstand oder der Stofftransportwiderstand innerhalb des Biofilms für die autotrophe Umsetzung von CO limitierend war.

Nach mehr als 28 Tagen Betrieb des Festbettbiofilm- beziehungsweise des Rieselbettbiofilmreaktors mit *C. carboxidivorans* konnten mehr als 4,1 g Biotrockenmasse auf 300 g Trägermaterial immobilisiert und die Biofilmbildung durch die Produktion einer Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen von *C. carboxidivorans* beobachtet werden. Abbildung 9.3 zeigt eine Aufnahme des Biofilms von *C. carboxidivorans* im Rasterelektronenmikroskop bei 4.500-facher Vergrößerung, in der die Stäbchenform von *C. carboxidivorans* und seine Aggregation in einer Matrix qualitativ beobachtet wurde.

Der Betrieb des Festbettbiofilmreaktors mit *C. aceticum* oder *C. carboxidivorans* für die biokatalytische Umsetzung von Synthesegasen mit den acetogenen Bakterien zeigte Änderungen in der Prozessleistung mit immobilisierten *C. carboxidivorans* aber nicht mit immobilisierten *C. aceticum* im Vergleich zur Prozessleistung im Blasensäulenreaktor mit suspendierten acetogenen Bakterien. Durch den kontinuierlichen Betrieb mit Verweilzeitentkopplung konnte die Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute mit *C. aceticum* im Rieselbettbiofilmreaktor deutlich gesteigert werden während mit *C. carboxidivorans* bei den untersuchten Bedingungen im Festbettbiofilmreaktor die höchste Stoffmenge Kohlenstoff fixiert wurde. Die Untersuchungen mit *C. aceticum* und *C. carboxidivorans* in den Biofilmreaktoren zeigten somit – wie jene in den Suspensionsreaktoren – unterschiedliche Auswirkungen der physikalischen Eigenschaften der Bioreaktoren auf die Prozessleistung dieser acetogenen Bakterien und unterstreicht aufs Neue die Wichtigkeit, die Prozessleistung acetogener Bakterien in unterschiedlichen Bioreaktoren bei vergleichbaren Reaktionsbedingungen zu untersuchen, da eine pauschale Bewertung der Bioreaktoren nicht möglich ist.

Ausblick

Der Mehrzweckbioreaktor bietet eine Vielzahl weiterer Möglichkeiten für Untersuchungen zur Gasfermentation im Labormaßstab:

Der Einfluss der physikalischen Eigenschaften des Rührkesselreaktors, des Blasensäulenreaktors, des Festbettbiofilmreaktors sowie des Rieselbettbiofilmreaktors auf die

Prozessleistung weiterer acetogener Bakterien, wie zum Beispiel *Clostridium ljungdahlii*, *Clostridium ragsdalei*, *Clostridium autoethanogenum*, *Acetobacterium woodii* oder *Sporomusa ovata*, könnte in weiteren Untersuchungen analysiert werden.

Untersuchungen bei erhöhtem Gesamtdruck und gleichbleibendem H₂-Partialdruck im kontinuierlich betriebenen Festbettbiofilmreaktor mit *C. aceticum* zeigten geringe Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten im Vergleich zu den Untersuchungen bei Atmosphärendruck. Ein möglicher Einfluss des Gesamtdrucks auf die Stoffwechselleistung von *C. aceticum* könnte durch die Variation des Gesamtdrucks bei gleichbleibendem H₂- und CO₂-Eingangspartialdrücken im ideal durchmischten Rührkesselreaktor aufgeklärt werden.

Weiterhin könnte die Acetatbildung mit *C. aceticum* im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf durch eine sukzessive Erhöhung des CO-Partialdrucks während eines Satzprozesses, um eine anfängliche Substratüberschussinhibierung zu vermeiden und den CO-Gas-Flüssig-Stofftransport zu erhöhen, gesteigert werden.

Da die Untersuchungen mit *C. carboxidivorans* in den Biofilmreaktoren vermutlich Flüssig-Biofilm-Stofftransportlimitierungen oder Stofftransportlimitierungen im Biofilm zeigten, könnten weitere Trägermaterialien für die Immobilisierung von *C. carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor überprüft werden. Dadurch könnte womöglich der Stofftransport verbessert werden.

Eine Serienschaltung von Bioreaktoren zur Steigerung der Prozessleistung der untersuchten acetogenen Bakterien wird außerdem als sinnvoll erachtet. Eine Möglichkeit wäre ein zweistufiger Prozess, in dessen erster Stufe mit *C. aceticum* zum Beispiel im Rieselbettbiofilmreaktor Acetat produziert und dieses in der zweiten Stufe bei einem pH < 5 mit *C. carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor zu Alkoholen umgesetzt werden könnte.

Außerdem soll darauf hingewiesen werden, dass der Vergleich der physikalischen Eigenschaften der Bioreaktoren und der Prozessleistung acetogener Bakterien im Mehrzweckbioreaktor im Labormaßstab mit jenen im großtechnischen Maßstab verglichen werden sollten, um eine Aussage über die Maßstabsübertragung machen zu können.

Somit kann mit dem in dieser Arbeit gestalteten Mehrzweckbioreaktor eine Vielzahl weiterer Untersuchungen durchgeführt werden.

10 Literaturverzeichnis

- Abubackar, H.; Veiga, M.; Kennes, C. (2011): Biological conversion of carbon monoxide: rich syngas or waste gases to bioethanol. In: *Biofuels, Bioprod. Bioref.* 5 (1), S. 93–114. DOI: 10.1002/bbb.256.
- Abubackar, H. N.; Bengelsdorf, F. R.; Dürre, P.; Veiga, M. C.; Kennes, C. (2016): Improved operating strategy for continuous fermentation of carbon monoxide to fuel-ethanol by clostridia. In: *Applied Energy* 169, S. 210–217. DOI: 10.1016/j.apenergy.2016.02.021.
- Abubackar, Haris Nalakath; Veiga, María C.; Kennes, Christian (2018): Production of acids and alcohols from syngas in a two-stage continuous fermentation process. In: *Bioresource Technology* 253, S. 227–234. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.01.026.
- Acharya, Bimal; Dutta, Animesh; Basu, Prabir (2017): Ethanol production by syngas fermentation in a continuous stirred tank bioreactor using *Clostridium ljungdahlii*. In: *Biofuels* 86 (1), S. 1–17. DOI: 10.1080/17597269.2017.1316143.
- Acharya, Bimal; Roy, Poritosh; Dutta, Animesh (2015): Review of syngas fermentation processes for bioethanol. In: *Biofuels*, S. 1–14. DOI: 10.1080/17597269.2014.1002996.
- Ahmed, Asma; Cateni, Bruno G.; Huhnke, Raymond L.; Lewis, Randy S. (2006): Effects of biomass-generated producer gas constituents on cell growth, product distribution and hydrogenase activity of *Clostridium carboxidivorans* P7^T. In: *Biomass and Bioenergy* 30 (7), S. 665–672. DOI: 10.1016/j.biombioe.2006.01.007.
- Ahmed, Asma; Lewis, Randy S. (2007): Fermentation of biomass-generated synthesis gas: Effects of nitric oxide. In: *Biotechnol. Bioeng.* 97 (5), S. 1080–1086. DOI: 10.1002/bit.21305.
- Aiba, S.; Shoda, M.; Nagatani, M. (1968): Kinetics of product inhibition in alcohol fermentation. In: *Biotechnol. Bioeng.* 10 (6), S. 845–864. DOI: 10.1002/bit.260100610.
- Andreesen, J. R.; Gottschalk, G.; Schlegel, H. G. (1970): *Clostridium formicoaceticum* nov. spec. Isolation, description and distinction from *C. aceticum* and *C. thermoaceticum*. In: *Archives of Microbiology* 72, S. 154–174.
- Andrews, J. (1968): A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. In: *Biotechnol. Bioeng.* 10 (6), S. 707–723. DOI: 10.1002/bit.260100602.

- Antonini, Eraldo; Brunori, Maurizio (1971): Hemoglobin and myoglobin in their reactions with ligands: Amsterdam : North-Holland.
- Ascanio, G.; Castro, B.; Galindo, E. (2004): Measurement of Power Consumption in Stirred Vessels—A Review. In: *Chemical Engineering Research and Design* 82 (9), S. 1282–1290. DOI: 10.1205/cerd.82.9.1282.44164.
- Asenjo, Juan A. (1994): Bioreactor system design: CRC Press.
- Atkins, P. W.; Paula, J. de (2012): Physikalische Chemie. 4., vollst. überarb. Aufl., 2. Nachdr. Weinheim: Wiley-VCH.
- Baerns, Manfred; Behr, Arno; Brehm, Axel; Gmehling, Jürgen; Hofmann, Hanns; Onken, Ulfert (2013): Technische Chemie: John Wiley & Sons.
- Bailey, James E.; Ollis, David F. (1991): Biochemical engineering fundamentals. 3rd reprint. New Delhi [etc.]: Tata McGraw Hill Education Private Limited.
- Bakker, Andre; Smith, John M.; Myers, Kevin J. (1994): How to disperse gases in liquids. In: *Chemical engineering* 101 (12), S. 98.
- Balch, W.; Schoberth, S.; Tanner R.; Wolfe, R. (1977): *Acetobacterium*, a New Genus of Hydrogen-Oxidizing, Carbon Dioxide-Reducing, Anaerobic Bacteria. In: *International Journal of Systematic Bacteriology* 27 (4), S. 355–361.
- Barwal, Anjali; Chaudhary, Rubina (2014): To study the performance of biocarriers in moving bed biofilm reactor (MBBR) technology and kinetics of biofilm for retrofitting the existing aerobic treatment systems. A review. In: *Rev Environ Sci Biotechnol* 13 (3), S. 285–299. DOI: 10.1007/s11157-014-9333-7.
- Bello, R. Ade; Robinson, Campbell W.; Moo-Young, Murray (1984): Liquid circulation and mixing characteristics of airlift contactors. In: *Can. J. Chem. Eng.* 62 (5), S. 573–577.
- Benadda, B.; Kafoufi, K.; Monkam, P.; Otterbein, M. (2000): Hydrodynamics and mass transfer phenomena in counter-current packed column at elevated pressures. In: *Chemical Engineering Science* 55 (24), S. 6251–6257. DOI: 10.1016/S0009-2509(00)00206-2.
- Benadda, B.; Otterbein, M.; Kafoufi, K.; Prost, M. (1996): Influence of pressure on the gas/liquid interfacial area a and the coefficient $k_L a$ in a counter-current packed column. In: *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 35 (4), S. 247–253. DOI: 10.1016/0255-2701(95)04127-3.
- Bengelsdorf, F.; Straub, M.; Dürre, P. (2013): Bacterial synthesis gas (syngas) fermentation. In: *Environmental Technology* 34 (13-14), S. 1639–1651.
- Bengelsdorf, Frank R.; Beck, Matthias H.; Erz, Catarina; Hoffmeister, Sabrina; Karl, Michael M.; Riegler, Peter *et al.* (2018): Bacterial Anaerobic Synthesis Gas (Syngas) and CO₂ + H₂ Fermentation. In: Elsevier (Advances in Applied Microbiology).

- Bernalier, A. (1996): Acetogenesis from H₂ and CO₂ by methane- and non-methane-producing human colonic bacterial communities. In: *FEMS Microbiology Ecology* 19 (3), S. 193–202. DOI: 10.1016/0168-6496(96)00004-9.
- Bertsch, J.; Müller, V. (2015): Bioenergetic constraints for conversion of syngas to biofuels in acetogenic bacteria. In: *Biotechnology for biofuels* 8, S. 210.
- Beyenal, Haluk; Lewandowski, Zbigniew (2002): Internal and external mass transfer in biofilms grown at various flow velocities. In: *Biotechnology progress* 18 (1), S. 55–61. DOI: 10.1021/bp010129s.
- Bjarnsholt, Thomas; Buhlin, Kåre; Dufrêne, Yves F.; Gomelsky, Mark; Moroni, Anna; Ramstedt, Madeleine et al. (2018): Biofilm formation - What we can learn from recent developments. In: *Journal of internal medicine*. DOI: 10.1111/joim.12782.
- Bouaifi, Mounir; Hebrard, Gilles; Bastoul, Dominique; Roustan, Michel (2001): A comparative study of gas hold-up, bubble size, interfacial area and mass transfer coefficients in stirred gas–liquid reactors and bubble columns. In: *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 40 (2), S. 97–111. DOI: 10.1016/S0255-2701(00)00129-X.
- Braun, K.; Gottschalk, G. (1981): Effect of molecular hydrogen and carbon dioxide on chemo-organotrophic growth of *Acetobacterium woodii* and *Clostridium aceticum*. In: *Archives of Microbiology* 128, S. 294–298.
- Braun, M.; Mayer, F.; Gottschalk, K. (1981): *Clostridium aceticum* (Wieringa), a Microorganism Producing Acetic Acid from Molecular Hydrogen and Carbon Dioxide. In: *Archives of Microbiology* 128, S. 288–293.
- Bredwell, Marshall D.; Srivastava, Prashant; Worden, Mark R. (1999): Reactor Design Issues for Synthesis-Gas Fermentations. In: *Biotechnol. Prog.* 15 (5), S. 834–844. DOI: 10.1021/bp990108m.
- Bruant, G.; Levesque, M.-J.; Peter, C.; Guiot, S. R.; Masson, L. (2010): Genomic analysis of carbon monoxide utilization and butanol production by *Clostridium carboxidivorans* strain P7. In: *PLoS ONE* 5 (9), S. 1–12. DOI: 10.1371/journal.pone.0013033.
- Bugg, T.; Ahmad, M.; Hardiman, E.; Singh, R. (2011): The emerging role for bacteria in lignin degradation and bio-product formation. In: *Current Opinion in Biotechnology* 22 (3), S. 394–400. DOI: 10.1016/j.copbio.2010.10.009.
- Carroll, John J. (1999): Henry's law revisited. In: *Chemical engineering progress* 95 (1), S. 49–56.
- Chakravorty, Ujjayant; Hubert, Marie-Hélène; Nøstbakken, Linda (2009): Fuel Versus Food. In: *Annu. Rev. Resour. Econ.* 1 (1), S. 645–663. DOI: 10.1146/annurev.resource.050708.144200.
- Chang, In Seop; Kim, Byung Hong; Lovitt, Robert W.; Bang, Joon Seoung (2001): Effect of CO partial pressure on cell-recycled continuous CO fermentation by

- Eubacterium limosum* KIST612. In: *Process Biochemistry* 37 (4), S. 411–421. DOI: 10.1016/S0032-9592(01)00227-8.
- Chatterjee, Sudipta; Grethlein, Andrew J.; Mark Worden, R.; Jain, Mahendra K. (1996): Evaluation of support matrices for an immobilized cell gas lift reactor for fermentation of coal derived synthesis gas. In: *Journal of Fermentation and Bioengineering* 81 (2), S. 158–162. DOI: 10.1016/0922-338X(96)87595-7.
- Chia, Nicholas; Woese, Carl R.; Goldenfeld, Nigel (2008): A collective mechanism for phase variation in biofilms. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (38), S. 14597–14602. DOI: 10.1073/pnas.0804962105.
- Chisti, M. Y. (1989): Airlift Bioreactors. In: *Publ., London*.
- Chisti, M. Y.; Moo-Young M. (1987): Airlift reactors: characteristics, applications and design considerations. In: *Chemical Engineering Communications* 60 (1-6), S. 195–242.
- Chmiel, Horst (2011): Bioprozesstechnik, 3. Auflage: Springer-Verlag.
- Collins, M.; Lawson, P.; Willems, A.; Cordoba, J.; Fernandez-Garayzabal, J.; Garcia, P. et al. (1994): The Phylogeny of the Genus *Clostridium*: Proposal of Five New Genera and Eleven New Species Combinations. In: *International Journal of Systematic Bacteriology* 44 (4), S. 812–826.
- Cowger, J. P.; Klasson, K. T.; Ackerson, M. D.; Clausen, E.; Caddy, J. L. (1992): Mass-transfer and kinetic aspects in continuous bioreactors using *Rhodospirillum rubrum*. In: *Appl Biochem Biotechnol* 34-35 (1), S. 613–624. DOI: 10.1007/BF02920582.
- Danckwerts, P. V. (1951): Significance of liquid-film coefficients in gas absorption. In: *Ind. Eng. Chem.* 43 (6), S. 1460–1467.
- Daniel, S.; Hsu, T.; Dean, S.; Drake, H. (1990): Characterization of the H₂ and CO-dependent Chemolithotrophic Potentials of the Acetogens *Clostridium thermoaceticum* and *Acetogenium kivui*. In: *Journal of Bacteriology* 172 (8), S. 4464–4471.
- Daniell, James; Köpke, Michael; Simpson, Séan (2012): Commercial Biomass Syngas Fermentation. In: *Energies* 5 (12), S. 5372–5417. DOI: 10.3390/en5125372.
- Daniell, James; Nagaraju, Shilpa; Burton, Freya; Köpke, Michael; Simpson, Séan Dennis (2016): Low-Carbon Fuel and Chemical Production by Anaerobic Gas Fermentation. In: *Advances in biochemical engineering/biotechnology* 156, S. 293–321. DOI: 10.1007/10_2015_5005.
- Datar, Rohit P.; Shenkman, Rustin M.; Cateni, Bruno G.; Huhnke, Raymond L.; Lewis, Randy S. (2004): Fermentation of Biomass-Generated Producer Gas to Ethanol. In: *Biotechnol. Bioeng.* 86 (5), S. 587–594. DOI: 10.1002/bit.20071.

- Davis, B. H. (2009): Fischer–Tropsch Synthesis. Reaction mechanisms for iron catalysts. In: *Catalysis Today* 141 (1-2), S. 25–33. DOI: 10.1016/j.cattod.2008.03.005.
- Deckwer, W-D; Schumpe, A. (1993): Improved tools for bubble column reactor design and scale-up. In: *Chemical Engineering Science* 48 (5), S. 889–911.
- Demirbas, Ayhan (2007): Progress and recent trends in biofuels. In: *Progress in Energy and Combustion Science* 33 (1), S. 1–18. DOI: 10.1016/j.pecs.2006.06.001.
- Demler, Martin; Weuster-Botz, Dirk (2011): Reaction engineering analysis of hydrogenotrophic production of acetic acid by *Acetobacterium woodii*. In: *Biotechnol. Bioeng.* 108 (2), S. 470–474. DOI: 10.1002/bit.22935.
- Denkhaus, Evelin; Meisen, Stefan; Telgheder, Ursula; Wingender, Jost (2007): Chemical and physical methods for characterisation of biofilms. In: *Microchim Acta* 158 (1-2), S. 1–27. DOI: 10.1007/s00604-006-0688-5.
- Devarapalli, Mamatha; Atiyeh, Hasan K.; Phillips, John R.; Lewis, Randy S.; Huhnke, Raymond L. (2016): Ethanol production during semi-continuous syngas fermentation in a trickle bed reactor using *Clostridium ragsdalei*. In: *Bioresource Technology* 209, S. 56–65. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.02.086.
- Devarapalli, Mamatha; Lewis, Randy; Atiyeh, Hasan (2017): Continuous Ethanol Production from Synthesis Gas by *Clostridium ragsdalei* in a Trickle-Bed Reactor. In: *Fermentation* 3 (2), S. 23. DOI: 10.3390/fermentation3020023.
- Díaz, M. E.; Montes, Francisco J.; Galán, Miguel A. (2008): Experimental study of the transition between unsteady flow regimes in a partially aerated two-dimensional bubble column. In: *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 47 (9-10), S. 1867–1876. DOI: 10.1016/j.cep.2007.10.012.
- Diekert, G.; Wohlfarth, G. (1994): Metabolism of homoacetogens. In: *Antonie van Leeuwenhoek* 66, S. 209–221.
- Doan, H.; Wu, J.; Eyvazi, M. J. (2008): Effect of liquid distribution on the organic removal in a trickle bed filter. In: *Chemical Engineering Journal* 139 (3), S. 495–502. DOI: 10.1016/j.cej.2007.08.018.
- Doll, Kathrin; Rückel, Anton; Kämpf, Peter; Wende, Maximilian; Weuster-Botz, Dirk (2018): Two stirred-tank bioreactors in series enable continuous production of alcohols from carbon monoxide with *Clostridium carboxidivorans*. In: *Bioprocess and biosystems engineering* 41 (10), S. 1403–1416. DOI: 10.1007/s00449-018-1969-1.
- Doll, Kathrin Gertrude (2018): Reaktionstechnische Untersuchungen zur autotrophen Herstellung von Alkoholen mit *Clostridium carboxidivorans*. Monographie. Technische Universität München, München/Garching. Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik. Online verfügbar unter <http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn:nbn:de:bvb:91-diss-20181030-1438916-1-6>, zuletzt geprüft am 05.11.2018.

- Doran, Pauline M. (2004): *Bioprocess engineering principles*. Reprint. Amsterdam: Elsevier/Acad. Press.
- Doran, Pauline M. (Hg.) (2013): *Bioprocess Engineering Principles*. Chapter 10 - Mass Transfer. 2. Aufl. London: Academic Press.
- Drake, H. (Hg.) (1994): *Acetogenesis*. New York, London: Chapman & Hall.
- Drake, H. L.; Daniel, S.; Küsel, K.; Matthies, C.; Kuhner, C.; Braus-Strimeyer, S. (1997): Acetogenic bacteria: what are the *in situ* consequences of their diverse metabolic versatilityes? In: *BioFactors* 6, S. 13–24.
- Drake, Harold L.; Küsel, Kirsten; Matthies, Carola (2006): Acetogenic Prokaryotes. In: Martin Dworkin, Stanley Falkow, Eugene Rosenberg, Karl-Heinz Schleifer und Erko Stackebrandt (Hg.): *The Prokaryotes*. New York, NY: Springer New York, S. 354–420.
- Dry, Mark E. (2002): The Fischer–Tropsch process. 1950–2000. In: *Catalysis Today* 71 (3-4), S. 227–241. DOI: 10.1016/S0920-5861(01)00453-9.
- Dürre, P.; Eikmanns, B. (2015): C1-carbon sources for chemical and fuel production by microbial gas fermentation. In: *Current Opinion in Biotechnology* 35, S. 63–72. DOI: 10.1016/j.copbio.2015.03.008.
- Eden, G.; Fuchs, G. (1982): Total synthesis of acetyl coenzyme a involved in autotrophic CO₂ fixation in *Acetobacterium woodii*. In: *Arch. Microbiol.* 133 (1), S. 66–74. DOI: 10.1007/BF00943772.
- Edenhofer, Ottmar; Pichs-Madruga, R.; Sokona, Y.; Farahani, E.; Kadner, S.; Seyboth, K. et al. (2014): IPCC. Summary for policymakers. In: *Climate change*.
- Edwards, V. H. (1970): The influence of high substrate concentrations on microbial kinetics. In: *Biotechnology and bioengineering* 12 (5), S. 679–712. DOI: 10.1002/bit.260120504.
- European Commission (2015): Paris Agreement. Online verfügbar unter https://ec.europa.eu/clima/policies/international/negotiations/paris_de#tab-0-0, zuletzt geprüft am 22.05.2018.
- Ezeji, Thaddeus Chukwuemeka; Qureshi, Nasib; Blaschek, Hans Peter (2007): Bioproduction of butanol from biomass: from genes to bioreactors. In: *Current Opinion in Biotechnology* 18 (3), S. 220–227. DOI: 10.1016/j.copbio.2007.04.002.
- Fadavi, Ali; Chisti, Yusuf (2005): Gas–liquid mass transfer in a novel forced circulation loop reactor. In: *Chemical Engineering Journal* 112 (1-3), S. 73–80. DOI: 10.1016/j.cej.2005.06.009.
- Fernández-Naveira, A.; Abubackar, H. N.; Veiga, M. C.; Kennes, C. (2016a): Efficient butanol-ethanol (B-E) production from carbon monoxide fermentation by *Clostridium carboxidivorans*. In: *Appl Microbiol Biotechnol* 100 (7), S. 3361–3370. DOI: 10.1007/s00253-015-7238-1.

- Fernández-Naveira, Á.; Veiga, M. C.; Kennes, C. (2017a): Effect of pH control on the anaerobic H-B-E fermentation of syngas in bioreactors. In: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 92 (6), S. 1178–1185. DOI: 10.1002/jctb.5232.
- Fernández-Naveira, Ánxela; Abubackar, Haris Nalakath; Veiga, María C.; Kennes, Christian (2016b): Carbon monoxide bioconversion to butanol-ethanol by *Clostridium carboxidivorans*. Kinetics and toxicity of alcohols. In: *Applied microbiology and biotechnology* 100 (9), S. 4231–4240. DOI: 10.1007/s00253-016-7389-8.
- Fernández-Naveira, Ánxela; Abubackar, Haris Nalakath; Veiga, María C.; Kennes, Christian (2016c): Efficient butanol-ethanol (B-E) production from carbon monoxide fermentation by *Clostridium carboxidivorans*. In: *Applied microbiology and biotechnology* 100 (7), S. 3361–3370. DOI: 10.1007/s00253-015-7238-1.
- Fernández-Naveira, Á.; Veiga, M. C.; Kennes, C. (2017b): H-B-E (hexanol-butanol-ethanol) fermentation for the production of higher alcohols from syngas/waste gas. In: *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 92. DOI: 10.1002/jctb.5194.
- Ferreira, A.; Cardoso, P.; Teixeira, J. A.; Rocha, F. (2013): pH influence on oxygen mass transfer coefficient in a bubble column. Individual characterization of k_L and a . In: *Chemical Engineering Science* 100, S. 145–152. DOI: 10.1016/j.ces.2013.02.020.
- Fischer, F.; Lieske, R.; Winzer, K. (1932): Biologische Gasreaktionen. II: Über die Bildung von Essigsäure bei der biologischen Umsetzung von Kohlenoxyd und Kohlensäure mit Wasserstoff zu Methan. In: *Biochemische Zeitschrift* 245, S. 2–12.
- Flemming, Hans-Curt (1995): Sorption sites in biofilms. In: *Water Science and Technology* 32 (8). DOI: 10.1016/0273-1223(96)00004-2.
- Flemming, Hans-Curt; Neu, Thomas R.; Wozniak, Daniel J. (2007): The EPS matrix. The "house of biofilm cells". In: *Journal of Bacteriology* 189 (22), S. 7945–7947. DOI: 10.1128/JB.00858-07.
- Flemming, Hans-Curt; Wingender, Jost (2010): The biofilm matrix. In: *Nature reviews. Microbiology* 8 (9), S. 623–633. DOI: 10.1038/nrmicro2415.
- Flemming, Hans-Curt; Wingender, Jost; Griebe, Thomas; Mayer, Christian (2000): Physico-chemical properties of biofilms. In: *Biofilms: recent advances in their study and control*, S. 19–34.
- Flemming, Hans-Curt; Wingender, Jost; Szewzyk, Ulrich; Steinberg, Peter; Rice, Scott A.; Kjelleberg, Staffan (2016): Biofilms. An emergent form of bacterial life. In: *Nature reviews. Microbiology* 14 (9), S. 563–575. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.94.
- Flickinger, Michael C. (2010): Encyclopedia of Industrial Biotechnology. Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology. 7 Volume Set.

- Fontaine, F. E.; Peterson, W. H.; McCoy, Elizabeth; Johnson, Marvin J.; Ritter, George J. (1942): A new type of glucose fermentation by *Clostridium thermoaceticum*. In: *J. Bacteriol.* 43 (6), S. 701.
- Friedlingstein, P.; Andrew, R. M.; Rogelj, J.; Peters, G. P.; Canadell, J. G.; Knutti, R. *et al.* (2014): Persistent growth of CO₂ emissions and implications for reaching climate targets. In: *Nature Geosci* 7 (10), S. 709–715. DOI: 10.1038/ngeo2248.
- Fuchs, Renato; Ryu, Dewey D. Y.; Humphrey, Arthur E. (1971): Effect of surface aeration on scale-up procedures for fermentation processes. In: *Ind. Eng. Chem. Proc. Des. Dev.* 10 (2), S. 190–196.
- Fujasová, M.; Linek, V.; Moucha, T. (2007): Mass transfer correlations for multiple-impeller gas–liquid contactors. Analysis of the effect of axial dispersion in gas and liquid phases on “local” values measured by the dynamic pressure method in individual stages of the vessel. In: *Chemical Engineering Science* 62 (6), S. 1650–1669. DOI: 10.1016/j.ces.2006.12.003.
- Gaddy, James L. (1998): Biological production of acetic acid from waste gases with *Clostridium ljungdahlii*: Google Patents.
- Garcia-Ochoa, Felix; Gomez, Emilio (2009): Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes. An overview. In: *Biotechnology Advances* 27 (2), S. 153–176. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.10.006.
- Garcia-Ochoa, Félix; Gomez, Emilio (2004): Theoretical prediction of gas–liquid mass transfer coefficient, specific area and hold-up in sparged stirred tanks. In: *Chemical Engineering Science* 59 (12), S. 2489–2501. DOI: 10.1016/j.ces.2004.02.009.
- Geisler, R. K.; Buurman, C.; Mersmann, A. B. (1993): Scale-up of the necessary power input in stirred vessels with suspensions. In: *The Chemical Engineering Journal* 51 (1), S. 29–39. DOI: 10.1016/0300-9467(93)80005-9.
- Gilbert, P.; Evans, D. J.; Brown, M.R.W. (1993): Formation and dispersal of bacterial biofilms *in vivo* and *in situ*. In: *Journal of Applied Bacteriology* 74 (suppl), 67S–78S. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1993.tb04343.x.
- Gillespie, Louis J. (1930): The Gibbs-Dalton law of partial pressures. In: *Physical Review* 36 (1), S. 121.
- Gil-Perotin, Sara; Ramirez, Paula; Marti, Veronica; Sahuquillo, Jose Miguel; Gonzalez, Eva; Calleja, Isabel *et al.* (2012): Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response. A state of concept. In: *Critical care (London, England)* 16 (3), R93. DOI: 10.1186/cc11357.
- Gopal, J. S.; Sharma, M. M. (1983): Mass transfer characteristics of low H/D bubble columns. In: *Can. J. Chem. Eng.* 61 (4), S. 517–526.
- Griffin, Derek W.; Schultz, Michael A. (2012): Fuel and chemical products from biomass syngas. A comparison of gas fermentation to thermochemical conversion routes.

- In: *Environ. Prog. Sustainable Energy* 31 (2), S. 219–224.
DOI: 10.1002/ep.11613.
- Groher, Anna; Weuster-Botz, Dirk (2016a): Comparative reaction engineering analysis of different acetogenic bacteria for gas fermentation. In: *Journal of Biotechnology* 228, S. 82–94.
- Groher, Anna; Weuster-Botz, Dirk (2016b): General medium for the autotrophic cultivation of acetogens. In: *Bioprocess and biosystems engineering* 39 (10), S. 1645–1650.
- Hagen, Jens (2017): *Chemiereaktoren. Grundlagen, Auslegung und Simulation*: John Wiley & Sons.
- Hall-Stoodley, Luanne; Costerton, J. William; Stoodley, Paul (2004): Bacterial biofilms. From the natural environment to infectious diseases. In: *Nature reviews. Microbiology* 2 (2), S. 95–108. DOI: 10.1038/nrmicro821.
- Harrison, Joe J.; Turner, Raymond J.; Marques, Lyriam L. R.; Ceri, Howard (2005): Biofilms. A new understanding of these microbial communities is driving a revolution that may transform the science of microbiology. In: *American Scientist* 93 (6), S. 508–515.
- Hass, V. C.; Pörtner, R. (2011): *Praxis der Bioprozesstechnik. Mit virtuellem Praktikum*. 2. Aufl. Heidelberg: Spektrum Akad. Verl.
- Havelka, P.; Moucha, T.; Sinkule, J.; Linek, V. (1998): Chemical dynamic method for measuring k_{La} in gas-liquid dispersions. In: *Chemical Engineering Communications* 168 (1), S. 97–110.
- Heijnen, J. J.; Riet, K. Van't; Wolhuis, A. J. (1980): Influence of very small bubbles on the dynamic K_{La} measurement in viscous gas-liquid systems. In: *Biotechnol. Bioeng.* 22 (9), S. 1945–1956.
- Heijstra, Björn D.; Leang, Ching; Juminaga, Alex (2017): Gas fermentation: cellular engineering possibilities and scale up. In: *Microbial cell factories* 16 (1), S. 60. DOI: 10.1186/s12934-017-0676-y.
- Heiskanen, H.; Virkajärvi, I.; Viikari, L. (2007): The effect of syngas composition on the growth and product formation of *Butyribacterium methylotrophicum*. In: *Enzyme and Microbial Technology* 41 (3), S. 362–367. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2007.03.004.
- HEKAtech GmbH (2018): Produktbeschreibung EuroEA Elementaranalysator. Online verfügbar unter https://opus.ba-glauchau.de/files/568/Hersteller_2.pdf, zuletzt geprüft am 25.03.2018.
- Henry, W. (1803): Experiments on the Quantity of Gases Absorbed by Water, at Different Temperatures, and under Different Pressures. In: *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 93 (0), S. 29–274. DOI: 10.1098/rstl.1803.0004.

- Herrero, Alejandro A. (1983): End-product inhibition in anaerobic fermentations. In: *Trends in Biotechnology* 1 (2), S. 49–53. DOI: 10.1016/0167-7799(83)90069-0.
- Hertwig, Klaus; Martens, Lothar (2012): Chemische Verfahrenstechnik. Berechnung, Auslegung und Betrieb chemischer Reaktoren: Walter de Gruyter.
- Hiby, Julius W. (1979): Definition und Messung der Mischgüte in flüssigen Gemischen. In: *Chemie Ingenieur Technik* 51 (7), S. 704–709.
- Hickey, Robert (2007): Moving bed biofilm reactor (MBBR) system for conversion of syngas components to liquid products: Google Patents.
- Higbie, Ralph (1935): Penetration theory leads to use of the contact time in the calculation of the mass transfer coefficients in the two film theory. In: *Trans. Am. Inst. Chem. Engrs* 31 365.
- Hortsch, Ralf; Weuster-Botz, Dirk (2009): Power consumption and maximum energy dissipation in a milliliter-scale bioreactor. In: *Biotechnol. Prog.*, NA. DOI: 10.1002/btpr.338.
- Huang, Hsiao-Wen; Lung, Hsiang-Mei; Yang, Binghuei Barry; Wang, Chung-Yi (2014): Responses of microorganisms to high hydrostatic pressure processing. In: *Food Control* 40, S. 250–259.
- Hungate, R. (1976): A Roll Tube Method for Cultivation of Strict Anaerobes. In: J. Norris (Hg.): *Methods in microbiology*. Unter Mitarbeit von A. Willis. 3. print. London: Academic Press, S. 117–132.
- Hurst, K.; Lewis, R. (2010): Carbon monoxide partial pressure effects on the metabolic process of syngas fermentation. In: *Biochemical Engineering Journal* 48 (2), S. 159–165. DOI: 10.1016/j.bej.2009.09.004.
- IEA Statistics (2018): Fossil fuel energy consumption. Online verfügbar unter <https://data.worldbank.org/indicator/EG.USE.COMM.FO.ZS>, zuletzt geprüft am 22.05.2018.
- Imkamp, F.; Müller, V. (2007): Acetogenic Bacteria. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- Jahid, Iqbal Kabir; Ha, Sang-Do (2012): A review of microbial biofilms of produce. Future challenge to food safety. In: *Food Sci Biotechnol* 21 (2), S. 299–316. DOI: 10.1007/s10068-012-0041-1.
- Kadic, Enes; Heindel, Theodore J. (2014): *An Introduction to Bioreactor Hydrodynamics and Gas-Liquid Mass Transfer*. 1. Aufl. s.l.: Wiley. Online verfügbar unter <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=761798>.
- Kandiyoti, Rafael (2009): *Fundamentals of reaction engineering*: Bookboon.
- Kantarci, Nigar; Borak, Fahir; Ulgen, Kutlu O. (2005): Bubble column reactors. In: *Process Biochemistry* 40 (7), S. 2263–2283. DOI: 10.1016/j.procbio.2004.10.004.

- Kantzow, C.; Mayer, A.; Weuster-Botz, D. (2015): Continuous gas fermentation by *Acetobacterium woodii* in a submerged membrane reactor with full cell retention. In: *Journal of Biotechnology* 212, S. 11–18.
- Kantzow, C.; Weuster-Botz, D. (2016): Effects of hydrogen partial pressure on autotrophic growth and product formation of *Acetobacterium woodii*. In: *Bioprocess Biosyst Eng* 39 (8), S. 1325–1330. DOI: 10.1007/s00449-016-1600-2.
- Kapic, A.; Heindel, T.J. (2006): Correlating Gas-Liquid Mass Transfer in a Stirred-Tank Reactor. In: *Chemical Engineering Research and Design* 84 (3), S. 239–245. DOI: 10.1205/cherd.05117.
- Kapic, Amir; Jones, Samuel T.; Heindel, Theodore J. (2006): Carbon Monoxide Mass Transfer in a Syngas Mixture. In: *Ind. Eng. Chem. Res.* 45 (26), S. 9150–9155. DOI: 10.1021/ie060655u.
- Klasson, K. T.; Ackerson, M. D.; Clausen, E. C.; Gaddy, J. L. (1991): Bioreactors for synthesis gas fermentations. In: *Resources, Conservation and Recycling* 5 (2-3), S. 145–165. DOI: 10.1016/0921-3449(91)90022-G.
- Kodama, Tohru; Goto, Eiji; Minoda, Yasuji (1976): Determination of Dissolved Hydrogen Concentration and in Submerged Culture Vessels. In: *Agricultural and Biological Chemistry* 40 (12), S. 2373–2377.
- Köpke, M.; Held, C.; Hujer, S.; Liesegang, H.; Wiezer, A.; Wollherr, A. et al. (2010): *Clostridium ljungdahlii* represents a microbial production platform based on syngas. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (29), S. 13087–13092.
- Köpke, Michael; Mihalcea, Christophe; Bromley, Jason C.; Simpson, Séan D. (2011a): Fermentative production of ethanol from carbon monoxide. In: *Current Opinion in Biotechnology* 22 (3), S. 320–325. DOI: 10.1016/j.copbio.2011.01.005.
- Köpke, Michael; Mihalcea, Christophe; Liew, FungMin; Tizard, Joseph H.; Ali, Mohammed S.; Conolly, Joshua J. et al. (2011b): 2,3-butanediol production by acetogenic bacteria, an alternative route to chemical synthesis, using industrial waste gas. In: *Applied and Environmental Microbiology* 77 (15), S. 5467–5475. DOI: 10.1128/AEM.00355-11.
- Kotsyurbenko, O. R.; Simankova, M. V.; Nozhevnikova, A. N.; Zhilina, T. N.; Bolotina, N. P.; Lysenko, A. M.; Osipov, G. A. (1995): New species of psychrophilic acetogens. *Acetobacterium bakii* sp. nov., *A. paludosum* sp. nov., *A. fimetarium* sp. nov. In: *Arch. Microbiol.* 163 (1), S. 29–34. DOI: 10.1007/BF00262200.
- Kraume, Matthias (2006): Mischen und Rühren. Grundlagen und moderne Verfahren: John Wiley & Sons.
- Kraume, Matthias (2012): Strömung von Flüssigkeitsfilmen. In: Matthias Kraume (Hg.): Transportvorgänge in der Verfahrenstechnik. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 357–386.

- Krumholz, L. R.; Bryant, M. P. (1986): Syntrophococcus sucromutans sp. nov. gen. nov. uses carbohydrates as electron donors and formate, methoxymonobenzenoids or Methanobrevibacter as electron acceptor systems. In: *Arch. Microbiol.* 143 (4), S. 313–318.
- Kundiya, Dimple K.; Huhnke, Raymond L.; Wilkins, Mark R. (2011a): Effect of nutrient limitation and two-stage continuous fermentor design on productivities during *Clostridium ragsdalei* syngas fermentation. In: *Bioresource Technology* 102 (10), S. 6058–6064. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.03.020.
- Kundiya, Dimple K.; Wilkins, Mark R.; Maddipati, Prasanth; Huhnke, Raymond L. (2011b): Effect of temperature, pH and buffer presence on ethanol production from synthesis gas by *Clostridium ragsdalei*. In: *Bioresource Technology* 102 (10), S. 5794–5799. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.02.032.
- Kundu, Suman; Premer, Scott A.; Hoy, Julie A.; Trent III., James T.; Hargrove, Mark S. (2003): Direct Measurement of Equilibrium Constants for High-Affinity Hemoglobins. In: *Biophysical Journal* 84 (6), S. 3931–3940. Online verfügbar unter <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349503751212>.
- LanzaTech (Hg.) (2018): LanzaTech Executive Summary. Overview Overview Jan 2018. LanzaTech. Online verfügbar unter http://www.lanzatech.com/wp-content/uploads/2018/01/LanzaTech_Overview_Jan_2018.pdf, zuletzt geprüft am 06.03.2018.
- Latif, H.; Zeidan, A.; Nielsen, A.; Zengler, K. (2014): Trash to treasure: production of biofuels and commodity chemicals via syngas fermenting microorganisms. In: *Current Opinion in Biotechnology* 27, S. 79–87.
- Lawrence, John R.; Korber; Wolfaardt, G. M.; Caldwell, D. E. (1995): Behavioral strategies of surface-colonizing bacteria. In: *Advances in microbial ecology*: Springer, S. 1–75.
- Le Quéré, Corinne; Moriarty, Roisin; Andrew, Robbie M.; Peters, Glen Philip; Ciais, Philippe; Friedlingstein, Pierre *et al.* (2015): Global carbon budget 2014. In: *Earth System Science Data* 7 (1), S. 47–85, zuletzt geprüft am 21.05.2018.
- Lear, Gavin; Lewis, Gillian D. (2012): *Microbial biofilms. Current research and applications*: Horizon Scientific Press.
- Lehninger, Albert L.; Nelson, David L.; Cox, Michael M. (1993): *Principles of biochemistry*: Worth Publishers, New York.
- Letzel, H. M.; Schouten, J. C.; Krishna, Rajamani; Van den Bleek, CM (1999): Gas holdup and mass transfer in bubble column reactors operated at elevated pressure. In: *Chemical Engineering Science* 54 (13), S. 2237–2246.
- Levenspiel, Octave (1999): Chemical reaction engineering. In: *Ind. Eng. Chem. Res.* 38 (11), S. 4140–4143.

- Lewandowski, Z.; Walser, G.; Characklis, W. G. (1991): Reaction kinetics in biofilms. In: *Biotechnology and bioengineering* 38 (8), S. 877–882. DOI: 10.1002/bit.260380809.
- Lewis, W. K.; Whitman, W. G. (1924): Principles of gas absorption. In: *Ind. Eng. Chem.* 16 (12), S. 1215–1220.
- Li, Guo-Qing; Yang, Shou-Zhi; Cai, Zhao-Ling; Chen, Jia-Yong (1995): Mass transfer and gas-liquid circulation in an airlift bioreactor with viscous non-Newtonian fluids. In: *The Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal* 56 (2), B101-B107.
- Liew, F.; Köpke, M.; Simpson, S. (2013): Gas Fermentation for Commercial Biofuels Production. In: Zhen Fang (Hg.): *Liquid, Gaseous and Solid Biofuels - Conversion Techniques*: InTech.
- Liew, F. M.; Martin, M. E.; Tappel, R. C.; Heijstra, B. D.; Mihalcea, C.; Köpke, M. (2016): Gas Fermentation-A Flexible Platform for Commercial Scale Production of Low-Carbon-Fuels and Chemicals from Waste and Renewable Feedstocks. In: *Frontiers in microbiology* 7, S. 694. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00694.
- Linek, V.; Beneš, P.; Vacek, V. (1989): Dynamic pressure method for k_{ia} measurement in large-scale bioreactors. In: *Biotechnol. Bioeng.* 33 (11), S. 1406–1412. Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.1002/bit.260331107>.
- Linek, V.; Kordač, M.; Moucha, T. (2005a): Mechanism of mass transfer from bubbles in dispersions: Part II: Mass transfer coefficients in stirred gas–liquid reactor and bubble column. In: *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 44 (1), S. 121–130. DOI: 10.1016/j.cep.2004.05.009.
- Linek, V.; Moucha, T.; Doušová, M.; Sinkule, J. (1994): Measurement of k_{La} by dynamic pressure method in pilot-plant fermentor. In: *Biotechnol. Bioeng.* 43 (6), S. 477–482.
- Linek, V.; Moucha, T.; Kordač, M. (2005b): Mechanism of mass transfer from bubbles in dispersions: Part I. Danckwerts' plot method with sulphite solutions in the presence of viscosity and surface tension changing agents. In: *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 44 (3), S. 353–361. DOI: 10.1016/j.cep.2004.05.010.
- Linek, V.; Moucha, T.; Rejl, F. J.; Kordač, M.; Hovorka, F.; Opletal, M.; Haidl, J. (2012): Power and mass transfer correlations for the design of multi-impeller gas–liquid contactors for non-coalescent electrolyte solutions. In: *Chemical Engineering Journal* 209, S. 263–272. DOI: 10.1016/j.cej.2012.08.005.
- Linek, V.; Moucha, T.; Sinkule, J. (1996): Gas-liquid mass transfer in vessels stirred with multiple impellers—I. Gas-liquid mass transfer characteristics in individual stages. In: *Chemical Engineering Science* 51 (12), S. 3203–3212. DOI: 10.1016/0009-2509(95)00395-9.

- Linek, V.; Vacek, V.; Beneš, P. (1987): A critical review and experimental verification of the correct use of the dynamic method for the determination of oxygen transfer in aerated agitated vessels to water, electrolyte solutions and viscous liquids. In: *An International Journal of Research and Development* 34 (1), S. 11–34. DOI: 10.1016/0300-9467(87)85003-7.
- Liou, J. S.-C.; Balkwill, D. L.; Drake, G. R.; Tanner, R. S. (2005): *Clostridium carboxidivorans* sp. nov., a solvent-producing clostridium isolated from an agricultural settling lagoon, and reclassification of the acetogen *Clostridium scatologenes* strain SL1 as *Clostridium drakei* sp. nov. In: *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY* 55 (5), S. 2085–2091. DOI: 10.1099/ijs.0.63482-0.
- Ljungdahl, L. (1986): The Autotrophic Pathway of Acetate Synthesis in Acetogenic Bacteria. In: *Annual Review of Microbiology* 40 (1), S. 415–450. DOI: 10.1146/annurev.micro.40.1.415.
- Ljungdahl, L.; Wood, H. (1965): Incorporation of C¹⁴ From Carbon Dioxide into Sugar Phosphates, Carboxylic Acids, and Amino Acids by *Clostridium thermoaceticum*. In: *Journal of Bacteriology* 89 (4), S. 1055–1064.
- Ljungdahl, L.; Wood, H. (1969): Total synthesis of acetate from CO₂ by heterotrophic bacteria. In: *Annual Review of Microbiology* 23, S. 515–538. DOI: 10.1146/annurev.mi.23.100169.002503.
- Löser, C.; Schröder, A.; Deponte, S.; Bley, T. (2005): Balancing the Ethanol Formation in Continuous Bioreactors with Ethanol Stripping. In: *Eng. Life Sci.* 5 (4), S. 325–332. DOI: 10.1002/elsc.200520084.
- Lux, Mary F.; Drake, Harold L. (1992): Re-examination of the metabolic potentials of the acetogens *Clostridium acetium* and *Clostridium formicoaceticum*: chemolithoautotrophic and aromatic-dependent growth. In: *FEMS Microbiology Letters* 95, S. 49–56.
- Lynd, L.; Kerby, R.; Zeikus, J. G. (1982): Carbon Monoxide Metabolism of the Methylotrophic Acidogen *Butyribacterium methylotrophicum*. In: *Journal of Bacteriology* 149 (1), S. 255–263.
- Maalej, S.; Benadda, B.; Otterbein, M. (2003): Interfacial area and volumetric mass transfer coefficient in a bubble reactor at elevated pressures. In: *Chemical Engineering Science* 58 (11), S. 2365–2376. DOI: 10.1016/S0009-2509(03)00085-X.
- Maaß, Sebastian; Rojahn, Jürgen; Hänsch, Ronny; Kraume, Matthias (2012): Automated drop detection using image analysis for online particle size monitoring in multiphase systems. In: *Computers & Chemical Engineering* 45, S. 27–37. DOI: 10.1016/j.compchemeng.2012.05.014.

- Maiti, R. N.; Nigam, K. D. P. (2007): Gas-Liquid Distributors for Trickle-Bed Reactors. A Review. In: *Ind. Eng. Chem. Res.* 46 (19), S. 6164–6182. DOI: 10.1021/ie070255m.
- Martinac, B.; Buechner, M.; Delcour, A. H.; Adler, J.; Kung, C. (1987): Pressure-sensitive ion channel in *Escherichia coli*. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 84 (8), S. 2297–2301. DOI: 10.1073/pnas.84.8.2297.
- Matson, J. V.; Characklis, William G. (1976): Diffusion into microbial aggregates. In: *Water Research* 10 (10), S. 877–885.
- Mayer, Alexander; Schädler, Torben; Trunz, Sascha; Stelzer, Thomas; Weuster-Botz, Dirk (2018): Carbon monoxide conversion with *Clostridium aceticum*. In: *Biotechnology and bioengineering*, S. 1–11. DOI: 10.1002/bit.26808.
- Mayer, Alexander; Weuster-Botz, Dirk (2017): Reaction engineering analysis of the autotrophic energy metabolism of *Clostridium aceticum*. In: *FEMS Microbiology Letters* 364 (22). DOI: 10.1093/femsle/fnx219.
- Mayer, Alexander Michael (2018): Reaktionstechnische Untersuchungen zur Gasfermentation mit *Clostridium aceticum*. Monographie. Technische Universität München, München/Garching. Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik. Online verfügbar unter <https://mediatum.ub.tum.de/doc/1436846/1436846.pdf>, zuletzt geprüft am 22.08.2018.
- McGlade, C.; Ekins, P. (2015): The geographical distribution of fossil fuels unused when limiting global warming to 2 °C. In: *Nature* 517 (7533), S. 187–190. DOI: 10.1038/nature14016.
- Merchuk, J. C.; Ladwa, N.; Cameron, A.; Bulmer, M.; Berzin, I.; Pickett, A. (1996): Liquid flow and mixing in concentric tube air-lift reactors. In: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* (66), S. 174–182.
- Min, F.; Köpke, M.; Dennis, S. (2013): Gas Fermentation for Commercial Biofuels Production. In: Zhen Fang (Hg.): *Liquid, Gaseous and Solid Biofuels - Conversion Techniques*: InTech.
- Misoph, Martina; Drake, Harold L. (1996): Effect of CO₂ on the fermentation capacities of the acetogen *Peptostreptococcus productus* U-1. In: *J. Bacteriol.* 178 (11), S. 3140–3145.
- Mohammadi, M.; Najafpour, G.; Younesi, H.; Lahijani, P.; Uzir, M.; Mohamed, A. (2011): Bioconversion of synthesis gas to second generation biofuels. A review. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15 (9), S. 4255–4273. DOI: 10.1016/j.rser.2011.07.124.
- Mohammadi, Maedeh; Younesi, Habibollah; Najafpour, Ghasem; Mohamed, Abdul Rahman (2012): Sustainable ethanol fermentation from synthesis gas by *Clostridium ljungdahlii* in a continuous stirred tank bioreactor. In: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 87 (6), S. 837–843. DOI: 10.1002/jctb.3712.

- Molin, Göran (1983): The resistance to carbon dioxide of some food related bacteria. In: *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 18 (4), S. 214–217. DOI: 10.1007/BF00501511.
- Mondal, P.; Dang, G. S.; Garg, M. O. (2011): Syngas production through gasification and cleanup for downstream applications — Recent developments. In: *Fuel Processing Technology* 92 (8), S. 1395–1410. DOI: 10.1016/j.fuproc.2011.03.021.
- Monod, J. (1949): The Growth of Bacterial Cultures. In: *Annual Review of Microbiology* 3, S. 371–394.
- Monroe, Don (2007): Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. In: *PLoS biology* 5 (11), e307. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050307.
- Moser, A. (1981): Bioprozeßtechnik. Berechnungsgrundlagen der Reaktionstechnik biokatalytischer Prozesse. Softcover reprint of the original 1st ed. 1981. Wien: Springer Wien.
- Mosier, Nathan; Wyman, Charles; Dale, Bruce; Elander, Richard; Lee, Y. Y.; Holtzapple, Mark; Ladisch, Michael (2005): Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. In: *Bioresource Technology* 96 (6), S. 673–686. DOI: 10.1016/j.biortech.2004.06.025.
- Müller, V.; Imkamp, Frank; Rauwolf, Andreas; Küsel, K.; Drake, Harold L. (2004): Molecular and cellular biology of acetogenic bacteria. In: *Strict and Facultative Anaerobes: Medical and environmental aspects*, S. 251–281.
- Müller-Erlwein, Erwin (2015): Chemische Reaktionstechnik: Springer-Verlag.
- Munasinghe, Pradeep Chaminda; Khanal, Samir Kumar (2010a): Biomass-derived syngas fermentation into biofuels: Opportunities and challenges. In: *Bioresource Technology* 101 (13), S. 5013–5022. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.12.098.
- Munasinghe, Pradeep Chaminda; Khanal, Samir Kumar (2010b): Syngas fermentation to biofuel: Evaluation of carbon monoxide mass transfer coefficient (k_{La}) in different reactor configurations. In: *Biotechnol. Prog.* 26 (6), S. 1616–1621. DOI: 10.1002/btpr.473.
- Munasinghe, Pradeep Chaminda; Khanal, Samir Kumar (2012): Syngas fermentation to biofuel: Evaluation of carbon monoxide mass transfer and analytical modeling using a composite hollow fiber (CHF) membrane bioreactor. In: *Bioresource Technology* 122, S. 130–136. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.03.053.
- Naik, S. N.; Goud, Vaibhav V.; Rout, Prasant K.; Dalai, Ajay K. (2010): Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. In: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14 (2), S. 578–597. DOI: 10.1016/j.rser.2009.10.003.
- Najafpour, Ghasem; Ismail, Ku Syahidah Ku; Younesi, Habibollah; Mohamed, A. R.; Harun, A. (2004): Performance of biological hydrogen production process from

- synthesis gas, mass transfer in batch and continuous bioreactors. In: *INTERNATIONAL JOURNAL OF ENGINEERING TRANSACTIONS B* 17, S. 105–120.
- NASA's Jet Propulsion Laboratory (2018): Global climate change. Online verfügbar unter <https://climate.nasa.gov/>, zuletzt aktualisiert am 16.05.2018, zuletzt geprüft am 22.05.2018.
- National Institute of Standards and Technology (2017): NIST Standard Reference Data. Thermophysical Properties of Fluid Systems. Hg. v. U.S. Department of Commerce. U.S. Secretary of Commerce. NIST Chemistry WebBook. Online verfügbar unter <https://webbook.nist.gov/chemistry/fluid/>, zuletzt geprüft am 01.05.2018.
- Nielsen, Jens Høiriis; Villadsen, John; Lidén, Gunnar (2003): Bioreaction engineering principles. 2. ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publ.
- Oliveira, M.; Nunes, S. F.; Carneiro, C.; Bexiga, R.; Bernardo, F.; Vilela, C. L. (2007): Time course of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis mastitis* isolates. In: *Veterinary microbiology* 124 (1-2), S. 187–191. DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.04.016.
- Ollivier, Bernard; Cordruwisch, Ralf; Lombardo, Anna; Garcia, Jean-Louis (1985): Isolation and characterization of *Sporomusa acidovorans* sp. nov., a methylotrophic homoacetogenic bacterium. In: *Arch. Microbiol.* 142 (3), S. 307–310. DOI: 10.1007/BF00693409.
- O'Toole, G.; Kaplan, H. B.; Kolter, R. (2000): Biofilm formation as microbial development. In: *Annual Review of Microbiology* 54, S. 49–79. DOI: 10.1146/annurev.micro.54.1.49.
- Panckow, Robert P.; Comandè, Giorgio; Maaß, Sebastian; Kraume, Matthias (2015): Determination of Particle Size Distributions in Multiphase Systems Containing Nonspherical Fluid Particles. In: *Chem. Eng. Technol.* 38 (11), S. 2011–2016. DOI: 10.1002/ceat.201500123.
- Panckow, Robert P.; Reinecke, Laura; Cuellar, Maria C.; Maaß, Sebastian; Augier, F. (2017): Photo-Optical In-Situ Measurement of Drop Size Distributions. Applications in Research and Industry. In: *Oil Gas Sci. Technol. – Rev. IFP Energies nouvelles* 72 (3), S. 14. DOI: 10.2516/ogst/2017009.
- Perez, Jose M.; Richter, Hanno; Loftus, Sarah E.; Angenent, Largus T. (2013): Biocatalytic reduction of short-chain carboxylic acids into their corresponding alcohols with syngas fermentation. In: *Biotechnology and bioengineering* 110 (4), S. 1066–1077. DOI: 10.1002/bit.24786.
- Perlack, Robert D.; Wright, Lynn L.; Turhollow, Anthony F.; Graham, Robin L.; Stokes, Bryce J.; Erbach, Donald C. (2005): Biomass as Feedstock for A Bioenergy and Bioproducts Industry. The Technical Feasibility of a Billion-Ton Annual Supply

- (OAK RIDGE NATIONAL LAB TN). Online verfügbar unter <http://www.dtic.mil/dtic/tr/fulltext/u2/a436753.pdf>.
- Perry, Robert H.; Green, Don W.; Maloney, James O.; Abbott, Michael M.; Ambler, Charles M.; Amero, Robert C. (1997): Perry's chemical engineers' handbook: McGraw-hill New York.
- Pfaffinger, Christina Evi; Schöne, Dennis; Trunz, Sascha; Löwe, Hannes; Weuster-Botz, Dirk (2016): Model-based optimization of microalgae areal productivity in flat-plate gas-lift photobioreactors. In: *Algal Research* 20, S. 153–163. DOI: 10.1016/j.algal.2016.10.002.
- Phillips, J. R.; Atiyeh, H. K.; Tanner, R. S.; Torres, J. R.; Saxena, J.; Wilkins, M. R.; Huhnke, R. L. (2015): Butanol and hexanol production in *Clostridium carboxidivorans* syngas fermentation: Medium development and culture techniques. In: *Bioresource Technology* 190, S. 114–121. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.04.043.
- Phillips, John R.; Huhnke, Raymond L.; Atiyeh, Hasan K. (2017): Syngas Fermentation. A Microbial Conversion Process of Gaseous Substrates to Various Products. In: *Fermentation* 3 (2), S. 28. DOI: 10.3390/fermentation3020028.
- Phillips, John R.; Klasson, K.T.; Clausen, E. C.; Gaddy, J. L. (1993): Biological Production of Ethanol from Coal Synthesis Gas. In: *Appl Biochem Biotechnol* (39/40), S. 559–571.
- Philp, Jim (2018): The bioeconomy, the challenge of the century for policy makers. In: *New biotechnology* 40 (Pt A), S. 11–19. DOI: 10.1016/j.nbt.2017.04.004.
- Poehlein, Anja; Cebulla, Martin; Ilg, Marcus M.; Bengelsdorf, Frank. R.; Schiel-Bengelsdorf, Bettina; Whited, Gregg et al. (2015): The Complete Genome Sequence of *Clostridium acetivum*: a Missing Link between Rnf- and Cytochrome-Containing Autotrophic Acetogens. In: *mBio* 6 (5), S. 1–9.
- Puskeiler, Robert; Weuster-Botz, Dirk (2005): Combined sulfite method for the measurement of the oxygen transfer coefficient k_{La} in bio-reactors. In: *Journal of Biotechnology* 120 (4), S. 430–438. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2005.06.016.
- Quintero, J. A.; Montoya, M. I.; Sánchez, O. J.; Giraldo, O. H.; Cardona, C. A. (2008): Fuel ethanol production from sugarcane and corn. Comparative analysis for a Colombian case. In: *Energy* 33 (3), S. 385–399. DOI: 10.1016/j.energy.2007.10.001.
- Ragsdale, S. (1997): The Eastern and Western branches of the Wood/Ljungdahl pathway: how the East and West were won. In: *BioFactors* 6, S. 3–11.
- Ragsdale, S. (2004): Life with carbon monoxide. In: *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 39 (3), S. 165–195. DOI: 10.1080/10409230490496577.

- Ragsdale, S. (2008): Enzymology of the Wood-Ljungdahl Pathway of Acetogenesis. In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1125 (1), S. 129–136. DOI: 10.1196/annals.1419.015.
- Ragsdale, S.; Pierce, E. (2008): Acetogenesis and the Wood-Ljungdahl pathway of CO₂ fixation. In: *Biochimica et biophysica acta* 1784 (12), S. 1873–1898.
- Rajagopalan, S.; Datar, R. P.; Lewis, R. S. (2002): Formation of ethanol from carbon monoxide via a new microbial catalyst. In: *Biomass and Bioenergy* 23 (6), S. 487–493. DOI: 10.1016/S0961-9534(02)00071-5.
- Ramachandriya, K. D.; Wilkins, M. R.; Delorme, M. J.M.; Zhu, X.; Kundiyana, D. K.; Atiyeh, H. K.; Huhnke, R. L. (2011): Reduction of acetone to isopropanol using producer gas fermenting microbes. In: *Biotechnol. Bioeng.* 108 (10), S. 2330–2338. DOI: 10.1002/bit.23203.
- Ramachandriya, Karthikeyan D.; Kundiyana, Dimple K.; Sharma, Ashokkumar M.; Kumar, Ajay; Atiyeh, Hasan K.; Huhnke, Raymond L.; Wilkins, Mark R. (2016): Critical factors affecting the integration of biomass gasification and syngas fermentation technology. In: *AIMS Bioengineering* 3 (2), S. 188–210. DOI: 10.3934/bioeng.2016.2.188.
- Ramió-Pujol, Sara; Ganigué, Ramon; Bañeras, Lluís; Colprim, Jesús (2015a): How can alcohol production be improved in carboxydrotrophic clostridia? In: *Process Biochemistry* 50 (7), S. 1047–1055. DOI: 10.1016/j.procbio.2015.03.019.
- Ramió-Pujol, Sara; Ganigué, Ramon; Bañeras, Lluís; Colprim, Jesús (2015b): Incubation at 25°C prevents acid crash and enhances alcohol production in *Clostridium carboxidivorans* P7. In: *Bioresource Technology* 192, S. 296–303. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.05.077.
- Redl, S.; Diender, M.; Jensen, T.; Sousa, D.; Nielsen, A. (2017): Exploiting the potential of gas fermentation. In: *Industrial Crops and Products* 106, S. 21–30. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.11.015.
- Ribeiro, Cláudio P. (2008): On the estimation of the regime transition point in bubble columns. In: *Chemical Engineering Journal* 140 (1-3), S. 473–482. DOI: 10.1016/j.cej.2007.11.029.
- Richardson, Yohan; Blin, Joël; Julbe, Anne (2012): A short overview on purification and conditioning of syngas produced by biomass gasification. Catalytic strategies, process intensification and new concepts. In: *Progress in Energy and Combustion Science* 38 (6), S. 765–781. DOI: 10.1016/j.peccs.2011.12.001.
- Richter, H.; Martin, M.; Angenent, L. (2013): A Two-Stage Continuous Fermentation System for Conversion of Syngas into Ethanol. In: *Energies* 6 (8), S. 3987–4000. DOI: 10.3390/en6083987.
- Riggs, S. S.; Heindel, T. J. (2006): Measuring Carbon Monoxide Gas-Liquid Mass Transfer in a Stirred Tank Reactor for Syngas Fermentation. In: *Biotechnol. Prog.* 22 (3), S. 903–906. DOI: 10.1021/bp050352f.

- Savage, M.; Zhongren, W.; Daniel, S.; Lundie, L.; Drake, H. (1987): Carbon Monoxide-Dependent Chemolithotrophic Growth of *Clostridium thermoautotrophicum*. In: *Applied and Environmental Microbiology* 53 (8), S. 1902–1906.
- Schaepe, S.; Kuprijanov, A.; Sieblist, C.; Jenzsch, M.; Simutis, R.; Lübbert, A. (2013): k_{La} of stirred tank bioreactors revisited. In: *Journal of Biotechnology* 168 (4), S. 576–583. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2013.08.032.
- Schiel-Bengelsdorf, Bettina; Dürre, Peter (2012): Pathway engineering and synthetic biology using acetogens. In: *FEBS Letters* 586 (15), S. 2191–2198. DOI: 10.1016/j.febslet.2012.04.043.
- Schügerl, K.; Bellgardt, K.-H. (2000): *Bioreaction Engineering*.
- Schwister, Karl (2005): *Taschenbuch der Verfahrenstechnik*: Fachbuchverlag Leipzig im Carl Hanser Verlag.
- Scragg, Alan H. (1991): *Bioreactors in biotechnology. A practical approach*.
- Seedorf, H.; Fricke, F.; Veith, B.; Brüggemann, H.; Liesegang, H.; Strittmatter, A. et al. (2008): The genome of *Clostridium kluyveri*, a strict anaerobe with unique metabolic features. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (6), S. 2128–2133. DOI: 10.1073/pnas.0711093105.
- Severin, Timm Steffen; Plamauer, Sebastian; Apel, Andreas Christoph; Brück, Thomas; Weuster-Botz, Dirk (2017): Rapid salinity measurements for fluid flow characterisation using minimal invasive sensors. In: *Chemical Engineering Science* 166, S. 161–167. DOI: 10.1016/j.ces.2017.03.014.
- Shah, Y. T.; Kelkar, B. G.; Godbole, S. P.; Deckwer, W.-D. (1982): Design parameters estimations for bubble column reactors. In: *AIChE J.* (3).
- Shen, Y.; Brown, R.; Wen, Z. (2014a): Enhancing mass transfer and ethanol production in syngas fermentation of *Clostridium carboxidivorans* P7 through a monolithic biofilm reactor. In: *Applied Energy* 136, S. 68–76. DOI: 10.1016/j.apenergy.2014.08.117.
- Shen, Y.; Brown, R.; Wen, Z. (2014b): Syngas fermentation of *Clostridium carboxidivorans* P7 in a hollow fiber membrane biofilm reactor: Evaluating the mass transfer coefficient and ethanol production performance. In: *Biochemical Engineering Journal* 85, S. 21–29. DOI: 10.1016/j.bej.2014.01.010.
- Shen, Y.; Brown, R. C.; Wen, Z. (2017): Syngas fermentation by *Clostridium carboxidivorans* P7 in a horizontal rotating packed bed biofilm reactor with enhanced ethanol production. In: *Applied Energy* 187, S. 585–594. DOI: 10.1016/j.apenergy.2016.11.084.
- Sherwood, Thomas K.; Pigford, Robert L.; Wilke, Charles R. (1975): *Mass transfer*: McGraw-Hill.

- Siegrist, H.; Gujer, W. (1985): Mass transfer mechanisms in a heterotrophic biofilm. In: *Water Research* 19 (11), S. 1369–1378. DOI: 10.1016/0043-1354(85)90303-3.
- Sim, J.; Kamaruddin, A.; Long, W.; Najafpour, G. (2007): *Clostridium aceticum*—A potential organism in catalyzing carbon monoxide to acetic acid: Application of response surface methodology. In: *Enzyme and Microbial Technology* 40 (5), S. 1234–1243. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2006.09.017.
- Sim, Jia Huey; Kamaruddin, Azlina Harun (2008): Optimization of acetic acid production from synthesis gas by chemolithotrophic bacterium—*Clostridium aceticum* using statistical approach. In: *Bioresource Technology* 99 (8), S. 2724–2735. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.07.004.
- Sipma, Jan; Henstra, Anne M.; Parshina, Sofiya M.; Lens, Piet N.; Lettinga, Gatze; Stams, Alfons J. M. (2006): Microbial CO conversions with applications in synthesis gas purification and bio-desulfurization. In: *Critical reviews in biotechnology* 26 (1), S. 41–65. DOI: 10.1080/07388550500513974.
- Slepova, T. V. (2006): *Carboxydocella sporoproducens* sp. nov., a novel anaerobic CO-utilizing/H₂-producing thermophilic bacterium from a Kamchatka hot spring. In: *INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY* 56 (4), S. 797–800. DOI: 10.1099/ijs.0.63961-0.
- Smith, Francis L.; Harvey, Allan H. (2007): Avoid common pitfalls when using Henry's law. In: *Chemical engineering progress* 103 (9), S. 33–39.
- Spilimbergo, Sara; Elvassore, N.; Bertucco, A. (2002): Microbial inactivation by high-pressure. In: *The Journal of Supercritical Fluids* 22 (1), S. 55–63.
- Steger, Franziska; Rachbauer, Lydia; Windhagauer, Matthias; Montgomery, Lucy F. R.; Bochmann, Günther (2017): Optimisation of continuous gas fermentation by immobilisation of acetate-producing *Acetobacterium woodii*. In: *Anaerobe* 46, S. 96–103.
- Stoodley, P.; Sauer, K.; Davies, D. G.; Costerton, J. W. (2002): Biofilms as complex differentiated communities. In: *Annual Review of Microbiology* 56, S. 187–209. DOI: 10.1146/annurev.micro.56.012302.160705.
- Storhas, Winfried (1994): Bioreaktoren und periphere Einrichtungen. Ein Leitfaden für die Hochschulausbildung, für Hersteller und Anwender. Braunschweig: Vieweg (Vieweg-Lehrbuch Biotechnologie).
- Storhas, Winfried (2013): Bioverfahrensentwicklung: John Wiley & Sons.
- Straub, Melanie; Demler, Martin; Weuster-Botz, Dirk; Dürre, Peter (2014): Selective enhancement of autotrophic acetate production with genetically modified *Acetobacterium woodii*. In: *Journal of Biotechnology* 178, S. 67–72. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2014.03.005.

- Suresh, S.; Srivastava, V. C.; Mishra, I. M. (2009): Critical analysis of engineering aspects of shaken flask bioreactors. In: *Critical reviews in biotechnology* 29 (4), S. 255–278. DOI: 10.3109/07388550903062314.
- Szewzyk, U.; Szewzyk, R. (2003): Biofilme-die etwas andere Lebensweise. In: *BIOSPEKTRUM-HEIDELBERG*- 9 (3), S. 253–255.
- Szewzyk, Ulrich; Schink, Bernhard (1988): Surface colonization by and life cycle of *Pelobacter acidigallici* studied in a continuous-flow microchamber. In: *Microbiology* 134 (1), S. 183–190.
- Takors, Ralf; Kopf, Michael; Mampel, Joerg; Bluemke, Wilfried; Blombach, Bastian; Eikmanns, Bernhard *et al.* (2018): Using gas mixtures of CO, CO₂ and H₂ as microbial substrates. The do's and don'ts of successful technology transfer from laboratory to production scale. In: *Microbial biotechnology*. DOI: 10.1111/1751-7915.13270.
- Tan, Rung-Kai; Eberhard, Werner; Büchs, Jochen (2011): Measurement and characterization of mixing time in shake flasks. In: *Chemical Engineering Science* 66 (3), S. 440–447. DOI: 10.1016/j.ces.2010.11.001.
- Timson, W. J.; Short, A. J. (1965): Resistance of microorganisms to hydrostatic pressure. In: *Biotechnol. Bioeng.* 7 (1), S. 139–159. DOI: 10.1002/bit.260070124.
- Tirado-Acevedo, Oscar; Chinn, Mari S.; Grunden, Amy M. (2010): Production of biofuels from synthesis gas using microbial catalysts. In: *Advances in applied microbiology*, Bd. 70: Elsevier, S. 57–92.
- Tissera, Sashini de; Köpke, Michael; Simpson, Sean D.; Humphreys, Christopher; Minton, Nigel P.; Dürre, Peter (2017): Syngas Biorefinery and Syngas Utilization. In: *Advances in biochemical engineering/biotechnology*. DOI: 10.1007/10_2017_5.
- Ukpong, M. N.; Atiyeh, H. K.; Lorme, M. J.M. de; Liu, K.; Zhu, X.; Tanner, R. S. *et al.* (2012): Physiological response of *Clostridium carboxidivorans* during conversion of synthesis gas to solvents in a gas-fed bioreactor. In: *Biotechnol. Bioeng.* 109 (11), S. 2720–2728. DOI: 10.1002/bit.24549.
- Ungerman, Andrew J.; Heindel, Theodore J. (2007): Carbon Monoxide Mass Transfer for Syngas Fermentation in a Stirred Tank Reactor with Dual Impeller Configurations. In: *Biotechnol. Prog.* 23 (3), S. 613–620. DOI: 10.1021/bp060311z.
- van der Drift, A.; van Doorn, J.; Vermeulen, J.W (2001): Ten residual biomass fuels for circulating fluidized-bed gasification. In: *Biomass and Bioenergy* 20 (1), S. 45–56. DOI: 10.1016/S0961-9534(00)00045-3.
- van Steen, E.; Claeys, M. (2008): Fischer-Tropsch Catalysts for the Biomass-to-Liquid (BTL)-Process. In: *Chem. Eng. Technol.* 31 (5), S. 655–666. DOI: 10.1002/ceat.200800067.

- Verma, Dipti; Singla, Ashish; Lal, Banwari; Sarma, Priyangshu M. (2016): Conversion of biomass-generated syngas into next-generation liquid transport fuels through microbial intervention. Potential and current status. In: *Curr Sci* 110 (3), S. 329–336.
- Vert, Michel; Doi, Yoshiharu; Hellwich, Karl-Heinz; Hess, Michael; Hodge, Philip; Kubisa, Przemyslaw et al. (2012): Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). In: *Pure and Applied Chemistry* 84 (2), S. 377–410. DOI: 10.1351/PAC-REC-10-12-04.
- Villadsen, John; Nielsen, Jens; Lidén, Gunnar (2011): Design of fermentation processes. In: *Bioreaction Engineering Principles*: Springer, S. 383–458.
- Wäsche, Stefan; Horn, Harald; Hempel, Dietmar C. (2002): Influence of growth conditions on biofilm development and mass transfer at the bulk/biofilm interface. In: *Water Research* 36 (19), S. 4775–4784. DOI: 10.1016/S0043-1354(02)00215-4.
- Weuster-Botz, D.; Altenbach-Rehm, J.; Hawrylenko, A. (2001): Process-engineering characterization of small-scale bubble columns for microbial process development. In: *Bioprocess Biosyst Eng* 24 (1), S. 3–11. DOI: 10.1007/s004490100222.
- Weuster-Botz, Dirk (1999): Die Rolle der Reaktionstechnik in der mikrobiellen Verfahrensentwicklung.
- Wieringa, K. (1936): Over het verdwijnen van waterstof en koolzuur onder anaerobe voorwaarden. In: *Antonie van Leeuwenhoek* 3, S. 263–273.
- Wieringa, K. (1939): The formation of acetic acid from carbon dioxide and hydrogen by anaerobic spore-forming bacteria. In: *Antonie van Leeuwenhoek* 6, S. 251–262.
- Wilke, C. R.; Chang, Pin (1955): Correlation of diffusion coefficients in dilute solutions. In: *AIChE J.* 1 (2), S. 264–270. DOI: 10.1002/aic.690010222.
- Williamson, Kenneth; McCarty, Perry L. (1976): Verification studies of the biofilm model for bacterial substrate utilization. In: *Journal (Water Pollution Control Federation)*, S. 281–296.
- Willis, A. (1976): Techniques for the Study of Anaerobic, Spore-forming Bacteria. In: J. Norris (Hg.): *Methods in microbiology*, Bd. 3. Unter Mitarbeit von A. Willis. 3. print. London: Academic Press, S. 79–115.
- Wingender, Jost; Neu, Thomas R.; Flemming, Hans-Curt (1999): What are bacterial extracellular polymeric substances? In: *Microbial extracellular polymeric substances*: Springer, S. 1–19.
- Worden, R. M.; Bredwell, M. D.; Grethlein, A. J. (Hg.) (1997): Engineering issues in synthesis-gas fermentations: ACS Publications (666).

- Wu, Jianyong (1995): Mechanisms of animal cell damage associated with gas bubbles and cell protection by medium additives. In: *Journal of Biotechnology* 43 (2), S. 81–94. DOI: 10.1016/0168-1656(95)00133-7.
- Xu, Deshun; Tree, Douglas R.; Lewis, Randy S. (2011): The effects of syngas impurities on syngas fermentation to liquid fuels. In: *Biomass and Bioenergy* 35 (7), S. 2690–2696. DOI: 10.1016/j.biombioe.2011.03.005.
- Yang, S.; Lewandowski, Z. (1995): Measurement of local mass transfer coefficient in biofilms. In: *Biotechnology and bioengineering* 48 (6), S. 737–744. DOI: 10.1002/bit.260480623.
- Yasin, Muhammad; Jeong, Yeseul; Park, Shinyoung; Jeong, Jiyeong; Lee, Eun Yeol; Lovitt, Robert W. et al. (2015): Microbial synthesis gas utilization and ways to resolve kinetic and mass-transfer limitations. In: *Bioresource Technology* 177, S. 361–374. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.11.022.
- Younesi, Habibollah; Najafpour, Ghasem; Ku Ismail, Ku Syahidah; Mohamed, Abdul Rahman; Kamaruddin, Azlina Harun (2008): Biohydrogen production in a continuous stirred tank bioreactor from synthesis gas by anaerobic photosynthetic bacterium: *Rhodospirillum rubrum*. In: *Bioresource Technology* 99 (7), S. 2612–2619. DOI: 10.1016/j.biortech.2007.04.059.
- Zavarzin, George A.; Zhilina, Tatjana N.; Pusheva, Margarete A. (1994): Halophilic acetogenic bacteria. In: *Acetogenesis*: Springer, S. 432–444.
- Zhang, Qinghua; Yong, Yumei; Mao, Zai-Sha; Yang, Chao; Zhao, Chengjun (2009): Experimental determination and numerical simulation of mixing time in a gas–liquid stirred tank. In: *Chemical Engineering Science* 64 (12), S. 2926–2933. DOI: 10.1016/j.ces.2009.03.030.
- Zlokarnik, M. (1999): *Rührtechnik. Theorie und Praxis*. Berlin: Springer (Chemische Technik, Verfahrenstechnik).
- Zlokarnik, Marko (1973): Rührleistung in begasten Flüssigkeiten. In: *Chemie Ingenieur Technik* 45 (10a).

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

| | | Bezeichnung |
|----------|----------------|---|
| A | AD | Außendurchmesser in cm (Zentimeter) |
| | ADP | Adenosindiphosphat |
| | AF | Anaerobflaschen |
| | ATP | Adenosintriphosphat |
| B | b | Satzbetrieb (engl. <i>batch</i>) |
| | BMBF | Bundesministerium für Bildung und Forschung |
| | BTM | Biotrockenmassekonzentration in g L ⁻¹ |
| C | c | kontinuierlicher Betrieb (engl. <i>continuous</i>) |
| | C. | <i>Clostridium</i> |
| | CA | <i>Clostridium acetikum</i> ^T |
| | CA-Medium | Prozessmedium für <i>Clostridium acetikum</i> |
| | CAD | Rechnerunterstützte graphische Zeichnung (engl. <i>computer aided design</i>) |
| | CC | <i>Clostridium carboxidivorans</i> P7 ^T |
| | CC-Medium | Prozessmedium für <i>Clostridium carboxidivorans</i> |
| | CoA | Coenzym A (gebunden) |
| | CoFeS-P | Corrinoid-Eisen-Schwefel-Protein-Komplex |
| | CSTR | Idealer Rührkessel (engl. <i>continuous stirred-tank bioreactor</i>) |
| D | DNS | Desoxyribonukleinsäure |
| | DSM | Deutsche Sammlung von Mikroorganismen |
| | DSMZ | Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen |
| E | e ⁻ | Elektron |
| | EPS | extrazelluläre polymere Substanzen (engl. <i>extracellular polymeric substances</i>) |
| F | Fed | Ferredoxin |
| G | G | Gasstrom (engl. <i>gas flow</i>) |
| | GLR | Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf (engl. <i>gas-lift bioreactor</i>) |
| H | H | Höhe in cm |
| | [H] | Reduktionsäquivalent |
| | H ⁺ | Proton |
| | HPLC | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. <i>high pressure liquid chromatography</i>) |
| | HS-CoA | Coenzym A |
| I | ID | Innendurchmesser in cm (Zentimeter) |
| | IFM | Impulsfrequenzmodulation |
| K | KLF | Kleinlaborfermenter |
| L | L | Flüssigkeitsstrom (engl. <i>liquid flow</i>) |
| | LD | Lochdurchmesser in cm (Zentimeter) |
| M | Mbp | Megabasenpaare (engl. <i>mega base pairs</i>) |

| | | |
|----------|-----------------|--|
| | MES | 2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure |
| | MFC | Massendurchflussregler (engl. <i>mass flow controller</i>) |
| | MFM | Massendurchflussmesser (engl. <i>mass flow meter</i>) |
| | MFP | mittlere Porengröße (engl. <i>mean flow pore size</i>) |
| | MTR | Gas-Flüssig-Stofftransportrate (engl. <i>mass transfer rate</i>) |
| N | n.b. | Nicht bestimmt |
| P | P _i | Monophosphat |
| | PBR | Festbettreaktor mit innerem Umlauf (engl. <i>packed-bed biofilm reactor</i>) |
| | PFR | Ideales Strömungsrohr (engl. <i>plug flow reactor</i>) |
| | pH | lat. <i>potentia hydrogenii</i> |
| | pK _s | Säurekonstante |
| | PPG | Polypropylenglycol |
| | PTFE | Polytetrafluorethylen |
| R | REM | Rasterelektronenmikroskop |
| | RI | Brechungsindex (engl. <i>refractive index</i>) |
| S | SP | Satzprozess |
| | STR | Rührkesselreaktor (engl. <i>stirred-tank bioreactor</i>) |
| T | TBR | Rieselbettbiofilmreaktor (engl. <i>trickle-bed biofilm reactor</i>) |
| | THF | Tetrahydrofolat |
| | TUM | Technische Universität München |
| U | U | Umdrehungen |
| V | VE-Wasser | Vollentsalztes Wasser |
| Z | Z | Zahl |
| | μ-GC | Mikro-Gaschromatograph |

Symbolverzeichnis

| | Einheit | Bezeichnung |
|--------------------|---|---|
| # | - | Nummer des Teilexperiments während einer Langzeitstudie |
| A A | m ² | Fläche |
| a | m ² m ⁻³ | Volumenbezogene Phasengrenzfläche |
| A* | - | Numerische Lösung des Absorptionsspektrums |
| AD | m | Außendurchmesser |
| A _Z | - | Absorption bei einer Wellenlänge von Z nm |
| B B | - | Konstanter Faktor |
| Bo | - | Bodensteinzahl |
| C c | mol L ⁻¹ | Konzentration |
| C | - | Reaktorspezifischer konstanter Faktor |
| c' | mol L ⁻¹ | Konzentration an der Gas-Flüssig-Phasengrenzfläche |
| c _{i,G} * | mol L ⁻¹ | Konzentration, die mit der Kernströmung der Flüssigphase im Gleichgewicht steht |
| c _{i,L} * | mol L ⁻¹ | Konzentration, die mit der Kernströmung der Gasphase im Gleichgewicht steht |
| c _{aT} | g L ⁻¹ | Konzentrationsvektor unmittelbar nach dem Festbett für alle Zeitpunkte t |
| COTR | mol L ⁻¹ h ⁻¹ | Kohlenstoffmonoxidtransferrate (engl. <i>carbon monoxide transfer rate</i>) |
| c _Z | g L ⁻¹ | Gemessener Konzentrationsvektor in der Flusszelle für alle Zeitpunkte t |
| D D | h ⁻¹ | Durchflussrate (engl. <i>dilution rate</i>) |
| D _{ax} | m ² s ⁻¹ | Axialer Dispersionskoeffizient |
| d _B | µm | Blasendurchmesser |
| d _{B,Z} | µm | Maximaler Blasendurchmesser von Z % aller Blasen |
| D _{ij} | m ² s ⁻¹ | Binärer Diffusionskoeffizient der Komponente i im Lösungsmittel j |
| D _m | | Diffusionsmatrix |
| E E | - | Verweilzeitdichtefunktion |
| F F | - | Verweilzeitsummenfunktion |
| f _k | - | Konversionsfaktor |
| f _{MO} | g L ⁻¹ OD ₆₀₀ ⁻¹ | Stammspezifischer OD ₆₀₀ -BTM Korrelationsfaktor des MO |
| G g | m s ⁻² | Erdbeschleunigung |
| G | L h ⁻¹ | Gasvolumenstrom |
| ΔG ⁰ | J mol ⁻¹ | Freie Standardenthalpie |
| H H | m | Höhe |
| HTR | mol L ⁻¹ h ⁻¹ | Wasserstofftransferrate (engl. <i>hydrogen transfer rate</i>) |
| I I | mol L ⁻¹ | Ionenstärke |
| J j | mol m ⁻² s ⁻¹ | Stoffstromdichte |
| K k | - | Konstanter Faktor |
| k _G | m s ⁻¹ | Gasseitiger Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient |
| K _G | m s ⁻¹ | Gesamt-Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient der Flüssigphase |
| k _H | mol L ⁻¹ bar ⁻¹ | Henry-Konstante |
| K _i | mol L ⁻¹ | Inhibierungskonstante des Inhibitors I |

| | | | |
|----------|-------------|------------------------------------|---|
| | k_L | m s^{-1} | Flüssigkeitsseitiger Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient |
| | $k_{L,i,j}$ | s^{-1} | Kombinierter Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient des schwerlöslichen Gases i im Lösungsmittel j |
| | K_L | m s^{-1} | Gesamt-Gas-Flüssig-Stofftransportkoeffizient der Gasphase |
| | K_S | mol L^{-1} | Affinitätskonstante des limitierenden Substrats S |
| L | L | mL min^{-1} | Flüssigkeitsstrom |
| | L | m | Länge |
| M | m | g | Masse |
| | M | g mol^{-1} | Molare Masse |
| | \bar{M} | g mol^{-1} | Mittlere molare Masse |
| | M_i | - | Mischgüte |
| N | n | - | Gesamtanzahl |
| | \dot{n} | mol s^{-1} | Diffusive Stofftransferrate |
| | n_i | Mol | Stoffmenge des Stoffes i |
| | N | U min^{-1} | Rührerdrehzahl |
| | Ne | - | Newton-Zahl |
| O | OD_{600} | - | Optische Dichte bei 600 nm |
| P | p | bar | Partialdruck |
| | \bar{p} | bar | Mittlerer Partialdruck |
| | P | bar | Gesamtdruck |
| | P/V | W m^{-3} | Volumetrischer Leistungseintrag |
| Q | q | $\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ | Zellspezifische Reaktionsgeschwindigkeit |
| R | r | $\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ | Volumetrische Reaktionsgeschwindigkeit |
| | R | $\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$ | Ideale Gaskonstante |
| | r^* | $\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ | Raum-Zeit-Ausbeute am Reaktorausgang |
| | RZA | $\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ | Raum-Zeit-Ausbeute |
| S | $span$ | - | Breite der Blasengrößenverteilung |
| | $span_n$ | | Anzahlbasierte Breite der Blasengrößenverteilung |
| T | t | s | Zeit |
| | \bar{t} | s | Mittlere hydraulische Verweilzeit |
| | T | $^{\circ}\text{C}$ oder K | Temperatur |
| | T_M | - | Transformationsmatrix |
| U | u | m s^{-1} | Geschwindigkeit |
| | \bar{u} | m s^{-1} | Mittlere Geschwindigkeit |
| | \vec{u} | m s^{-1} | Konvektives Geschwindigkeitsfeld |
| | u_B | m s^{-1} | Blasenaufstiegsgeschwindigkeit |
| | u_F | m s^{-1} | Geschwindigkeit des zurückschlagenden Flüssigfilms |
| | u_g | m s^{-1} | Gasleerrohrgeschwindigkeit |
| V | V | L | Volumen |
| | \dot{V} | L h^{-1} | Volumenstrom |
| | V_B | L | Bezugsvolumen |
| | $V_{M,i}$ | $\text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$ | Molales Volumen des gelösten Gases i am Siedepunkt bei 1 atm |
| | V_R | L | Arbeitsvolumen |
| | V_{ZK} | L | Zwischenkornvolumen |

| | | | |
|----------|----------------|-------------------------------------|---------------------|
| X | x | - | Anteil |
| Y | y | - | Molanteil |
| | Y | - | Ausbeutekoeffizient |
| Z | z | - | Ortskoordinate |
| | Z ₁ | mol L ⁻¹ h ⁻¹ | Konstanter Faktor |
| | Z ₂ | mol L ⁻¹ | Konstanter Faktor |

Griechische Buchstaben

| | Einheit | Bezeichnung |
|---------------|-------------------------------------|--|
| α | - | Exponent |
| β | - | Exponent |
| δ | m | Schichtdicke |
| Δt | s | Verzögerungsterm |
| ε | mol L ⁻¹ h ⁻¹ | Extinktionskoeffizient |
| η_j | kg m ⁻¹ s ⁻¹ | Dynamische Viskosität |
| θ_{Mi} | s | Mischzeit für eine Mischgüte |
| Θ | - | Dimensionslose Zeit |
| μ | h ⁻¹ | Wachstumsrate |
| ρ | kg m ⁻³ | Dichte |
| $\bar{\rho}$ | kg m ⁻³ | Mittlere Dichte |
| σ | N m ⁻¹ | Oberflächenspannung |
| τ | s | Mittlere hydraulische Verweilzeit |
| φ | - | Gasgehalt |
| ϕ_j | - | Assoziationsparameter des Lösungsmittels j |
| χ | - | Umsatz |
| ω | - | Sensitivitätsfaktor |

Indizes

| | | |
|----------|--------|---|
| | 0 | zu Beginn |
| A | A | Fläche |
| | Acetat | Acetat |
| | An | Ansprech- |
| | Abgas | Abgas |
| | aT | abiotisches Trägermaterial |
| | aus | Ausgangsstrom |
| B | b | Benetzung |
| | B | Gasblasen (engl. <i>bubble</i>) |
| | Bf | Biofilm |
| | BF | Begasungsfläche |
| C | carb | carbonyliert |
| D | d | Abstrom (engl. <i>downcomer</i>) |
| E | E | Expansion |
| | ein | Eingangsstrom |
| | exp | exponentiell |
| F | fF | Für das Festbett |
| | F | Festbett |
| | FB | Flüssigkeitshöhe über Begasungsorgan |
| | Film | Flüssigfilm |
| | FM | Festbettmaterial |
| | FR | Flüssigkeitsreservoir |
| G | g | begast |
| | G | Gas/Gasvolumenstrom (engl. <i>gas flow</i>) |
| | GGW | Gleichgewicht/Fließgleichgewicht |
| I | i | (Gas)komponente |
| | I | Inhibitor/Inhibierungs- |
| | lin | linear |
| | log | logarithmisch |
| J | j | Lösungsmittel |
| K | K | Kopfraum |
| L | L | Flüssigkeit/Flüssigkeitsstrom (engl. <i>liquid flow</i>) |
| | LR | Leitrohr |
| M | Marker | Markersubstanz |
| | max | maximal |
| | MFM | Massendurchflussmesser |
| | MGK | Mischgaskoeffizient |
| | min | minimal |
| | Myo | Myoglobin |
| N | n | anzahlbasiert |
| O | Ö | Öffnungen |
| | opt | optimal |
| | Ox | oxidiert |
| P | p | Puls |
| | P | Produkt |
| | Poren | Poren |
| | Pr | Probe |
| R | r | Aufstrom (engl. <i>riser</i>) |

| | | |
|----------|------------|------------------------------|
| | R | Reaktor |
| | red | reduziert |
| | Rü | Rührer |
| S | s | Säure |
| | S | Substrat |
| | Sauter | Sauter |
| | SMF | Sintermetallfritte |
| | Suspension | Suspension |
| T | t | gesamt (engl. <i>total</i>) |
| | T | Trägheit |
| | TR | Totraum |
| | ug | unbegast |
| X | x | Biomasse |
| Z | z | Zirkulation |
| | Z | Zahl |
| | ZK | Zwischenkorn- |
| | η | Schubspannung |

Anhang

A.1 Bioreaktorperipherie

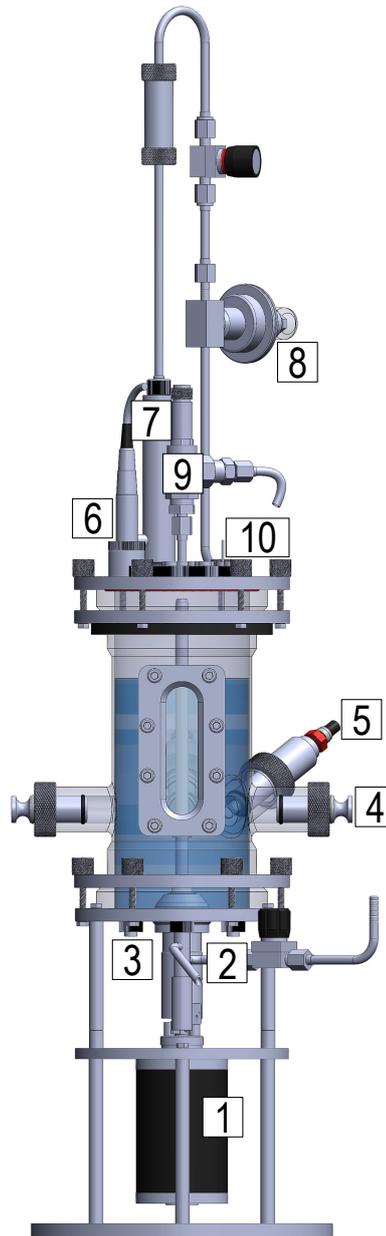


Abbildung A.1: Darstellung des Mehrzweckbioreaktors und seiner Komponenten (KLF 3,7 L, Bioengineering AG, Wald, Schweiz): 1, Bürstenloser Gleichstrommotor (Artikel 54041; 24 VDC; 13 A; 250 W); 2, Bodenablass-, Ernte- oder Probenahmeventil; 3, vier Durchführungen vom Reaktorboden mit 12 mm Durchmesser (Gewinde: M20x1,5), 4, vier Seitenstutzen mit 25 mm Durchmesser (Gewinde Verschluss: „Ingoldstutzen“ G 5/4"; Gewinde Sonden: PG13,5); 5, Verbindung am Beispiel einer pH-Sonde; 6 Relativ-Drucktransmitter (Silicium-Halbleiter); 7, Rückflusskühler; 8, stetiges, pneumatisches Regelventil; 9, Überdrucksicherheitsventil; 10, 14 Durchführungen am Reaktordeckel mit einem Durchmesser von 12 mm.

Tabelle A.1: Komponenten des Mehrzweckbioreaktors und seiner Peripherie.

| Komponente | Spezifikation | Hersteller |
|--------------------------------|--|---------------------------|
| Abgasanalysator | 490 Micro GC, Komponenten siehe Tabelle A.4 | Agilent Technologies |
| Bürstenfreier Gleichstrommotor | Artikel 54041, 250 W, bis 3.000 U min ⁻¹ | Bioengineering AG |
| Druckmessung | Relativ-Drucktransmitter (Silicium-Halbleiter), sterilisierbar | Bioengineering AG |
| Druckregelung | Regelventil, pneumatisch | Bioengineering AG |
| Heizstab | Artikel 23500.1, Edelstahl, DN12, Länge: 149 mm, 800 W, 200 -240 VAC | Bioengineering AG |
| Kühlstab | Länge: 200 mm | Bioengineering AG |
| Laborrührkesselreaktor | KLF2000, 3,7 L | Bioengineering AG |
| Massendurchflussmesser (MFM) | F-111B-1K0-RGD-33-E | Bronkhorst High-Tech B.V. |
| Massendurchflussregler (MFC) | F-201CV-500-RGD-33-V | Bronkhorst High-Tech B.V. |
| pH-Sonde | nPro3100UD/120/Pt100 (für Einbau über Kopf) | Mettler-Toldeo GmbH |
| Rückflusskühler | mit Druckregelung | Bioengineering AG |
| Schlauchpumpen (pulsationsarm) | Peripex W1, 3 Stück | Bioengineering AG |
| Sechs-Blatt-Scheibenrührer | Typ: Rushton, technische Zeichnung siehe Abbildung A.4 | Bioengineering AG |
| Sintermetallfritte | Artikel 48875 | Bioengineering AG |
| Software der MFC und MFM | Flow Plot, Version 3.28 | Bronkhorst High-Tech B.V. |
| Software Reaktorsteuerung | BioSCADaLab, Version 7.2 | Bioengineering AG |
| Temperatursensor | Artikel 21498.1, Pt100, DN 12, Länge: 103 mm | Bioengineering AG |
| Überdruck-Sicherheitsventil | Artikel 51886.4 | Bioengineering AG |

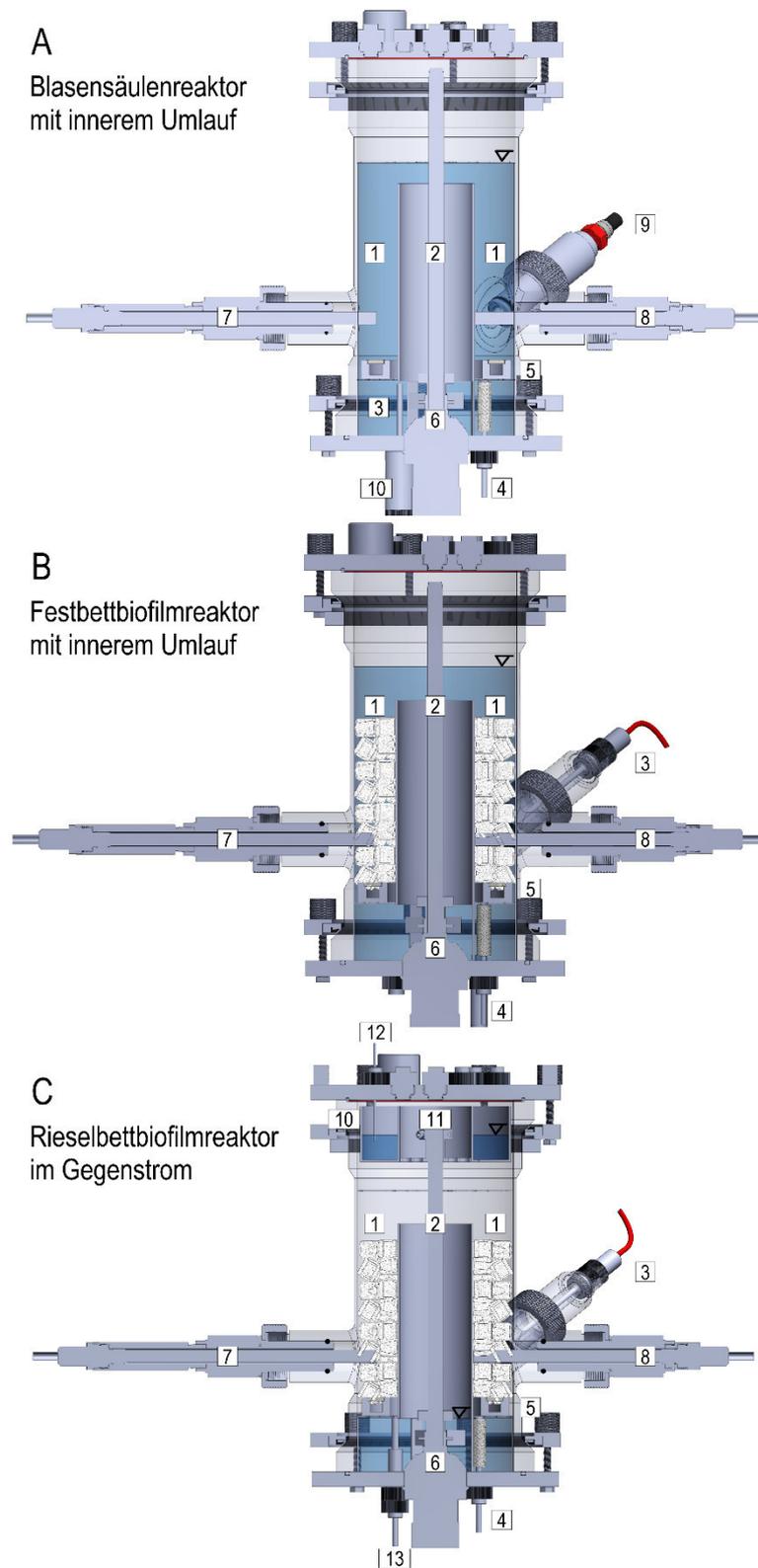


Abbildung A.2: Darstellung des Reaktorquerschnitts der drei neuen Bioreaktoren als computer-unterstützte graphische Darstellung (CAD): A, Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf; B, Festbettbiofilmreaktor mit innerem Umlauf; C, Rieselbettbiofilmreaktor im Gegenstrom: 1, Aufstrom (begaster Bereich); 2, Abstrom (unbegaster Bereich); 3, Temperatursensor; 4, Gaszufuhr; 5, ringförmige Sintermetallfritte; 6, Sechs-Blatt-Scheibenrührer (Typ Rushton); 7, Kühlstab; 8; Heizstab; 9, pH-Sonde; 10, Flüssigkeitsverteiler; 11; zentraler Gasdurchlass; 12, Zulaufeinlass; 13, Ablauf.

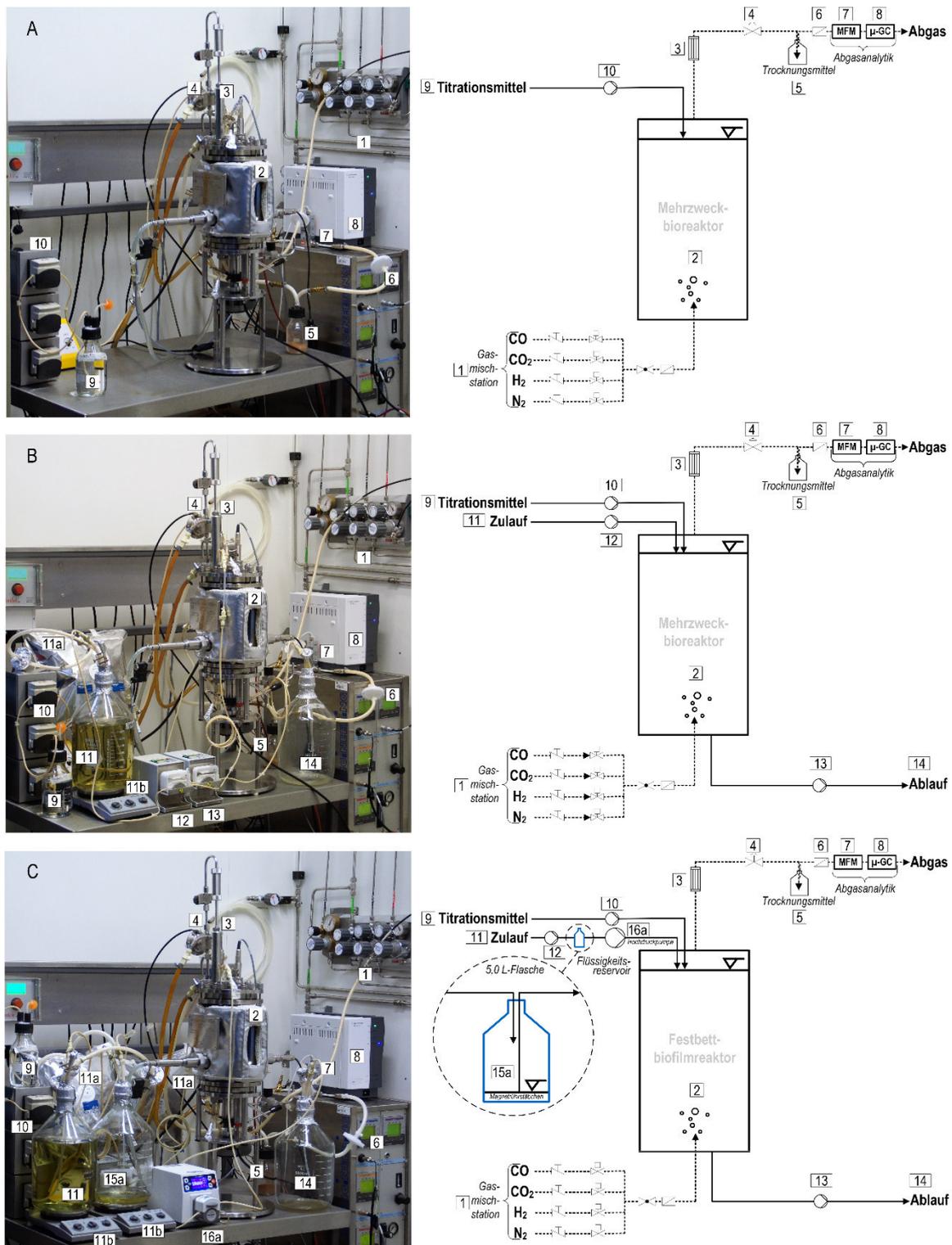
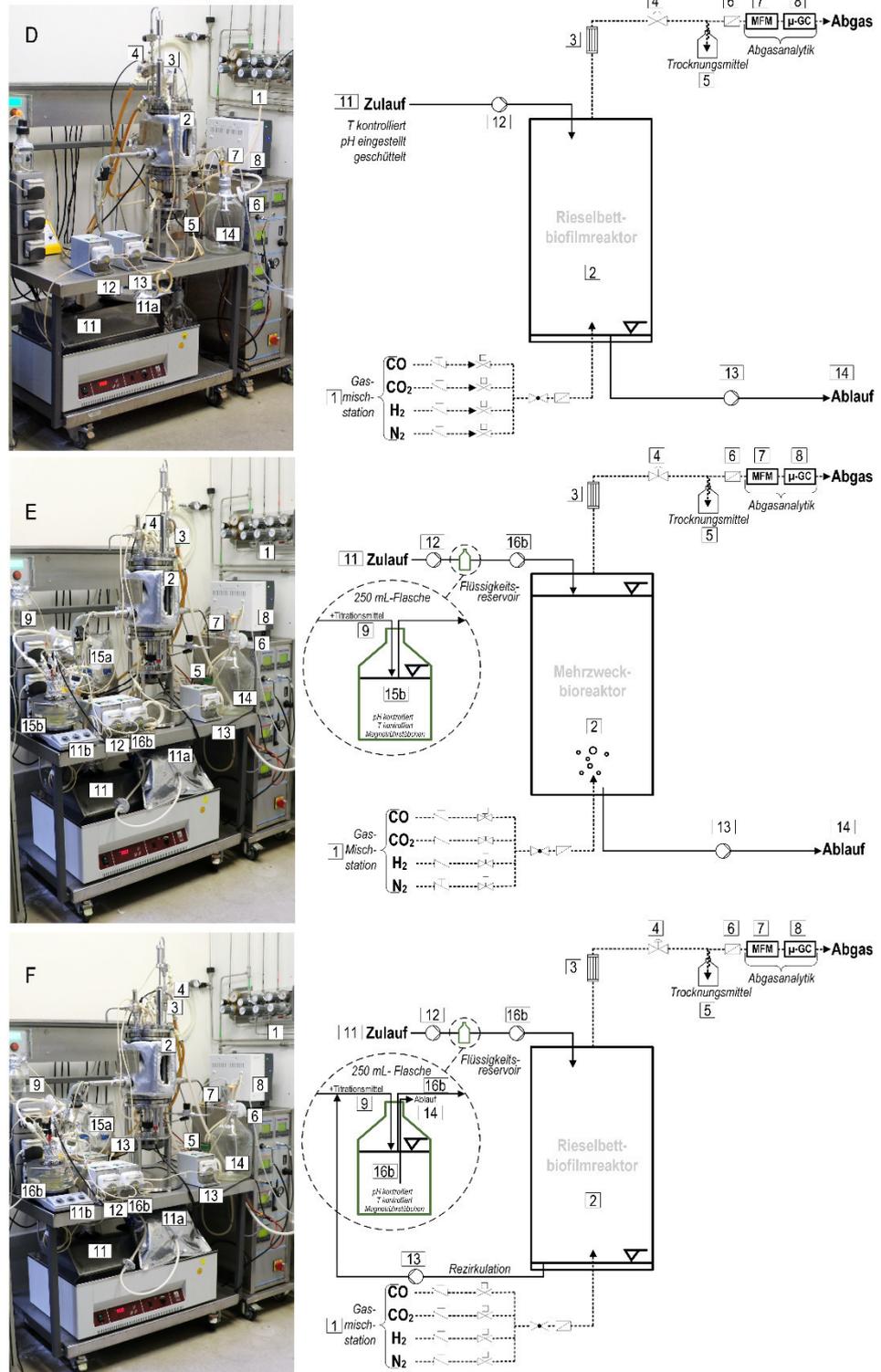


Abbildung A.3: Photographische und schematische Zusammenfassung der Betriebsweisen des Mehrzweckbioreaktors: A, Satzbetrieb; B, kontinuierlicher Betrieb; C, kontinuierlicher Betrieb mit erhöhtem Gesamtdruck. Gasströme sind mit Strichlinien, Flüssigkeitsströme mit Volllinien dargestellt: 1, vier individuell auf CO, CO₂, H₂ und N₂ kalibrierte Massendurchflussregler; 2, Mehrzweckbioreaktor; 3, Rückflusskühler; 4, pneumatisches Druckregelventil; 5, Trocknungsmittel; 6, Sterilfilter; 7, Massendurchflussmesser; 8, Gaschromatograph; 9, Base; 10, Basenpumpe; 11, anaerobes, steriles Zulaufmedium mit flexiblem N₂-Reservoir (11a) und Magnetrührer (11b); 12/13, Peristaltikpumpe für den Zulauf (12)/Ablauf (13); 14, Ablauf; 15a, 5,0 L-Flasche für den kontinuierlichen Betrieb gegen erhöhten Gesamtdruck mit einer Druckpumpe (16a).



Fortsetzung Abbildung A.3: Kontinuierlicher Betrieb D, im Rieselbettbiofilmreaktor mit eingestelltem pH des Zulaufmediums; E, mit *inline*-pH-Kontrolle des Zulaufmediums; F, im Rieselbettbiofilmreaktor mit Rezirkulation der Flüssigphase und *inline*-pH-Kontrolle: 15b, Flüssigkeitssammelgefäß (vergleiche Abbildung 4.5) mit pH-Kontrolle mit einem flexiblen N₂-Reservoir (15a) als Druckausgleich und einem Magnetrührer inklusive Heizplatte (15b); 16b; Peristaltikpumpe für Zirkulationsstrom aus 15 in 2.

A.2 Technische Zeichnungen

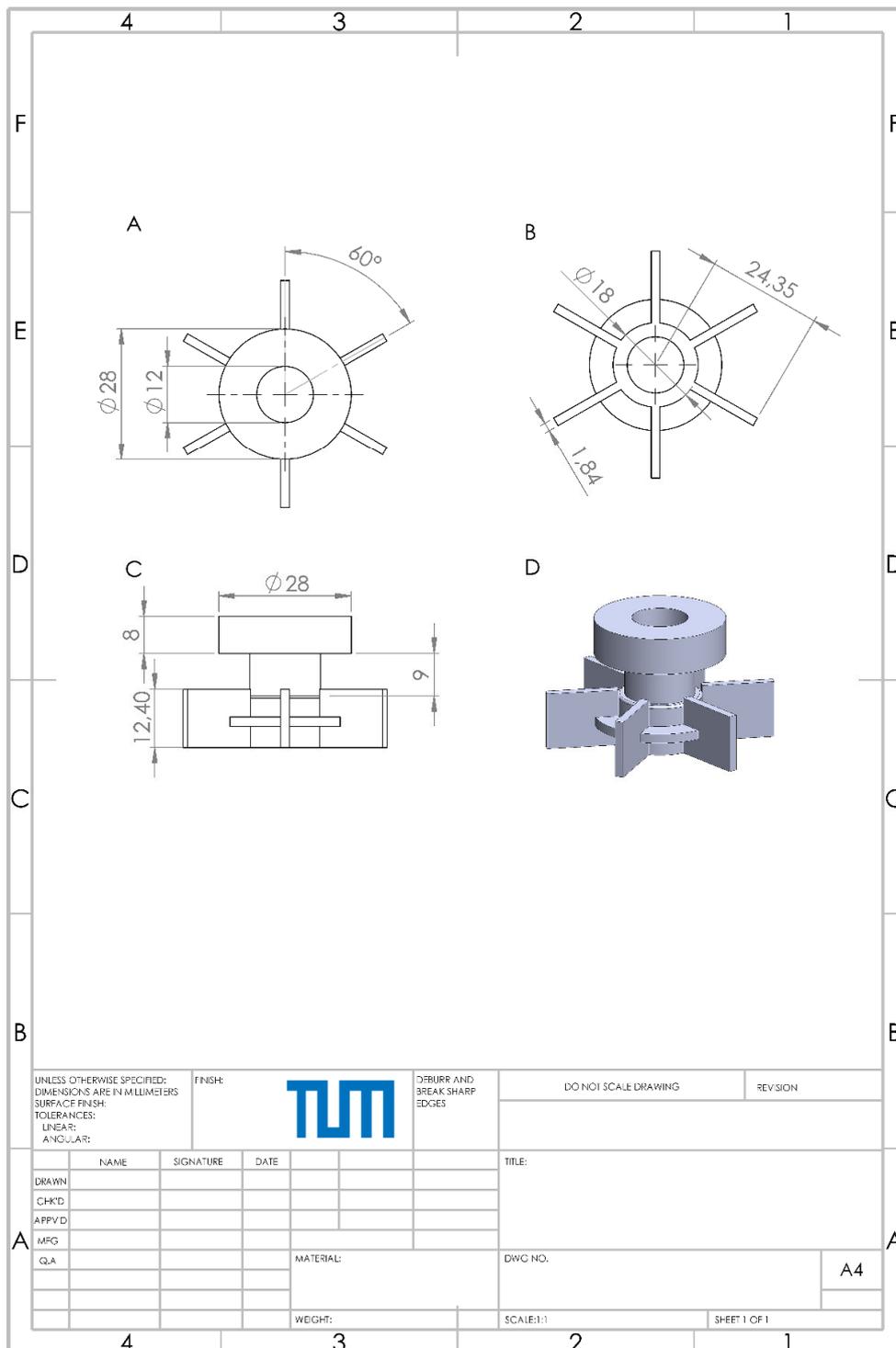


Abbildung A.4: Technische Zeichnung des Sechs-Blatt-Scheibenrührers: A, Ansicht von oben; B, Ansicht von unten; C, Ansicht von vorne; D, dimetrische Ansicht. Dimensionen sind in Millimeter angegeben.

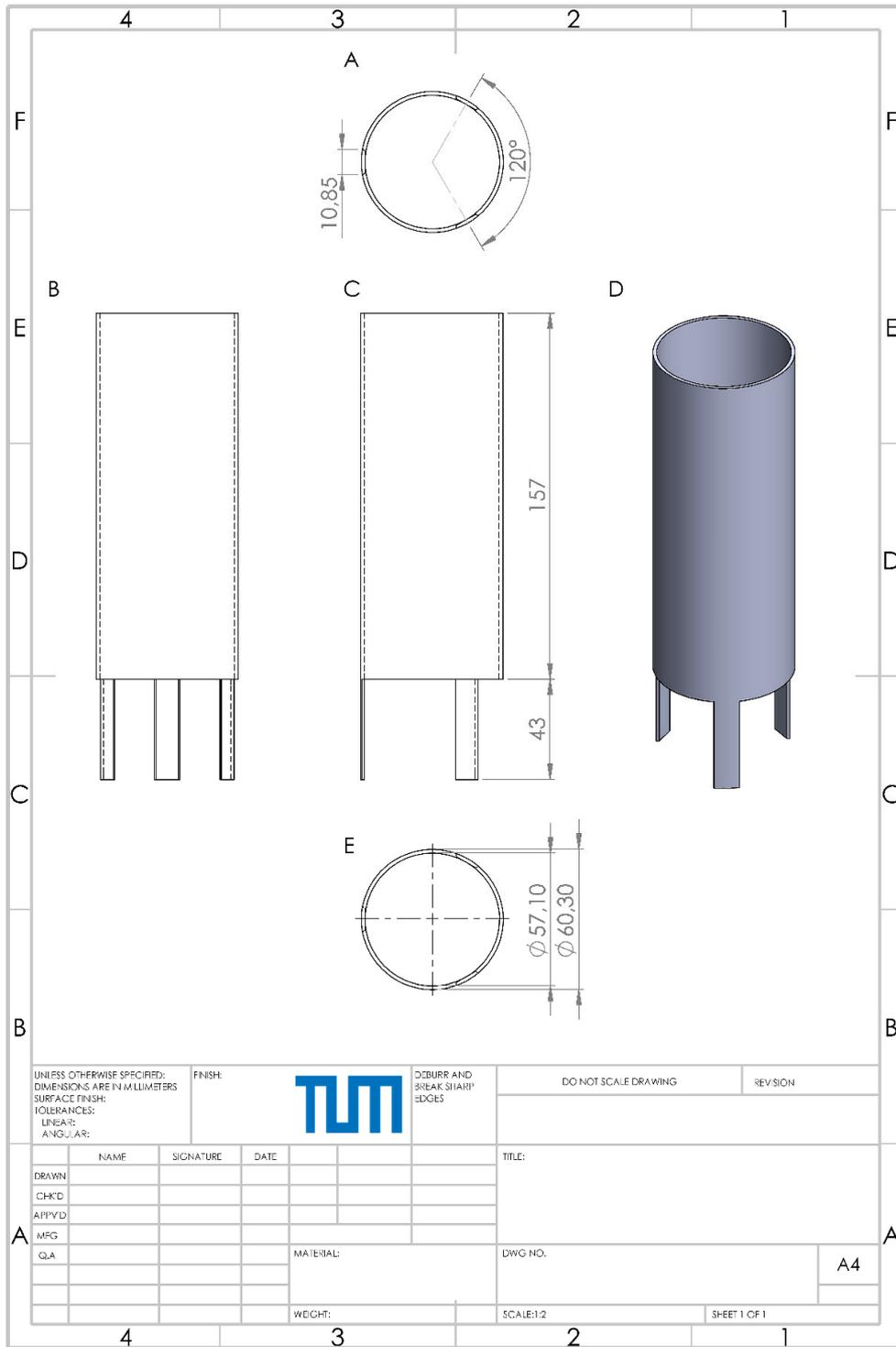


Abbildung A.5: Technische Zeichnung des konzentrischen Leitrohres: A, Ansicht von unten; B, Ansicht von vorne; C, Ansicht von rechts; D, trimetrische Ansicht. Dimensionen sind in Millimeter angegeben.

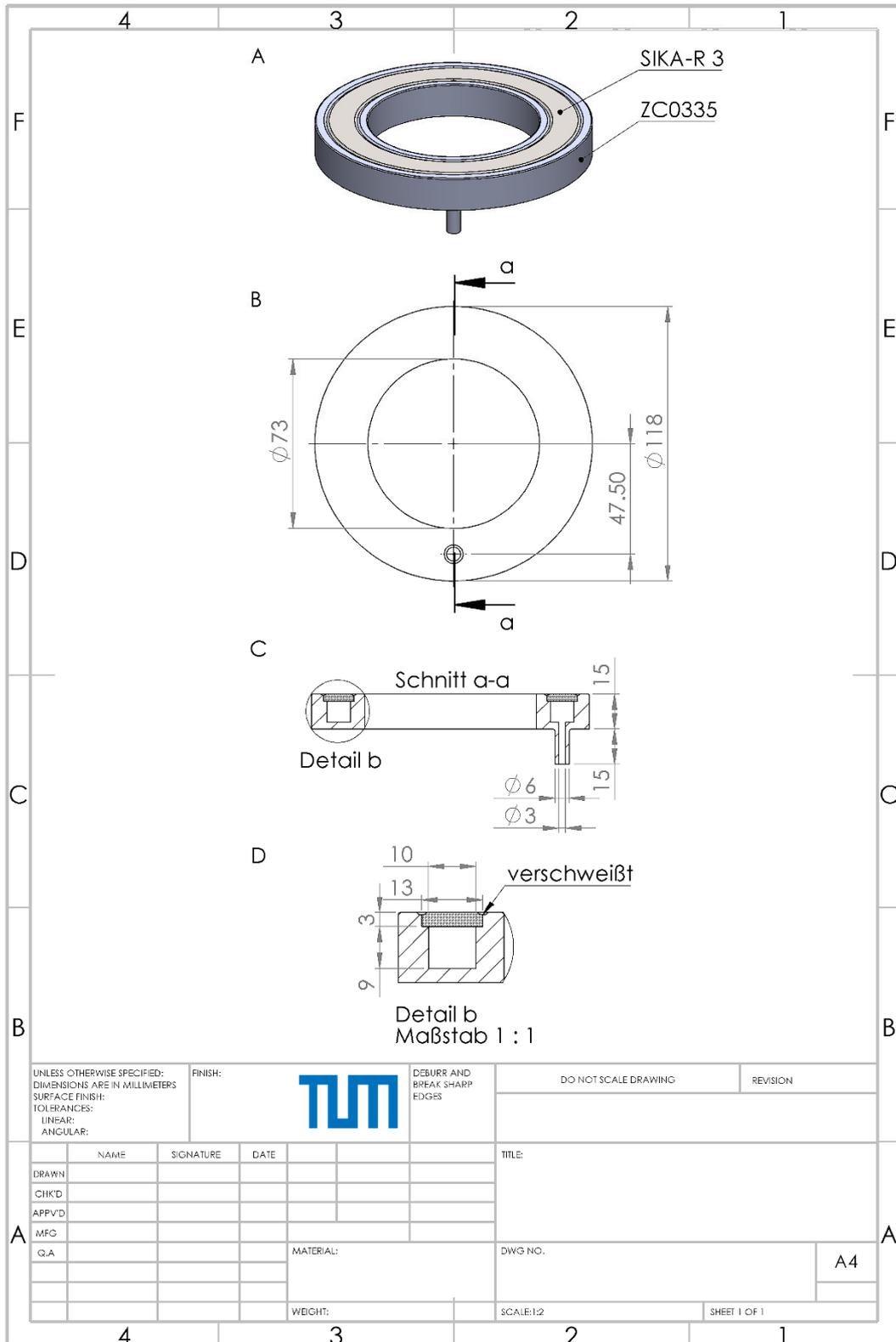


Abbildung A.6: Technische Zeichnung der ringförmigen Sintermetallfritte: A, trimetrische Ansicht; B, Ansicht von unten; C, Querschnitt; D, Detailansicht. Dimensionen sind in Millimeter angegeben.

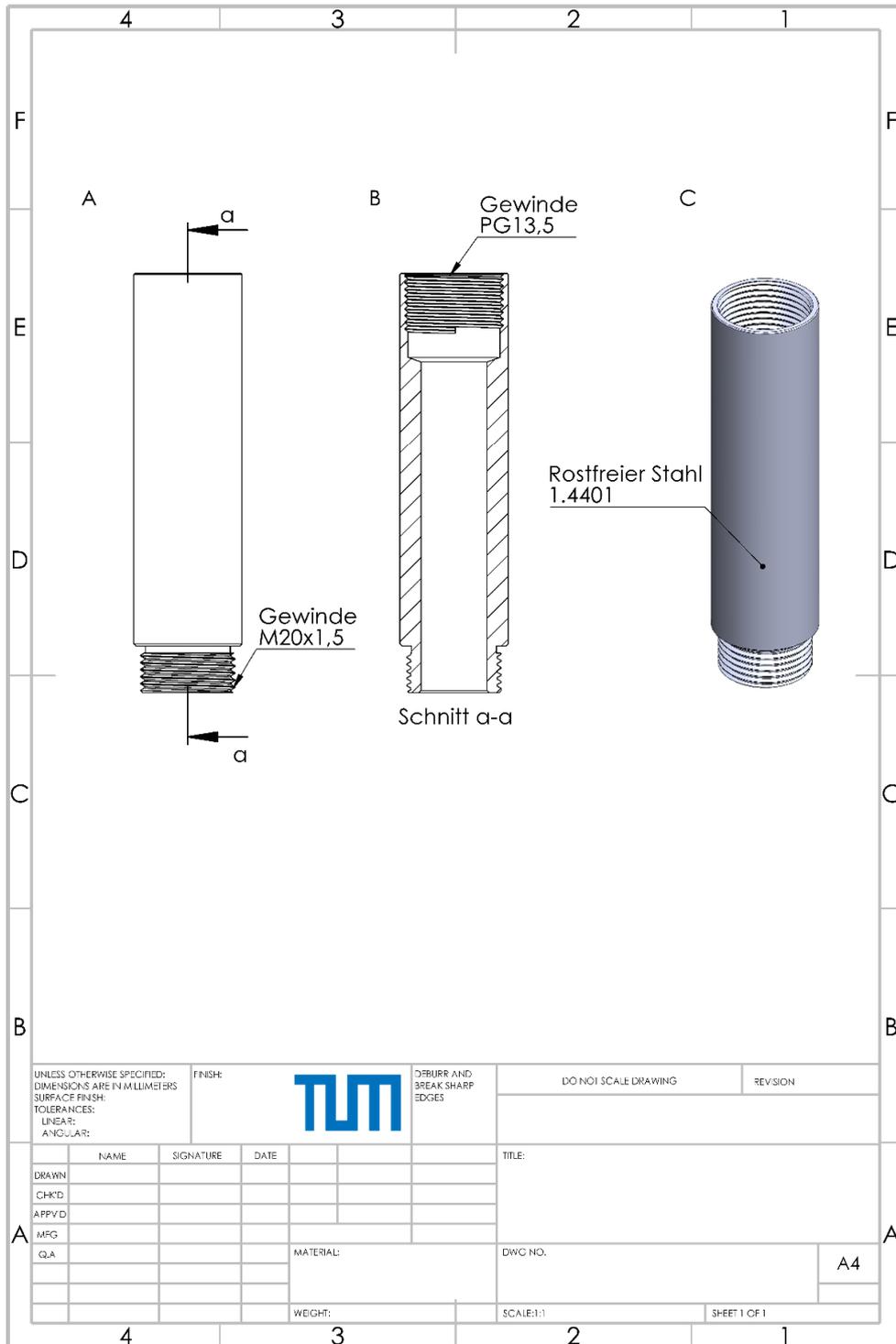


Abbildung A.7: Technische Zeichnung für Adapter am Beispiel des Adapters für das Einführen der pH-Sonde: A, Ansicht von vorne; B, Querschnitt; C, trimetrische Ansicht. Dimensionen sind in Millimeter angegeben.

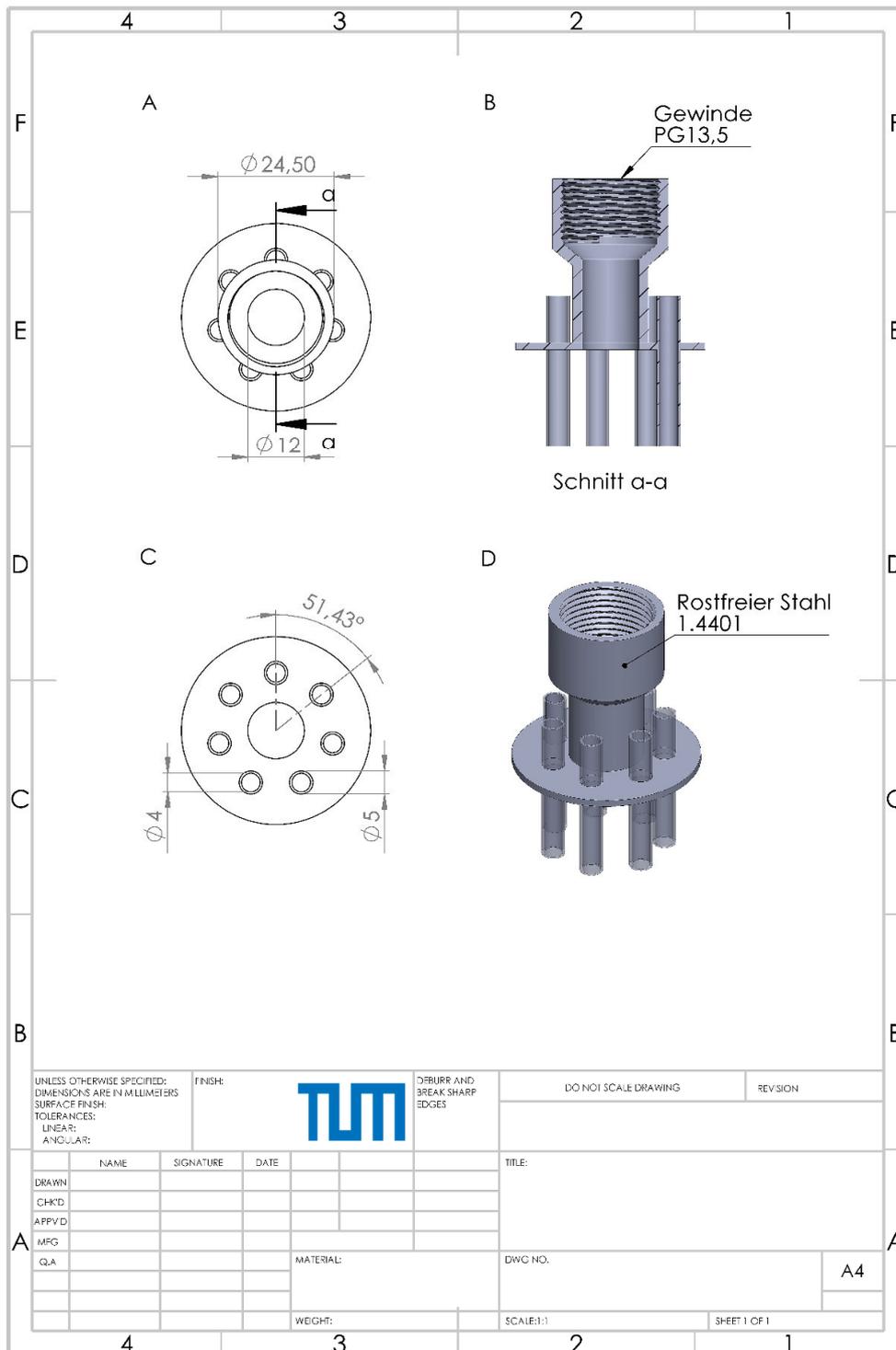


Abbildung A.8: Technische Zeichnung des Verschlusses des Sammelreservoirs mit pH-Regelung: A, Ansicht von oben; B, Querschnitt; C, Ansicht von unten; D, trimetrische Ansicht. Dimensionen sind in Millimeter angegeben.

A.3 Geräte, Materialien und Stammlösungen

A.3.1 Geräte

Tabelle A.2: Liste der verwendeten Geräte.

| Gerät | Spezifikation | Hersteller |
|---------------------------------------|---|---|
| 2D-photooptische Sonde | SOPAT Sonde PA_02 | SOPAT GmbH |
| Anaerobwerkbank | MB-Labstar ECO; 1,5 Arbeitsplätze | M. Braun Inertgassysteme GmbH |
| Analysenwaage | Explorer E121245 (0,1 mg – 210 g) | Ohaus Corporation |
| Analysenwaage | Explorer E1N213 (5 g – 32 kg) | Ohaus Corporation |
| Analysenwaage | Scout Pro 4000 g | Ohaus Corporation |
| CO-Melder | GMA36 Pro mit EC Sensor MK174-7 CO (0-300ppm) | GfG Gesellschaft für Gerätebau mbH |
| CO-Sensor | ToxiRAE 3 CO 2000 | RAE Systems, Inc. |
| Digitaler Magnetrührer mit Heizung | D-6010 | neoLab Migge GmbH |
| Druckbeständige Peristaltikpumpe | Masterflex, L/S Digital Miniflex Pump, Model: 07525-20 | Cole-Parmer GmbH |
| Einstrahlphotometer | Spectronic Genesys 10S UV-Vis | ThermoFischer Scientific |
| Gasdichte Spritzen | 1701N, 10 µL | Hamilton Company |
| Gefriertrockner | Alpha 1-2 Ldplus | Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH |
| Heizpilz | WiseTherm heating mantle WHM 12015 | Witeg Labortechnik GmbH |
| Kleinlaborfermenter | KLF 2000; 3,7 L | Bioengineering AG |
| Leitfähigkeitssonde | LF413T | Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG |
| Leitfähigkeitssonde | LF 313T IDS | Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG |
| Magnetrührer | Variomag Monotherm | H+P Labortechnik GmbH |
| Manometer | Handmanometer | WIKA Alexander Wiegand SE & Co. KG |
| Massendurchflussmesser | F-111B-1K0-RGD-33-E | Bronkhorst High-Tech B.V |
| Massendurchflussregler | F-201CV-500-RGD-33-V | Bronkhorst High-Tech B.V |
| Micro-Gaschromatograph | 490 Micro-GC | Agilent <i>Technologies</i> |
| Peristaltikpumpe | Ismatec Reglo Digital | Cole-Parmer GmbH |
| Peristaltikpumpe | 501U | Watson-Marlow GmbH |
| Peristaltikpumpe (gegen Druck) | Masterflex, L/S Digital Miniflex Pump, Miniflex 2-Kanalkopf, 07525-20 | Cole-Parmer GmbH |
| pH-Meter (mobil) | PCE-PHD 2 | PCE Deutschland GmbH |
| pH-Sonde | nPro3100UD/120/Pt100 (für Einbau über Kopf) | Mettler-Toldeo GmbH |

Fortsetzung von Tabelle A.2.

| Gerät | Spezifikation | Hersteller |
|-----------------------------|---|-------------------------------|
| pH-Sonde | 405-DPAS-SC-K8S/150 | Mettler-Toldeo GmbH |
| Pipetten | Transferpette S 20-200 µL, 100-1.000 µL, 0-10 mL | Brand GmbH + Co. KG |
| Rasterelektronenmikroskop | JEOL JSM-5900LV | JEOL (Germany) GmbH |
| Sauerstoffmesssonde | OEC-PS7-YAU-YOD | Presens GmbH |
| Sauerstoffmesssonde | OIM-PS3-D12/L120-L2.5 | Presens GmbH |
| Säulenofen | Jet Stream (5-85 °C) | KNAUER GmbH |
| Schüttelinkubator | WiseCube WIS-20R | witeg Labortechnik GmbH |
| Schwingmühle | MM200 | RETSCH GmbH |
| Spiegelreflexkamera | Sony 65 Alpha, Sony SAL18-200mm | Sony Europe <i>Limited</i> |
| Sputter-Beschichtungsanlage | SCD 005 | BAL-TEC AG (Leica Biosystems) |
| Standautoklav | VX 150 | Systemc GmbH |
| Standautoklav | H+P Varioklav 500 EC-Z | H+P Labortechnik |
| Standzentrifuge | ROTIXA 50RS | Hettich GmbH & Co.KG |
| Trockenschrank | Universalschrank UN260 | Memmert GmbH + Co. KG |
| Vortexer | Vortex Mixer 7-2020 | neoLab Migge GmbH |
| Vortexer | Vortex-Genie 2 | Scientific Industries |
| Vortexer | Vortex Mixer 7-2020 | neoLab Migge GmbH |
| Wasserbad | GFL-1083 | GFL mbH |
| Wattmeter | Digital Power 2100 | Valhalla Scientific |
| Zulaufpumpe | Ismatec Reglo Digital | Cole-Parmer GmbH |

Tabelle A 3: Auflistung der Komponenten des Hochleistungsflüssigkeitschromatographen (HPLC).

| Komponente | Spezifikation | Hersteller |
|-------------|-----------------------------------|---|
| Autosampler | HPLC-Autosampler Plus | Finnigan Surveyor Thermo Fischer Scientific |
| Detektor | HPLC-RI-Detektor | Finnigan Surveyor Thermo Fischer Scientific |
| Manager | Smartline 5000 | Finnigan Surveyor Thermo Fischer Scientific |
| Pumpe | HPLC-LC Pumpe Plus | Finnigan Surveyor Thermo Fischer Scientific |
| Säulenofen | Jet Stream (5-85 °C) | KNAUER Wissenschaftliche Geräte GmbH |
| Software | Agilent EZChrom Elite | KNAUER Wissenschaftliche Geräte GmbH |
| Trennsäule | Aminex HPX-87H | Bio-Rad |
| Vorsäule | Micro-Guard Cation H Cartridge | Bio-Rad |

Tabelle A.4: Auflistung der Komponenten des Gaschromatographen.

| Komponente | Spezifikation | Hersteller |
|------------------------|-----------------------|----------------------|
| Mikro-Gaschromatograph | 490 Micro GC | Agilent Technologies |
| Trennsäule | 1m Cox HI-Säule | Agilent Technologies |
| Software | Open Lab CDS EZ Chrom | Agilent Technologies |

Tabelle A 5: Auflistung der Komponenten der Anaerobwerkbank.

| Komponente | Spezifikation | Hersteller |
|---------------------------|---|-------------------------------|
| Werkbank | MB Labstar (1450/780), Artikel 1500026 | M. Braun Inertgassysteme GmbH |
| O ₂ -EC-Sensor | Elektrochemischer Sensor (0-1.000ppm) MB-OX--SE1-EC-PLC, Artikel 1500680 | M. Braun Inertgassysteme GmbH |
| HEPA Filter | H13 mit 1 kg Aktivkohle, <i>inline</i> , Artikel 9004451 | M. Braun Inertgassysteme GmbH |
| Feuchtesensor | MB-MO-SE1-PLC (0-500ppm) | M. Braun Inertgassysteme GmbH |
| Vakuumpumpe | Drehschieberpumpe | M. Braun Inertgassysteme GmbH |
| Gasreinigungssystem | Kupferkatalysator+Molsieb | M. Braun Inertgassysteme GmbH |

A.3.2 Materialien

Tabelle A.6: Liste der verwendeten Materialien.

| Material | Spezifikation | Hersteller |
|-----------------------------------|---|---|
| Abgasfilter | Acro50; 0,2 µm (PTFE) | Pall <i>Corporation</i> |
| Anaerobflaschen | Duran Protect | DWK Life Sciences GmbH |
| BioMax™ | A1457 | Fluval Aquatics |
| Butylgummisepten | Durchmesser 30 mm | Gerätebau Ochs, e.K. |
| (Druck)pumpschlauch | Mflex Pharmed, #13 25' | Cole-Parmer GmbH |
| Eheim Substrat Pro™ | EAN 4011708250761 | EHEIM GmbH & Co. KG |
| Einmal-Injektions-Kanüle | Sterican 0,80x120mm/0,80x40mm | B. Braun Melsungen AG |
| Einmal-Injektions-Kanüle | BD Micolance 3 (0,60x30mm) | Becton, Dickinson and <i>Company Limited</i> |
| Einwegspritzen 1 mL | Omnifix-F | B. Braun Melsungen AG |
| Einwegspritzen 5/10/20 mL | BD Discardit II | Becton, Dickinson and <i>Company Limited</i> |
| Einwegspritzen 50 mL | BD Plastipak | Becton, Dickinson and <i>Company Limited</i> |
| Flexibles Stickstoffreservoir | Plastigas-Beutel mit Ventil, 10 L | Linde AG |
| Hungate Kulturröhrchen | 16 x 125 mm, mit Butylgummiseptum und Lochkappe | Dunn Labortechnik GmbH |
| Küvetten | Q-VETTES, halbmikro, Polystyrol | ratiolab GmbH |
| Lochkappen | für Gewinde GL45 | Gerätebau Ochs, e.K. |
| Mikrozentrifugiergefäße | safe-lock tubes, 1,5 mL | Eppendorf AG |
| Pipettenspitzen | 200 µL, 1.000 µL | Gilson Inc./Brand GmbH |
| Pumpschläuche (autoklavierbar) | 3-STP Pharmed (ID: 0,89/2,06/2,79) | Cole-Parmer GmbH |
| Reaktorseptum | Membran, 12 mm | Bioengineering AG |
| Ringförmige Sintermetallfritte | Technische Zeichnung siehe Abbildung A.6 | GKN Sinter Metals Filters GmbH |

Fortsetzung von Tabelle A.6.

| Material | Spezifikation | Hersteller |
|--|--|------------------------------|
| Rollrandflasche für HPLC-Analytik | N11; inkl. Aluminiumkappe mit Septum; 1,5 mL | Macherey-Nagel GmbH & Co. KG |
| Schnellverschlusskupplungen und Einstecktüllen | Messing vernickelt, NW 5, LW 4-6 | RIEGLER & Co. KG |
| Sera Biopur TM | Artikel 08420 | sera GmbH |
| Sera Siporax TM | Artikel 08472 | sera GmbH |
| Spritzenvorsatzfilter | Chromafil RC-20/15 MS, 0,2 µm | Macherey-Nagel GmbH & Co. KG |
| Spritzenvorsatzfilter (steril) | Celluloseacetatmembran Minisart, 0,2 µm | Sartorius AG |
| Trocknungsmittel | MulitDry | ThoMar OHG |
| Wilkins-Chalgren Anaerobmedium | Artikel CM0643 | Oxoid Limited |
| Zentrifugenbecher | Nalgene Centrifuge Bottle PPCO 1010, 1 L | Thermo Fisher Scientific |
| Zentrifugenröhrchen | 15 mL und 50 mL; steril | Greiner Bio-One GmbH |
| Zulufffilter | Acro 50 Filter, EMFLON II, 0,2 µm | Pall Corporation |

A.3.3 Chemikalien

Tabelle A.7: Liste aller verwendeten Chemikalien

| Chemikalie | Reinheit | CAS | Hersteller |
|---|----------|------------|------------------|
| $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | ≥98,0 % | 7783-85-9 | Carl Roth |
| 1-Butanol | ≥99,5 % | 71-36-3 | Carl Roth |
| 1-Hexanol | ≥99,0 % | 111-27-3 | Sigma Aldrich |
| 2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure | ≥99,5 % | 4432-31-9 | AppliChem |
| 2-Mercaptoethansulfonat-Natrium | ≥98,0 % | 19767-45-4 | Sigma Aldrich |
| Biotin | ≥98,5 % | 58-85-5 | Carl Roth |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | ≥99,5 % | 10035-04-8 | MercK KGaA |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | ≥99,0 % | 7791-13-1 | MercK KGaA |
| $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | - | 10026-24-1 | MercK KGaA |
| $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | ≥99,0 % | 10125-13-0 | MercK KGaA |
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | ≥99,0 % | 7758-99-8 | Carl Roth |
| D(+)-Glucose-Monohydrat | ≥99,5 % | 14431-43-7 | Carl Roth |
| D(+)-Glucose-Monohydrat | ≥99,5 % | 14431-43-7 | neoLab |
| D-Ca-Pantothenat | ≥98,0 % | 137-08-6 | Carl Roth |
| D-Fructose | ≥99,5 % | 57-48-7 | Carl Roth |
| Ethanol | ≥99,5 % | 64-17-5 | Carl Roth |
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | ≥99,5 % | 7782-63-0 | MercK KGaA |
| Folsäure | ≥96,0 % | 59-30-3 | Carl Roth |
| H_3BO_3 | ≥99,8 % | 10043-35-3 | MercK KGaA |
| Hefeextrakt | - | - | Becton Dickinson |

Fortsetzung von Tabelle A.7

| Chemikalie | Reinheit | CAS | Hersteller |
|--|-----------------|-------------|-------------------|
| Hefeextrakt, mikrogranuliert | - | 8013-01-2 | Carl Roth |
| Hexansäure | ≥99,5 % | 142-62-1 | Sigma Aldrich |
| K ₂ HPO ₄ | ≥99,0 % | 7758-11-4 | Carl Roth |
| KAl(SO ₄) · 12H ₂ O | ≥99,0 % | 7784-24-9 | Carl Roth |
| KCl | - | 7447-40-7 | Carl Roth |
| KH ₂ PO ₄ | - | 7778-77-0 | neoFroxx |
| KOH | - | 1310-58-3 | neoFroxx |
| Kresolrot | zur Analyse | 1733-12-6 | Carl Roth |
| L-Cystein Hydrochlorid | ≥99,0 % | 52-89-1 | Carl Roth |
| Liponsäure | - | 1077-28-7 | Carl Roth |
| MgSO ₄ · 7H ₂ O | ≥99,0 % | 10034-99-8 | Carl Roth |
| MnSO ₄ · H ₂ O | ≥99,0 % | 10034-96-5 | Carl Roth |
| Myoglobin (Pferdeherz) | ≥99,5 % | 100684-32-0 | Sigma Aldrich |
| Na ₂ HPO ₄ | ≥99,0 % | 7558-79-4 | MercK KGaA |
| Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O | ≥99,5 % | 10102-40-6 | MercK KGaA |
| Na ₂ S ₂ O ₄ | 85,0 % | 7775-14-6 | Sigma Aldrich |
| Na ₂ SeO ₃ | ≥99,0 % | 10102-18-8 | Sigma Aldrich |
| Na ₂ SeO ₄ | - | 13410-01-0 | Sigma Aldrich |
| Na ₂ WO ₄ · 2H ₂ O | ≥99,5 % | 10213-10-2 | Sigma Aldrich |
| NaCl | - | 7647-14-5 | neoFroxx |
| NaHCO ₃ | ≥99,5 % | 144-55-8 | Carl Roth |
| NaOH (3 M) | - | 1310-73-2 | neoFroxx |
| Natriumacetat | ≥99,5 % | 127-09-3 | Carl Roth |
| Natriumacetat Trihydrat | ≥99,0 % | 6131-90-4 | Carl Roth |
| Natriumbutyrat | ≥98,0 % | 156-54-7 | Alfa Aeser |
| Natriumformiat | ≥99,0 % | 141-53-7 | Sigma Aldrich |
| NH ₄ Cl | ≥99,0 % | 12125-02-9 | Carl Roth |
| Niacin | - | 59-67-6 | Sigma Aldrich |
| NiCl ₂ · 6H ₂ O | ≥98,0 % | 7791-20-0 | MercK KGaA |
| Nitrilotriessigsäure | ≥99,0 % | 139-13-9 | Carl Roth |
| p-Aminobenzoessäure | - | 150-13-0 | MercK KGaA |
| Pyridoxin Hydrochlorid | ≥99,0 % | 58-56-0 | Carl Roth |
| Riboflavin | ≥97,0 % | 83-88-5 | Carl Roth |
| Thiamin Hydrochlorid | ≥99,0 % | 67-03-8 | Sigma Aldrich |
| Vitamin B12 (Cyanocobalamin) | ≥96,0 % | 68-19-9 | Carl Roth |
| ZnSO ₄ · 7H ₂ O | ≥99,5 % | 7446-20-0 | MercK KGaA |

Tabelle A.8: Spezifikationen der verwendeten Reinstgase.

| Gas | Reinheit, % | Bezeichnung | Produktnummer | Lieferant |
|-----------------|-------------|-----------------------------------|-----------------|-------------|
| CO | 99,995 % | Kohlenstoffdioxid N45 50L | P0760L50R 0A001 | Air Liquide |
| CO ₂ | 99,970 % | Kohlenstoffmonoxid N37 40L200b | P0752L40R2A001 | Air Liquide |
| H ₂ | 99,999 % | Wasserstoff5.0 50L300b | P1713L50R 3A001 | Air Liquide |
| N ₂ | 99,999 % | Stickstoff 5.0 0L300b | P0271L50R 2A001 | Air Liquide |

A.3.4 Stammlösungen

Tabelle A.9: Konzentrationen der Komponenten der Spurenelementstammlösungen der Prozessmedien für *Clostridium acetivum* (CA) beziehungsweise *Clostridium carboxidivorans* (CC).

| Komponenten der Spurenelementlösung | CA, mg L ⁻¹ | CC, mg L ⁻¹ | Reinheit | CAS | Hersteller |
|---|---------------------------|---------------------------|----------|------------|---------------|
| (NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ · 6H ₂ O | - | 1,10 | ≥98,0 % | 7783-85-9 | Carl Roth |
| CaCl ₂ · 2H ₂ O | 0,10 | - | ≥99,5 % | 10035-04-8 | Merck KGaA |
| CoCl ₂ · 6H ₂ O | - | 0,37 | ≥99,0 % | 7791-13-1 | Merck KGaA |
| CoSO ₄ · 7H ₂ O | 0,18 | - | - | 10026-24-1 | Merck KGaA |
| CuCl ₂ · 2H ₂ O | - | 0,03 | ≥99,0 % | 10125-13-0 | Merck KGaA |
| CuSO ₄ · 5H ₂ O | 0,01 | - | ≥99,0 % | 7758-99-8 | Carl Roth |
| FeSO ₄ · 7H ₂ O | 0,10 | - | ≥99,5 % | 7782-63-0 | Merck KGaA |
| H ₃ BO ₃ | 0,01 | - | ≥99,8 % | 10043-35-3 | Merck KGaA |
| KAl(SO ₄) ₃ · 12H ₂ O | 0,02 | - | ≥99,0 % | 7784-24-9 | Carl Roth |
| MgSO ₄ · 7H ₂ O | 3,00 | - | ≥99,0 % | 10034-99-8 | Carl Roth |
| MnSO ₄ · H ₂ O | 0,50 | 1,12 | ≥99,0 % | 10034-96-5 | Carl Roth |
| Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O | 0,01 | 0,02 | ≥99,5 % | 10102-40-6 | Merck KGaA |
| Na ₂ SeO ₃ | 3 · 10 ⁻⁴ | - | ≥99,0 % | 10102-18-8 | Sigma Aldrich |
| Na ₂ SeO ₄ | - | 0,02 | - | 13410-01-0 | Sigma Aldrich |
| Na ₂ WO ₄ · 2H ₂ O | 4 · 10 ⁻⁴ | 0,02 | ≥99,5 % | 10213-10-2 | Sigma Aldrich |
| NaCl | 1,00 | - | - | 7647-14-5 | neoFroxx |
| NiCl ₂ · 6H ₂ O | 0,03 | 0,04 | ≥98,0 % | 7791-20-0 | Merck KGaA |
| Nitrilotriessigsäure | 1,50 | 2,00 | ≥99,0 % | 139-13-9 | Carl Roth |
| ZnSO ₄ · 7H ₂ O | 0,18 | 0,36 | ≥99,5 % | 7446-20-0 | Merck KGaA |

Tabelle A.10: Konzentrationen der Komponenten in den Vitaminstammlösungen der Prozessmedien für *Clostridium acetivum* (CA) beziehungsweise *Clostridium carboxidivorans* (CC).

| Komponenten der Vitaminlösung | CA, mg L ⁻¹ | CC, mg L ⁻¹ | Reinheit | CAS | Hersteller |
|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------|------------|---------------|
| 2-Mercaptoethansulfonat- Natrium | - | 0,023 | ≥98,0 % | 19767-45-4 | Sigma Aldrich |
| Biotin | 2,00 | 0,002 | ≥98,5 % | 58-85-5 | Carl Roth |

Fortsetzung von Tabelle A.10.

| Komponenten der Vitaminlösung | CA, mg L ⁻¹ | CC, mg L ⁻¹ | Reinheit | CAS | Hersteller |
|---------------------------------|------------------------|------------------------|----------|-----------|---------------|
| D-Ca-Pantothenat | 5,00 | 0,005 | ≥98,0 % | 137-08-6 | Carl Roth |
| Folsäure | 2,00 | 0,002 | ≥96,0 % | 59-30-3 | Carl Roth |
| Liponsäure | 5,00 | 0,005 | - | 1077-28-7 | Carl Roth |
| Niacin | 5,00 | 0,005 | - | 59-67-6 | Sigma Aldrich |
| p-Aminobenzoesäure | 5,00 | 0,005 | - | 150-13-0 | Merck KGaA |
| Pyridoxin Hydrochlorid | 10,00 | 0,012 | ≥99,0 % | 58-56-0 | Carl Roth |
| Riboflavin | 5,00 | 0,005 | ≥97,0 % | 83-88-5 | Carl Roth |
| Thiamin Hydrochlorid | 5,00 | 0,006 | ≥99,0 % | 67-03-8 | Sigma Aldrich |
| Vitamin B12 (Cyanocobalamin) | 0,10 | 0,005 | ≥96,0 % | 68-19-9 | Carl Roth |

Tabelle A.11: Konzentrationen der Stammlösungen für Gasfermentationen mit *Clostridium acetivum* (CA) beziehungsweise *Clostridium carboxidivorans* (CC).

| Stammlösungen | CA, g L ⁻¹ | CC, g L ⁻¹ | Reinheit | CAS | Hersteller |
|-------------------------|-----------------------|-----------------------|----------|------------|------------|
| D(+)-Glucose-Monohydrat | - | 275,00 | ≥99,5 % | 14431-43-7 | Carl Roth |
| D-Fructose | 250,00 | - | ≥99,5 % | 57-48-7 | Carl Roth |
| KCl (3 M) | 223,65 | 223,65 | - | 7447-40-7 | Carl Roth |
| KOH (10 M) | 561,06 | - | - | 1310-58-3 | neoFroxx |
| L-Cystein Hydrochlorid | 50,00 | 50,00 | ≥99,0 % | 52-89-1 | Carl Roth |
| NaOH (3 M) | - | 120,00 | - | 1310-73-2 | neoFroxx |

Tabelle A.12: Komponenten des (anaeroben) Phosphatpuffers. Für den anaeroben Phosphatpuffer wurden die Komponenten unter Sauerstoffatmosphäre eingewogen, dann in die Anaerobwerkbank eingeschleust und anschließend mit anaerobem, vollentsalztem Wasser die gewünschte Konzentration eingestellt.

| (Anaerobe) phosphat-gepufferte Salzlösung (PBS) | c, g L ⁻¹ | Reinheit | CAS | Hersteller |
|---|----------------------|----------|-----------|------------|
| KCl | 0,20 | - | 7447-40-7 | Carl Roth |
| KH ₂ PO ₄ | 0,24 | - | 7778-77-0 | neoFroxx |
| Na ₂ HPO ₄ | 1,42 | ≥99,0 % | 7558-79-4 | Merck KGaA |
| NaCl | 8,00 | - | 7647-14-5 | neoFroxx |

Tabelle A 13: Komponenten des Myoglobin-Tests.

| Komponente | c, g L ⁻¹ | Reinheit | CAS | Hersteller |
|--|----------------------|----------|-------------|---------------|
| Myoglobin (Pferdeherz) | ~0,16 | ≥99,5 % | 100684-32-0 | Sigma Aldrich |
| Na ₂ S ₂ O ₄ (0,85 M) | 14,80 | 85,0 % | 7775-14-6 | Sigma Aldrich |
| Phosphatpuffer (PBS, pH 7,0) | | | | |
| K ₂ HPO ₄ | 10,71 | ≥99,0 % | 7758-11-4 | Carl Roth |
| KH ₂ PO ₄ | 5,24 | - | 7778-77-0 | neoFroxx |

Tabelle A 14: Chemikalien der externen Standards für die HPLC-Kalibrierung.

| Chemikalie | Reinheit | CAS | Hersteller |
|-------------------------|-----------------|------------|-------------------|
| 1-Butanol | ≥99,5 % | 71-36-3 | Carl Roth |
| 1-Hexanol | ≥99,0 % | 111-27-3 | Sigma Aldrich |
| D(+)-Glucose-Monohydrat | ≥99,5 % | 14431-43-7 | neoLab |
| Ethanol | ≥99,5 % | 64-17-5 | Carl Roth |
| Hexansäure | ≥99,5 % | 142-62-1 | Sigma Aldrich |
| Natriumacetat | ≥99,5 % | 127-09-3 | Carl Roth |
| Natriumacetat Trihydrat | ≥99,0 % | 6131-90-4 | Carl Roth |
| Natriumbutyrat | ≥98,0 % | 156-54-7 | Alfa Aeser |
| Natriumformiat | ≥99,0 % | 141-53-7 | Sigma Aldrich |

A.4 Betriebsbedingungen der Langzeitstudien in den Biofilmreaktoren

Im Rahmen dieser Arbeit wurden drei Langzeitstudien mit dem acetogenen Bakterium *Clostridium aceticum* (Langzeitstudien „A, B und C“) und eine mit *Clostridium carboxidivorans* (Langzeitstudie „D“) durchgeführt. Während jeder dieser Langzeitstudien wurden unterschiedliche Betriebsbedingungen eingestellt. Unter anderem wurden die Zulaufrate, der Eingangspartialdruck des gasförmigen Substrates und der Eingangsgasvolumenstrom verändert, um den Einfluss der Betriebsbedingungen auf die Prozessleistung acetogener Mikroorganismen zur autotrophen Umsetzung von Synthesegas im Festbettbiofilmreaktor und im Rieselbettbiofilmreaktor bei unterschiedlicher Prozessführung zu quantifizieren und zu beurteilen.

Die Betriebsbedingungen der vier Langzeitstudien sind in Tabelle A.15 bis Tabelle A.18 zusammengefasst:

Die Bezeichnung (#) der jeweiligen Langzeitstudie ist mit der Studiennummer (A, B, C oder D) als Präfix und chronologisch nach dem zeitlichen Verlauf der Untersuchungen mit einer Nummer versehen. Als Zeitpunkt null Tage („0,00 d“) wurde der Zeitpunkt der Inokulation definiert. Der jeweilige Startzeitpunkt (Start) der „Teilexperimente“ der Langzeitstudien wurde als der Zeitpunkt definiert, an dem alle Betriebsbedingungen eingestellt waren und der Prozess stabil war. Als Endzeitpunkt (Ende) der „Teilexperimente“ der Langzeitstudien wurde der Zeitpunkt definiert, ab dem die Prozessbedingungen verändert wurden. Die Zeit zwischen dem Endzeitpunkt und dem Startzeitpunkt ist die Umrüstzeit (Änderung der Betriebsbedingung).

Untersuchungen, die in dieser Arbeit nicht diskutiert wurden, sind in grauer Farbe dargestellt. Untersuchungen bei identischen Betriebsbedingungen im Laufe der Langzeitstudien mit *C. aceticum* oder *C. carboxidivorans* sind hervorgehoben, in blau, in grün beziehungsweise rot dargestellt.

Tabelle A.15: Prozessbedingungen von „Langzeitstudie A“: $V_R = 2,5 \text{ L}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; pH 8; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 3:12:10. Abkürzungen: PBR, Festbettbiofilmreaktor (engl. *packed-bed biofilm reactor*); b, Satzbetrieb (engl. *batch*); c, kontinuierliche Prozessführung (engl. *continuous*); G_{ein} , kontinuierlicher Gasvolumenstrom; L, Medien-Zulauftrate.

| # | Reaktor | Dauer, h | Start, d | Ende, d | L, mL min^{-1} |
|-----------|-------------|--------------|-------------|-------------|----------------------------|
| A1 | PBRb | 24,05 | 0,00 | 1,00 | - |
| A2 | PBRc | 175,40 | 1,00 | 8,33 | 2,93 |
| A3 | PBRc | 102,53 | 8,36 | 12,63 | 2,05 |
| A4 | PBRc | 203,08 | 12,65 | 21,11 | 1,03 |

Tabelle A.16: Prozessbedingungen von „Langzeitstudie B“ bei 30 °C; 1 bar; $p_{\text{CO}_2,\text{ein}} = 120$ mbar ohne Lochplatte und N_2 als Inertgas. Abkürzungen: PBR, Festbettbiofilmreaktor (engl. *packed-bed biofilm reactor*); TBR, Rieselbettbiofilmreaktor (engl. *trickle-bed biofilm reactor*) b, Satzbetrieb (engl. *batch*); c, kontinuierliche Prozessführung (engl. *continuous*); G_{ein} , kontinuierlicher Gasvolumenstrom; $p_{\text{H}_2,\text{ein}}$, H_2 -Partialdruck am Eingang; $p_{\text{H}_2,\text{ein}}$, CO_2 -Partialdruck am Eingang; V_{R} , Arbeitsvolumen; L, Medien-Zulauftrate. Bei den Untersuchungen B3, B4 und B5 wurde das Zulaufmedium ohne die Zugabe von 10 mL L^{-1} 10 M KOH zubereitet.

| # | Reaktor | Dauer, h | Start, d | Ende, d | G_{ein} , L h^{-1} | $p_{\text{H}_2,\text{ein}}$, mbar | V_{R} , L | L, mL min^{-1} | pH_{ein} , - |
|------------|-------------|---------------|--------------|--------------|---|---------------------------------------|-----------------------|----------------------------|---------------------------------|
| B1 | PBRb | 24,52 | 0,00 | 1,02 | 22,50 | 480 | 2,25 | - | 8,00 |
| B2 | PBRc | 104,52 | 1,03 | 5,38 | 22,50 | 480 | 2,25 | 2,93 | 8,00 |
| B3 | TBRc | 25,27 | 5,40 | 6,45 | 6,25 | 480 | - | 2,93 | 7,89 |
| B4 | TBRc | 36,07 | 6,48 | 7,98 | 6,25 | 480 | - | 2,05 | 8,13 |
| B5 | TBRc | 71,37 | 8,02 | 10,99 | 6,25 | 480 | - | 1,03 | 7,93 |
| B6 | PBRb | 25,00 | 11,02 | 12,06 | 22,50 | 480 | 2,25 | - | 8,00 |
| B7 | TBRc | 25,78 | 12,07 | 13,14 | 6,25 | 480 | - | 2,93 | 8,12 |
| B8 | TBRc | 25,55 | 13,18 | 14,25 | 6,25 | 816 | - | 2,93 | 8,00 |
| B9 | TBRc | 40,55 | 14,35 | 16,04 | 6,25 | 816 | - | 2,05 | 8,20 |
| B10 | TBRc | 19,37 | 16,04 | 16,85 | 6,25 | 480 | - | 2,05 | 8,20 |
| B11 | TBRc | 58,47 | 16,88 | 19,32 | 6,25 | 816 | - | 1,03 | 8,15 |
| B12 | TBRc | 64,40 | 19,32 | 22,00 | 6,25 | 480 | - | 1,03 | 8,34 |
| B13 | TBRc | 26,83 | 22,02 | 23,14 | 6,25 | 480 | - | 2,93 | 8,17 |
| B14 | TBRc | 76,60 | 23,15 | 26,34 | 1,05 | 476 | - | 1,03 | 8,07 |
| B15 | TBRc | 17,22 | 26,34 | 27,06 | 1,05 | 476 | - | 0,40 | 8,07 |
| B16 | TBRc | 25,75 | 27,09 | 28,16 | 1,05 | 476 | - | 2,93 | 8,23 |
| B17 | TBRc | 19,13 | 28,18 | 28,98 | 1,05 | 476 | - | 2,05 | 8,21 |
| B18 | TBRc | 4,38 | 28,99 | 29,17 | 6,25 | 476 | - | 10,00 | 8,21 |
| B19 | PBRb | 21,72 | 29,19 | 30,09 | 22,50 | 480 | 2,25 | - | 8,00 |

Tabelle A.17: Prozessbedingungen von „Langzeitstudie C“ bei 30 °C; 1 bar; $p_{\text{CO}_2,\text{ein}}$ = 120 mbar ohne Lochplatte und N₂ als Inertgas. Abkürzungen: PBR, Festbettbiofilmreaktor (engl. *packed-bed biofilm reactor*); TBR, Rieselbettbiofilmreaktor (engl. *trickle-bed biofilm reactor*) b, Satzbetrieb (engl. *batch*); c, kontinuierliche Prozessführung (engl. *continuous*); G_{ein} , kontinuierlicher Gasvolumenstrom; $p_{\text{H}_2,\text{ein}}$, H₂-Partialdruck am Eingang; $p_{\text{CO}_2,\text{ein}}$, CO₂-Partialdruck am Eingang; P, Gesamtdruck; V_{R} , Arbeitsvolumen; L, Medien-Zulauftrate; pH-F, Medienzulauf über Medien-Sammelbehälter zur Medienzirkulation und/oder pH-Kontrolle (siehe Abbildung 4.5); Z, Medienzirkulation über die Sammelbehälter mit einer Zirkulationsflussrate von 10 mL min⁻¹ und pH Regelung des zirkulierten Mediums zu pH 8.

| # | Reaktor | Dauer, h | Start, d | Ende, d | G_{ein} , L h ⁻¹ | $p_{\text{H}_2,\text{ein}}$, mbar | P, bar | V_{R} , L | L, mL min ⁻¹ | $p_{\text{H}_{\text{ein}}}$, - | Notiz, |
|------------|-------------|--------------|--------------|--------------|---|---------------------------------------|-------------|-----------------------|----------------------------|------------------------------------|------------------|
| C1 | PBRb | 24,60 | 0,00 | 1,03 | 22,50 | 480 | 1,00 | 2,25 | - | 8,00 | |
| C2 | PBRc | 120,10 | 1,03 | 6,03 | 22,50 | 480 | 1,00 | 2,25 | 2,64 | 8,00 | |
| C3 | PBRc | 71,03 | 6,07 | 9,03 | 22,50 | 480 | 3,46 | 2,25 | 2,64 | 8,00 | |
| C4 | PBRc | 71,64 | 9,03 | 12,01 | 22,50 | 816 | 3,46 | 2,25 | 2,64 | 8,00 | |
| C5 | PBRc | 72,08 | 12,01 | 15,02 | 22,50 | 1.656 | 3,46 | 2,25 | 2,64 | 8,00 | P |
| C6 | PBRc | 71,03 | 15,02 | 17,97 | 22,50 | 2.496 | 3,46 | 2,25 | 2,64 | 8,00 | |
| C7 | PBRc | 71,03 | 17,97 | 20,93 | 22,47 | 3.340 | 3,46 | 2,25 | 2,64 | 8,00 | |
| C8 | PBRc | 71,49 | 20,99 | 23,97 | 22,50 | 480 | 1,00 | 2,25 | 2,64 | 8,00 | |
| C9 | TBRc | 26,50 | 23,98 | 25,09 | 6,25 | 480 | 1,00 | - | 2,93 | 8,25 | |
| C10 | TBRc | 26,52 | 25,09 | 26,19 | 4,17 | 480 | 1,00 | - | 2,93 | 8,25 | |
| C11 | TBRc | 26,55 | 26,19 | 27,30 | 3,13 | 480 | 1,00 | - | 2,93 | 8,25 | pH-F |
| C12 | TBRc | 26,50 | 27,30 | 28,41 | 2,08 | 480 | 1,00 | - | 2,93 | 8,25 | |
| C13 | TBRc | 26,53 | 28,41 | 29,51 | 1,05 | 478 | 1,00 | - | 2,93 | 8,25 | |
| C14 | TBRc | 60,42 | 29,52 | 32,03 | 6,25 | 480 | 1,00 | - | 1,03 | 8,25 | |
| C15 | TBRc | 53,03 | 32,04 | 34,25 | 6,25 | 480 | 1,00 | - | 1,03 | 8,40 | pH-F |
| C16 | PBRb | 41,32 | 34,26 | 35,98 | 22,50 | 480 | 1,00 | 2,25 | - | 8,00 | |
| C17 | TBRc | 52,55 | 36,01 | 38,20 | 6,25 | 480 | 1,00 | - | 2,93 | 8,091 | |
| C18 | TBRc | 26,78 | 38,20 | 39,31 | 4,17 | 480 | 1,00 | - | 2,93 | 8,06 | |
| C19 | TBRc | 38,83 | 39,32 | 40,93 | 3,13 | 480 | 1,00 | - | 2,93 | 8,02 | G_{ein} |
| C20 | TBRc | 26,49 | 40,93 | 42,04 | 2,08 | 480 | 1,00 | - | 2,93 | 8,03 | |
| C21 | TBRc | 26,50 | 42,04 | 43,14 | 1,05 | 476 | 1,00 | - | 2,93 | 8,05 | |
| C22 | PBRc | 67,86 | 43,18 | 46,01 | 22,50 | 480 | 1,00 | 2,25 | 2,64 | 8,00 | |
| C23 | PBRc | 179,49 | 46,01 | 53,49 | 22,50 | 480 | 1,00 | 2,25 | 0,40 | 8,00 | |
| C24 | PBRc | 68,75 | 53,51 | 56,37 | 22,50 | 816 | 1,00 | 2,25 | 2,64 | 8,00 | p_{H_2} |
| C25 | TBRc | 47,43 | 56,40 | 58,38 | 6,25 | 480 | 1,00 | - | 2,93 | 7,95 | |
| C26 | TBRc | 71,45 | 58,39 | 61,37 | 6,25 | 480 | 1,00 | - | 1,03 | 8,25 | |
| C27 | TBRc | 69,80 | 61,38 | 64,28 | 6,25 | 480 | 1,00 | - | 1,03 | 8,31 | pH |
| C28 | TBRc | 16,47 | 64,39 | 65,07 | 6,25 | 480 | 1,00 | 1,12 | 1,67 | 8,00 | Z |
| C29 | TBRc | 73,63 | 65,08 | 68,15 | 6,25 | 480 | 1,00 | 1,12 | 2,47 | 8,00 | Z |
| C30 | TBRc | 24,38 | 68,16 | 69,17 | 6,25 | 480 | 1,00 | - | 2,93 | 7,95 | |

Tabelle A.18: Prozessbedingungen von „Langzeitstudie D“ im Biofilmreaktor mit *C. carboxidivorans* bei Standardbedingungen (37 °C; $p_{H_0} = 6,0$; 1 bar; CO:CO₂ 4:1). Abkürzungen: PBR, Festbett-biofilmreaktor (engl. *packed-bed biofilm reactor*); TBR, Rieselbettbiofilmreaktor (engl. *trickle-bed biofilm reactor*) b, Satzbetrieb (engl. *batch*); c, kontinuierliche Prozessführung (engl. *continuous*); G_{ein} , kontinuierlicher Gasvolumenstrom; P, Gesamtdruck; V_R , Arbeitsvolumen; L, Medien-Zulaufrate; pH-F, Medienzulauf über Medien-Sammelbehälter zur Medienzirkulation und/oder pH-Kontrolle (siehe Abbildung 4.5); Z, Medienzirkulation über die Sammelbehälter mit einer Zirkulationsflussrate von 10 mL min⁻¹ und pH Regelung des zirkulierten Mediums zu pH 6. * Zusatz zu D15: CO:CO₂:N₂ 8:1:1.

| # | Reaktor | Dauer, h | Start, d | Ende, d | G_{ein} , L h ⁻¹ | P, bar | V_R , L | L, mL min ⁻¹ | pH _{Modus} , | Notiz, |
|-----|---------|-------------|-------------|------------|---|-----------|--------------|----------------------------|-----------------------|--------|
| D1 | PBRb | 50,20 | 0,00 | 2,09 | 11,25 | 1,00 | 2,25 | - | kontrolliert | |
| D2 | PBRc | 48,75 | 2,09 | 4,12 | 11,25 | 1,00 | 2,25 | 4,50 | kontrolliert | |
| D3 | PBRc | 48,55 | 4,13 | 6,15 | 11,25 | 1,00 | 2,25 | 4,50 | unkontrolliert | pH-F |
| D4 | PBRb | 45,35 | 6,16 | 8,05 | 11,25 | 1,00 | 2,25 | - | kontrolliert | |
| D5 | TBRc | 49,22 | 8,06 | 10,11 | 6,25 | 1,00 | - | 3,00 | unkontrolliert | pH-F |
| D6 | TBRc | 24,65 | 10,11 | 11,13 | 3,13 | 1,00 | - | 3,00 | unkontrolliert | pH-F |
| D7 | TBRc | 47,75 | 11,14 | 13,13 | 6,25 | 1,00 | - | 1,00 | unkontrolliert | pH-F |
| D8 | PBRb | 45,45 | 13,16 | 15,06 | 11,25 | 1,00 | 2,25 | - | kontrolliert | |
| D9 | TBRc | 49,22 | 15,10 | 17,15 | 6,25 | 1,00 | - | 3,00 | unkontrolliert | pH-F |
| D10 | TBRc | 5,50 | 17,16 | 17,39 | 6,25 | 1,00 | - | 10,00 | unkontrolliert | pH-F |
| D11 | TBRc | 41,72 | 17,41 | 19,15 | 6,25 | 1,00 | 1,12 | 2,25 | kontrolliert | Z |
| D12 | TBRb | 8,00 | 19,17 | 19,51 | 6,25 | 1,00 | - | - | kontrolliert | Z |
| D13 | PBRb | 70,38 | 19,57 | 22,51 | 11,25 | 1,00 | 2,25 | - | unkontrolliert | |
| D14 | PBRc | 41,85 | 22,62 | 24,37 | 11,25 | 1,00 | 2,25 | 4,50 | kontrolliert | |
| D15 | PBRb | 24,02 | 24,37 | 25,37 | *11,26 | 2,00 | 2,25 | - | kontrolliert | |
| D16 | PBRb | 70,15 | 25,42 | 28,35 | 11,25 | 1,00 | 2,25 | - | unkontrolliert | |

A.5 Weiterführende Ergebnisse

A.5.1 Blasendurchmesser

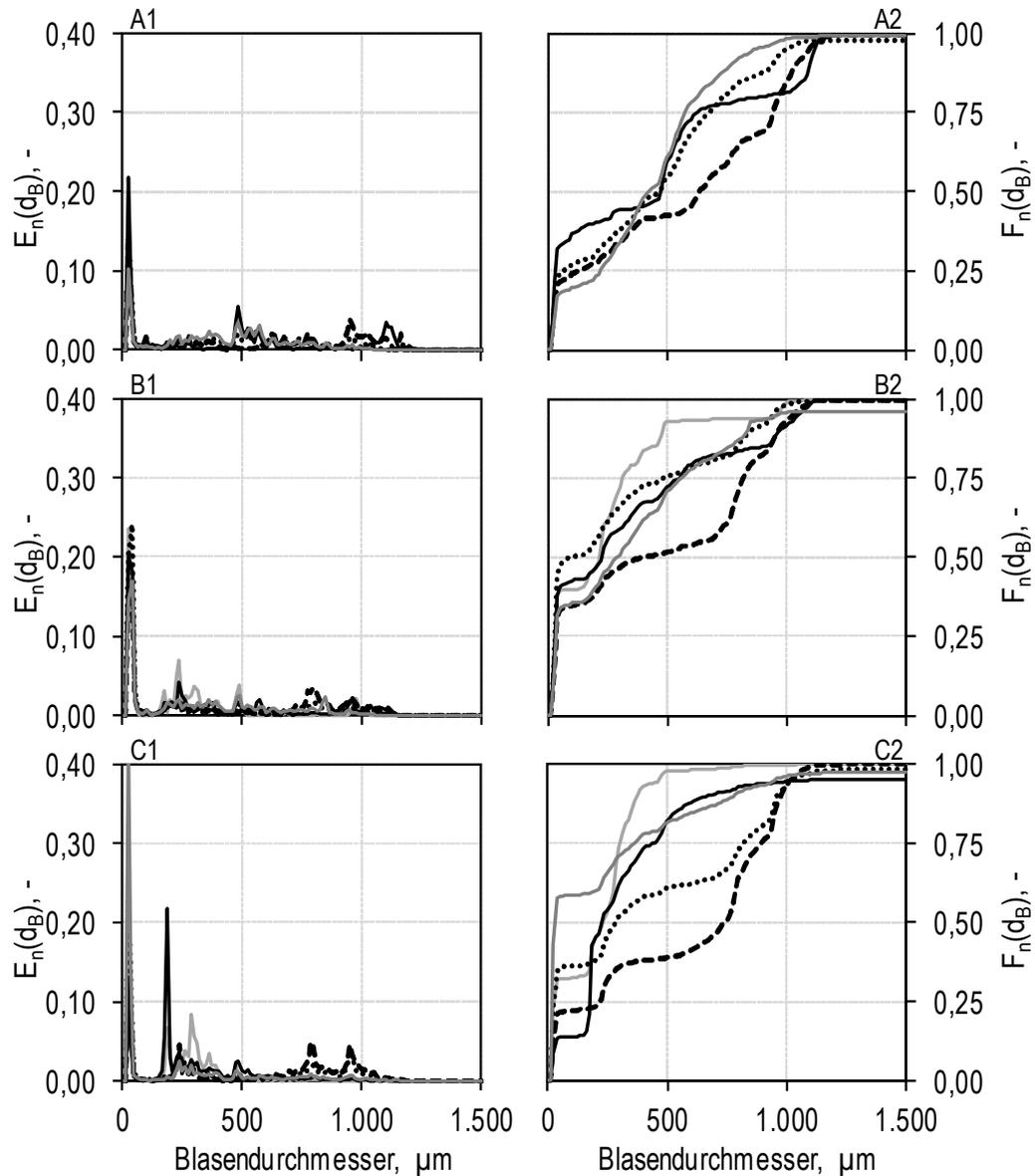
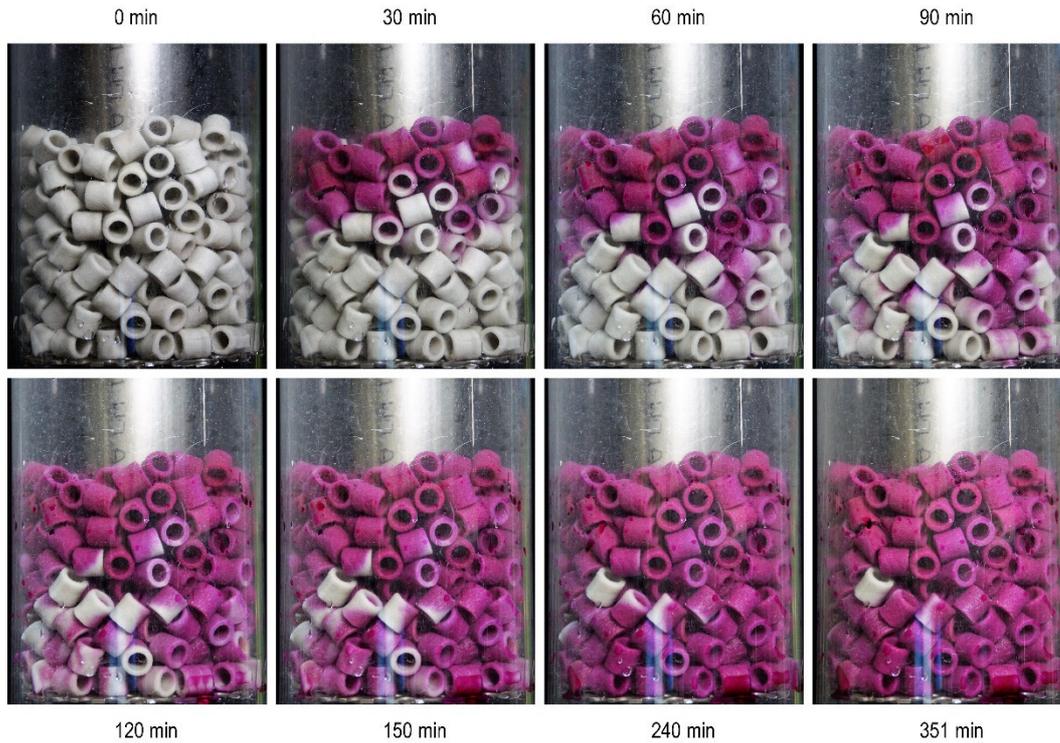
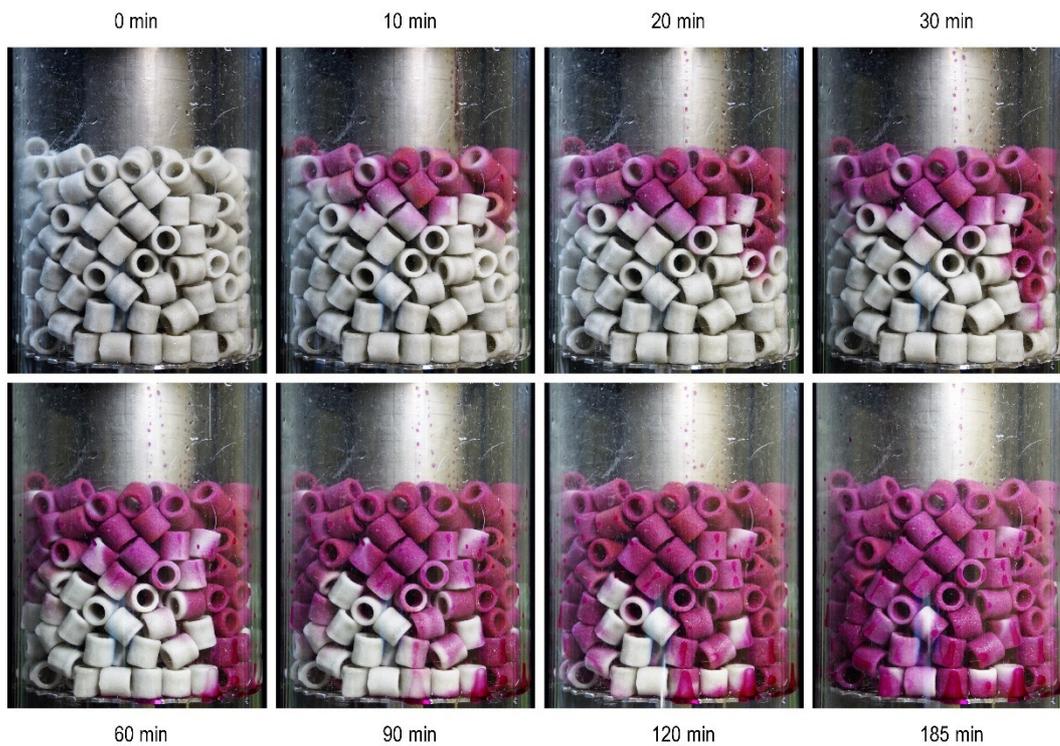


Abbildung A.9: Verweilzeitdichte- (1, $E_n(d_B)$) und Verweilzeitsummenfunktion (2, $F_n(d_B)$) der Blasendurchmesser im abiotischen Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf bei unterschiedlichen Bedingungen: A, Prozessmedium für *C. carboxidivorans*, 37 °C, pH 6, 1 bar, CO:CO₂ 4:1; B, Prozessmedium für *C. aceticum*, 30 °C, pH 8; CO:N₂ 1:9; C, CO₂:H₂:N₂ 3:12:10; hellgraue Volllinie, 2,5 L L⁻¹ h⁻¹; schwarze Volllinie, 5,0 L L⁻¹ h⁻¹; schwarze Strichlinie, 10,0 L L⁻¹ h⁻¹; schwarze Punktlinie, 15,0 L L⁻¹ h⁻¹; dunkelgraue Volllinie, 20,0 L L⁻¹ h⁻¹.

A.5.2 Benetzungsstudien im Rieselbettbiofilmreaktor

Abbildung A.10: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.Abbildung A.11: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $2,0 \text{ mL min}^{-1}$.

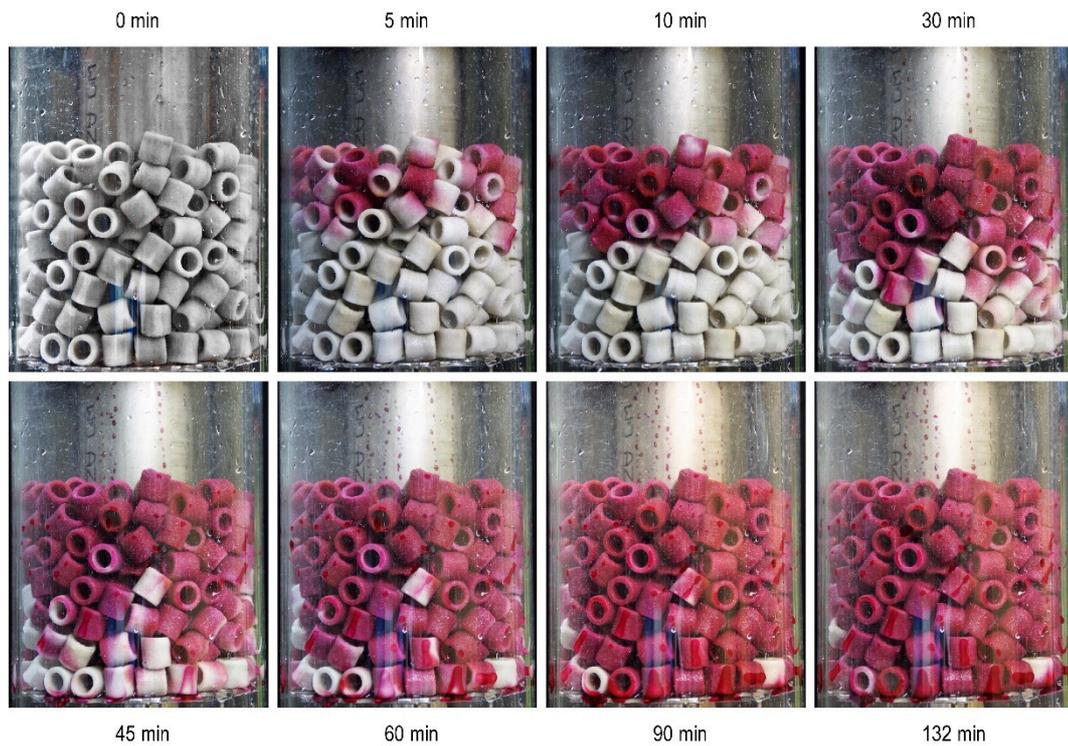


Abbildung A.12: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ in Triplikaten (Wiederholung 1/3)

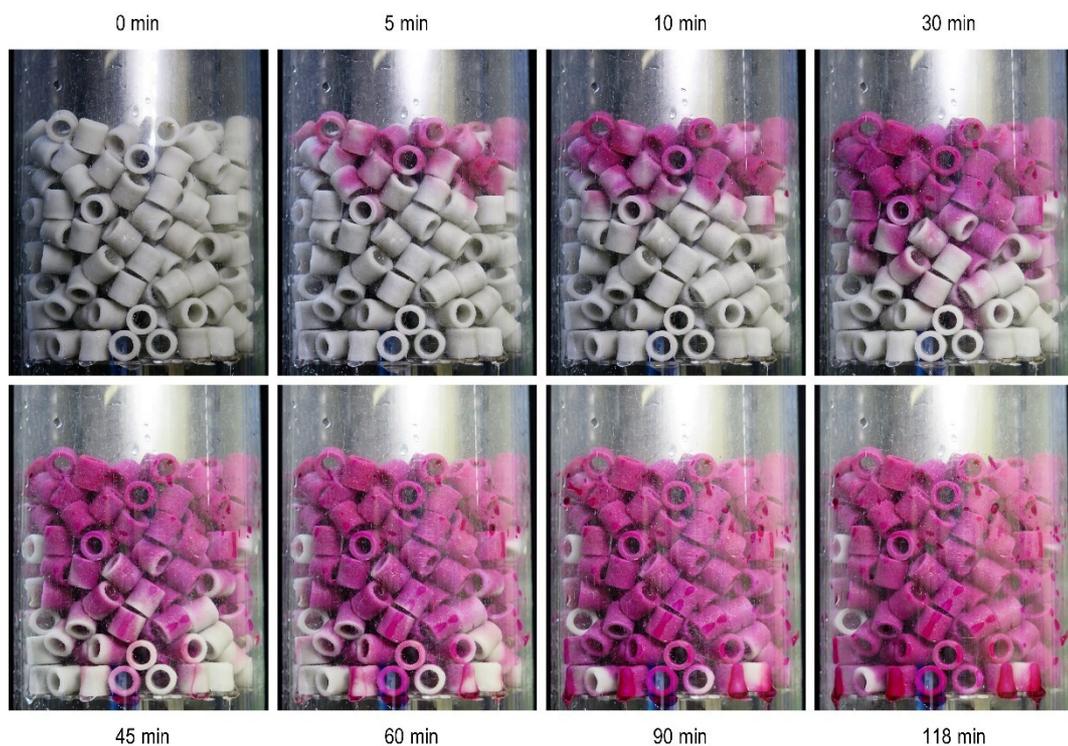


Abbildung A.13: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $3,1 \text{ mL min}^{-1}$ in Triplikaten (Wiederholung 2/3)

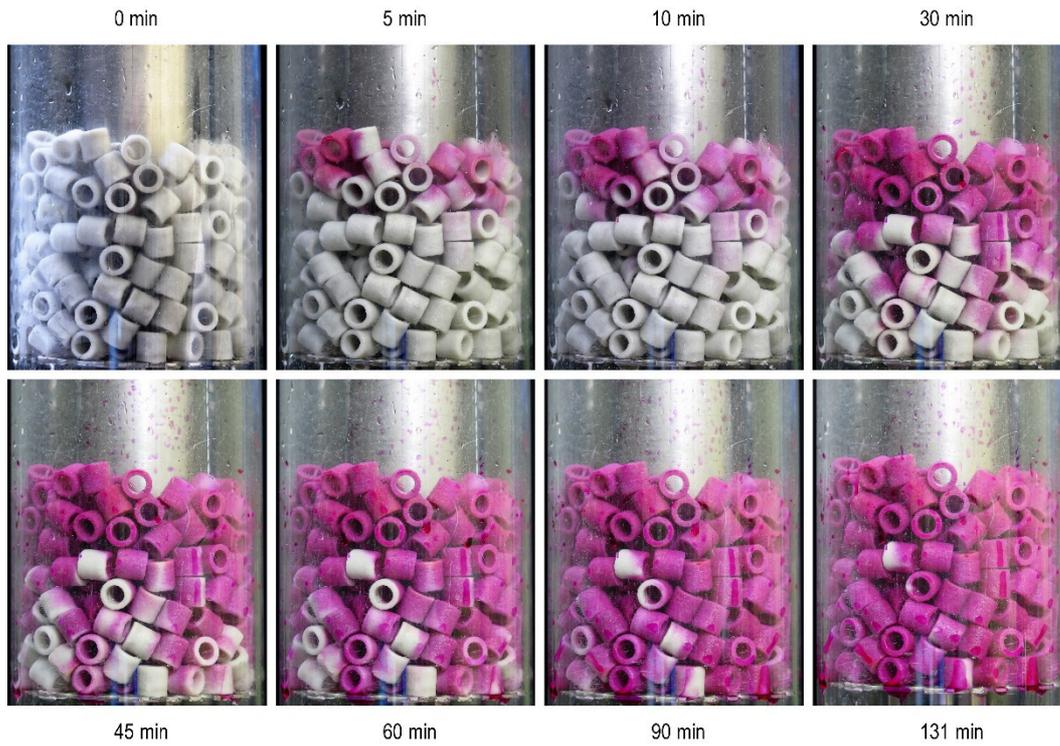


Abbildung A.14: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5. mit einer Zulauftrate von $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ in Triplikaten (Wiederholung 3/3)

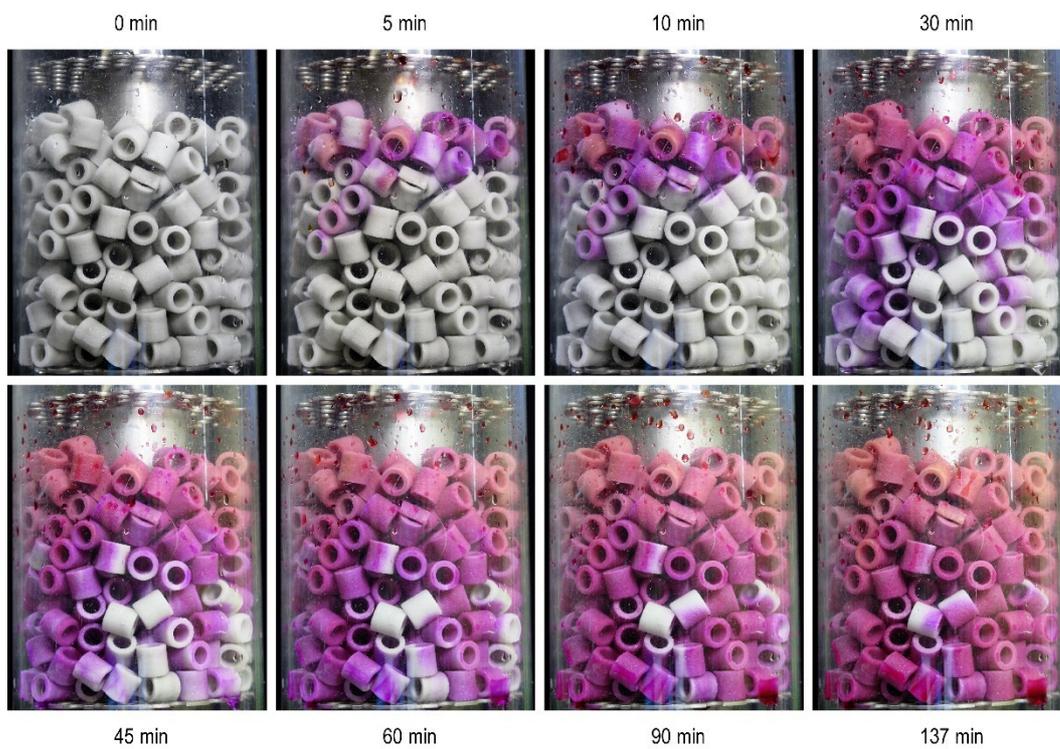


Abbildung A.15: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ mit einer Edelstahl-Lochplatte.

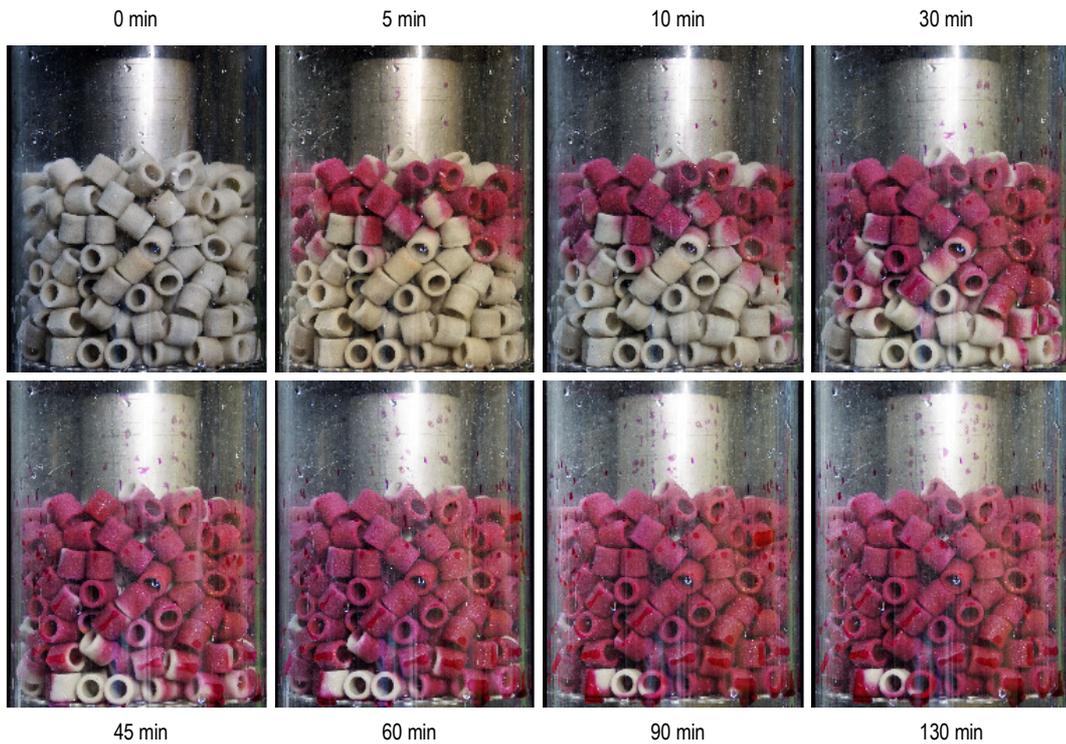


Abbildung A.16: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5. mit einer Zulauftrate von $3,1 \text{ mL min}^{-1}$ mit dem Flüssigkeitsverteiler nach einem sechstägigen Satzprozess mit *C. aceticum* ($V_R = 2,25 \text{ L}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH } 8$; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1} \text{ CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2 \text{ 3:12:10}$) im Festbettbiofilmreaktor.

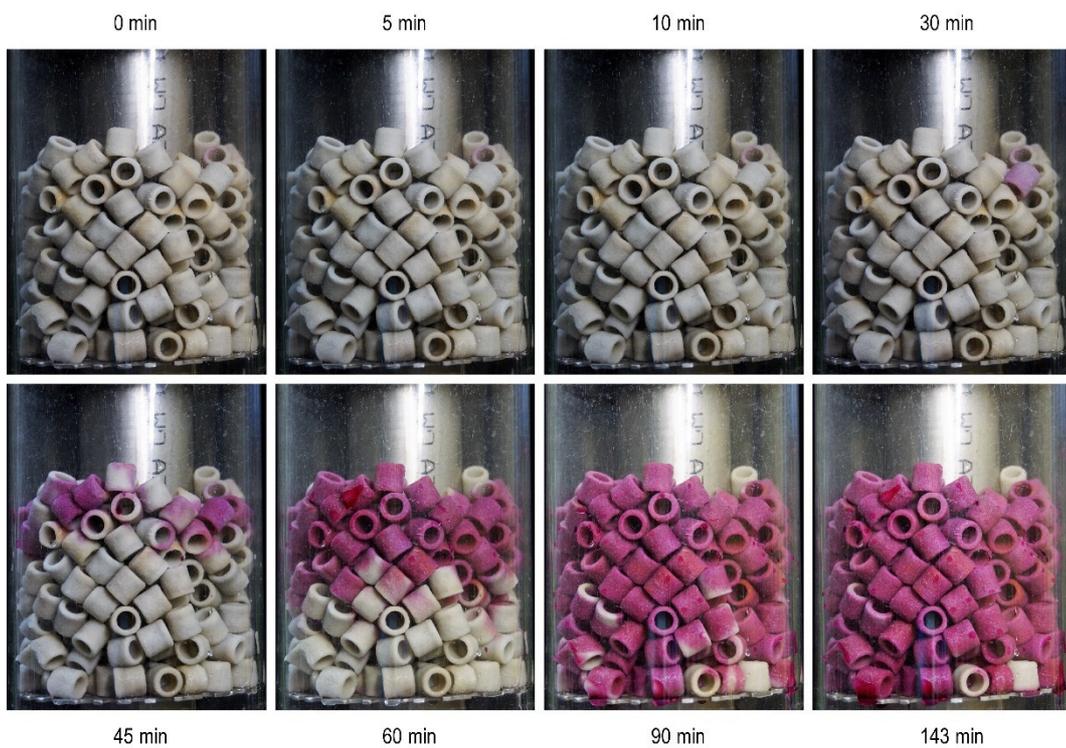


Abbildung A.17: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $3,1 \text{ mL min}^{-1}$ mit dem Flüssigkeitsverteiler nach einem 30-tägigen Prozess mit *C. aceticum* in den Biofilmreaktoren (ändernde Prozessbedingungen; siehe Tabelle A.16).

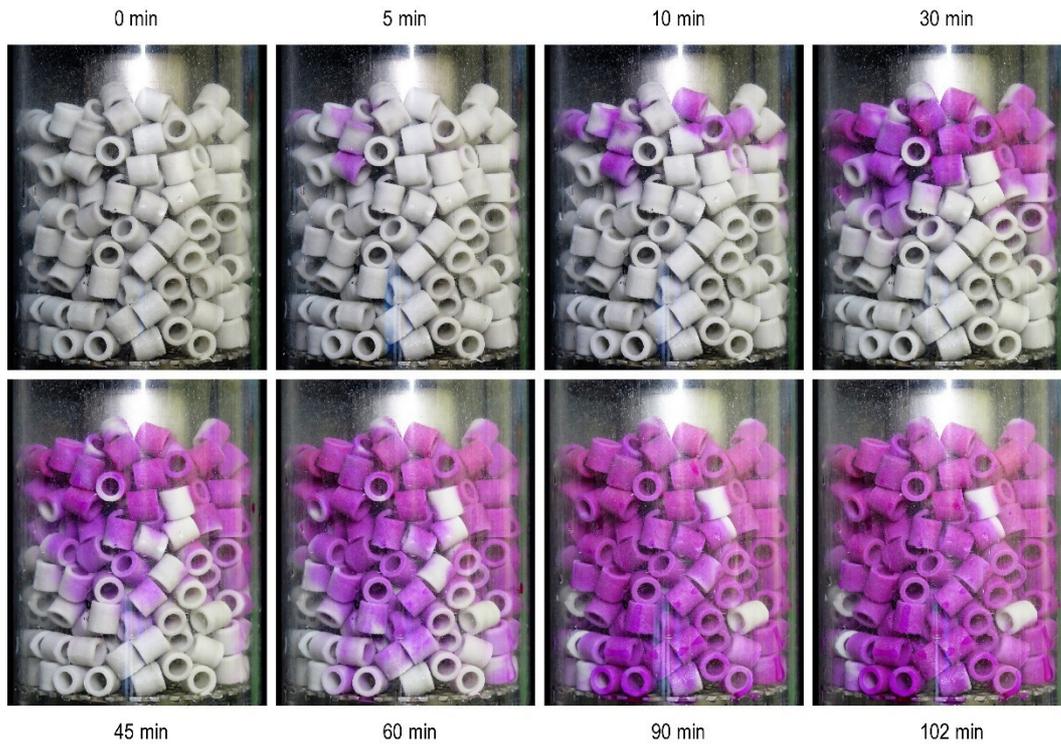


Abbildung A.18: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ mit dem Flüssigkeitsverteiler nach einem 69-tägigen Prozess mit *C. aceticum* in den Biofilmreaktoren (ändernde Prozessbedingungen; siehe Tabelle A.17).

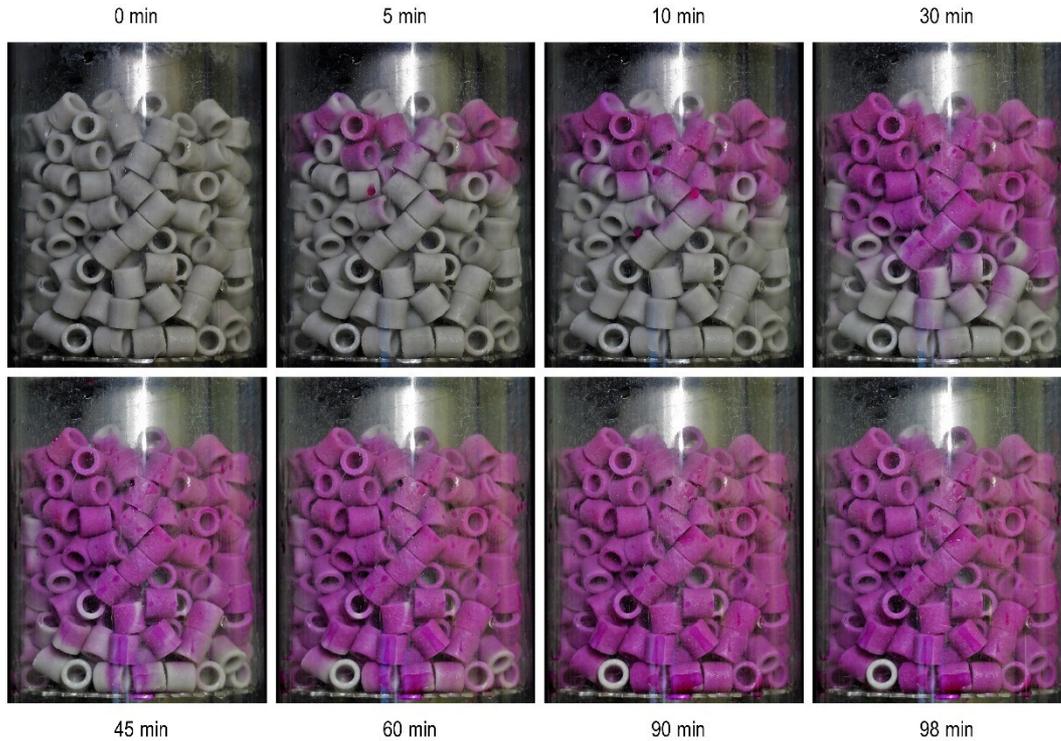


Abbildung A.19: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ mit dem Flüssigkeitsverteiler nach einem 28-tägigen Prozess mit *C. carboxidivorans* in den Biofilmreaktoren (ändernde Prozessbedingungen; siehe Tabelle A.18).



Abbildung A.20: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $4,2 \text{ mL min}^{-1}$.

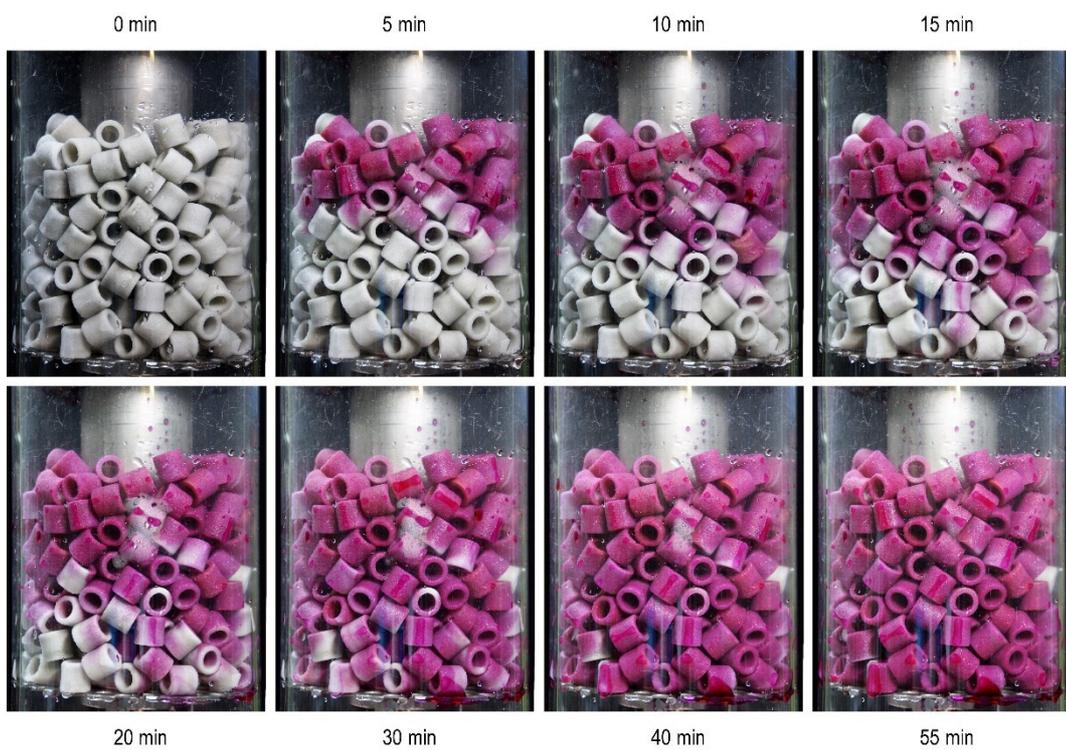


Abbildung A.21: Benetzungsstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $6,2 \text{ mL min}^{-1}$.

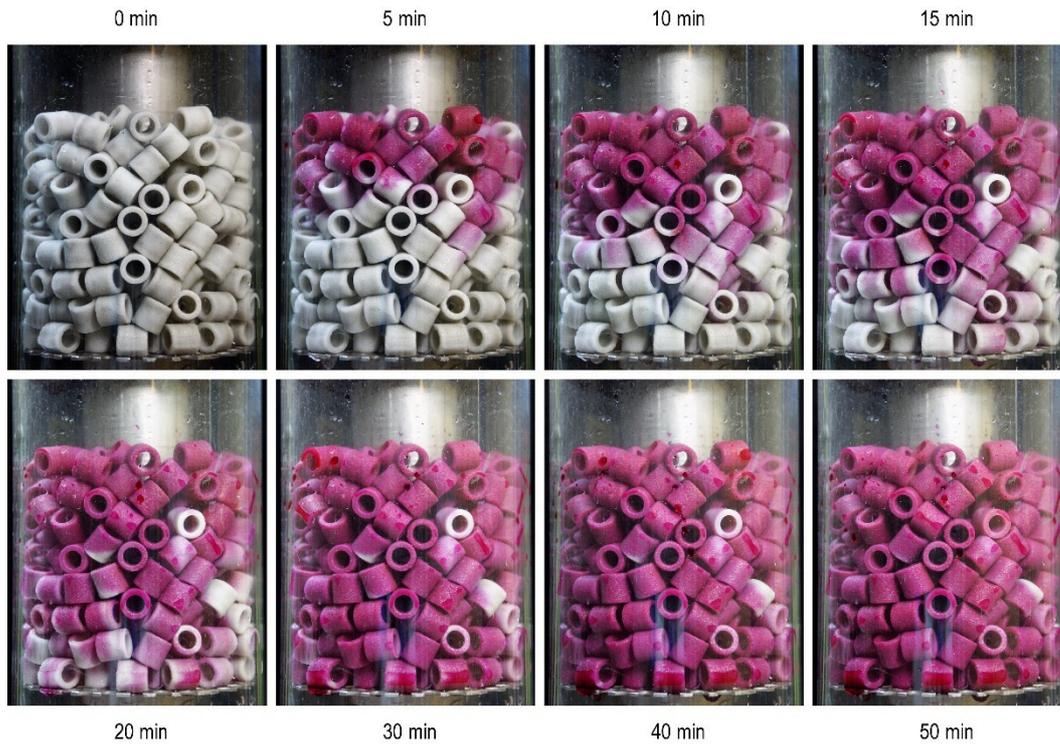


Abbildung A.22: Benetzungstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $8,2 \text{ mL min}^{-1}$.

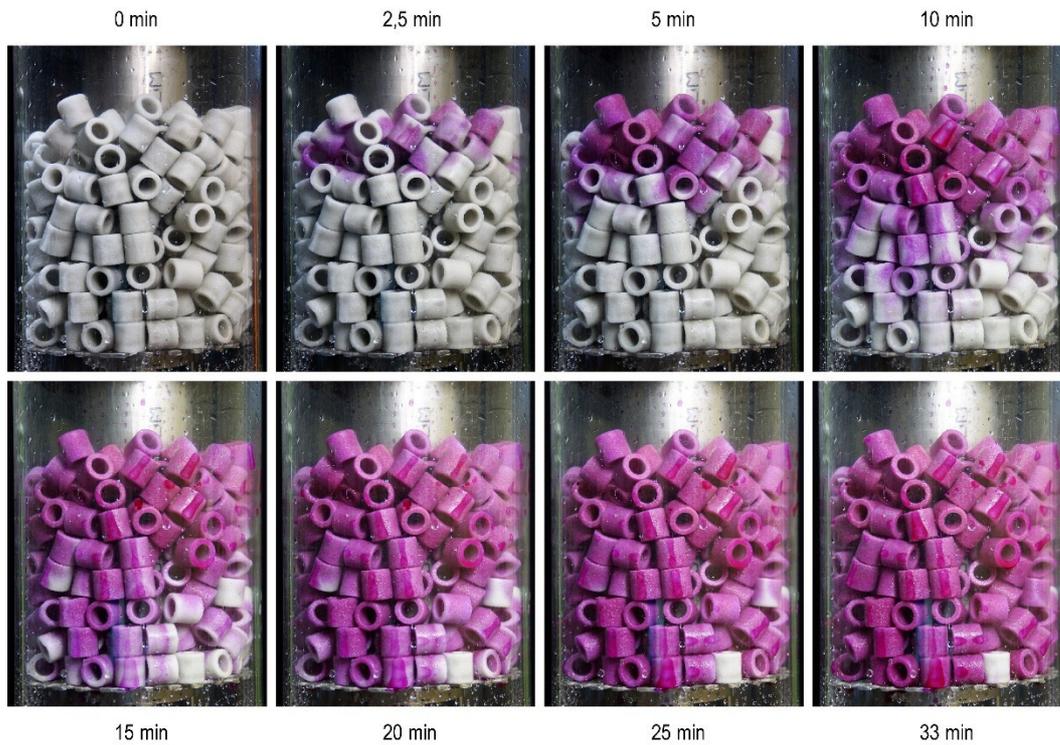


Abbildung A.23: Benetzungstudien nach Abschnitt 4.5.5 mit einer Zulauftrate von $10,3 \text{ mL min}^{-1}$.

A.5.3 Reproduzierbarkeit

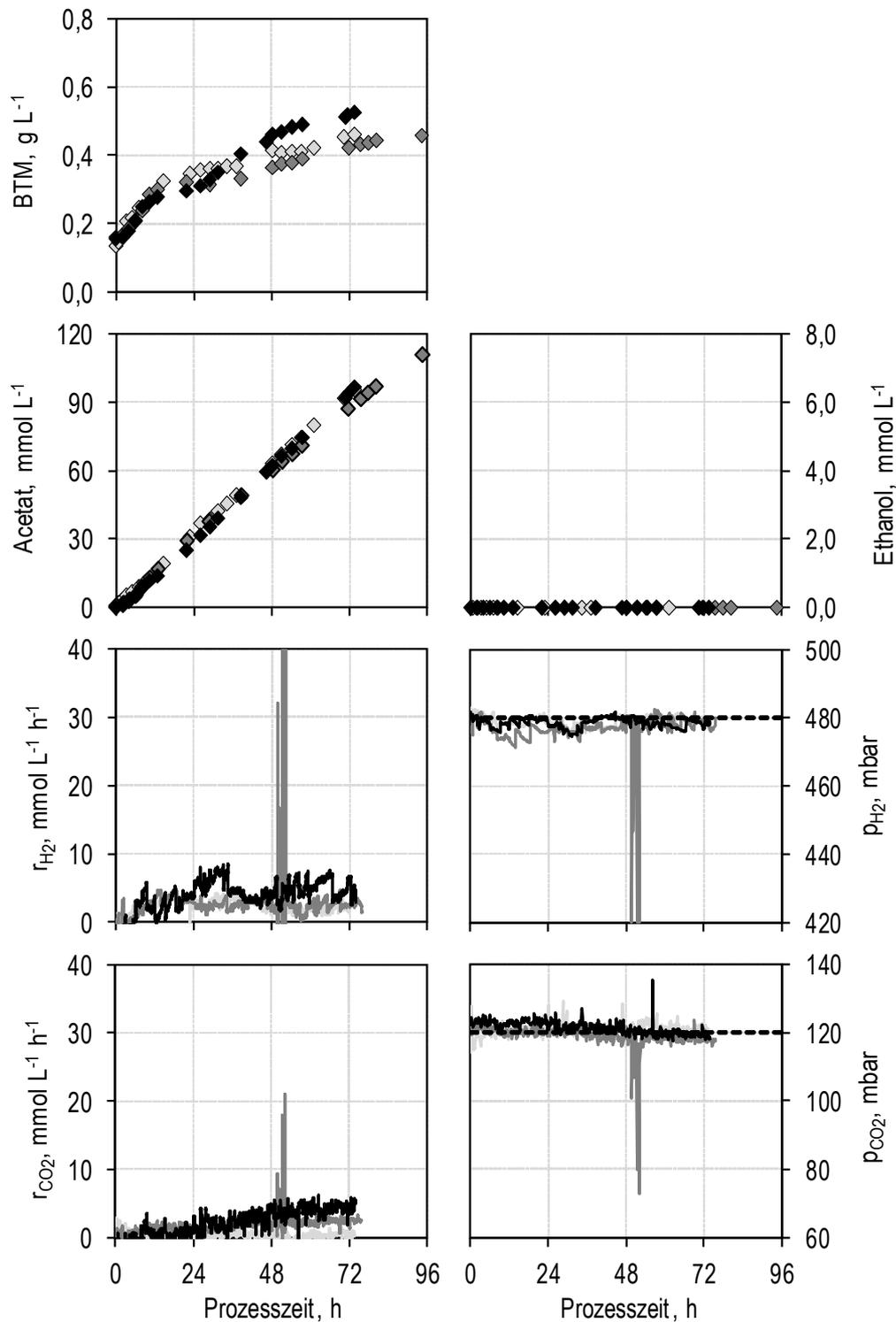


Abbildung A.24: Zeitlicher Verlauf der Biotrockenmassekonzentration BTM, Acetat- und Ethanolkonzentration sowie der Aufnahmeraten r_i und Partialdrücke p_i für die Substrate CO₂ und H₂ des autotrophen Satzprozesses mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen ($V_R = 2,5$ L; 30 °C, pH 8; 1 bar) im Blasensäulenreaktor mit innerem Umlauf mit kontinuierlicher Begasung ($G_{\text{ein}} = 10$ L L⁻¹ h⁻¹; CO₂:H₂:N₂ 3:12:10) in Triplikaten (hellgrau, dunkelgrau, schwarz).

Tabelle A.19: Zusammenfassung von Prozessdaten autotropher Satzprozesse mit *C. aceticum* bei Standardbedingungen (2.5 L; 30 °C; pH 8; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ 3:12:10)

| # | Dauer der exponentiellen Phase | | | Acetat (~72 h) mmol L^{-1} | Ethanol (~72 h) mmol L^{-1} |
|-------------------|--------------------------------------|--------|--|---|--|
| | μ h^{-1} | h | BTM_{max} g L^{-1} | | |
| 1 | 0,08 | 7,10 | 0,45 | 91,97 | 0,00 |
| 2 | 0,08 | 6,35 | 0,42 | 87,18 | 0,00 |
| 3 | 0,07 | 6,02 | 0,52 | 93,24 | 0,00 |
| Mittelwert | 0,08 | 6,49 | 0,46 | 90,80 | 0,00 |
| Fehler | 0,004 | 0,452 | 0,039 | 2,607 | 0,000 |
| Fehler (%) | 5,20 % | 6,96 % | 8,50 % | 2,87 % | 0,00 % |

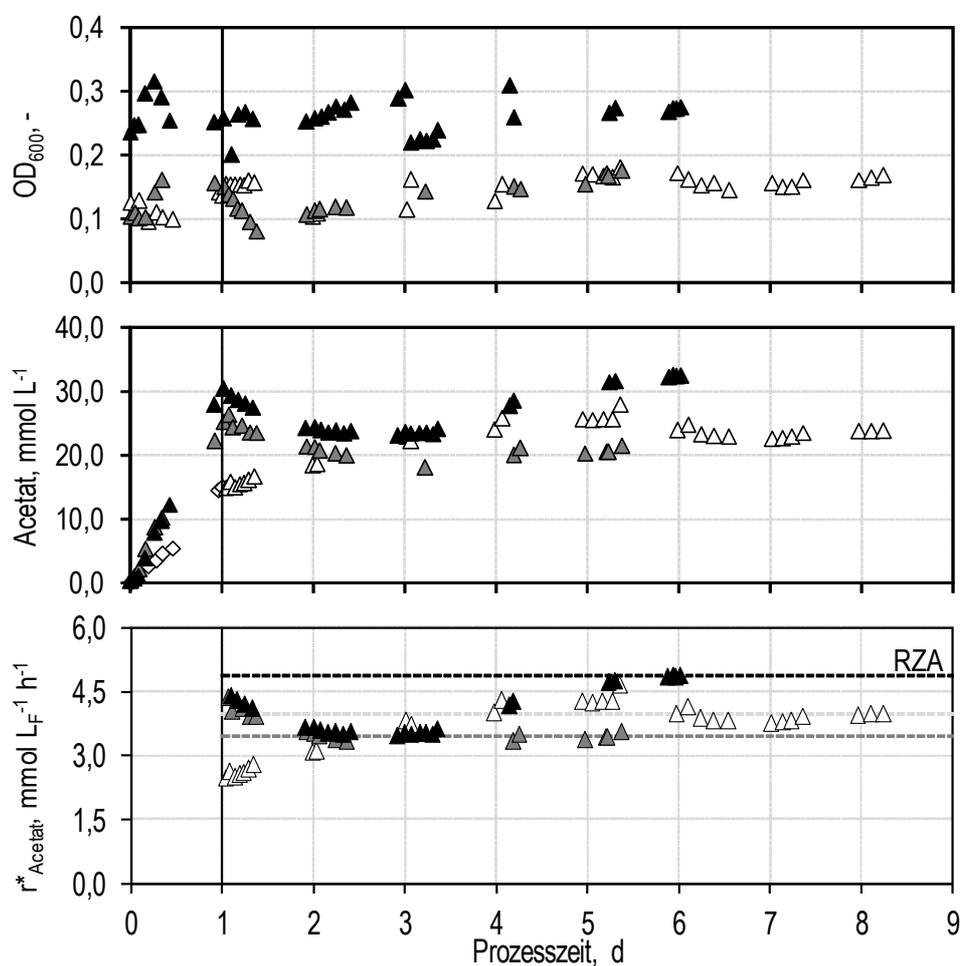


Abbildung A.25: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichte (OD_{600}), der Acetatkonzentration, der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeute am Rektorausgang (r^*_{Acetat}), der Aufnahmeraten für H_2 (r_{H_2}) und CO_2 (r_{CO_2}) sowie deren Partialdrücke (p_i) für Untersuchungen zur Gasfermentation mit *C. aceticum* im kontinuierlich betriebenen Festbettbiofilmreaktor bei Standardbedingungen (30 °C; pH 8; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 10 \text{ L L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$: 3:12:10) nach einer eintägigen Satzphase in Triplikaten: weiß/hellgrau, 2,50 L, $D = 0,070 \text{ h}^{-1}$; grau, $V_R = 2,25 \text{ L}$, $D = 0,078 \text{ h}^{-1}$; schwarz, $V_R = 2,25 \text{ L}$, $D = 0,070 \text{ h}^{-1}$.

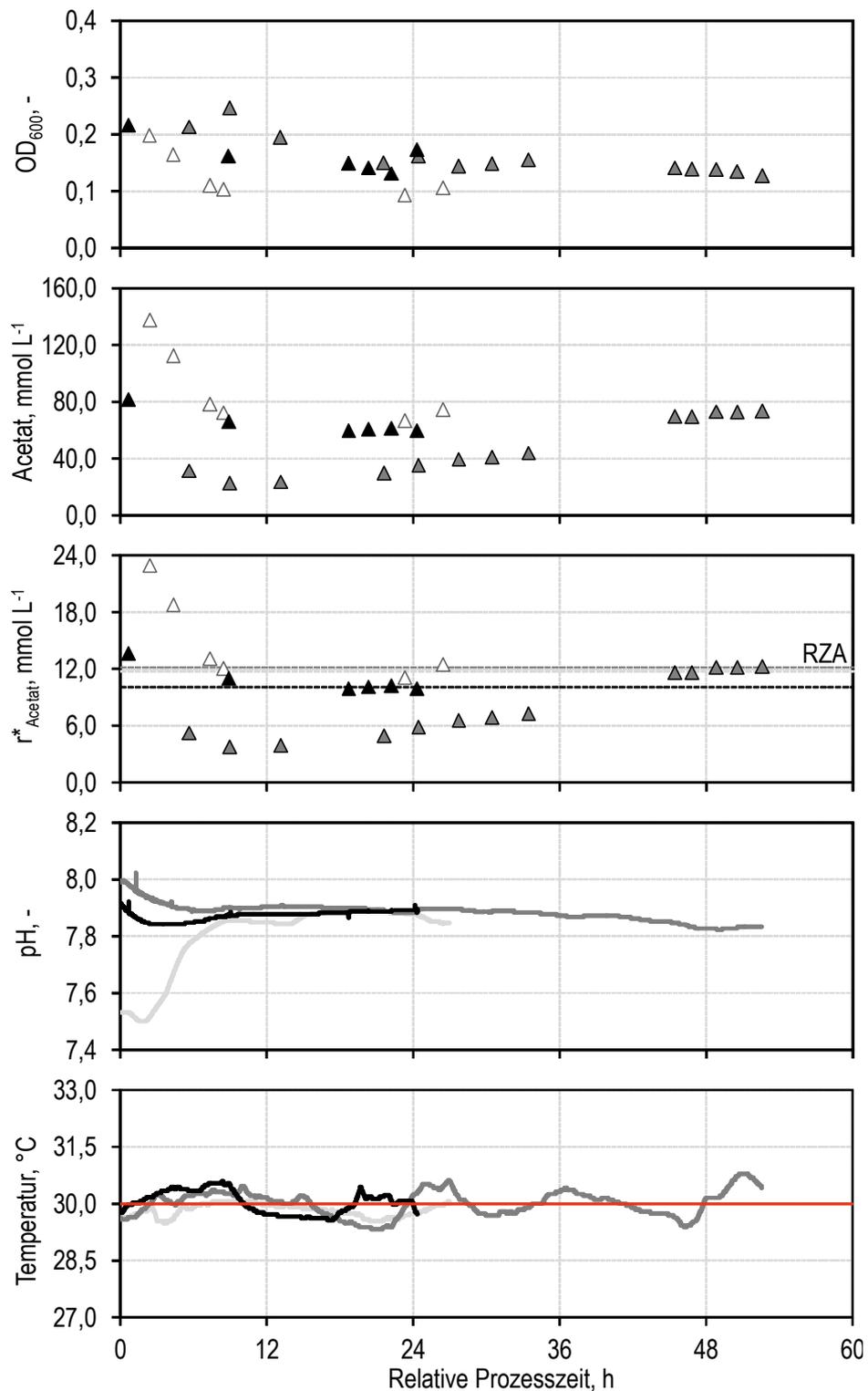
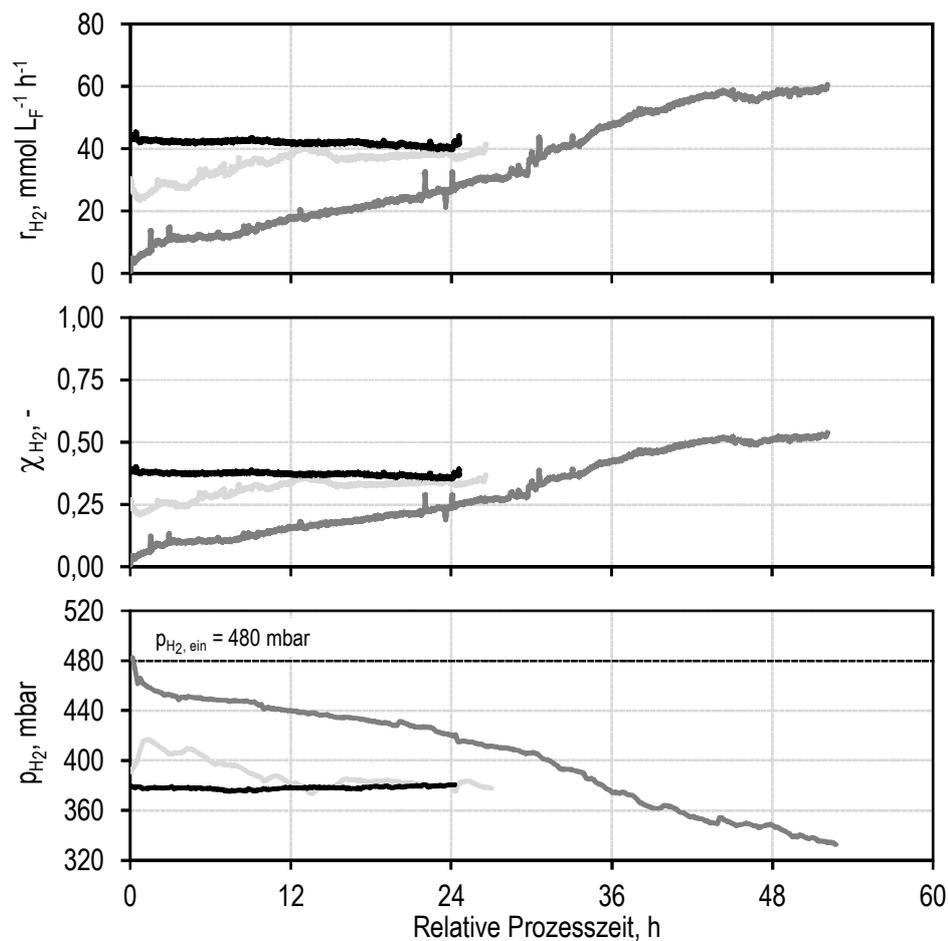


Abbildung A.26: Zeitlicher Verlauf der optischen Dichten (OD_{600}), der Acetatkonzentrationen, der Acetat-Raum-Zeit-Ausbeuten am Reaktorausgang r^*_{Acetat} , dem pH und der Temperatur für Untersuchungen zur Gasfermentation mit *C. aceticum* im Rieselbettbiofilmreaktor bei Standardbedingungen (30 °C ; $pH_{Ein} \sim 8$; 1 bar ; $G_{Ein} = 6,25\text{ L h}^{-1}$; $CO_2:H_2:N_2: 3:12:10$; $L = 3\text{ mL min}^{-1}$) in Triplikaten: weiß/hellgrau, „Langzeitstudie B“ nach 36 Tagen (siehe Tabelle A.16); grau, „Langzeitstudie C“ nach 22 Tagen (siehe Tabelle A.17); schwarz, „Langzeitstudie C“ nach 68 Tagen (siehe Tabelle A.17). Die relative Prozesszeit startet zum dem Zeitpunkt, an dem die Prozessbedingungen auf die Untersuchungsparameter eingestellt wurden. Die gestrichelten Horizontalen kennzeichnen die jeweilige Raum-Zeit-Ausbeute vor der Änderung der Betriebsbedingung



Fortsetzung Abbildung A.26: Zeitlicher Verlauf der H₂-Aufnahmerate (r_{H_2}), des H₂-Umsatzes (χ_{H_2}) und des H₂-Partialdruckes (p_{H_2}) für Untersuchungen zur Gasfermentation mit *C. aceticum* im Rieselbettbiofilmreaktor bei Standardbedingungen (30 °C; $p_{H_{\text{ein}}} \sim 8$; 1 bar; $G_{\text{ein}} = 6,25 \text{ L h}^{-1}$; CO₂:H₂:N₂: 3:12:10; $L = 3 \text{ mL min}^{-1}$) in Triplikaten: weiß/hellgrau, „Langzeitstudie B“ nach 36 Tagen (siehe Tabelle A.16); grau, „Langzeitstudie C“ nach 22 Tagen (siehe Tabelle A.17); schwarz, „Langzeitstudie C“ nach 68 Tagen (siehe Tabelle A.17). Die relative Prozesszeit startet zum dem Zeitpunkt, an dem die Prozessbedingungen auf die Untersuchungsparameter eingestellt wurden. Die Horizontale kennzeichnet den eingestellten H₂-Eingangspartialdruck.

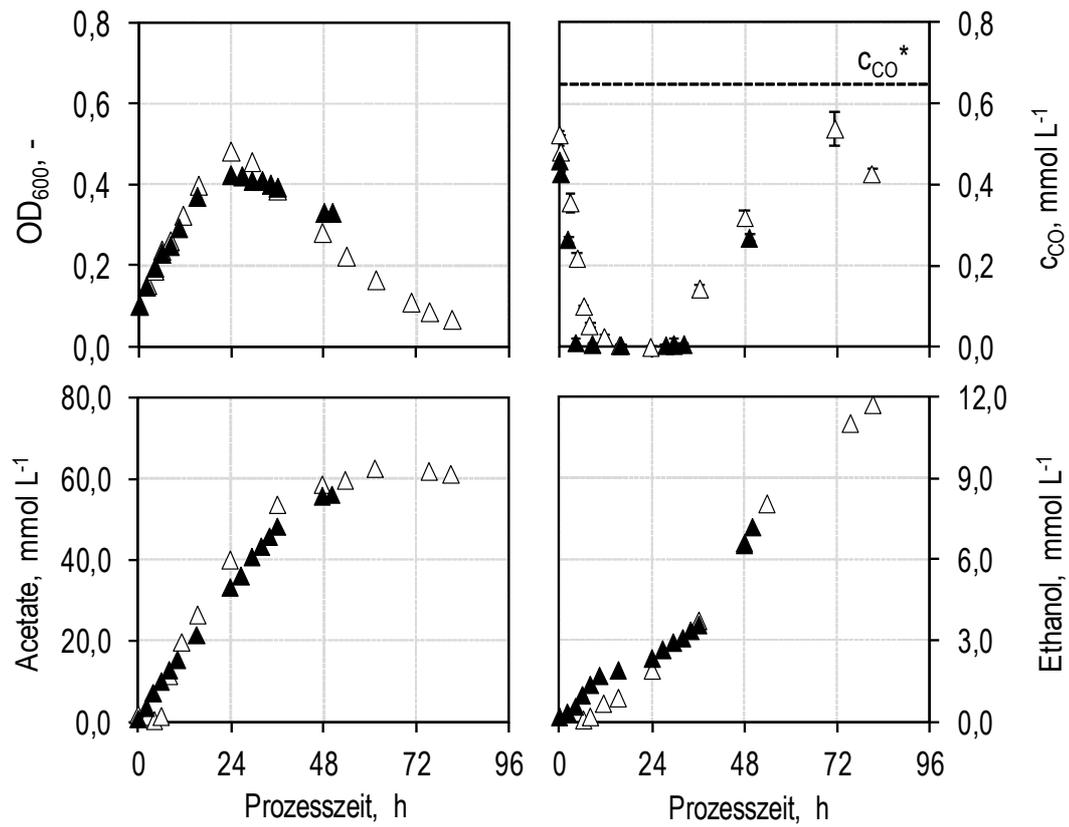


Abbildung A.27: Gegenüberstellung der zeitlichen Verläufe der optischen Dichte (OD_{600}), der CO-Gelöstkonzentration (c_{CO}) sowie der Acetat- und Ethanolkonzentration von Satzprozessen mit *C. carboxidivorans* im Festbettbiofilmreaktor mit pH-Kontrolle bei Standardbedingungen ($V_R = 2,25$ L; 37 °C; pH 6; 1 bar; $G_{ein} = 5$ L L⁻¹ h⁻¹; CO:CO₂ 4:1) in Duplikaten. Die gestrichelte Horizontale zeigt die maximale CO-Gelöstkonzentration (c_{CO}^*) in salzfreiem Wasser bei 37 °C nach Gleichung 3-34 und Tabelle 3.6.