

Kurzbericht
an die
WILLY-HAGER-STIFTUNG
zum Projekt

**„Entwicklung eines Verfahrens zur Herstellung
von Bioplastik auf kommunalen Kläranlagen“**

Laufzeit des Projekts: 01.01.2010 – 31.12.2013

Prof. Dr.- Ing. Heidrun Steinmetz

Dipl.-Ing. Timo Pittmann

Universität Stuttgart

Institut für Siedlungswasserbau,

Wassergüte- und Abfallwirtschaft



Inhaltsverzeichnis:

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Motivation | 1 |
| 1.2 | Ziel des Forschungsvorhabens | 4 |
| 2 | Grundlagen der PHA-Produktion | 5 |
| 2.1 | Definition | 5 |
| 2.2 | Zweistufiges PHA-Produktionsverfahren | 7 |
| 3 | Theoretische Verfahrensentwicklung/Literaturrecherche | 8 |
| 4 | Ergebnisse und Diskussion..... | 9 |
| 4.1 | Substratauswahl..... | 9 |
| 4.2 | Optimierung der Fettsäureproduktion | 11 |
| 4.2.1 | <i>Temperatur</i> | 12 |
| 4.2.2 | <i>pH-Wert</i> | 12 |
| 4.2.3 | <i>Aufenthaltszeit (RT) und Entnahmemenge (WD)</i> | 13 |
| 4.3 | Optimierung der PHA-Produktion | 14 |
| 4.3.1 | <i>Substratkonzentration</i> | 15 |
| 4.3.2 | <i>Temperatur</i> | 15 |
| 4.3.3 | <i>pH-Wert</i> | 16 |
| 4.3.4 | <i>Dauer des feast/famine-Zyklus</i> | 17 |
| 5 | Fazit der Versuchsergebnisse | 18 |
| 5.1 | Fermentation..... | 18 |
| 5.2 | PHA-Produktion..... | 19 |
| 6 | Literatur | 19 |

Abbildungsverzeichnis:

| | |
|---|----|
| ABBILDUNG 1: PLASTIK IM MAGEN VON MEERESTIEREN..... | 2 |
| ABBILDUNG 2: MÖGLICHE DEFINITIONEN VON BIOKUNSTSTOFFEN, NACH [2]..... | 6 |
| ABBILDUNG 3: VERFAHRENSSCHEMA ZUR HERSTELLUNG VON PHA AUS INDUSTRIELLEN ABWÄSSERN | 7 |
| ABBILDUNG 4: VFA-PRODUKTION BEI UNTERSCHIEDLICHEN PH-WERTEN..... | 12 |
| ABBILDUNG 5: TÄGLICHE VFA-KONZENTRATION UND -FRACHT DER DURCHFÜHRTEN VERSUCHE..... | 14 |
| ABBILDUNG 6: TEMPERATURABHÄNGIGE DAUER DER FEAST/FAMINE-PHASEN..... | 16 |

Tabellenverzeichnis:

| | |
|--|----|
| TABELLE 1: WELTWEITE KUNSTSTOFFPRODUKTION ([12]; [13]; [10]; [11])..... | 3 |
| TABELLE 2: UNTERSUCHTE SUBSTRATKOMBINATIONEN | 10 |
| TABELLE 3: ERGEBNISSE DER VERFAHRENSKOMBINATIONEN | 10 |
| TABELLE 4: ERGEBNISSE DER VFA-PRODUKTION HINSICHTLICH RT UND WD | 13 |
| TABELLE 5: PHA-PRODUKTION IN ABHÄNGIGKEIT DER SUBSTRATKONZENTRATION..... | 15 |
| TABELLE 6: PHA-PRODUKTION IN ABHÄNGIGKEIT DER REAKTORTEMPERATUR | 16 |
| TABELLE 7: PHA-PRODUKTION IN ABHÄNGIGKEIT DES PH-WERTS..... | 17 |
| TABELLE 8: PHA-PRODUKTION IN ABHÄNGIGKEIT DER ZYKLUSDAUER..... | 18 |

1 Einleitung

Seit der Mensch den Kunststoff entdeckt hat, steht ihm ein Werkstoff zur Verfügung, welcher aufgrund seiner zahlreichen Eigenschaften, praktisch universell einsetzbar ist. Je nach Wahl des Ausgangsmaterials und Beimischung von Additiven weist Plastik unterschiedliche Eigenschaften auf. Jedoch bringt die Kunststoffnutzung nicht nur Vorteile mit sich. Vor allem die Endlichkeit der Ressource Erdöl sowie der eng mit der Kunststoffproduktion verbundene Plastikmüllanfall stellen in der heutigen Zeit große Probleme dar. Dieses Forschungsprojekt beschäftigt sich daher mit der Suche nach einer alternativen Rohstoffquelle zur Kunststoffproduktion. Dabei soll durch die Verwendung eines biologischen Herstellungsprozesses zudem die biologische Abbaubarkeit des produzierten Kunststoffs gewährleistet sein, um so auch der erwähnten Müllproblematik gerecht zu werden.

Die Möglichkeit diesen Biokunststoff auf einer kommunalen Kläranlage zu produzieren bringt viele Vorteile mit sich. Neben der günstigen Ressource Abwasser sind alle zur Produktion von Bioplastik vorhandenen Stoffströme auf einer kommunalen Kläranlage vorhanden. Die zur Fermentation benötigten Mikroorganismen ebenso wie die zur Biopolymerherstellung fähigen Bakterien.

1.1 Motivation

„Zwei Plastikblumentöpfe, zwei lange Stücke Wasserschlauch, neun Meter Seil, 30 Quadratmeter Abdeckplanen: Der Mageninhalt des Pottwals hätte manchem Hobbygärtner Freude gemacht. Dem Wal brachte er den Tod.“ [4] Der zehn Meter lange und fast fünf Tonnen schwere Pottwal wurde an der südspanischen Mittelmeerküste bei Castell de Ferro angetrieben. Sein Mageninhalt fasste fast 15 kg gut erhaltenen Kunststoffmüll, den der Wal nicht ausscheiden konnte und ihm somit den Magen zerriss [4]. Dies ist kein Einzelfall. Auch Seevögel, Meeresschildkröten, Meeressäuger und Fische sind davon betroffen. Studien zeigen, dass um die 50 bis 80 % der tot aufgefundenen Meeresschildkröten an zu vielen Plastikteilen verendet, die sie aus dem Meer aufgenommen hatten [5]. Verwechseln die Meeresschildkröten Plastiktüten mit Quallen, die für sie als Nahrungsquelle dienen, können sie an den Tüten ersticken. Viele Meerestiere verwechseln die Plastikteile im Meer mit Futter und nehmen diese

anstelle ihrer normalen Nahrung auf. Dabei entsteht ein Völlegefühl im Magen, wodurch die Tiere an einem vollen Magen verhungern (Abbildung 1). Auch in der Nordsee hatten laut einer OSPAR-Studie 93 % der untersuchten Eissturmvögel verschluckten Meeresmüll in ihren Mägen. Im Durchschnitt waren es 27 Partikel pro Vogel mit einem Gewichtsanteil von etwa 0,3 %.



Abbildung 1: Plastik im Magen von Meerestieren

Es wurde dokumentiert, dass mehr als 260 Arten von Meerestiere Plastik aufnehmen oder sich darin verfangen [6].

Es werden jährlich 6,4 Millionen Tonnen an marinem Müll im Meer entsorgt, wovon heute 13.000 Teile an Plastikmüll auf einem Quadratkilometer in den Ozeanen treiben [7]. Dabei beträgt der Anteil der Plastikabfälle des marinen Mülls in den Ozeanen 80 % [8]. Sogar in der arktischen Tiefsee wurde von einer Expedition des Alfred-Wegener-Institut (AWI) für Polar- und Meeresforschung Plastik auf dem Meeresgrund entdeckt. Zwischen 2002 und 2011 hat sich dort das Müllaufkommen von einem auf zwei Prozent verdoppelt. In manchen Meeresgebieten häuft sich der Müll an. Solche Akkumulationsgebiete gibt es in allen Ozeanen [4]. Das bekannteste Sammelgebiet für Müll ist der 1997 von Charles Moore [3] entdeckte Great Pacific Garbage Patch im Nordpazifik. Dieser Meeresstrudel wird von einem riesigen Hochdruckgebiet erzeugt und ist die wahrscheinlich größte zusammenhängende Müllhalde der Erde [9]. Ozeanografen schätzen, dass zwischen 700.000 und mehr als 15 Millionen Quadratkilometer an Fläche von ihm bedeckt sind. Vor einigen Jahren kamen auf jedes Kilogramm Plankton sechs Kilogramm Plastikmüll, bei den neuesten Untersuchungen ergaben sich Werte von 1:46 [9].

Weltweit werden jährlich mehr als 280 Millionen Tonnen an Kunststoff auf Erdölbasis erzeugt [11]. Je nach Quelle wurden die bestätigten Ölreserven im Jahr 2012 auf 1652,6 Milliarden Barrel [14] bzw. auf 1477 Milliarden Barrel [15] berechnet. Der tägliche Rohölverbrauch wurde im Jahr 2012 mit 72,86 Millionen Barrel angegeben [15]. Eine vereinfachte Rechnung mit den Daten aus [14] nach Gleichung 1 zeigt, dass bei einem statischen Erdölverbrauch, sowie unter der Annahme, dass keine weiteren Reserven entdeckt oder nutzbar gemacht werden können, Erdöl noch ca. 56 Jahre zur Verfügung steht. Analog liefert [15] eine Reichweite der Reserve von ca. 62 Jahren (Gleichung 2).

Tabelle 1: Weltweite Kunststoffproduktion ([12]; [13]; [10]; [11])

| Jahr | Kunststoff Weltproduktion In Mio. t/a |
|-------------|--|
| 1930 | 0,01 |
| 1949 | 1,00 |
| 1965 | 15 |
| 1976 | 50 |
| 2003 | 200 |
| 2010 | 265 |
| 2012 | 288 |

$(1477 \text{ Milliarden Barrel} / 72,86 \text{ Millionen Barrel} / \text{d}) / 365,25 \text{ d/a} = 55,5 \text{ a}$ Gleichung 1

$(1652,6 \text{ Milliarden Barrel} / 72,86 \text{ Millionen Barrel} / \text{d}) / 365,25 \text{ d/a} = 62,1 \text{ a}$ Gleichung 2

Einem sehr wahrscheinlich steigenden Erdölverbrauch steht zwar die Entdeckung neuer Reserven gegenüber. Dennoch wird es in absehbarer Zukunft kein Erdöl mehr geben. Doch nicht nur die Endlichkeit der Ressource Erdöl, sondern auch die weltweite Verteilung ihres Vorkommens beherbergt enormes Konfliktpotenzial. Ein Großteil der Reserven befindet sich im politischen Konfliktherd im Nahen Osten [15]. Erdöl ist somit nicht nur eine endliche Ressource, sondern, was die Zugriffsmöglichkeit betrifft, vor allem für die großen Industrienationen der Welt auch eine unsichere Ressource, die zu großen ökonomischen Schwierigkeiten führen kann.

1.2 Ziel des Forschungsvorhabens

In dieser Arbeit wird ein zweistufiges Verfahren zur Produktion von Biopolymeren auf kommunalen Kläranlagen vorgestellt. Dabei wird zunächst eine neue, engere Definition des Begriffs „Biopolymer“ eingeführt.

Ein weiteres Ziel war es, bereits durchgeführte Forschungsprojekte zu finden und deren Ergebnisse bei der Umsetzung dieses Projekts zu nutzen.

Die Ergebnisse der durchgeführten experimentellen Versuche werden beschrieben und diskutiert. Dabei werden zunächst Versuche zur Rohstoffauswahl durchgeführt, um die Frage zu beantworten, welcher Stoffstrom einer kommunalen Kläranlage sich am besten zur Biokunststoffproduktion eignet. Das nächste Ziel war die Festlegung der für den Betrieb der ersten Produktionsstufe wichtigsten Randbedingungen.

Schließlich wurden die in der ersten Stufe produzierten Fettsäuren in mehreren Versuchen zur Produktion von Biopolymeren eingesetzt und die Randbedingungen für die zweite Produktionsstufe untersucht. Nachfolgend sind die wichtigsten Ziele noch einmal aufgelistet:

- Welcher Stoffstrom einer kommunalen Kläranlage eignet sich zur Produktion von Fettsäuren?
- Welche Zusammensetzung der gebildeten Fettsäuren entsteht und bleibt diese Zusammensetzung stabil?
- Welche Randbedingungen (Temperatur, pH-Wert, Aufenthaltszeit und Entnahmemenge) erzielen die höchste Fettsäurefracht?
- Können aus den gebildeten Fettsäuren Biopolymere gebildet werden?
- Welche Randbedingungen (Temperatur, pH-Wert, Substratkonzentration, Zyklusdauer) erzielen die größte Menge an Biokunststoffen?

2 Grundlagen der PHA-Produktion

2.1 Definition

Den Begriffen Bioplastik, Biopolymer oder Biokunststoff ist keine eindeutige Definition zuzuordnen [16]. Laut European Bioplastics e. V. muss Biokunststoff entweder zu einem Teil aus nachwachsenden (pflanzlichen) Rohstoffen bestehen und/oder durch natürlich vorkommende Mikroorganismen zu natürlichen Substanzen wie Wasser, Kohlenstoffdioxid oder Kompost abbaubar sein [17]. Da diese Definition auch biologisch abbaubare Kunststoffe auf Erdölbasis einschließt, ist sie hinsichtlich der Ressourcenschonung ungeeignet, wohingegen Biopolymere aus nachwachsenden Rohstoffen, welche nicht biologisch abbaubar sind hinsichtlich der Vermüllung der Natur zu Problemen führen. Abbildung 2 zeigt die möglichen Biokunststoffe nach genannten Definitionen.

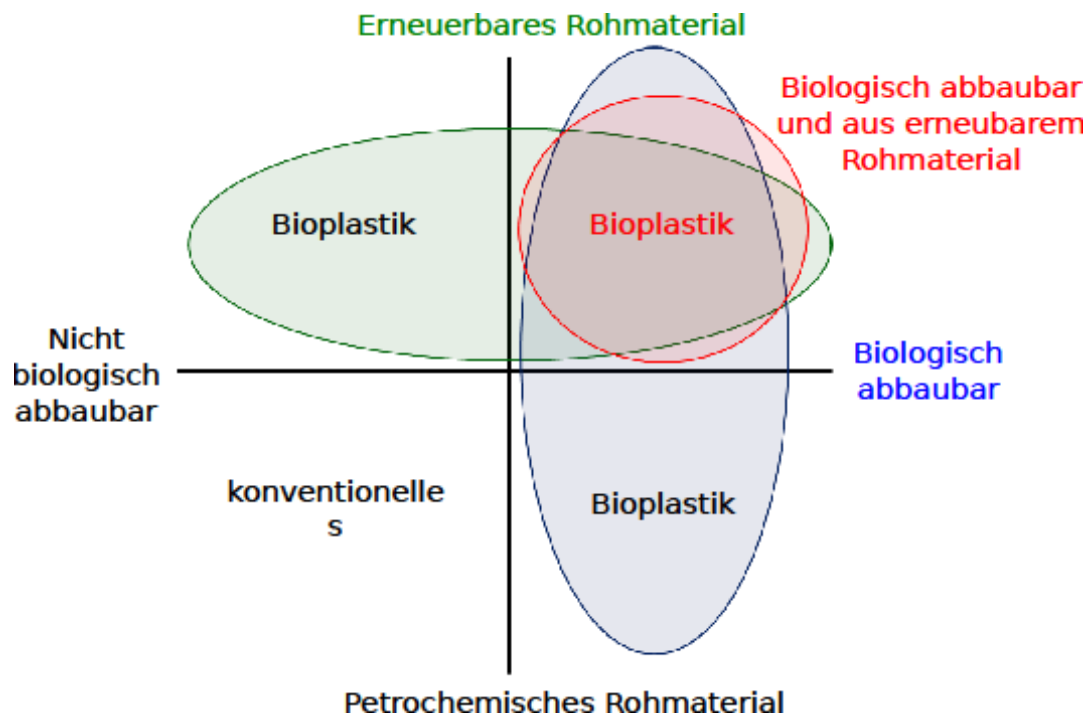


Abbildung 2: Mögliche Definitionen von Biokunststoffen, nach [2]

Um die erwähnten Probleme des fossilen Ressourcenverbrauchs und des Mülls weitestgehend auszuschließen entschied sich der Autor zu einer engeren Definition:

„Biokunststoffe werden aus nachwachsenden Rohstoffen und/oder biologisch abbaubaren Reststoffen (z. B. Abwasser, Klärschlamm, Bioabfall) hergestellt und sind durch natürlich vorkommende Mikroorganismen vollständig abbaubar.“

Somit werden die dringendsten Probleme der konventionellen Plastikherstellung beseitigt; der Verbrauch von fossilen Rohstoffen und die dauerhafte Verschmutzung der Umwelt. Abbildung 2 verdeutlicht diese Problematik und stellt die vom Autor eingeführte engere Definition des Begriffs Biopolymer im oberen rechten Quadranten (rot) dar. So wird ausgeschlossen, dass biologisch nicht abbaubare Kunststoffe wie Biopolyethylen oder aber biologisch abbaubare Kunststoffe aus fossilen Rohstoffen die Definition erfüllen. Als Rohstoff kämen demnach Pflanzen wie z.B. Mais in Frage. Diese erfüllen die beiden genannten Bedingungen, führen jedoch auch zu Problemen, da sie zum einen hohe Kosten verursachen und zum anderen in Konkurrenz zur Nahrungsmittelproduktion stehen. Die nachfolgend verwendeten Begriffe

„Bioplastik“, „Biokunststoff“ oder „Biopolymer“ werden im Sinne der hier vorgestellten Definition verwendet.

2.2 Zweistufiges PHA-Produktionsverfahren

Die Synthese von biologisch abbaubaren PHAs aus industriellen Abwässern erfolgt durch Kombination eines anaeroben (acidogene Fermentation) und zweier aeroben Verfahren (Biomasseanreicherung und Polymer Produktion). Dieses Verfahren wird in Abbildung 3 dargestellt. In der ersten Stufe wird hochkonzentriertes Abwasser anaerob von säurebildenden (acidogenen) Mikroorganismen in ein Gemisch aus Acetaten und anderen Carbonsäuren fermentiert. In der zweiten, der aeroben Stufe wird ein Teil der zuvor synthetisierten flüchtigen Fettsäuren von dem Belebtschlamm als Kohlenstoffquelle verstoffwechselt. Dadurch kommt es zum Wachstum und der Produktion von Biomasse mit einer hohen intrazellulären PHA-Speicherkapazität. In der anschließenden dritten Stufe wird die angereicherte Biomasse mit noch unverbrauchten Fettsäuren in einem Batch-Reaktor versetzt. Die Biomasse mit möglichst gesättigter PHA Speicherkapazität in der Zelle wird nachfolgend einem sog. Aufschluss und der Reinigung von PHA unterzogen [1].

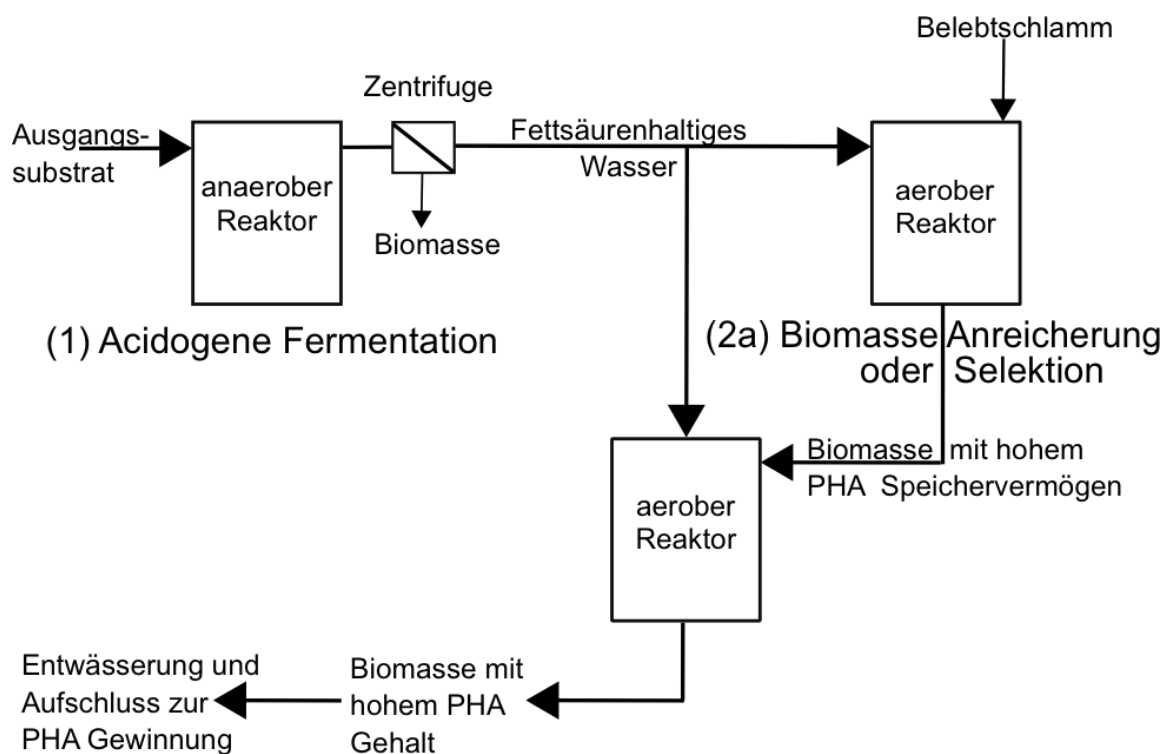


Abbildung 3: Verfahrensschema zur Herstellung von PHA aus industriellen Abwässern

3 Theoretische Verfahrensentwicklung/Literaturrecherche

Die im Arbeitsprogramm des Antrags vorgesehene theoretische Entwicklung einer Verfahrenskombination zur Produktion von Bioplastik auf kommunalen Kläranlagen wurde mit Hilfe einer ausführlichen Literaturrecherche durchgeführt. Nachfolgend werden die wichtigsten Erkenntnisse der Verfahrensentwicklung beschrieben. Das für die praktischen Versuche genutzte Verfahrensschema kann Abbildung 3 entnommen werden.

Viele der untersuchten Prozessbedingungen der ersten und zweiten Stufe der Biopolymerproduktion wurden von den Autoren nicht begründet. Oftmals wurden die Bedingungen bereits früherer eigener Untersuchungen oder aber diejenigen aus anderen Forschungsvorhaben übernommen. Aufgrund der zum Teil erheblich abweichenden Ergebnisse erscheint dies nicht sinnvoll. Vielmehr hat sich gezeigt, dass die meisten Prozessbedingungen, vor allem die der ersten Produktionsstufe, erheblich vom eingesetzten Rohstoff abhängen. Demnach müssen diese auch für jeden Rohstoff neu bestimmt werden. Des Weiteren wurden für die meisten Untersuchungen synthetische Rohstoffe oder Rohstoffe mit homogener Zusammensetzung gewählt, was stabilere Produktionsbedingungen ermöglichen. Die resultierenden Prozessbedingungen können damit nicht für Stoffströme einer kommunalen Kläranlage übernommen werden, sondern lediglich einen groben Untersuchungsbereich eingrenzen. Nachfolgend sind die für die praktischen Versuche beider Stufen der Biokunststoffherstellung, anhand der Erkenntnisse aus der Literatur, gewählten Untersuchungsbereiche aufgelistet:

VFA-Produktion

- Temperatur: 20 °C bis 30 °C,
- pH-Wert: 6 bis 10,
- Aufenthaltszeit: 4 d bis 10 d bei unterschiedlichen Entnahmemengen von 25 % bis 100 %,
- C:N-Verhältnis: Möglichst nährstofflimitierende Verhältnisse,

- Substratkonzentration: Test unterschiedlicher Stoffströme, und damit unterschiedlicher Substratkonzentrationen, einer kommunalen Kläranlage.

PHA-Produktion

- Substratkonzentration: 1200 mg_{VFA}/L bis 2000mg_{VFA}/L,
- Temperatur: 15 °C bis 30 °C,
- pH-Wert: 6 bis 9 und pH-unkontrolliert,
- Selektionsdauer: Stabile feast-Phase oder Biomassenkonzentration, sowie eine Versuchsdauer bis ein maximaler PHA-Gehalt erreicht ist,
- Dauer des feast/famine-Zykluses: Eine ausreichend lange famine-Phase muss gewährleistet sein und die feast-Phase sollte maximal 20 % der Zyklusdauer einnehmen.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Substratauswahl

Die zur Produktion von Bioplastik benötigten kurzkettigen Fettsäuren, auch flüchtige Fettsäuren (VFA) genannt, werden durch anaerobe Fermentation aus geeigneten Substraten gewonnen. Auf einer kommunalen Kläranlage stehen mehrere dafür in Frage kommende Stoffströme zur Verfügung.

1. Primärschlamm
2. Überschussschlamm
3. Faulschlamm
4. Kombinationen aus 1 - 3

Die vom Antragsteller untersuchten Kombinationen sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Untersuchte Substratkombinationen

| Substrat | Temperatur | pH-Wert |
|-----------------------|-------------------|-------------------|
| Primärschlamm | 20 °C, 30 °C | 6, unkontrolliert |
| Prim./ Faulschlamm | 20 °C, 30 °C | 6, unkontrolliert |
| Überschussschlamm | 20 °C, 30 °C | 6, unkontrolliert |
| Übersch./ Faulschlamm | 20 °C, 30 °C | 6, unkontrolliert |

Ein Vergleich aller Verfahrenskombinationen ist in Tabelle 3 dargestellt, welche nach dem Versäuerungsgrad (DA) sortiert ist. Der Versäuerungsgrad zeigt dabei an, wie viel vom anfänglich vorhandenen CSB in Fettsäure umgewandelt wurde. Von allen untersuchten Schlämmen erwies sich Primärschlamm als der am besten zur VFA-Produktion geeignete. So enthalten alle Kombinationen mit einer Versäuerungsrate > 10 % Primärschlamm. Das beste Ergebnis konnte mit purem Primärschlamm bei 30 °C und einem pH-Wert von 6 erzielt werden. Für die weiteren Versuche wurde daher Primärschlamm als Substrat verwendet.

Tabelle 3: Ergebnisse der Verfahrenskombinationen

| Kohlenstoffquelle | pH-Wert | Temp. [°C] | HRT [d] | ΣVFA [mg/l] | ΔVFA [mg/l] | Versäuerungsgrad (DA) [gCSB_{VFA}/gCSB] | Anteil Essig-/Propion-/Buttersäure [%] |
|--------------------------|----------------|-------------------|----------------|--------------------|--------------------|--|---|
| Primärschlamm | 6 | 30 | 9 | 3880 | 3424 | 0,31 | 52/48/0 |
| Primärschlamm | 6 | 20 | 7 | 1754 | 1298 | 0,14 | 56/44/0 |
| Primärschlamm | 4,6 | 30 | 10 | 1920 | 1599 | 0,14 | 41/59/0 |

| | | | | | | | |
|-----------------------------|-----|----|----|------|------|------|----------------|
| Primär- /Faulschlamm | 7 | 20 | 14 | 1719 | 1551 | 0,14 | 79/21/0 |
| Primärschlamm | 4,5 | 20 | 15 | 1796 | 1475 | 0,13 | 42/58/0 |
| Primär- /Faulschlamm | 7,5 | 30 | 14 | 1561 | 1393 | 0,12 | 84/16/0 |
| Überschussschlamm | 7 | 30 | 5 | 610 | 463 | 0,10 | 59/20/21 |
| Überschussschlamm | 6,5 | 20 | 4 | 541 | 394 | 0,08 | 59,7/19,6/20,7 |
| Primär- /Faulschlamm | 6 | 30 | 5 | 1068 | 923 | 0,07 | 75/25/0 |
| Überschussschlamm | 6 | 20 | 7 | 397 | 299 | 0,06 | 24/76/07 |
| Überschussschlamm | 6 | 30 | 5 | 467 | 369 | 0,06 | 67/33/0 |
| Primär- /Faulschlamm | 6 | 20 | 2 | 413 | 268 | 0,03 | 57/43/0 |
| Überschuss- /Faulschlamm | 6 | 30 | 4 | 280 | 231 | 0,03 | 100/0/0 |
| Überschuss- /Faulschlamm | 8 | 30 | 3 | 278 | 180 | 0,03 | 76/0/24 |
| Überschuss- /Faulschlamm | 7,5 | 20 | 7 | 207 | 158 | 0,02 | 100/0/0 |
| Überschuss- /Faulschlamm | 6 | 20 | 2 | 80 | 31 | 0,01 | 100/0/0 |

4.2 Optimierung der Fettsäureproduktion

Nach erfolgter Schlammauswahl folgte die Optimierung der Fettsäureproduktion hinsichtlich der Temperatur, des pH-Wertes und der Reaktoraufenthaltszeit (RT).

4.2.1 Temperatur

Die Versuche zur Schlammauswahl zeigen, dass die Produktion von VFA bereits bei 20 °C funktioniert. Bei purem Primärschlamm konnten in den untersuchten Kombinationen jeweils bei 30 °C bessere Ergebnisse erzielt werden als bei 20 °C.

Hierbei ist zusätzlich zu berücksichtigen, dass Primärschlamm eine Temperatur von ca. 15 °C aufweist. Ein Vorwärmen des Primärschlammes wäre unumgänglich, um einen Temperaturschock für die Mikroorganismen im Reaktor zu vermeiden. Mit Primärschlamm als Rohstoff (bei pH kontrollierten Bedingungen) steigt der DA durch den Temperaturwechsel von 20 °C auf 30 °C von 14 % auf 31 %. Die allgemeine Annahme, dass die Fermentationsgeschwindigkeit mit höherer Temperatur steigt, kann nicht bestätigt werden.

Aufgrund der Resultate wurden die weiteren Versuche in einem Temperaturkonstantraum bei 30 °C bis 35 °C durchgeführt.

4.2.2 pH-Wert

Bereits bei den Versuchen zur Schlammauswahl konnte festgestellt werden, dass der pH-Wert einen großen Einfluss auf die VFA-Produktion hat. pH-Werte kleiner sechs konnten bereits in Vorversuchen als nicht zielführend ausgeschlossen werden, da die an der VFA-Produktion beteiligten Mikroorganismen ein neutrales Milieu bevorzugen. Abbildung 4 zeigt die VFA-Produktion mit Primärschlamm bei unterschiedlichen pH-Werten. Es ist zu erkennen, dass die Ergebnisse bei pH 7 am besten sind.

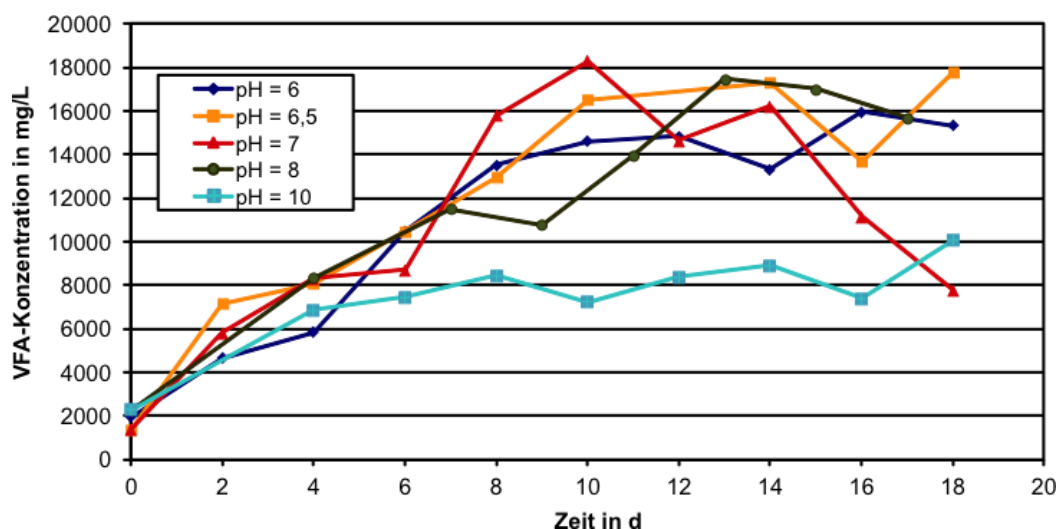


Abbildung 4: VFA-Produktion bei unterschiedlichen pH-Werten

Aufgrund des während der später getesteten kontinuierlichen Produktion entstehenden Methangases wurde der optimale pH-Wert jedoch von 7 auf 6 herabgesetzt. So kann festgehalten werden, dass bei einer Batch-Produktion der pH-Wert von 7 am besten, bei semi-kontinuierlicher Produktion der pH-Wert von 6 am besten zur VFA-Produktion geeignet ist.

4.2.3 Aufenthaltszeit (RT) und Entnahmemenge (WD)

Für die Versuche wurde ein Reaktor mit 25 L Volumen im 30 °C-Klimaraum aufgestellt. Dieser wurde zum Start mit 15 L Primärschlamm befüllt. Nach einer Adaptionsphase von 10 Tagen wurde mit dem eigentlichen Versuchsprogramm begonnen. Tabelle 4 zeigt die durchgeführten Variationen an RT und WD. Bei jeder Entnahme wurde die VFA-Konzentration des Reaktors beprobt. Bei allen Versuchen wurde der pH-Wert auf 6 eingestellt.

Tabelle 4: Ergebnisse der VFA-Produktion hinsichtlich RT und WD

| Versuch Lfd.-Nr. | Temp. °C | RT d | WD % | VFA-Konzentration mg/l |
|-----------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------------------------|
| 1 | 30-35 | 4 | 25 | 7653,49 |
| 2 | 30-35 | 4 | 50 | 5909,64 |
| 3 | 30-35 | 4 | 75 | 5715,25 |
| 4 | 30-35 | 6 | 25 | 8941,12 |
| 5 | 30-35 | 6 | 50 | 6355,78 |
| 6 | 30-35 | 8 | 25 | 8694,92 |
| 7 | 30-35 | 8 | 50 | 8314,53 |

Die höchsten Konzentrationen werden bei Aufenthaltszeiten von 6 und 8 Tagen erreicht. Die höchste tägliche VFA-Fracht wird jedoch bei 4 Tagen Aufenthaltszeit. Abbildung 5 zeigt die über den Versuchszeitraum von 50 Tagen gemittelten VFA-Konzentrationen, sowie die VFA-Fracht der einzelnen Versuche.

Bei allen Aufenthaltszeiten ist eine Verringerung der Konzentration bei erhöhter Entnahmemenge zu beobachten. Dies erklärt sich dadurch, dass bei höherer Entnahmemenge weniger bereits an das Substrat adaptierte Mikroorganismen im Reaktor verbleiben. Gleichzeitig ist bei einer Aufenthaltszeit von RT = 6 d die höchste Konzentration zu verzeichnen. Die Abnahme bei RT = 8 ist nur minimal und liegt im Bereich der Schwankungen, die durch die unterschiedliche Zusammensetzung des Primärschlammes herrühren.

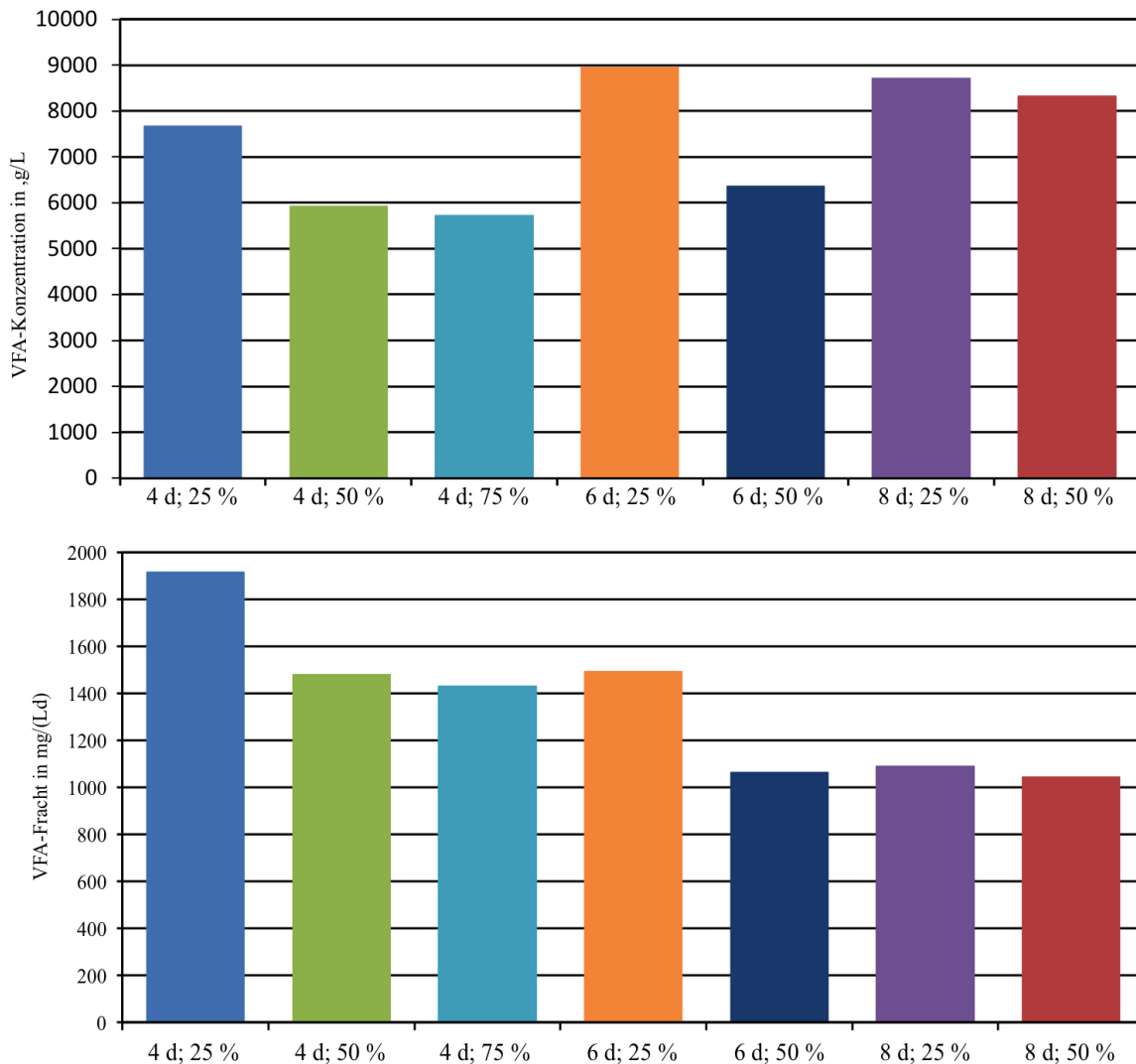


Abbildung 5: Tägliche VFA-Konzentration und -Fracht der durchgeführten Versuche

Deutlich zu sehen ist, dass sowohl zunehmende RT als auch zunehmende WD zu einer verringerten VFA-Fracht führen. Die hohen VFA-Konzentrationen bei RT = 6 und WD = 25 % führen mit einer VFA-Fracht von 1490 mg_{VFA}/(Ld) nicht zum besten Ergebnis. Dies wird bei RT = 4 d und WD = 25 % mit einer VFA-Fracht von 1913 mg_{VFA}/(Ld) erreicht.

4.3 Optimierung der PHA-Produktion

Neben den Versuchen zur VFA-Produktion wurden zwei Reaktoren zur PHA-Produktion hergestellt und mit entsprechender Sensorik (pH, Temp., Sauerstoff) ausgerüstet. Die PHA-Produktion soll dabei mit einer Mischkultur (Belebtschlamm des LFKWs) erfolgen.

4.3.1 Substratkonzentration

Der erzielte PHA-Gehalt, die PHA-Zusammensetzung sowie die bei den Versuchen eingestellten Randbedingungen können Tabelle 5 entnommen werden. Die Zyklusdauer aller Versuche lag bei 24 h. Dabei kann mit 25,9 Gew.% der höchste PHA-Gehalt bei 20 °C, pH = 7 und 1200 mg_{VFA}/L Substratkonzentration erreicht werden. Eine höhere Substratkonzentration von 2000 mg_{VFA}/L führt bei 20 °C zu einer deutlich schlechteren PHA-Produktion von max. 4,8 Gew.%.

Tabelle 5: PHA-Produktion in Abhängigkeit der Substratkonzentration

| Substratkonz. mg_{VFA}/L | Temp. °C | pH | PHA Gew.% | PHB/PHV Gew.%/Gew.% |
|---|---------------------------|-----------|----------------------------|--------------------------------------|
| 1200 | 20 | unk. | 13,2 | 7,0/6,2 |
| 1200 | 20 | 7 | 25,9 | 14,2/12,7 |
| 1200 | 30 | unk. | 3,4 | 2,3/1,1 |
| 2000 | 20 | unk. | 4,8 | 3,3/1,5 |
| 2000 | 30 | 7 | 1,8 | < 2/1,8 |
| 2000 | 30 | unk. | 5,8 | 3,8/2,0 |

4.3.2 Temperatur

Die bei unterschiedlichen Temperaturen erzielten Versuchsergebnisse und die dabei eingestellten Randbedingungen sind in Tabelle 6 dargestellt. Der bei 15 °C langsamere Metabolismus der Mikroorganismen führte dazu, dass sich nur eine sehr kurze famine-Phase einstellte. Diese ist jedoch zur Selektion der PHA produzierenden Mikroorganismen zwingend nötig. Um eine ausreichend lange famine-Phase zu gewährleisten wurde die Zyklusdauer von 24 h auf 48 h erhöht. Abbildung 6 zeigt die Phasenlängen anhand des im Reaktor gelösten Sauerstoffgehalts bei den getesteten Temperaturen.

Tabelle 6: PHA-Produktion in Abhängigkeit der Reaktortemperatur

| Temp °C | pH | Zyklusdauer h | PHA Gew. % | PHB/PHV Gew. %/Gew. % |
|------------|------|------------------|---------------|--------------------------|
| 15 | 7 | 24/48 | 4,2 | 2,5/1,7 |
| 20 | 7 | 24 | 25,9 | 13,2/12,7 |
| 30 | 7 | 24 | 0,6 | < 2/0,6 |
| 20 | unk. | 24 | 13,2 | 7,0/6,2 |
| 30 | unk. | 24 | 3,4 | 2,3/1,1 |

Bei den in Abbildung 6 dargestellten Kurvenverläufen handelt es sich jeweils um einen in Reaktor 2b durchgeführten PHA-Produktionsversuch. Deutlich sichtbar ist die wesentlich längere feast-Phase bei 15 °C, welche über 21 h andauert. Im Vergleich dazu dauert die längste feast-Phase bei 20 °C oder 30 °C unter 10 h. Ebenso wird deutlich, dass eine Temperaturerhöhung von 20 °C auf 30 °C sowohl bei pH = 7 als auch bei unkontrolliertem pH-Wert zu einer länger dauernden feast-Phase führt. Eine mögliche Erklärung wäre die Adaption der Mikroorganismen an die Temperatur des Rücklaufschlammes.

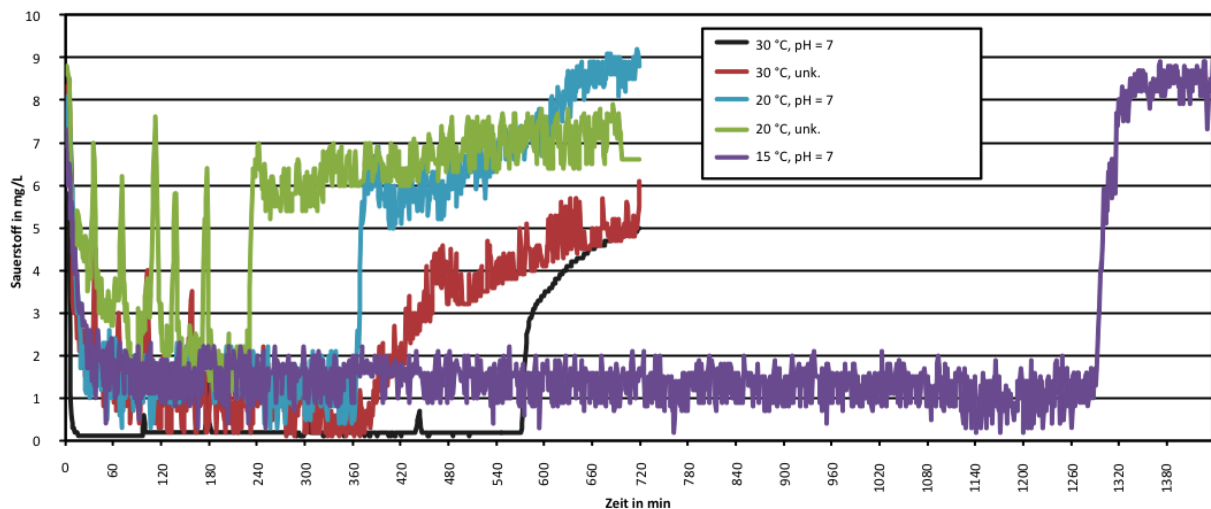


Abbildung 6: Temperaturabhängige Dauer der feast/famine-Phasen

4.3.3 pH-Wert

Um den Einfluss des pH-Werts auf die PHA-Produktion zu testen, fanden mehrere Versuche statt. Diese wurden alle bei 20 °C und mit einer Substratkonzentration von 1200 mg_{VFA}/L durchgeführt. Tabelle 7 listet die untersuchten pH-Werte sowie die damit erzielten PHA-Gehalte auf.

Tabelle 7: PHA-Produktion in Abhängigkeit des pH-Werts

| pH | PHA Gew.% | PHB/PHV Gew.%/Gew.% |
|-----------|----------------------|--------------------------------|
| unk. | 13,2 | 7,0/6,2 |
| 6 | n.n. | n.n |
| 7 | 25,9 | 13,2/12,7 |
| 8 | 28,4 | 14,7/13,7 |
| 9 | 4,4 | 3,0/1,4 |

Die getesteten pH-Werte führen zu stark schwankenden Ergebnissen. Der in Stufe 1 zur Substratproduktion eingestellte pH-Wert von 6 führt in der zweiten Stufe zu keiner nachweisbaren PHA-Produktion. Somit steht fest, dass die Stufen 1 und 2 mit unterschiedlichen pH-Werten betrieben werden müssen. Eine Anhebung des pH-Wertes auf 7 und 8 führt zu einer hohen PHA-Produktion von 25,9 % bzw. 28,4 %. Im Vergleich dazu können bei pH = 9 lediglich 4,4 % PHA erzielt werden. Der Versuch ohne pH-Kontrolle führt zu einer PHA-Produktion von 13,2 % und erzielt damit nur ca. den halben PHA-Gehalt wie die Versuche bei pH = 7 oder 8. Eine pH unkontrollierte Produktion hätte somit niedrigere Investitions- und Betriebskosten, da die pH-Regelung sowie die Verbrauchsmaterialien Säure und Lauge entfallen würden. Aufgrund der wesentlich niedrigeren PHA-Produktion ist eine pH unkontrollierte zweite Stufe jedoch nicht sinnvoll.

4.3.4 Dauer des feast/famine-Zyklus

Das Einstellen eines feast/famine-Zyklus ist für die Selektion der Mikroorganismen zwingend erforderlich. Auf diese Weise erlangen die Biopolymererzeuger einen Selektionsvorteil und können sich gegen die Mikroorganismen ohne intrazelluläre Speicherfähigkeit durchsetzen. Um den Einfluss der Zyklusdauer auf die PHA-Produktion zu untersuchen, wurden Versuche mit unterschiedlicher Zyklusdauer durchgeführt. Tabelle 8 listet die durchgeführten Versuche auf und stellt die erzielten PHA-Gehalte dar. Durch die Zugabe einer konstanten Menge an Substrat sollte die Dauer der feast-Phase unverändert bleiben, so dass die Variation der Zykluslänge lediglich unterschiedlich lange famine-Phasen zur Folge hat.

Dabei kann kein signifikanter Einfluss der Dauer der famine-Phase auf die PHA-Produktion beobachtet werden. Bei der kürzesten Zyklusdauer wird der höchste PHA-Gehalt erreicht. Die

mittlere Zyklusdauer zeigt einen Abfall der PHA-Produktion, während die längste Zyklusdauer von 72 h wieder zu einer Zunahme der PHA-Produktion führt.

Tabelle 8: PHA-Produktion in Abhängigkeit der Zyklusdauer

| Zyklusdauer h | PHA Gew.% | PHB/PHV Gew.%/Gew.% |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| 24 | 28,4 | 14,7/13,7 |
| 48 | 18,3 | 9,5/8,8 |
| 72 | 21,4 | 8,3/13,1 |

Es ist davon auszugehen, dass die kürzeste Zyklusdauer bereits eine ausreichend lange farnne-Phase besitzt, so dass eine Verlängerung der Zyklusdauer keinen entscheidenden Einfluss auf die Selektion nimmt.

5 Fazit der Versuchsergebnisse

5.1 Fermentation

Die Versuche zur Optimierung der Randbedingungen der ersten VFA-Produktionsstufe ergaben einen pH-Wert von 6, eine Temperatur von ca. 30 °C, eine Reaktoraufenthaltszeit von 4 Tagen und eine tägliche Entnahmemenge von 25 %. Nicht vergessen werden darf jedoch die Batch-Produktion der ersten Versuche z.B. zur pH-Wert Optimierung. Die hierfür verwendete Reaktorkombination kann im Vergleich zu den anderen Versuchen als $RT = 10 \text{ d}$ und $WD = 100 \%$ bezeichnet werden. Hierbei wurden die bei weitem höchsten VFA-Konzentrationen mit über 18.000 mg/L erreicht, was zu einer täglichen VFA-Fracht von 1829 $\text{mg}_{\text{VFA}}/(\text{Ld})$ und damit dem zweitbesten Ergebnis führt (vergl. Tabelle 4). Ein Vorteil dieser Verfahrensweise ist die geringe Reaktorlaufzeit von 10 d. Die beschriebenen Probleme der Methanbildung können dabei so gut wie ausgeschlossen werden. Ein Nachteil für eine dauerhafte Produktion wäre jedoch, dass man zur täglichen VFA-Produktion 10 Reaktoren benötigen würde.

5.2 PHA-Produktion

Aus denen in der ersten Stufe produzierten Fettsäuren lässt sich prinzipiell PHA herstellen. Dabei ist eine VFA-Konzentration von 1200 mg_{VFA}/L besser geeignet als eine höhere VFA-Konzentration von 2000 mg_{VFA}/L. Die Reaktortemperatur sollte um die 20 °C liegen. Sowohl höhere als auch niedrigere Temperaturen führen zu schlechteren Ergebnissen. Der pH-Wert sollte in einem Bereich zwischen 7 und 8 und damit im neutralen bis leicht alkalischen Bereich liegen. Dementsprechend muss eine leichte Erhöhung des pH-Werts zwischen Stufe 1 und 2 erfolgen. Bei einer Zyklusdauer von 24 h stellte sich eine ausreichend lange famine-Phase ein, so dass eine Selektion der Mikroorganismen möglich war. Dies ist von besonderer Bedeutung, da die besten Bedingungen der Stufe 1 dazu führen, dass täglich Substrat zur Verfügung steht und so eine optimale Koppelung beider Prozessstufen möglich ist.

6 Literatur

- [1] D. Dionisi, M. Majone, V. Papa, and M. Beccari. Biodegradable polymers from organic acids by using activated sludge enriched by aerobic periodic feeding. *Biotechnol. Bioeng.*, 85 (6):569–579, 2004.
- [2] Hans-Josef Endres and Andrea Siebert-Raths. *Technische Biopolymere*. Hanser Verlag, München, 2009.
- [3] L.S. Serafim, P.C. Lemos, R. Oliveira, and M.A.M. Reis. Optimization of polyhydroxybutyrate production
- [4] <http://www.welt.de/wissenschaft/umwelt>, März 2013.
- [5] Allsopp M., Walters, A., Santillo D., Johnston P., Greenpeace. *Plastic Debris in the World's Oceans*.
- [6] Galloway Tamara S. Thompson Richard C. Teuten Emma L., Rowland Steven J. Potential for plastic to transport hydrophobic contaminants. *Environmental Science & Technology*, 41, NO. 22:7759;7764, 2007.
- [7] *Marine Litter: An analytical overview*, UNEP United Nations Environment Programme.

- [8] Athanasopulu Kiriaki Holm Patricia, Schulz Gerhard. Mikroplastik - ein unsichtbarer Störfried. *Biologie in unserer Zeit*, 43:27;33, 2013.
- [9] <http://www.scinexx.de/dossier-detail-487-5.html>, November 2013.
- [10] Plasticeurope Plastics - the Facts 2011 Plasticeurope, 2011
- [11] Plasticeurope Plastics - the Facts 2013 Plasticeurope, 2013
- [12] Statistisches Jahrbuch- Deutschland und Internationales 2012 Statistisches Bundesamt
- [13] Donner, S. & Winter, A., Deutscher Bundestag - Aktueller Begriff: Plastikmüll in Weltmeeren, 2010
- [14] BPp.l.c., BP Statistical Review of World Energy, 2012
- [15] OPEC, Annual Statistical Bulletin 2013
- [16] Wilhelm, H. & Reitinger, K., Nachwachsende Biopolymere als Substitution für Massenkunststoffe Berichte aus Energie- und Umweltforschung, 2006
- [17] EuropeanBioplastics, e.V., <http://en.european-bioplastics.org/bioplastics/>, November 2013
- [18] Timo Pittmann und Heidrun Steinmetz, Produktion von Bioplastik auf kommunalen Kläranlagen, *Wasser und Abfall* 05/13, 37 - 41
- [19] Pittmann, T. & Steinmetz, H., Influence of operating conditions for volatile fatty acids enrichment as a first step for polyhydroxyalkanoate production on a municipal waste water treatment plant. *Bioresource Technology*, 2013, 148C, 270-276