

# Schlussbericht

## zum Vorhaben

Thema:

**Effizienzsteigerung von Biogasanlagen durch Etablieren der Hochlastfaulung (am Beispiel von Mais) mit Nachweis der Mikroorganismenflora (HoLaFlor)**

Zuwendungsempfänger:

**Fraunhofer Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e.V.**

**Ausführende Stelle: Fraunhofer IGB, Nobelstr. 12, 70569 Stuttgart**

Förderkennzeichen:

**22011613**

Laufzeit:

**01.10.2015 bis 31.12.2018**

Monat der Erstellung:

**07/2019**

Gefördert durch:



Bundesministerium  
für Ernährung  
und Landwirtschaft

aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages mit Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) als Projektträger des BMEL für das Förderprogramm Nachwachsende Rohstoffe unterstützt. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt





FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR GRENZFLÄCHEN- UND  
BIOVERFAHRENSTECHNIK IGB

# **Effizienzsteigerung von Biogasanlagen durch Etablieren der Hochlastfaulung (am Beispiel von Mais) mit Nachweis der Mikroorganismenflora (HoLaFlor)**

FKZ 22011613

**Dr. Brigitte Kempter-Regel**

Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB  
Nobelstraße 12  
70569 Stuttgart

Förderkennzeichen 22011613



# Inhalt

1	Ziele.....	7
1.1	Thema und Zielsetzung des Forschungsvorhabens .....	7
1.2	Aufgabenstellung.....	8
1.3	Stand der Technik .....	9
1.4	Verwendete Fachliteratur .....	11
1.5	Zusammenarbeit mit anderen Stellen .....	15
2	Erzielte Ergebnisse .....	16
2.1	Charakterisierung verschiedener Gärreste hinsichtlich ihrer Eignung als Inokulum .....	16
2.1.1	Methodik .....	16
2.1.2	Charakterisierung der Gärreste für den Einsatz als Inokulum .....	17
2.1.3	Screening: Biogas aus Maissilage im Batch-Ansatz mit verschiedenen Inokula .....	24
2.2	Aufbau, Inbetriebnahme und Langzeitbetrieb von zwei einstufigen Biogasanlagen im Technikumsmaßstab.....	29
2.3	Einstufige Technikumsanlagen.....	29
2.4	Inokulum für die kontinuierlichen Untersuchungen .....	32
2.5	Charakterisierung der Substrate.....	33
2.5.1	Maissilage als Substrat.....	33
2.5.2	Rindergülle.....	36
2.5.3	Maissilage und Rindergülle .....	36
2.6	Inbetriebnahme.....	37
2.7	Durchführung der kontinuierlichen Untersuchungen mit den Anlagen HLF und REF.....	38
2.8	Analysenergebnisse aus den kontinuierlichen Untersuchungen.....	41
2.8.1	pH-Wert und organische Säuren .....	41
2.8.2	Verlauf der Ammonium Konzentration.....	42
2.8.3	Zeitlicher Verlauf der Biogasbildung .....	43
2.8.4	Ausgewählte Analysenergebnisse aus den kontinuierlichen Untersuchungen mit Monosubstrat Maissilage .....	44
2.9	Maissilage als Monosubstrat für verschiedene Verweilzeiten .....	50
2.9.1	Biogasproduktivität .....	51
2.9.2	Methanproduktivität .....	51
2.9.3	Biogasertrag .....	52
2.9.4	Methanertrag .....	53

2.9.5	Abbaugrad .....	54
2.9.6	Zusammenfassung der kontinuierlichen Untersuchungen mit dem Monosubstrat Maissilage ....	55
2.9.7	Charakterisierung der Gärreste .....	58
2.9.8	Bestimmung des Restgaspotentials .....	60
2.9.9	Quantifizierung der Energieausbeute .....	64
2.10	Mikrobiologische Untersuchungen an allen eingesetzten Inokuli und in den kontinuierlichen betriebenen Biogasanlagen zu verschiedenen Zeitpunkten.....	66
2.10.1	Mikrobiom-Charakterisierung verschiedener Inokula .....	66
2.10.2	Mikrobiom-Charakterisierung in der Hochlastfaulung HLF im Vergleich zur herkömmlichen Betriebsweise in der REF .....	73
2.11	Untersuchung des Effektes von Rindergülle .....	82
2.12	Übertragbarkeit auf bestehende Anlagen.....	86
2.12.1	Verfahrensweise .....	86
2.12.2	Verfahrenstechnik.....	88
2.12.3	Betriebsparameter .....	90
2.13	Zusammenfassung .....	92
3	Verwertung .....	93
3.1	Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans .....	93
3.2	Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende bzw. Aussichten für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung der Ergebnisse.....	94
3.3	Wirtschaftliche Erfolgsaussichten.....	95
4	Erkenntnisse von Dritten .....	95
5	Veröffentlichungen .....	96

# 1 Ziele

## 1.1 Thema und Zielsetzung des Forschungsvorhabens

Im Hinblick auf die große Anzahl von etwas mehr als 7500 Biogasanlagen im Jahr 2012 (FNR 2012) sowie die angestrebte Erhöhung des Anteils von Biogas an erneuerbaren Energien ist es das Gesamtziel des Forschungsprojektes, eine effizientere Nutzung der eingesetzten Biomasse zu ermöglichen: Durch die Vorgabe einer kurzen Verweilzeit sollen dem Biogasprozess zuträgliche Mikroorganismen in der Biogasanlage gehalten und nachgewiesen werden, der Abbaugrad des Substrates soll dadurch im Vergleich zur herkömmlichen Biogasanlage verbessert, die Biogasproduktivität und -ausbeute gesteigert und als Konsequenz daraus eine reduzierte Methanfreisetzung aus den Gärresten erreicht werden.

### Vorgehen

Im Fokus dieses Vorhabens stand die Optimierung des Betriebs einer Biogasanlage im Technikumsmaßstab, indem ideale Bedingungen für die Mikroorganismenpopulation durch eine geeignete Betriebsweise mit vergleichsweise kurzer Verweilzeit und vergleichsweise hoher organischer Raumbelastung geschaffen werden. In diesem Projekt wurde am Beispiel von Mais als Monosubstrat untersucht, inwieweit die Biogasanlage mit einem geeigneten Inokulum und einer vergleichsweise kurzen Verweilzeit von 15 – 20 Tagen betrieben werden kann und dabei im Vergleich zur herkömmlich betriebenen Biogasanlage eine erhöhte Abbauleistung und eine erhöhte Biogausausbeute erreicht werden können. Für die nachgewiesenermaßen für eine höhere Last geeigneten Mikroorganismen sollten durch eine angepasste Prozessführung mit einer geeigneten Anlagentechnik schon während der Inbetriebnahme Milieubedingungen geschaffen werden, die ihren Verbleib in der Anlage und ihre Vermehrung begünstigen.

Um diese Bedingungen zu gewährleisten, wurde auf Basis eines gescreenten und charakterisierten Inokulums eine reproduzierbare Inbetriebnahme von Biogasanlagen im Technikumsmaßstab mit charakterisiertem Inokulum durchgeführt. In diesem Zusammenhang wurde die mikrobielle Zusammensetzung – das so genannte Mikrobiom – der Biogasanlage und der Inokula mittels Metagenomanalysen basierend auf der Hochdurchsatzsequenzierung umfassend charakterisiert. Außerdem wurden Leitorganismen identifiziert. Insbesondere sollten die Mikroorganismenpopulationen, die charakteristisch für die verschiedenen Stadien der Hochlastfaulung sind, identifiziert und die Dynamik der Zusammensetzung bestimmt werden. Die Nachgärung der Gärreste der Biogasanlage unter Hochlastbedingungen sollte auf diese Weise reduziert werden. So sollte die Nettoenergieausbeute gesteigert werden, indem durch die Vorgabe einer kurzen Verweilzeit dem Biogasprozess zuträgliche Mikroorganismen in der Biogasanlage gehalten werden, die Biogausausbeute gesteigert wird und als Konsequenz die Methanfreisetzung aus den Gärresten reduziert ist. Dieses Vorhaben sollte somit insgesamt zur ökonomischen und auch ökologischen Weiterentwicklung des Energieerzeugungskonzepts beitragen.

## 1.2 Aufgabenstellung

Im vorliegenden Vorhaben wurden Experimente im kontinuierlichen Verfahren über 550 Tage im Langzeitbetrieb durchgeführt mit dem Ziel, die Monovergärung von Maissilage bei kurzen hydraulischen Verweilzeiten zu untersuchen. Dazu wurde eine Biogasanlage im Technikumsmaßstab im Hochlastverfahren (Hochlastfaulung HLF) betrieben. Das heißt, die Verweilzeit wurde sukzessiv von 40 Tagen auf 15 Tagen reduziert. Dabei erfolgte eine Erhöhung der eingestellten organischen Raumbelastung meist frühestens nach einer Fermentationsdauer von 14 Tagen mit konstanter Biogasproduktion. Der Erfolg der Inbetriebnahme wurde anhand des Anstiegs der Biogasbildung nach Erhöhung der Raumbelastung verfolgt (VDI 4630). Durch ein vergleichsweise zügiges Erreichen von kurzen Verweilzeiten in der Hochlastfaulung wurden Bedingungen geschaffen, die die bei dieser Betriebsweise begünstigten Mikroorganismen in der Anlage halten sollten. Spezielle technische Maßnahmen und apparative Einrichtungen darüber hinaus zur weiteren Förderung der Ansiedelung bzw. Rückhaltung der Zielorganismen im Fermenter waren hier nicht vorgesehen, um die notwendige technische Ausstattung der Biogasanlagen zunächst gering zu halten.

Auf diese Weise sollten verlässliche Daten zur Biogasausbeute und zum Abbau von Maissilage im Langzeitbetrieb gewonnen werden. Um verlässliche Daten für eine Bilanzierung zu erhalten, wurde jede hydraulische Verweilzeit für eine Fermentationsdauer beibehalten, die zwei bis drei hydraulischen Verweilzeiten entsprach. Als Referenz wurde eine baugleiche Biogasanlage mit vergleichsweise langer hydraulischer Verweilzeit von 70 Tagen (Referenzanlage REF) betrieben. Als Modellsubstrat wurde Maissilage als Monosubstrat eingesetzt. Die beiden Biogasanlagen wurden parallel mit demselben Substrat betrieben und wurden während der Inbetriebnahme und während des kontinuierlichen Langzeitbetriebs hinsichtlich des Erfolgs durch Messungen und Analysen verschiedener Parameter kontrolliert. Die beiden Verfahrensweisen wurden hinsichtlich der Biogasproduktivität, der Biogasausbeute und des Abbaugrades vergleichend untersucht.

Die beiden Biogasanlagen wurden außerdem hinsichtlich der Mikroorganismenflora analysiert. Die Analyse der Mikroorganismenflora in den Biogasanlagen wurde für beide Betriebsweisen vergleichend für die unterschiedlichen hydraulischen Verweilzeiten durchgeführt. Die Gärreste aus dem Betrieb mit den kurzen Verweilzeiten wurden hinsichtlich ihres Restgaspotentials mit dem Gärrest aus dem Betrieb mit der hydraulischen Verweilzeit von 70 Tagen verglichen. Dazu wurden sie hinsichtlich ihrer Zusammensetzung sowie hinsichtlich ihrer Biogasbildung untersucht. Für jede untersuchte Verweilzeit wurden so die Gärreste analysiert. Dazu wurden sie in Batch-Experimenten hinsichtlich der Biogasertrags sowie des zeitlichen Verlaufs der Biogasbildung untersucht und verglichen.

Die Ergebnisse wurden dazu verwendet, die Energieausbeute aus dem Substrat Maissilage für beide Verfahrensweisen, dem herkömmlichen und dem Hochlastverfahren, zu berechnen und zu vergleichen.

Mit der hydraulischen Verweilzeit von 15 Tagen wurde anschließend der Einfluss von Rindergülle als Cosubstrat im Vergleich zum herkömmlichen Betrieb mit einer Verweilzeit von 70 Tagen untersucht.

Um für die Biogasanlage, die im Hochlastverfahren betrieben werden sollte, ein geeignetes Inokulum einsetzen zu können, wurde als Erstes zu Beginn des Vorhabens ein Screening durchgeführt. Dazu wurden zunächst verschiedene Gärreste hinsichtlich ihrer mikrobiellen Zusammensetzung charakterisiert sowie hinsichtlich ihres Einsatzes als Inokulum in einem Screeningverfahren geprüft. Mit dem so identifizierten Inokulum wurde die Biogasanlage im Technikumsmaßstab mit Mais als Monosubstrat durch eine



reproduzierbare Verfahrensweise in Betrieb genommen und durch sukzessives Verkürzen der Verweilzeit eine Verweilzeit von 15 Tagen erreicht. Die Anlage wurde an der Lastgrenze betrieben und ihre Leistung durch Quantifizierung der Biogasproduktivität nachgewiesen. Für jeden Betriebspunkt wurde die Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation zu festgelegten Zeitpunkten analysiert und verglichen. Als Referenz wurde eine Biogasanlage mit gleichem Inokulum und Substrat, jedoch herkömmlicher Inbetriebnahme und herkömmlicher Betriebsweise mit langer Verweilzeit (von 70 Tagen) betrieben. Durch Vermeidung von langen Verweilzeiten und geringen Raumbelastungen in der HLF sollten Mikroorganismen, die einen Wachstumsvorteil bei kürzeren Verweilzeiten und höheren organischen Raumbelastungen haben, in der Anlage gehalten werden.

### 1.3 Stand der Technik

Für landwirtschaftliche Biogasanlagen wird eine hydraulische Verweilzeit von mindestens 110 Tagen vorgeschrieben, die sich auf die Biogasanlage selbst, sowie einen sich anschließenden geschlossenen Gärrestbehälter bezieht. Dadurch soll eine Nachgärung mit signifikanter Methanemission verhindert werden. Deshalb sind große Fermenter und Gärrestbehälter für die Vergärung notwendig, deren Energiebedarf für die Temperierung sehr hoch sein kann – je nach Jahreszeit, Fermentergröße und Isolation bis zu 80 % der produzierten Energie (Rode et al., 2005). Die meisten Biogasanlagen werden mit einer Verweilzeit von mehr als 50 Tagen und einer Raumbelastung, die zwischen 1 und 3 kg oTR/m<sup>3</sup> und Tag liegt, betrieben (Weiland, 2006). Dabei werden einstufige Biogasanlagen mit einer organischen Raumbelastung von durchschnittlich 4,5 kg oTR/m<sup>3</sup>\*d betrieben, mehrstufige Anlagen mit deutlich geringeren Raumbelastungen von durchschnittlich 2,2 oTR/m<sup>3</sup>\*d (vTI, 2009). Bei höheren Raumbelastungen kommt es schnell zur Anreicherung von Propionsäure, v. a. bei Anlagen, die mit Mais als Monosubstrat betrieben werden. Trotz der langen Verweilzeit findet eine signifikante Nachgärung der Gärreste mit signifikanten, nachweisbaren Methanemissionen statt, die bis zu 25 % der gesamten Biogasausbeute ausmachen können (Weiland, 2006). Dadurch geht der Nettoenergiegewinn einer Biogasanlage weiter zurück.

Unter den NaWaRos dominierte das Substrat Maissilage und war bei über 94 % aller Biogasanlagen in Deutschland als Substrat im Einsatz (vTI, 2009). Rindergülle war das dominierende Substrat bei den Wirtschaftsdüngern und bei fast 60 % aller Biogasanlagen im Einsatz (vTI, 2009). Das Interesse an der Monovergärung von Energiepflanzen ohne Gülle wird jedoch zunehmend größer. Dies zeigte eine beachtliche Zahl an neu in Betrieb genommenen Monovergärungs-Anlagen (FNR 2006). Denn diese bewirken deutlich höhere Biogasraten. Allerdings wird dafür auch eine empfindlichere Prozessstabilität beschrieben (Mähnert, 2007).

Fast 90 % aller Biogasanlagen arbeiteten nach dem Prinzip des Nassgärverfahrens. Etwas mehr als 60 % aller Anlagen wurden zweistufig betrieben, etwa 85 % mit mesophiler Betriebsweise (vTI, 2009). Unter thermophilen Bedingungen sind aufgrund der schnelleren Reaktionsgeschwindigkeiten höhere Produktivitäten im Vergleich zu mesophilen Verfahren möglich (Mao et al. 2015). Auch die Biogasausbeute kann mit der thermophilen Verfahrensweise erhöht werden. Allerdings ist hier auch Versäuerung eher zu erwarten. Denn mesophile Prozesse werden stabiler angesehen, allerdings sind hier vergleichsweise geringere Methanerträge und geringere Abbaugrade zu erreichen (Mao et al., 2015). Die überwiegende Anzahl der Praxisbiogasanlagen werden mit Raumbelastungen von 1 – 3 kg oTS/ m<sup>3</sup>d (Weiland, 2006), anderen Autoren zufolge mit

Raumbelastungen von 2 - 3 kg oTS/ m<sup>3</sup>d betrieben (Eder & Schulz 2006). Eine Steigerung der Raumbelastung wird dabei jedoch von der oTR-Konzentration des Substrates sowie dem täglichen Durchsatz begrenzt. oTR-Konzentration ab 10 % führen zur Erhöhung der Viskosität, wodurch die Pumpfähigkeit sowie die Durchmischung beeinträchtigt wird (Köttner 2000), was letztendlich auch den Stoffübergang limitiert. Die optimale hydraulische Verweilzeit hängt ab von der Prozesstemperatur, der Substratkonzentration und –art. Als typische Verweilzeit werden einige Wochen angegeben (Mao et al., 2015), bei Energiepflanzen sollten 42 Tagen als Mindestverweildauer vorgesehen werden (Eder und Schulz, 2006). Bei kürzeren Verweilzeiten von 10 – 15 Tagen kann es zum Auswaschen kommen, so dass auch der Methanertrag sinken kann (Gerardi 2003, Kämpfer und Weißenfels 2001). Geringe organische Raumbelastungen und lange Verweilzeiten werden als Voraussetzungen angesehen für einen stabilen Prozess mit konstanten und maximalen Methanausbeuten. Für Biogasanlagen mit höheren Raumbelastungen und geringeren Verweilzeiten waren deshalb in der Regel auch geringere Abbaugrade der organischen Substanz zu erwarten (Eder & Schulz 2006). Zu geringe Verweilzeiten können einen zurückgehenden Abbaugrad und zurückgehende Biogasausbeute bewirken bzw. auch einen Anstieg von organischen Säuren, was dazu führen kann, dass der Prozess vollständig zum Erliegen kommt.

Allerdings führt auch die sicherheitsorientierte Fahrweise mit geringer Raumbelastung zu Einbußen bzw. zum Rückgang der Produktivität (FNR, 2009). Mit herkömmlichen Verweilzeiten wurde ein durchschnittlicher Abbau der organischen Substanz von 60 % (Eder & Schulz 2006) bis 76 % (FNR 2009) beschrieben, wobei für Rindergülle ein positiver Effekt beschrieben wurde (Hölker 2009). Raumbelastungen, Verweilzeiten und Abbaugrade sind jedoch nur bedingt zu vergleichen, da hier auch meist unterschiedliche Verfahrensweisen und Prozessführungen miteinander verglichen werden (Anzer et al. 2003, Eder & Schulz 2006, Fischer & Krieg 2005).

Für die Biogasproduktion aus Klärschlamm wurde nachgewiesen, dass mit zunehmender Raumbelastung der Abbaugrad und die Biogasausbeute erhöht werden kann (Kempter et al., 2000; Kempter-Regel et al., 2003). Zudem erzielt die Hochlastfermentation, also das Führen des Prozesses bei einer deutlich höheren Raumbelastung, einer zweistufigen Anlage bei einer verkürzten HRT von insgesamt 10 Tagen den gleichen Abbaugrad wie bei einer HRT von insgesamt 16 Tagen (Kempter et al., 2000).

In der Literatur wurde auch beschrieben, dass die Zusammensetzung des Inokulums hinsichtlich der Mikroorganismen eine wesentliche Rolle spielt im Zusammenhang mit dem möglichen Methanpotential von Substraten (de Vrieze et al., 2015; Koch und Drewes, 2017). Durch die Vorgabe eines geeigneten Inokulums kann die Biogasausbeute beeinflusst werden. Die Monovergärung von Maissilage kann im Langzeitbetrieb zum Rückgang der Biogasproduktion führen aufgrund von Spurenelementmangel wie z. B. Kobalt-, Molybden- und Selenmangel (Lebuhn et al, 2008). Maissilage aus unterschiedlichen Standorten ergaben z. T. auch aufgrund unterschiedlicher Versorgung mit Spurenelementen unterschiedliche Biogasausbeuten. So wurden für Maissilagen von vier unterschiedlichen Standorten im kontinuierlichen Langzeitbetrieb mit einer Raumbelastung von 1,5 g/l\*d Biogasausbeuten ermittelt, die zwischen 0,469 und 0,645 NL/g oTS lagen. Die Unterversorgung der Mikroorganismen über die Fermenterdosierung mit Mais ließ keine stabilen Betriebszustände mit höheren Raumbelastungen als 1,5 g oTS/l \* d zu (Vollmer et al., 2011). In Batch-Experimenten ermittelte Biogasausbeuten lagen zwischen 0,53 und 0,92 m<sup>3</sup>/kgoTR (Mähnert, 2007).

Ein detailliertes Verständnis der Vorgänge in einer Biogasanlage, insbesondere Erkenntnisse zu der Veränderung der mikrobiellen Lebensgemeinschaft in Abhängigkeit von den eingebrachten Substraten und der Verweildauer, welche zur optimalen Steuerung der Anlage herangezogen werden könnte, ist gegenwärtig

nicht gegeben. Mit den Möglichkeiten der Parallel-Sequenzierungstechnologie (Next-Generation-Sequencing, NGS) können seit kurzem komplexe Metagenome und Metatranskriptome erfasst und deren zeitliche Veränderungen analysiert werden (Grohmann et al., BioresTech, 2018). Denn auch heute noch ist ein großer Teil an Mikroorganismen unter Laborbedingungen nicht kultivierbar. Somit bleiben diese einer klassischen Identifizierung und Charakterisierung weitgehend verschlossen und insbesondere für die Nutzung in der industriellen Biotechnologie unzugänglich. Anaerobe Bedingungen mit pH-Wert Schwankungen, wie sie beispielsweise während eines Silierprozesses, im Klärschlamm oder einer Biogasanlage auftreten, sind kaum in einem Labor definiert nachzubilden.

Es ist jedoch bekannt, dass das unbekannte Potential in diesen mikrobiellen Gemeinschaften als ausgesprochen vielversprechend eingeschätzt wird, um völlig neue Produktionswege zu erschließen. Das Prinzip des NGS lässt es zu, genau diese spezialisierte Population qualitativ und quantitativ zu charakterisieren, über die vorher kaum etwas bekannt war und die somit auch nicht in den gewöhnlichen Datenbanken auftauchen (Campanaro et al., BiotechBiofuels, 2016; Treu et al., BioresTech, 2016). Hierbei werden Proben direkt aus der Biozönose und damit dem zugrundeliegenden Prozess entnommen, und die Nukleinsäuren je nach Fragestellung isoliert und sequenziert. Eine eher oberflächliche Beschreibung der Mikrobiome bietet die 16S rDNA-Amplikon-PCR, aus der meist nur Populationsverhältnisse auf Gattung- oder Familienebene hervorgehen, die aus öffentlichen Datenbanken bekannt sind. Die weitaus informationsreichere und vollständigere Methode ist die Sequenzierung des Gesamt-genomischen Materials über *whole genome shotgun* (WGS)-Sequenzierung. Dies erlaubt, die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft auf Speziesebene von bekannten aber auch von bis dato unbekannten Arten wie auch Anreicherungen bestimmter Stoffwechselwege zu bestimmen. So werden bei den Untersuchungen der Biozönosen während der Biogasproduktion, in der eine Kombination verschiedenster Stoffwechselwege notwendig ist, um das Endprodukt Methan zu synthetisieren, Zusammenhänge der vier maßgeblich beteiligten Stoffwechselwege - Hydrolyse, Acidogenese, Acetogenese und Methanogenese - und die dazugehörige Spezieszusammensetzung determiniert. Diese Kenntnisse über die Zusammensetzung der ‚Biogas-Biozönose‘ bildet dabei die Grundlage für eine Optimierung des Gesamtprozesses und damit für die Steigerung der Biogausausbeute bei konstantem Substrateinsatz.

#### 1.4 Verwendete Fachliteratur

Anzer T., Prechtl S., Schneider R., Winter J., Graf zu Eltz C., Faulstich M. (2003): Erfahrungen bei der thermophilen Vergärung von nachwachsenden Rohstoffen und Substraten mit hohem Stickstoffgehalt. *Biogas Journal* 2/03 10-12.

Buchfink B, Xie C, Huson DH. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nat Methods*. 2015;12(1):59.

Campanaro, Stefano, et al. "Metagenomic analysis and functional characterization of the biogas microbiome using high throughput shotgun sequencing and a novel binning strategy." *Biotechnology for biofuels* 9.1 (2016): 26.

Datta R. (1981): Acidogenic Fermentation of Lignocellulose-Acid Yield and Conversion of Components. In: *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXIII, Pp. 2167-2170 (1981) 1981 John Wiley & Sons, Inc.

- Eder B., Schulz H. (2006): *Biogas Praxis - Grundlagen, Planung, Anlagenbau, Beispiele, Wirtschaftlichkeit*. Ökobuch, Staufen.
- EEG 2012: Erneuerbare-Energien-Gesetz vom 25. Oktober 2008 (BGBl. I S. 2074), zuletzt geändert durch Artikel 5 des dritten Gesetzes zur Neuordnung energiewirtschaftsrechtlicher Vorschriften vom 20. Dezember 2012 (BGBl. I S. 2730).
- EEG 2017: Erneuerbare-Energien-Gesetz vom 21. Juli 2014 (BGBl. I S. 1066), das zuletzt durch Artikel 1 des Gesetzes vom 17. Juli 2017 (BGBl. I S. 2532) geändert worden ist.
- Fischer T., Krieg A. (2005): Praxisbeispiele für Anlagen zur Vergärung von Gras und nachwachsenden Rohstoffen. *Biogas Journal* 2/05 28-30
- Gerardi M. (2003): *The Microbiology of Anaerobic digesters*. John Wiley & Sons, New Jersey.
- Gerber M. (2009): Ganzheitliche stoffliche und energetische Modellierung des Biogasbildungsprozesses. Dissertation, Ruhr-Universität Bochum
- Goux X, Calusinska M, Lemaigre S, Marynowska M, Klocke M, Udelhoven T, et al. Microbial community dynamics in replicate anaerobic digesters exposed sequentially to increasing organic loading rate, acidosis, and process recovery. *Biotechnol Biofuels*. 2015;8(1):122.
- Grohmann A, Fehrmann S, Vainshtein Y, Haag NL, Wiese F, Stevens P, Naegele HJ, Oechsner H, Hartsch T, Sohn K, Grumaz C. „Microbiome dynamics and adaptation of expression signatures during methane production failure and process recovery.“ *Bioresource Technology*, Volume 247, January 2018, Pages 347-356.
- Grohmann A., et al. (2018): Genetic repertoires of anaerobic microbiomes driving generation of biogas. *Biotechnology for Biofuels*, 11:255.
- Güllert S, Fischer MA, Turaev D, Noebauer B, Ilmberger N, Wemheuer B, et al. Deep metagenome and metatranscriptome analyses of microbial communities affiliated with an industrial biogas fermenter, a cow rumen, and elephant feces reveal major differences in carbohydrate hydrolysis strategies. *Biotechnol Biofuels*. 2016;9(1):121.
- Hölker U. (2009): Rindergülle zeigt positive Einflüsse. *Biogas Journal* 4/09 68-71.
- Hyatt D, Chen G-L, LoCascio PF, Land ML, Larimer FW, Hauser LJ. Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification. *BMC Bioinform*. 2010; 11(1):119.
- Kempton B., Schmid-Staiger U., Trösch W. (2000): Verbesserte Abbau von kommunalen Klärschlämmen in einer zweistufigen Hochlast-Vergärungsanlage. In: KA - Wasserwirtschaft, Abwasser, Abfall (9), S. 1290–1295.

Kempton-Regel B., Trösch W., Oehlke M., Weber J. (2003): Integration einer Hochlastfäulung in die herkömmliche Technik. Erste Bilanzierungsergebnisse der Schlammfäulung in Heidelberg. In: KA - Abwasser, Abfall 50 (11), S. 1447–1453.

Klindworth, Anna, et al. "Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies." *Nucleic acids research* (2012): gks808.

Koch K., Drewes J. E. (2017): Impact of inoculum's origin on the methane yield in biochemical methane potential (BMP) tests. International conference „Progress in Biogas IV“, 8. – 11. März 2017, Universität Hohenheim.

Köttner M. (2000): Wenn die Biogasanlage plötzlich streikt. *Biogas, Top Agrar Extra* 64-66.

KTBL: Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e. V. KTBL-Biogasrechner

Lebuhn M., Liu F., Heuwinkel H., Gronauer, A. (2008): Biogas production from mono-digestion of maize silage-long-term process stability and requirements. In: *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research* 58 (8), S. 1645–1651. DOI: 10.2166/wst.2008.495.

Liebetrau J., Pfeiffer D., Thrän D. (2013): Messmethodensammlung Biogas. Schriftenreihe des BMU-Förderprogramms „Energetische Biomassenutzung“. BAND 7, 2. Auflage

Linke B., Rodriguez-Abalde A., Jost C., Krieg A. (2015): Performance of a novel two-phase continuously fed leach bed reactor for demand-based biogas production from maize silage. *Bioresource Technology* 177, 34 – 40.

Mähnert P. (2007): Kinetik der Biogasproduktion aus nachwachsenden Rohstoffen und Gülle. Dissertation Humboldt Universität Berlin.

Mao Ch., Feng Y., Wang X., Ren G. (2015): Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 45, 540 – 555.

Maus I, Koeck DE, Cibis KG, Hahnke S, Kim YS, Langer T, et al. Unraveling the microbiome of a thermophilic biogas plant by metagenome and metatranscriptome analysis complemented by characterization of bacterial and archaeal isolates. *Biotechnol Biofuels*. 2016;9(1):171.

Reinhold G. (2005): Masse- und Trockensubstanzbilanz in landwirtschaftlichen Biogasanlagen. Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft. In: *Neue Landwirtschaft* 12, S. 68–72.

Rinke C, Schwientek P, Sczyrba A, Ivanova NN, Anderson IJ, Cheng J-F, et al. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter. *Nature*. 2013; 499(7459):431–7

Rode, Michael; Schneider, Carsten; Ketelhake, Gerd; Reißhauer, Dagmar (2005): Naturschutzverträgliche Erzeugung und Nutzung von Biomasse zu Wärme- und Stromgewinnung. Ergebnisse aus dem F+E-Vorhaben 80283040 des Bundesamtes für Naturschutz. Hg. v. Bundesamt für Naturschutz. Bonn - Bad Godesberg.

- Schäfer, J. (1998): Verfahrenstechnische Untersuchungen zur Vergärung von Biomüll und Klärschlamm. Dissertation Universität Hohenheim. Berichte aus Forschung und Entwicklung Nr. 12, Fraunhofer IRB Verlag.
- Stenull M. E. (2017): Stand und Entwicklungspotenziale der landwirtschaftlichen Biogasnutzung in Baden-Württemberg – ein regionalspezifischer Vergleich. Dissertation, Universität Stuttgart.
- Strous M, Kraft B, Bisdorf R, Tegetmeyer H. The binning of metagenomic contigs for microbial physiology of mixed cultures. *Front Microbiol.* 2012; 3:410.
- Treu, Laura, et al. "Deeper insight into the structure of the anaerobic digestion microbial community; the biogas microbiome database is expanded with 157 new genomes." *Bioresource technology* 216 (2016): 260-266.
- Vollmer G.-R., Wachsmann G., Krieg A. (2011): Monofermentation von Maissilagen aus Standorten unterschiedlicher Bodenbeschaffenheit. Schlussbericht des Verbundprojekts FKZ 22002908 und FKZ 22014308. Projektträger Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V., 18276 Gülzow.
- Vrieze Jo de, Raport L., Willems B., Verbrugge S., Volcke E., Meers, E. (2015): Inoculum selection influences the biochemical methane potential of agro-industrial substrates. In: *Microbial biotechnology* 8 (5), S. 776–786. DOI: 10.1111/1751-7915.12268.
- vTI (2009): Biogasmessprogramm II: 61 Biogasanlagen im Vergleich. Johann Heinrich von Thünen Institut vTI; Hrsg. FNR Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. 1. Auflage
- Whitman W.B., Bowen T.L., Boone D.R. (2014): The Methanogenic Bacteria. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg
- Zak M. (2012): Einfluss pflanzlicher Biofilmträger auf die Vergärung von Speiseresten. Dissertation, Universität Ulm.

## 1.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Dieses Vorhaben wurde wie vorgesehen am Fraunhofer Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik in der Abteilung Umweltbiotechnologie und Bioverfahrenstechnik UBT und in der Abteilung Molekulare Mikrobiologie MBT durchgeführt. Darüber hinaus gab es eine Zusammenarbeit mit Biogasanlagenbetreibern bzw. Betreibern von kommunalen Kläranlagen bei der Bereitstellung der Gärresten. Die Betreiber der Anlagen stellten uns zum einen die für die Screening-Versuche erforderlichen Gärreste zur Verfügung und unterstützten bei der Entnahme. Sie stellten zudem bereitwillig Daten zur Betriebsweise der jeweiligen Anlage und entsprechende Fütterungsdaten zur Verfügung. Wir möchten uns dafür an dieser Stelle bei den Biogasanlagenbetreibern und den Betreibern der zwei Kläranlagen ausdrücklich bedanken für die gute Zusammenarbeit. Außerdem erfolgte ein intensiverer Austausch mit zwei Biogasanlagenbetreibern bei der Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich der Übertragbarkeit in die Praxis. Ausdrücklich bedanken möchten wir uns an dieser Stelle auch bei dem Biogasanlagenbetreiber, aus dessen Biogasanlage das Inokulum 7 stammte. Er hat uns außerordentlich unterstützt durch mehrmalige Bereitstellung seines Gärrests als Inokulum sowie bei dessen Abfüllung beim Abholen. Außerdem hat er in ausreichendem Maße Maissilage zur Verfügung gestellt, die wir im Laufe dieses Forschungsvorhabens insgesamt 4-mal abgeholt haben. Bei jeder Abholung wurde die Maissilage mit der Unterstützung des Biogasanlagenbetreibers in 60l-Fässern abgefüllt. Diese Maissilage wurde hier als Substrat eingesetzt. Eine Zusammenarbeit bestand auch hinsichtlich der Bereitstellung der Rindergülle. Diese wurde von einem landwirtschaftlichen Betrieb mit Viehhaltung zur Verfügung gestellt. Auch hier gab es die sofortige Bereitschaft, die Rindergülle als Substrat zur Vergärung zur Verfügung zu stellen, sowie tatkräftige Unterstützung bei der Abfüllung. Es wurden zwei Chargen an Rindergülle, die zu zwei verschiedenen Zeitpunkten in größeren Mengen in 60 L Fässern abgeholt und bis zum Einsatz im Kühlraum gelagert wurden, für die hier durchgeführten Untersuchungen eingesetzt. An dieser Stelle möchten wir uns auch dafür bei allen Materiallieferanten für die gute und unterstützende Zusammenarbeit bedanken.

Ohne die bereitgestellten Gärreste, die Maissilage und die Rindergülle wäre dieses Forschungsvorhaben nicht möglich gewesen.

Für eine bessere Mikrobiomklassifizierung der in diesem Projekt erhobenen Daten bei der Hochlastfaulung, wurde mit weiteren Stellen zusammengearbeitet und die deutlich vollständigere Biogas-Datenbank (BioMetha-db) mit insgesamt 231 Arten/Taxons aufgebaut (Grohmann et al., BiotechBiofuels, 2018). Hierbei beteiligten sich die Universität Stuttgart, die Universität Oldenburg und die Hochschule Hamm-Lippstadt.

## 2 Erzielte Ergebnisse

### 2.1 Charakterisierung verschiedener Gärreste hinsichtlich ihrer Eignung als Inokulum

#### 2.1.1 Methodik

Um ein geeignetes leistungsfähiges Inokulum zu identifizieren, wurde mittels Batch-Experimenten in 1l-Reaktoren ein Screening durchgeführt. Dazu wurden Batch-Experimente mit 10 verschiedenen Mischpopulationen, d.h. 10 verschiedenen Gärresten, angesetzt und hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs der Biogasbildung sowie der kumulativen Biogasausbeute untersucht und anschließend verglichen. Diese Batch-Ansätze im 1l-Maßstab wurden jeweils als Dreifach-Parallelansatz durchgeführt.

Die Batch-Experimente zur Untersuchung der Gärreste hinsichtlich der Biogasausbeute bei der Vergärung von Maissilage wurden in Anlehnung an die Richtlinie VDI 4630 durchgeführt. Pro Gärrest kamen 7 Reaktoren zum Einsatz. Abbildung 1 zeigt die sieben 1l-Batch-Reaktoren, die jeweils zur Untersuchung eines Inokulum eingesetzt wurden.

Zur Durchführung der Batch-Experimente wurden doppelwandige Glasreaktoren verwendet. Diese wurden über eine außenliegende Temperierung konstant bei 37 °C bzw. 55 °C betrieben. Die Durchmischung erfolgte mit Hilfe eines Magnetrührers. Der Gärrest wurde nach entsprechender Vorbehandlung in die Reaktoren befüllt und so als Inokulum eingesetzt. Die Reaktoren wurden jeweils mit 1l Inokulum befüllt, durchmischt und temperiert. Nach Abschluss der Eigengasproduktion wurden jeweils drei Reaktoren mit Maissilage (Feuchtmasse entsprechend 3 g oTR) gefüttert, zwei Reaktoren wurden mit mikrokristalliner Cellulose als Referenzsubstrat gefüttert (je 3 g oTR), und zwei Reaktoren wurden jeweils ohne Fütterung für den gleichen Zeitraum inkubiert. Die Fütterung erfolgt über einen Stutzen im Reaktordeckel durch Einfüllen des jeweiligen Substrats Maissilage bzw. mikrokristalline Cellulose. Alle sieben Reaktoren wurden hinsichtlich ihrer Biogasbildung untersucht. Das Biogas wurde quantitativ mit einem Milligascounter und mit Hilfe einer online-Datenerfassung kontinuierlich erfasst.





Abbildung 1: Anordnung von sieben 1l-Batch-Reaktoren zur Untersuchung eines Inokulums

## 2.1.2 Charakterisierung der Gärreste für den Einsatz als Inokulum

Es wurden 10 verschiedene Gärreste hinsichtlich ihrer Eignung als Inokulum in einem Screeningverfahren geprüft sowie hinsichtlich ihrer mikrobiellen Zusammensetzung (Kapitel 2.10, S.66 ff) charakterisiert.

Als Inokulum für die Batch-Ansätze zur Vergärung von Maissilage wurden Abläufe verschiedener Anlagen, die sich z. B. in der Betriebstemperatur und der Substratzusammensetzung unterschieden, eingesetzt. Gärrest 7 und 8 wurden aus thermophil, bei etwa 51 °C betriebenen Anlagen entnommen, Gärrest 10 stammte aus einer Biogasanlage mit einer Temperatur von 46° C. In dieser Biogasanlage war eine Zerkleinerung integriert, ebenso in der Biogasanlage 4, aus der Gärrest 9 entnommen wurde. Es wurden Gärreste untersucht aus Anlagen, die mit Monosubstraten gefüttert wurden: Gärrest 1 stammte aus einer Technikumsanlage mit dem Monosubstrat Amaranthsilage, Gärrest 9 aus der Biogasanlage 4, die mit Maissilage als Monosubstrat gefüttert wurde. Es wurden Gärreste aus Klärschlammfäulungen eingesetzt (Inokulum 3 und 4). Die Gärreste 2, 5, 6, 7 und 10 stammten aus Biogasanlagen mit Gülle als Cosubstrat, die Gärreste 1, 2, 5, 6, 8 und 9 wurden aus der zweiten Stufe, bzw. dem Nachgärer entnommen. Die Anlagen wurden darüber hinaus auch so ausgewählt, dass sie sich hinsichtlich der hydraulischen Verweilzeit und der organischen Raumbelastung, mit der sie betrieben wurden, unterschieden. Gärrest 4 wurde einem Faulturm entnommen, der nach dem Prinzip der Hochlastfäulung betrieben wird, also mit kurzen Verweilzeiten von 2 mal 5 Tagen (zweistufig). Biogasanlage 8 und Biogasanlage 9 wurden mit Spurenelementen im Betrieb supplementiert.

Da die Prozessparameter und Zusammensetzung der Substrate von Biogasanlagen auch dem Jahresverlauf unterliegen, ändern sich im Jahresverlauf auch die Eigenschaften der Gärreste. Die Charakterisierung erfolgte deshalb jeweils zum Zeitpunkt der Entnahme, also unmittelbar vor Verwendung des Gärrestes als Inokulum. In Tabelle 1 sind ausgewählte Betriebsparameter sowie die zum Zeitpunkt der Entnahme aktuellen Substrate der Anlagen, aus denen die Gärreste stammten, zusammengefasst.

Tabelle 1: Charakterisierung der Anlagen, aus denen die Gärreste entnommen wurden, durch ausgewählte Parameter (z. B. Substrate, Betriebstemperatur, hydraulische Verweilzeiten).

Gärrest	Substrate				Art	Stufe	HRT (d)	OLR (kg/m <sup>3</sup> *d)	T (°C)	Sonstiges
	Gülle	Pferdemist	Maissilage	Andere Substrate						
1				Amaranthsilage 100 %	Forschungsanlage Technikumsmaßstab	2.	25	1,4	37	
2	x		x	Grassilage 28 %, Festmist 12 % Getreide 2 %	Forschungsanlage techn. Maßstab	2.	92	2,4	37	
3				Klärschlamm 100 %	Kläranlage 1	1.	60	1,4	37	Faulturm, Kläranlage
4				Klärschlamm 100 %	Kläranlage 2	1.	2*5		37	Faulturm, Kläranlage, Hochlastfaulung
5	x		x	Grünroggensilage, Hühnerkot, organische Abfälle u.a.	BGA 1	2.			37	
6	x	x	x	40-50 % Gülle (fest u. flüssig) Maissilage, Pferdemist	BGA 2	2.	(45, Stufe 1) 96		37	
7	x	x	x	40-50 % Gülle (fest u. flüssig) Pferdemist	BGA 2	1.	45		51	
8			x	Grassilage	BGA 3	2.	90		52	
9			100%	keine	BGA 4	2.	(20, Stufe 1) 60		41	Supplementierung mit Spurenelement- Mischung; Zerkleinerung durch Gorator
10	x	x	x	Gülle, Pferdemist	BGA 5	1.	(60-) 80		46	Supplementierung mit Spurenelement- Mischung; Desintegration durch Kavitation

Die Gärreste wurden von den Biogasanlagenbetreibern zur Verfügung gestellt und bei Abholung frisch aus der Anlage entnommen. Diese Gärreste wurden hinsichtlich verschiedener Parameter analysiert.

Die Ergebnisse zur Charakterisierung der Gärreste hinsichtlich ausgewählter Parameter sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Ergebnisse der Analysen für die Gärreste GR 1-10

	GR 1	GR 2	GR 3	GR 4	GR 5	GR 6	GR 7	GR 8	GR 9	GR 10
<b>TR (%)</b>	1,49	8,29	5,45	3,61	8,85	7,07	8,94	8,84	4,73	7,79
<b>oTR (%)</b>	0,9	5,62	3,58	1,96	6,68	4,98	6,95	6,23	2,66	5,73
<b>oTR/TR(%)</b>	60,4	67,8	65,7	54,3	75,5	70,4	77,7	70,5	56,2	73,6
<b>pH</b>	8,14	8,07	7,4	7,65	8,08	8,39	8,17	8,29	7,94	7,63
<b>NH<sub>4</sub>-N (mg/L)</b>	438	2167	2088	2610	1140	1480	741	876	2750	587
<b>Feststofffreier Überstand:</b>										
<b>Essigsäure,</b>	0	0	0	0	0	0,06	0	n.a.	n.a.	n.a.
<b>Propionsäure</b>	0	0	0	0	0	0	0,34	n.a.	n.a.	n.a.
<b>Milchsäure (g/l)</b>	0	0	0	0,02	0	0	0	n.a.	n.a.	n.a.
<b>FOS/TAC (FOS, TAC)</b>	0,19 (0,96; 5,0)	0,21 (4,07; 19,75)	0,45 (4,04; 9,16)	0,33 (2,69; 8,13)	0,22 (3,16; 14,36)	0,18 (3,16; 17,90)	0,24 (3,58; 15,02)	0,29 (4,84; 16,89)	0,19 (2,97; 15,74)	0,25 (2,93; 11,54)
<b>Kjeldahl Gesamt-N (%FM)</b>	0,095	0,508	0,477	0,333	0,509	0,54	0,54	0,195	0,389	0,17
<b>Kjeldahl NH<sub>4</sub>-N (%FM)</b>	0,053	0,366	0,255	0,189	0,252	0,369	0,369	0,107	0,26	0,068
<b>Kjeldahl gebunden N (%FM)</b>	0,042	0,142	0,222	0,144	0,257	0,171	0,171	0,088	0,129	0,102

Die Gärreste wurden vor der Verwendung als Inokulum bei Bedarf gesiebt, um Grobstoffe zu entfernen, bzw. mit Wasser verdünnt, und so als Inokulum eingesetzt. Die Gärreste wurden sofort nach Entnahme so vorbehandelt und als Inokulum eingesetzt. Lediglich bei den Gärresten 1 – 4 wurde anders verfahren: Inokulum 1 kam erst 10 Tage nach Entnahme als Inokulum zum Einsatz, Gärrest 2 erst 2 Tage nach Entnahme aus dem Nachgärer (wegen Reparatur der BGA schon einige Tage zuvor keine Fütterung), Gärrest 3 und Gärrest 4 wurden ebenfalls erst 2 Tage nach Entnahme aus dem Faulbehälter als Inokulum eingesetzt.

Die TR-Gehalte der Gärreste, die aus Biogasanlagen entnommen wurden, lagen zwischen 3,6 und 8,5 %, die oTR-Gehalte der Gärreste lagen zwischen etwa 2 % und 7 %. Der oTR-Anteil am TR-Gehalt lag zwischen 54 % und 78 %. Die TR- und oTR-Gehalte sind in Abbildung 2 dargestellt. Obwohl die Gärreste 7 und 10 aus der jeweils ersten Stufe vor dem Nachgärer entnommen wurde, zeigten diese beiden Anlagen mit 78 % bzw. 74 % nur unwesentlich höhere oTR-Gehalte am TR im Vergleich zu den Gärresten GR5, GR 6, GR 8, deren oTR-Gehalte bezogen auf den TR-Gehalt zwischen mit 70 – 75 % lagen. Lediglich der GR 9 zeigte mit einem oTR Gehalt von 56 % des TR-Gehalts einen deutlich geringeren Wert für den Organik-Anteil.

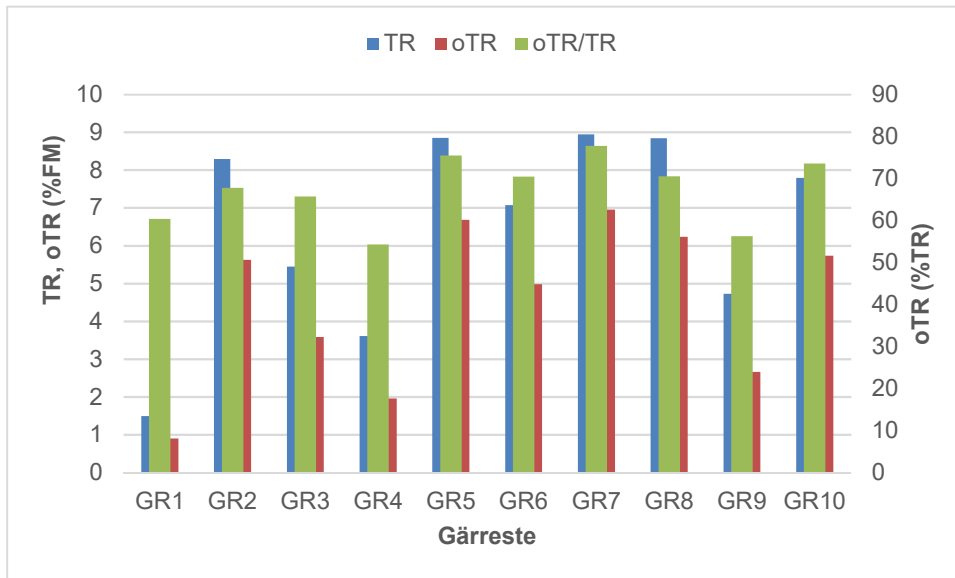


Abbildung 2: TR- und oTR-Gehalte (%FM) sowie der oTR-Anteil am TR für die von Biogasanlagen bzw. Kläranlagen (GR3 und GR4) abgeholten Gärreste 1 – 10.

In Tabelle 3 sind die Vorbehandlungen der einzelnen Gärreste vor dem Einsatz als Inokulum zusammengefasst. Die so erhaltenen Inokula wurden vor dem Einsatz in den 1l-Reaktoren nochmals hinsichtlich ausgewählter Parameter analysiert. Die Analyseergebnisse zur Charakterisierung der Inokula sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 3: Gärreste als Inokulum: Vorbehandlung durch Sieben bzw. Verdünnen mit Wasser

Inokulum	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Verwendeter Gärrest	GR 1	GR 2	GR 3	GR 4	GR 5	GR 6	GR 7	GR 8	GR 9	GR 10
Sieben, Maschenweite (mm)	7,1	-	-	-	7,1	7,1	7,1	7,1	-	7,1
Verdünnung mit Wasser	-	2:3	3:5	9:10	1:2	1:2	3,5:10	3,5:10	7,5:10	4:10

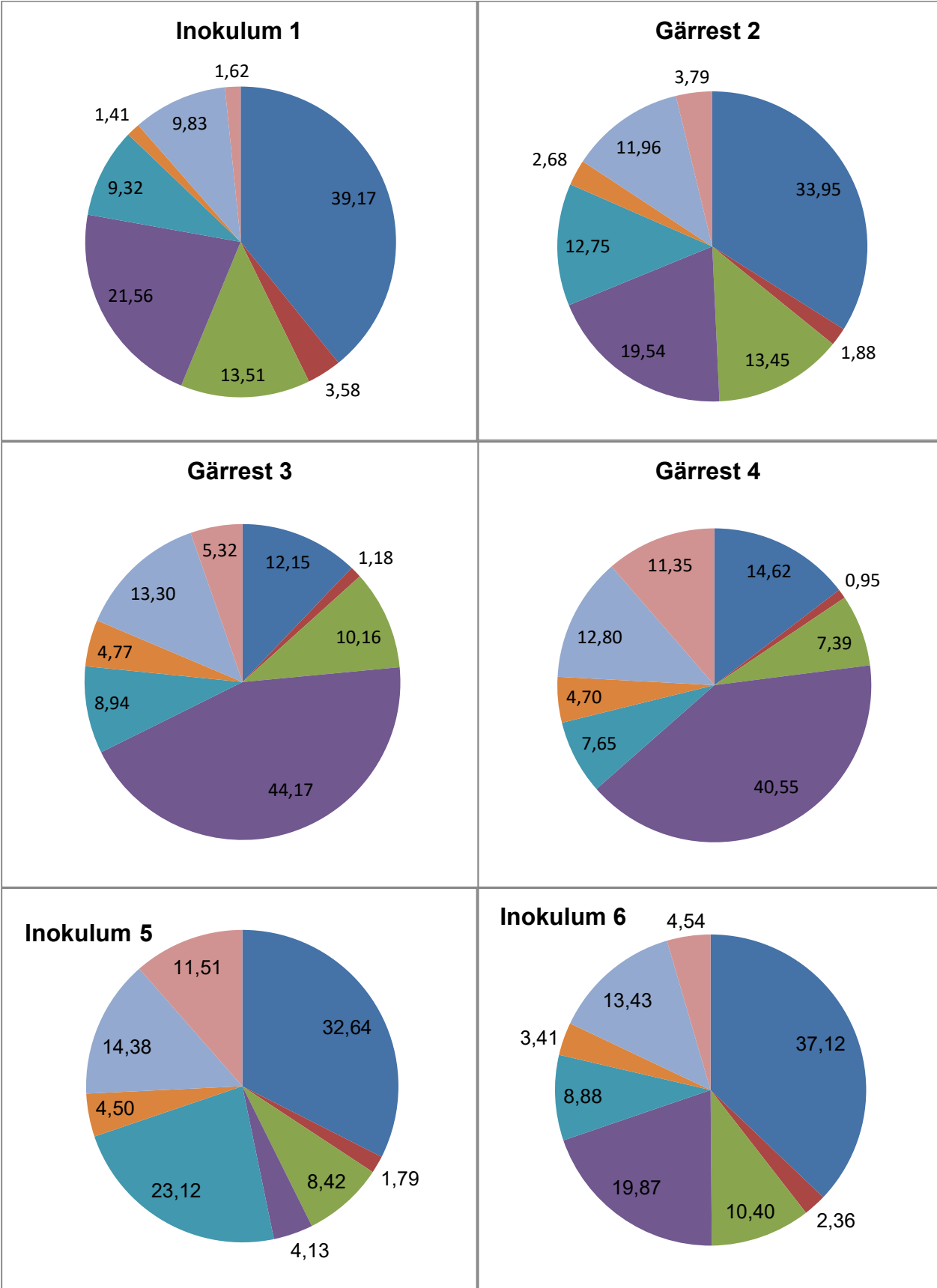
Die Gärreste bzw. die Inokula wurden hinsichtlich ausgewählter Parameter analysiert. In Abbildung 5 sind die Analyseergebnisse für die Charakterisierung der Inokula zusammengefasst.

Tabelle 4: Ergebnisse der Analysen für die Inokula 1-10

Inokulum	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>Gärrest</b>	GR 1	GR 2	GR 3	GR 4	GR 5	GR 6	GR 7	GR 8	GR 9	GR 10
<b>TR (%)</b>	1,4	5,4	3,27	3,25	3,40	3,77	2,39	2,78	3,61	2,90
<b>oTR (%)</b>	0,79	3,66	2,15	1,76	2,35	2,48	1,74	1,90	2,27	2,12
<b>pH</b>	8,14	8,07	7,4	7,65	8,08	8,39	8,17	8,4	8	7,96
<b>Überstand:</b>										
<b>Fettsäuren (g/l) (Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Ethanol)</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>DOC (mg/L)</b>	703	2942	405	581	2466	2377	2639	3702	5280	1226
<b>DIC (mg/L)</b>	933	2223	746	1107	1287	1600	763	924,0	1034	330
<b>PO<sub>4</sub>-P (mg/L)</b>	2,45	25,1	39	38	3,8	10	20,7	29,1	-	-
<b>NH<sub>4</sub>-N (mg/L)</b>	438	2167	2088	2610	1140	1480	741	876	2750	587
<b>Eigengaspro- duktion (NmL/g oTR)</b>	19,2	15,0	61,7	76,2	133,7	30,0	101,7	33,3	89,5	80,0

Die vorbehandelten und als Inokula eingesetzten Gärreste wurden hinsichtlich der Zusammensetzung der Feststoffe analysiert. Die Analysemethode wurde in Anlehnung an die Methode nach Datta (1981) durchgeführt. Die Inokula zeigten deutliche Unterschiede in den prozentualen Anteilen der Inhaltsstoffe Pektin, Hemicellulosen, Cellulosen, Lignin, organischer löslicher Anteile sowie anorganischer Anteile. Diese sind in Abbildung 3 jeweils für die einzelnen Inokula sowie in Abbildung 4 und Abbildung 5 für die Inokula im Vergleich dargestellt.

Für die Inokula 3 und 4, die aus der Klärschlammfäulung entnommen wurden, wurden mit 44 bzw. 41 % vergleichsweise hohe Gehalte an Hemicellulosen ermittelt, bezogen auf das Trockengewicht, während für die übrigen 8 Inokula Hemicellulosen-Anteile von maximal 22 % nachgewiesen wurden. Der lipophile Anteil lag für alle untersuchten Inokula bei maximal 4 %. Für die Pektingehalte gab es deutliche Unterschiede. Während für die Inokula 1 - 6 Gehalte zwischen 7 und 14 % ermittelt wurden, lag der Pektingehalt in den Inokula 7 – 10 deutlich höher mit 24 bis 30 %. Auch für den Cellulosegehalt wurden unterschiedliche Anteile ermittelt. Während der Gehalt an Cellulose in Inokulum 5 bei 23 % und in Inokulum 10 bei 20 % lag, wurden für die übrigen Inokula 1 bis 4 und 6 bis 9 lediglich Cellulosegehalte zwischen 4 und 13 % ermittelt. Der Ligninanteil lag in allen Inokula bei maximal 6 %, der Anorganikanteil in allen Inokula zwischen 2 und 12 %.



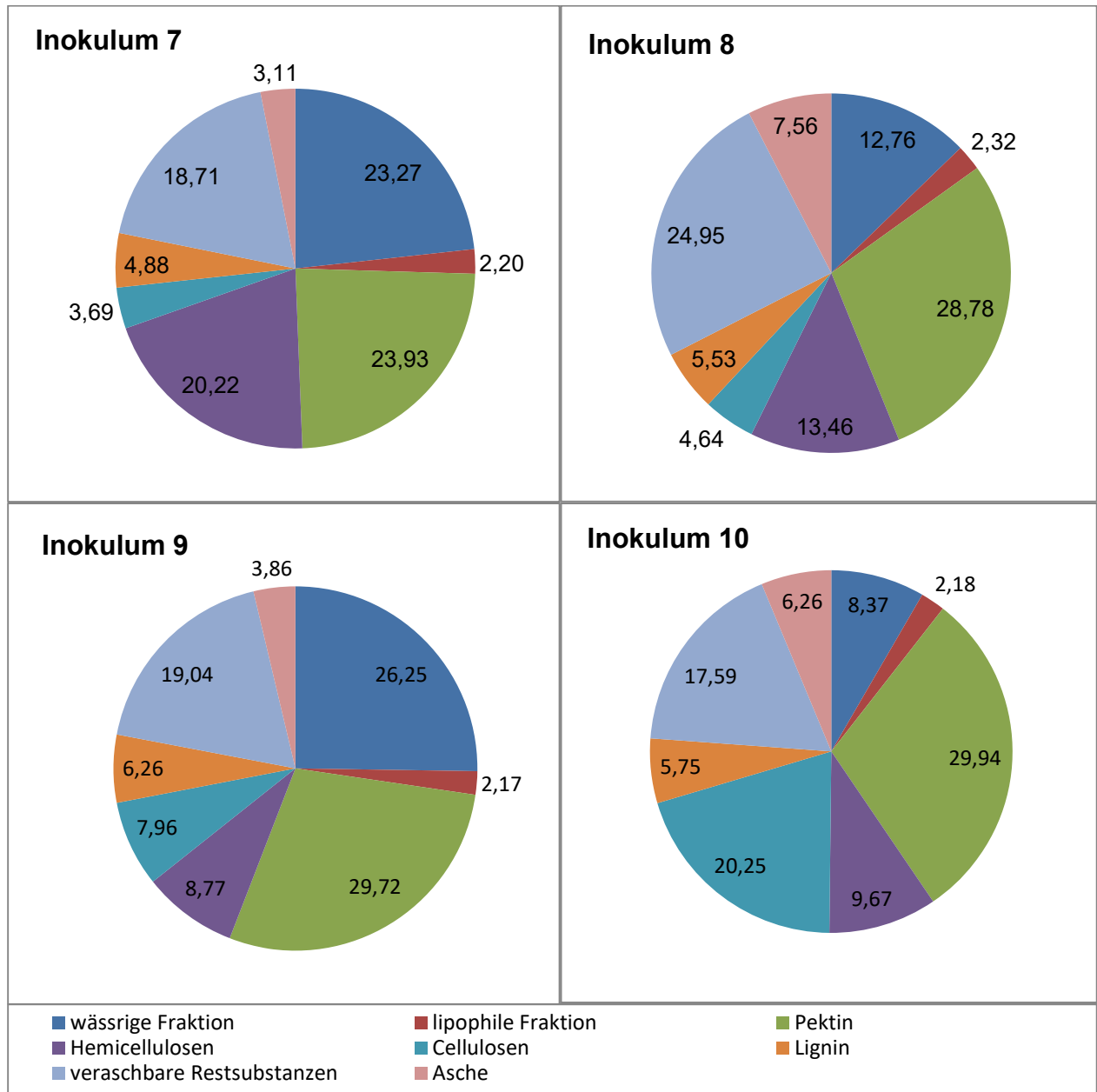


Abbildung 3: Inhaltsstoffe (% des gefriergetrockneten Rückstands) der Inokula 1 – 10 (in Anlehnung an Datta, 1981). Dargestellt sind die Ergebnisse jeweils für den Gärrest bzw. das Inokulum (Gärrest: vor Vorbehandlung Sieben und Verdünnung; Inokulum: Nach Vorbehandlung Sieben und Verdünnung).

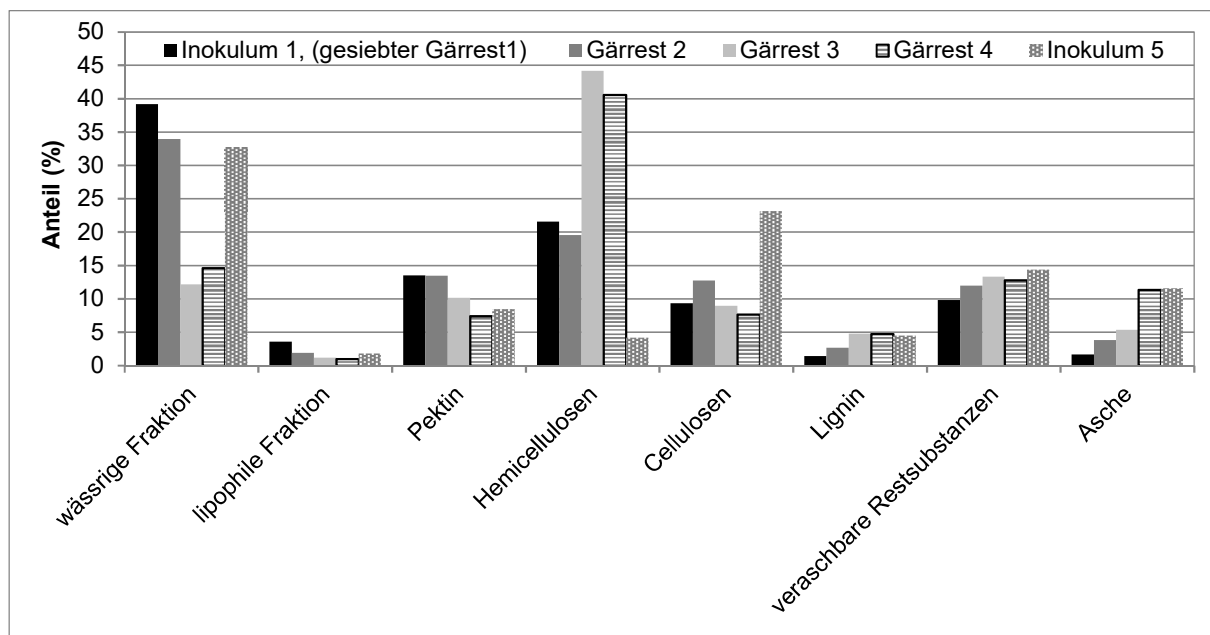


Abbildung 4: Analysenergebnisse für die Inokula bzw. die Gärreste 1 – 5 im Vergleich (Angabe der Fraktionen in % des durch Gefriertrocknung erhaltenen Trockenrückstands) (Feststofffraktionierung, in Anlehnung an Datta, 1981)

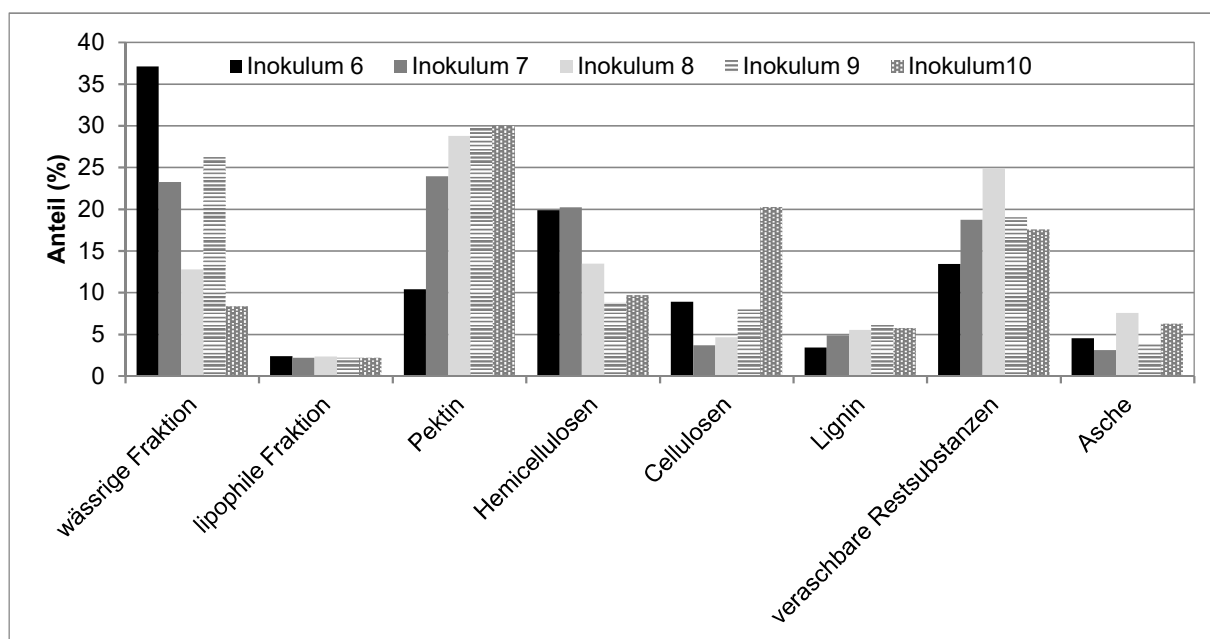


Abbildung 5: Analysenergebnisse für die Inokula 6 - 10 im Vergleich (Angabe der Fraktionen in % des durch Gefriertrocknung erhaltenen Trockenrückstands) (Feststofffraktionierung, in Anlehnung an Datta, 1981)

### 2.1.3 Screening: Biogas aus Maissilage im Batch-Ansatz mit verschiedenen Inokula

Die Inokula wurden nach Abschluss der Eigengasproduktion (Tabelle 4) mit Maissilage entsprechend 3 g oTR gefüttert.

Der zeitliche Verlauf der Biogassummenkurven sowie die Biogasausbeute wurden erfasst und quantifiziert. Aus den zeitlichen Verläufen der drei Parallelreaktoren wurde pro Inokulum ein mittlerer zeitlicher Verlauf aus den drei Verläufen eines jeden Batch-Reaktors ermittelt. Es zeigte sich, dass die Biogasbildung in allen 10 Verläufen unmittelbar nach Fütterung der Maissilage begann. Die Inokula zeigten jedoch sowohl hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs der Biogasbildung als auch hinsichtlich der Biogasausbeute deutliche Unterschiede.



Abbildung 6 zeigt jeweils den mittleren zeitlichen Verlauf der Biogassummenkurve aus Maissilage für die Inokula 1 - 10 für den Zeitraum von 22 Tagen. Es zeigte sich, dass mit Inokulum 1 und Inokulum 2 in dem dargestellten Zeitraum die Biogasproduktion noch nicht abgeschlossen war.

In Abbildung 7 ist die spezifische Biogasrate für den Zeitraum 0 – 1 Tag, 0 – 3 Tage sowie für den Zeitraum 0 – 12 Tage dargestellt. Es zeigte sich, dass das Inokulum 7, das Inokulum 8 und das Inokulum 9 innerhalb des ersten Tages nach Fütterung ein Maximum in der Biogasrate zeigten, wie es typisch für die Vergärung von Maissilage im diskontinuierlichen Prozess ist (Zak, 2012). Das Inokulum 2, das Inokulum 5 und das Inokulum 6 zeigten am Tag 2 nach Fütterung ein Maximum in der Biogasrate, jedoch blieben die maximalen Biogasraten hier unter der maximalen Biogasrate von Inokulum 7, das bei etwa 420 NL/kg\*d lag. Die Inokula 3 und 4 zeigten ebenfalls am Tag 2 nach Fütterung ein Maximum in der Biogasrate. Es zeigte sich für das Inokulum 7 das früheste und höchste Maximum in der Biogasrate.

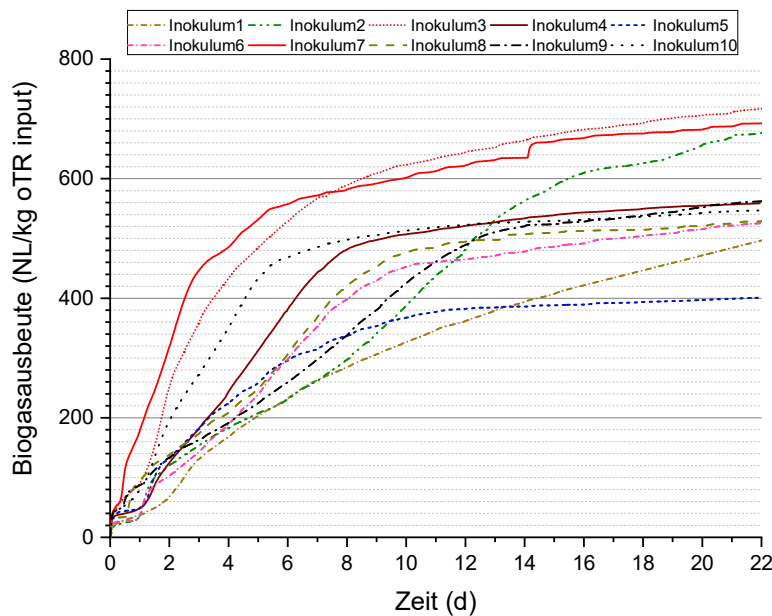


Abbildung 6: Mittlerer zeitlicher Verlauf der Biogasbildung ab dem Zeitpunkt der Fütterung mit Maissilage (t=0 d) aus drei Parallelreaktoren (bzw. für Inokulum 3 aus zwei Parallelreaktoren) für die Inokula 1-10. (Die Biogasbildung, die zeitgleich in den Reaktoren ohne Fütterung erfolgte, ist hier noch nicht abgezogen.)

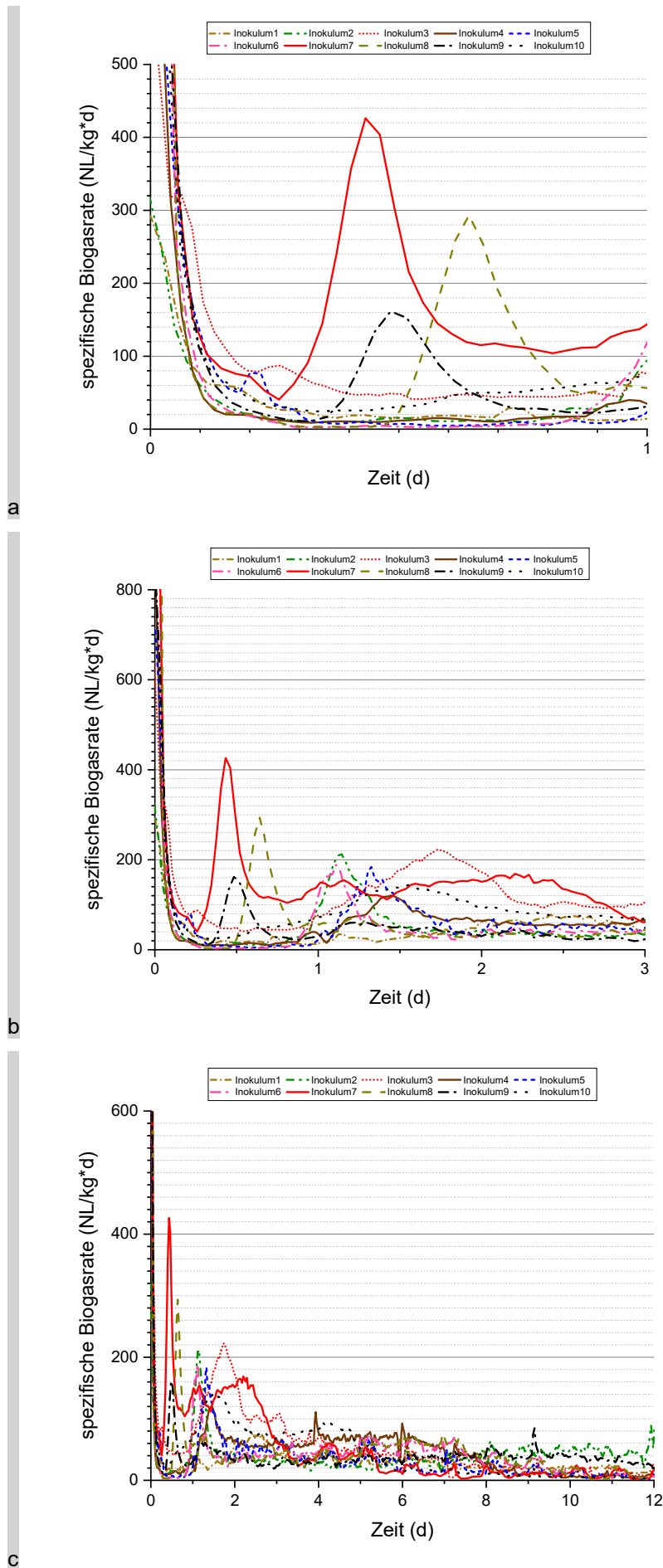


Abbildung 7: Mittlerer zeitlicher Verlauf der spezifischen Biogasrate ab dem Zeitpunkt der Fütterung ( $t=0$ ) mit Maissilage aus drei Parallelreaktoren (bzw. für Inokulum 3 aus zwei Parallelreaktoren) für die Inokula 1-10. a: Für den Zeitraum 0 – 1 Tage, b: Für den Zeitraum 0 – 3 Tage, c: für den Zeitraum 0 – 12 Tage.

In Abbildung 8 ist der Mittelwert der Biogasausbeute für Maissilage, jeweils ermittelt mit den jeweils drei Ansätzen pro Inokulum, für alle 10 Inokula dargestellt. Dabei wurde jeweils die Biogasbildung, die in den Reaktoren ohne Fütterung zeitgleich erfolgte, abgezogen. Es zeigte sich, dass mit Inokulum 7 die höchste Biogasausbeute von 694 NL/kg  $\text{oTR}_{\text{input}}$  erreicht wurde. Mit Inokulum 3 wurde eine Biogasausbeute von 688 NL/kg  $\text{oTR}_{\text{input}}$  ermittelt und mit Inokulum 2 lag die Biogasausbeute bei 678 NL/kg  $\text{oTR}_{\text{input}}$ . Für die Inokula 1, 4, 5, 6, 8, 9, 10 wurden Biogasausbeuten zwischen 596 NL/kg  $\text{oTR}_{\text{input}}$  und 279 NL/kg  $\text{oTR}_{\text{input}}$  erzielt.

In Abbildung 9 ist für die 10 Inokula vergleichend die Dauer dargestellt, die jeweils benötigt wurde, um 50 % der maximalen Biogasmenge (711 NmL) zu bilden. Die Werte lagen zwischen 2,2 und 11,5 Tagen. Dabei wurde für das Inokulum 7 mit 2,2 Tagen die kürzeste Dauer erreicht. Für Inokulum 1 wurde mit 11,5 Tagen die größte Dauer ermittelt.

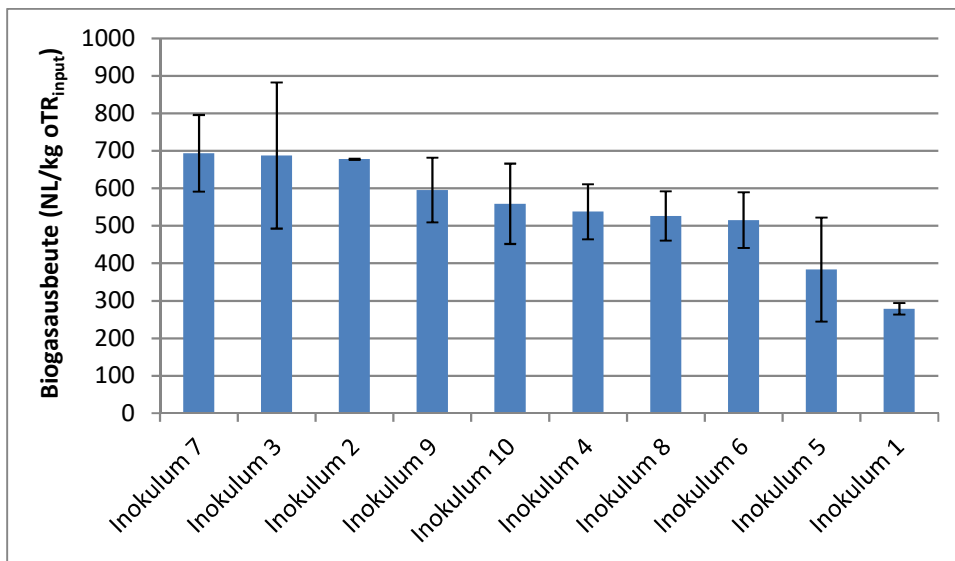


Abbildung 8: Biogasausbeute aus Maissilage in den Batch-Ansätzen für die Inokula 1 – 10 (Mittelwert aus drei Parallelreaktoren, bzw. für Inokulum 3 aus zwei Parallelreaktoren). Die Gasbildung aus den nicht gefütterten Reaktoren wurde jeweils abgezogen.

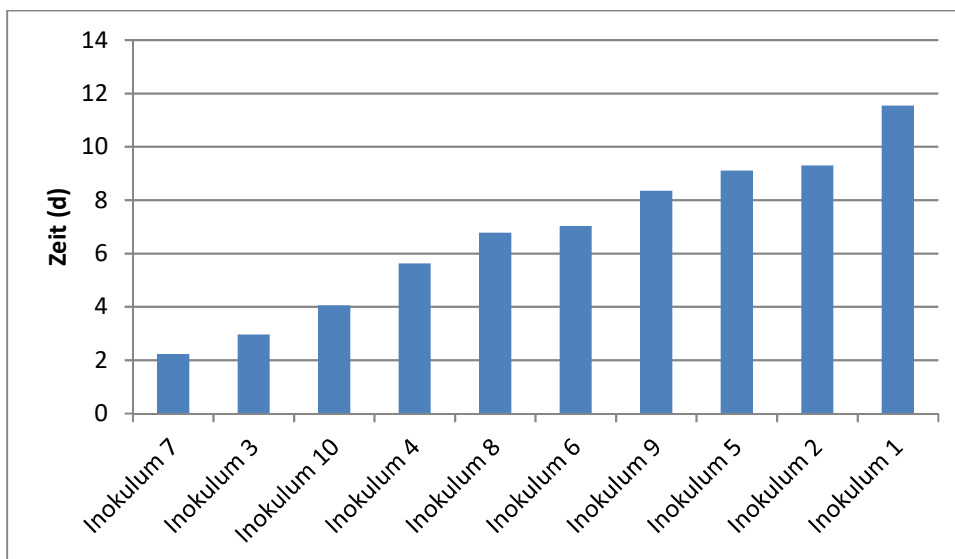


Abbildung 9: Dauer in Tagen für die Bildung von 355 NmL Biogas (entspricht 50 % des Maximalwertes 711 NmL) in den Batch-Ansätzen mit den Inokula 1- 10 (Auswertung des mittleren zeitlichen Verlaufs der Biogasbildung aus 3 Batch-Ansätzen)

Es zeigte sich, dass das Inokulum 7 sowohl die höchste Biogasausbeute als auch den schnellsten Anstieg der Biogasbildung zeigte. Anhand dieser Ergebnisse wurde Inokulum 7 ausgewählt, das für die Untersuchungen im kontinuierlichen Betrieb in der Biogasanlage im Technikumsmaßstab eingesetzt und mit dem die kontinuierlichen Untersuchungen durchgeführt wurden.

Zum Ende des jeweiligen Experiments wurde aus jeweils einem der dreifach-Parallel-Ansätze mit Maissilage als Substrat der Trockenrückstands hinsichtlich seiner Zusammensetzung analysiert. In Abbildung 10 und Abbildung 11 sind die Ergebnisse der Analysen zusammenfassend dargestellt.

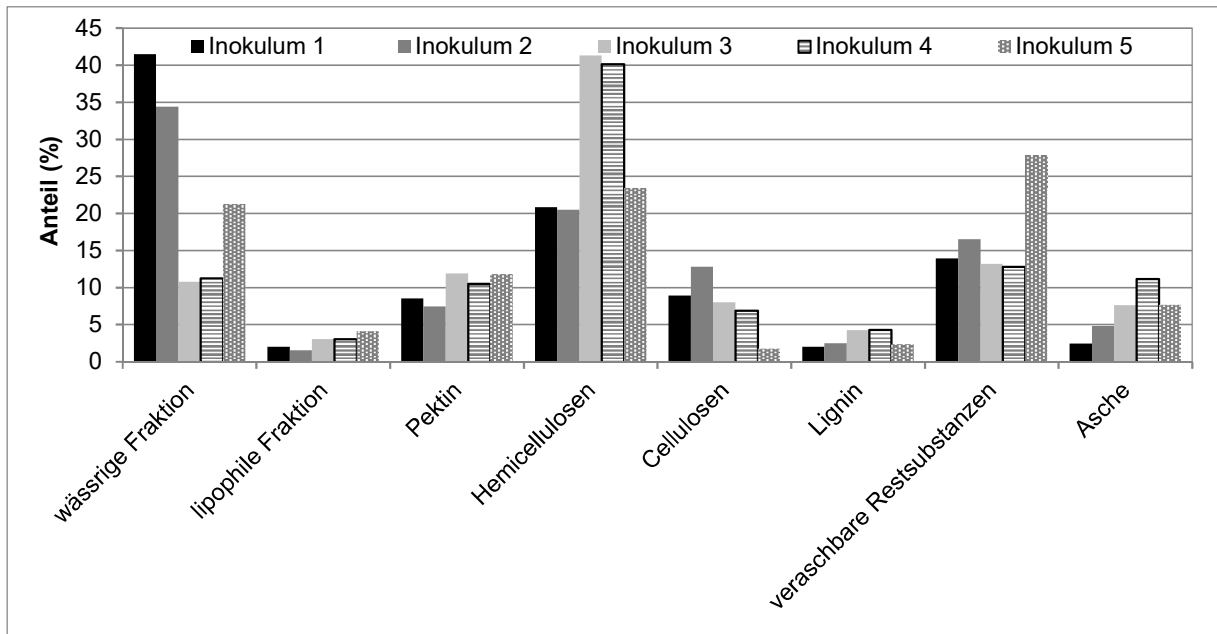


Abbildung 10: Analysenergebnisse für die Zusammensetzung des Trockenrückstands am Ende des Experiments für die Inokula 1 – 5 im Vergleich jeweils aus einem Ansatz mit Maissilage (Angabe der Anteile in % des durch Gefriertrocknung erhaltenen Trockenrückstands) (Feststofffraktionierung, in Anlehnung an Datta, 1981)

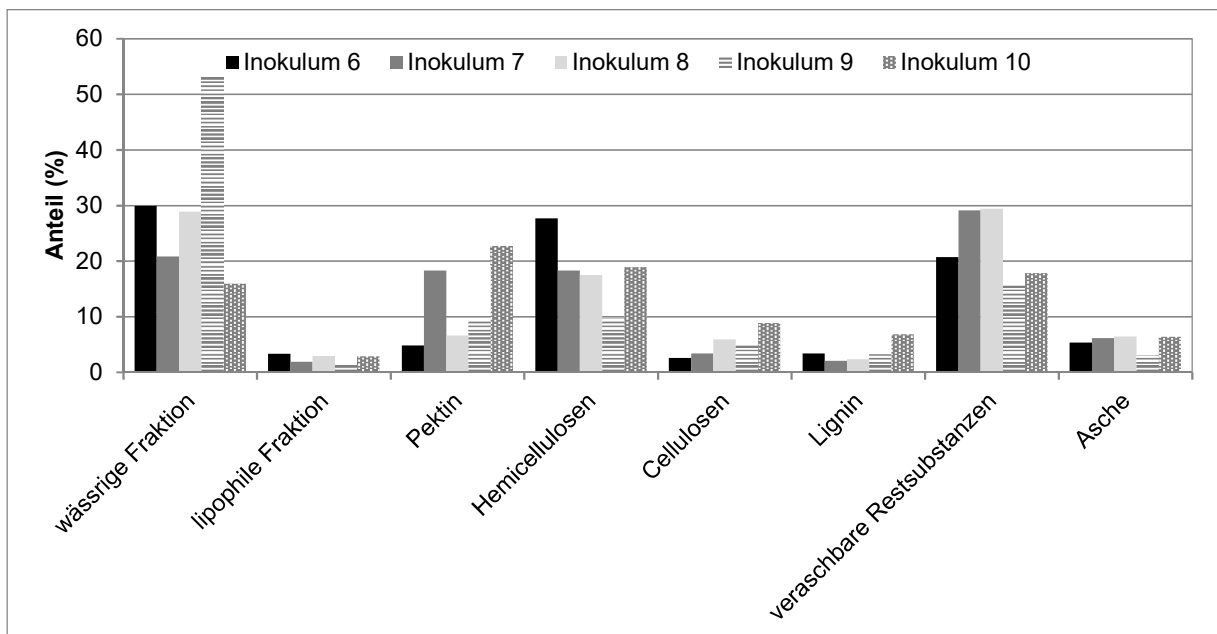


Abbildung 11: Analysenergebnisse für die Zusammensetzung des Trockenrückstands am Ende des Experiments für die Inokula 6 – 10 im Vergleich jeweils aus einem Ansatz mit Maissilage (Angabe der Anteile in % des durch Gefriertrocknung erhaltenen Trockenrückstands) (Feststofffraktionierung, in Anlehnung an Datta, 1981)

## 2.2 Aufbau, Inbetriebnahme und Langzeitbetrieb von zwei einstufigen Biogasanlagen im Technikumsmaßstab

Das Substrat Mais benötigt aufgrund seiner Eigenschaften, z. B. seines hohen Faseranteils, eine geeignete Anlagentechnik sowie auch eine geeignete Anlagengröße. Für die hier durchgeführten kontinuierlichen Untersuchungen der Umsetzung von Mais zu Biogas unter Hochlastbedingungen im Vergleich zur herkömmlichen Betriebsweise wurden Anlagen im Technikumsmaßstab eingesetzt. Die Untersuchungen wurden in einstufigen Schlaufenreaktoren mit je 130 L Volumen durchgeführt. Dieser Maßstab war ausreichend groß, um ihn kontrolliert automatisiert durchführen zu können. Der Technikumsmaßstab hatte den Vorteil, dass die Pumpenquerschnitte hinreichend groß waren, um die Anfälligkeit für Verstopfungen bei der Förderung des Substrats gering zu halten, sowie repräsentative Ergebnisse möglich erschienen. Der Bedarf an Substrat war dadurch vergleichsweise hoch, jedoch noch realisierbar, auch vor dem Hintergrund der Substrat-Beschaffung und des Transports, der noch in angemessenem Maße war. Die Lagerkapazitäten zur Kühlung der Maissilage waren in ausreichendem Maße vorhanden.

## 2.3 Einstufige Technikumsanlagen

Die zwei Technikumsanlagen waren zwei parallel betriebene, baugleiche Biogasanlagen, die über ein gemeinsames Vorratsgefäß zunächst mit dem Monosubstrat Maissilage, im weiteren Verlauf zusätzlich mit dem Cosubstrat Rindergülle gefüttert wurden (Abbildung 12 und Abbildung 13). Das Vorratsgefäß war oberhalb der Anlagen platziert (nicht sichtbar in Abbildung 13). Über zwei Steuereinheiten (SIMATIC HMI, Fa. Siemens) erfolgte das Einstellen der automatisierten Fütterung. Prozessdaten wurden über diese Einheiten kontinuierlich aufgezeichnet.

Abbildung 12 zeigt das R&I Fließbild der Anlagen, in Abbildung 13 sind die beiden Reaktoren dargestellt.

Bei den zwei verwendeten Reaktoren handelte es sich um Schlaufenreaktoren, die mit Biogas, das am Boden eingelassen wurde, kontinuierlich durchmischt wurden. Das Arbeitsvolumen betrug 130 L. Die Prozesstemperatur betrug 51 °C. Die Temperatur wurde kontinuierlich gemessen und geregelt. Die beiden Reaktoren HLF, Hochlastfaulung, und REF, Referenzanlage, waren in ihrer Bauweise identisch. Die Prozessführung unterschied sich lediglich in den eingestellten hydraulischen Verweilzeiten und somit der organischen Raumbelastung.

Die Maissilage wurde in einem bei 4° C gekühlten Vorratsgefäß vorgelegt. Dieses wurde zusätzlich zu einer getakteten, außenliegenden Umwälzung durch einen langsam laufenden Rührer kontinuierlich durchmischt. Die Fütterung erfolgte über ein isoliertes Beschickungssystem, durch welches das Substrat mit einer Drehkolbenpumpe (VX100, Fa. Vogelsang) gepumpt wurde (Abbildung 12). Die Reaktoren wurden automatisiert und quasi-kontinuierlich über Fütterungskammern ( $V = 246 \text{ mL}$ ), die oberhalb der Reaktoren angebracht waren (Abbildung 12), gefüttert, d.h. der Substrateintrag erfolgte über einen Stutzen im Deckel. Bei jeder Fütterung wurden jeweils 246 mL Substrat aus den Fütterungskammern in den Reaktor entlassen. Alle 5 min wurde das Beschickungssystem für 1 min durchmischt, um eine Durchmischung und die Fütterung mit frischem Substrat zu gewährleisten sowie ein Absetzen des Substrats in den Rohrleitungen des Beschickungssystems zu vermeiden. Außerdem wurde vor jeder Fütterung der HLF das Beschickungssystem mit Inhalt des Vorratsgefäßes durchgespült. Die unterschiedlichen Durchsätze, bzw. die hydraulischen Verweilzeiten HRT wurden über die Fütterungsintervalle eingestellt. Über das Einstellen der Verweilzeit, das Fütterungsvolumen von 246 mL und das Reaktorvolumen von 130 L ergaben sich die in Tabelle 5 aufgeführten

Fütterungsintervalle. Der Ablauf der beiden Reaktoren erfolgte über je einen Siphon. Der abgelaufene Gärrest wurde in einer Ablauftonne, deren Gewicht mit einer Waage erfasst und aufgezeichnet wurde, gesammelt.

Das produzierte Biogas wurde über einen Stutzen im Deckel zur quantitativen Erfassung in Trommelgaszähler (TG0.5/5, Fa. Ritter) geführt, der Methananteil wurde alle drei Minuten kontinuierlich über Methansensoren (smartMODUL Flow Modell F1-040108-00000, Fa. smartGAS Mikrosensorik) erfasst. Sowohl die Messwerte der quantitativen als auch der qualitativen Biogasanalyse wurden kontinuierlich aufgezeichnet.

Die Reaktoren waren mit jeweils zwei Probenahmestutzen ausgestattet, die sich in der Höhe der Anbringung unterschieden. So konnten regelmäßige Probenahmen erfolgen, auch in unterschiedlicher Reaktorhöhe z. B. zur Kontrolle der Durchmischung. Die beiden Anlagen wurden ohne pH-Statisierung betrieben. Der pH-Wert wurde lediglich bei jeder Probenahme etwa dreimal pro Woche gemessen und kontrolliert.

Tabelle 5: Hydraulische Verweilzeit, Durchsatz und Fütterungsintervall

Hydraulische Verweilzeit (d)	Durchsatz (l/d)	Fütterungsintervall (min)
70	1,85	190,8
40	3,25	109,0
35	3,71	95,4
30	4,33	81,7
25	5,2	68,1
20	6,5	54,5
15	8,67	40,9

### Speicherprogrammierbare Steuerung SPS

Die Anlagen wurden über eine Speicherprogrammierbare Steuerung (SIMATIC HMI, Siemens) gesteuert. Gesteuerte Elemente waren die quasi-kontinuierliche Fütterung die außenliegende Umwälzung der Maissilage, die Temperatur, der Füllstand und die Durchmischung der Fermenter. Durch eine im Programm hinterlegte Formel wurden die Fütterungsintervalle anhand der manuell eingegebenen Verweilzeit und des Reaktorvolumens berechnet und durchgeführt. Zudem wurden kontinuierlich Messwerte aufgezeichnet.

Kontinuierlich aufgezeichnete Messwerte waren:

- Die Temperatur des Substrats in der Rohrleitung (TIRA 102, s. Abbildung 12)
- Die Menge (FIR 104 & FIR 113) und Methananteil (QIRA 103 & QIRA 112) des Biogases
- Der Druck im Kopfraum (PIRA 105 & PIRA 114) und am Boden (PIRA 108 & PIRA 117) des Reaktors für eine Differenzdruckmessung zur Bestimmung des Füllstandes
- Die Temperatur im oberen Bereich des Reaktors (TIRCA 106 & TIRCA 115)
- Die Temperatur im unteren Bereich des Reaktors (TIRA 107 & TIRA 116)
- Der Druck an den Membranpumpen (PIRA 110 & PIRA 111)
- Das Gewicht der Überlauftonne der REF-Anlage (QI 118)

Das Gewicht der Überlauftonne der HLF (QI 109) und die Temperatur des Thermostats zur Kühlung der Maissilage im Vorratsgefäß (TIC 101) wurden manuell abgelesen bzw. kontrolliert.

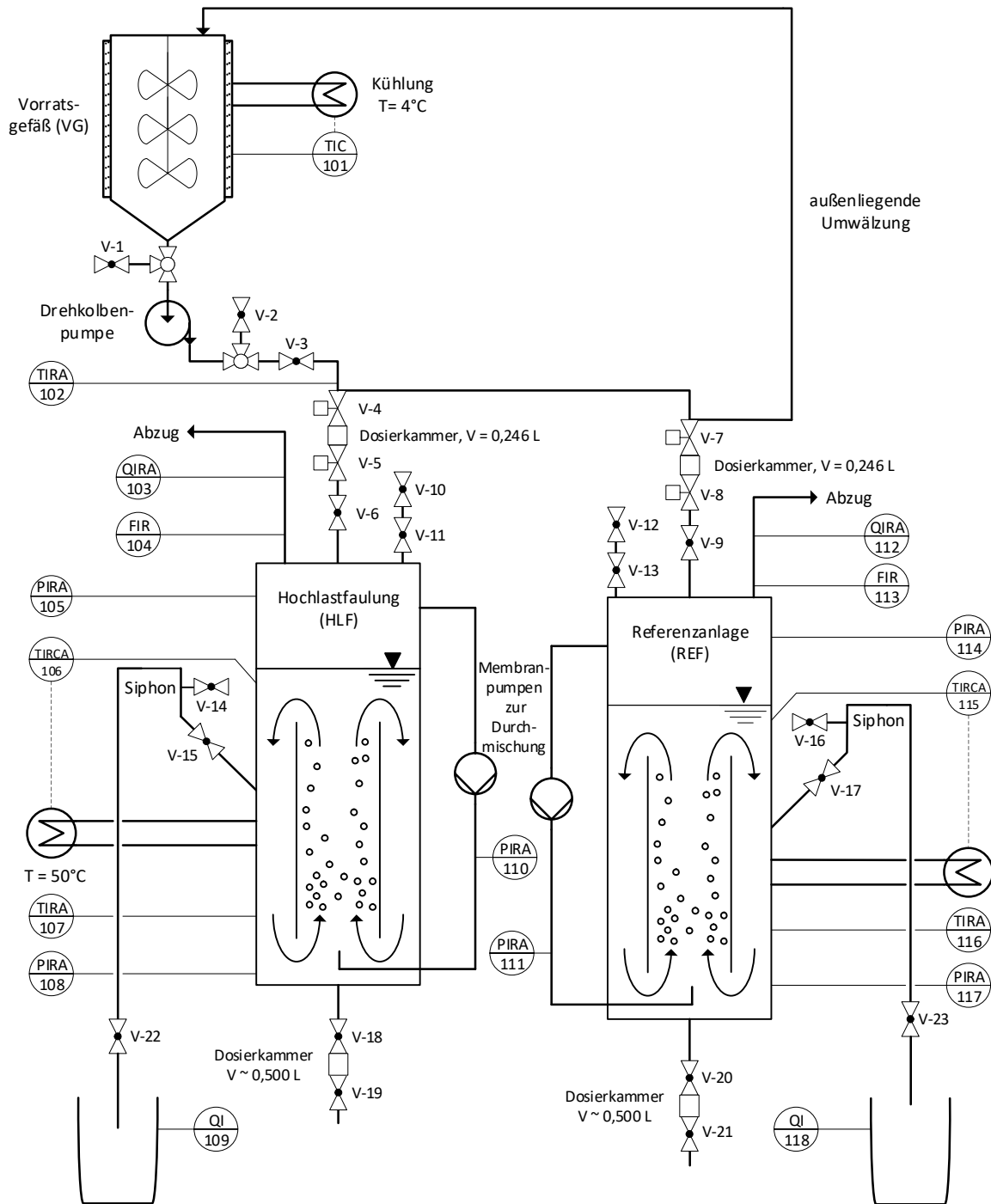


Abbildung 12: R&I Fließbild der zwei Biogasanlagen HLF (links) und REF (rechts) im Technikumsmaßstab



Abbildung 13: Die zwei Biogasanlagen HLF (links) und REF (rechts) im Technikumsmaßstab. Links im Bild die seitliche und rückwärtige Ansicht der Schaltschränke.

## 2.4 Inokulum für die kontinuierlichen Untersuchungen

Der Gärrest 7, für den im Screening zum einen die höchste Biogausbeute zum anderen die größte Biogasrate zum frühesten Zeitpunkt ermittelt wurde, wurde als Inokulum für die kontinuierlichen Untersuchungen im Technikumsmaßstab eingesetzt. Der Gärrest stammte aus der 1. Stufe einer zweistufigen thermophilen (51 °C) Biogasanlage. Die Verweilzeit der 1. Stufe dieser Biogasanlage lag bei 40 d. Das Substrat der Biogasanlage setzte sich aus ca. 40 % Maissilage, 35 % Schweinegülle, 12 % Pferdemist und 5 % Festmist verschiedener Nutztiere und Grassilage zusammen. Für den Einsatz als Inokulum einer Anlage im Technikumsmaßstab waren die Feststoffpartikel des Original-Gärrestes aus der Biogasanlage zu groß. Diese hätten Verstopfungen in den Leitungen verursacht. Um dies zu vermeiden, wurde der Gärrest ca. 1:2 mit Wasser verdünnt und mit einem Sieb mit einer Maschenweite von ca. 12 mm gesiebt. Das Siebgut wurde mit dem Wasser, das zur Verdünnung verwendet wurde, gewaschen, bzw. gespült. Das so behandelte Inokulum wurde in die beiden Fermenter gepumpt. So lag zum Zeitpunkt des Starts der Untersuchungen in beiden Reaktoren dasselbe Inokulum vor. Die beiden Anlagen wurden zweimal in Betrieb genommen (Kap. 2.7). Dafür wurde zu zwei verschiedenen Zeitpunkten, jeweils unmittelbar vor der Inbetriebnahme, Gärrest aus



der Biogasanlage abgeholt und wie beschrieben vorbereitet. So sollte mit zwei zeitlich versetzt gestarteten Untersuchungen die Reproduzierbarkeit gezeigt werden.

In Tabelle 6 sind ausgewählte Analysenergebnisse für die zu verschiedenen Zeitpunkten aus der Biogasanlage entnommenen und wie beschrieben vorbereiteten Inokula zusammengefasst.

Tabelle 6: Vergleichende Charakterisierung der beiden Inokula für die Inbetriebnahme S 1 und S2

	<b>Inokulum S1 HLF</b>	<b>Inokulum S1 REF</b>	<b>Inokulum S2 HLF</b>	<b>Inokulum S2 REF</b>
pH-Wert	7,74	7,72	8,11	8,13
TR (%)	5,1	4,92	3,82	3,39
oTR (%)	3,75	3,58	2,75	2,41
Ammonium (mg/L)	1250	1250	1040	1080

## 2.5 Charakterisierung der Substrate

### 2.5.1 Maissilage als Substrat

Maissilage wurde vom Biogasanlagenbetreiber, aus dessen Anlage der Gärrest 7 stammte, und der als Inokulum verwendet wurde, bereitgestellt. Maissilage wurde insgesamt viermal abgeholt und in 60 L Fässern gekühlt gelagert. Die Maissilage in den Fässern wurde vor der Einlagerung, bzw. nach jedem Öffnen mit CO<sub>2</sub> durchströmt und überschichtet, um Schimmelbefall und dadurch unkontrollierten Abbau sowie Toxinbildung zu vermeiden. Vor dem Einfüllen in das Vorratsgefäß (VG) wurde die entsprechende Menge an Maissilage gewogen und 1:4 mit Wasser verdünnt. Um Daten zum Abbau des Substrats ohne Einflüsse der Gärreste zu erhalten, wurde auf eine Verwertung der flüssigen Gärreste, die durch Rückführung und Verwendung bei der Verdünnung der Maissilage hätte erfolgen können, verzichtet. Die so mit Wasser verdünnte Maissilage wurde mit einem Stabmixer (SMX 800 E, Fa. Dynamic) für 12 min zerkleinert. Um Prozessstörungen mit der Pumpe (Aufquellen der Maissilage) zu vermeiden und das so vorbereitete Substrat vorzukühlen, wurde die Maissilage über Nacht im Kühlraum aufbewahrt. Direkt vor dem Einfüllen wurde pro 1 L verdünnter Maissilage je 10 mL Spurenelementlösung und 10 mL Vitaminlösung zugegeben. Die Zusammensetzungen dieser Stammlösungen sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Abbildung 14A zeigt die Maissilage vor dem Zerkleinern, Abbildung 14B nach dem Zerkleinern.

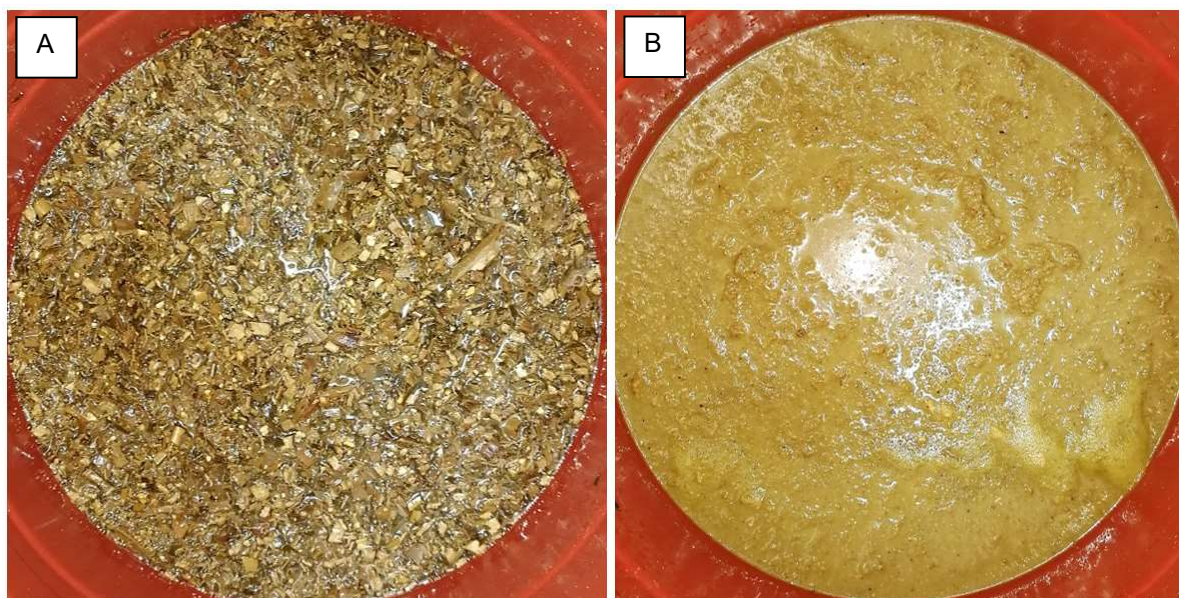


Abbildung 14: Mit Wasser verdünnte Maissilage (1:4). A: vor dem Zerkleinern, B: nach dem Zerkleinern mit einem Stabmixer. Die in B dargestellte Maissilage wurde in das Vorratsgefäß gefüllt.

Tabelle 7: Zusammensetzung und Stoffkonzentrationen der Spurenelement-Stammlösung (Nach Whitman, 2014)

Spurenelementlösung		Vitaminlösung	
Verbindung	Konzentration [mg/L]	Verbindung	Konzentration [mg/L]
Nitrilotriessigsäure	1500	p-Aminobenzoat	10
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> · 5 H <sub>2</sub> O	305	Nikotinsäure	10
FeSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	100	Ca-Pantothenat	10
CoCl <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	100	Pyridoxin-HCl	10
MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	100	Riboflavin	10
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2 H <sub>2</sub> O	100	Thiamin-HCl	10
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> · 2 H <sub>2</sub> O	100	Biotin	5
ZnSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	100	Folsäure	5
AlCl <sub>3</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	40	α-Liponsäure	5
NiCl <sub>2</sub> · 6 H <sub>2</sub> O	25	Vitamin B <sub>12</sub>	5
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	10		
CuSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O	10		

Der TR-Gehalt der Maissilage lag bei 36,3 % FM, der oTR Gehalt bei 35 % FM (flüchtige organische Säuren sind hier nicht eingerechnet). So wurde ein oTR-Gehalt des TR-Gehalts von 97 % berechnet. In Abbildung 15 ist die prozentuale Zusammensetzung der Inhaltsstoffe in % des gefriergetrockneten Rückstands für die Maissilage bzw. für Proben aus dem Vorratsgefäß VG MS (verdünnte Maissilage) von vier verschiedenen Proben dargestellt. Es zeigte sich, dass die zu unterschiedlichen Zeitpunkten aus dem Fahrсило entnommenen und hier eingesetzten Chargen der Maissilage eine vergleichsweise konstante Zusammensetzung zeigten hinsichtlich der untersuchten Anteile lipophile Substanzen, Pektin, Hemicellulosen, Cellulosen und Lignin.

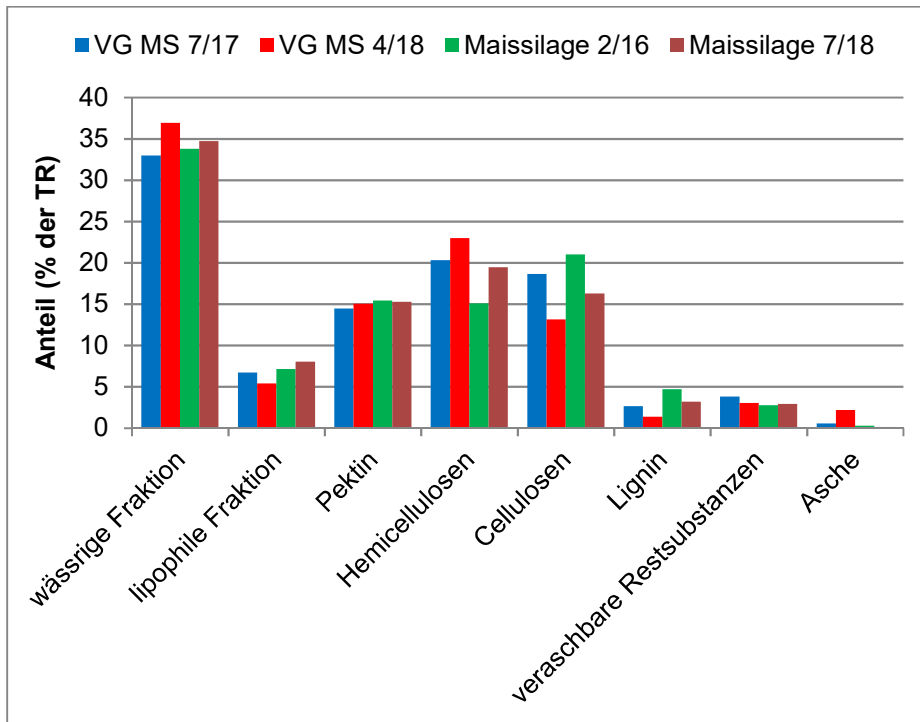


Abbildung 15: Inhaltsstoffe (% des gefriergetrockneten Rückstands) der Maissilage bzw. des Inhalts im Vorratsgefäß VG MS (verdünnte Maissilage) von vier verschiedenen Maissilageproben, entnommen über den Zeitraum von zweieinhalb Jahren (in Anlehnung an Datta 1981).

Der pH-Wert der verdünnten Maissilage im Vorratsgefäß lag zwischen 3,6 und 3,8. Die Ammonium-Ionenkonzentration lag zwischen 73 und 109 mg/L. Die Phosphatkonzentration lag zwischen 150 und 175 mg/L. In der 1:4 verdünnten Maissilage im Vorratsgefäß enthaltene Säuren waren Acetat, Propionsäure, Milchsäure und Buttersäure. Der zeitliche Verlauf der organischen Säuren bzw. Fettsäuren ist beispielhaft für einen Zeitraum von 110 Tagen in Abbildung 16 dargestellt. Im Mittel waren  $1,16 \pm 0,36$  g/L Acetat,  $1,10 \pm 0,33$  g/L Propionsäure,  $6,49 \pm 0,44$  g/L Milchsäure und  $0,36 \pm 0,15$  g/L Buttersäure enthalten. Die Gesamtsäurekonzentration betrug im Schnitt  $9,11 \pm 0,84$  g/L.

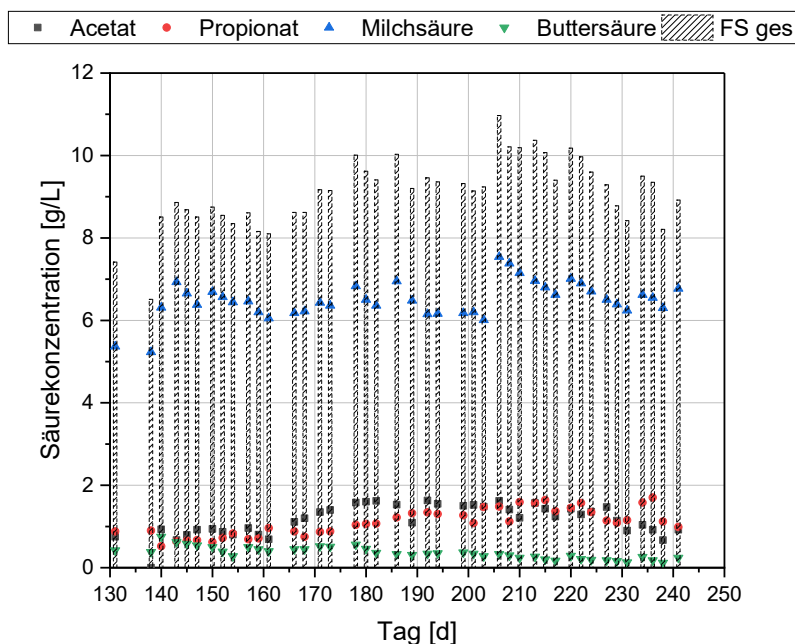


Abbildung 16: Zeitlicher Verlauf der Säurekonzentrationen der verdünnten Maissilage im Vorratsgefäß. Die gestrichelten Balken stellen die Gesamt-Fettsäuresäurekonzentration (FS ges.) dar.

## 2.5.2 Rindergülle

Rindergülle wurde zweimal von einem Bauernhof abgeholt. Die Rindergülle wurde jeweils in 60 L Fässern bis zum Gebrauch als Cosubstrat im Kühlraum gelagert. Die Rindergülle wurde jeweils nach Abholung hinsichtlich wesentlicher Parameter charakterisiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 17 und Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8: Analysenergebnisse für Rindergülle

	Rindergülle 1 (1. Charge, 7/2018)	Rindergülle 2 (2. Charge, 10/2018)
TR (%FM)	5,41	5,28
oTR (%FM)	4,12	3,97
oTR (%TR)	76,29	75,09
CSB (mg/L)	8644	8545
NH <sub>4</sub> (mg/L)	1560	1070
PO <sub>4</sub> (mg/L)	17,8	16,7

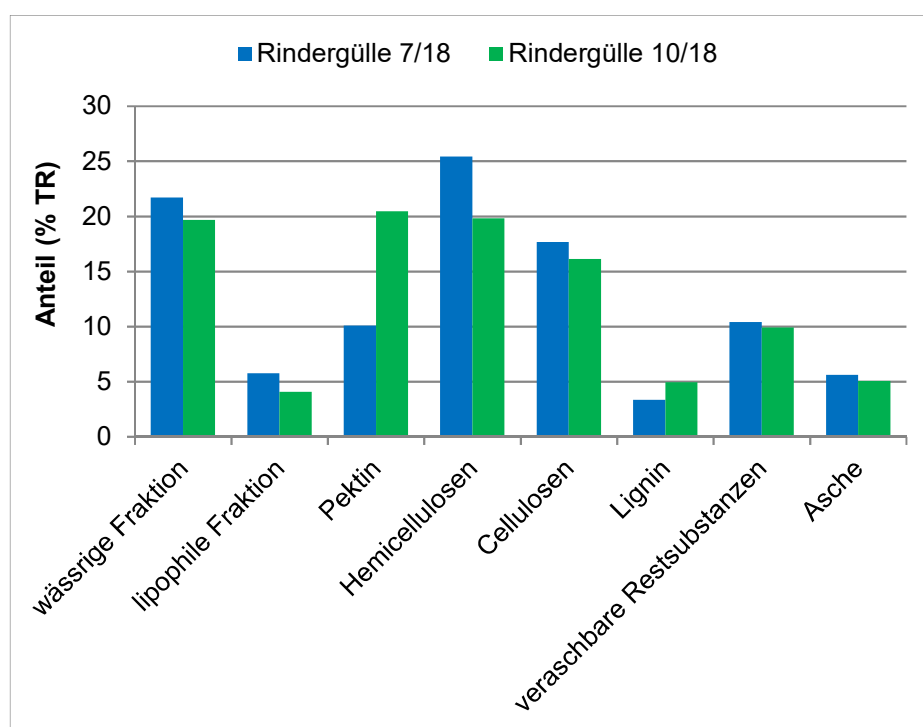


Abbildung 17: Inhaltsstoffe (% des gefriergetrockneten Rückstands) der zwei verschiedenen Chargen Rindergülle 1 und Rindergülle 2, entnommen zu zwei verschiedenen Zeitpunkten (in Anlehnung an Datta, 1981).

## 2.5.3 Maissilage und Rindergülle

Für die Untersuchungen der Covergärung mit Rindergülle wurde das Vorratsgefäß wöchentlich mit der Menge an Substrat befüllt, die innerhalb einer Woche ungefähr verbraucht werden. Die Maissilage wurde am Tag vor der Fütterung mit Wasser vermischt und mit einem Stabmixer (Fa. Dynamic) zerkleinert. Insgesamt wurden wöchentlich 16 kg Maissilage, 16 kg Rindergülle und 38 kg Leitungswasser in das Vorratsgefäß gegeben. Nach dem Befüllen des Vorratsgefäßes wurde dieses mit Stickstoff geflutet, um eine möglichst sauerstoffarme Umgebung zu erreichen. Gemeinsam mit der Mantelkühlung sollte so ein vorzeitiger Abbau des Substrats verhindert werden. Das Vorratsgefäß wurde durchgehend gerührt, das Beschickungssystem der Fütterung

wurde zusätzlich alle fünf Minuten für eine Minute durchmischt. Dies erfolgte über das Pumpsystem (VX100, Fa. Vogelsang) welches auch zur Befüllung des Vorratsgefäßes benutzt wurde.

Direkt vor dem Einfüllen wurde pro 1 L Substrat je 10 mL Spurenelementlösung und 10 mL Vitaminlösung zugegeben. Die Zusammensetzungen der Stammlösungen sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Der pH-Wert der so hergestellten Cosubstratmischung aus Maissilage und Rindergülle lag zwischen 4,3 und 4,7. Die Ammoniumkonzentration lag zwischen 390 und 600 mg/L. Die Phosphatkonzentration lag zwischen 130 und 170 mg/L. Die oTR Konzentration lag bei etwa 8,9 % und entsprach der oTR-Konzentration, mit der die Untersuchungen der Monovergärung mit Maissilage durchgeführt wurden. So konnten mit den Verweilzeiten von 15 Tagen in der HLF und für 70 Tage in der REF organische Raumbelastungen OLR eingestellt werden, die den entsprachen, mit denen die Monovergärung von Maissilage durchgeführt wurden.

## 2.6 Inbetriebnahme

Die Untersuchungen mit den beiden Verfahrensweisen in der HLF mit kurzen Verweilzeiten und in der REF mit herkömmlicher Verweilzeit wurden parallel durchgeführt mit dem jeweils gleichen Substrat aus einem gemeinsamen Vorratsgefäß, um die beiden Anlagen mit unterschiedlicher Betriebsweise mit identischem Substrat betreiben zu können und so Einflüsse auf das Ergebnis durch unterschiedliche Substrate auszuschließen. Die Technikumsanlagen wurden mit demselben, im Screening ausgewählten Inokulum 7, befüllt wie in 2.4 beschrieben und zunächst auf 51° C temperiert und durchmischt. Nachdem die Temperatur erreicht war, wurde die Substratfütterung gestartet. Die beiden Anlagen wurden so zunächst mit einem Durchsatz, der einer hydraulischen Verweilzeit von 40 Tagen in der Hochlastfäulung HLF entsprach, sowie einem Durchsatz, der einer hydraulischen Verweilzeit von 70 Tagen in der Referenzanlage REF entsprach, in Betrieb genommen.

Die Inbetriebnahme und das Erreichen der Verweilzeit von 30 Tagen wurde zweimal nacheinander durchgeführt in zwei Strategien S1 (vor Neustart) und S 2 (nach Neustart). Bei der Strategie S1 mit dem ersten Inokulum (Abbildung 18, oben) wurde die Verweilzeit von 40 Tagen in der HLF für 74 Tage konstant gehalten, anschließend für weitere 83 Tage bei 35 Tagen. Im Anschluss daran wurde die Verweilzeit auf 30 Tage reduziert und für weitere 40 Tage so belassen. In diesem Zeitraum von insgesamt fast 200 Tagen wurde für die HLF für die Einstellungen von 40 d, 35 d sowie für 30 d eine näherungsweise Bilanzierung vorgenommen. So wurden zunächst in HLF/1 die Verweilzeiten von 40 Tagen, von 35 Tagen und von 30 Tagen in der Hochlastfäulung über einen Mindest-Zeitraum belassen, für den eine Bilanzierung für die Biogasausbeute und die Produktivität abgeschätzt bzw. näherungsweise berechnet werden konnte, zum anderen aber auch, um einen zweiten Gärrest aus der Biogasanlage als Inokulum einzusetzen und hinsichtlich der Reproduzierbarkeit zu prüfen. Bei der zweiten Inbetriebnahme mit einem zweiten Inokulum S2 (nach Neustart) wurden die Verweilzeiten von 40, 35 und 30 Tagen nur für einen vergleichsweise kurzen Zeitraum beibehalten, um die kurzen angestrebten Verweilzeiten von 25 bzw. 20 Tagen schnell zu erreichen und den Verlust von leistungsfähigen Mikroorganismen möglichst zu vermeiden.

So wurde das eigentliche Ziel, die HLF vergleichsweise schnell auf kurze Verweilzeiten zu bringen, mit der zweiten Inbetriebnahme mit einem zweiten Inokulum mit der Strategie 2 erreicht. In Strategie 2 (S2, nach

Neustart) wurde der Prozess von Beginn an mit einem anderen Verweilzeitprogramm geführt (Abbildung 18, unten). Es wurde so geprüft, ob mit einem zu einem späteren Zeitpunkt aus der Biogasanlage entnommenen Gärrestinokulum sowie mit dem veränderten Verweilzeitprogramm die Ergebnisse reproduziert werden können. Die Biogasanlagen wurden nach erneutem Befüllen mit neuem Inokulum wieder in Betrieb genommen (S2, Neustart). Für S2 wurde die HLF jeweils 6 bzw. 14 Tage bei den Verweilzeiten von 40 bzw. 35 Tagen betrieben. Dies bedeutet, dass in S2 die Verweilzeit von 30 Tagen schon 20 Tage nach Inbetriebnahme eingestellt wurde, im Gegensatz zu S1, wo die Verweilzeit von 30 Tagen erst 157 Tage nach Inbetriebnahme erreicht wurde. Während der Inbetriebnahme S2 wurde die HLF für 32 Tage bei einer Verweilzeit von 30 Tagen betrieben. Anschließend wurde die Verweilzeit auf 25 Tage reduziert und für 62 Tage so belassen und bilanziert. Die Referenzanlage wurde während der Inbetriebnahme S1 und S2 fortwährend und unverändert bei 70 Tagen Verweilzeit betrieben. Der zeitliche Verlauf beider Strategien S1 und S2 ist in Abbildung 18 dargestellt.

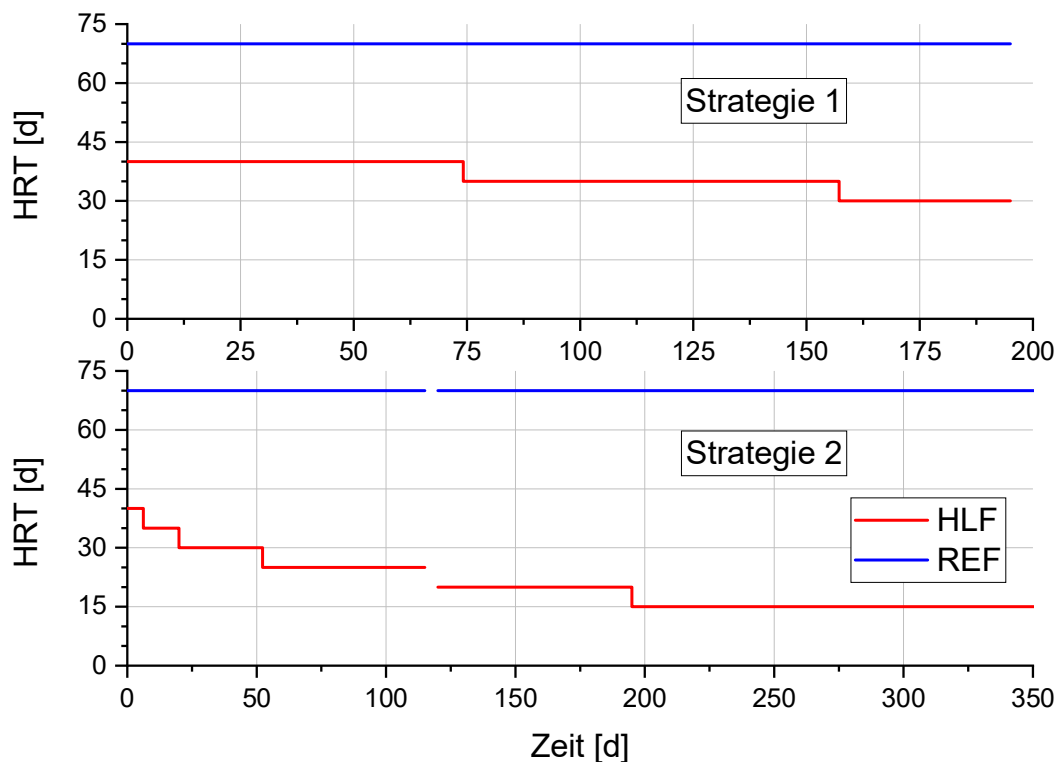


Abbildung 18: Zeitlicher Verlauf der eingestellten Verweilzeiten für Hochlastfaulung (HLF) und Referenzanlage (REF) während Strategie 1 (S1, oben) und Strategie 2 (S2, Neustart, unten).

## 2.7 Durchführung der kontinuierlichen Untersuchungen mit den Anlagen HLF und REF

Die beiden parallelen, einstufigen Anlagen wurden insgesamt zweimal inokuliert und anschließend in Betrieb genommen (2.6). Mit der Strategie 1 wurden die beiden Untersuchungs-dauer HLF/1 und REF/1 untersucht, die nachfolgend auch so bezeichnet werden. In der HLF/1 wurden die Verweilzeiten 40 d, 35 d und 30 d eingestellt und jeweils für einen Fermentationszeitraum der etwa dem 1,5fachen der jeweils eingestellten

Verweilzeit entsprach. So wurden hier annähernd stationäre Zustände erreicht, die für eine näherungsweise Bilanzierung verwendet werden konnten. Mit der Strategie 2 wurden in der zweiten Untersuchungsdauer HLF/2 diese Verweilzeiten nur relativ kurz für die Dauer von jeweils einigen Tagen eingestellt, um vergleichsweise schnell zu den Verweilzeiten von 25 d bis 15 d zu kommen. Im zweiten Untersuchungsabschnitt HLF/2 sollte die Verweilzeit auch schrittweise reduziert werden, bis zu einer minimalen Verweilzeit, mit der die HLF noch ohne einen deutlichen Rückgang der Biogasbildung betrieben werden sollte und ohne Anstieg der Säurekonzentration. Ziel für die minimale Verweilzeit waren 15 Tage. Sowohl mit Strategie 1 als auch mit Strategie 2 wurden in der Referenzanlage die hydraulische Verweilzeit über den gesamten Zeitraum bei 70 d belassen (REF/1 und REF/2). Im Untersuchungsabschnitt HLF/Cofermentation wurde die Anlage HLF bei 15 Tagen Verweilzeit unmittelbar im Anschluss mit dem Cosubstrat Rindergülle für weitere 100 Tage betrieben, die Anlage REF wurde auch hier weiterhin mit der hydraulischen Verweilzeit von 70 Tagen betrieben.

Die Referenzanlage wurde für die gesamte Untersuchungsdauer von insgesamt 550 d mit einer Verweilzeit von 70 Tagen betrieben. In REF/1 und REF/2 jeweils mit dem Monosubstrat Maissilage und anschließend in REFCofermentation mit dem Cosubstrat Rindergülle.

Um einem Mangel an Spurenelementen bei der Monovergärung von Maissilage auszuschließen, wurde dem Substrat während der gesamten Fermentationszeit Spurenelement- und Vitaminlösung beigemischt. Die Zusammensetzung ist in Tabelle 7 zusammengefasst.

In Abbildung 19 ist der zeitliche Verlauf der eingestellten Verweilzeiten in der HLF sowie in der REF-Anlage dargestellt für die Untersuchungen mit Monosubstrat Maissilage (HLF/1, HLF/2 und REF/1 und REF/2), sowie für die Untersuchungsabschnitte HLFCofermentation sowie REFCofermentation mit Rindergülle als Cosubstrat. In Tabelle 9 sind die den Verweilzeiten entsprechenden organischen Raumbelastungen OLR zusammengefasst. Die Raumbelastungen, für die eine Bilanzierung durchgeführt wurde, lagen zwischen 2,2 g/l\*d und 5,8 g/l\*d. Dabei war die Einstellung für Verweilzeit von 30 Tagen in S1 nur für 40 Tage, in S2 nur für 30 Tage. Das bedeutet, dass die Ergebnisse für die Verweilzeit von 30 Tagen bei noch nicht völlig konstanten Auslaufbedingungen, die dem stationären Zustand entsprechen würden, erfolgten. Die Ergebnisse wurden bei der weiteren Betrachtung zum Vergleich trotzdem herangezogen.

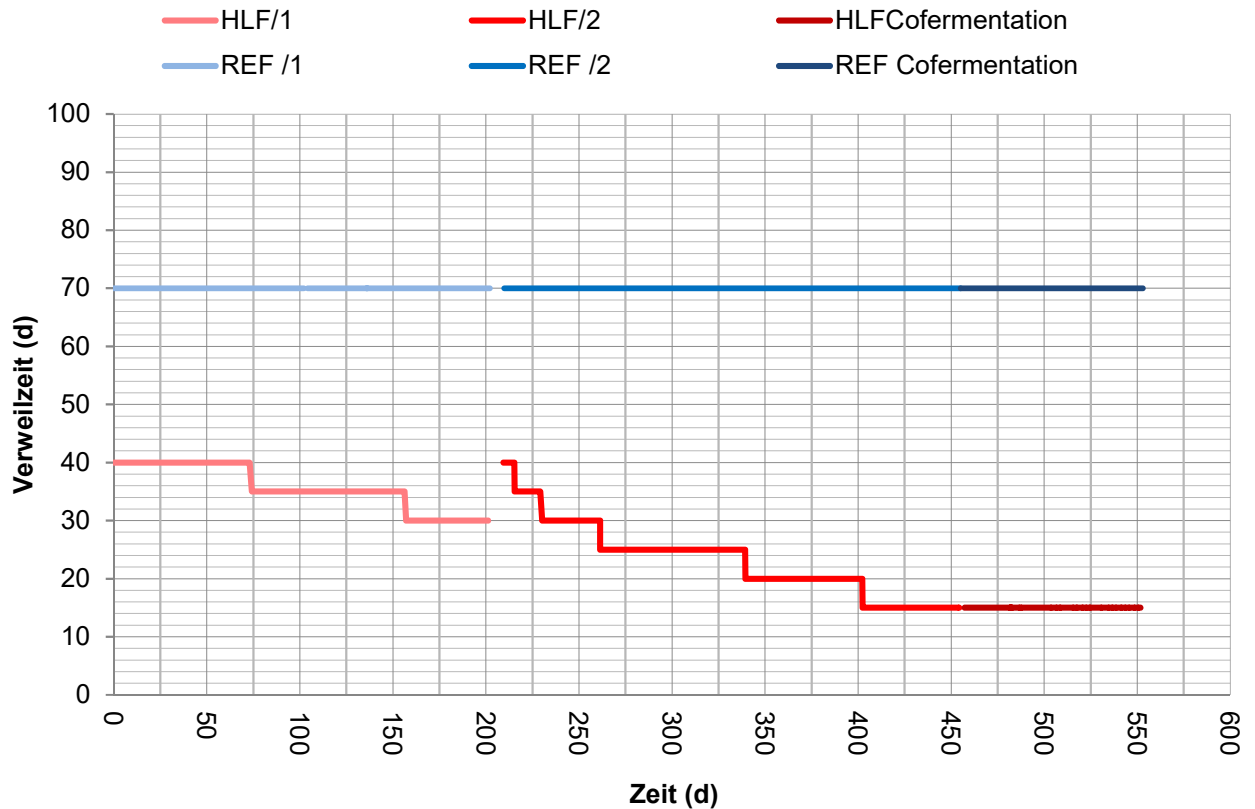


Abbildung 19: Zeitlicher Verlauf der eingestellten und untersuchten Verweilzeiten in der Hochlastfäulung (HLF) und der Referenzanlage (REF) jeweils für die Monovergärung mit Maissilage (HLF/1, HLF/2 und REF/1, REF/2) sowie für die Cofermentation von Maissilage mit Rindergülle (HLF Cofermentation und REF Cofermentation).

Tabelle 9: Zusammenfassung der eingestellten hydraulischen Verweilzeiten in den Untersuchungen mit den Reaktoren HLF und REF.

Substrat	Fermentationsdauer ab Beginn HLF/1 und REF/1 (d)	Fermentationsdauer ab Beginn HLF/2 und REF/2 (d)	HLF			REF		
			Verweilzeit	OLR		Verweilzeit	OLR	
MS	0 - 73		HLF/1	40	2,06	REF 1	70	1,1
	73 - 156			35	2,35		70	
	156 - 201			30	2,58		70	
MS	209 - 215	0-16	HLF/2	40		REF /2	70	1,27
	215- 229	16 - 20		35			70	
	229 – 261	20 - 52		30	2,87		70	
	261 – 339	52 - 130		25	3,44		70	
	339 – 402	130 - 193		20	4,48		70	
	402 – 454	193 - 245		15	5,82		70	
MS + RG	454 – 552	245 - 343		15	6,27		70	1,34



## 2.8 Analyseergebnisse aus den kontinuierlichen Untersuchungen

Die verschiedenen Betriebspunkte, die durch unterschiedliche Durchsätze eingestellt wurden, wurden hinsichtlich der Biogasausbeuten, der Methanausbeuten, der Biogasproduktivität, der Methanproduktivität, sowie des oTR-Abbaugrades miteinander verglichen. Diese Ergebnisse sind in Kapitel 2.9 beschrieben. Der Betrieb wurde durch regelmäßige Probenahmen und Analysen kontrolliert. Routinemäßig wurden der pH-Wert, der TR- und oTR-Gehalt, die Konzentration an organischen Säuren, die Ammonium- und Phosphatkonzentration, der FOS/TAC bestimmt. Außerdem wurden jeweils vor Umstellung der Verweilzeit eine Probe entnommen zur Quantifizierung des Restgaspotentials sowie zur Analyse der Zusammensetzung des Trockenrückstands. Für die Analyse der Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation wurden jeweils drei Proben im Abstand von 2 - 3 Tagen genommen. Die Ergebnisse sind in Kapitel 2.10 (Seite 66 ff) dargestellt.

### 2.8.1 pH-Wert und organische Säuren

In Abbildung 20 ist der zeitliche Verlauf des pH-Wertes für die gesamte Fermentationszeit für HLF/S1 (erster Ansatz), HLF/S2 (zweiter Ansatz) sowie REF/S1 (erster Ansatz) und REF/S2 (zweiter Ansatz) für die Monovergärung mit Maissilage bis  $t = 454$  d und für die Covergärung mit Rindergülle ab  $t = 454$  d fortlaufend dargestellt. Zeitpunkt  $t = 0$  d ist der Zeitpunkt des Starts der Untersuchungen mit der ersten Inbetriebnahme in S1.

Die Untersuchungen wurden ohne pH-Statisierung durchgeführt. Es zeigte sich, dass der pH-Wert für die gesamte Untersuchungsdauer in der HLF unter dem pH-Wert der REF lag. Während des Betriebs mit der Verweilzeit von 15 d mit Maissilage als Monosubstrat lag der pH-Wert bei etwa 6,6. Mit Beginn der Covergärung mit Rindergülle stieg der pH-Wert wieder an, so dass er Werte von größer 7 erreichte.

Während der gesamten Fermentationsdauer wurden 2 – 3 mal wöchentlich Analysen hinsichtlich der organischen Säuren Essigsäure, Propionsäure und Milchsäuren durchgeführt.

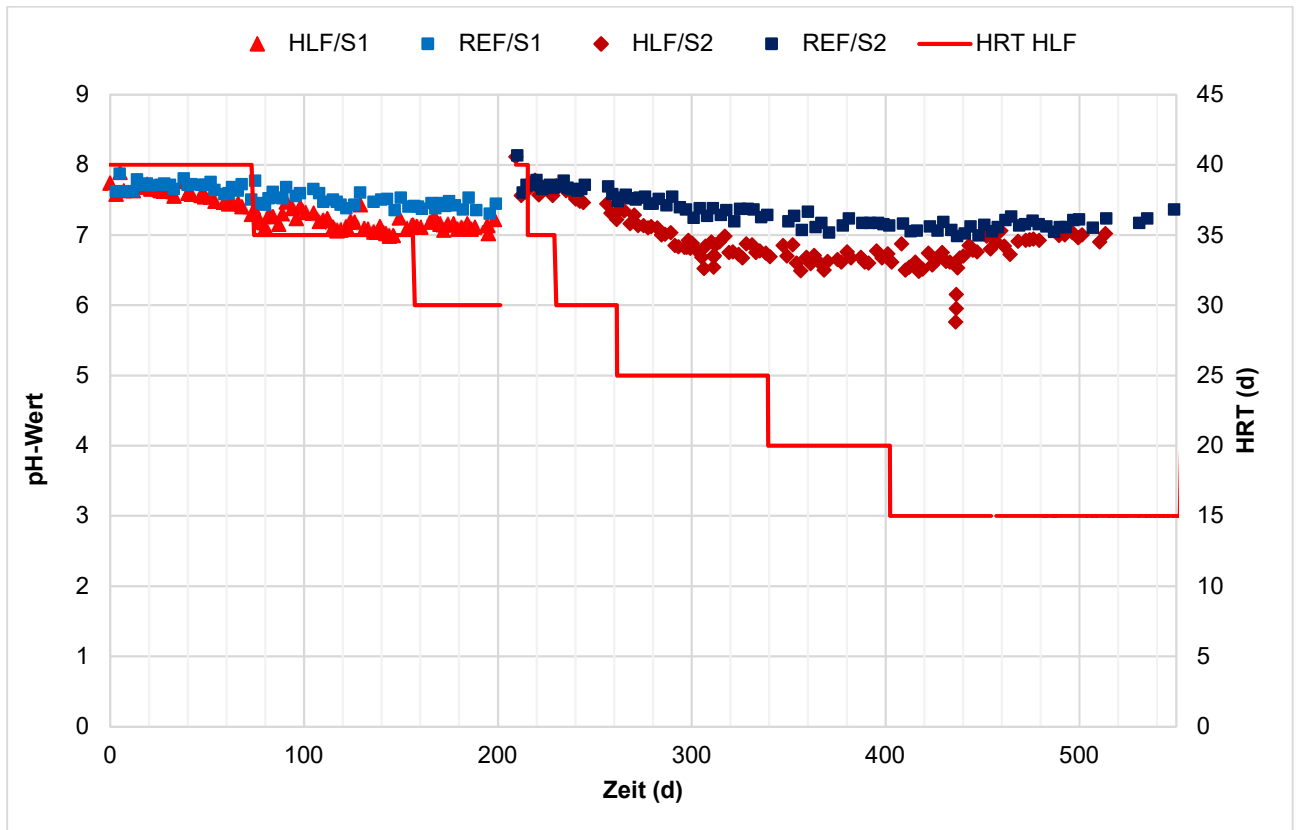


Abbildung 20: Zeitlicher Verlauf des pH-Werts in der HLF/S1 und der HLF/S2 sowie in der REF/S1 und REF/S2 jeweils mit Maissilage als Monosubstrat sowie für die Covergärung mit Rindergülle ab der Fermentationszeit von 454d bis 550 d.

## 2.8.2 Verlauf der Ammonium Konzentration

Die Abbildung 21 zeigt den zeitlichen Verlauf der Ammoniumkonzentration der HLF und der REF für den gesamten Zeitraum fortlaufend für S1 und S2. Zeitpunkt  $t = 0$  d ist der Zeitpunkt des Starts der Untersuchungen mit der ersten Inbetriebnahme in S1.

Der Ammoniumgehalt beider Reaktoren sank kontinuierlich jeweils für beide Strategien S1 und S2 im Verlauf des Versuchs ab. Am Ende der S1 am Tag 200 d betrug er 103 mg/L in der HLF und 443 mg/L in der REF. Aufgrund des höheren Durchsatzes in der HLF wurde hier ein schnellerer Rückgang und Auswaschen des Ammoniums festgestellt, das zu Beginn wegen des Gülleanteils im Inokulum mit etwa 1000 mg/L in S1 bzw. 1250 mg/L in S2 vergleichsweise hoch war, als in der REF. Der Ammoniumgehalt der REF lag meist über dem der HLF.

Auch im Zeitraum für S2 ab  $t = 200$  d war dies zu erkennen. Der Ammonium Gehalt sank hier aufgrund des jetzt eingestellten höheren Durchsatzes in der HLF noch schneller als in der HLF während S1. Der Ammoniumgehalt in der HLF lag ab dem Zeitpunkt  $t = 300$  d zwischen 1 und 10 mg/L. Im gleichen Zeitraum lag der Ammoniumgehalt in der REF etwa konstant bei etwa 400 mg/L. Mit dem Beginn der Covergärung zum Zeitpunkt  $t = 450$  d stieg der Ammoniumgehalt in beiden Reaktoren HLF und REF wieder an (Abbildung 21).

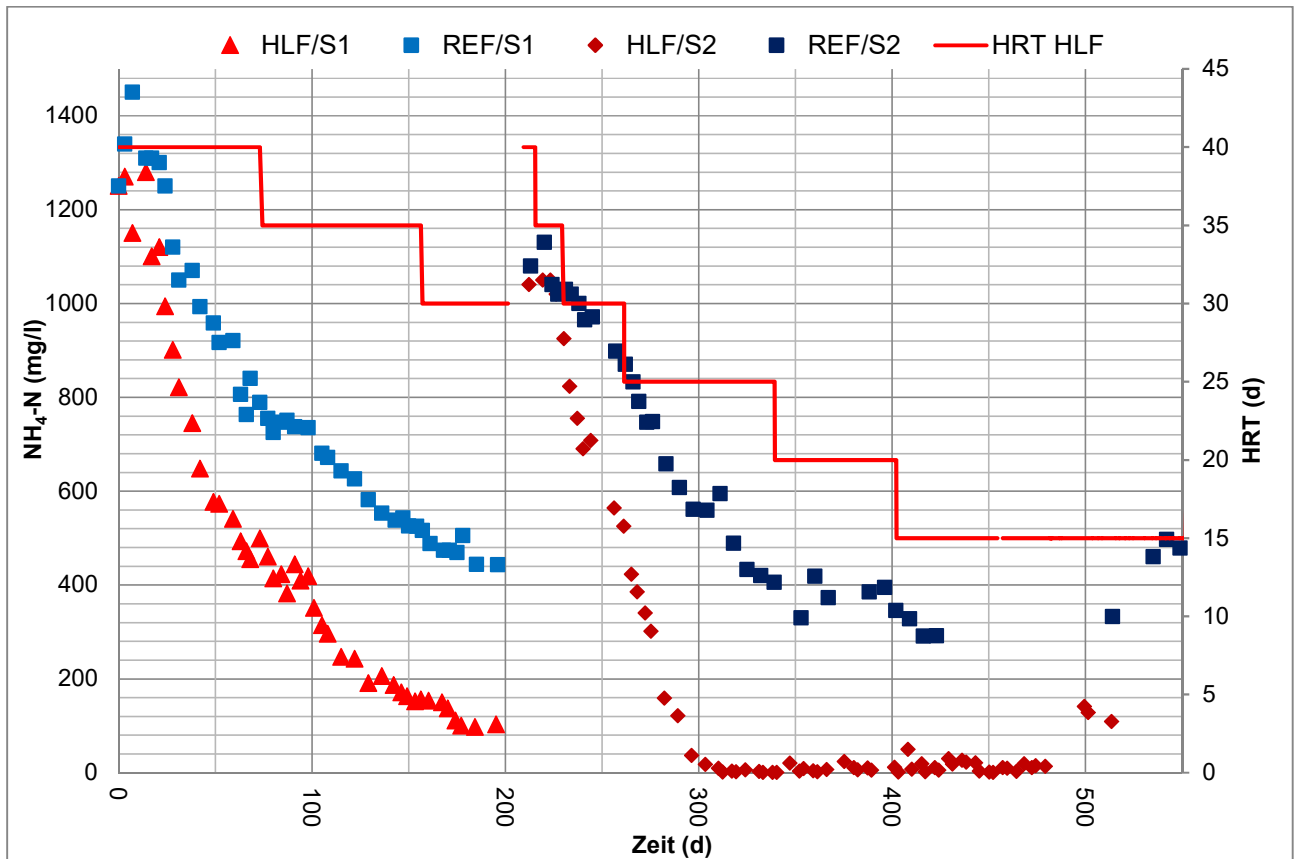


Abbildung 21: Zeitlicher Verlauf der Ammonium-Stickstoffkonzentration in der HLF/1 und der HLF/2 sowie in der REF/1 und REF/2 jeweils mit Maissilage als Monosubstrat sowie für die Covergärung mit Rindergülle ab der Fermentationszeit von 454d, sowie zeitlicher Verlauf der HRT in der HLF.

### 2.8.3 Zeitlicher Verlauf der Biogasbildung

In Abbildung 22 ist der zeitliche Verlauf der Biogasbildung über den gesamten Untersuchungszeitraum fortlaufend für S1 und S2 dargestellt zusammen mit der hydraulischen Verweilzeit in der HLF für beide Inbetriebnahmen. Zeitpunkt  $t=0d$  ist der Zeitpunkt des Starts der Untersuchungen mit der ersten Inbetriebnahme in S1.

Es zeigte sich, dass mit jeder Verkürzung der Verweilzeit die Biogasbildung unmittelbar nach Erhöhung des Durchsatzes angestiegen ist.

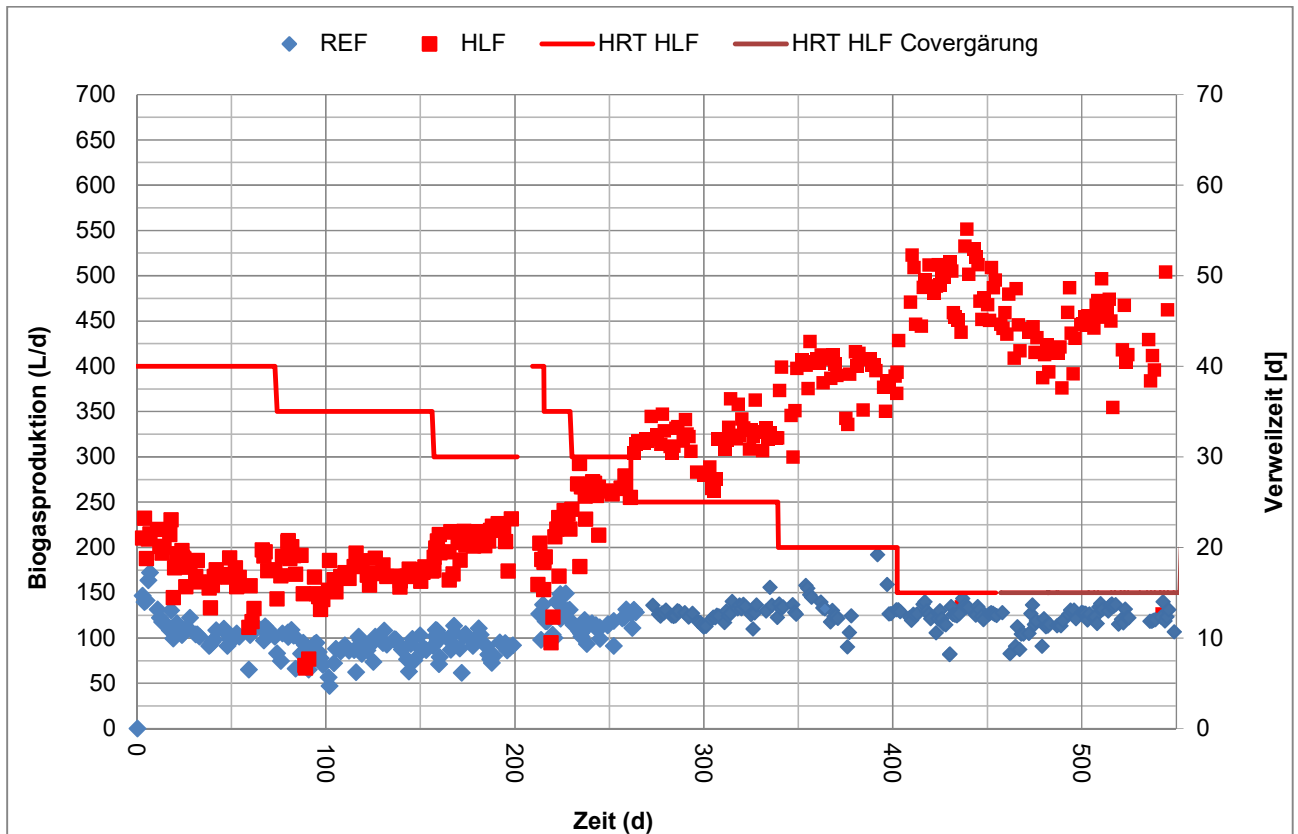


Abbildung 22: Zeitlicher Verlauf der täglichen Biogasproduktion in der HLF sowie in der REF für den gesamten Untersuchungszeitraum in S1 (erste Inbetriebnahme) und S2 (zweite Inbetriebnahme) sowie zeitlicher Verlauf der hydraulischen Verweilzeit in der HLF.

## 2.8.4 Ausgewählte Analysenergebnisse aus den kontinuierlichen Untersuchungen mit Monosubstrat Maissilage

### 2.8.4.1 Zeitlicher Verlauf der TR- und oTR-Konzentration für die Verweilzeiten von 30 Tagen, 25 Tagen, 20 Tagen und 15 Tagen im Vergleich zum zeitlichen Verlauf bei einer Verweilzeit von 70 Tagen

In Abbildung 23 sind die zeitlichen Verläufe der TR- und oTR-Gehalte in der HLF/2 für die Verweilzeit von 30 und 25 Tage sowie der zeitliche Verlauf der TR- und oTR-Gehalte in der REF/2 für die Verweilzeit von 70 Tagen, in Abbildung 24 sind die zeitlichen Verläufe der TR- und oTR-Gehalte in der HLF/2 für die Verweilzeit von 20 und 15 Tage und in der REF/2 für die Verweilzeit von 70 Tagen vergleichend dargestellt.

Der TR- bzw. oTR-Gehalt der HLF betrug bei Inbetriebnahme des Reaktors für S2  $3,82 \pm 0,04$  % bzw.  $2,75 \pm 0,04$  %, an Tag 52 (Ende HRT 30 Tage)  $2,65 \pm 0,01$  % bzw.  $2,08 \pm 0,01$  %. Der TR- bzw. oTR-Gehalt der HLF sank bis etwa Tag 60 bis 70 ab und zeigte danach wieder einen Aufwärtstrend. An Tag 115 für die Verweilzeit von 25 Tagen betrug der TR- bzw. oTR-Gehalt  $2,85 \pm 0,02$  % bzw.  $2,41 \pm 0,01$  %. Der TR- bzw. oTR-Gehalt der REF betrug bei Inbetriebnahme des Reaktors für S2  $3,39 \pm 0,00$  % bzw.  $2,41 \pm 0,01$  % und fiel bis zum Ende des Versuches ab. An Tag 115 betrug der TR- Gehalt in der REF  $2,20 \pm 0,02$  % bzw. der oTR-Gehalt  $1,68 \pm 0,03$  %.

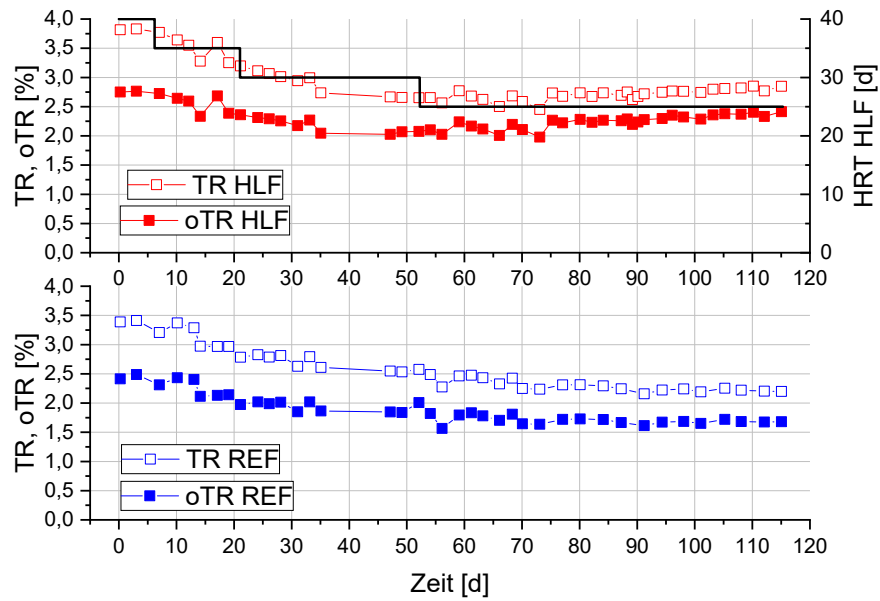


Abbildung 23: Zeitlicher Verlauf der TR und oTR-Konzentration in der HLF für die Verweilzeit von 30 Tagen und die Verweilzeit von 25 Tagen, sowie in der REF für die Verweilzeit von 70 Tagen während S2. Zeitachse beginnt mit t=0d mit Neustart Strategie 2 (entsprechend 212 d gesamt, s. Abbildung 19).

Der TR der HLF lag während der Verweilzeit von 20 Tagen im Mittel bei  $2,92 \pm 0,09$  % mit einem oTR von  $2,51 \pm 0,09$  %. Während der Verweilzeit von 15 Tagen lag der TR der HLF im Mittel bei  $2,91 \pm 0,07$  % mit einem oTR von  $2,53 \pm 0,07$  %.

Der TR der REF lag in dem gesamten Zeitraum bei etwa  $2,05 \pm 0,10$  % mit einem oTR von  $1,59 \pm 0,08$  %. Der TR- und der oTR-Gehalt der HLF war höher als der der REF.

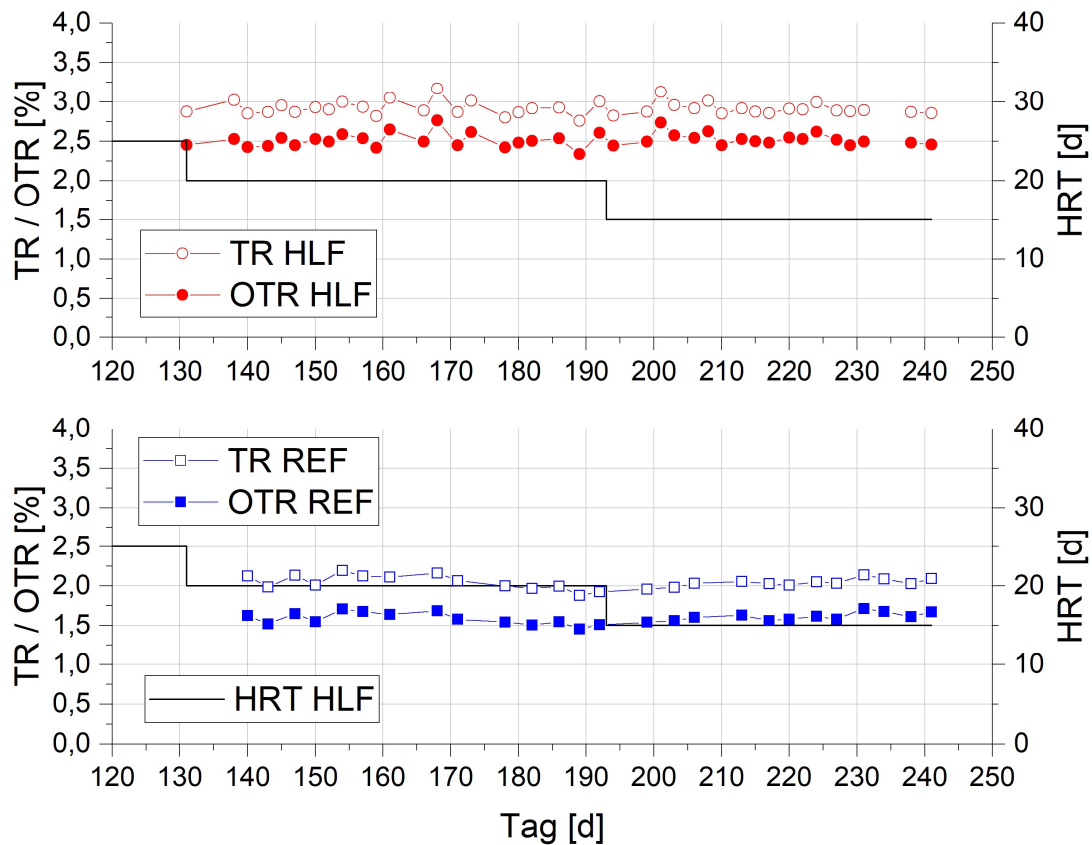


Abbildung 24: Zeitlicher Verlauf der TR und oTR-Konzentration in der HLF für die Verweilzeit von 20 Tagen und die Verweilzeit von 15 Tagen, sowie in der REF für die Verweilzeit von 70 Tagen während S2. Zeitachse bezieht sich auf den Startpunkt  $t=0d$  mit Neustart Strategie 2 (entsprechend 212 d gesamt, s. Abbildung 19).

#### 2.8.4.2 Zeitlicher Verlauf der Norm-Biogasbildung für die Verweilzeiten von 20 Tagen und 15 Tagen Verweilzeit im Vergleich zur Norm-Biogasbildung bei 70 Tagen Verweilzeit

Die Hochlastfaulung konnte mit der Verweilzeit von 20 d stabil und ohne Prozessinstabilitäten betrieben werden. Es wurden keine organischen Säuren akkumuliert und der pH-Wert der HLF lag mit  $6,67 \pm 0,09$  im Durchschnitt eher an der unteren Grenze des optimalen pH-Bereiches von 6,5 bis 7,5. Auf die Biogasproduktion hatte dies keine erkennbaren Auswirkungen. Die Biogasproduktion lag im Durchschnitt bei  $333 \pm 12$  NL/d. Die Biogasbildung sowie die Methanbildung sind in Abbildung 25 dargestellt für die Verweilzeit von 15 d, 20 d sowie für 70 d. Nach Umstellung der Verweilzeit auf 15 d stieg die Biogasproduktion zunächst auf ca. 400 NL/d an und weiter auf 440 NL/d an. An den Tagen 227 und 228 sorgten Betriebsstörungen für eine verminderte Biogasproduktion. In Kapitel 2.8.4.3 (Seite 47 ff) werden diese näher erläutert. Die Biogasproduktion der genannten Tage mit Betriebsstörungen wurden für die Mittelwertbildung nicht berücksichtigt, da geringe Biogaswerte nachweislich dadurch zustande kamen, dass Störungen des Betriebs oder der Messungen stattfanden. Daraus ergab sich ein Mittelwert der Biogasproduktion von  $412 \pm 19$  NL/d für die Verweilzeit von 15 d.

Die Biogasproduktion der REF verlief konstant bei etwa  $115 \pm 10$  NL/d.

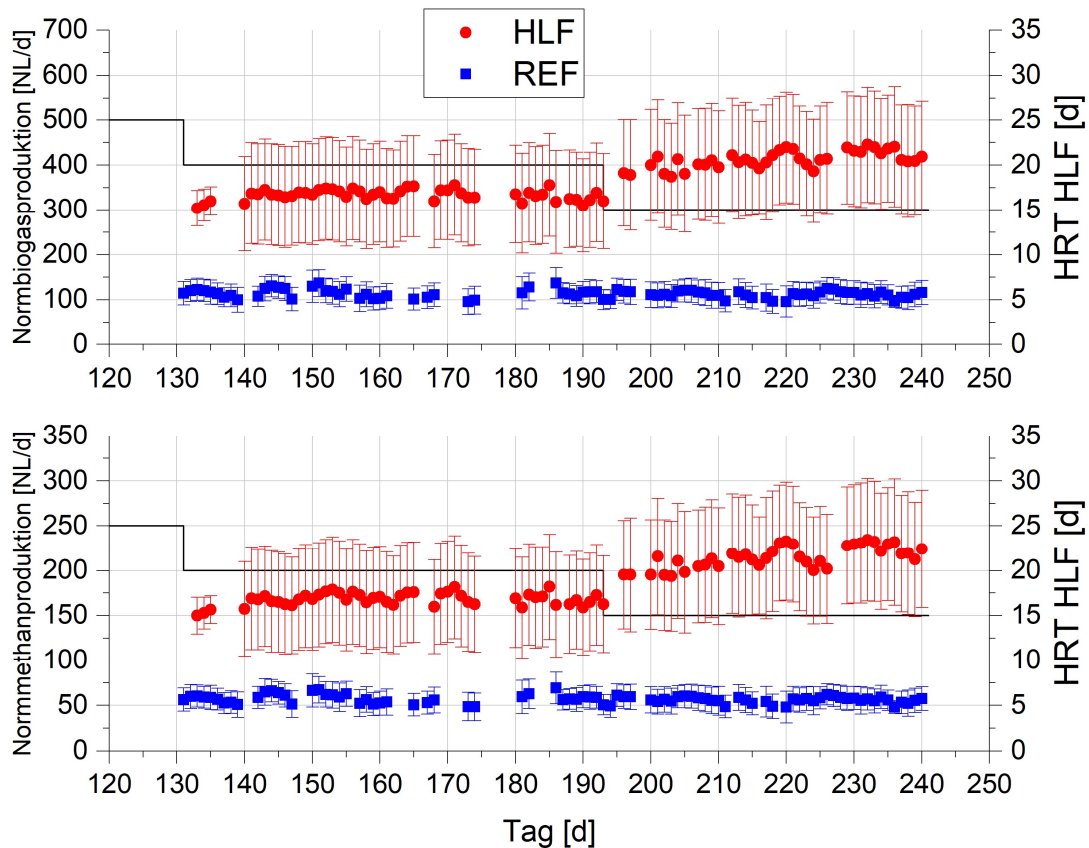


Abbildung 25: Zeitlicher Verlauf der täglichen Normbiogasproduktion (oben) und Normmethanproduktion (unten) der Hochlastfaulung (HLF, rot) und der Referenzfaulung (REF, blau). Auf der Sekundärachse ist die Verweilzeit der HLF abgebildet. Die REF wurde durchgängig mit einer Verweilzeit von 70 d betrieben.

### 2.8.4.3 Stabilität der HLF mit der Verweilzeit von 15 Tagen

Während des Betriebs mit der Verweilzeit 15 Tagen (Tag 193 bis 241) verlief der biologische Prozess der HLF weitestgehend stabil. Nur durch eine anlagentechnisch bedingte Störung der Biozönose trat zwischen Tag 226 bis 228 eine Prozessinstabilität auf. Der FOS/TAC erwies sich als zuverlässiger Parameter zur Bewertung der aktuellen Prozessstabilität. Im regulären Betrieb waren keine organischen Säuren detektierbar und der pH-Wert lag im Mittel mit  $6,63 \pm 0,24$  ähnlich niedrig wie bereits mit der Verweilzeit 20 Tage. Die Biogasproduktion lag an Tagen ohne anlagentechnische Störungen im Durchschnitt bei  $412 \pm 19$  NL/d.

Durch ein vorübergehendes Absenken des Füllstandes gelangte vorübergehend und kurzzeitig Sauerstoff in den Reaktor. Daraufhin ging die Biogasausbeute auf ca. 210 NL/d zurück. Der pH-Wert sank auf 5,8 (Abbildung 26). Gleichzeitig wurde ein Anstieg der Säurekonzentrationen mit 0,28 g/L Propionat und 0,99 g/L Acetat festgestellt (Abbildung 28). Der FOS/TAC stieg an auf 2,51 (Abbildung 27). Als Konsequenz wurde die Fütterung vorsorglich für 24 h abgeschaltet, um eine weitere Anhäufung von Säuren und damit eine Übersäuerung des Reaktors zu vermeiden. Zusätzlich wurde der pH-Wert des Reaktors durch die Zugabe von ca. 2 L 1 M NaOH auf pH 7 eingestellt, um die Milieubedingungen für die Methanbildner anzupassen. Dazu wurde eine Reaktorprobe von genau 100 mL mit 1 M NaOH unter ständigem Rühren auf pH 7 titriert. Das dafür benötigte NaOH-Volumen wurde auf das Reaktorvolumen von 130 L hochgerechnet. Die anschließende Zugabe der Natronlauge erfolgte in 200 mL Schritten und Zeitabständen von 20 min, um eine möglichst schonende Zugabe der Lauge zu gewährleisten.

An Tag 228 war die Biogasproduktion gegenüber dem Vortag mit ca. 320 NL/d höher. Das Acetat war abgebaut und die Propionat-Konzentration lag bei 0,42 g/L. Der pH-Wert war durch die Zugabe von NaOH auf 6,53

angestiegen und der FOS/TAC lag mit 0,69 deutlich niedriger als am Tag zuvor. Trotz der geringen Mengen an Propionsäure wurde die Fütterung an diesem Tag wieder eingeschaltet, da sich der pH-Wert normalisiert hatte und die Essigsäure abgebaut war.

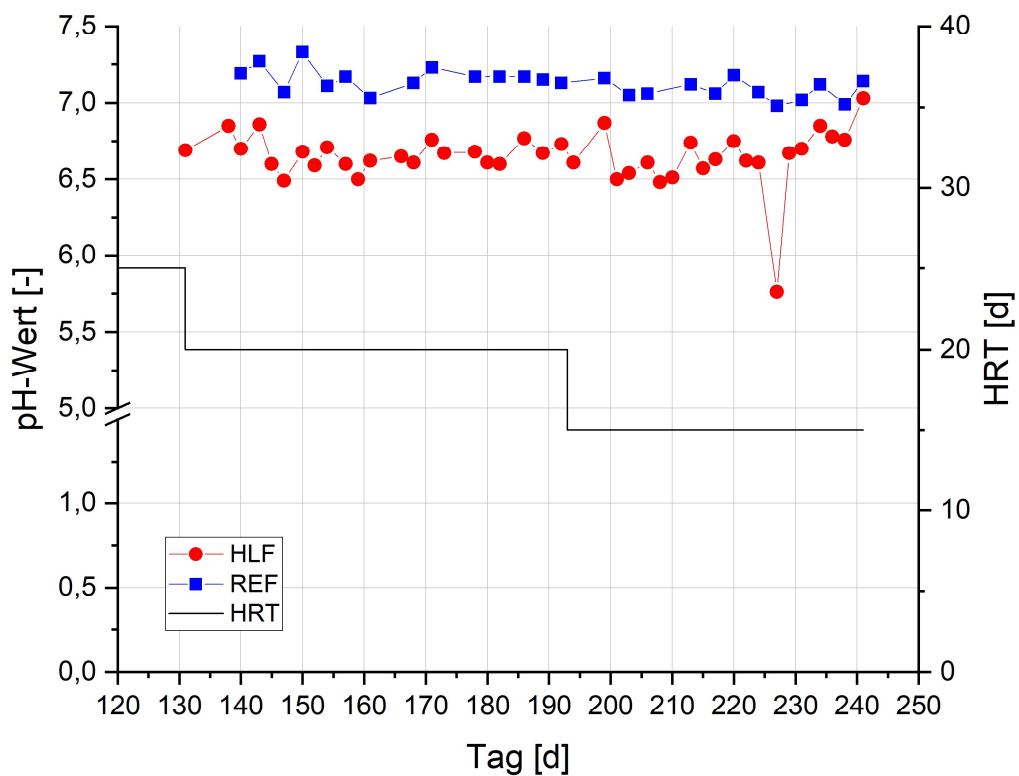


Abbildung 26: Zeitlicher Verlauf des pH-Werts der Hochlastfäulung (HLF, rot) für die Verweilzeit von 20 Tagen und für die Verweilzeit von 15 Tagen, sowie zeitlicher Verlauf der hydraulischen Verweilzeit in der HLF. Dargestellt ist auch der zeitliche Verlauf des pH-Werts für die REF (HRT 70 d). (Zeitpunkt t = 120 d entspricht hier dem Zeitpunkt t = 320 d des gesamten Untersuchungszeitraums.).



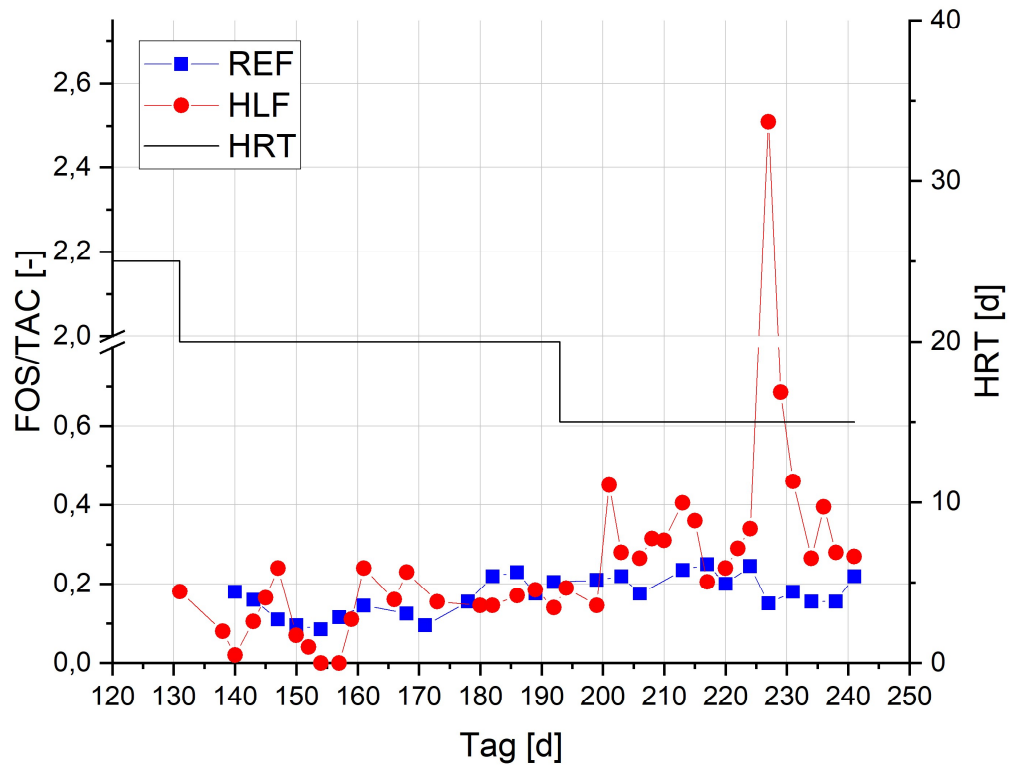


Abbildung 27: Zeitlicher Verlauf des FOS-TAC der Hochlastfaulung (HLF, rot) für die Verweilzeit von 20 Tage und für die Verweilzeit von 15 Tagen, sowie zeitlicher Verlauf der hydraulischen Verweilzeit in der HLF. Dargestellt ist auch der zeitliche Verlauf des FOS/TAC in der REF (HRT 70 d). (Zeitpunkt  $t = 120$  d entspricht hier dem Zeitpunkt  $t = 320$  d des gesamten Untersuchungszeitraums.)

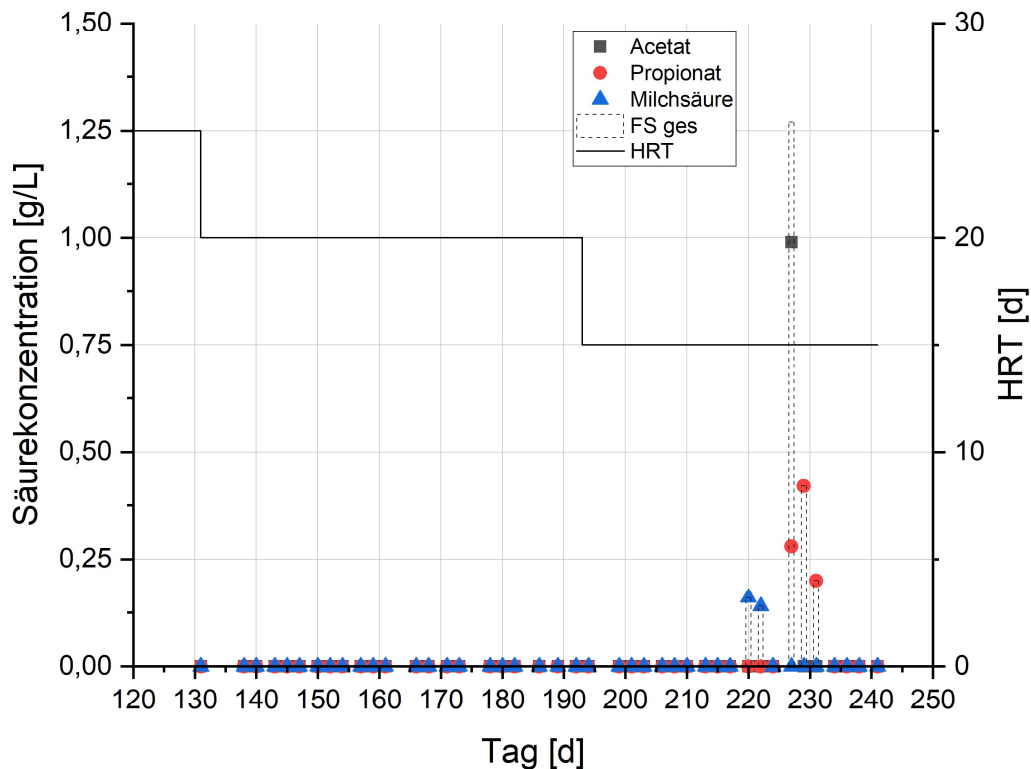


Abbildung 28: Zeitlicher Verlauf der Säurekonzentrationen der Hochlastfäulung (HLF) für die Verweilzeit von 20 Tagen und für die Verweilzeit von 15 Tagen, sowie für die hydraulische Verweilzeit in der HLF. (Zeitpunkt  $t = 120$  d entspricht hier dem Zeitpunkt  $t = 320$  d des gesamten Untersuchungszeitraums.)

## 2.9 Maissilage als Monosubstrat für verschiedene Verweilzeiten

Die kontinuierlichen Untersuchungen in den beiden Biogasanlagen wurden hinsichtlich der Biogasausbeute, der Methanausbeute sowie der Biogas- und Methanproduktivität ausgewertet. Außerdem wurde für jede Einstellung der Abbaugrad berechnet.

Die Verweilzeiten 30 d und 70 d wurden dabei vergleichend mit zwei Wiederholungen untersucht, die aufeinanderfolgend mit den zwei Inbetriebnahmen (S1 und S2) mit Inokulum S1 und Inokulum S2 (beide aus derselben Biogasanlage als Gärrest zu unterschiedlichen Zeitpunkten entnommen und vorbehandelt) inokuliert wurden.

Die Ergebnisse, die mit S2 erzielt wurden (entspricht „nach Neustart“) lagen in der HLF sowie in der REF über den Ergebnissen, die in S1 erzielt wurden. D.h. für S2 lagen die Ergebnisse für die Produktivität sowie für die Biogasausbeute etwas höher als für die erste Inbetriebnahme S1. Vergleichbar waren hier nur die Ergebnisse für die Einstellung für die hydraulische Verweilzeit 30 Tage und 70 Tage. Die Ergebnisse sind jeweils für diese beiden Verweilzeiten vergleichend für beide Inbetriebnahmen in den folgenden Abbildungen dargestellt.

## 2.9.1 Biogasproduktivität

Durch die Verkürzung der Verweilzeit konnte die Biogasproduktivität deutlich erhöht werden. Mit einer Verweilzeit von 15 Tagen konnte mit der Monovergärung von Maissilage mit 3,2 NL/L\*d die höchste Biogasproduktivität erreicht werden. Säureakkumulation in der Biogasanlage wurde nicht beobachtet. Die Biogasproduktivität stieg mit zunehmendem Durchsatz, also kürzerer hydraulischer Verweilzeit an. Die geringste Biogasproduktivität wurde in der REF mit der hydraulischen Verweilzeit von 70 Tagen erreicht mit 0,8 – 0,9 NL/L\*d im zweiten Durchlauf, im Vergleich zu 0,7 NL/L\*d im ersten Durchlauf S1. Dabei zeigte sich, dass die Werte, die im ersten Durchlauf S1 mit der hydraulischen Verweilzeit von 30 Tagen und mit 70 Tagen ermittelt wurden, etwas niedrigere Ergebnisse lieferten als mit S2. Allerdings war hier der stationäre Zustand auch erst annähernd erreicht.

Die Ergebnisse für die Biogasproduktivität für die beiden Biogasanlagen HLF und REF mit den beiden Betriebsweisen sind in Abbildung 29 dargestellt.

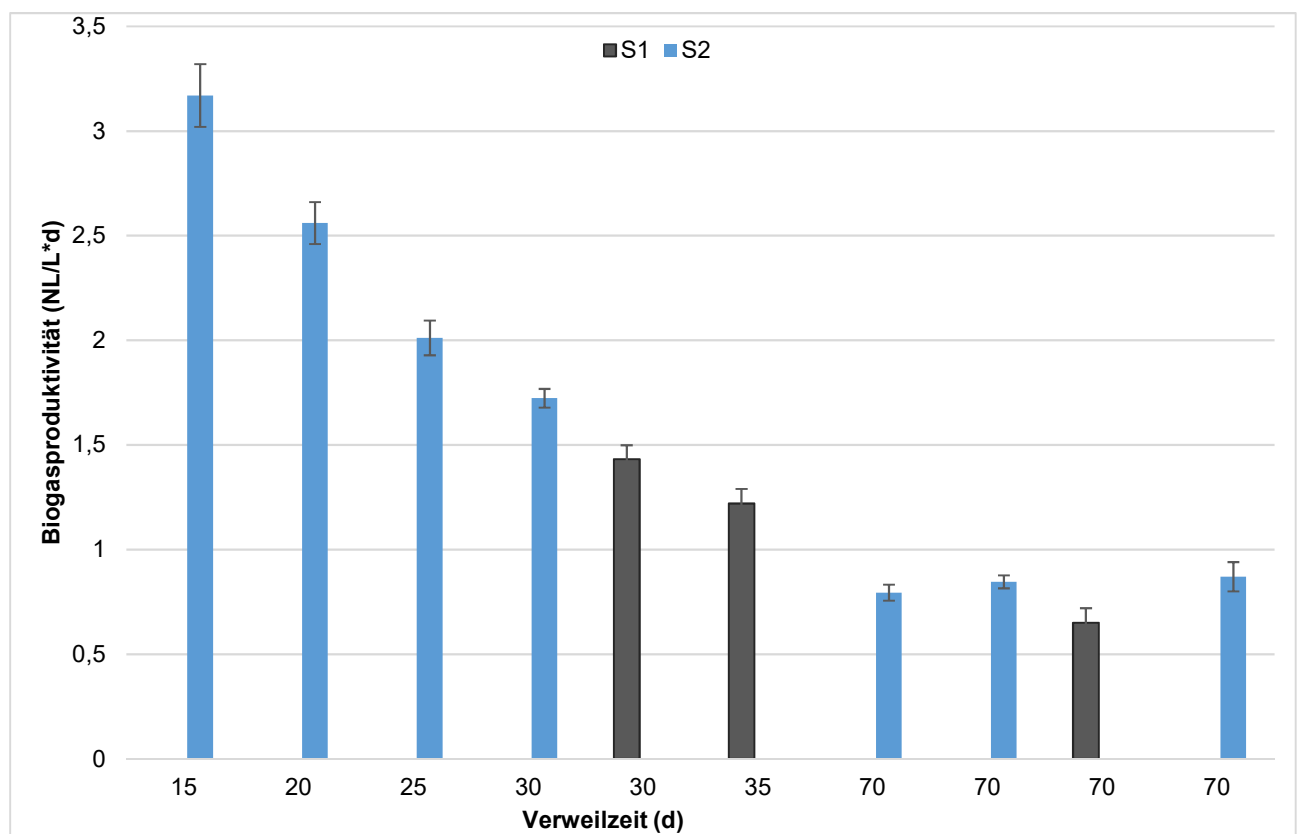


Abbildung 29: Biogasproduktivität für die Verweilzeiten 15 d, 20 d, 25 d, 30d und 35 d in der HLF sowie für die Verweilzeit von 70 d in der REF, jeweils auch vergleichend für die beiden Inbetriebnahmen S1 (schwarz) und S2 (blau).

## 2.9.2 Methanproduktivität

Durch die Verkürzung der Verweilzeit wurde auch die Methanproduktivität deutlich erhöht. Mit einer Verweilzeit von 15 Tagen konnte mit der Monovergärung von Maissilage mit 1,65 NL/L\*d die höchste Methanproduktivität erreicht werden. Die Methanproduktivität konnte mit zunehmendem Durchsatz, also kürzerer hydraulischer Verweilzeit erhöht werden. Die geringste Biogasproduktivität wurde in der REF mit der hydraulischen Verweilzeit von 70 Tagen erreicht mit 0,4 – 0,44 NL/L\*d im zweiten Durchlauf S2, im Vergleich zu 0,33 NL/L\*d

im ersten Durchlauf S1. Dabei zeigte sich, dass die Werte, die im ersten Durchlauf S1 mit der hydraulischen Verweilzeit von 30 Tagen und mit 70 Tagen ermittelt werden, etwas niedrigere Ergebnisse lieferten als mit S2. Die Ergebnisse für die Methanproduktivität für die beiden Biogasanlagen sind in Abbildung 30 dargestellt.

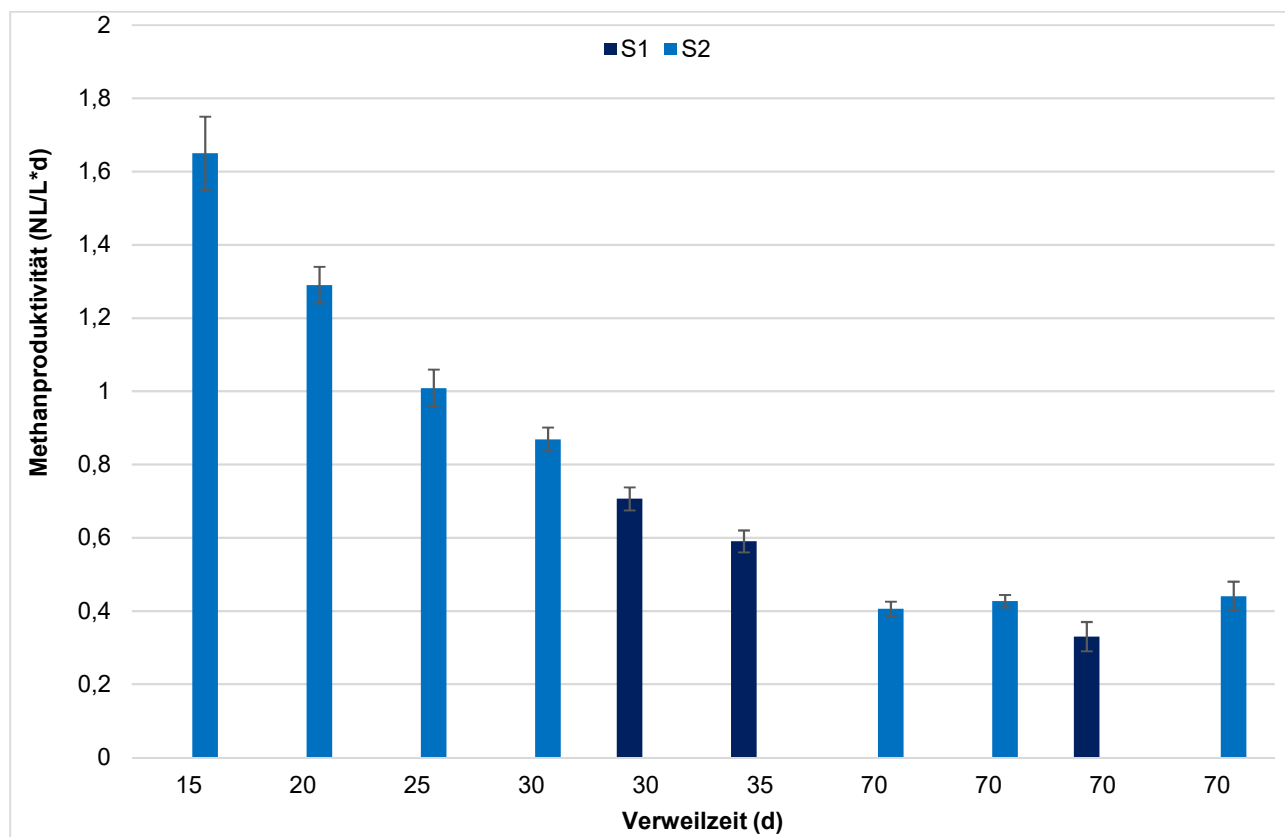


Abbildung 30: Methanproduktivität für die Verweilzeiten 15 d, 20 d, 25 d, 30d und 35 d in der HLF sowie für die Verweilzeit von 70 d in der REF, jeweils auch vergleichend für die beiden Inbetriebnahmen S1 (dunkel) und S2 (blau).

### 2.9.3 Biogasertrag

Der Biogasertrag, der in der Monovergärung für Maissilage ermittelt wurde, lag zwischen 688 NL/kg  $oTR_{input}$  und 545 NL/kg  $oTR_{input}$ . Dabei wurden in der REF mit der Verweilzeit von 70 Tagen die höchste Biogasausbeute erzielt. Durch die Verkürzung der Verweilzeit ging die Biogasausbeute mit kürzerer Verweilzeit in der HLF etwas zurück, so dass mit der der Verweilzeit von 15 Tagen mit 545 NL/kg  $oTR_{input}$  etwa 80 % der maximalen Biogasausbeute erreicht wurde. Dabei zeigte sich auch hier, dass die Werte, die im ersten Durchlauf S1 mit der hydraulischen Verweilzeit von 30 Tagen und mit 70 Tagen ermittelt werden, etwas niedrigere Ergebnisse lieferten als mit S2.

Die Ergebnisse für die Biogasausbeute für die beiden Biogasanlagen sind in Abbildung 31 dargestellt.

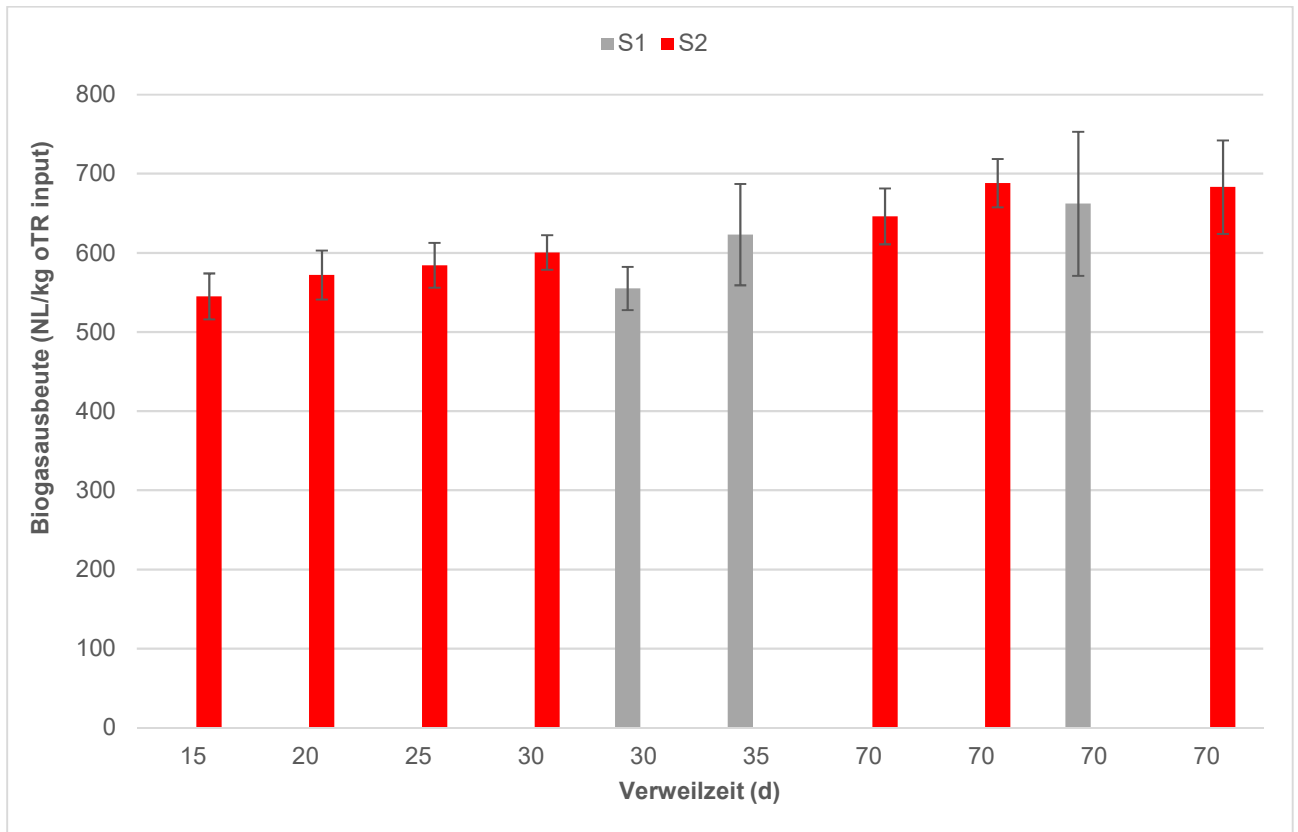


Abbildung 31: Biogasausbeute für die Verweilzeiten 15 d, 20 d, 25 d, 30d und 35 d in der HLF sowie für die Verweilzeit von 70 d in der REF, jeweils auch vergleichend für die beiden Inbetriebnahmen S1 (grau) und S2 (rot).

## 2.9.4 Methanertrag

Der Methanertrag, der in der Monovergärung für Maissilage ermittelt wurde, lag zwischen 347 NL/kg oTR<sub>input</sub> und 284 NL/kg oTR<sub>input</sub>. Dabei wurde in der REF mit der Verweilzeit von 70 Tagen die höchste Methanausbeute erzielt. Durch die Verkürzung der Verweilzeit ging die Methanausbeute mit kürzerer Verweilzeit in der HLF etwas zurück, so dass mit der der Verweilzeit von 15 Tagen mit 284 NL/kg oTR<sub>input</sub> etwa 82 % der maximalen Methanausbeute erreicht wurde. Die Verkürzung der Verweilzeit auf 15 Tage ging mit einer Einbuße bei der Methanausbeute im Vergleich zur Methanausbeute mit der Verweilzeit von 70 Tagen in der REF von 18 % einher.

Dabei zeigte sich auch hier, dass die Werte, die im ersten Durchlauf S1 mit der hydraulischen Verweilzeit von 30 Tagen und mit 70 Tagen ermittelt werden, etwas niedrigere Ergebnisse lieferten als mit S2.

Die Ergebnisse für die Methanausbeute für die beiden Biogasanlagen sind in Abbildung 32 dargestellt.

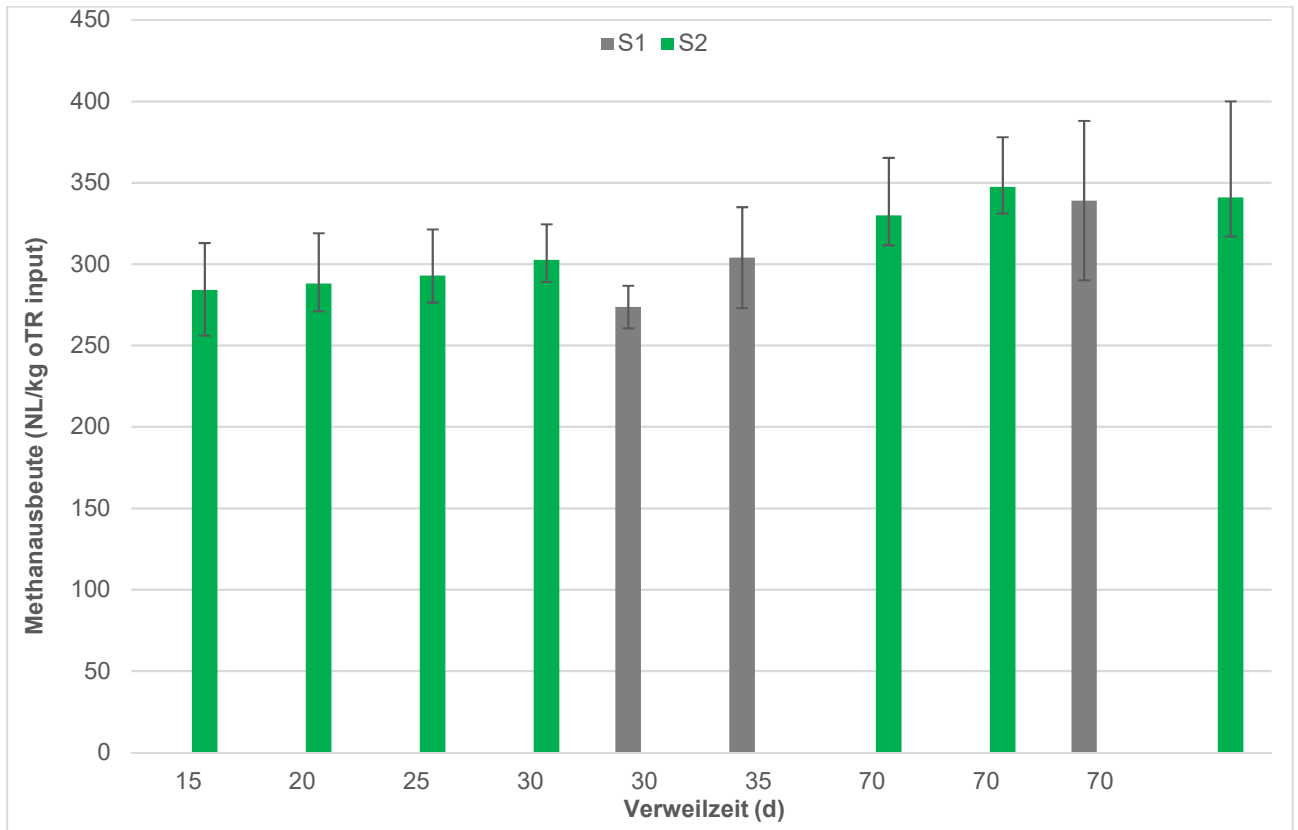


Abbildung 32: Methanausbeute für die Verweilzeiten 15 d, 20 d, 25 d, 30d und 35 d in der HLF sowie für die Verweilzeit von 70 d in der REF, jeweils auch vergleichend für die beiden Inbetriebnahmen S1 (grau) und S2 (grün).

### 2.9.5 Abbaugrad

Der Abbaugrad wurde für die Verweilzeit 15 d, 20 d, 25 d und 30 d für die HLF sowie vergleichend für die Verweilzeit von 70 d in der REF berechnet. Der Abbaugrad wurde dabei für jede Einstellung aus den oTR-Differenzen im Zu- und Ablauf der Biogasanlagen berechnet. Im Vergleich dazu wurde der Abbaugrad auch aus der Differenz der Masse im Zulauf der Anlage sowie aus der Biogasmasse berechnet.

Die Ergebnisse zeigen, dass die aus den oTR-Werten berechneten Abbaugrade niedrigere Abbaugrade ergaben als die aus der Biogasmasse berechneten. Der Abbaugrad, der in der Monovergärung für Maissilage aus der oTR berechnet wurde, lag zwischen 71 % und 82 %. Dabei wurde für die REF mit der Verweilzeit von 70 Tagen der höchste Abbaugrad von 82 % erreicht. Durch die Verkürzung der Verweilzeit ging der Abbaugrad mit kürzerer Verweilzeit in der HLF allmählich zurück, so dass in der HLF mit der Verweilzeit von 15 Tagen mit 71 % der niedrigste Abbaugrad erreicht wurde. Die Verkürzung der Verweilzeit auf 15 Tage ging mit einer Einbuße beim Abbaugrad von 15 Prozentpunkten einher im Vergleich mit dem Abbaugrad mit der Verweilzeit von 70 Tagen in der REF.

Vergleicht man die Abbaugrade, die mit der Masse des Biogases berechnet wurde, so wurde in der REF mit 89 % der höchste Abbaugrad erreicht und in der HLF mit einer Verweilzeit von 15 Tagen der niedrigste Abbaugrad mit 72 %.

In der Literatur wird für den Abbaugrad über oTR ein Erwartungswert von 70 % (Reinhard, 2005) und für den Abbaugrad über das Biogas von 85 % (KTBL) angegeben. Die Untersuchungen von Mähnert (2007) bestätigten, dass der Abbaugrad über Biogas höher liegt als der Abbaugrad über oTR. Denn der Abbaugrad über den oTR erfasst zusätzlich auch den oTR aus der Biomasse (Mähnert, 2007).

Die Ergebnisse für den Abbaugrad für die beiden Biogasanlagen berechnet aus dem gebildeten Biogas sowie aus den oTR-Wert sind vergleichend in Abbildung 33 dargestellt.

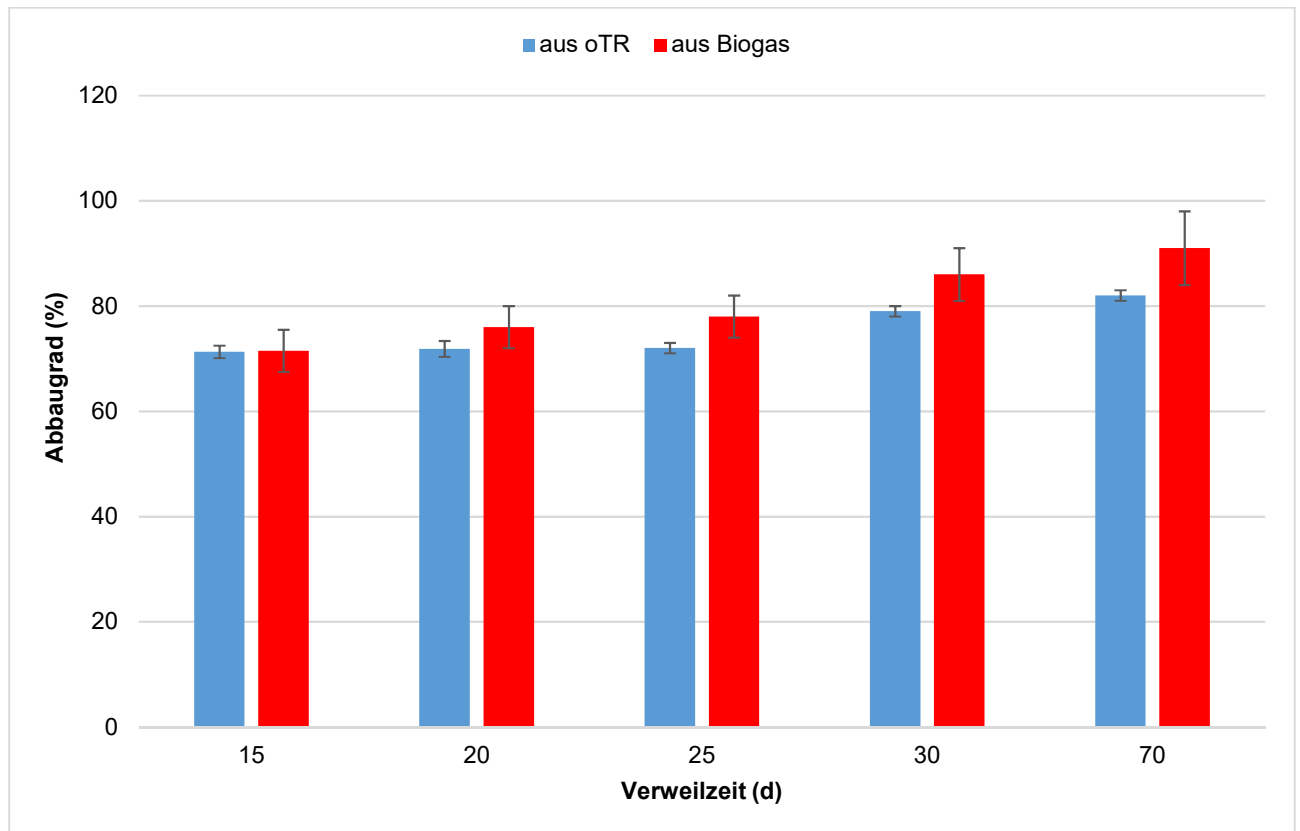


Abbildung 33: Abbaugrad für die Verweilzeiten 15 d, 20 d, 25 d und 30 d in der HLF sowie für die Verweilzeit von 70 d in der REF, jeweils vergleichend dargestellt für die Berechnung aus der oTR-Differenz im Zu- und Ablauf, sowie über die Berechnung aus der über das Biogas abgeführten Masse.

## 2.9.6 Zusammenfassung der kontinuierlichen Untersuchungen mit dem Monosubstrat Maissilage

Es zeigte sich, dass mit zunehmendem Durchsatz, also kürzerer hydraulischer Verweilzeit die Biogasproduktivität sowie die Methanproduktivität gesteigert werden konnten. Allerdings ging mit zunehmendem Durchsatz die Biogasausbeute etwas zurück. In Abbildung 34 sind die Biogasproduktivität sowie die Biogasausbeute als Funktion der hydraulischen Verweilzeit vergleichend dargestellt. In Abbildung 35 sind die Methanproduktivität sowie die Methanausbeute als Funktion der Verweilzeit vergleichend dargestellt. In Abbildung 36 sind die Methanproduktivität sowie die Methanausbeute als Funktion der organischen Raumbelastung OLR vergleichend dargestellt. Mit zunehmender organischer Raumbelastung war ein Anstieg der Methanproduktivität von 0,4 NL/L\*d für die organische Raumbelastung von 1,3 g/l\*d auf 1,65NL/L\*d für die organische Raumbelastung von 5,8 g/L\*d zu verzeichnen.

In Tabelle 10 sind die Ergebnisse, die mit den hydraulischen Verweilzeiten 15, 20, 25, 30 und 35 Tagen in der HLF sowie mit der hydraulischen Verweilzeit von 70 Tagen in der REF mit dem Monosubstrat Maissilage erzielt wurden, zusammengefasst. Die Ergebnisse wurden mit den Anlagen HLF und REF, die beide im Langzeitbetrieb betrieben wurden, erarbeitet.

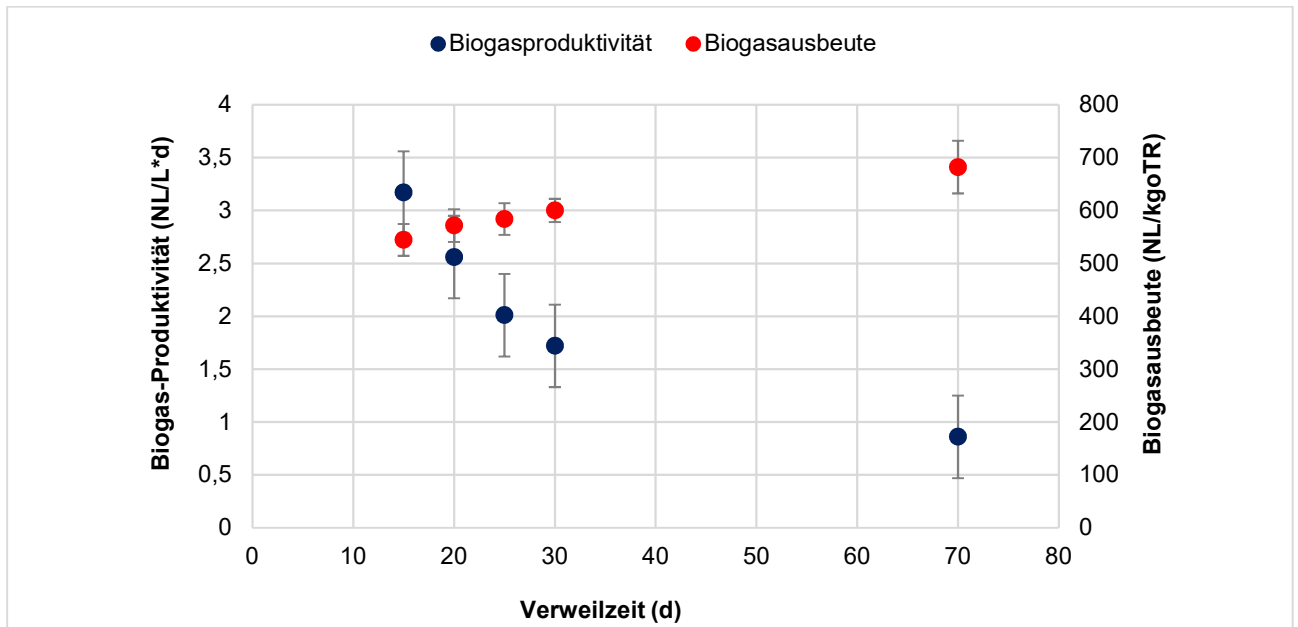


Abbildung 34: Biogasproduktivität sowie Biogasausbeute als Funktion der hydraulischen Verweilzeit HRT für die Monovergärung von Maissilage

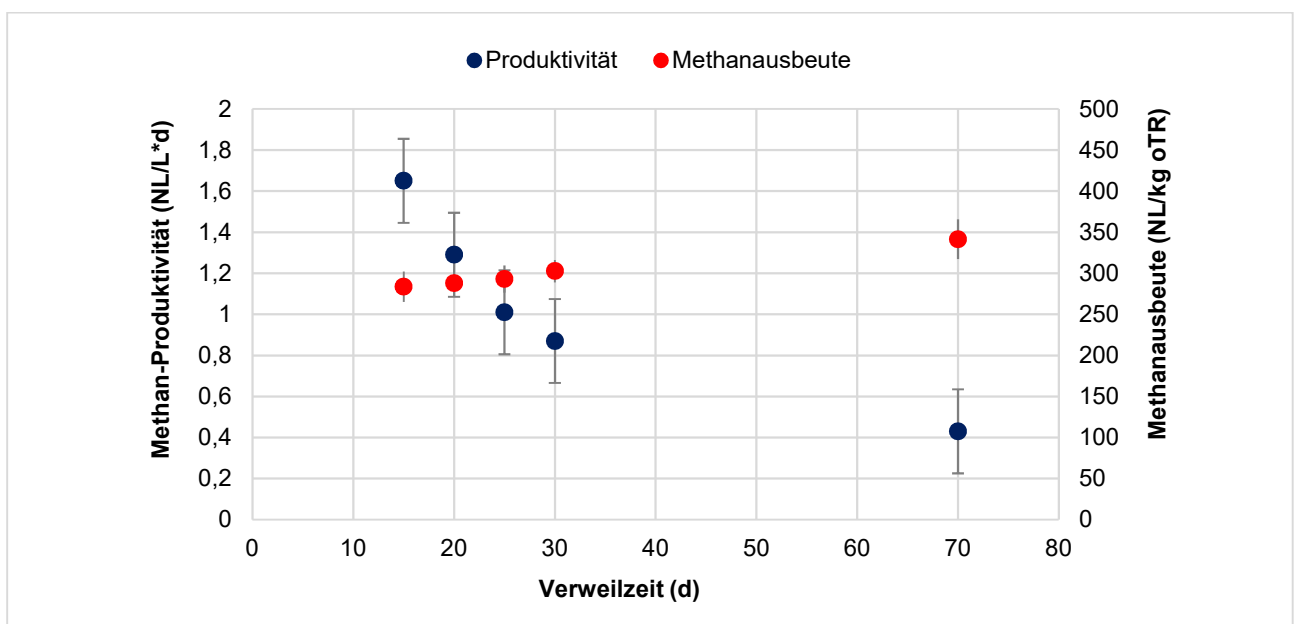


Abbildung 35: Methanproduktivität sowie Methanausbeute als Funktion der hydraulischen Verweilzeit HRT



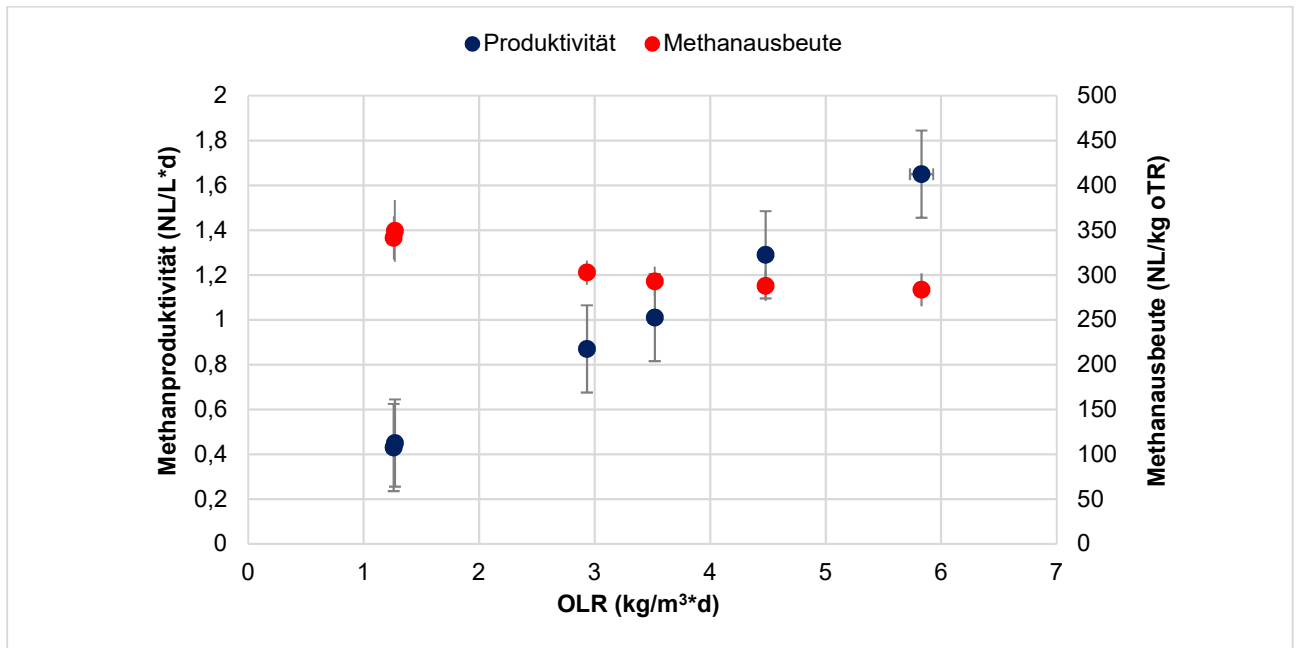


Abbildung 36: Methanproduktivität sowie Methanausbeute als Funktion der organischen Raumbelastung OLR.

Die Hochlastfaulung und Referenzfaulung wurden erfolgreich mit den Verweilzeiten von 20 d und 15 d bzw. 70 d betrieben. Mit der Senkung der Verweilzeit von 20 d auf 15 d stieg die Biogasproduktivität entsprechend dem höheren Substratdurchsatz an. Gleichzeitig sanken Biogasausbeute und Abbaugrad um jeweils ca. 5 %. Die Biogasausbeute in der Referenzfaulung mit der Verweilzeit von 70 d war 20 % höher als die Biogasausbeute in der HLF mit der Verweilzeit von 20 d bzw. 25 % höher als die Biogasausbeute in der HLF mit der Verweilzeit von 15 d. Der Abbaugrad der Referenzfaulung (berechnet über Biogas) war mit 89 % höher als die Abbaugrade in der HLF mit den Verweilzeiten von 20 d und 15 d, die bei 76 % bzw. 72 % lagen. Allerdings wurde in der REF eine wesentlich geringere Biogasproduktivität von  $0,87 \pm 0,07$  NL/(L·d) erreicht im Vergleich zu  $2,56 \pm 0,10$  NL/(L·d) bei 20 d Verweilzeit und  $3,17 \pm 0,15$  NL/(L·d) bei 15 d Verweilzeit in der HLF .

Die Hochlastfaulung wurde über lange Zeit stabil mit 15 d Verweilzeit betrieben, allerdings führte ein vorübergehender kurzzeitiger Sauerstoffeintrag zur vorübergehenden Akkumulation von Säuren (Vergleiche Kapitel 2.8.4.3). Dies könnte darauf hindeuten, dass die Verweilzeit von 15 d nahe bei der erreichbaren Grenze für die Verweilzeit liegt, mit der ein zuverlässiger, effizienter und stabiler Betrieb der Hochlastfaulung möglich ist.

Tabelle 10: Zusammenfassung der untersuchten Parameter mit den zugehörigen Einstellungen und Ergebnissen.

<b>Hydraulische Verweilzeit</b>	<b>15 d</b>	<b>20 d</b>	<b>25 d</b>	<b>30 d</b>	<b>35 d</b>	<b>70 d</b>
Durchsatz (L/d)	8,6	6,5	5,2	4,3	3,7	1,86
Fütterungsintervall (min)	41	54	68	82	95	190
OLR (g/L*d)	5,8	4,5	3,4	2,8	2,4	1,3
oTR-Abbaugrad (%)	71	72	72	76	72	82
oTR-Abbaugrad (%) Biogas	72	76	78	80	84	89
Biogas (NL/d)	412	333	262	224	158	113
Methan (NL/d)	215	169	131	113	77	57
Biogasausbeute (NL/kg FM Maissilage)	192	204	205	203	205	243
Biogasausbeute (NL/kg oTR)	545	572	584	600	623	688
Methanausbeute (NL/kg oTR)	284	288	293	302	304	347
Biogas Produktivität (NL/L*d)	3,17	2,56	2,01	1,72	1,2	0,87
Methanproduktivität (NL/L*d)	1,65	1,29	1,01	0,87	0,6	0,44

## 2.9.7 Charakterisierung der Gärreste

Jeweils im stationären Zustand der Anlage wurden vor der Änderung des Durchsatzes Analysen der Gärreste hinsichtlich der Zusammensetzung der Gärreste sowie des Restgaspotentials durchgeführt. In Tabelle 11 sind wesentliche Analysenparameter für die Gärreste zusammengefasst.

Tabelle 11: Analysenergebnisse der Gärreste aus der HLF mit einer Verweilzeit von 15 d, 20, d, 25 d, 35 d, 40 d sowie für den Gärrest aus der REF mit einer Verweilzeit von 70 d, Proben jeweils aus der Anlage entnommen im stationären Zustand.

	<b>HRT 15d</b>	<b>HRT 20d</b>	<b>HRT 25d</b>	<b>HRT 30d</b>	<b>HRT 35d</b>	<b>HRT 70d</b>
pH-Wert	6,6	6,7	6,72	7,22	7,2	7,3
TR (% FM)	2,91	2,92	2,85	2,65	2,3	2,05
oTR (% FM)	2,53	2,51	2,41	2,08	1,9	1,59
oTR/TR (%)	87	86	85	78	83	78

Die Gärreste wurden hinsichtlich ihrer Zusammensetzung des Trockenrückstands untersucht. In Abbildung 37 sind die Ergebnisse für die Gärrückstände, die bei der Verweilzeit von 70 Tagen sowie von 25 Tagen, 20 und 15 Tagen aus den beiden Anlagen entnommen wurden, dargestellt. Es zeigte sich, dass der Pektinanteil sowie auch der Hemicelluloseanteil mit abnehmender Verweilzeit zurückgeht. Der Pektinanteil ging von 23 % bei

einer Verweilzeit von 25 Tagen auf 17 % (jeweils bezogen auf den TR-Gehalt) bei einer Verweilzeit von 15 Tagen zurück. Der Anteil der Hemicellulosen ging entsprechend von 19 % auf 11 % zurück. Dagegen wurde ein Anstieg des Celluloseanteils festgestellt von 14 % bei einer Verweilzeit von 25 Tagen auf 23% bei einer Verweilzeit von 15 Tagen.

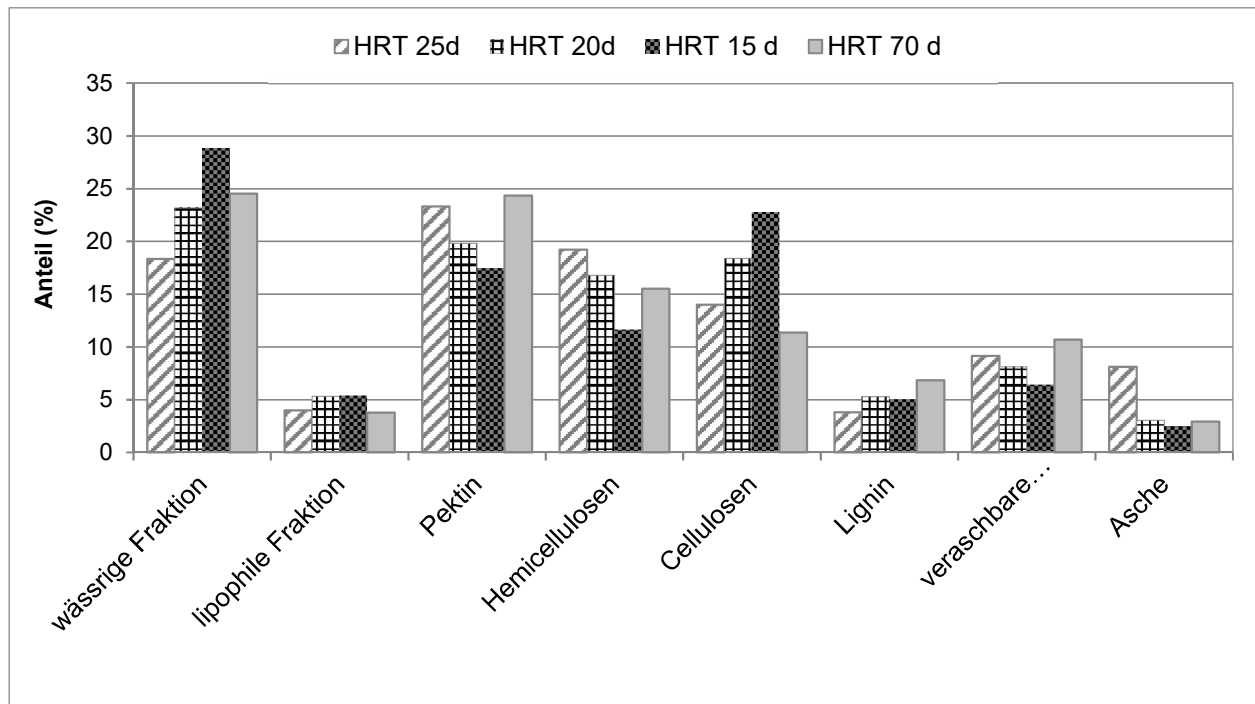


Abbildung 37: Analyseergebnisse für die Gärreste aus der HLF für die Verweilzeiten von 25 d, 20 d und 15 d im Vergleich zum Gärrest aus der REF mit der Verweilzeit von 70 d. Proben jeweils entnommen im stationären Zustand der Anlage (Angabe der Fraktionen in % des durch Gefriertrocknung erhaltenen Trockenrückstands; Feststofffraktionierung, in Anlehnung an Datta, 1981)

In Abbildung 38 sind die Ergebnisse der Gärückstände dargestellt, die bei der Verweilzeit von 70 Tagen aus der REF sowie bei der Verweilzeit von 15 Tagen aus der HLF entnommen wurden, im Vergleich mit den Ergebnissen für das Substrat aus dem Vorratsgefäß (VG MS). Es zeigte sich, dass der Anteil des Lignins sowie der Anteil der veraschbaren Substanzen (nicht abbaubare Organik) am TR erwartungsgemäß anstieg. Auch der Anteil der Asche (Anorganik) war angestiegen.

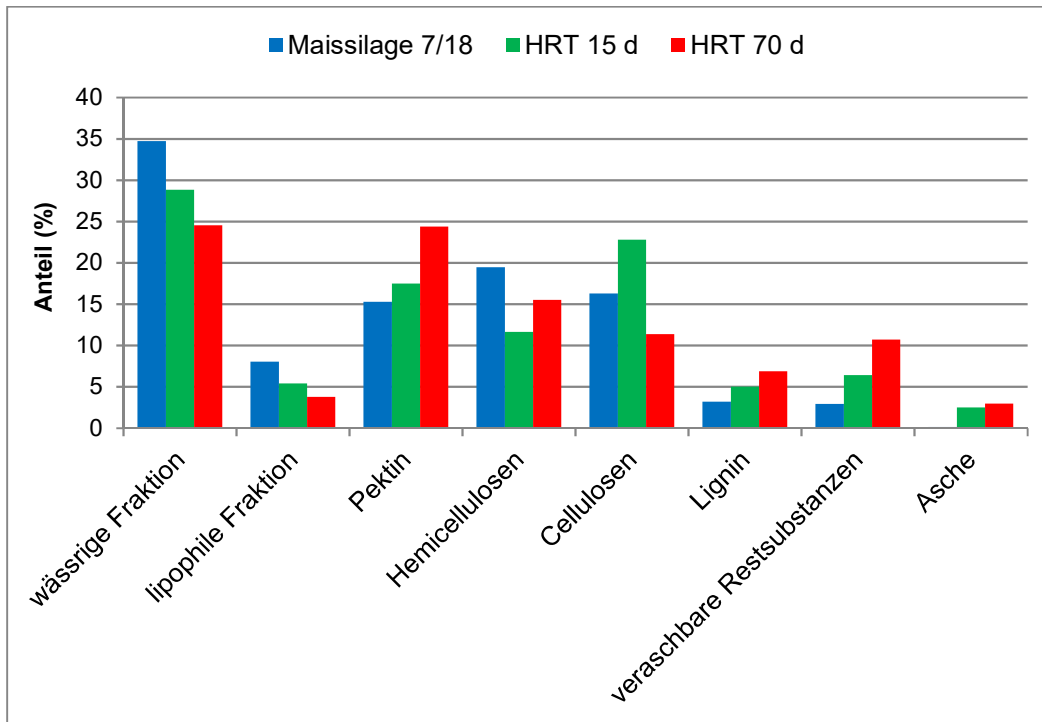


Abbildung 38: Analysenergebnisse für den Gärrest aus der HLF für die Verweilzeit von 15 d sowie für den Gärrest aus der REF mit der Verweilzeit von 70 d (Proben jeweils entnommen im stationären Zustand der Anlage) im Vergleich zum Substrat Maissilage, entnommen aus dem Vorratsgefäß. (Angabe der Fraktionen in % des durch Gefriertrocknung erhaltenen Trockenrückstands; Feststofffraktionierung, in Anlehnung an Datta, 1981)

## 2.9.8 Bestimmung des Restgaspotentials

Für die Bestimmung des Restgaspotentials wurde Gärrest eingesetzt, der im stationären Zustand für die Verweilzeiten 35 d, 20 d, 15 Tage aus der HLF entnommen wurde und der im stationären Zustand für die Verweilzeit von 70 Tagen aus der HLF entnommen wurde. Es wurde jeweils 1 L Gärrest im Dreifachansatz bei 51° C inkubiert (in Anlehnung an VDI 4630). So konnte das energetisch noch ausnutzbare Potenzial für jeden Gärrest quantifiziert werden. In Abbildung 39 ist der zeitliche Verlauf der Biogasbildung aus den Versuchsansätzen mit den entsprechenden Gärresten zur Restgaspotentialbestimmung beispielhaft für ausgewählte Ansätze dargestellt. Die Ansätze wurde jeweils nach etwa 30 Tagen beendet.

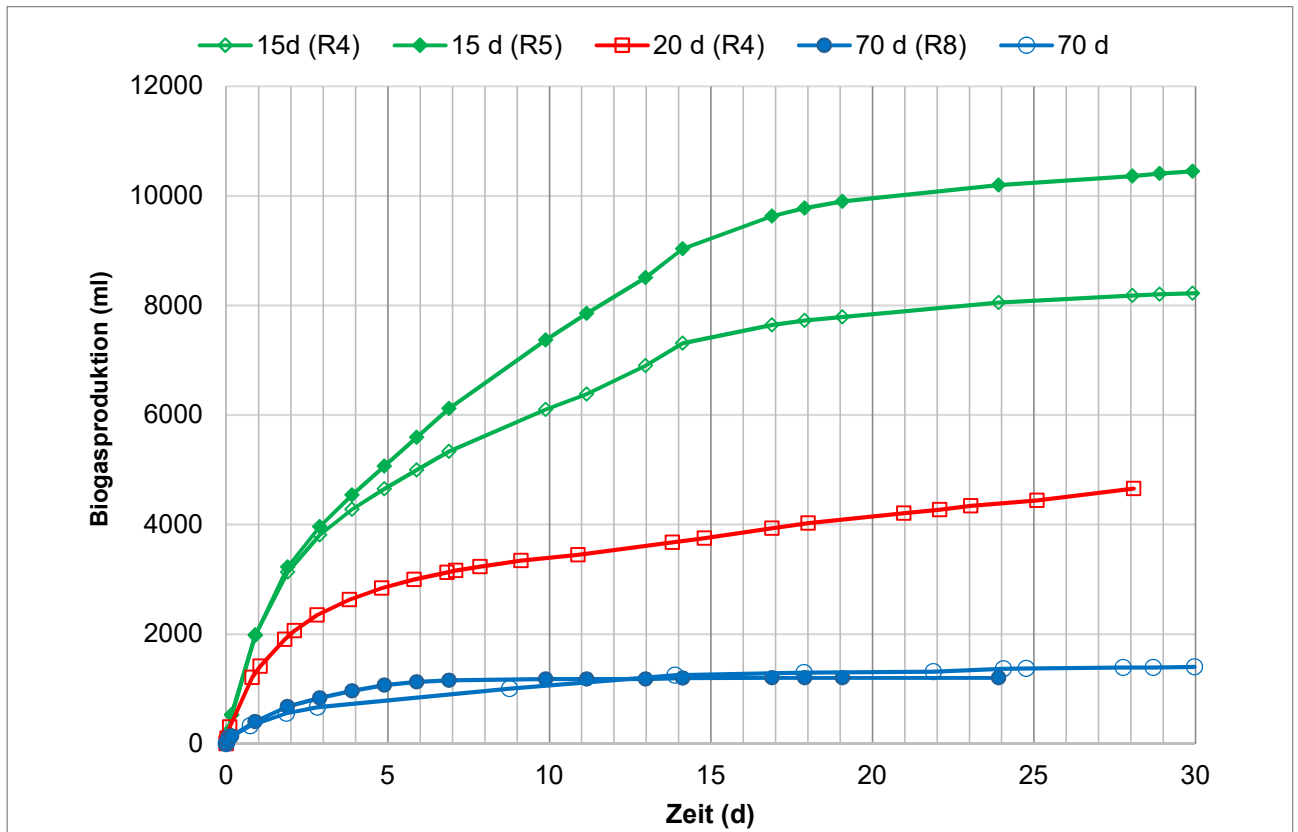


Abbildung 39: Zeitlicher Verlauf der Restgasbildung aus den Gärresten der HLF für die Verweilzeit 15 d und 20 d, sowie aus der REF für die Verweilzeit 70 d.

Es zeigte sich, dass die Biogasbildung aus den Gärresten aus der HLF vergleichsweise schnell erfolgte. Der zeitliche Verlauf der Biogasrate ist in Abbildung 40 dargestellt. Die höchsten Biogasraten zeigten sich in den ersten 5 Tagen. Schon nach einer Inkubationszeit von 20 Tagen lag in allen Ansätzen die Biogasrate unter 100 ml/d. So kann mit einer zweiten Stufe, z. B. als Nachgärer, die unkontrollierte Methanemission schon während einer vergleichsweise kurzen Zeit vermieden werden.

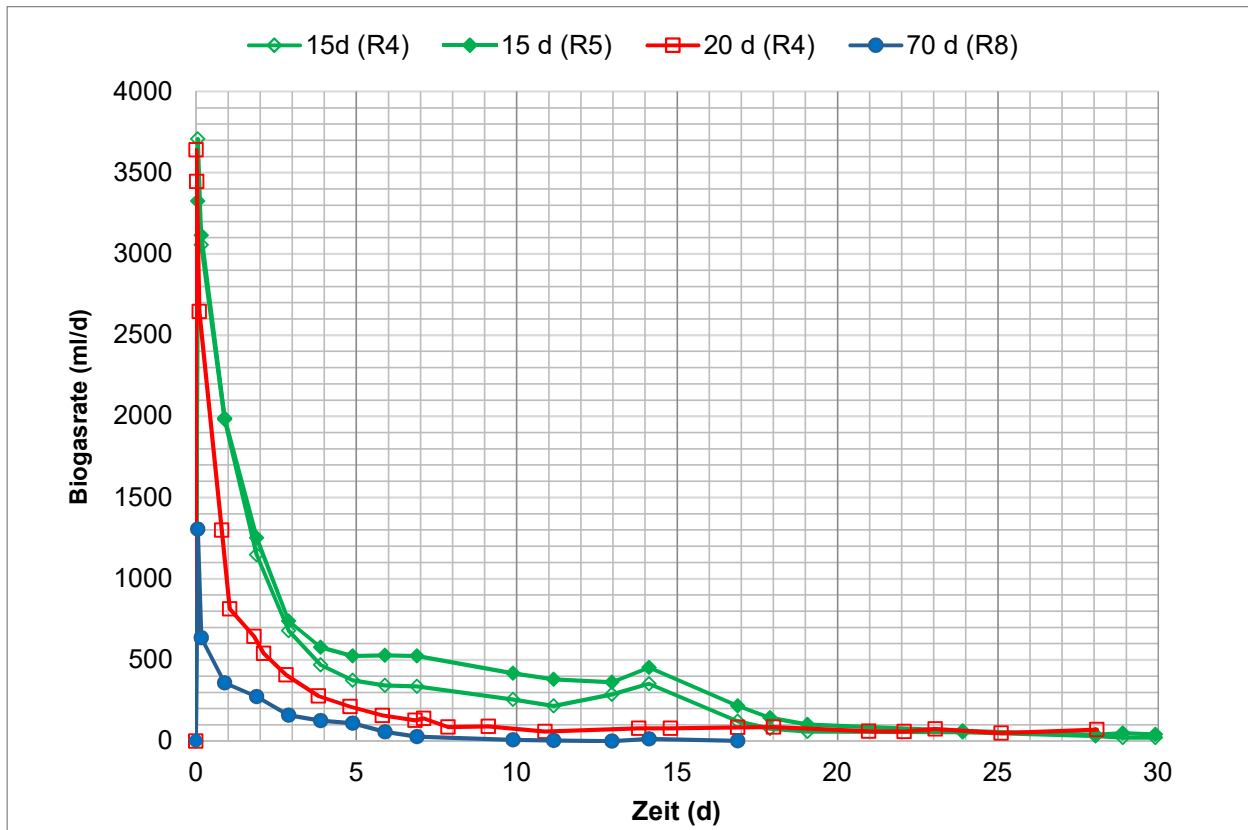


Abbildung 40: Zeitlicher Verlauf der Biogasrate in den Batch-Ansätzen zur Quantifizierung des Rest-Biogaspotentials für die Gärreste aus der HLF für die Verweilzeiten von 15 d und 20 d sowie für den Gärrest aus der REF mit der Verweilzeit von 70 d.

Die Berechnung des Restgaspotenzials erfolgte nach Liebetrau et al. (2013). Zur Berechnung des Restgaspotentials wurde zunächst die Ausbeute an Biogas pro Kilogramm oTR im 1 L Reaktor berechnet. Nach Gleichung (1) wurde das im 1 L Reaktor gebildete Normbiogasvolumen auf die im 1 L Reaktor enthaltene Masse an oTR bezogen.

$$Y_{RG} = \frac{V_{tr,N,RG}}{m_{GR} \cdot oTR_R} \quad (1)$$

$Y_{RG}$	Restgasausbeute pro Kilogramm oTR [NL/kg <sub>oTR</sub> ]
$V_{tr,N,RG}$	gebildetes Restgas-Volumen bei Normbedingungen [NL]
$m_{GR}$	Masse des Gärrests im 1 L-Reaktor [kg]
$oTR_R$	oTR des Reaktors, von dem die Probe entnommen wurde [%]

Anschließend wurde das tägliche Restgas im Gärrest des Reaktors  $\dot{V}_{RG}$  über Gleichung (2) berechnet, indem die Restgasausbeute mit dem täglich abfließenden Gärrest-Massenstrom und dem oTR der Biogasanlage (HLF) multipliziert wurde. Das Ergebnis entspricht dem täglichen Verlust an Biogas.

$$\dot{V}_{RG} = Y_{RG} \cdot \dot{m}_{GR} \cdot oTR_R \quad (2)$$

$\dot{V}_{RG}$	tägliches Restgas im Gärrest der Biogas-Anlage [NL/d]
$\dot{m}_{GR}$	Massenstrom des Gärrests, berechnet nach (3) [kg/d]

Der Gärrest-Massenstrom  $\dot{m}_{GR}$  wurde nach Gleichung 3 berechnet, durch Differenzbildung zwischen dem Frischmassen-Massenstrom  $\dot{m}_{FM,ZU}$  und dem gebildeten Biogas-Massenstrom  $\dot{m}_{BG}$ .

$$\dot{m}_{GR} = (\dot{m}_{FM, zu} - \dot{m}_{BG}) \quad (3)$$

$\dot{m}_{GR}$	Massenstrom des Gärrests [kg/d]
$\dot{m}_{FM, zu}$	Frischmassenstrom [kg <sub>FM</sub> /d]
$\dot{m}_{BG}$	Massenstrom des gebildeten Biogases im Reaktor [kg/d]

Für die Berechnung des Restgaspotenzials RGP wurde das tägliche Restgas im Gärrest  $\dot{V}_{RG}$  auf die tägliche Biogasproduktion im Reaktor bezogen. Nach Gleichung (4) wurde dafür der tägliche Restgas-Volumenstrom im Gärrest aus (2) auf die tägliche Normbiogasproduktion der Biogasanlage bezogen.

$$RGP = \frac{\dot{V}_{RG}}{\dot{V}_{tr, N, BG}} \quad (4)$$

$RGP$	Restgaspotenzial [%]
$\dot{V}_{RG}$	tägliches Restgas im Gärrest der Biogas-Anlage [NL/d]
$\dot{V}_{tr, N, BG}$	Biogasproduktion, trockenes Gas bei Normbedingungen [NL/d]

Es zeigte sich, dass der Gärrest, der aus der HLF mit der Verweilzeit von 15 d entnommen wurde, das höchste Biogaspotenzial hatte. Es lag mit etwa 8 NL/L Gärrest am höchsten. Dies würde mit einem Restbiogaspotential von 64 NL/d einem täglichen Verlust von etwa 15 % der täglichen Biogasproduktion entsprechen.

Für den Gärrest, der aus der HLF mit der Verweilzeit von 20 d entnommen wurde, wurde mit 7,15 NL/L Gärrest das zweithöchste Biogaspotenzial ermittelt. Dies würde mit 36 NL/d einem täglichen Verlust von etwa 11 % der täglichen Biogasproduktion entsprechen. Für den Gärrest, der aus der HLF mit der Verweilzeit von 35 d entnommen wurde, wurde ein Biogaspotenzial von 2,24 NL/L<sub>Gärrest</sub> ermittelt. Dies würde mit 7,8 NL/d einem täglichen Verlust von etwa 5 % der täglichen Biogasproduktion entsprechen. Für den Gärrest, der aus der REF mit der Verweilzeit von 70 d entnommen wurde, lag das Biogaspotenzial bei etwa 1 NL/L Gärrest. Das würde einem Biogasverlust von etwa 1,5 % entsprechen. Das bedeutet, dass die Maissilage schon in der REF mit der Verweilzeit von 70 d nahezu vollständig zu Biogas umgesetzt wurde.

Allerdings zeigte sich auch, dass schon in vergleichsweise kurzen Fermentationsdauern in den Batch-Ansätzen die weitere Biogasbildung, die hier als Restbiogas erfasst wurde, relativ rasch erfolgte. D. h. das hier ermittelte Restgaspotential kann in einer zweiten Stufe gewonnen werden und trägt so zur Biogausausbeute bei. Nach 10 Tagen Fermentationsdauer lag die tägliche Biogasbildung unter 500 ml/d und damit unter 1 % Restgaspotential (Abbildung 40). Das Restgaspotential konnte mit der HLF hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs der Bildung und Freisetzung deutlich reduziert werden.

Die Ergebnisse für die Bestimmung der Restgaspotenziale aus den Gärresten der HLF sowie aus dem Gärrest der REF sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

Tabelle 12: Restbiogaspotenziale der Gärreste aus der HLF für die Verweilzeit 15, 20 und 35 Tage sowie für den Gärrest aus der REF für die Verweilzeit von 70 Tagen

Verweilzeit	(d)	15	20 d	35	70
<b>Y<sub>RG</sub></b> Biogas (NL/g <sub>oTR</sub> Reingesetzt)	(NL/g oTR Gärrest)	0,316	0,238	0,115	0,06
Berechnet:					
Spez. Restgaspotential	(NL/LGärrest)	7,98 ± 0,94	7,15	2,24 ± 0,55	1,01 ± 0,58
Restbiogaspotential $\dot{V}_{RG}$	(NL/d)	64 ± 8	36 ± 9	7,8	2 ± 0
Restbiogaspotential RGP	(% der täglichen Biogasproduktion)	15,6 ± 1,8	10,9 ± 2,6	4,9	1,5 ± 0,0

## 2.9.9 Quantifizierung der Energieausbeute

Der Energieertrag aus dem Substrat Maissilage wurde für die beiden verschiedenen Prozessführungen in der HLF mit einer Verweilzeit von 15 Tagen, mit der Verweilzeit von 20 Tagen und in der REF mit der Verweilzeit von 70 Tagen berechnet und verglichen. Dazu wurde der oTR-Gehalt des Monosubstrats Maissilage in einer 1:4 Verdünnung mit Wasser zugrunde gelegt, mit der die Untersuchungen durchgeführt wurden.

Zunächst wurde das Biogaspotential berechnet, das sich aus dem in der Biogasanlage gebildeten Biogas sowie aus dem Restgaspotential zusammensetzte. So ergab sich für die REF mit der Verweilzeit von 70 Tagen ein Biogaspotential von 701 NL/g oTR<sub>input</sub>. Das Biogaspotential in der HLF mit einer Verweilzeit von 15 Tagen lag bei 628 NL/g oTR<sub>input</sub>, das Biogaspotential für die Verweilzeit 20 lag bei 614 NL/g oTR<sub>input</sub>. Die Werte sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

Tabelle 13: Biogaspotential für die verschiedenen Verweilzeiten 15 d, 20 d und 35 d in der HLF sowie 70 d in der REF

Verweilzeit	15 d	20 d	35 d	70 d
Biogas (NL/d)	412	333	158	113
Restbiogas (NL/d)	64	36	8	2
<b>Biogaspotential gesamt (NL/d)</b>	<b>476</b>	<b>369</b>	<b>164</b>	<b>115</b>
<b>Biogaspotential (NL/g oTR<sub>input</sub>)</b>	<b>628</b>	<b>633</b>	<b>501</b>	<b>701</b>

Mit einer Biogasanlage mit einem Fermentervolumen von 3000 m<sup>3</sup> würde mit 15 Tagen Verweilzeit mit der 1:4 verdünnten Maissilage eine Biogasproduktion von 9510 m<sup>3</sup>/d erfolgen, mit einer Verweilzeit von 70 d im gleichen Fermentervolumen würden 2550 m<sup>3</sup> Biogas täglich produziert. Das würde bei einer Verweilzeit von 15 Tagen einer Stromproduktion von 22253 kW<sub>el</sub>/d entsprechen. Mit einer Verweilzeit von 70 Tagen würden täglich daraus 5967 kW<sub>el</sub> produziert (Wirkungsgrad 36 %). Mit einer eingesetzten oTR von 3,78 t/d (70 d Verweilzeit) bzw. 17,5 t/d (15 d Verweilzeit) entspräche das einer Stromproduktion von 1577 kWh<sub>el</sub>/t oTR mit einer Verweilzeit von 70 d bzw. 1274 kWh<sub>el</sub>/t oTR mit einer Verweilzeit von 15 Tagen. Diese Berechnungen sind in Tabelle 14 zusammengefasst.



Berücksichtigt man das Restgaspotential und zählt es zur täglichen Biogasproduktion im Fermenter dazu, so ergibt sich mit einer eingesetzten oTR von 3,78 t/d (70 d Verweilzeit) eine Stromproduktion von 1640 kWh<sub>el</sub>/t oTR bzw. mit einer eingesetzten oTR von 17,5 t/d (15 d Verweilzeit) entspräche das einer Stromproduktion von 1471 kWh<sub>el</sub>/t oTR. Für die Verweilzeit von 20 d wäre eine Stromproduktion von 1481 kWh<sub>el</sub>/t oTR zu erreichen. Diese Berechnungen sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

Tabelle 14: Vergleichende Zusammenfassung der Energieausbeute und Stromproduktion auf Basis der hier erzielten Biogasproduktion (ohne Berücksichtigung des Restgaspotentials) für die Verweilzeiten 15 d, 20 d und 70 Tage.

Annahme	Verweilzeit	15 d	20 d	70 d
Technikumsanlagen:	Biogas (NL/L*d)	3,17	2,56	0,85
Technikumsanlagen:	oTR <sub>in</sub> (kg/d)	0,757	0,583	0,164
Fermenter 3000 m <sup>3</sup> :	Biogas (Nm <sup>3</sup> /d)	9510	7680	2550
Energieinhalt 6,5 kWh/m <sup>3</sup> :	Energie (kWh/d)	61815	49920	16575
Verstromung BHKW, elektrische Energie (Wirkungsgrad 36 %)	Energie (kWh <sub>el</sub> /d)	22253	17971	5967
Verstromung BHKW, thermische Energie (Wirkungsgrad 50 %)	Energie (kWh <sub>th</sub> /d)	30908	24960	8288
Fermenter 3000 m <sup>3</sup> :	oTR input (t/d)	17,5	13,5	3,8
	Spez. Stromproduktion (kWh/t oTR)	1274	1336	1577

Tabelle 15: Vergleichende Zusammenfassung der Energieausbeute und Stromproduktion auf Basis der hier erzielten Biogasproduktion mit Berücksichtigung des Restgaspotentials für die Verweilzeiten 15 d, 20 d und 70 Tage.

Annahme	Verweilzeit	15 d	20 d	70 d
Technikumsanlagen:	Biogas (NL/L*d)	3,66	2,84	0,88
Verstromung BHKW, elektrische Energie (Wirkungsgrad 36 %)	Energie (kWh <sub>el</sub> /d)	25704	19926	6210
Verstromung BHKW, thermische Energie (Wirkungsgrad 50 %)	Energie (kWh <sub>th</sub> /d)	35700	27675	8625
Fermenter 3000 m <sup>3</sup> :	oTR input (t/d)	17,5	13,5	3,8
	Spez. Stromproduktion (kWh/t oTR)	1471	1481	1640

Der Wärmebedarf für Biogasanlagen wird mit 7,9 kWh/m<sup>3</sup> Fermentervolumen für Biogasanlagen mit einer Verweilzeit von < 50 d angegeben (Gerber, 2009). Für Biogasanlagen mit Verweilzeiten von > 50 d wird ein Wärmebedarf von 6,5 kWh/m<sup>3</sup> Fermentervolumen angegeben (Gerber, 2009). Das aus einer t Frischmasse Maissilage (unverdünnt) erzeugte Biogas lag für die Verweilzeit von 15 Tagen bei 192 NL, für die Verweilzeit

von 20 Tagen bei 204 NL und für die Verweilzeit von 70 Tagen bei 243 NL. Bezogen auf die Biogasproduktion pro m<sup>3</sup> Fermentervolumen entspricht das 12,8 NL/m<sup>3</sup> für die Verweilzeit von 15 Tagen, 10,2 NL/m<sup>3</sup> für die Verweilzeit von 20 Tagen und 3,5 NL/m<sup>3</sup> Fermentervolumen für die Verweilzeit von 70 Tagen. Die daraus mit dem BHKW gewonnene Wärme würde bei 41,6 kWh/m<sup>3</sup> (Verweilzeit 15 d), 33,2 kWh/m<sup>3</sup> (Verweilzeit 20 d) bzw. 11,3 kWh/m<sup>3</sup> (Verweilzeit 70 d) liegen.

Die Nettowärme läge dann bei 33,7 kWh/m<sup>3</sup> für die Verweilzeit von 15 Tagen, 25,3 kWh/m<sup>3</sup> für die Verweilzeit von 20 Tagen und bei 4,8 kWh/m<sup>3</sup> für die Verweilzeit von 70 Tagen (Tabelle 16).

Tabelle 16: Berechnung der Produktivitäten für Strom sowie die Nettowärme für die beiden Betriebsweisen HLF mit einer Verweilzeit von 15 Tagen und der Verweilzeit von 20 Tagen und in der REF mit der Verweilzeit von 70 Tagen.

	<b>Verweilzeit</b>	<b>15 d</b>	<b>20d</b>	<b>70 d</b>
Gerber (2009)	Wärmebedarf (kWh/m <sup>3</sup> Fermentervolumen)	7,9	7,9	6,5
	Biogas (NL/t FM MS)	192	204	243
	Biogas (NL/m <sup>3</sup> Fermentervolumen)	12,8	10,2	3,5
	Wärmeproduktion (kWh <sub>th</sub> /m <sup>3</sup> Fermentervolumen)	41,6	33,2	11,3
	Nettowärme (kWh <sub>th</sub> /m <sup>3</sup> Fermentervolumen)	33,7	25,3	4,8
Verstromung BHKW, Wirkungsgrad 36 %	Stromproduktion (kWh <sub>el</sub> /m <sup>3</sup> Fermentervolumen)	30	23,9	8,1

FM MS: Feuchtmasse Maissilage

Bei einer höheren Beschickungsmenge, d.h. mit steigendem Durchsatz und sinkender Verweilzeit, steigt der Wärmebedarf für die Aufheizung des höheren Substratstroms. Allerdings steigen auch die Gasproduktion und damit die Produktion an Strom und Wärme. Die Gegenüberstellung von Strom- bzw. Wärmebedarf und Strom- bzw. Wärmeproduktion zeigte, dass anteilig mehr Strom und Wärme produziert als verbraucht wird, mit zunehmender Faulraumbelastung (Gerber, 2009).

## 2.10 Mikrobiologische Untersuchungen an allen eingesetzten Inokuli und in den kontinuierlichen betriebenen Biogasanlagen zu verschiedenen Zeitpunkten

### 2.10.1 Mikrobiom-Charakterisierung verschiedener Inokula

Im Rahmen des anfänglichen Inokulum-Screenings (Kapitel 2.1.2 und 2.1.3) wurden neben dort beschriebenen Analysen und Batch-Experimenten zur Quantifizierung der Biogasausbeuten auch Proben zur Mikrobiomcharakterisierung genommen. Von jedem Inokulum wurden ca. 2 ml frisch entnommen und bei mindestens -20° C bis zur weiteren Bearbeitung gelagert. Hierbei wurde überprüft, ob sich Korrelationen zwischen der Starter-Population und den Betriebsbedingungen und dem Biogaspotential ableiten lassen. Eine Übersicht der getesteten Inokula mit spezifischen Charakteristika ist in Tabelle 1, Tabelle 2 und Tabelle 3 zu finden. Darüber hinaus sind in Kapitel 2.1.2 (S. 17 ff) noch weitere Ergebnisse zu finden.

Die mit den hier untersuchten Inokula erzielten Ergebnisse hinsichtlich der Biogasausbeuten sind in Abbildung 6 bis Abbildung 9 dargestellt.

Für die Charakterisierung der mikrobiologischen Zusammensetzung der Inokula mit Hilfe des Next-Generation Sequencing (NGS) wurde zunächst zur schnelleren Probenvorbereitung ein neues DNA Isolationskit getestet. In der Literatur ist beschrieben, dass ein mechanischer Aufschluss für komplexe Mikroorganismenpopulationen am Geeignetesten ist, da so das Verhältnis der Populationen zueinander am wenigsten verzerrt wird. Aus diesem Grund erfolgte der Aufschluss bisher via Retsch-Mühle unter Kryobedingungen. Dabei wurden 1-2 ml der Probe direkt in flüssigen Stickstoff pipettiert, um eingefrorene Zellperlen zu erhalten, die in einem Teflon-Behälter mit einer Wolfram-Carbid-Kugel unter Kryo-Bedingungen bei einer Frequenz von 30 Hz zerschreddert wurden. Aus diesem Zellpulver wurde anschließend mit dem QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) die gDNA isoliert.

Um den damit verbundenen erheblichen Zeitaufwand zu reduzieren, wurde das ZR Fecal DNA MiniPrep™ Kit von Zymo Research getestet, bei welchem der mechanische Aufschluss mit Hilfe von ZR BashingBeads™ in einem Hochgeschwindigkeitsvortexer nach den Herstellerangaben erfolgt. Dabei reichten ca. 300µl der Probe in unbehandeltem Zustand. Die DNA aus anaeroben Schlämmen konnte mit dieser Methode sogar in besserer Qualität und nahezu identischer Quantität aufgereinigt werden (Abbildung 41).

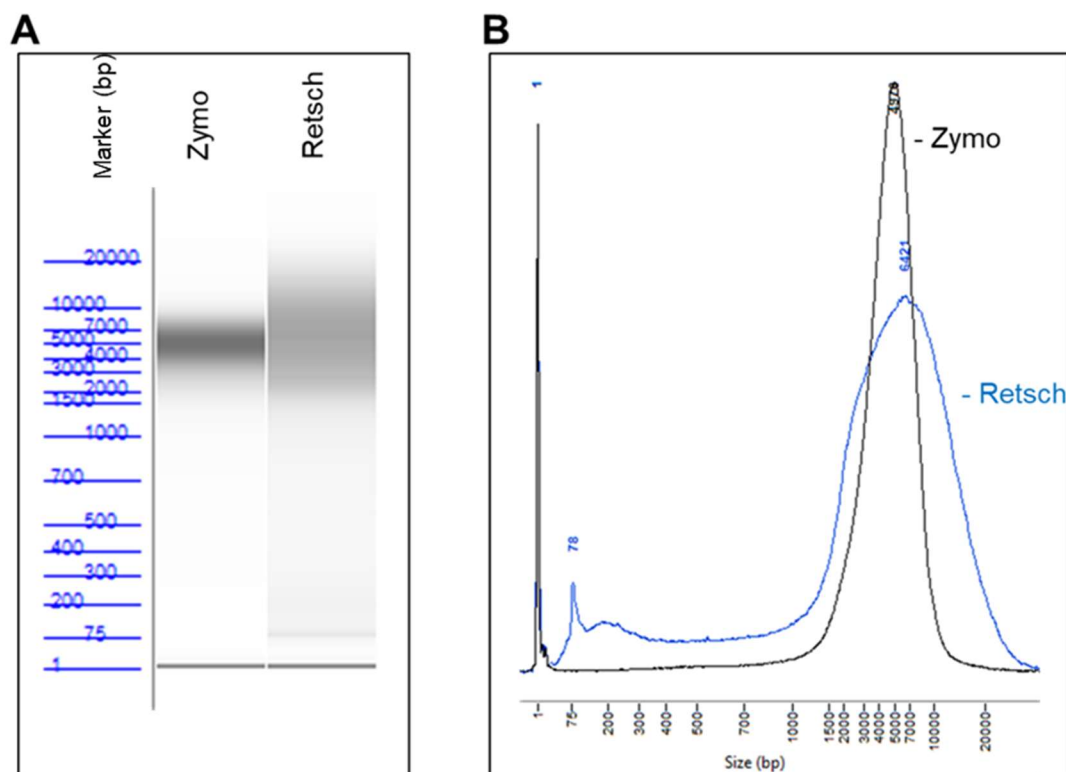


Abbildung 41: Aufschluss und Isolation der genomischen DNA (gDNA) aus der Biogasanlage. Aus Inokulum 8 wurde je einmal gDNA mittels dem neuen ZR Fecal DNA MiniPrep™ Kit von Zymo Research und der älteren, konventionellen Methode mittels Kryo-Aufschluss an der Retsch-Kugelmühle plus Qiaamp Mini Kit von Qiagen isoliert. Die Qualitätskontrolle erfolgte am Fragment Analyzer mit dem HS gDNA Kit: (A) Gel-ähnliche Darstellung; (B) Elektropherogramm.

Zur Bestimmung der mikrobiellen Zusammensetzung der verschiedenen Inokula wurde auf Grund höherer Genauigkeit die Methode des *whole genome shotgun sequencings* (WGS) angewandt. Bei dieser Methode wird nicht eine bestimmte Region im Genom amplifiziert, sondern das gesamte Metagenom betrachtet. In Abbildung 42 ist die Vorgehensweise der WGS Methode schematisch dargestellt.

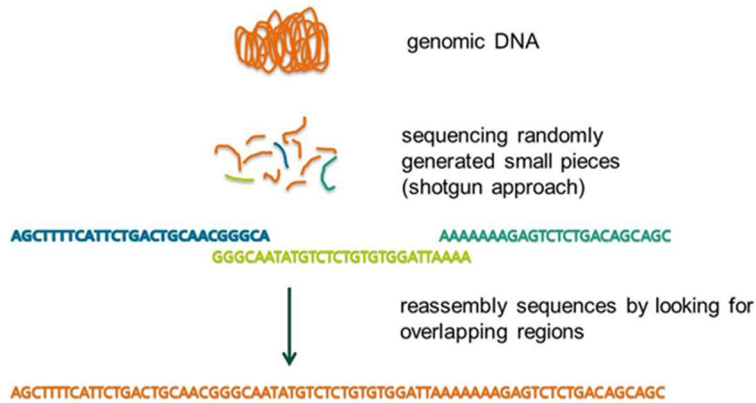


Abbildung 42: Schematische Darstellung des *whole genome shotgun sequencing* - Ansatzes.

Um nun die metagenomische DNA sequenzieren zu können, musste diese in eine sequenzierfähige DNA-Bibliothek umgewandelt werden. Dafür wurde das Nextera DNA Library Preparation Kit von Illumina nach den Herstellerangaben verwendet (Inputmenge 25-50 ng gDNA). In Abbildung 43 ist beispielhaft die Qualitätskontrolle einer DNA-Sequenzierbibliothek dargestellt.

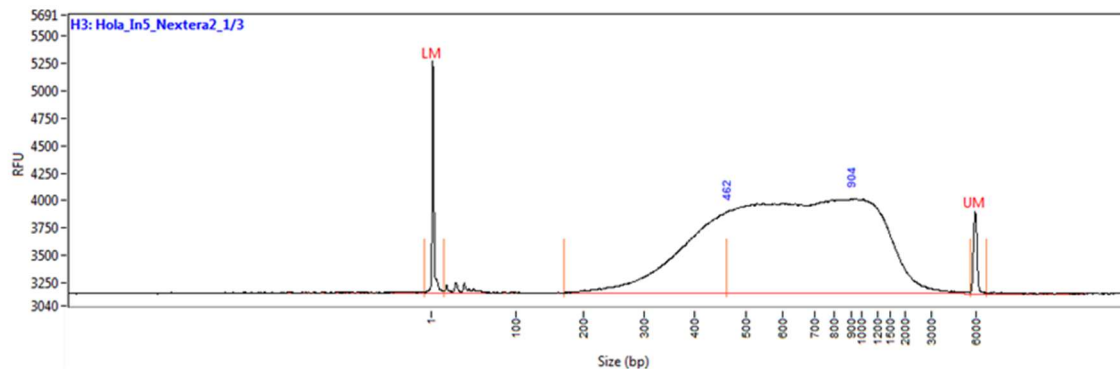


Abbildung 43: Qualitätskontrolle einer DNA-Sequenzierbibliothek am Fragment Analyzer mittels HS NGS 1-6000 Kit.

Die Sequenzierung erfolgte im paired-end Modus mit 2 x 150 Basen am HiSeq2500 und einer durchschnittlichen Sequenziertiefe von 26 Mio. Read-Paaren. Die Daten durchliefen ein Polishing, bei dem Reste der Sequenzier-Adapter und Low-Quality Basen entfernt wurden, um Mismatches beim Abgleich mit den Datenbanken zu minimieren. In Anbetracht der Tatsache, dass selbst die umfassendste Datenbank RefSeq (RefSeq-db) kaum Organismen beinhaltet, die in diesem hoch spezialisierten Milieu der Biogasproduktion wachsen (< 3%), wurden die Daten mit einer zu Beginn der Projektlaufzeit veröffentlichten Biogas-Datenbank als Referenzdatenbank eingesetzt (Symbio-db; <https://biogasmicrobiome.env.dtu.dk>, (Campanaro et al., 2016; Treu et al., 2016). Die Mapping-Raten lagen zwischen 5.6 - 54.5% (im Schnitt bei 34%; Tabelle 17) und somit deutlich höher als nach dem Abgleich mit der RefSeq-db (< 3%).

Tabelle 17: Sequenzier-Statistik der Inokula-Proben.

Inokulum	Beschreibung	Sequenzierte Read-Paare	Eindeutig gemapped	...in %
1	Forschungsanlage 130l; Amaranthsilage	23,978,199	7,329,158	30.6%
2	Forschungsanlage 130l; G, MS, et al.	29,617,834	11,922,429	40.3%
3	Kläranlage 1; Klärschlamm	25,960,711	1,937,488	7.5%
4	Kläranlage 2; Klärschlamm	26,783,206	1,493,333	5.6%
5	Biogasanlage 1; G, MS, org. Abfälle	27,680,667	14,433,702	52.1%
6	Biogasanlage 2; G, MS, Pferdemit, 2. Stufe	28,949,119	12,836,342	44.3%
7	Biogasanlage 2; G, MS, Pferdemit, 1. Stufe	18,480,838	9,608,828	52.0%
8	Biogasanlage 3; MS, GS	23,458,736	12,788,168	54.5%
9	Biogasanlage 4; MS	31,912,364	7,534,172	23.6%
10	Biogasanlage 5; G, MS, Pferdemit	25,645,603	7,961,334	31.0%

Auf diese Weise konnte nun für jedes Inokulum ein spezifisches Mikrobiom aufgedeckt werden und für jede detektierte Art deren relative Populationsanteile berechnet werden. Für die Gesamtbetrachtung wurde zunächst eine Hauptkomponentenanalyse (principal component analysis, PCA) der mikrobiologischen Zusammensetzung der Inokula durchgeführt, um zu überprüfen, ob inwieweit sie tatsächlich spezifisch oder aber eher identisch sind. 84.56% der Varianz wurden dabei durch drei Hauptkomponenten erfasst, die in Abbildung 44 dargestellt sind. Insgesamt wurden vier diskriminierende Mikrobiomprofile aufgedeckt, die in vier Gruppen aufgeteilt und im Folgenden erläutert werden.

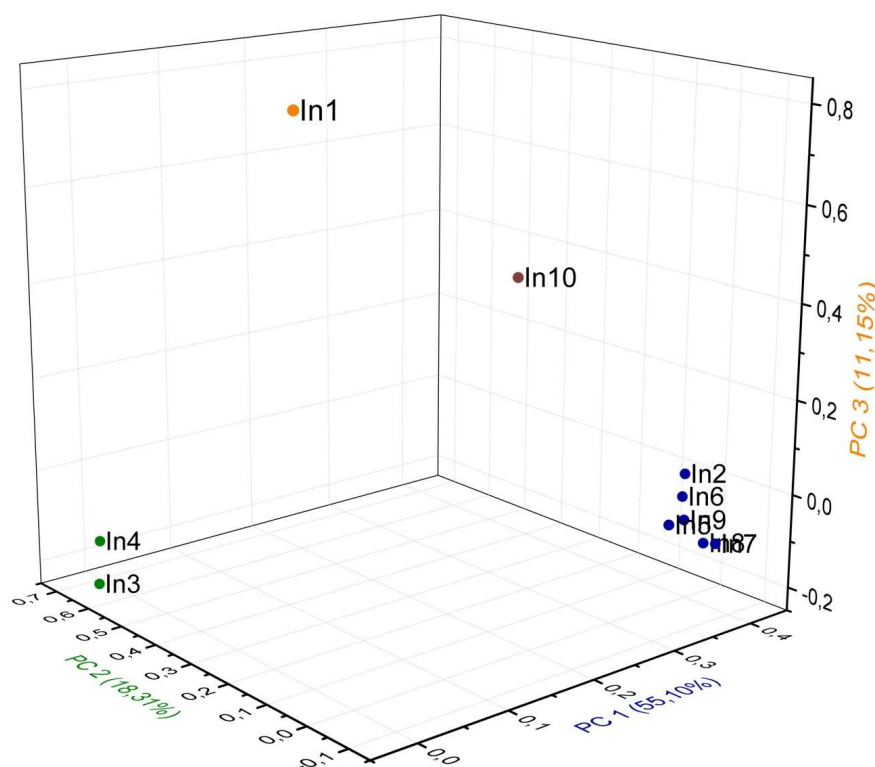


Abbildung 44: Hauptkomponentenanalyse der mikrobiellen Zusammensetzung der Inokula. Insgesamt sind vier Gruppen identifiziert und farblich wie folgt gekennzeichnet: blau = mit Maissilage betriebene Anlagen (In2, 5, 6, 7, 8 und 9); grün = mit Klärschlamm betriebene Anlagen (In3, In 4); orange = mit Amaranth betriebene Anlage (In1); braun = unspezifiziert (In10).

Auffällig bei dieser Analyse war, dass sich eine größere Gruppe von 6 Mikrobiomen ergab (Inokulum 2, 5, 6, 7, 8 und 9), die sich deutlich von den anderen Profilen unterschied. Diese Inokula stammen alle aus Anlagen, die Maissilage als Substrat verarbeiten. Demnach verfügen sie über spezifische Mikroorganismen, die sich gut auf das Substrat Mais angepasst haben. Auch Inokulum 10 stammte aus einer Anlage, die mit Maissilage

als Substrat arbeitet. Allerdings ergab die Hauptkomponentenanalyse für dieses Inokulum keine Ähnlichkeit mit den Inokula 2, 5, 6, 7, 8 und 9. Die Anlage, aus der Inokulum 10 entnommen wurde, arbeitete im Unterschied zu den übrigen Maissilage-Anlagen mit Kavitation zur Desintegration im Bypass.

Festgelegt wurden die verantwortlichen Spezies auch für die nächsten beschriebenen Gruppen, durch folgende Kriterien: Zugehörigkeit zu einer Gruppe sofern jeweils die höchsten durchschnittlichen Abundanzen pro Gruppe gegenüber allen anderen Gruppen und Populationsanteile über 2,5 % lag. So sind z.B. die Spezies der Taxons Clostridiales DTU010, DTU011 und DTU012 dominant und somit diskriminierend gegenüber den anderen Mikrobiomen. Inokulum 10 hingegen zeichnet sich über die dominanten Taxons Clostridia mit der DTU021, Acheloplasmatales mit der DTU067 und Bacteroidales mit der DTU136 von den anderen Inokula ab. Auch die mit Klärschlamm betriebenen Anlagen (Gruppe mit In3 und In4) zeigten ein deutlich differenziertes Bild der Mikrobiome im Gegensatz zu den anderen Anlagen. Diese beiden Inokula zeigten jedoch im direkten Vergleich zueinander auch kaum Unterschiede, was darauf schließen ließ, dass sich auch hier mit Klärschlamm spezifische Mikroorganismen angepasst haben. So waren z.B. die Spezies der Taxons Firmicutes mit der DTU245 und DTU246, Planctomycetia mit der DTU247 und Bacteroidetes mit der DTU154 dominant und somit diskriminierend gegenüber den anderen Mikrobiomen. Dem ist jedoch hinzuzufügen, dass gerade bei diesen beiden Anlagen auch die niedrigsten Klassifizierungsraten erreicht wurden, was dafür sprach, dass hier noch weitaus mehr spezifische Organismen aufzufinden wären.

Die Anlage mit Amarant als Monosubstrat (In1) zeigte ebenfalls deutliche Unterschiede in der mikrobiellen Zusammensetzung zu den übrigen Inokula. So waren z.B. die Spezies der Taxons Bacteroidetes mit der DTU146 und DTU137 und Spirochaetes mit der DTU262 dominant und somit diskriminierend gegenüber den anderen Mikrobiomen.

Einen geringen Einfluss schien auch die Betriebstemperatur auf die hier nachweisbaren und detektierbaren Mikroorganismen zu haben. Die thermophil betriebenen Biogasanlagen 7 und 8 hoben sich im Mikrobiomprofil etwas von den anderen mit Maissilage betriebenen Anlagen ab (In 2, 5, 6 und 9). Die Abbildung 45 zeigt zusammenfassend auch sehr deutlich die Ähnlichkeiten und Unterschiede der für die Varianz verantwortlichen Spezies anhand der relativen Populationsanteile.

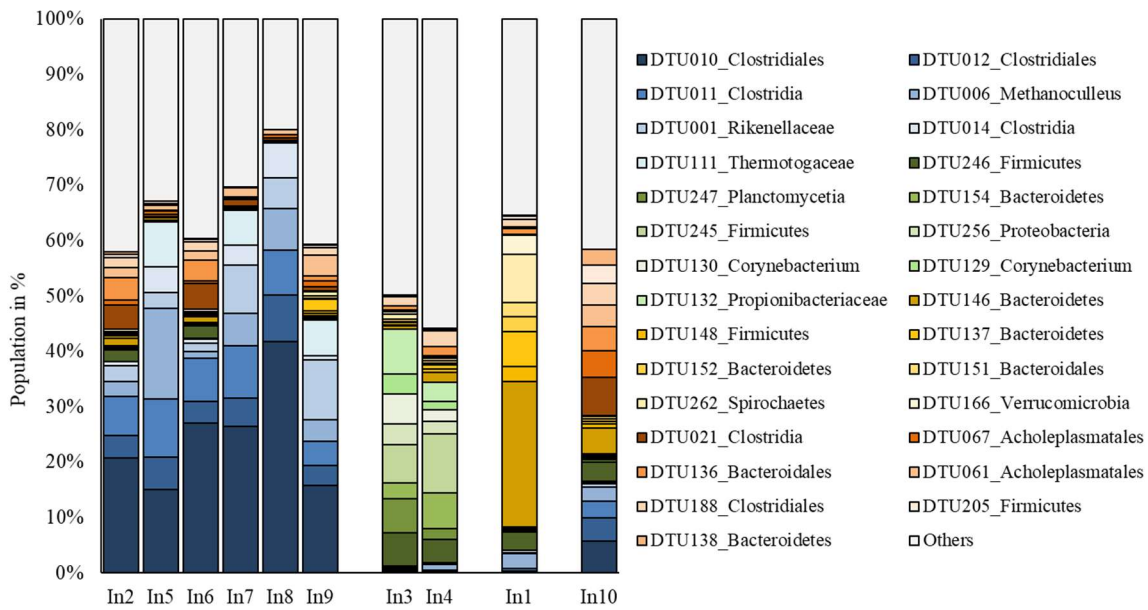


Abbildung 45: Populationsanteile der für die Varianz verantwortlichen Spezies in den Inokula 1 bis 10. Die blau markierten Taxons repräsentieren dominant wachsende Spezies mit hohen Populationsanteilen in den Inokula 2, 5, 6, 7, 8 und 9, die grün markierten Taxons entsprechend in den Inokula 3 und 4, die orange markierten Taxons entsprechend im Inokulum 1 und die braun markierten Taxons entsprechend im Inokulum 10.

Eine Übersicht der 29 identifizierten, unterschiedlich angepassten Organismen mit ihren durchschnittlichen Abundanzen pro Gruppe ist auch in Tabelle 18 dargestellt.

Tabelle 18: Übersicht der 29 identifizierten unterschiedlich angepassten Organismen. Dargestellt sind die durchschnittlichen Populationsanteile aus den vier Gruppen: Inokula 2,5,6,7,8; Inokula 3 und 4; Inokulum 1; Inokulum 10

	Taxon	In2, 5, 6, 7, 8 und 9	In3 und In4	In1	In10
Blaue Gruppe	<i>DTU010_Clostridiales</i>	24.5%	0.2%	0.3%	5.8%
	<i>DTU011_Clostridia</i>	7.9%	0.2%	0.4%	3.0%
	<i>DTU006_Methanoculleus</i>	6.2%	0.7%	2.8%	2.5%
	<i>DTU001_Rikenellaceae</i>	5.4%	0.2%	0.1%	0.6%
	<i>DTU012_Clostridiales</i>	5.2%	0.1%	0.1%	4.1%
	<i>DTU111_Thermotogaceae</i>	3.5%	0.0%	0.1%	0.1%
	<i>DTU014_Clostridia</i>	2.8%	0.2%	0.3%	0.4%
Grüne Gruppe	<i>DTU245_Firmicutes</i>	0.1%	8.8%	0.2%	0.2%
	<i>DTU132_Propionibacteriaceae</i>	0.0%	5.7%	0.0%	0.1%
	<i>DTU246_Firmicutes</i>	0.8%	5.0%	3.4%	3.4%
	<i>DTU154_Bacteroidetes</i>	0.0%	4.7%	0.2%	0.3%
	<i>DTU247_Planctomycetia</i>	0.1%	4.0%	0.2%	0.4%
	<i>DTU130_Corynebacterium</i>	0.1%	3.7%	0.0%	0.1%
	<i>DTU256_Proteobacteria</i>	0.0%	3.0%	0.1%	0.2%
	<i>DTU129_Corynebacterium</i>	0.0%	2.6%	0.0%	0.1%
Orange Gruppe	<i>DTU146_Bacteroidetes</i>	0.5%	1.2%	26.2%	4.6%
	<i>DTU262_Spirochaetes</i>	0.2%	0.7%	8.6%	0.1%
	<i>DTU137_Bacteroidetes</i>	0.5%	0.5%	6.3%	0.5%
	<i>DTU166_Verrucomicrobia</i>	0.2%	0.3%	3.5%	0.0%
	<i>DTU148_Firmicutes</i>	0.3%	0.4%	2.8%	0.7%
	<i>DTU152_Bacteroidetes</i>	0.1%	0.3%	2.7%	0.5%
	<i>DTU151_Bacteroidales</i>	0.1%	0.4%	2.6%	0.4%
Braune Gruppe	<i>DTU021_Clostridia</i>	1.9%	0.2%	0.1%	7.0%
	<i>DTU067_Acholeplasmatales</i>	0.7%	0.0%	0.1%	4.8%
	<i>DTU136_Bacteroidales</i>	1.5%	1.1%	1.1%	4.4%
	<i>DTU061_Acholeplasmatales</i>	1.8%	0.0%	0.2%	3.9%
	<i>DTU188_Clostridiales</i>	0.9%	2.3%	1.4%	3.8%
	<i>DTU205_Firmicutes</i>	0.3%	0.2%	0.6%	3.3%
	<i>DTU138_Bacteroidetes</i>	0.2%	0.2%	0.1%	2.9%

Die Ergebnisse der Fermentationsversuche ergaben für Inokulum 7 die beste Biogasausbeute, die nächst höchsten Biogasausbeuten wurden mit Inokulum 3 und Inokulum 2 erreicht (vgl. Abbildung 8). In Abbildung 46 ist der Anteil an Archaeen an der Gesamtpopulation jeweils für die 10 Inokula dargestellt. Auffällig ist hier der vergleichsweise hohe Wert für Inokulum 5 mit nahezu 20 % Anteil der Archaeen an der Gesamtpopulation, welcher u.a. mit organischen Abfällen betrieben wurde. Interessanterweise ist im Inokulum 7 lediglich ein Anteil von ca. 6 % detektiert worden, mit dem in den Fed-Batch-Versuchen die höchste Biogasausbeute erreicht wurde. Daher ergab sich definitiv keine Korrelation in diesem Zusammenhang. Auch schien das Taxon *Methanosarcina* mit der DTU006 die wichtigste Rolle in allen Anlagen zu spielen, da sie die die größten Anteile einnahm. Eine weitere Auffälligkeit war, dass die Archaeen-Anteile in den Anlagen mit Klärschlamm deutlich niedriger sind, als in allen anderen Anlagen.



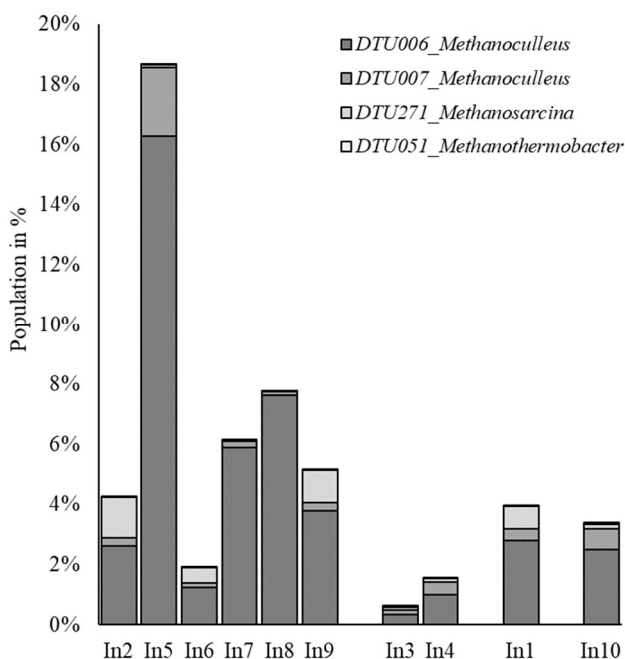


Abbildung 46: Populationsanteile von Archaeen in den Inokula. Relative Populationsanteile der 4 identifizierten Haupt-Archeen innerhalb der Domäne der Archaeen.

Die Ergebnisse zeigten, dass der Großteil der mikrobiellen Zusammensetzung nicht zwingend Rückschlüsse über das Biogaspotenzial zulässt, und dass es unterschiedliche Zusammensetzungen von Spezies gab, die zu ähnlichen Erträgen führten. Zwischen der Abundanz von Archaeen sowie dem Verhältnis von acetogenotrophen zu hydrogenotrophen Spezies und der Biogasausbeute, war keine deutliche Korrelation feststellbar. So erreichte Inokulum 3 mit einem sehr geringen Anteil an Archaeen und einem hohen Anteil von Methanosarcina einen ähnlich hohen Biogasertrag wie Inokulum 7.

## 2.10.2 Mikrobiom-Charakterisierung in der Hochlastfaulung HLF im Vergleich zur herkömmlichen Betriebsweise in der REF

Um nun die mikrobielle Zusammensetzung und deren Dynamik zu erfassen und insbesondere die Arten zu identifizieren, die charakteristisch für die verschiedenen Stadien der Hochlastfaulung sind, wurden umfassend Proben aus dem kontinuierlichen Betrieb der Biogasanlagen im Technikumsmaßstab gesammelt und analysiert. Die Durchführung der Untersuchungen, aus der die Proben entnommen wurden, sind in Kapitel 2.7 und Kapitel 2.8 (S. 41 ff) beschrieben. Die Proben wurden aus der REF = Referenzanlage, die mit einer konstanten Verweilzeit (VWZ) von 70 d betrieben wurde, und der HLF = Hochlastfaulung, die mit VWZ zwischen 40 d und 15 d betrieben wurde, entnommen. Es wurden jeweils aus beiden Ansätzen S1 und S2 (Kapitel 2.6, S. 37) Proben aus beiden Anlagen entnommen. Der Zeitraum aus S1 wird hier mit „vor Neustart“, der Zeitraum von S2 mit „nach Neustart“ bezeichnet. Insgesamt sollte hier untersucht werden, ob mit einem zeitversetzten Replikat des verwendeten Inokulums bzw. auch der Versuchsdurchführung reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden können.

In Tabelle 19 sind die Anzahl und die Art der Proben zusammengefasst, in Abbildung 47 sind sie grafisch zum zeitlichen Verlauf der hydraulischen Verweilzeiten in der REF und der HLF dargestellt.

Die Probennahme für die Populationsanalysen erfolgte im stationären Zustand der Anlagen jeweils kurz vor der nächsten Verkürzung der Verweilzeit in der HLF. Auch wurden hier immer die letzten 3 Proben als

biologische Triplikate analysiert (innerhalb der letzten Woche), außer bei den Start-Inokula. Auf diese Weise war es nun möglich, belastbare Daten zur Mikrobiomcharakterisierung zu sammeln und beispielsweise nebst anderem für die Hochlastfaulung spezifische Leitorganismen identifizieren zu können.

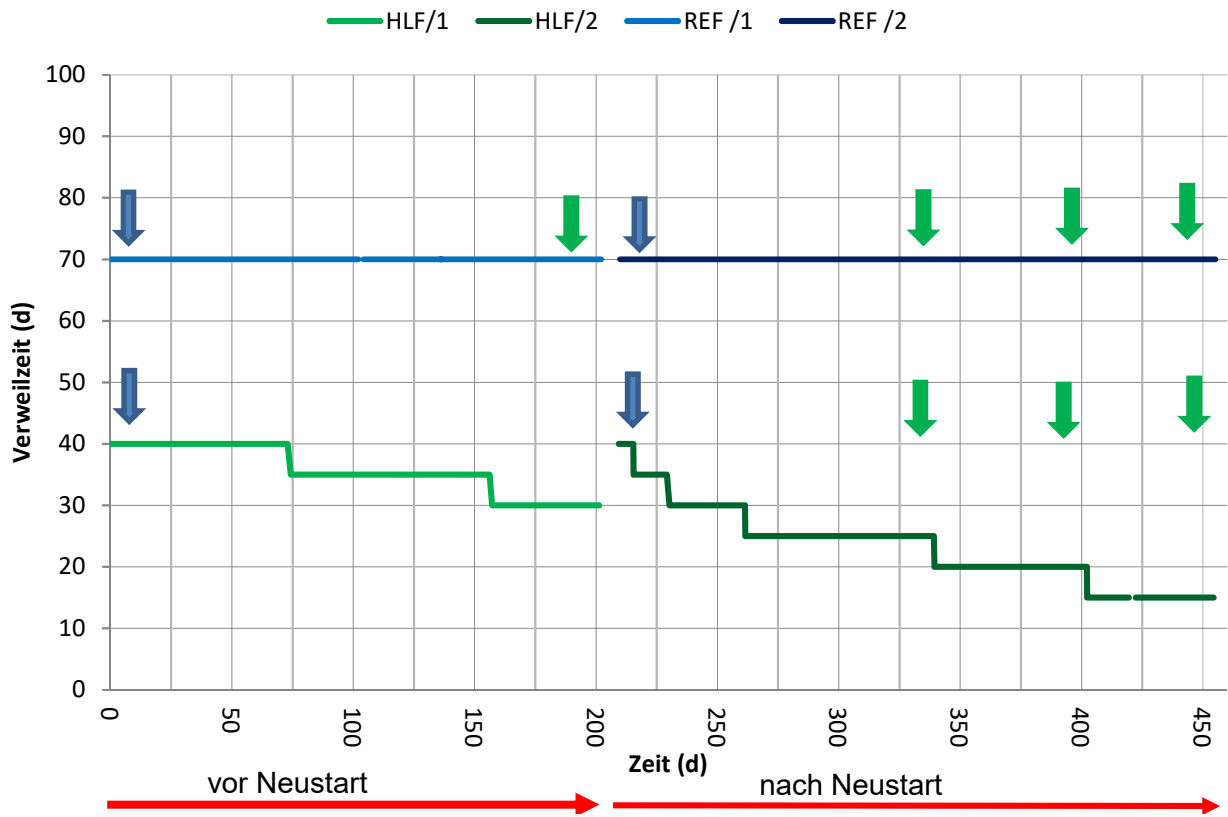


Abbildung 47: Zeitpunkte der Probenahmen für die Mikrobiom-Analyse im Bezug zum zeitlichen Verlauf der Verweilzeiten in der HLF und der REF. Die grünen und blauen Pfeile markieren den Zeitpunkt der Probenahme aus der REF und der HLF. Grüne Pfeile markieren jeweils 3 Replikate /Probenahmen im Verlauf einer Woche, jeweils vor Erhöhung des Durchsatzes zur Verkürzung der Verweilzeit. Blaue Pfeile markieren jeweils eine Probenahme aus dem Inokulum.

Tabelle 19: Anzahl der Probenahmen aus der HLF und aus der REF mit Angabe der hydraulischen Verweilzeit in der HLF zum Zeitpunkt der Entnahme.

HLF	REF	Verweilzeit HLF (d)
1 Probe	1 Probe	(Inokulum S1)
-	3 Proben	40
1 Probe	1 Probe	(Inokulum S2, nach Neustart)
3 Proben	3 Proben	25
3 Proben	3 Proben	20
3 Proben	3 Proben	15

Die metagenomische DNA wurde mittels ZR Fecal DNA MiniPrep™ Kit von Zymo Research isoliert und mit dem DNA Nextera Library Prep Kit für die Sequenzierung präpariert (Input 50ng gDNA). Sequenziert wurden die Proben im paired-end Modus 2x150 Basen mit einer durchschnittlichen Sequenziertiefe von 7.4 Mio. Read-Paaren (Tabelle 20). Nur die zwei Inokula-Proben t0 REF/HLF wurden im single-end Modus 1 x 100 Basen sequenziert, was aber für diese Art der Auswertung eine untergeordnete Rolle spielt.

Tabelle 20: Sequenzier-Statistik der Proben aus dem Referenzreaktor (REF) und der Hochlastfäulung (HLF).

Alias ID	NGS ID	Reaktor	Run	VWZ	Tage	NGS Modus	Sequenzierte Reads/Read-Paare	Eindeutig gemapped	...in %
t0 HLF	agr_067	Inok	vor Neustart	na	0	1 x 100 bp	6,520,242	4,407,430	67.6%
t0 REF	agr_068	Inok	vor Neustart	na	0	1 x 100 bp	9,521,988	6,775,955	71.2%
t78 REF	tle_072_br1	Ref	vor Neustart	70	188	2 x 150 bp	4,974,138	2,536,745	51.0%
t79 REF	tle_072_br2	Ref	vor Neustart	70	191	2 x 150 bp	8,308,958	4,232,204	50.9%
t80 REF	tle_072_br3	Ref	vor Neustart	70	195	2 x 150 bp	9,677,039	4,866,885	50.3%
t83 t0 HLF	tle_073	Inok	nach Neustart	na	0	2 x 150 bp	10,003,503	7,038,771	70.4%
t83 t0 REF	tle_074	Inok	nach Neustart	na	0	2 x 150 bp	9,545,189	6,753,184	70.7%
t112 HLF	tle_075_br1	Hlf	nach Neustart	25	108	2 x 150 bp	5,913,261	2,004,249	33.9%
t113 HLF	tle_075_br2	Hlf	nach Neustart	25	112	2 x 150 bp	7,512,910	1,884,214	25.1%
t114 HLF	tle_075_br3	Hlf	nach Neustart	25	115	2 x 150 bp	5,872,528	1,723,540	29.3%
t112 REF	tle_076_br1	Ref	nach Neustart	70	108	2 x 150 bp	7,766,600	4,162,925	53.6%
t113 REF	tle_076_br2	Ref	nach Neustart	70	112	2 x 150 bp	7,525,940	4,015,834	53.4%
t114 REF	tle_076_br3	Ref	nach Neustart	70	115	2 x 150 bp	6,504,452	3,484,267	53.6%
t131 HLF	tle_077_br1	Hlf	nach Neustart	20	186	2 x 150 bp	6,944,752	1,831,264	26.4%
t132 HLF	tle_077_br2	Hlf	nach Neustart	20	190	2 x 150 bp	7,033,225	1,769,866	25.2%
t133 HLF	tle_077_br3	Hlf	nach Neustart	20	193	2 x 150 bp	8,896,138	2,333,656	26.2%
t139 HLF	tle_078_br1	Hlf	nach Neustart	15	218	2 x 150 bp	6,112,127	1,770,137	29.0%
t140 HLF	tle_078_br2	Hlf	nach Neustart	15	221	2 x 150 bp	8,564,887	2,513,353	29.3%
t141 HLF	tle_078_br3	Hlf	nach Neustart	15	225	2 x 150 bp	6,284,642	1,539,519	24.5%
t139 REF	tle_079_br1	Ref	nach Neustart	70	218	2 x 150 bp	4,573,434	1,663,747	36.4%
t140 REF	tle_079_br2	Ref	nach Neustart	70	221	2 x 150 bp	9,279,307	3,211,465	34.6%
t141 REF	tle_079_br3	Ref	nach Neustart	70	225	2 x 150 bp	5,233,180	1,936,392	37.0%

Für die Klassifizierung der Sequenzen wurden die in 2018 neueste Biogas-Datenbank Biometha-db mit insgesamt 231 Arten/Taxons verwendet (Grohmann et al., 2018). Diese Datenbank wurde in Zusammenarbeit mit Dritten erstellt (s. I.3) und beinhaltete u.a. auch die Populationen der Inokula 5, 8 und 10. Im Durchschnitt erlaubte sie mit 43,3 % eine deutlich höhere Mapping-Rate als die bisher für die Inokula verwendete Symbio-db mit lediglich 26,7 %. Dies bedeutete aber auch, dass im Schnitt 56 % der Sequenzen nicht verwertet und somit auch keine weiteren Aussagen über die Zusammensetzung getroffen werden konnten. Die Datenbank hätte mit den Sequenzen aus den untersuchten Reaktoren weiter ergänzt werden können, was den Rahmen des Projekts bei weitem überschritten hätte.

Für die Sequenzen, die eingeordnet werden konnten, zeichneten sich bereits beim hierarchischen Clustering für die jeweiligen Reaktoren spezifische Populationen ab (Abbildung 48). So grenzten sich beispielsweise die Ausgangspopulationen in den Inokula (Ino) stark von den beiden getesteten Biogas-Reaktoren ab. Die beiden Inokula S1 und S2 (Tabelle 19), die zu verschiedenen Zeitpunkten aus der Biogasanlage 2 entnommen wurden, zeigten eine große Ähnlichkeit. Die Ähnlichkeit zwischen diesen Inokula S1 und S2 ist aus den Abbildung 48, Abbildung 49 und Abbildung 51 ersichtlich.

Das HC-Clustering in Abbildung 48 zeigte eine sehr hohe Ähnlichkeit zwischen den entsprechenden Proben. In Abbildung 49 ist auch eine sehr klare Trennung zur HLF und REF bzw. Clusterung der Inokula untereinander zu erkennen. Die Hauptkomponente 2, die für 14,6% aller Variabilitäten im Datensatz verantwortlich ist, trennte die Inokula von REF oder HLF deutlich. Dies war aus den oberen linken und oberen rechten Feldern deutlich zu erkennen. In Abbildung 51 (Populationsdynamik von 35 identifizierten Arten) kann man eine sehr hohe Ähnlichkeit der Inokula auf Artenebene unter den 10 am häufigsten vorkommenden Arten sehen.

Eine deutliche Trennung war aber auch zwischen den Mikrobiomen der Hochlastfäulung (HLF) und des Referenzreaktors (REF) zu verzeichnen. Auch konnte so gezeigt werden, dass die Experimente und Analysen äußerst robust durchgeführt wurden, was an dem sehr engen Clustering der jeweiligen Replikate (3) sichtbar wurde.

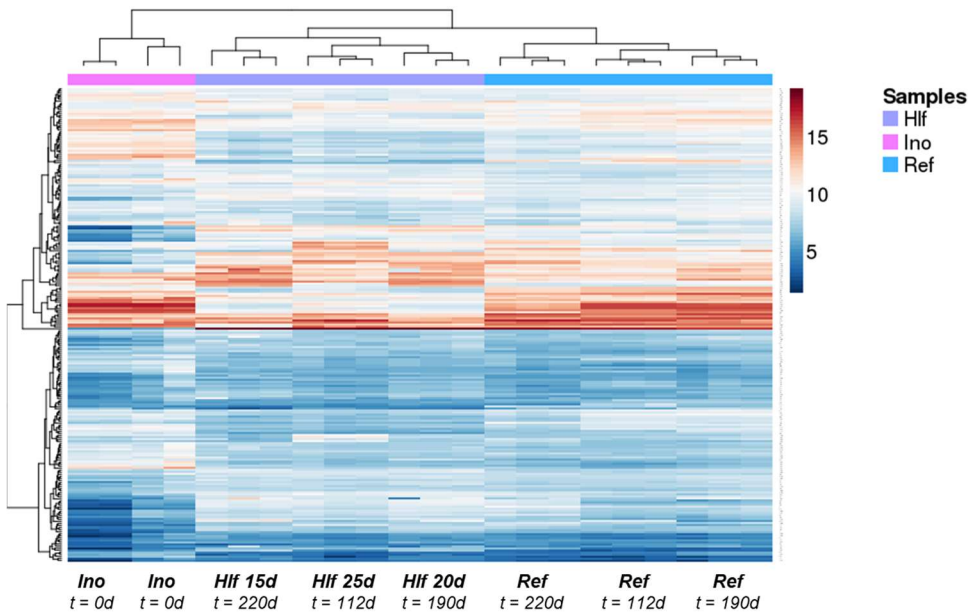


Abbildung 48: Hierarchisches Clustering der Mikroorganismen-Populationen basierend auf den log<sub>2</sub>-normalisierten Readcounts aus den beiden 130I-Reaktoren. Hlf = Hochlastfaulung; Ref = Referenzanlage; Ino = Inokulum.

Um nun die Arten zu identifizieren, die für die unterschiedlichen Reaktorbedingungen spezifisch waren bzw. bevorzugt gewachsen sind, wurde eine PCA (*principal component analysis*) mit den ersten 4 Hauptkomponenten durchgeführt (Abbildung 49). Hierbei wurde für jede Spezies ein entsprechend numerischer Wert in allen vier Dimensionen berechnet, der Aussagen über dessen Populationsvarianz im gesamten, experimentellen Setup erlaubte.

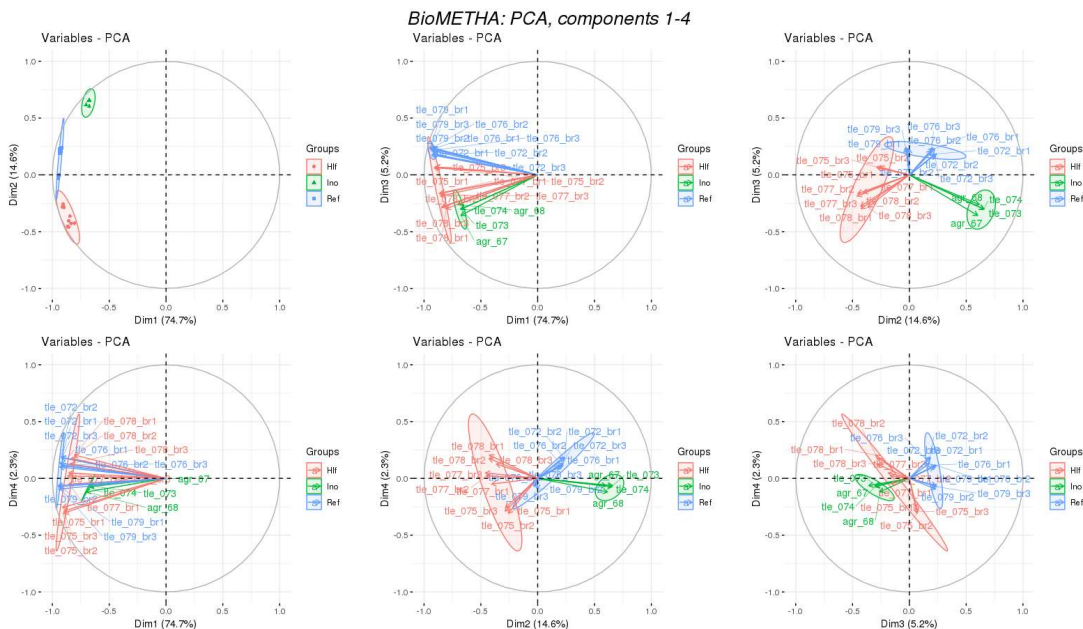


Abbildung 49: PCA-Plots der 4 Hauptkomponenten der Populationen aus den beiden 130I-Reaktoren. Hlf = Hochlastfaulung; Ref = Referenzanlage; Ino = Inokulum.

Allerdings ergaben sich bei genauerer Betrachtung der Populationen der insgesamt 231 untersuchten Arten deutliche Unterschiede in deren relativen Anteilen. Es ist nämlich davon auszugehen, dass eine Art mit einem Anteil von 10 % einen ganz anderen, womöglich bedeutenderen Einfluss auf das Gesamtsystem ausübt, als eine Art mit einem 100-fach niedrigerem Anteil von 0,01 %. Daher wurden die Arten gemäß ihren Anteilen in 4 Abundanzklassen eingeteilt (Abbildung 50):

HiPops: 18 hoch-abundante Spezies mit Anteilen über 1 %

MedPops: 63 mittel-abundante Spezies mit Anteilen zwischen 1 und 0,1 %

LowPops: 122 niedrig-abundante Spezies mit Anteilen zwischen 0,1 und 0,01 %

VeryLowPops: 28 sehr niedrig-abundante Spezies mit Anteilen unter 0,01%.

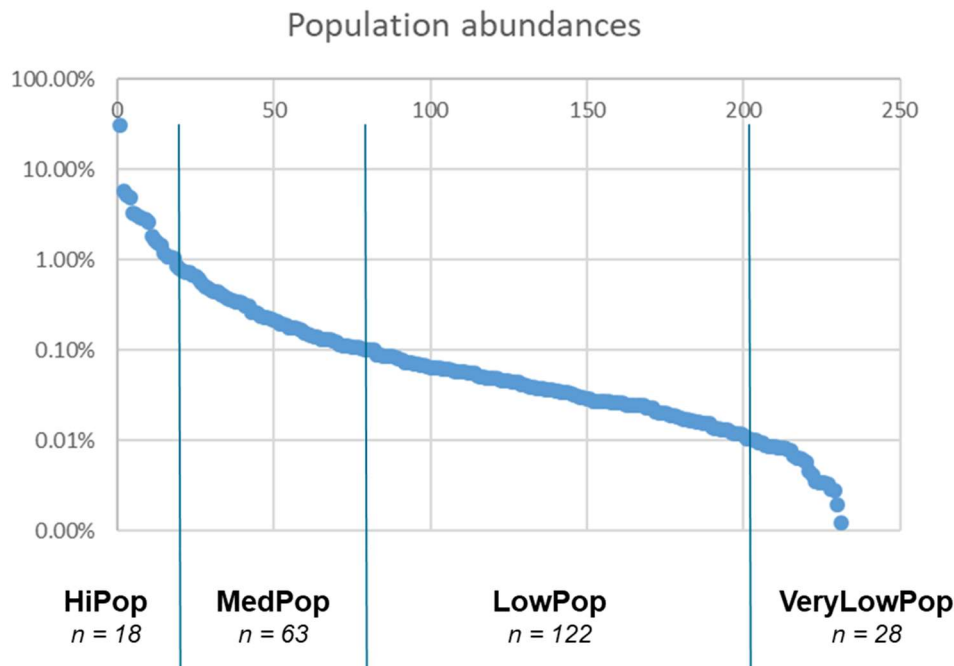


Abbildung 50: Einteilung der Spezies nach Abundanzklassen basierend auf deren durchschnittlichen Populationsanteilen über alle getesteten Bedingungen aus den beiden 130l-Reaktoren. HiPops = 18 hoch-abundante Spezies mit Anteilen über 1 %; MedPops = 63 mittel-abundante Spezies mit Anteilen zwischen 1 und 0,1 %; LowPops = 122 niedrig-abundante Spezies mit Anteilen zwischen 0,1 und 0,01 %; VeryLowPops = 28 sehr niedrig-abundante Spezies mit Anteilen unter 0,01 %.

Im Wesentlichen dominierten somit insgesamt 18 Arten den Biogas-Prozess. Die durchschnittlichen Abundanzen im Inokulum, im Referenzreaktor (Ref) und in der Hochlastfäulung (HLF) sind in Tabelle 21 dargestellt. So fiel beispielsweise auf, dass das Taxon mit der GB ID (genomic bin) *bin\_58*, welches dem niedrigst möglichen Taxon *Candidatus Cloacimonas* zugeordnet war, im Inokulum kaum vorhanden war (0,01 %) und im Referenzreaktor an Teilen zunahm (21,4 %), jedoch in der Hochlastfäulung mit über 50 % der Anteile eine sehr dominante Rolle einzunehmen schien. Auch war unter den Archaeen, genauer Methanomicrobiaceae, zum einen das Taxon mit der GB ID *bin\_75* besser an die lange Verweildauer im Referenzreaktor angepasst, als an die kurze in der Hochlastfäulung (4,8 % in Ref vs. 0,5 % in HLF) und zum anderen das Taxon mit der GB ID *bin\_7* umgekehrt besser an die kurze Verweildauer adaptiert (0,1 % in der Ref vs. 2,7 % in der HLF).

Tabelle 21: Durchschnittliche Populationsanteile der 18 dominantesten Spezies im Inokulum, im Referenzreaktor (Ref) und in der Hochlastfaulung (Hlf).

Taxon	GB ID	Ino	Ref	Hlf
<i>Acetomicrobium</i>	bin_74	0.89%	6.44%	1.04%
<i>Bacteria</i>	bin_113	1.32%	2.89%	2.89%
<i>Bacteria</i>	bin_297	0.83%	0.79%	1.43%
<i>Bacteria</i>	bin_97	0.39%	3.13%	0.20%
<i>Bacteroidales</i>	bin_47	1.81%	4.96%	1.37%
<i>Candidatus Cloacimonas</i>	bin_58	0.01%	21.43%	55.98%
<i>Clostridia</i>	bin_51	7.99%	3.22%	0.14%
<i>Clostridia</i>	bin_2	6.07%	1.69%	0.13%
<i>Clostridia</i>	bin_108	4.65%	5.92%	0.05%
<i>Clostridia</i>	bin_4	2.91%	1.33%	1.49%
<i>Clostridiales</i>	bin_42	0.84%	0.36%	1.87%
<i>Firmicutes</i>	bin_126	16.52%	4.73%	0.11%
<i>Firmicutes</i>	bin_106	17.24%	5.07%	0.08%
<i>Firmicutes</i>	bin_98	0.45%	2.97%	0.68%
<i>Methanomicrobiaceae</i>	bin_7	0.20%	0.14%	2.66%
<i>Methanomicrobiaceae</i>	bin_75	4.59%	4.77%	0.47%
<i>Petrotogaceae</i>	bin_181	0.97%	8.43%	5.27%
<i>Thermacetogenium</i>	bin_61	3.90%	0.80%	0.08%

Um nun systematisch über die drei Abundanzklassen hinweg zu erfassen, welche Arten an die jeweiligen Verweilzeiten, gemessen an deren Populationsanteilen, besser oder schlechter adaptiert waren, wurden die numerischen Werte aus den 4 Dimensionen der PCA genauer analysiert. Hierbei wurden nur solche Spezies als relevant betrachtet, die in der 2. Dimension oder in mindestens 2 verschiedenen Dimensionen die Grenzwerte von entweder 2,5 über- oder -2,5 unterschritten hatten. In der Tat konnten auf diese Weise insgesamt 35 Arten identifiziert werden, die zu den jeweiligen Bedingungen unterschiedliches Wachstum aufwiesen (Abbildung 51).

In der hoch-abundanten Klasse (HiPops) konnten 10 Arten identifiziert werden, darunter die bereits beschriebenen Taxons mit den GB IDs *bin\_58*, *bin\_7* und *bin\_75* (Abbildung 51A). Auffällig in dieser Klasse war, dass die Dominanz von *bin\_58* sehr schnell bereits nach 112 Tagen des Betriebs der Hochlastfaulung bei einer VWZ von 25 Tagen eingetreten ist (fast 50 %). Nach 220 Tagen des Betriebs beider Reaktoren ist bei dem Referenzreaktor auch ein Anstieg dieses Taxons auf 30 % zu verzeichnen. Zum selbigen Zeitpunkt in der Hochlastfaulung bei einer VWZ von 15 Tagen war der Anteil aber tatsächlich doppelt so hoch bei 60 %. Gemessen an der kürzesten Verweildauer und den Populationsanteilen waren in dieser Abundanzklasse zusammengefasst drei Taxons relevant für die Hochlastfaulung: GB ID *bin\_58* (*Candidatus Cloacimonas*), *bin\_7* (*Methanothermobacter*) und *bin\_42* (*Clostridiales*).

In der mittel-abundanten Klasse (MedPops) sind 17 variable adaptierbare Arten detektiert worden. Unter diesen 17 Arten befanden sich auch zwei Archaeaen mit den GB IDs *bin\_6* (*Methanosarcina*) und *bin\_39* (*Methanothermobacter*), die mit Verkürzung der Verweildauer in der Hochlastfaulung stetig höhere Anteile bekamen (*bin\_6* anfänglich im Inokulum bei  $t = 0$  von 0,02 % auf 0,8 % nach 220 Tagen bzw. *bin\_39* von 0,06 % auf 1,5 %). Im Referenzreaktor schienen diese beiden Archaeaen keine besonders große Rolle zu übernehmen. Gemessen an der kürzesten Verweildauer und den Populationsanteilen waren in dieser Abundanzklasse zusammengefasst drei Taxons relevant für die Hochlastfaulung: GB ID *bin\_9* (*Clostridiales*),

*bin\_6* (*Methanosarcina*), *bin\_39* (*Methanothermobacter*), *bin\_179* (hybrid), *bin\_91* (*Bactria*) und *bin\_520* (hybrid).

In der niedrig-abundanten Klasse sind 8 Spezies aufgefallen, unter denen sich auch wiederum zwei Archaeaen befanden, allerdings ohne weitere Eingruppierung (*Euryarchaeota*: GB IDs *bin\_8* und *bin\_38*). Gemessen an der kürzesten Verweildauer und den Populationsanteilen wurde in dieser Abundanzklasse auch nur eine relevante Spezies identifiziert: GB ID *bin\_415* (*Clostridiales*).

Außerdem wurden Leitorganismen für die HLF identifiziert. Eine Übersicht der 9 identifizierten Leitorganismen für die Hochlastfaulung ist in Tabelle 22 zu finden. Dargestellt sind die durchschnittlichen Populationsanteile aus den 3 Replikaten zum Endzeitpunkt der Versuche nach 220 Tagen in der Hochlastfaulung (HLF) sowie in der REF.

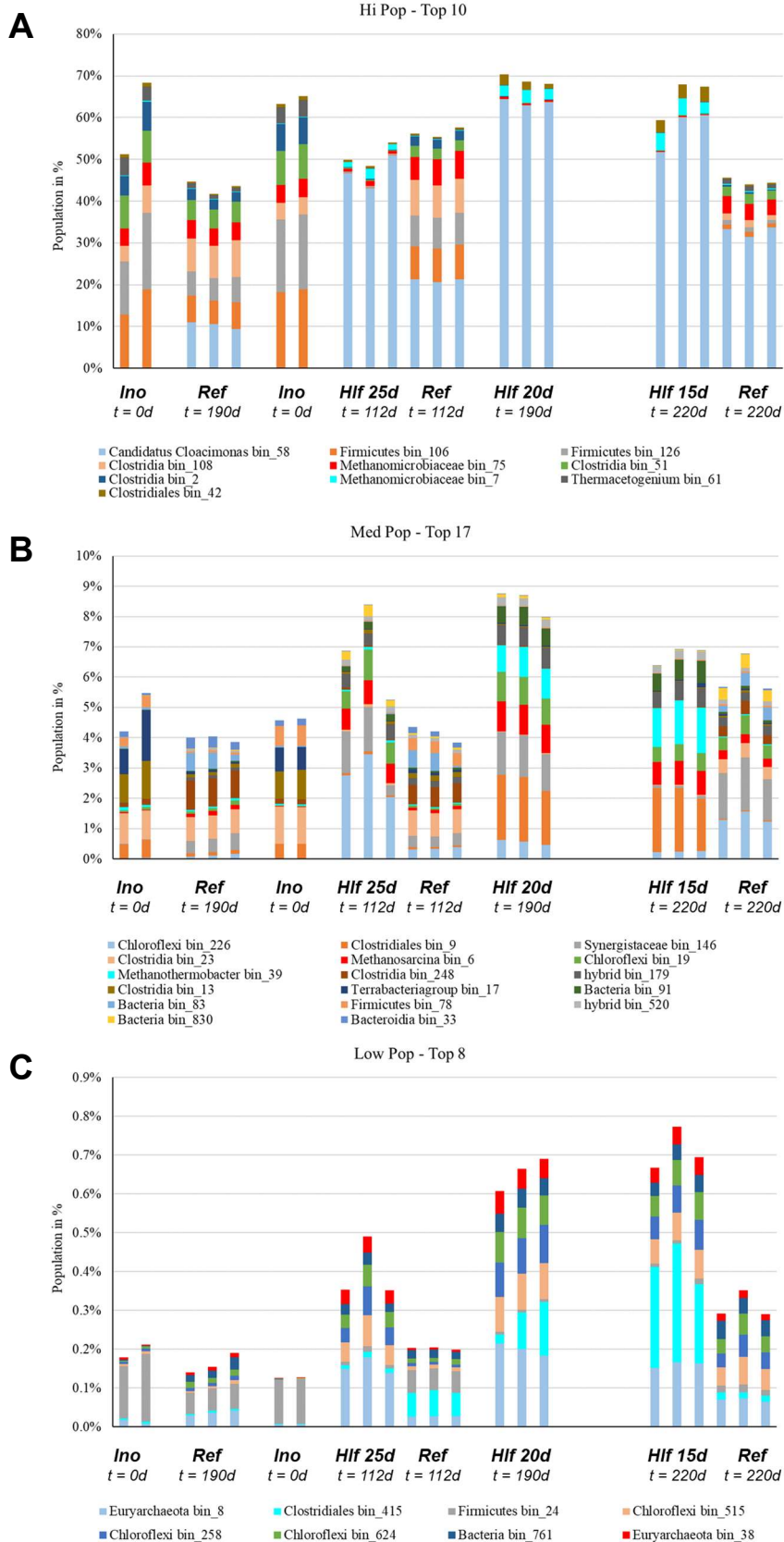


Abbildung 51: Populationsdynamik der 35 identifizierten Spezies aufgeteilt in die Abundanzklassen. (A) Populationsanteile der 10 hoch-abundanten Spezies. (B) Populationsanteile der 17 mittel-abundanten Spezies. (C) Populationsanteile der 10 niedrig-abundanten Spezies. Hlf = Hochlastfaulung; Ref = Referenzanlage; Ino = Inokulum.



Tabelle 22: Übersicht der 9 identifizierten Leitorganismen in der Hochlastfaulung. Dargestellt sind die durchschnittlichen Populationsanteile aus den 3 Replikaten zum Endzeitpunkt der Versuche nach 220 Tagen im Referenzreaktor (Ref) und in der Hochlastfaulung (Hlf)

Abundance class	Taxon	GB ID	Hlf (15d)	Ref (70d)
MidPop	Bacteria	bin_91	0.65%	0.09%
HiPop	Candidatus Cloacimonas	bin_58	57.40%	32.86%
HiPop	Clostridiales	bin_42	3.30%	0.37%
MidPop	Clostridiales	bin_9	1.97%	0.04%
LowPop	Clostridiales	bin_415	0.26%	0.02%
MidPop	hybrid	bin_179	0.57%	0.30%
MidPop	hybrid	bin_520	0.23%	0.14%
HiPop	Methanomicrobiaceae	bin_7	3.59%	0.19%
MidPop	Methanosarcina	bin_6	0.78%	0.29%

Die Klasse der sehr niedrig-abundanten Spezies (< 0,01 %) wurden hier nicht weiter betrachtet, da sie zum einen im Bereich des Hintergrundrauschens der bioinformatischen Klassifizierung quantifiziert wurden und zum anderen davon auszugehen ist, dass sie mit diesen Anteilen kaum einen Einfluss auf das Gesamtsystem ausüben können.

## 2.11 Untersuchung des Effektes von Rindergülle

Um den Einfluss von Rindergülle auf die Leistungsfähigkeit der Hochlastfermentation im Vergleich zu ihrem Einfluss auf die Leistungsfähigkeit der herkömmlich betriebenen Biogasanlage zu quantifizieren, wurde für einen ausgewählten Betriebspunkt Rindergülle als Cosubstrat mit dem bisherigen Substrat (Maissilage) in den beiden Biogasanlagen (Hochlastverfahren sowie herkömmliches Verfahren) untersucht. Dazu wurde über einen ausreichend langen Zeitraum Rindergülle zusammen mit dem bisherigen Substrat in den beiden kontinuierlich betriebenen Biogasanlagen als Cosubstrat zugesetzt. In der HLF wurde die Verweilzeit von 15 Tagen und in der REF weiterhin die Verweilzeit von 70 Tagen untersucht.

Mit der Covergärung von Rindergülle und Maissilage ab der Fermentationszeit von 454 d stieg der pH-Wert in der HLF allmählich auf 7 an (Abbildung 20). In der REF mit der Verweilzeit von 70 Tagen blieb der pH-Wert konstant bei etwa 7,2 (Abbildung 20). Auch die Ammoniumkonzentration stieg erwartungsgemäß im Verlauf der Zudosierung des Cosubstrats in beiden Biogasanlagen an (Abbildung 21).

In Abbildung 52 sind die Ergebnisse der Analysen der Trockenrückstandszusammensetzung in prozentualen Anteilen am Trockenrückstand (lyophilisiert) für lipophile Substanzen, Pektine, Hemicellulosen, Cellulosen, Lignin vergleichend für beide Anlagen für die Verweilzeiten von 15 d und für 70 d jeweils für die Monofermentation von Maissilage und für die Covergärung mit Rindergülle vergleichend dargestellt. Die Proben wurden jeweils im stationären Zustand aus dem Auslauf der Biogasanlagen entnommen.

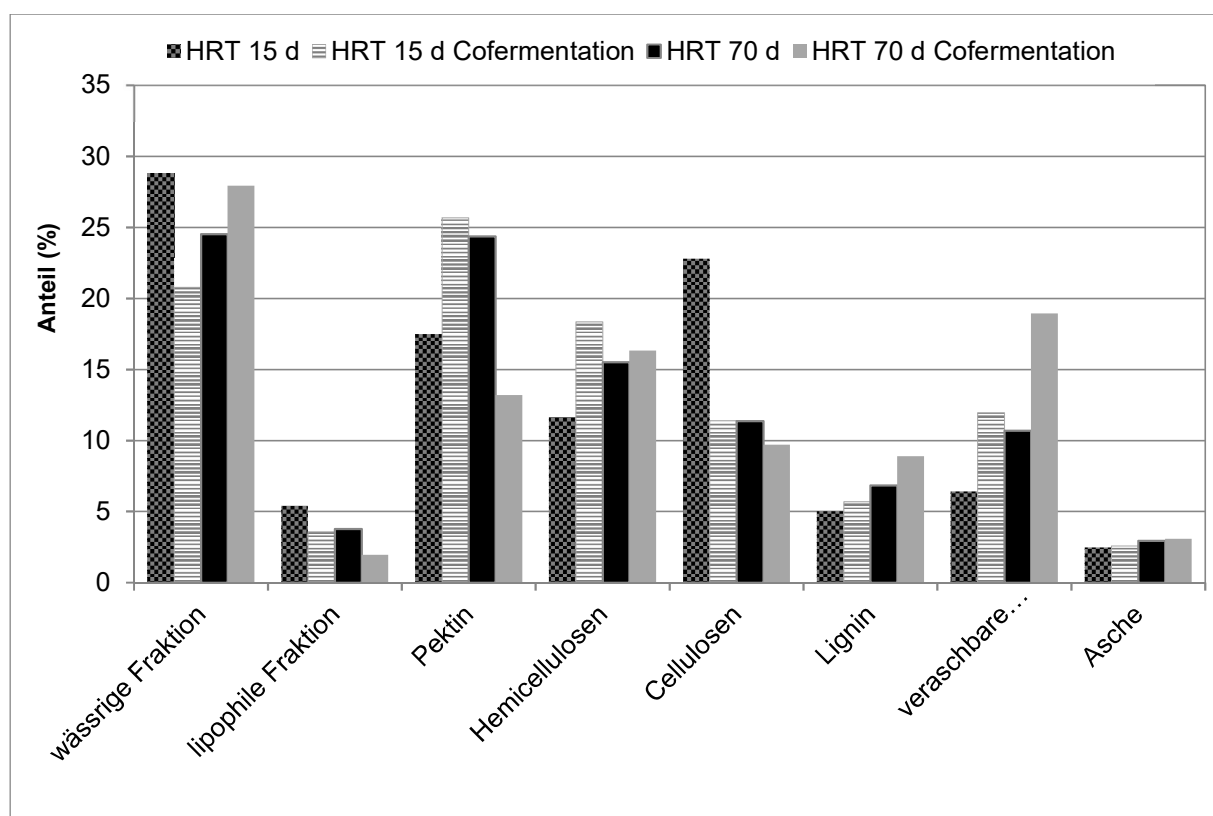


Abbildung 52: Inhaltsstoffe (% des gefriergetrockneten Rückstands) der Gärreste aus der HLF mit HRT von 15 d und aus der REF mit HRT von 70 d jeweils für die Monofergärung von Maissilage im Vergleich zur Covergärung mit Rindergülle (in Anlehnung an Datta 1981).

Die Anlagen wurden hinsichtlich der Biogasausbeute sowie des Abbaugrades ausgewertet und der Einfluss von Rindergülle hinsichtlich dieser Parameter auf die beiden Betriebsweisen verglichen.

Es zeigte sich, dass die Biogasbildung deutlich mehr Schwankungen zeigte, als bei der Monovergärung von Maissilage. Als Ursache dafür könnte die hohe Konzentration an anaeroben Mikroorganismen im Vorratsgefäß in Betracht kommen.

In Tabelle 23 sind die Ergebnisse für die Produktivitäten, die Ausbeuten und den Abbaugrad jeweils vergleichend für die Monovergärung und die Covergärung für die zwei Verweilzeiten 15 d in der HLF und 70 Tage in der REF zusammengefasst.

Tabelle 23: Vergleich der Covergärung von Rindergülle und Maissilage mit der Monovergärung von Maissilage für die zwei Verweilzeiten von 15 d in der HLF und für 70 d in der REF.

	HLF: HRT 15 d		REF: HRT 70 d	
	Monovergärung	Covergärung	Monovergärung (1)	Covergärung
OLR (g/l*d)	5,8	6,27	1,2	1,34
Biogausausbeute (NL/kg oTR <sub>input</sub> )	545	472	682	614
Methanausbeute (NL/kg oTR <sub>input</sub> )	284	250	345	313
Biogasproduktivität (NL/L*d)	3,17	2,96	0,86	0,83
Methanproduktivität (NL/L*d)	1,65	1,57	0,44	0,42
Abbaugrad (%) (mit Biogas berechnet)	72	62	89	81

(1) Mittelwerte aus den Ergebnissen mit S1

Trotz gleicher Verweilzeiten und jeweils etwas höherer organischer Raumbelastungen OLR mit dem Cosubstrat Rindergülle waren sowohl die Produktivitäten als auch die Biogausausbeuten für die Covergärung etwas geringer als für die Monovergärung von Maissilage.

In Abbildung 53 und Abbildung 54 sind die Ergebnisse für die Biogausausbeute bzw. die Biogasproduktivität jeweils einzeln vergleichend dargestellt für die beiden Verweilzeiten 15 d und 70 d für die Monovergärung im Vergleich mit der Covergärung. In Abbildung 55 sind die Biogasproduktivität sowie Biogausausbeute als Funktionen der hydraulischen Verweilzeit HRT für die Monovergärung von Maissilage im Vergleich mit der Covergärung von Rindergülle für die Verweilzeit von 15 d in der HLF sowie für die Verweilzeit von 70 d in der REF dargestellt. Es zeigte sich, dass die Biogasproduktivität in der HLF mit 15 Tagen Verweilzeit und einer OLR von etwa 6,3 g/l\*d bei etwa 3 NL/L\*d lag im Gegensatz zur REF mit der Verweilzeit von 70 Tagen und einer OLR von etwa 1,3g/l\*d, in der die Biogasproduktivität bei nur 0,8 NL/L\*d lag.

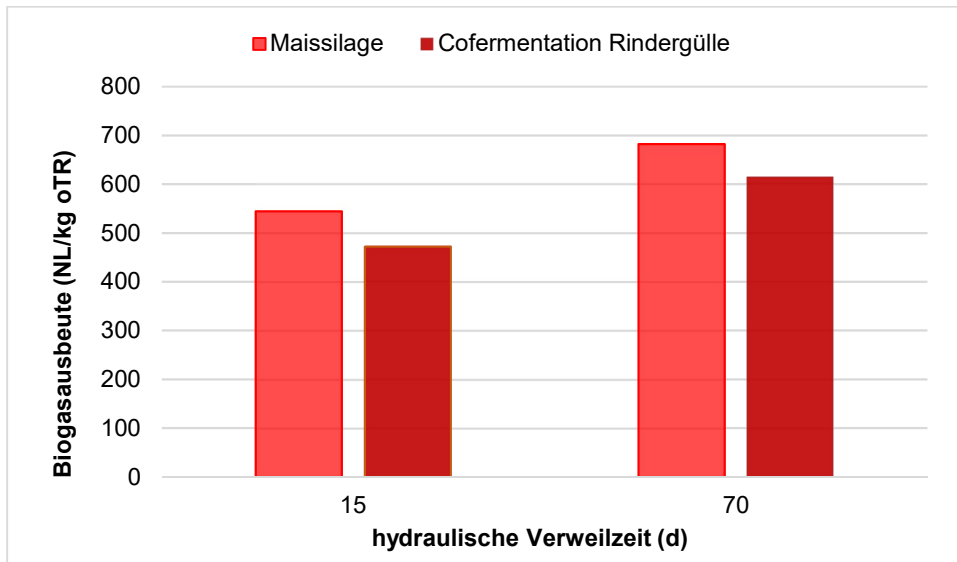


Abbildung 53: Biogasausbeute für die Verweilzeit 15 d in der HLF sowie für die Verweilzeit von 70 d in der REF vergleichend für die Monovergärung von Maissilage und die Cofermentation mit Rindergülle.

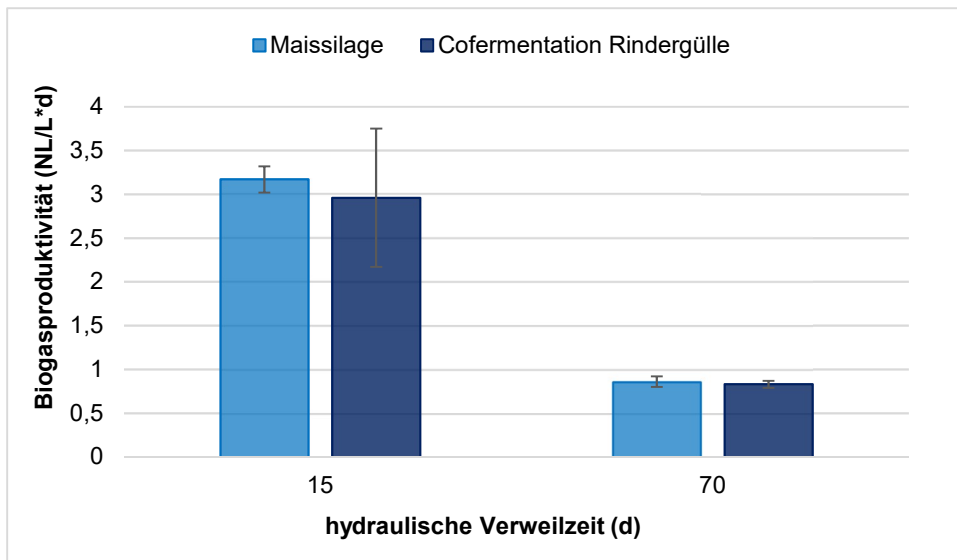


Abbildung 54: Biogasproduktivität für die Verweilzeit 15 d in der HLF sowie für die Verweilzeit von 70 d in der REF vergleichend für die Monovergärung von Maissilage und die Cofermentation mit Rindergülle.

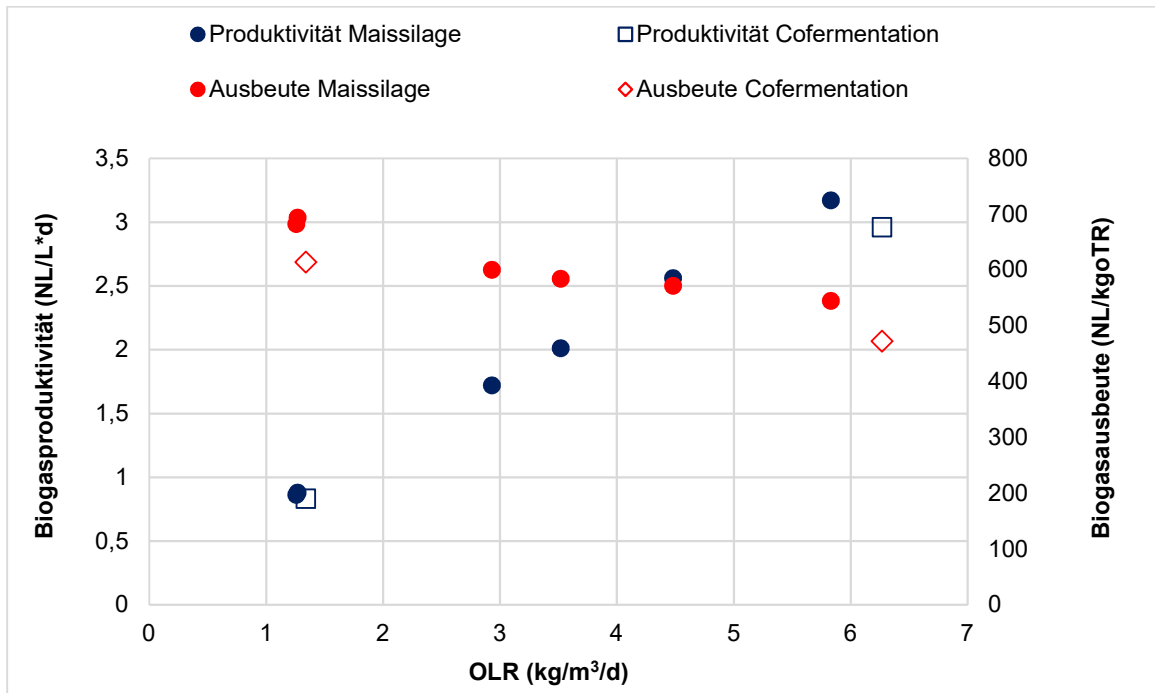


Abbildung 55: Biogasproduktivität sowie Biogasausbeute als Funktion der organischen Raumbelastung für die Monovergärung von Maissilage im Vergleich mit der Covergärung von Rindergülle

## 2.12 Übertragbarkeit auf bestehende Anlagen

Anhand der erarbeiteten Ergebnisse wurde die Übertragbarkeit dieser Verfahrensweise auf bestehende Biogasanlagen prognostiziert. Dabei wurde das Ziel verfolgt, die Ergebnisse in Bezug zu setzen zu bestehenden Biogasanlagen.

Die Effizienz von Biogasanlagen hängt von verschiedenen Faktoren ab. Die Art des Substrates und die Substratmischung und -zusammensetzung legt den maximal möglichen Biogasertrag fest. Für die Biogasanlagen ist zum einen eine optimale Substratausnutzung von großer Bedeutung. Neben einer vollständigen Substratausnutzung wird jedoch zum anderen auch die optimale Auslastung der Biogasanlage als Voraussetzung für einen wirtschaftlichen Erfolg angesehen (vTI, 2009). Das bedeutet, dass beides für einen wirtschaftlichen Betrieb der Biogasanlagen notwendig ist. Außerdem gilt es, Biogasverluste so gering wie möglich zu halten. Insofern wäre die Übertragbarkeit der Hochlastfaulung in die Praxis von großem Interesse.

Bei der Betrachtung der Übertragbarkeit der Ergebnisse, die mit kurzen Verweilzeiten erzielt wurden, in die Praxis wurden folgende Punkte als wesentlich betrachtet:

- Verfahrensweise
- Verfahrenstechnik
- Betriebsparameter

### 2.12.1 Verfahrensweise

Die überwiegende Anzahl der bundesweit erfassten Biogasanlagen in Deutschland arbeiten in mehrstufiger Verfahrensweise in stehenden Reaktorsystemen sowie mit Nassvergärung. 82 % der Anlagen arbeiten mit mesophiler Betriebsweise. Maissilage ist das häufigste Substrat unter den nachwachsenden Rohstoffen und Rindergülle das häufigste Substrat unter den Wirtschaftsdüngern. Insofern entspricht die Auswahl der hier untersuchten Substrate den Substraten, die in der Praxis am Häufigsten eingesetzt werden. Die Verweilzeit der im Biogasmessprogramm untersuchten 62 Anlagen (vTI, 2009) liegt für die überwiegende Mehrzahl der Anlagen bei mindestens 50 Tagen. Sie werden mit oTR-Gehalten von etwa 10 % oTR bis etwa 30 % oTR betrieben. Oft erfolgt eine Rückführung des flüssigen Gärrestes, um den Fermenterinhalt rührfähig zu halten. Im Folgenden werden einzelne Aspekte gesondert betrachtet.

#### **Einstufige Nassvergärung mit Anmaischen und Zerkleinerung des Substrats:**

Die Untersuchungen wurden nach dem Prinzip der Nassvergärung durchgeführt. Das Substrat wurde zerkleinert und mit Wasser verdünnt. So wurde zum einen die Partikelgröße reduziert und zum anderen eine hohe Viskosität vermieden, so dass die Rührfähigkeit und die Durchmischung des Substrates mit den Mikroorganismen gewährleistet war. Die Voraussetzungen zum schnellen Stoffübergang waren hier gewährleistet. Auch Biogasanlagen arbeiten mit Einrichtungen zur Desintegration oder Zerkleinerung der Substrate, mit dem Ziel, eine bessere Substratausnutzung zu erreichen und die Biogasausbeute zu erhöhen. Denn die Zerkleinerung hat Einfluss auf die Biogasbildung. Die Zerkleinerung wird bereits in Praxisanlagen durchgeführt und kann somit auf die Biogasanlagen übertragen werden.

Allerdings ist der oTR-Gehalt der Substrate und der Gärreste in der Praxis deutlich höher, als in den hier vorliegenden Untersuchungen. Die Gärreste von Biogasanlagen, die hier untersucht wurden, zeigten oTR-

Konzentrationen, die zwischen 2,7 % und 7 % lagen (Abbildung 2). Die in den vorliegenden Untersuchungen verwendeten relativ geringen oTR-Konzentrationen im Zulauf von etwa 8,5 % oTR waren zum einen notwendig, um die vergleichsweise geringen Durchmesser der Rohrleitungen von Verstopfungen frei zu halten. Allerdings wurde durch die Verdünnung mit Wasser anstatt mit flüssigem Gärrest auch vermieden, dass Anorganik bzw. nicht abbaubare Organikanteile im Kreis gefahren wird, die auch die Viskosität ungünstig beeinflussen würde. Die Viskosität der Substrate sollte einen ausreichend schnellen Stoffübergang nicht behindern. Es muss ein Optimum gefunden werden, für den Anteil der Flüssig-Gärreste, der zurückgeführt wird, bzw. für den Anteil mit Wasser, der zur Homogenisierung eingesetzt werden soll.

### **Prozesstemperatur**

Die thermophile Betriebsweise kommt bisher nur in wenigen Anlagen zum Einsatz. Bei thermophilen Bedingungen liegen höhere Abbaugeschwindigkeiten vor als bei mesophilen Bedingungen. Insofern scheint eine Kombination von kurzen Verweilzeiten, die hier eingestellt wurden und die höhere Abbaugeschwindigkeiten erfordern, mit einer thermophiler Betriebsweise sinnvoll. Bei zunehmender Raumbelastung erfolgt so gegebenenfalls der Rückgang der Biogasausbeute aufgrund des schnelleren Abbaus bei thermophilen Bedingungen weniger stark im Vergleich zu mesophilen Temperaturen. Oder er bleibt im besten Fall ganz aus.

### **Anzahl der Prozessstufen**

60 % der bundesweit erfassten Biogasanlagen sind bereits zweistufig ausgelegt. Nur 30 % der Anlagen arbeiten mit einstufiger Betriebsweise (vTI, 2009). Die Ergebnisse wären insofern in die Praxis übertragbar, dass eine Hochlaststufe mit geringem Volumen und hohem Durchsatz in Kombination mit einer zweiten nachgeschalteten Stufe installiert wird. Für die zweite Stufe wäre eine Temperierung sowie eine Durchmischung vorzusehen. Die zweite Stufe wäre ebenfalls mit kurzen Verweilzeiten zu betreiben. Denn es zeigte sich in diesen Untersuchungen bei der Bestimmung des Restgaspotentials, dass die Biogasrate schon in den ersten fünf Tagen von anfänglich etwa 3000 mL/d auf etwa 500 mL/d deutlich zurückging (Abbildung 40). Im weiteren Verlauf ging sie von etwa 100 mL/d nach 20 d auf unter 50 mL/d zurück schon nach 25 d Fermentationsdauer. Somit lag das Restgaspotential zu diesem Zeitpunkt schon deutlich unter 1% und erfüllt somit die Voraussetzungen für das Gärprodukt.

### **Fütterungsmanagement: Quasikontinuierliche Fütterung**

Bei kurzen Verweilzeiten und hohen Raumbelastungen ist eine gleichmäßige Zudosierung von Substrat zu gewährleisten. So ist es unbedingte Voraussetzung, dass das Substrat kontinuierlich oder quasikontinuierlich zugegeben wird (Schäfer, 1998). Stoßbelastungen sind zu vermeiden. Denn stoßweise Belastungen führen bei gleicher organischer Raumbelastung zur Akkumulation von Säuren, wohingegen bei kontinuierlichem bzw. quasikontinuierlichem Fütterungsmanagement bei gleicher organischer Raumbelastung eine Akkumulation von Säuren vermieden wird (Eder und Schulz, 2006).

In 35 % der Biogasanlagen bundesweit erfolgt die Substratzufuhr 20 – 25 mal täglich. Nur 10 % haben eine häufigere Beschickung mit >25 mal pro Tag. In mehr als 50 % der Biogasanlagen erfolgt die Substratzufuhr zwischen einmal und 20 mal täglich (vTI, 2009). In den hier vorliegenden Untersuchungen erfolgte bei der kürzesten Verweilzeit von 15 Tagen, die auch dem höchsten Durchsatz entsprach, die Fütterung in einem regelmäßigen Intervall von 41 Minuten (Tabelle 10). So kann die Stoßbelastung, die sich bei hohen Durchsätzen mit geringer Anzahl von Fütterungsereignissen ergeben würde, vermieden werden.

### **Supplementierung mit Spurenelement- und Vitaminlösung**

Um Mangel an Spurenelementen, der oft für die Monovergärung von Maissilage beschrieben wurde, auszuschließen, wurden diese Untersuchungen zur Monovergärung von Maissilage bei kurzen Verweilzeiten mit Supplementierung von Spurenelementen und Vitaminlösung durchgeführt. Auch Nährstoffzudosierung ist bei Biogasanlagen im Bestand schon realisiert. Die Biogasanlagen 4 und 5, aus denen die Gärreste 9 und 10 abgeholt wurden zum Screening eines Inokulums (Tabelle 1), gaben bereits aktuell schon Supplementlösung zur Vergärung dazu.

### **pH-Statisierung**

Die hier vorliegenden Untersuchungen wurden ohne pH-Statisierung durchgeführt. Der pH-Wert wurde zur Kontrolle jedoch regelmäßig gemessen. Eine Korrektur des pH-Wertes war im störungsfreien Dauerbetrieb nicht nötig. Lediglich einmal, während des Betriebs mit der Verweilzeit von 15 Tagen kam es aufgrund einer vorübergehenden Füllstandsabsenkung zum raschen Absinken des pH-Wertes. Dieser wurde dann durch Laugenzugabe korrigiert. Das bedeutet, dass eine Messung des pH-Wertes und eine Einrichtung zur Laugenzugabe, die nur im Bedarfsfall eingesetzt werden müsste, in der Praxisbiogasanlage als Sicherheitseinrichtung vorgesehen werden sollten.

## **2.12.2 Verfahrenstechnik**

Von den vier Verfahrensschritten Substratmanagement, Biogasgewinnung, Gärrückstandslagerung und Biogasspeicherung/-verwertung lag der Fokus bei der Betrachtung der Übertragbarkeit hier beim Anlagenbau zur Biogasgewinnung.

- In den vorliegenden Untersuchungen wurden hohe Methanproduktivitäten von bis zu 1,65 NL/L\*d erzielt. Die Produktivitäten von etwa 70 % der Praxis-Biogasanlagen lagen unter 1,1 NL/L\*d, in nur etwa 30 % der Biogasanlagen lag die Methanproduktivität > 1,1NL/L\*d (vTI, 2009). Bei hohen Biogasproduktivitäten muss allerdings gewährleistet sein, dass Voraussetzungen gegeben sind, die einen schnellen Biogasaustritt aus dem Gärgut und der Biogasanlage ermöglichen. Nur so kann ein Aufschäumen des ganzen Reaktorinhalts aufgrund des verzögerten Austritt des Biogases und aufgrund einer zu geringen Gasaustrittsfläche vermieden werden. Bei eiförmigen Reaktorgeometrien mit zu kleiner Gasaustrittsfläche über den vergleichsweise kleinen Querschnitt der Fermenteroberfläche könnte eine zu hohe Gasproduktion dazu führen, dass der Reaktorinhalt auf- und im weiteren Verlauf überschäumt. Die Fermenterinhaltsoberfläche muss groß genug sein, um dem gebildeten Biogas in der Hochlastfäulung einen schnellen Austritt aus dem Fermenterinhalt zu ermöglichen.
- In den vorliegenden Untersuchungen wurden keine weiteren Einbauten eingesetzt, um geeignete Mikroorganismen zurückzuhalten. Das bedeutet, dass die Rückhaltung der geeigneten Mikroorganismen allein durch die Einstellung der Durchsätze erreicht wurde. Das würde die Übertragbarkeit in die Praxis begünstigen. Denn die überwiegende Anzahl der Biogasanlagen besteht aus einem schlichten Fermenter und einem Nachgärer (Stenull, 2017). Die Zusammensetzung der



Mikroorganismen wurde hier allein zunächst durch das eingesetzte Inokulum, das Monosubstrat Maissilage sowie im weiteren Verlauf durch die Durchsätze bestimmt.

- Die Durchmischung erfolgt in den Biogasanlagen im Bestand meist über außenliegende Umwälzungen, kombiniert mit Rührwerken z. B. meist Tauchmotorrührwerke. Z. T. werden auch Langachsührwerke eingesetzt. In den vorliegenden Untersuchungen wurden Schlaufenreaktoren eingesetzt, die auch bei der Hochlastvergärung von Klärschlämmen auf Kläranlagen schon erfolgreich Anwendung finden. Die Übertragbarkeit auf die Vergärung von NaWaRos scheint aufgrund dieser Untersuchungen im Technikumsmaßstab gegeben. Allerdings ist dafür die Bereitschaft des Anlagenbaus notwendig, diese Technik für NaWaRos anzubieten. Denn der Bau von Neuanlagen ging in jüngster Vergangenheit deutlich zurück und es wurden aktuell nahezu keine neuen Biogasanlagen in Betrieb genommen. Vor diesem Hintergrund muss die die Bereitschaft für Innovationen im Anlagenbau gesehen werden. Denn in der herkömmlichen Anlagentechnik zur Biogasgewinnung erfolgt die Durchmischung bisher meist nach anderen Prinzipien.
  
- Für die Übertragbarkeit in die Praxis ist eine messtechnische Ausrüstung der Biogasanlagen zur Überwachung des Anlagenbetriebs und zur Überwachung des Prozesses eine entscheidende Voraussetzung. Messparameter, wie z. B. die kontinuierliche und engmaschige Messung der Biogasproduktion, die Erfassung der zuverlässigen und ausreichenden Durchmischung, sowie die Sicherstellung einer zuverlässigen Temperierung zu beachten. Dies kann als unbedingte Voraussetzung für eine Übertragbarkeit der hohen Durchsätze und eines Betriebs mit hoher Auslastung des Fermentervolumens durch hohe Produktivitäten angesehen werden. So können gegebenenfalls mögliche Prozessstörungen in der Verfahrenstechnik zeitnah detektiert werden, um auf diese Weise daraus resultierende, mögliche Störungen des Biogasprozesses zu vermeiden. Denn durch unmittelbares Erkennen der Störung kann unmittelbar eine Reaktion erfolgen. Meist ist die messtechnische Ausstattung bei kommerziellen Biogasanlagen jedoch deutlich geringer als bei der für diese Untersuchungen eingesetzten Technikumsanlage [vti, 2009]. Häufig wird noch nicht einmal die produzierte Menge Biogas bestimmt, sondern lediglich der Strom, der nach dem BHKW in das Stromnetz eingespeist wird, oder das aufgereinigte Methan, das in das Erdgasnetz eingespeist wird. Nur 70 % der bundesweit erfassten Biogasanlagen verfügen über eine Gasmengenerfassung (vti, 2009). Die Substratmenge, die gepumpt wird, wird meist nur ungenau und bei lediglich etwas mehr als 50 % der Biogasanlagen erfasst. Die Zugabe der festen Substrate werden immerhin bei ca. 80 % der Biogasanlagen über Wiegeeinrichtungen aufgenommen und dokumentiert (vti, 2009). Eine Erfassung und hinsichtlich der Menge und des Zeitpunkts gezielte Zugabe der Substrate ist jedoch unbedingte Voraussetzung.

Die baulichen Gegebenheiten scheinen die Etablierung der Hochlastfäulung bei bestehenden Anlagen bisher nicht zu begünstigen. Die hohen Anforderungen an Durchmischung sowie die Kontrolle des Prozesses durch Messtechnik sind nur selten gegeben. Der wirtschaftliche Druck, und der Fakt, dass Anlagen im Bestand zukünftig nach dem herkömmlichen Betrieb kaum noch wirtschaftlich betrieben werden können, kann jedoch großen Einfluss auf die zukünftige Entwicklung des Biogasanlagenbetriebs und die Entwicklung des Anlagenbaus haben, so dass neben der flexiblen Betriebsweise von Biogasanlagen auch eine anspruchsvollere Anlagen- und Messtechnik als

Voraussetzung für eine hohe Produktivität neue Möglichkeiten schaffen und zu einem Umdenken führen.

### 2.12.3 Betriebsparameter

#### Hydraulische Verweilzeit

Die Verweilzeiten sind in der Praxis deutlich höher als in den hier vorliegenden Untersuchungen. Diese sind zum einen auch dem Bedürfnis nach Betriebssicherheit geschuldet. Auch werden lange Verweilzeiten meist auch als Voraussetzung für stabile Prozesse und hohe Biogausausbeuten angesehen. So sind die Verweilzeiten in der Praxis in einstufigen Prozessen bei mindestens 40 Tagen meist aber über 50 Tagen. Für mehrstufige Prozesse liegen sie nicht selten bei über 100 Tagen. Dazu sind zum anderen aber auch rechtliche Vorgaben verantwortlich. Nach dem EEG ist aus Emissionsschutzgründen eine hydraulische Verweilzeit von 150 Tagen in gasdichten Behältern für Biogasanlagen vorgeschrieben. Diese Zeit umfasst die eigentliche Biogasproduktion im Fermenter und den anschließenden Aufenthalt im Gärrestbehälter. Alternativ kann auch das Restgaspotential von maximal 1 % herangezogen werden. Diesen Untersuchungen zufolge wären dann deutlich geringere Verweilzeiten in gasdichten Behältern ausreichend. Eine Verkürzung der hydraulischen Verweilzeiten im Gärprozess wäre aufgrund der hier vorliegenden Ergebnisse möglich und im Sinne einer wirtschaftlichen Betriebsweise angeraten. Denn die Stromproduktivität und der Nettoenergiegewinn können dadurch deutlich erhöht werden (Tabelle 16).

Die hohe Lagerkapazität für Gärreste wird jedoch aktuell auch noch aufgrund der Düngemittelverordnung benötigt, die aufgrund der jahreszeitlich bedingten eingeschränkten Ausbringung diese Kapazität zur Lagerung der Gärreste vorschreibt. Die Realisierung kleiner Fermentervolumina für den Betrieb mit kurzen Verweilzeiten könnte um einen weiteren Verfahrensschritt zur Nährstoff- bzw. Stickstoffrückgewinnung aus dem Flüssiggärrest erweitert werden. Denn nur in dieser Kombination wäre ein Verzicht auf große Fermentervolumina bzw. Lagervolumina auch aus Sicht der Düngemittelverordnung möglich.

#### Organische Raumbelastung

Während die Technikumsanlage bei einer Verweilzeit von 15 Tagen mit einer organischen Fracht von 5,83 kg oTR/ l\*d betrieben wurde, sind in der Praxis Werte von 2 bis 4 kg oTR/ l\*d realisiert (vTI, 2009). Für herkömmliche Biogasanlagen werden an anderer Stelle organische Raumbelastungen von durchschnittlich 2,6 kg oTS/(m<sup>3</sup>-d) angegeben, wobei mit zunehmender Anlagengröße die Raumbelastung ansteigt auf etwa 3,7 - 3,8 kg oTS/(m<sup>3</sup>-d) (Stenull, 2017). Nach Mähnert (2007) wird jedoch der Einbruch des Biogasprozesses für die mesophile Monovergärung von Maissilage schon ab einer organischen Raumbelastung von etwa 3,8 kg/m<sup>3</sup>\*d beschrieben. In den vorliegenden Untersuchungen wurden für die Monovergärung von Maissilage Raumbelastungen untersucht von maximal 5,8 g/l\*d. Wesentlich für das Erreichen dieser Raumbelastung war einerseits die regelmäßige Fütterung in kurzen Intervallen, die Vermeidung von Stoßbelastungen sowie eine konstante Temperierung und eine zuverlässige Durchmischung der Hochlastfaulung. Außerdem war die Messtechnik entscheidend bei der Detektion von Störungen. Durch Messung und Aufzeichnen des zeitlichen Verlaufs der Biogasproduktion können frühzeitig Änderungen in der Biogasbildung erkannt werden. So können unmittelbar Reaktionen erfolgen, die zur Behebung der Störung beitragen und größere Schäden durch Biogaseinbußen verhindern. Der Messtechnik kommt so beim Betrieb der Biogasanlage an der Lastgrenze eine erhebliche Bedeutung zu und ist unabdingbar.

Andererseits war für das Erreichen dieser Raumbelastung auch das eingesetzte Inokulum mit seiner geeigneten Mikroorganismenzusammensetzung von großer Bedeutung. Das Inokulum wurde durch das Screening zu Beginn des Vorhabens und der Untersuchungen aufgrund der höchsten ermittelten Biogasausbeute mit der höchsten Biogasrate ausgewählt. Anschließend wurde durch eine geeignete Inbetriebnahme, die sich durch ein vergleichsweise rasches, aber sukzessives Erhöhen des hydraulischen Durchsatzes auszeichnete, die Mikroorganismenpopulation an die kurzen Verweilzeiten adaptiert. Ob die hier erreichten Ergebnisse hinsichtlich eines stabilen Biogasprozesses mit konstanter und hoher Produktivität und vergleichsweise hohen Biogasausbeuten bei hohen Durchsätzen auch mit einem anderen Inokulum, d.h. mit einem Gärrest aus einer anderen Biogasanlage mit deutlich geringerem Ergebnis für die Biogasrate und Biogasausbeute im Screening, möglich wären, wäre noch zu untersuchen. Dies wäre für die Übertragbarkeit in die Praxis von großer Bedeutung. Denn es stehen viele verschiedene Gärreste bei Biogasanlagen im Bestand zur Verfügung, die sich möglicherweise durch sukzessives und reproduzierbares Erhöhen des Durchsatzes auch zu einer entsprechend geeigneten Mikroorganismenpopulation heranziehen ließen. Ob das möglich wäre, bleibt zu untersuchen.

Die hier durchgeführten Untersuchungen wurden mit der kürzesten Verweilzeit von 15 Tagen untersucht und aufgrund von Bedingungen, die der Dimension des Technikumsmaßstabs geschuldet waren, mit einer Maissilage durchgeführt, die zerkleinert und mit Wasser 1:4 verdünnt wurde. Inwieweit die oTR-Konzentration im Substrat bei einer Verweilzeit von 15 Tagen noch erhöht werden könnte, muss untersucht werden. Denn zum einen wird durch höhere oTR-Konzentrationen im Substrat bei gleichbleibend kurzer Verweilzeit die organische Raumbelastung OLR erhöht. Auch dafür wird mit höherer oTR eine maximale Grenze erreicht. Zum anderen wird durch eine höhere oTR-Konzentration in der Substratzufuhr auch die Viskosität erhöht und damit der Stoffübergang beeinflusst.

### **Energieausbeute**

Die durch die hohe HRT bedingte Größe des Fermenters bei Biogasanlagen im Bestand verursacht einen Energiebedarf für die Temperierung, der 20 % bis 80 % der erzeugten Energie entspricht (Rode et al., 2005). Der Nettoenergiegewinn des Prozesses ist somit deutlich reduziert. Mit den hier durchgeführten Untersuchungen wurde für die HLF (HRT 15 d und 20 d) eine deutlich höhere Nettowärmeproduktion berechnet als für die REF (HRT 70 d) (Tabelle 16).

Die Auswertung von Biogasanlagen hinsichtlich der spezifischen Stromerzeugung ergab als mittlerer Wert 1,33 kWh<sub>el</sub>/kg oTS (Stenull, 2017). Mit zunehmender Anlagengröße stieg die spezifische Stromerzeugung an auf 1,44 kWh<sub>el</sub>/kg oTS. Hier wurde mit der Hochlastfaulung und einer hydraulischen Verweilzeit von 15 Tagen bzw. 20 Tagen eine spezifische Stromerzeugung von 1,47 kWh<sub>el</sub>/kg oTR bzw. 1,48 kWh<sub>el</sub>/kg oTR berechnet (Tabelle 15).

## 2.13 Zusammenfassung

In den vorliegenden Untersuchungen wurde der Abbau von Maissilage als Monosubstrat bei verschiedenen hydraulischen Verweilzeiten untersucht. Dazu wurde zunächst ein Screening mit 10 verschiedenen Gärresten durchgeführt hinsichtlich der maximalen Biogasausbeute und der maximalen Biogasrate bei der Vergärung von Maissilage im Batch-Ansatz. So wurde ein Gärrest als Inokulum ausgewählt, mit dem die höchste Biogasausbeute von 694 NL/kg  $\text{oTR}_{\text{input}}$  erzielt wurde sowie die höchste Biogasrate von 420 NL/kg\*d. Mit dem so identifizierten Inokulum wurden zwei Biogasanlagen im Technikumsmaßstab inokuliert.

In den zwei Biogasanlagen wurde anschließend der Abbau von Maissilage als Monosubstrat in einer Hochlastfaulung (HLF), in der sukzessiv kürzere Verweilzeiten von 35 bis 15 Tagen eingestellt wurden, verglichen mit dem Abbau von Maissilage in der Referenzanlage (REF) mit gleichbleibender hydraulischer Verweilzeit von 70 Tagen. So wurden organische Raumbelastungen in der HLF zwischen 2,4 g  $\text{oTR/L*d}$  und 5,8 g  $\text{oTR/L*d}$  sowie 1,3 g  $\text{oTR/L*d}$  in der REF untersucht. Es zeigte sich, dass die HLF bei störungsfreiem Betrieb bis zur untersuchten hydraulischen Verweilzeit von 15 Tagen ohne Akkumulation von Säuren und ohne Einbrüche der Biogasproduktion stabil betrieben werden konnte. Mit einer Verweilzeit von 15 Tagen konnte ein stabiler Betrieb mit konstanter Biogasproduktion von 412 NL/d erreicht werden. So wurden in den kontinuierlichen Untersuchungen für Maissilage Biogasausbeuten erzielt, die zwischen 545 NL/kg  $\text{oTR}_{\text{input}}$  und 688 NL/kg  $\text{oTR}_{\text{input}}$  lagen. Es zeigte sich, dass mit zunehmendem Durchsatz durch Verkürzen der hydraulischen Verweilzeit ein kontinuierlicher Anstieg sowohl für die Biogas-Produktivität als auch für die Methanproduktivität erreicht werden konnte. Die Produktivität lag für Biogas zwischen 1,7 NL/L\*d und 3,2 NL/L\*d in der HLF sowie bei etwa 0,8 NL/L\*d - 0,9 NL/L\*d in der REF. Es zeigte sich auch, dass mit zunehmendem Durchsatz durch Verkürzen der hydraulischen Verweilzeit entsprechend auch für Methan höhere Produktivitäten erreicht wurden. Diese lagen zwischen 0,87 NL/L\*d und 1,65 NL/L\*d in der HLF sowie bei etwa 0,4 NL/L\*d in der REF.

Mit den Mikrobiom-Analysen der 10 verschiedenen Gärreste konnte ein Zusammenhang zwischen der Mikrobiomzusammensetzung und den Substraten der entsprechenden Biogasanlagen festgestellt werden. Für die Mikrobiome aus den kontinuierlichen Untersuchungen konnten sowohl für die eingesetzten Inokula, für die HLF sowie für die REF deutliche Unterschiede zwischen den spezifischen Populationen nachgewiesen werden. Für die Hochlastfaulung konnten Leitorganismen identifiziert werden.

Der Einfluss der Rindergülle als Cosubstrat wurde vergleichend mit der Monovergärung von Maissilage untersucht. Es zeigte sich, dass auch hier die Biogasproduktivität in der HLF mit der Verweilzeit von 15 Tagen mit etwa 3 NL/L\*d deutlich höher lag als die Biogasproduktivität in der REF mit der Verweilzeit von 70 Tagen, die bei 0,83 NL/L\*d lag. Insgesamt waren die Ergebnisse für die Covergärung damit etwas unter den Werten, die mit der Monovergärung erzielt wurden.

Der Vergleich mit Literaturwerten zeigte, dass die Hochlastfaulung HLF bei hohen Raumbelastungen und kurzen Verweilzeiten mit sehr hohen Produktivitäten effizient arbeitete. Die erzielten Biogas- und Methanproduktivitäten ergaben im Vergleich zu Literaturwerten vergleichbar hohe Biogas- und Methanausbeuten. Basierend auf den Ergebnissen und den Vergleichen mit Literaturwerten lag das Optimum zwischen Biogasausbeute und -produktivität zwischen 15 und 20 d Verweilzeit. Wird das Restgaspotenzial

noch berücksichtigt, können bei 15 d Verweilzeit auch hohe Biogasausbeuten bei hoher Produktivität erzielt werden. So ergab sich für die HLF mit einer Verweilzeit von 15 Tagen ein Biogaspotential von 628 NL/g  $\text{oTR}_{\text{input}}$ , das Biogaspotential für die Verweilzeit 20 lag bei 633 NL/g  $\text{oTR}_{\text{input}}$ . Für die REF mit der Verweilzeit von 70 Tagen wurde ein Biogaspotential von 701 NL/g  $\text{oTR}_{\text{input}}$  ermittelt. Im kontinuierlichen Betrieb wäre in einer zweiten Stufe aufgrund von Adaptationsvorgängen mit einem weiteren Anstieg des Abbaugrads und der Biogasbildung für die Hochlastfaulung zu rechnen.

So könnte eine effiziente Praxisbiogasanlage aus einer Hochlastfaulung mit 15 bis 20 d Verweilzeit und einer sich anschließenden zweiten Stufe mit ebenfalls kurzer Verweilzeit bestehen. Allerdings ist für die Umsetzung in die Praxis ein höherer Aufwand hinsichtlich der Messtechnik erforderlich als bei den herkömmlichen Biogasanlagen.

### **3 Verwertung**

#### **3.1 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans**

Der Antragsteller hat Kontakt zu Biogasanlagenbetreibern, mit denen er die hier erzielten Ergebnisse diskutierte. So wurde die Bedeutung dieser Ergebnisse für die Praxis aus Sicht der Anlagenbetreiber bewertet. Im Hinblick auf die Übertragbarkeit der Ergebnisse in die Praxis ergibt sich für zukünftige Anlagen eine zweistufige Verfahrensweise. Der eigentliche Fermenter, also die erste Stufe, wäre als Hochlaststufe mit vergleichsweise kleinem Volumen mit Temperierung und Durchmischung sowie kontinuierlicher Fütterung zu realisieren, in der der überwiegende Anteil des Substrats schnell abgebaut und mit hoher Produktivität zu Biogas umgesetzt wird. Der Ablauf wird anschließend in einem temperierten und durchmischten Nachgärer wiederum mit vergleichsweise hoher Geschwindigkeit weiter zu Biogas umgesetzt. So könnte die Verweilzeit und die Lagerungskapazitäten bei Biogasanlagen drastisch reduziert werden.

Allerdings sind die aktuellen rechtlichen Vorgaben so, dass die Lagerkapazitäten aufgrund der Düngemittelverordnung ausreichend groß sein müssen, um auch jahreszeitlich und witterungsbedingte Verzögerungen bei der Ausbringung der Gärreste überbrücken zu können. Dies könnte umgangen werden, wenn gleichzeitig mit der Installation einer Hochlastfaulung auch verfahrenstechnische Anlagen vorgesehen werden zur Nährstoffreduktion aus den flüssigen Gärresten. So kann der Nährstoffgehalt reduziert und die notwendigen Vorgaben für die Lagerung aufgrund der Stickstoffausbringung in der Landwirtschaft eingehalten werden. So könnten zukünftig die Volumina der Gärrestlager deutlich reduziert werden.

Mit den Untersuchungen wurde die Datenbasis des Fraunhofer IGB hinsichtlich erzielbarer Biogasausbeuten und erreichbarer Produktivitätssteigerungen in kontinuierlichen Verfahren mit vergleichsweise kurzen Verweilzeiten aus verschiedenen Substraten um das Monosubstrat Maissilage erweitert. Diese Datenbasis stellt eine wertvolle Grundlage für Wirtschaftlichkeitsbetrachtungen und Dimensionierung von geplanten Biogasanlagen für hohe Produktivitäten dar. Die Erkenntnisse können in größerem Maßstab angewendet die

Effizienz von NaWaRo-Biogasanlagen entscheidend steigern. Neben Konstruktion und Bau von Biogasanlagen mit verbesserten Reaktorkonzepten kommt in Zukunft auch die Nachrüstung bestehender NaWaRo-Biogasanlagen um eine vorgeschaltete Hochlaststufe in Betracht.

Das Fraunhofer IGB nutzt die erhaltenen Ergebnisse zur Weiterentwicklung von anaeroben Abbauprozessen und Verfahren sowie die Analyse komplexer mikrobieller Populationen basierend auf Metagenom- und Transkriptomsequenzierung.

Die Fraunhofer-Gesellschaft verwertet als gemeinnützige Forschungseinrichtung und in Übereinstimmung mit den Satzungszwecken (Auftragsforschung, Technologietransfer) ihre Ergebnisse nicht durch eigene Produktion oder eigenen Vertrieb. Projektergebnisse des Fraunhofer IGB dienen als Grundlage für weitere Projekte und werden im Übrigen durch Publikationen und Lizenzvergabe an Dritte genutzt und verwertet. Die Ergebnisse werden zur Weiterführung und Stärkung der Forschungsaktivitäten des Fraunhofer IGB auf dem Gebiet der Bioenergie sowie als Grundlage für sich anschließende Industrieprojekte in diesen Bereichen benötigt. Sie stellen für das Fraunhofer IGB einen wichtigen Zwischenschritt auf dem Weg von grundlagenorientierten Arbeiten zur konkreten Umsetzung in die Praxis (Technologietransfer) dar. Die Ergebnisse bilden die Basis für weitere Aufträge z. B. aus der Biogaswirtschaft oder dem Anlagenbau und damit zur konkreten Umsetzung in neue Produkte oder Verfahren. Die Umsetzung der Hochlastfäulung für NaWaRos in den technischen Maßstab kann durch das Fraunhofer IGB angeleitet und wissenschaftlich begleitet werden

Das Fraunhofer GB hat darüber hinaus die gewonnenen Erkenntnisse in der wissenschaftlichen Fachpresse und auf Kongressen publiziert und über Bachelor- und Masterarbeiten zur Ausbildung von qualifiziertem wissenschaftlich-technischem Nachwuchs beitragen.

### **3.2 Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende bzw. Aussichten für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung der Ergebnisse**

Das Projekt trägt dazu bei, dass das Know-How hinsichtlich des Substratspektrums für die Hochlastfäulung und so die Kompetenz des Antragstellers im Bereich NaWaRo erweitert wird. Im Rahmen des Projektes wurden Studenten als Hilfwissenschaftler eingebunden, so dass die Erkenntnisse auf diesem Weg direkt an den wissenschaftlichen Nachwuchs übergehen.

Zur Umsetzung der Ergebnisse mit der Hochlastfäulung für NaWaRos wäre einer der nächsten Schritte der Betrieb einer Pilotanlage, in der die kurzen Verweilzeiten von 15 bzw. 20 Tagen eingestellt werden. In der Pilotanlage kann die OLR weiter erhöht werden, indem hier auch höhere oTR-Konzentrationen im Substrat untersucht werden können, für die der Pilotmaßstab Voraussetzung ist. So kann die Lastgrenze auch für die OLR bei kurzer Verweilzeit mit steigender oTR-Konzentration im Substrat erreicht und ermittelt werden.

Weiterhin wären mit der Hochlastfäulung auch Substratwechsel im nächsten Schritt zu untersuchen. Die hier erzielten Ergebnisse können als Grundlage für ein sich anschließendes Forschungsprojekt verwendet werden, das sich mit der Erweiterung der Hochlastfäulung für NaWaRos zur weiteren Steigerung der Produktivität und Effizienz auf Basis von wechselnden Substraten beschäftigen wird. Dies wäre weiterhin im Technikumsmaßstab mit den hier eingesetzten Technikumsanlagen möglich. Denn bisher wurde der Erfolg der Hochlastfäulung anhand des Modellsubstrats Maissilage ohne Substratwechsel nachgewiesen. So könnte

die Übertragbarkeit der Ergebnisse auch für andere Substrate bzw. auch wechselnde Substrate nachgewiesen werden.

Außerdem wäre weiterhin in einem Forschungsprojekt zu untersuchen, ob die hier erzielten Ergebnisse im Technikumsmaßstab auch mit unterschiedlichen Gärresten als Inokulum reproduzierbar sind. Das Spektrum der Gärreste als Inokulum sollte auf mindestens zwei bis drei verschiedene Gärreste aus unterschiedlichen Biogasanlagen erweitert werden. So könnte ermittelt werden, inwieweit sich verschiedene Mikrobiomzusammensetzungen für den Betrieb einer Hochlastfaulung eignen.

Analysen des Mikrobioms sollten dazu begleitend aus einem breiteren Spektrum von Gärresten aus Biogasanlagen durchgeführt werden, um weitere Zusammenhänge zwischen erfolgreicher und effizienter Substratumsetzung sowie der Mikrobiomzusammensetzung aufzuklären.

### 3.3 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Die Hochlastfaulung ermöglicht hohe Produktivitäten aufgrund der hohen Durchsätze. Dafür sind geringe Fermentervolumina nötig. Allerdings wird dafür eine aufwändigere und umfangreichere Messtechnik als in den herkömmlichen Biogasanlagen benötigt. Dies kann einerseits einen Anschlag für den Anlagenbau bedeuten, der nahezu zum Erliegen gekommen ist. Andererseits kann es auch dazu führen, dass die konservative Betriebsweise weiterhin bevorzugt wird, da der Investitionsaufwand für eine Umsetzung erhöht sind.

Die beschriebenen Arbeiten im Rahmen dieses Projekts und speziell die Untersuchungen der Mikroorganismensysteme werden zweifelsfrei dazu beitragen, dass die Möglichkeiten der Prozesssteuerung von Biogasanlagen ausgebaut und verbessert werden, gerade im Hinblick auf eine Flexibilisierung. Zudem hilft das generierte Wissen auch die Zusammenarbeit mit bestehenden Kunden / Partnern auszubauen und auch neue Projekte im entsprechenden Marktsegment zu beginnen. So könnte man beispielsweise die neun identifizierten High-Performance-Spezies/Leitorganismen aus der Hochlastfaulung (z. B. *Candidatus Cloacimonas bin\_58*) versuchen, zu isolieren und funktional näher zu charakterisieren, um deren Einsatz beispielsweise durch externe Zugabe gezielt zu ermöglichen, z.B. je nach Tageszeit oder nach Strombedarf.

Eine Verwertung der Projektergebnisse soll aber auch durch entsprechende Veröffentlichungen vorangetrieben werden.

## 4 Erkenntnisse von Dritten

Konkrete Projektergebnisse von dritter Seite mit Relevanz für das Holaflo-Projekt sind im Berichtszeitraum nicht bekannt geworden.

## 5 Veröffentlichungen

### Paper

- Anja Grohmann, Yevhen Vainshtein, Ellen Euchner, Christian Grumaz, Dieter Bryniok, Ralf Rabus and Kai Sohn. Genetic repertoires of anaerobic microbiomes driving generation of biogas. *Biotechnology for Biofuels* (2018), 11:255.

### Poster

- Brigitte Kempter-Regel, Steffen Görner, Anja Grohmann, Kai Sohn, Ursula Schließmann (2017): Biogas production from maize with different inocula in batch reactor. III. Conference on Monitoring & Process Control of Anaerobic Digestion Plants 29. – 30. März 2017, Leipzig
- Brigitte Kempter-Regel, Steffen Görner, Anja Grohmann, Christian Grumaz, Hedwig Pilgram, Kai Sohn (2017): Enhanced biogas production from maize: Screening an inoculum. *Progress in Biogas*, 8. – 10. Mai 2017, Hohenheim.
- Brigitte Kempter-Regel, Steffen Görner, Anja Grohmann, Yevhen Vainshtein, Christian Grumaz, Kai Sohn, Ursula Schließmann (2017): The influence of inoculum on biogas production from maize silage, 2. Hammer Bioenergietage, 12. bis 14. September 2017, Hamm.
- Brigitte Kempter-Regel, Anja Grohmann, Nils Jost, Steffen Görner, Christian Grumaz, Kai Sohn (2017): Vergärung von Maissilage: Einfluss der Verweilzeit auf die Biogasbildung und das Mikrobiom. *Biogas in der Landwirtschaft - Stand und Perspektiven 2017*, FNR/KTBL-Kongress vom 26. bis 27. September 2017, Bayreuth.
- Brigitte Kempter-Regel, Nadja Präg, Tobias Zerrer, Christian Grumaz, Kai Sohn (2018): Monofermentation of maize silage: Influence of bovine slurry as co-substrate. *Fortschritt Gülle und Gärrest*, 16. – 18. Oktober 2018, Schwäbisch Hall.

### Abschlussarbeiten (Master- und Bachelor)

- Nils Henning Jost (2017): Untersuchungen zur thermophilen Vergärung von Maissilage als Monosubstrat im kontinuierlichen Prozess. Technische Hochschule Mittelhessen, Campus Gießen, Masterarbeit, 1. November 2017.
- Nadja Präg (2018): Untersuchung des anaeroben Abbaus von Maissilage bei unterschiedlichen Verweilzeiten. Hochschule Esslingen, Bachelorarbeit, 6. April 2018.
- Tobias Zerrer (2018): Vergleich der Biogasbildung beim anaeroben Abbau von Maissilage bei unterschiedlichen Verweilzeiten. Hochschule Esslingen, Bachelorarbeit, 19. September 2018.