

Abschlussbericht

Einsatz einer mikrobiellen Elektrolysezelle auf Basis eines Scheibentauchkörpers zur nachhaltigen Wasserstoffproduktion aus Urin auf der BUGA 2023

von

DVGW-EBI: Harald Horn, Max Hackbarth, Johannes Reiner, Jonas Ullmann

TUHH: Johannes Gescher, Leonie Rominger, Nikolai Jürgensen

DVGW Forschungsstelle am Engler-Bunte-Institut des Karlsruher Instituts für Technologie
Technische Universität Hamburg (TUHH) Technische Mikrobiologie

Förderkennzeichen: L7521121 und L7521122

Laufzeit: 01.09.2021 – 30.04.2024

Die Arbeiten dieses Projekts wurden mit Mitteln
des Landes Baden-Württemberg durchgeführt

Juli 2024



Baden-Württemberg

MINISTERIUM FÜR UMWELT, KLIMA UND ENERGIEWIRTSCHAFT

I Kurze Darstellung

1. Aufgabenstellung

Das beantragte Forschungsvorhaben hat zum Ziel, die in der Machbarkeitsstudie (Horn und Gescher, 2021, Förderkennzeichen L75 20138) ermittelten Rahmenbedingungen für eine großtechnische und mikrobiell katalysierte Wasserstoffproduktion (mikrobielle Elektrolyse) aus Urin, auf der Bundesgartenschau 2023 praktisch umzusetzen (PeePower™¹). Zunächst sollen die Elektrodenmaterialien eines bereits vorhandenen Reaktors so angepasst werden, dass eine möglichst effiziente kathodische Wasserstoffproduktion bei gleichzeitig geringen Materialkosten gewährleistet werden kann. Um die physikalischen und elektrochemischen Parameter für ein optimales Biofilmwachstum zu ermitteln, sollen bereits etablierte und am Engler-Bunte-Institut entwickelte bioelektrochemische Systeme (BES) zum Einsatz kommen. Dazu sollen zu Anfang BES-Fließzellen mit Surrogat, und später mit Urin betrieben werden. Die Arbeiten haben ferner zum Ziel, optimierte Anodenoberflächen zu identifizieren und zu verstehen, welche Organismen den Prozess der Urin-vermittelten Stromproduktion überhaupt antreiben. Aus diesem Verständnis sollen weitere Handlungsanweisungen für die Prozessbedingungen und das Anfahren des Prozesses folgen. Die gewonnenen Erkenntnisse können dann zunächst auf einen Scheibentauchkörper im 10 L Maßstab, und schlussendlich auf das 100 L System übertragen werden. Final soll die Reaktorperipherie für den kontinuierlichen Prozess im 100 L System geplant und die Anlage auf der BUGA 2023 betrieben werden. Über den Verlauf des BUGA-Betriebs hinweg soll eruiert werden, ob und wie sich das Konsortium über längere Zeiträume verhält und entwickelt. Nach dem sechsmonatigen Betrieb auf der Bundesgartenschau soll abschließend die Effektivität des Prozesses analysiert und beurteilt werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die Arbeitsgruppe von Prof. Horn ist am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) angesiedelt und arbeitet auf dem Gebiet produktiver Biofilmprozesse bereits einige Jahre mit der Arbeitsgruppe von Prof. Gescher an der Technischen Universität Hamburg (TUHH) zusammen. Prof. Horn ist zeitgleich Leiter der DVGW-Forschungsstelle (Wasserchemie und Wassertechnologie), die am Engler-Bunte-Institut angegliedert ist.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Projekt konnte wie geplant starten. Aufgrund einer personalbedingten Unterbrechung der Projektarbeit wurden einige Arbeitspakete anders als geplant bearbeitet (siehe dazu Kapitel II.2).

4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Dieser ist in dem Abschlussbericht „Einsatz eines bioelektrischen Systems zur Urinbehandlung auf Großveranstaltungen“ mit dem Förderkennzeichen L7520138 von 2021 beschrieben.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Mit der erfahrungsreichen Arbeitsgruppe von Prof. Ieropoulos erfolgte insbesondere ein fachlicher Austausch während der Vorarbeiten zu dem BUGA-Betrieb in den APs 1, 2, 5, 6 und 7. Mit der Firma Ecotoiletten GmbH wurde die Toilettenanlage geplant und passend zum Thema Bioökonomie auf der BUGA23 gestaltet. In enger Zusammenarbeit konnte die Implementierung des Reaktors eine reibungslose und sichere Funktionalität gewährleisten. Über die Projektplanung hinaus wurde die Smartphone-Ladestation mit dem Institut für Leichtbau, Entwerfen und Konstruieren (ILEK) an der Universität Stuttgart aus Biobeton realisiert.

¹ TM denotes trademark of University of West England, used under licence by University of Southampton

Inhaltsverzeichnis

I	Kurze Darstellung	i
1.	Aufgabenstellung	i
2.	Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	i
3.	Planung und Ablauf des Vorhabens	i
4.	Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde.....	i
5.	Zusammenarbeit mit anderen Stellen	i
II.	Eingehende Darstellung	1
1.	Motivation und Hintergründe des Vorhabens.....	1
2.	Erzielte Ergebnisse	2
AP1	Auswahl geeigneter Kathodenmaterialien zur Steigerung der Stromdichten und der Wasserstoffproduktion (AG Horn, DVGW)	2
AP2	Optimierung des Anodenmaterials (AG Gescher, TUHH)	7
AP3	Korrelation von Prozessparametern und Schlüsselorganismen (AG Gescher, TUHH)	12
AP4	Umrüstung eines 10 L RDBER (rotating disc bioelectrochemical reactor) auf das in Arbeitspaket 1 ermittelte Kathodenmaterial und Ermittlung der optimalen Prozessbedingungen unter Einsatz von Surrogat und Urin (AG Horn, DVGW)	18
AP5	Konzeption der Toilettenanlage für die BUGA 2023 inkl. Showroom für den Reaktor, Sicherheitsvorkehrungen und öffentlichkeitswirksame Präsentation des Projektes (AG Horn, DVGW; AG Gescher, TUHH).....	19
AP6	Betrieb des 100 L RDBER unter möglichst realen Bedingungen am Engler-Bunte-Institut (AG Horn, DVGW)	22
AP7	Entwicklung von Inokulationsroutinen für den Reaktorbetrieb (AG Gescher, TUHH)	27
AP8	Aufbau und Betrieb des 100 L RDBER auf der BUGA 2023 (AG Horn, DVGW)..	28
AP9	Korrelation von Mikrobiom- und Prozessstabilität (AG Gescher, TUHH)	33
AP10	Finale Beurteilung des Gesamtprozesses und Einschätzung für die Nutzung auf Großveranstaltungen (AG Horn, DVGW; AG Gescher, TUHH)	35
3.	Nutzen, insbesondere praktische Verwertbarkeit der Ergebnisse und Erfahrungen ...	36
4.	Beitrag der Ergebnisse zu den Zielen des Förderprogramms des Zuwendungsgebers	36
5.	Konzept zum Ergebnis- und Forschungstransfers	36
6.	Erfolgte oder geplante Veröffentlichung der Ergebnisse	36
	References	37

II. Eingehende Darstellung

1. *Motivation und Hintergründe des Vorhabens*

Der Verbrauch fossiler endlicher Rohstoffe ist nicht nachhaltig und belastet die Umwelt. Die Bioökonomie kann den notwendigen Wandel zu einer auf erneuerbaren und biologischen Ressourcen beruhenden, kreislaforientierten Wirtschaftsweise unterstützen. Ein großes Potenzial liegt dabei in der stofflichen und energetischen Nutzung von Nebenprodukten und Reststoffen aus der Land- und Ernährungswirtschaft, von Holz aus nachhaltiger Waldbewirtschaftung sowie der Weiterentwicklung bestehender Biogasanlagen. Auch in urbanen Räumen spielt die Bioökonomie in Zukunft eine bedeutsame Rolle, da Energie und Rohstoffe (z.B. Nährstoffe) aus Abwasser und Abfällen gewonnen werden können.

Das Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft sowie das Ministerium für Ländlichen Raum und Verbraucherschutz haben gemeinsam die Landesstrategie Nachhaltige Bioökonomie Baden-Württemberg entwickelt, die 2019 von der Landesregierung beschlossen wurde. Die Landesstrategie orientiert sich an den Nachhaltigkeitsleitsätzen und -zielen des Landes sowie den Zielen für nachhaltige Entwicklung der Vereinten Nationen. Sie verfolgt dabei das Ziel, mit innovativen biologischen Konzepten erneuerbare und recycelbare Rohstoffquellen zu erschließen, die Treibhausgasemissionen zu senken, natürliche Ressourcen zu schonen und die Biodiversität zu erhöhen [1].

Die Zahl der Upscaling-Versuche für mikrobielle Elektrolysesysteme ist gering. Nach unserem Kenntnisstand war die größte bisher betriebene mikrobielle Elektrolysezelle ein 1000-Liter-Reaktor, der zur Behandlung von Abwässern aus der Weinherstellung gebaut wurde [2]. Zudem ist die Nutzung einer mikrobiellen Elektrolysezelle für die Urinbehandlung wenig untersucht. Das Potential einer solchen Technologie zeigen Laborstudien wie beispielsweise [3], [4] oder [5]. In diesem Projekt soll ein Schritt aus dem Labor heraus in den realen Anwendungsfall unternommen werden, um daraus wichtige Erkenntnisse für die zukünftige Reaktorentwicklung, Mikrobiom und Betriebsbedingungen mikrobieller Elektrolysezellen für die Behandlung von Abfallströmen zu gewinnen.

2. Erzielte Ergebnisse

AP1 Auswahl geeigneter Kathodenmaterialien zur Steigerung der Stromdichten und der Wasserstoffproduktion (AG Horn, DVGW)

Entgegen der eigentlichen Planung von AP1, zunächst verschiedene Kathodenmaterialien unter Einsatz eines Surrogats (idealisiertes Medium zur Kultivierung der Modellorganismen) zu testen, wurde für die ersten Versuche direkt Urin als Nährstoffquelle verwendet. Dies hat den Hintergrund, dass ein Surrogat für die Kultivierung elektroaktiver Mikroorganismen meist so weit angepasst ist, dass es auf Kathodenseite zu keiner ungewollten abiotischen Reduktionsreaktion der Inhaltsstoffe kommt. Aufgrund der komplexen und stark variierenden Zusammensetzung des menschlichen Urins können solche Reduktionsreaktionen an den Kathodenmaterialien jedoch nicht generell ausgeschlossen werden. So kann es materialspezifisch auf der Kathodenoberfläche zu Ausfällungen im Urin kommen, was im Extremfall zu einer kompletten Inaktivierung der Kathodenmaterialien, und somit auch des Gesamtprozesses, führen könnte. Zudem können mit realem Urin frühzeitig Erkenntnisse über den Umgang erlangt und im kleinen Maßstab erprobt werden.

Im ersten Experiment kam ein bereits etabliertes Fließzellensystem mit den verfügbaren Elektrodenmaterialien (Anode aus Graphit, Kathode aus Titanblech mit Iridium-Beschichtung) zum Einsatz (Abbildung AP1 - 1).

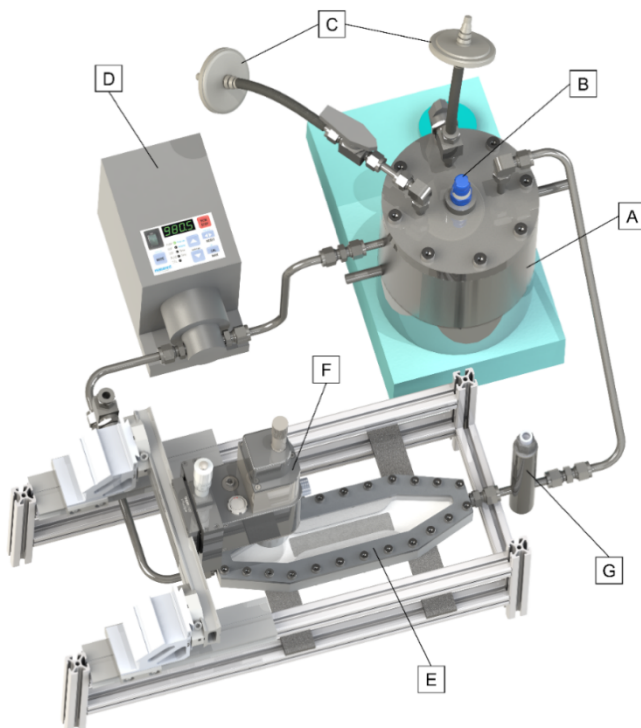


Abbildung AP1 - 1: 3D-Rendering des Fließzellensystems. Dargestellt sind: Doppelmantelbehälter (A); pH-Elektrode (B); Substratgaszufuhr und -abfuhr (C); Zahnradpumpe (D); OCT-Sonde (E); Fließzelle (E); Referenzelektrodenhalterung (G).

Das System wurde mit 1 L verdünntem Urin (1:30) befüllt und mit einer Mischung aus 10 % *Shewanella oneidensis* und 90 % *Geobacter sulfurreducens* auf eine initiale optische Dichte (OD_{600}) von 0,1 beimpft. Das Medium wurde bei einem Volumenstrom von 100 mL min^{-1} im

System rezirkuliert und die Anode mit einem Potential von 0 mV vs. SHE (Standardwasserstoffelektrode; engl. Standard Hydrogen Electrode) beaufschlagt.

Abbildung AP1 - 2 zeigt die entstehenden Stromdichten in $\mu\text{A cm}^{-2}$ bei einer Versuchsdauer von 3 Tagen. Innerhalb eines Tages entwickelten sich bereits Stromdichten von ca. $130 \mu\text{A cm}^{-2}$ und es kam zu einer unerwartet hohen Bildung von Wasserstoffblasen an den Kathoden, welche sich unterhalb Kathodenhalterung befinden. Aufgrund der horizontalen Fixierung der Fließzelle sammelten sich die Wasserstoffblasen direkt an der Kathodenoberfläche und die Kontaktfläche von Kathode zur Flüssigphase wurde minimiert, wodurch es zu einer fehlerhaften Messung der anliegenden Stromdichte kam (siehe Peak an Tag 1). Beim Versuch die Wasserstoffblasen zu entfernen, kam es schlussendlich zu einer partiellen Ablösung des Biofilms und die Stromdichte nahm abrupt auf ca. $70 \mu\text{A cm}^{-2}$ ab. Über die nachfolgenden zwei Tage musste der entstehende Wasserstoff regelmäßig aus dem System entfernt werden und die anfangs erreichte Stromdichte konnte nicht vollständig wiederhergestellt werden. Der Versuch wurde daraufhin nach drei Tagen abgebrochen.

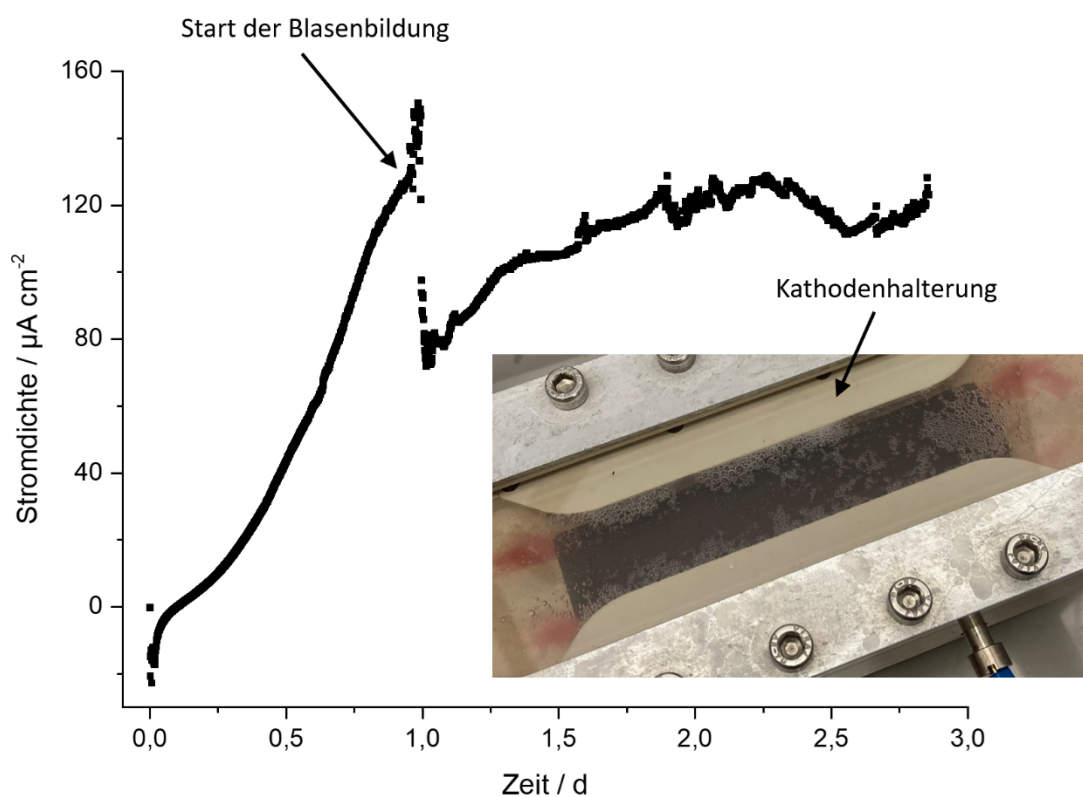


Abbildung AP1 - 2: Gemessene Stromdichte in $\mu\text{A cm}^{-2}$ über die Versuchsdauer von 3 Tagen. Der Pfeil nach etwa einem Tag beschreibt den Start der erhöhten Wasserstoffproduktion und Blasenbildung. Im Bild sind die an den Kathoden entstehenden Wasserstoffblasen zu erkennen.

Um eine störende Blasenbildung unterhalb der Kathoden im weiteren Projektverlauf zu vermeiden, musste das System umgebaut werden. Die Idee dabei war, die Fließzelle so an einem Gestell zu montieren, dass die Wasserstoffblasen aus der Zelle ausgespült werden können. Da Gasblasen aufgrund ihrer geringen Dichte danach streben aufzusteigen, musste die Fließzelle also aus der horizontalen in eine vertikale Lage gebracht werden.

Abbildung AP1 - 3 zeigt eine Aufnahme des umgerüsteten Systems in doppelter Ausführung. Die Herausforderung lag dabei in der Unterbringung zweier Systeme in einem Laborabzug. Dafür musste die gesamte Peripherie der Systeme neu geplant und dementsprechend angepasst werden.

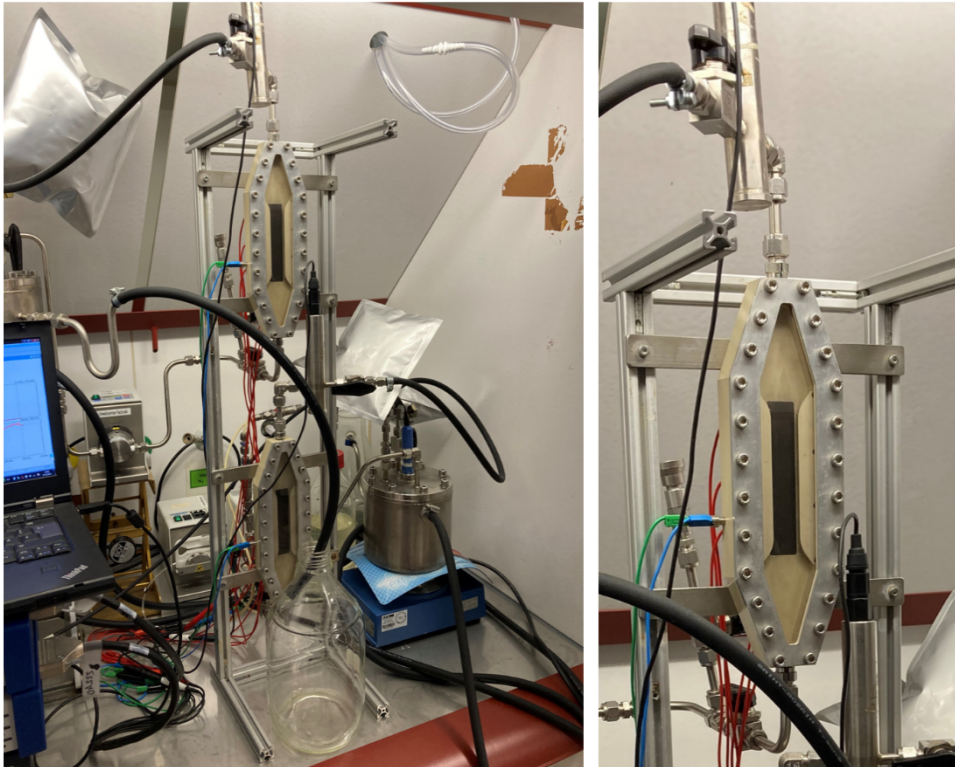


Abbildung AP1 - 3: Umgerüstete Fließzellensysteme im Laborabzug. Links: Beide Systeme mitsamt der kompletten Peripherie. Rechts: Detailansicht einer der beiden Fließzellen. Die Flüssigphase durchströmt die Fließzelle von unten nach oben.

Nach der Umrüstung der Fließzellensysteme wurden diese zunächst mit Leitungswasser betrieben um einen reibungslosen Ablauf der weiteren Versuche zu gewährleisten. Zudem wurden die Systeme derart erweitert, dass diese für zukünftige Experimente nicht ausschließlich im Fed-Batch-Verfahren, sondern auch kontinuierlich betrieben werden können.

Nach der zufriedenstellenden Überprüfung der umgerüsteten Systeme wurden Ende 2021 weitere Versuche durchgeführt. Unter anderem sollte überprüft werden, welche maximalen Stromdichten durch die Umrüstung erreicht werden können. Dazu wurde eines der umgerüsteten Fließzellensysteme unter identischen Bedingungen zum oben beschriebenen Experiment gestartet.

Abbildung AP1 - 4 zeigt die gemessenen Stromdichten in $\mu\text{A cm}^{-2}$ bei einer Versuchsdauer von 6 Tagen. Nach einer Lag-Phase von ungefähr 1,5 Tagen stieg die Stromdichte exponentiell bis zu einem maximalen Wert von ca. $210 \mu\text{A cm}^{-2}$. Im Vergleich zum ursprünglichen System bedeutet dies eine Steigerung um über 60 %. Nach dem erreichten Peak nahm die gemessene Stromdichte jedoch annähernd linear ab. Dies spricht entweder für eine Substratlimitierung oder eine generelle Inhibierung des aufgewachsenen Biofilms.

Durch die Umrüstung der Systeme konnte schlussendlich gezeigt werden, dass deutlich höhere Stromdichten erreicht werden konnten und der entstehende Wasserstoff keinen negativen Einfluss mehr auf den Verlauf der Stromkurven hat.

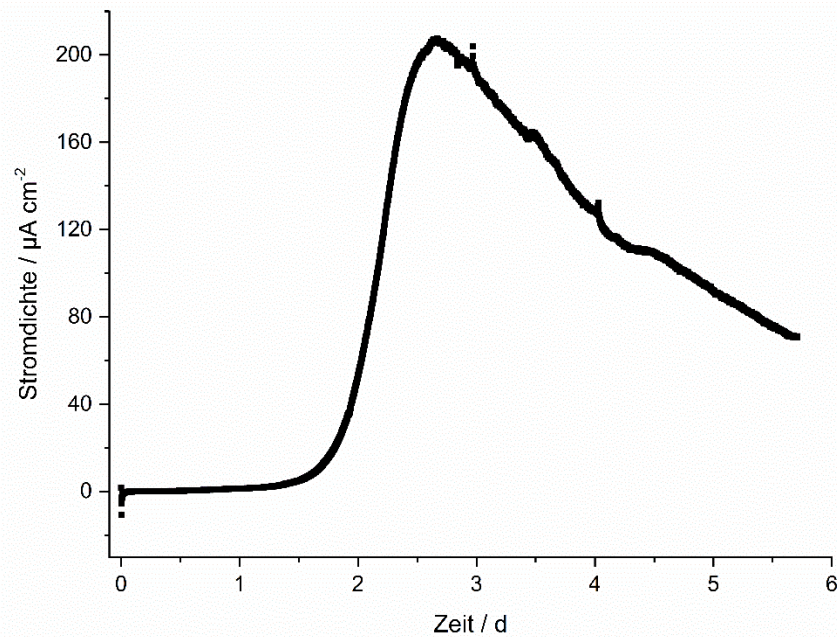


Abbildung AP1 - 4: Gemessene Stromdichte im umgerüsteten Fließzellensystem in $\mu\text{A cm}^{-2}$ über die Versuchsdauer von 6 Tagen.

Entgegen der Planungen von 2021 wurde die Optimierung des Kathodenmaterials zur Steigerung der Stromdichte nicht weiter fortgeführt. Im Rahmen des parallellaufenden BMBF-Projekts BROWSE wurden Experimente mit dem 10 L System (RDBER) durchgeführt, aus denen sich eine grundsätzliche Änderung der Kathodenanordnung für das mikrobielle Elektrolysesystem ergab. In einem Batch-Versuch mit *Geobacter* und *Shewanella* in synthetischem Medium (Kohlenstoffquellen: Laktat, Acetat, Propionat) zeigte sich, dass die Elektronen aus der Oxidation der org. Kohlenstoffquellen nur 40 % der gemessenen Stromdichte entsprachen. Zudem erreichte die gemessene H_2 -Ausbeute basierend auf dem Substratabbau nur etwa 60 % (Abbildung AP1 - 5).

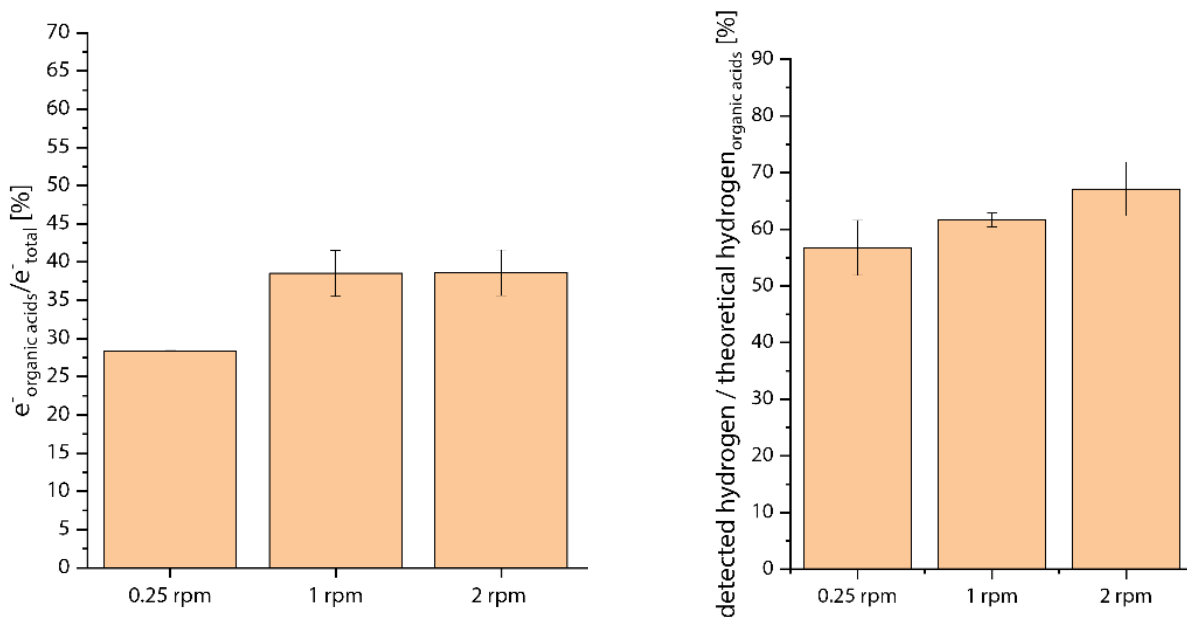


Abbildung AP1 - 5: Coulombscher Wirkungsgrad (links) und Wasserstoffausbeute (rechts) in 10 L RDBER

Demnach entsprang die übrige Stromdichte aus sogenanntem hydrogen-shuttling, d.h. der an den Kathoden produzierte Wasserstoff strömte in Form von Gasbläschen an dem anodischen Biofilm vorbei und wurde von diesem teilweise oxidiert.

Um dies zu verhindern wurde die Kathode neu angeordnet und als Lochblech über den Anodenronden installiert, sodass die Wasserstoffbläschen nicht mit den Anoden in Kontakt kommen können (Abbildung AP1 - 6). Versuche in dieser Anordnung führten zu einer Verdopplung der absoluten Wasserstoffproduktion und einer Steigerung der H₂-Ausbeute basierend auf dem Substratabbau auf 80 %. Daher wurde diese Konfiguration mit Edelstahl (V4A) auch für das 100 L System übernommen.



Abbildung AP1 - 6: Kathodenkonfiguration ursprünglich (links, Halbronden) und modifiziert (rechts, Lochblech) am Beispiel des 10 L RDBER

AP2 Optimierung des Anodenmaterials (AG Gescher, TUHH)

Nachdem die grundsätzliche Machbarkeit der mikrobiell katalysierten Wasserstoffproduktion aus Urin bereits gezeigt werden konnte, war das Ziel des AP2, den Anodenprozess im Hinblick auf die Biofilmbildung und Übertragung der Elektronen auf die Elektrodenoberfläche zu optimieren. Dies soll durch verschiedene Modifikationen bzw. Funktionalisierungen an der Oberflächenstruktur der Anode (Arbeitselektrode) erreicht und somit die Umsatzrate von Urin verbessert werden.

Hierfür sollte zum einen untersucht werden, welchen Einfluss die Oberflächenrauheit der Arbeitselektrode auf den resultierenden Strom und die Biofilmbildung hat. Zum anderen sollten verschiedene Funktionalisierungen mit Anthraquinon-2,6-disulfonat bzw. Riboflavin die Elektronenübertragung von den Zellen auf die Anode unterstützen bzw. vereinfachen.

Um den Einfluss der Modifikationen an der Anodenoberfläche zu untersuchen, wurde eine Plattform zum Betrieb mikrofluidischer Reaktoren etabliert. Diese Reaktoren stellen ein komplettes bioelektrochemisches System dar, welches auf mikrofluidischer Ebene betrieben werden kann. Die Arbeitselektrode wird dabei kontinuierlich mit dem gewählten Kulturmedium überströmt. Der Vorteil dieses Systems besteht darin, dass ressourcensparend im sehr kleinen Maßstab gearbeitet und verschiedene Bedingungen im hohen Durchsatz untersucht werden können. Durch einen hohen Grad an Automatisierung können manuelle Fehler minimiert werden.

Die Reaktoren wurden aus Polydimethylsiloxan (PDMS) hergestellt, die Arbeitselektrode konnte als kleine Graphitplatte (1 cm × 1 cm) eingesetzt werden. Dank diesem Aufbau war es möglich, verschiedene Bedingungen schnell und einfach zu untersuchen. Der Aufbau der mikrofluidischen Reaktoren in gasdichten Polycarbonat-Kammern ermöglichte eine anoxische Kultivierung (siehe Abbildung AP2 - 1).

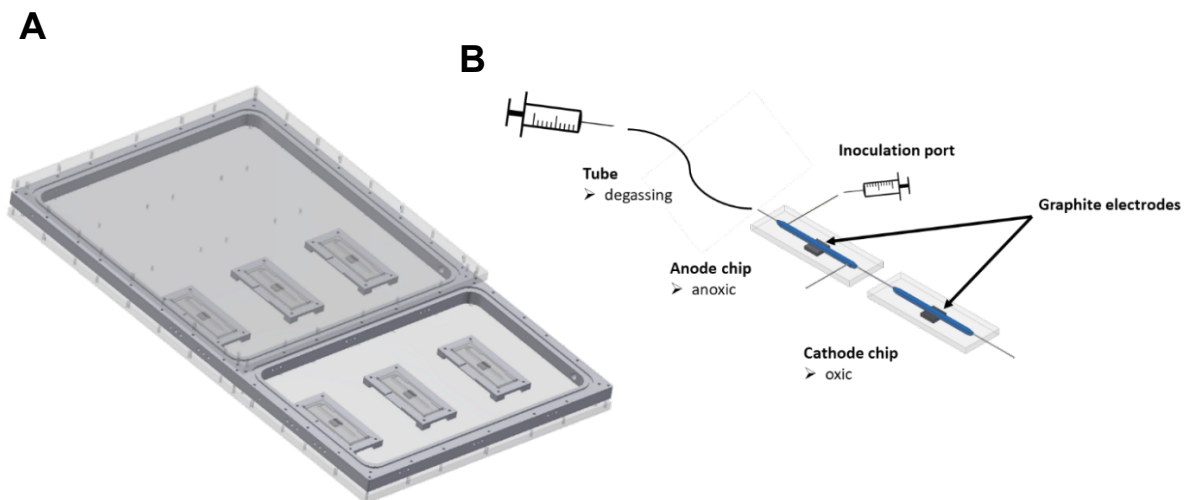


Abbildung AP2 - 1: **A** Design eines Rahmens mit der Möglichkeit zur anoxischen Kultivierung der Anodenchips; **B** Detailansicht des Aufbaus der mikrofluidischen Anoden- und Kathodenreaktoren; zu sehen sind der Port zur Inokulierung, der mikrofluidische Kanal über die jeweiligen Elektroden und die tatsächlichen Graphitelektroden

Pro Polycarbonat-Rahmen konnte ein Triplikat betrieben werden. Über den Verlauf der Kultivierung hinweg wurden sowohl der an die Anode abgegebene Strom, als auch das Biofilmvolumen welches sich mit der Zeit auf der Anode akkumulierte, aufgezeichnet. Die quantitative Analyse des Biofilms erfolgte mithilfe der optischen Kohärenztomographie (OCT). Es handelt sich dabei um eine nicht invasive und nicht destruktive bildgebende Methode, mithilfe derer dreidimensionale Aufnahmen des aufwachsenden Biofilms erstellt werden können. Aus diesen Aufnahmen kann das tatsächlich aufgewachsene Biovolumen [$\mu\text{m}^3/\text{cm}^2$] bestimmt werden.

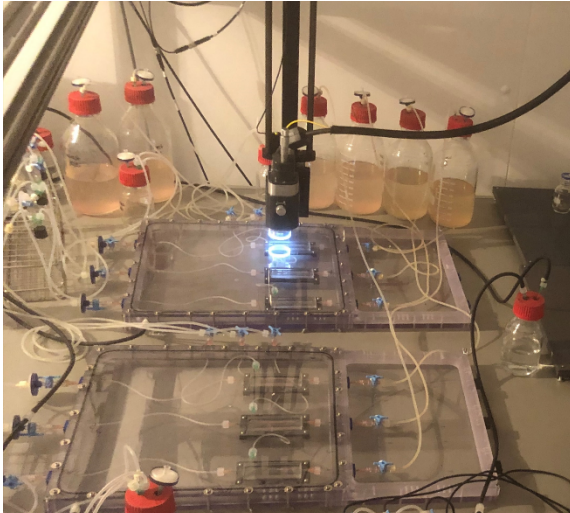


Abbildung AP2 - 2: Chiprahmen auf der Messstation; im hinteren Rahmen wird gerade mithilfe des Raumportals eine OCT-Aufnahme gemacht

Des Weiteren wurde ein extern ansteuerbares Raumportal für die OCT-Aufnahmen installiert. Dieses kann auf verschiedene Positionen über den jeweiligen Anoden programmiert werden und diese nacheinander ansteuern, wodurch die Aufnahmen an denselben Stellen in regelmäßigen Abständen stabil und reproduzierbar aufgenommen werden können. In Abbildung AP2 - 2 ist der OCT-Kopf zu sehen, wie er am Arm des Raumportals befestigt ist und gerade eine Aufnahme von einem der Anodenchips macht.

Für die Optimierung des Anodenmaterials wurde mit einem Konsortium aus bereits bekannten und etablierten Modellorganismen gearbeitet. Die beiden exoelektrogenen Stämme *Shewanella oneidensis* und *Geobacter sulfurreducens* wurden im Verhältnis 10:90 zur Inokulierung genutzt. Die Vorkultur hatte eine optische Dichte bei 600 nm (OD_{600}) von 2. Die Inokulierungsphase dauerte insgesamt 2 h. Es wurde ein Potential von 0 mV vs. Ag/AgCl angelegt. Als Kulturmedium diente ein auf den Chipbetrieb angepasstes Standard-BES-Medium. Lactat dient als Kohlenstoffquelle für *S. oneidensis*, welche dieser zu Acetat verstoffwechselt. Acetat dient dann wiederum *G. sulfurreducens* als Kohlenstoffquelle. Die Anoden wurden kontinuierlich mit einer Geschwindigkeit von 4 mL/h überströmt.

Um den Einfluss der Rauigkeit auf die Stromdichte zu untersuchen, wurden von der Firma Eisenhuth Graphitelektroden angefordert, die aus einem Kunststoff-Graphitkomposit bestehen. Die Firma hat durch Sandstrahlen die Rauigkeit der Elektroden eingestellt, so dass eine möglichst glatte und zwei raue Materialien mit unterschiedlicher Rauigkeit geliefert werden konnten. Die Ergebnisse der Versuche sind eindrucklich und in Abbildung AP2 - 3 gezeigt. Das glatte Material (Number 1) eignete sich überhaupt nicht und es konnte keine signifikante Stromdichtenentwicklung gemessen werden. Der Einsatz der beiden rauen Materialien führte zu Strom-

dichten, die mit der Rauigkeit korrelierten. So konnte mit dem Material mittlerer Rauigkeit (Number 4) eine Stromdichte von etwa $70 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ erreicht werden, wohingegen mit der maximalen Rauigkeit (Number 5) der Strom bis auf etwa $130 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ anstieg.

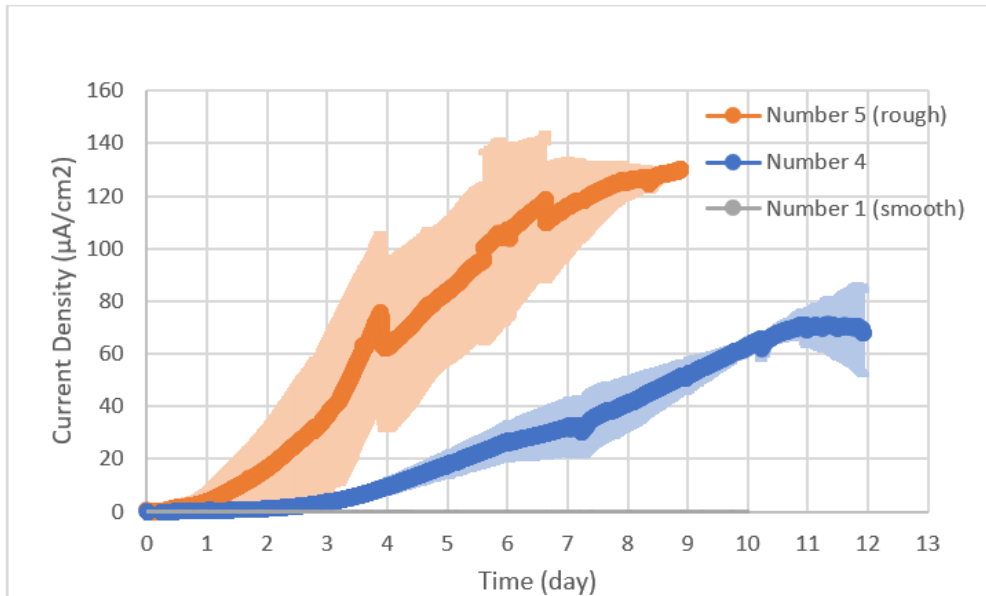


Abbildung AP2 - 3: Zusammenhang zwischen der Materialrauigkeit und der erreichbaren Stromdichte.

Um die Übertragung der Elektronen von den Zellen auf die Anodenoberflächen weiterhin zu steigern, wurde darauf aufbauend jeweils die raue Anodenoberfläche mit verschiedenen Elektronenshutteln funktionalisiert. Diese helfen, die Elektronenübertragung der Zellen auf die Anode zu vereinfachen. Es handelte sich dabei um Anthraquinon-2,6-disulfonat (AQDS) bzw. Riboflavin. Die Versuche wurden ebenfalls in dem bereits beschriebenen Chip-System durchgeführt. Hierfür wurde das Graphitplättchen, welches später als Anode diente, über einige Zeit mit dem jeweiligen Elektronenshuttle im Durchflusssystem inkubiert. Die Komponenten konnten so an der Oberfläche adsorbieren. Nach Inokulierung der Zellen in das System konnten diese so leichter an die Anodenoberfläche binden, was zu einer schnelleren Besiedelung der Elektrodenoberfläche führen kann. Auch können beide Moleküle in ihrer Funktion als Elektronenshuttle helfen, die Stromproduktion auch im weiteren Verlauf der Kultivierung zu erhöhen. Die Kultivierung der beiden Modellorganismen *Shewanella oneidensis* und *Geobacter sulfurreducens* im Verhältnis 9:1 wurde bei 30°C und kontinuierlichem Medienfluss durchgeführt. Die Organismen haben unterschiedliche Eigenschaften, die in dieser Co-Kultur am besten zur Geltung kommen. Der Biofilmaufwuchs wurde mithilfe von OCT überwacht. Auch der produzierte Stromfluss wurde aufgezeichnet. Die Anoden wurden bei einer Durchflussrate von $4 \text{ mL}/\text{h}$ mit dem jeweiligen Katalysator inkubiert. Die Konzentration der Lösungen betrug jeweils 15 mM . Bei Betrachtung der aufgezeichneten Stromflüsse fällt auf, dass sowohl bei Funktionalisierung mit Riboflavin, als auch bei der mit AQDS zu Beginn der Wachstumsphase eine höhere Stromproduktion im Vergleich zu der Kontrolle ohne Funktionalisierung erreicht werden konnte (Abbildung AP2 - 4).

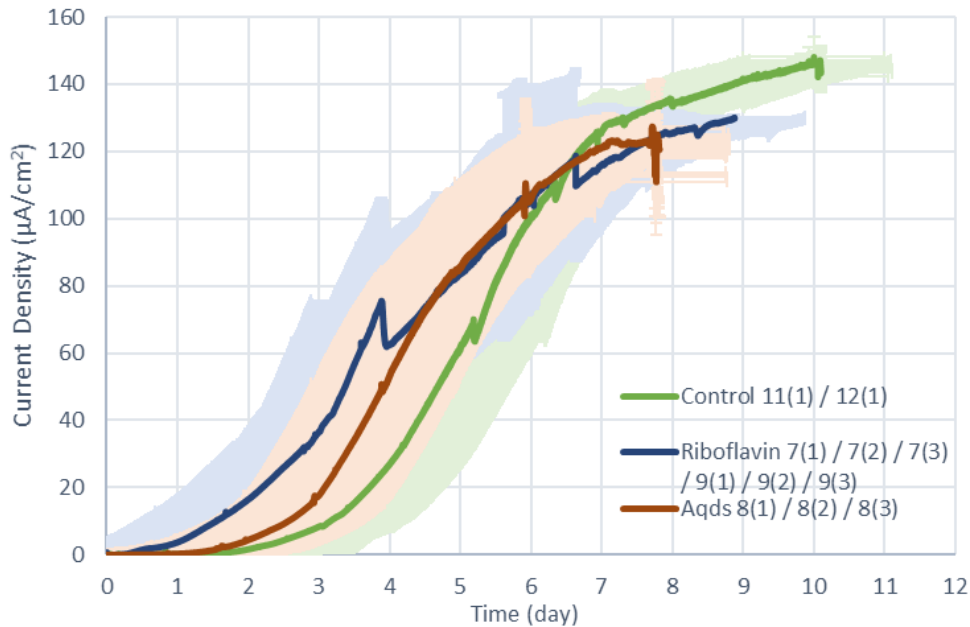


Abbildung AP2 - 4: Vergleich der produzierten Stromdichten für die mit AQDS bzw. Riboflavin funktionalisierten Anodenoberflächen; als Kontrolle wurde eine nicht funktionalisierte Oberfläche herangezogen. Alle Experimente wurden im Triplikate durchgeführt

Gegen Ende der Kultivierung nimmt dieser Einfluss jedoch ab. Das Plateau, welches in der Stromproduktion erreicht wird, ist für die Kontrolle mit $140 \mu\text{A cm}^{-2}$ höher als für die beiden Funktionalisierungen.

Interessant ist die Betrachtung des aufgewachsenen Biovolumens. Hier war zu beobachten, dass bei der Kontrolle ohne Funktionalisierung mit ca. $12 \text{ mm}^3 \text{ cm}^{-2}$ ein deutlich dickerer Biofilm aufgewachsen war als auf den funktionalisierten Anoden, wo die finale Biofilmdicke in beiden Fällen bei weniger als $5 \text{ mm}^3 \text{ cm}^{-2}$ lag (Abbildung AP2 - 5). Das bedeutet, dass für die Experimente mit funktionalisierter Anodenoberfläche ein geringeres Biovolumen nötig war, um ähnlich hohe Stromflüsse zu erreichen, was die Effizienz des Prozesses steigert. Dieser Zusammenhang ist auch in Abbildung AP2 - 5 dargestellt.

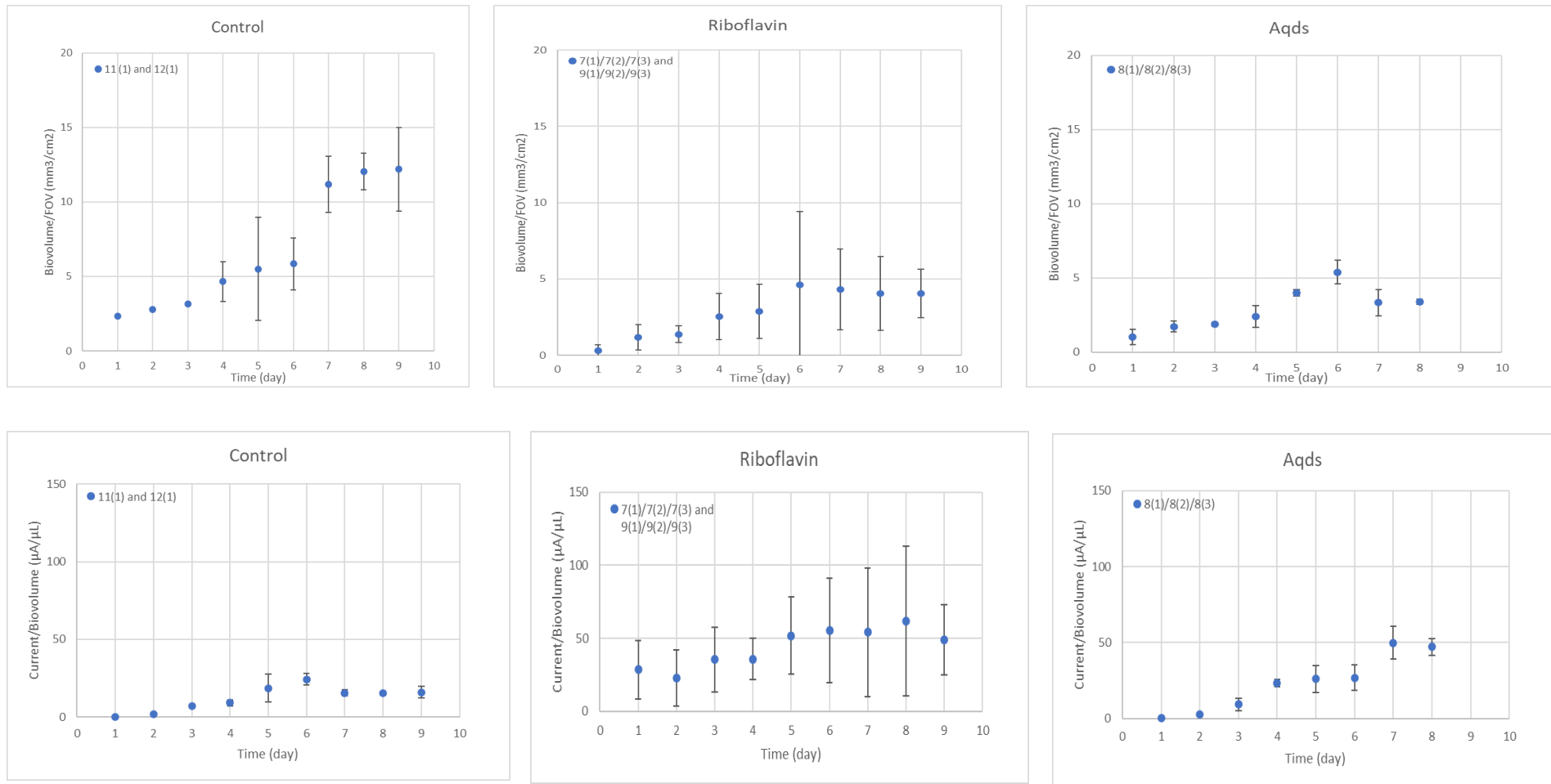


Abbildung AP2 - 5: Strom pro Biovolumen in $\mu\text{A } \mu\text{L}^{-1}$ in allen drei Ansätzen über die Zeit.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieses Arbeitspakets, dass sowohl eine möglichst hohe Rauigkeit als auch eine einfache Funktionalisierung sich positiv auf die erreichbaren Stromdichten und Umsatzeffizienzen mikrobieller Elektrolysezellen auswirken.

AP3 Korrelation von Prozessparametern und Schlüsselorganismen (AG Gescher, TUHH)

Die Analyse des Mikrobioms Urin-gefütterter bioelektrochemischer Systeme sollte anhand von Versuchsproben der Durchführung aus zwei verschiedenen Systemen erfolgen. Dabei entspricht das eine System einer kontinuierlich betriebener Fließzelle, während das andere ein bioelektrochemischer Batchreaktor ist. Dazu wurden die Anodenoberflächen mit den exoelektrogenen Mikroorganismen, *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* im Verhältnis 10:1 bei 30 °C, vorbeschickt. Des Weiteren wurden in den Systemen die erreichten maximalen Stromdichten des verwendeten synthetischen Mediums mit Urin als Medium verglichen.

In dem Batchsystem wurden die bioelektrochemischen Experimente unter anoxischen Bedingungen im volumetrischen Maßstab von 275 mL durchgeführt. Dazu wurden die Stromdichten der eingesetzten exoelektrogenen Mikroorganismen in synthetischem Medium (1a) untersucht und mit synthetischem Medium unter Zusatz von sterilem Urin im Verhältnis von 1:1 (1b) verglichen. Die erreichten Stromdichten sind in Abbildung AP3 - 1 dargestellt. Im synthetischen Medium konnte eine konstante Stromdichte von $140 \mu\text{A cm}^{-2}$ nach 40 h erreicht werden, wohingegen unter Zusatz vom sterilem Urin $145 \mu\text{A cm}^{-2}$ bereits nach 34 h erreicht werden konnten.

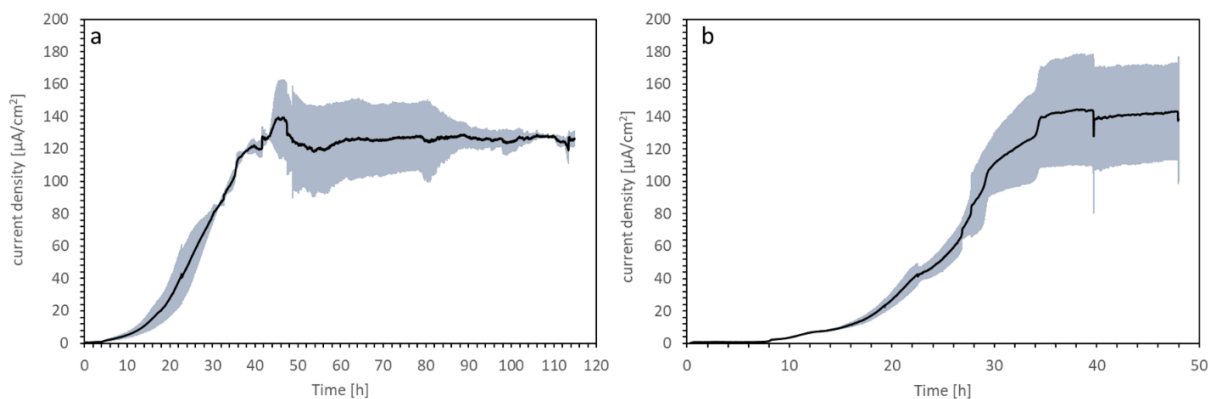


Abbildung AP3 - 1: Vergleich der maximalen Stromdichten in synthetischem Medium (a) und synthetischem Medium mit sterilem Urin im Verhältnis von 1:1 (b).

Unter Wachstumsbedingungen bei Verwendung von unsterilem Urin, siehe Abbildung AP3 - 2, konnte eine deutlich geringere Stromdichte beobachtet werden.

Es wurden maximal $75 \mu\text{A cm}^{-2}$ erreicht, was fast der Hälfte der Menge an produzierten Strom verglichen mit synthetischem Medium oder dem Zusatz von sterilem Urin entspricht. Der Grund dafür könnte eine Limitierung einer geeigneten Kohlenstoffquelle sein.

Des Weiteren konnte bei dem Einsatz des unsterilen Urins eine Besiedlung der Anode beobachtet werden, welche nicht phänotypisch für die eingesetzten exoelektrogenen Mikroorganismen war. Bei der bioinformatischen Analyse und Sequenzierung der DNA zeigte sich wie zu erwarten ein hoher Anteil an *Geobacter*- und ein geringer Anteil an *Shewanella*-Zellen. Aufgrund der unsterilen Bedingungen konnten weitere Organismen im untersuchten Mikrobiom identifiziert werden und sind in folgender Tabelle aufgelistet. Das Mikrobiom wurde am Ende des Versuches untersucht. Das veränderte Mikrobiom kann einen Einfluss auf die Metabolite, Interaktionen zwischen den Organismen sowie die Stromproduktion aus Urin haben.

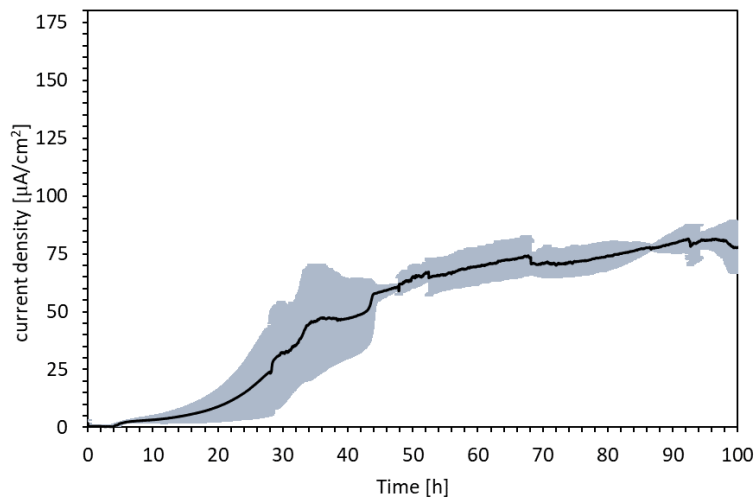


Abbildung AP3 - 2: Verlauf der Stromdichte in der mikrobiellen 3-Elektrodenzelle unter Verwendung von unsterilem Urin.

Tabelle AP3 - 1: Metagenomanalyse des Mikrobioms bei unsterilem Urin der Abbildung AP3 - 2

<i>Geobacter</i>	<i>Shewanella</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
50,6 %	23,3 %	21,6 %	0,98 %	0,82 %	2,7 %

Des Weiteren wurde der organische Kohlenstoff der durchgeführten Versuche gemessen. In folgender Abbildung ist die Abnahme des organischen Kohlenstoffs im unsterilen Urin von Abbildung AP3 - 2 dargestellt. Eine Abnahme ist zu erwarten, da der im Urin enthaltene Kohlenstoff die nötigen Elektronen für die Stromproduktion liefern sollte.

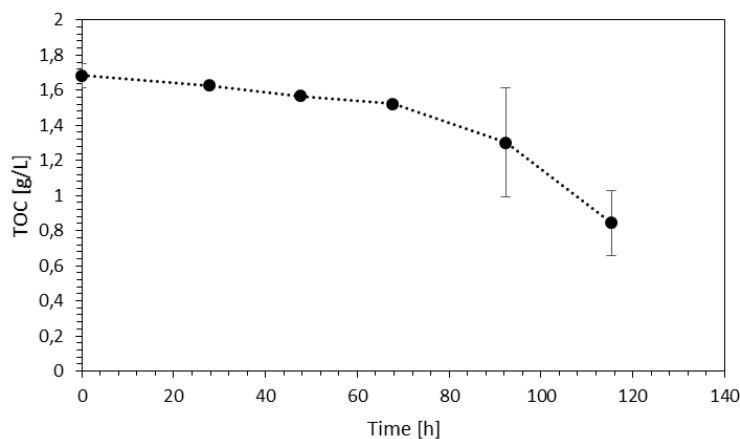


Abbildung AP3 - 3: Verlauf des gemessenen organischen Kohlenstoffs enthalten in unsterilem Urin der Stromproduktion aus Abbildung AP3 - 2.

Um den Einfluss und die Plastizität des Biofilms der vorbeschickten Anodenoberfläche unter Verwendung von synthetischem Medium oder Urin zu untersuchen, wurde im Batchsystem unter Verwendung von synthetischem Medium das bioelektrochemische System angefahren und die Anoden bewachsen. Sobald ein Plateau der gemessenen Stromdichte erreicht wurde, wurde das Medium auf unsterilen Urin gewechselt. Die Stromdichten bei Wechsel des Mediums sind in Abbildung AP3 - 4 dargestellt.

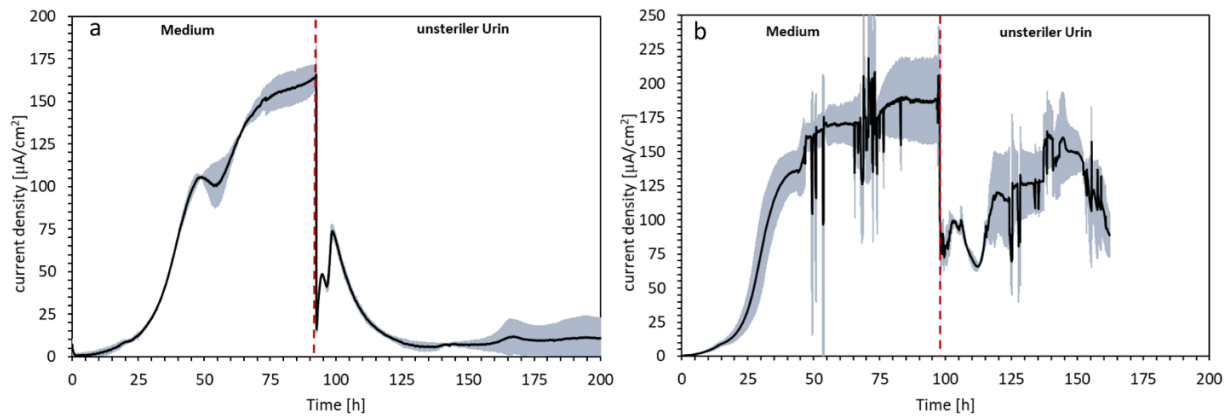


Abbildung AP3 - 4: Wechsel von synthetischem Medium auf unsterilen Urin in der mikrobiellen 3-Elektrodenzelle.

In den Anlaufphasen zum Etablieren eines stabilen Biofilms bestehend aus exoelektrogenen Mikroorganismen konnte sowohl in Abbildung AP3 - 4(a) als auch in (b) eine Stromdichte von 160-180 $\mu\text{A cm}^{-2}$ nach jeweils 75h erreicht werden. Im Vergleich zu dem Kontrollversuch in Abbildung AP3 - 1(a) wurde zwar eine höhere maximale Stromdichte erreicht, allerdings erst bis zu 35 h später.

Bei dem Wechsel auf unsterilen Urin sind zwischen den beiden identischen Experimenten in Abbildung AP3 - 4 deutliche Unterschiede zu erkennen. Die Stromdichte in (a) sank auf nach einem kurzen anfänglichen Anstieg auf ein Plateau von 10 $\mu\text{A cm}^{-2}$. In (b) wurde verglichen dazu auf unsterilem Urin eine Stromdichte von bis zu 150 $\mu\text{A cm}^{-2}$ aufgezeichnet. Allerdings sind die gemessenen Werte hier sehr schwankend und dennoch besteht eine sehr große Differenz in den erreichten Stromdichten zwischen den Experimenten.

Es wurde eine bioinformatische Analyse vor dem Wechsel auf Urin und am Ende der Versuche der Mikrobiome durchgeführt. Es zeigte sich ein dominierender Anteil an *Geobacter* in der Untersuchung des Biofilms. Dies zeigt sich auch Anhand der hohen Stromproduktion sowie der zusätzlichen Anstiege nach 50 h in Abbildung AP3 - 4(a) und (b), bis ein Plateau erreicht wurde. Zum Ende der Kultivierung konnte jedoch im Vergleich zu anderen Durchführungen nur ein weiterer Organismus im Mikrobiom identifiziert werden. Gründe könnten Unterschiede in den unsterilen Urinlösungen sein.

Tabelle AP3 - 2: Metagenomanalyse des Mikrobioms bei synthetischem Medium der Abbildung AP3 - 4(a) und (b)

	<i>Geobacter</i>	<i>Shewanella</i>
3.4a	97 %	3 %
3.4b	90 %	10 %

Tabelle AP3 - 3: Metagenomanalyse des Mikrobioms bei unsterilem Urin der Abbildung AP3 - 4(a) und (b)

	<i>Geobacter</i>	<i>Shewanella</i>	<i>Enterococcaceae</i>
3.4a	94 %	5 %	1 %
3.4b	88 %	9 %	3 %

Weiterhin wurde die Stromproduktion und Biofilmentwicklung unter Anfahren des Systems mit sterilem Urin und zusätzliche Kohlenstoffquelle in Form von Laktat untersucht (Abbildung AP3 - 5). Hierbei konnte eine Stromdichte von bis zu $60 \mu\text{A cm}^{-2}$ nach 70 h gemessen werden, bis ein Plateau erreicht wurde. Im Anschluss wurde nach 100 h Betriebszeit die Lösung mit unsterilem Urin ersetzt. Es konnte eine Zunahme der Stromproduktion auf bis zu $70 \mu\text{A cm}^{-2}$ nach 135 h gemessen werden. Somit sind zumindest eindeutige Unterschiede in der Anfahrphase des Systems im Vergleich zur Stromproduktion mit Medium zu erkennen.

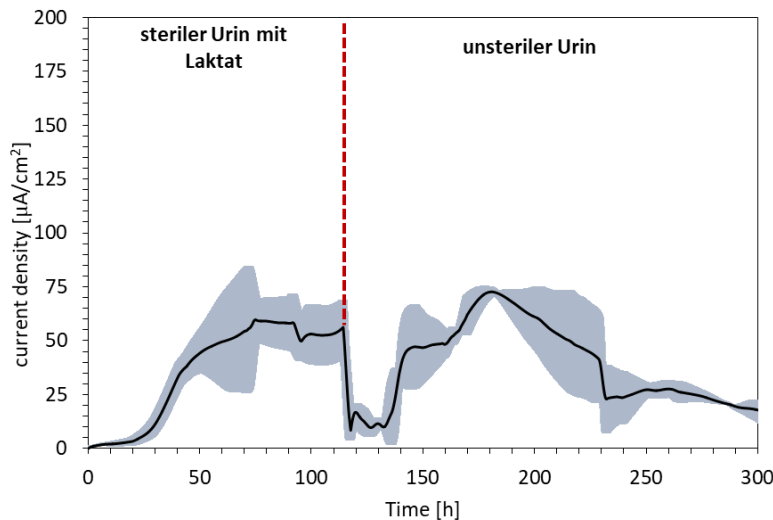


Abbildung AP3 - 5: Wechsel von sterilem Urin mit Laktat auf unsterilem Urin in der mikrobiellen 3-Elektrodenzelle.

Die Zusammensetzung des Mikrobioms wurde vor dem Wechsel auf unsterilem Urin, sowie am Ende des Versuchs untersucht. Hier zeigte sich ein geringer Anteil an *Geobacter* und höherer Anteil an *Shewanella* noch vor dem Wechsel der Urinlösung. Dies könnte ein Grund für die geringere Stromproduktion und eines im Vergleich zum Versuch mit synthetischem Medium nicht vergleichbar ausgebildeten Biofilms sein. Am Ende des Versuchs zeigte sich eine starke Veränderung des Mikrobioms, was einen Einfluss auf die Stromproduktion ausgehend von Urin ermöglichen könnte (Tabelle AP3 - 4 und Tabelle AP3 - 5).

Tabelle AP3 - 4: Metagenomanalyse des Mikrobioms unter Verwendung von sterilem Urin mit Laktat (Abbildung AP3 - 5 links).

<i>Geobacter</i>	<i>Shewanella</i>
54,2 %	45,8 %

Tabelle AP3 - 5a: Metagenomanalyse des Mikrobioms mit unsterilem Urin (Abbildung AP3 - 5 rechts).

<i>Geobacter</i>	<i>Shewanella</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Enterococcaceae</i>	<i>Fusobacterium</i>
63,3 %	14,7 %	1,6 %	0,4 %	3,5 %	11,5 %

Tabelle AP3 - 5b

<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Actinotignum</i>	<i>Corynebacterium</i>
0,9 %	0,2 %	0,8 %

Tabelle AP3 - 5c

<i>Propionimicrobium</i>	<i>Campylobacteraceae</i>	<i>Prevotellaceae</i>
2,5 %	0,7 %	1,8 %

In der Fließzelle wurde bei steigender Flussrate der Biofilmaufwuchs mithilfe der optischen Kohärenztomographie (OCT) überwacht und als Biovolumen in Abbildung AP3 - 6 dargestellt. Zu Beginn wurden die exoelektrogenen Mikroorganismen mit synthetischem Medium und einem Zusatz von sterilem Urin (1:5 verdünnt) inokuliert. Die Flussrate wurde dabei von 1 mL/min bis zu 23 mL/min in den ersten 146 h variiert. Es konnte eine Stromdichte von bis zu $400 \mu\text{A cm}^{-2}$ erreicht werden. Im Anschluss wurde das Medium auf unsterilen Urin getauscht, woraus eine deutlich niedrigere Stromdichte von $70 \mu\text{A cm}^{-2}$ resultierte. Daraufhin wurden 20 mmol Laktat in das System injiziert, um eine geeignete Kohlenstoffquelle für die eingesetzten Modellorganismen zu gewährleisten. Dadurch konnte ein sprunghafter Anstieg der Stromdichte beobachtet werden, welche aber im zeitlichen Verlauf weiter sank und geringer als das synthetische Medium liegt. Während der Plateauphase und auch nach dem Wechsel des Mediums konnte ein stetiges Wachstum des Biofilms bis zu einer Höhe von $150 \mu\text{m}$ beobachtet werden.

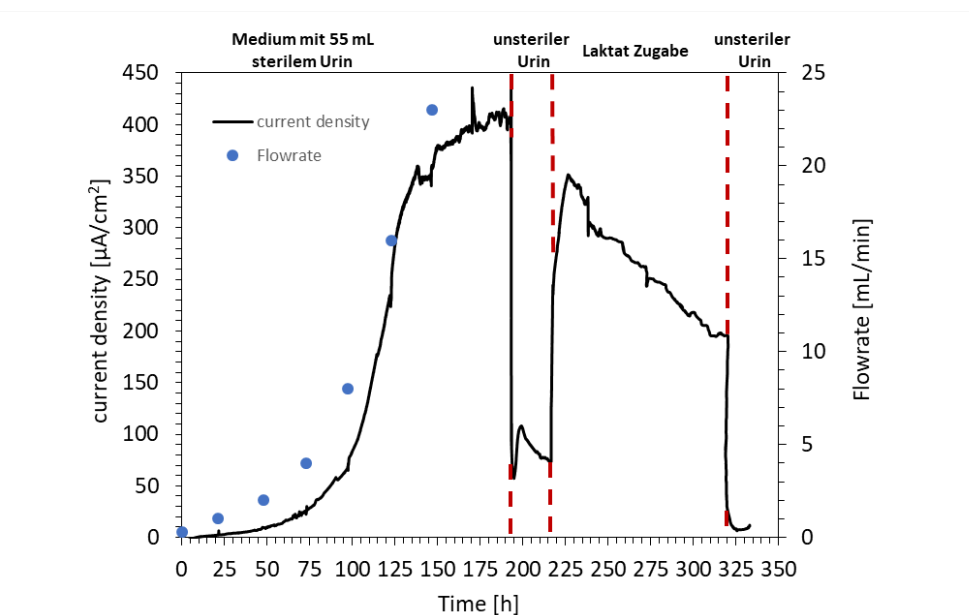
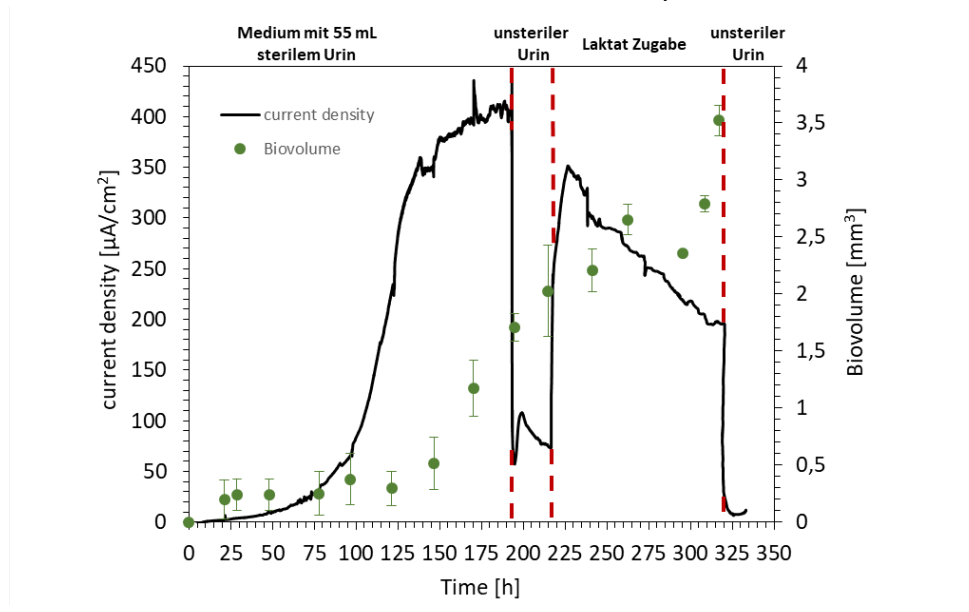


Abbildung AP3 - 6: Verlauf der Stromdichte in der Fließzelle bei Wechsel von synthetischem Medium mit sterilem Urin (1:5 verdünnt) im Volumen von 275 mL auf unsterilen Urin und unter Zugabe von 20 mmol Laktat, sowie der Zunahme des Biovolumens bei variierender Flussrate.

Die Zusammensetzung des Mikrobioms am Ende der Versuchslaufzeit ist in folgender Tabelle aufgelistet und zeigt nach über 300 h noch einen hohen Anteil an *Geobacter*.

Tabelle AP3 - 6: Metagenomanalyse des Mikrobioms am Ende des Versuches in der Fließzelle.

<i>Geobacter</i>	<i>Shewanella</i>	<i>Enterococcaceae</i>
88 %	10 %	2 %

Zusammenfassend scheint eine Vorbeschickung der Arbeitselektrode unter sterilen Bedingungen von Vorteil zu sein für die Entwicklung und Beibehaltung eines stabilen Biofilms mit einem hohen Anteil an exoelektrogenen Mikroorganismen, die zu einer hohen Stromproduktion beitragen.

AP4 Umrüstung eines 10 L RDBER (rotating disc bioelectrochemical reactor) auf das in Arbeitspaket 1 ermittelte Kathodenmaterial und Ermittlung der optimalen Prozessbedingungen unter Einsatz von Surrogat und Urin (AG Horn, DVGW)

Statt der Umrüstung und Inbetriebnahme eines 10 L RDBER wurden die Erkenntnisse aus AP1 und AP2 aus den in AP1 benannten Gründen direkt in das 100 L System übertragen. So konnte der Umgang mit dem 100 L RDBER über einen längeren Zeitraum ermittelt und Optimierungen frühzeitig implementiert werden.

AP5 Konzeption der Toilettenanlage für die BUGA 2023 inkl. Showroom für den Reaktor, Sicherheitsvorkehrungen und öffentlichkeitswirksame Präsentation des Projektes (AG Horn, DVGW; AG Gescher, TUHH)

Gemeinsam mit der Landesgesellschaft BIOPRO Baden-Württemberg wurde eine Schautafel erstellt, die eine Einführung in das Reaktorkonzept und das Forschungsvorhaben gibt und vor dem Toilettengebäude aufgestellt war. Daran angelehnt wurde von uns zusätzlich ein Plakat gestaltet, das direkt im Schaufenster des Reaktorraumes Platz fand. In Zusammenarbeit mit der BIOCOM AG ist ein etwa 5 Minuten langer Film über die Hintergründe und Ziele des Forschungsprojektes sowie den Aufbau und die Funktion des Reaktors entstanden. Er war auf dem Plakat in Form eines QR-Codes abrufbar. Zusätzlich wurde eine E-Mail-Adresse eingerichtet, unter der sich Besucher:Innen bei Fragen oder Anregungen melden konnten (siehe Plakat in Abbildung AP5 - 1).



PEEPOWER™

Strom erzeugen aus Urin

Urinbehandlung auf Großveranstaltungen mithilfe von Bakterien

Organische Kohlenstoffverbindungen im menschlichen Urin können von vielen Bakterien zersetzt werden. Elektroaktive Bakterien können dabei Energie in Form von Elektronen abgeben. Um diese Energie nutzbar zu machen, wird bei PeePower™ eine sogenannte mikrobielle Elektrolysezelle (MEC) eingesetzt. Diese MEC besteht aus positiv geladenen Platten und einem negativ geladenen Lochblech. Auf den rotierenden Platten wachsen die Bakterien als Biofilm und geben Elektronen an die Platten, Protonen an den Urin ab. Am negativ geladenen Lochblech bildet sich aus diesen Protonen und Elektronen anschließend Wasserstoff, der in einer Brennstoffzelle zu Strom umgewandelt werden kann.

Hier wird eine derartige MEC erstmalig als 100 L System über einen längeren Zeitraum getestet. Dabei soll der Reaktor veranschaulichen, dass organische Abfallströme weiterhin ein wertvoller Rohstoff für die Produktion von Chemikalien oder Energieträgern sein können.

Bei Fragen und Anmerkungen erreichen sie unter: bugs23@dvgw-ebi.de

™ denotes Trademark of the University of West England used under license by University of Southampton

Mehr Informationen in unserem Video auf Youtube:



gefördert durch:

Baden-Württemberg Baden-Württemberg THE LAND

UWE Bristol University of the West of England

DVGW ebi

TUHH Technische Universität Hamburg

Abbildung AP5 - 1: Plakat für das Schaufenster des Reaktorraumes

Außerdem entstand ein Beitrag zum Projekt PeePower, der im BIOPRO Magazin zur BUGA 23 veröffentlicht wurde.

Die Sicherheitsvorkehrungen für den Reaktorbetrieb auf der Bundesgartenschau wurden gemäß den aktuellen gesetzlichen Vorgaben getroffen und implementiert. Dazu gehören vor allem Explosionsschutzmaßnahmen. Zur Vermeidung der Bildung gefährlicher explosionsfähiger Atmosphäre bei einem Defekt des technisch dichten Reaktors wurde der Reaktorraum des Toilettengebäudes durch natürliche Konvektion dauerhaft belüftet. Eine Gaswarnanlage wurde implementiert, um den Prozess der Wasserstoffbildung im Alarmfall automatisch zu stoppen. Alle hierfür gesetzlich erforderlichen Dokumentationen wurden erstellt.

Die Konzeption der Gesamtanlage und die Schnittstellen zwischen Toilettenanlage und Reaktor wurden zusammen mit der Firma Ecotoiletten und den beteiligten Konstrukteuren erfolgreich ausgearbeitet (Abbildung AP5 - 2).

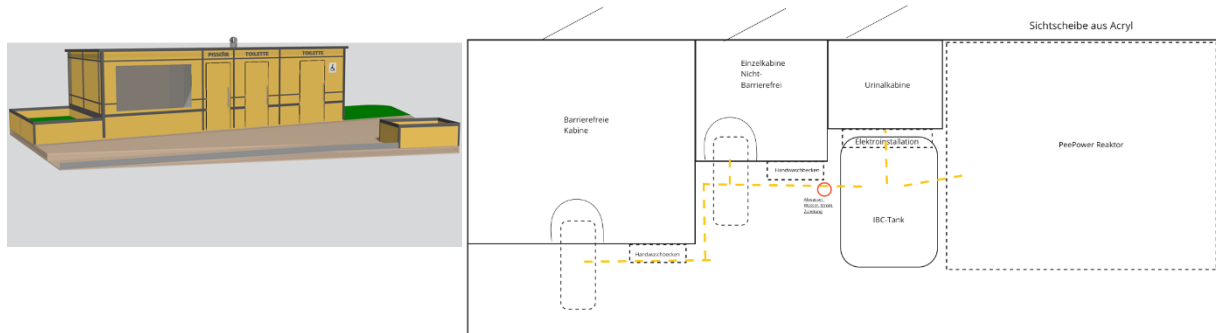


Abbildung AP5 - 2: Außenansicht (Modell) und Grundriss des Toilettengebäudes

Dabei ist vor allem die Kombination des 1000 L IBC-Tanks und des 100 L Vorlagebehälters eine wichtige Addition, die aus dem Austausch mit Prof. Ieropoulos hervorging (Abbildung AP5 - 3). Der IBC-Tank dient als Absetzbecken, in dem sich ausfällendes Magnesiumammoniumphosphat (MAP) absetzen kann. Der Überstand wird in den Vorlagebehälter geleitet und dient nach Einstellung des pH-Wertes als Reaktorfeed. So soll eine Verblockung der Reaktorperipherie verhindert werden.

Darüber hinaus wurde mit dem Institut für Leichtbau Entwerfen und Konstruieren (ILEK) der Universität Stuttgart eine Verbindung hergestellt, um das Forschungsprojekt Biobeton in die BUGA-Ausstellung zu integrieren. Dafür wurde die Handyladestation als Block aus Biobeton gefertigt (Abbildung AP5 - 4), der durch Mikroorganismen mit Harnstoff als Substrat ausgehärtet wurde und eine Erweiterung der Wertschöpfungskette von Urin darstellt.

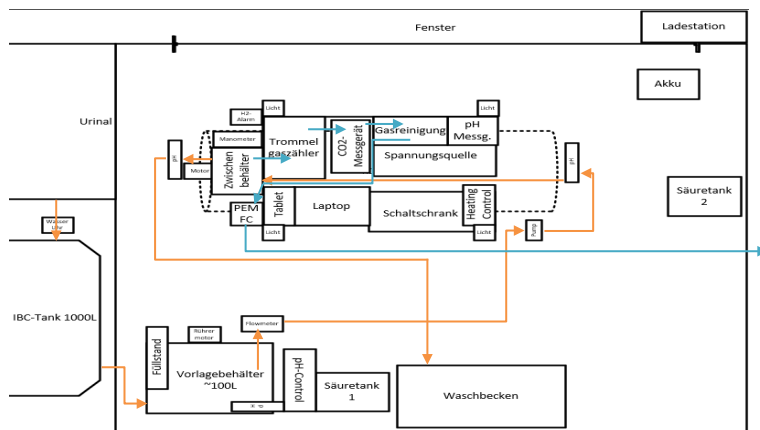



Abbildung AP5 - 3: Schnittstellen und Lageplan des RDBER in dem Toilettengebäude



Abbildung AP5 - 4: Ladestation aus Biobeton an der Außenfassade des Toilettengebäudes

Zusätzlich zu der optischen Präsentation und wissenschaftlichem Informationsmaterial wurden regelmäßig Statusupdates in das Schaufenster gehängt. Dort wurden tagesaktuelle Maßnahmen, Herausforderungen und Updates mit den Besucher:Innen geteilt. Dadurch konnte transparente und interaktive Wissenschaftskommunikation gefördert werden. In Abbildung AP5 - 5 sind beispielsweise die ersten Updates dargestellt.



PEEPOWER™
Statusbericht

zuletzt aktualisiert am 21. Juli

Phase 1

5.4.23 Inbetriebnahme des Reaktors

Schon vor der offiziellen Eröffnung der BUGA23 wurde der Reaktor mit den beiden Mikroorganismen (MO) *Shewanella oneidensis* und *Geobacter sulfurreducens* beimpft. Dabei wurde ein steriles Substrat/Medium verwendet, der Reaktor wurde vorher ebenfalls sterilisiert. So hatten die eingesetzten MO Zeit für die Ausbildung eines stabilen Biofilms auf den Anodenscheiben, bevor die Einleitung des unsterilen Urins erfolgte.

Phase 2

17.4.23 Halbkontinuierlicher Betrieb mit Urin

Nach etwa 2 Wochen ist die im Medium enthaltene Kohlenstoffquelle von den MO aufgebraucht worden. Mit der Einleitung des Urins wurde diese durch im Urin enthaltene Kohlenstoffverbindungen ersetzt. Es erfolgte ein Anstieg der Reaktorleistung in Folge der Urin-Einleitung. Die Wasserstoffproduktion lief langsam an.

9.5.23 Test zur Steigerung der Wasserstoffproduktion

Nach dem erfolgreichen Anlaufen des Reaktors untersuchen wir, ob sich die Wasserstoffproduktion durch einen Inhibitor wasserstoffverbrauchender Organismen (Molybdat) steigern lässt. Leider wurde durch die Dosierung des Inhibitors auch der Wasserstoff produzierende Biofilm auf den Elektroden inhibiert, sodass die Leistung abfiel und schließlich zum Erliegen kam.

Phase 2

29.6.23 Erneutes Animpfen des Reaktors

Wir versuchten zunächst die Produktivität des Biofilms mit verschiedenen Methoden zu erhöhen. Nachdem dies nicht gelang, wurde der alte Biofilm entfernt und der Reaktor erneut mit Reinkulturen in synthetischem Medium beimpft. In etwa 2 Wochen wird dann erneut die Urineinleitung gestartet.

Abbildung AP5 - 5: Statusupdates im Schaufenster des Reaktorraumes

AP6 Betrieb des 100 L RDBER unter möglichst realen Bedingungen am Engler-Bunte-Institut (AG Horn, DVGW)

Der 100 L RDBER wurde zunächst in Form eines Batch-Versuches mit synthetischem Medium in Betrieb genommen. Dafür wurde der Reaktor mit dem sterilisierten Medium befüllt und mit Vorkulturen von *Geobacter* und *Shewanella* auf eine optische Dichte von etwa 0,1 beimpft. Die Anodenscheiben drehten sich mit ~ 1 U/min und wurden auf ein Potential von 0 mV vs. SHE eingestellt. Das Medium wurde mit 2 L/min im Kreislauf gepumpt. Mittels eines Gaszählers konnte das entstandene Gasvolumen aufgezeichnet werden. Nach einer Einfahrzeit von 2 Tagen wurde täglich eine Probe genommen und auf den Gehalt an Laktat, Acetat und Propionat untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung AP6 - 1 dargestellt.

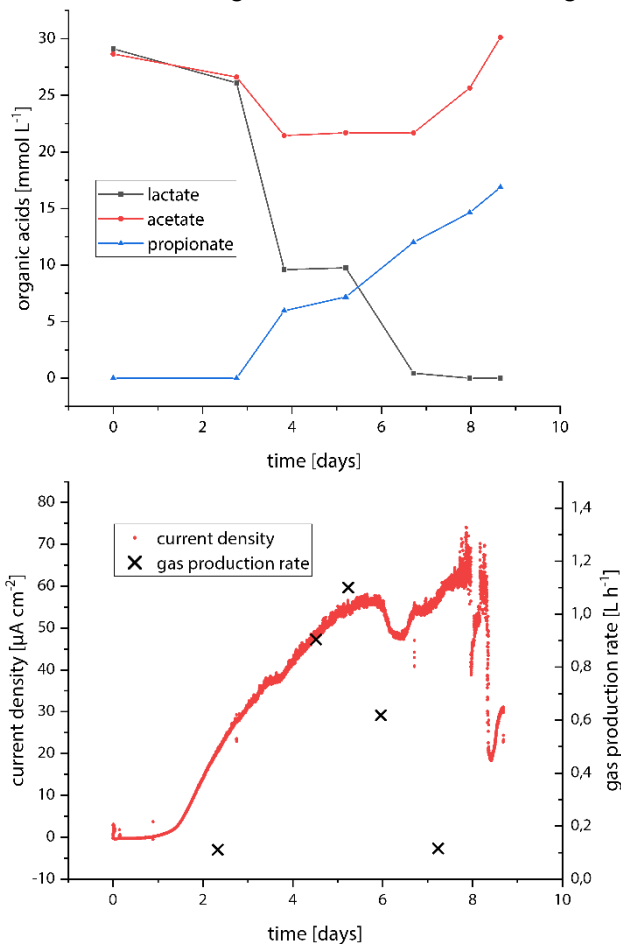


Abbildung AP6 - 1: Verlauf der Konzentrationen der organischen Säuren sowie Stromdichte und Gasproduktionsrate über den Versuchszeitraum.

Als Kohlenstoffquellen waren Laktat und Acetat im synthetischen Medium, allerdings war eine Bildung von Propionat zu beobachten. Dies ist vermutlich auf eine Kontamination mit anderen Mikroorganismen zurückzuführen. Aus diesem Grund lässt sich die H₂-Ausbeute basierend auf dem Substratabbau (vgl. AP1) nicht zuverlässig bestimmen, da unklar ist, zu welchem Anteil aus dem Abbau von Laktat und Acetat Elektronen bzw. Propionat hervorging. Ein vergleichbarer Wert ist die Stromdichte, die im 100 L System mit einem Plateau-Wert von etwa 60 $\mu\text{A cm}^{-2}$ tiefer liegt, als im 10 L System, bei dem 100 $\mu\text{A cm}^{-2}$ erreicht wurden. Dies ist möglicherweise auch eine Auswirkung der Verunreinigung.

Durch den Versuch konnten wertvolle Erkenntnisse gewonnen werden, um die Prozessführung zu optimieren. Zum einen war auch hier hydrogen-shuttling ein Problem, da der Auslass für die Kreislaufführung des Mediums nahe bei der Kathode lag und somit Gasbläschen „abgesaugt“ und durch die Pumpe dispergiert wieder dem Reaktor zugeführt wurden (Abbildung AP6 - 2).

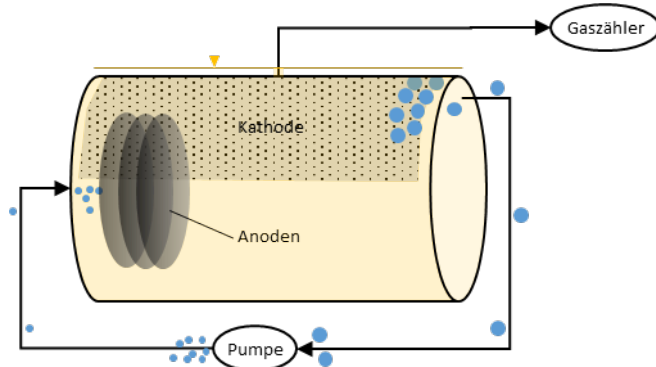


Abbildung AP6 - 2: Prozessführung und hydrogen-shuttling bei Versuch 1 des 100 L RDBER

Zum anderen wurden Flüssigkeit und Biofilmstücke in die Gasleitung gedrückt, sodass die Messung des Gasvolumens zwischenzeitlich unterbrochen war, um das Gasmessgerät vor Schäden zu schützen. Aus diesem Grund wurde für den nächsten Versuch ein Zwischenbehälter angefertigt, durch den das hydrogen-shuttling und technische Probleme vermieden werden sollen ().

Durch den Zwischenbehälter sind Gasbildung und Rezirkulation stärker voneinander entkoppelt, zusätzlich ist der Eintritt von Flüssigkeit in die Gasleitung so kaum möglich.

Nach der Umstellung der Prozessführung wurde ein weiterer Versuch mit synthetischem Medium gestartet und als Fed-Batch mit Urin fortgeführt. Dazu wurde der Reaktor erneut steril befüllt und analog zu Vorversuch 1 gestartet und betrieben. Nach 17 Tagen wurde das Medium mit Urin ausgetauscht und nach 21 Tagen wurde das Potential auf +200 mV vs. SHE eingestellt. Der Verlauf von Stromdichte und Gasbildung sind in Abbildung AP6 - 4 dargestellt.

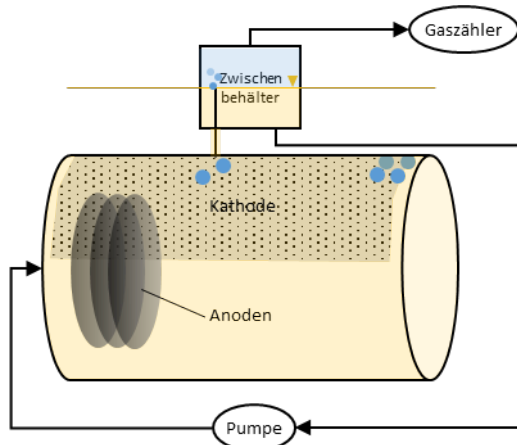


Abbildung AP6 - 3: Modifizierte Prozessführung mit Zwischenbehälter

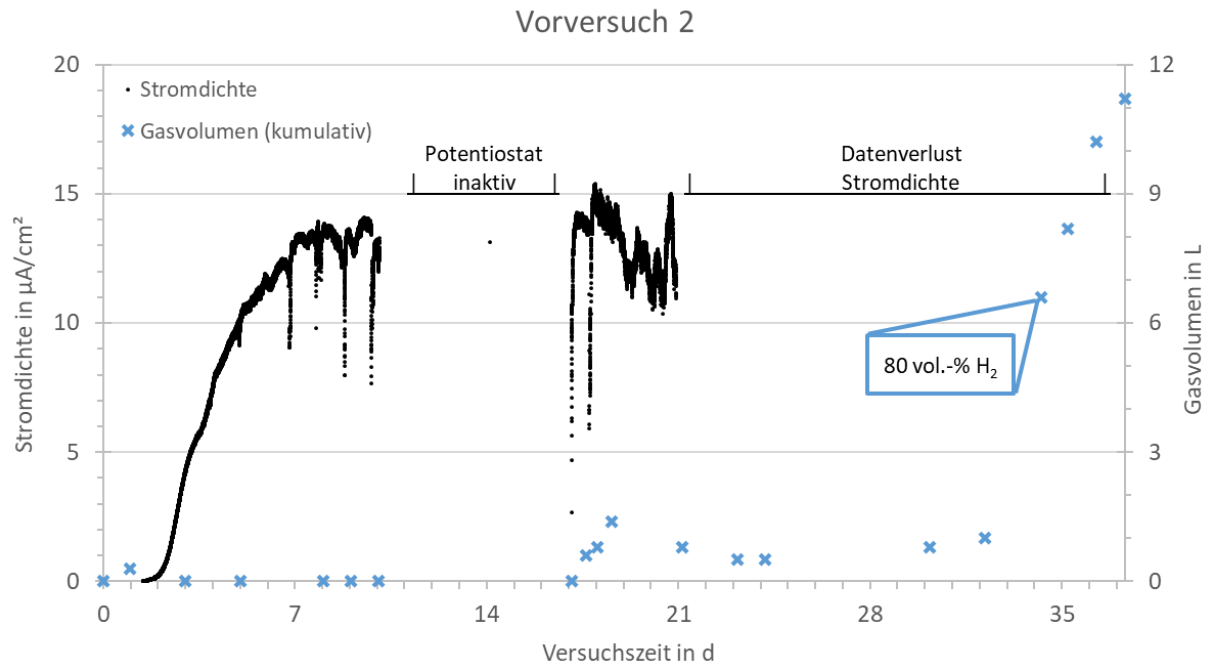


Abbildung AP6 - 4: Prozessparameter Stromdichte und Gasproduktion in Vorversuch 2 im Labor mit Medium und Urin

Das angelegte Potential an den Anodenscheiben wurde durch die Einstellung einer zu kurzen Versuchslaufzeit im Potentiostaten unbemerkt für 7 Tage unterbrochen. Unbeabsichtigt konnte so eine Unterbrechung der Stromversorgung simuliert werden. Die Stromdichte stieg nach Einschalten des Potentiostaten sehr schnell wieder auf das gleiche Niveau wie vor der Unterbrechung an. Darin zeigt sich, dass der Biofilm auf der Anode robust gegen kurzzeitige Unterbrechungen der Stromversorgung an der Anode ist. Im weiteren Verlauf sind Daten durch eine Überschreitung verloren gegangen, jedoch blieb die Stromdichte in dem Bereich zwischen 10 und 15 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$.²

Während im vorhergehenden Laborversuch nach 5 Tagen Gas produziert wurde, konnte in diesem Versuch lange keine Gasproduktion festgestellt werden. Um potentielle, unter H_2 -Verbrauch Sulfat reduzierende Bakterien zu inhibieren, wurde 0,6 mmol Natriummolybdat an Versuchstag 30 eingeleitet. 2 Tage später konnte eine Gasproduktion verzeichnet werden. Die gaschromatographische Untersuchung zeigte eine Konzentration von 87 vol.-% Wasserstoff und 13 vol.-% Kohlendioxid. Theoretisch ist die maximale Wasserstoffausbeute aus der Stoffwechselung von Acetat durch *Geobacter s.* auf 66 % H_2 begrenzt, die übrigen 33 % bestehen aus CO_2 . Bei einsetzender Gasproduktion kann ein Teil des CO_2 in dem flüssigen Medium des Reaktors gelöst werden. Nach der Sättigung des Mediums mit CO_2 wäre ein Anstieg der CO_2 -Konzentration auf etwa 33 % im Produktgas zu erwarten.

Der Anstieg der Gasproduktion nach der Molybdat-Zugabe lässt eine erfolgreiche Inhibierung von Sulfat reduzierenden Bakterien vermuten. Nach dem Versuch war eine braun-schwarze Verfärbung auf der Kathodenoberfläche, sowie des Mediums zu beobachten (Abbildung AP6 - 5).

² Dies ist aus Einträgen im Laborbuch ersichtlich

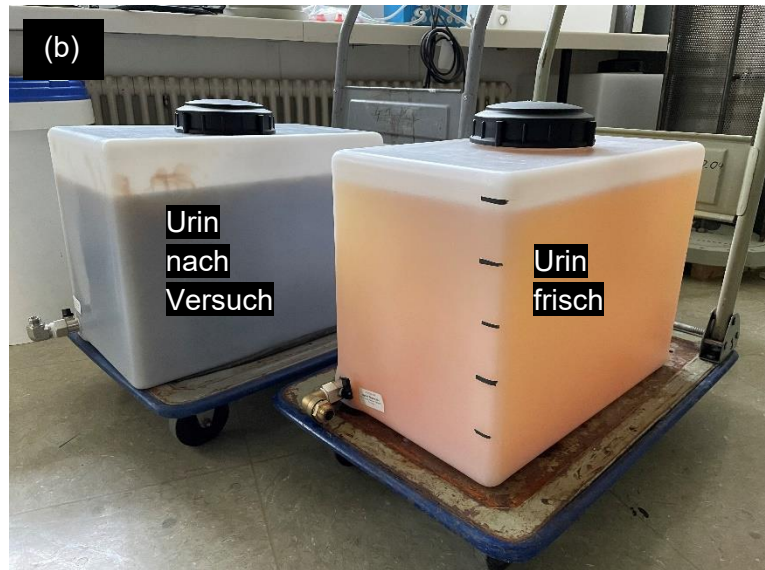


Abbildung AP6 - 5: (a) blanke (links) und belegte (rechts) Kathode, (b) Urin vor und nach der Verwendung im RDBER

Die Untersuchung des braunschwarzen Belags mittels 10 %iger Salzsäure und Bleiacetatpapier ergab einen positiven Nachweis für Eisensulfid (FeS), was ein weiterer Hinweis auf Sulfatreduktion ist (Abbildung AP6 - 6).

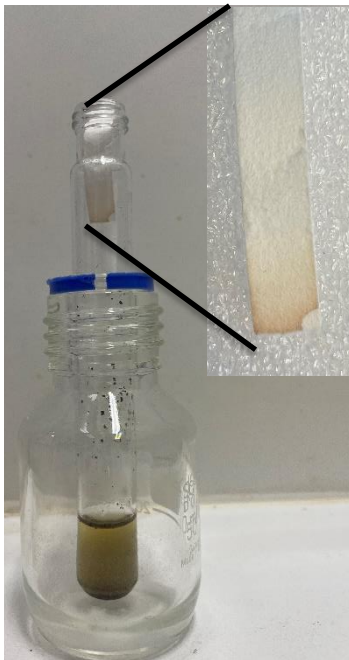


Abbildung AP6 - 6: Nachweis von dem Abbauprodukt FeS mittels Bleiacetatpapier (Farbwechsel von weiß zu braun/schwarz) aus der Sulfatreduktion, das als Belag auf der Kathodenoberfläche vorzufinden war

Im Vorversuch 2 wurde festgestellt, dass der anodische Biofilm die Scheibenoberfläche nicht vollständig ausnutzt. Auf den äußeren Scheiben war der Bewuchs am äußeren Rand bis zu dem durchgezogenen Ring (Abbildung AP6 - 7(a)) deutlich erkennbar, auf den weiter innen liegenden Scheiben bis zu dem gestrichelten Ring. Um dem entgegenzuwirken und die Verwirbelung des Mediums zu erhöhen, wurden für den Betrieb auf der Bundesgartenschau in den Anodenscheiben Löcher eingebracht (Abbildung AP6 - 7(b)). Die Oberfläche reduzierte sich dabei um etwa 3 % von 10,3 m² auf 10 m².

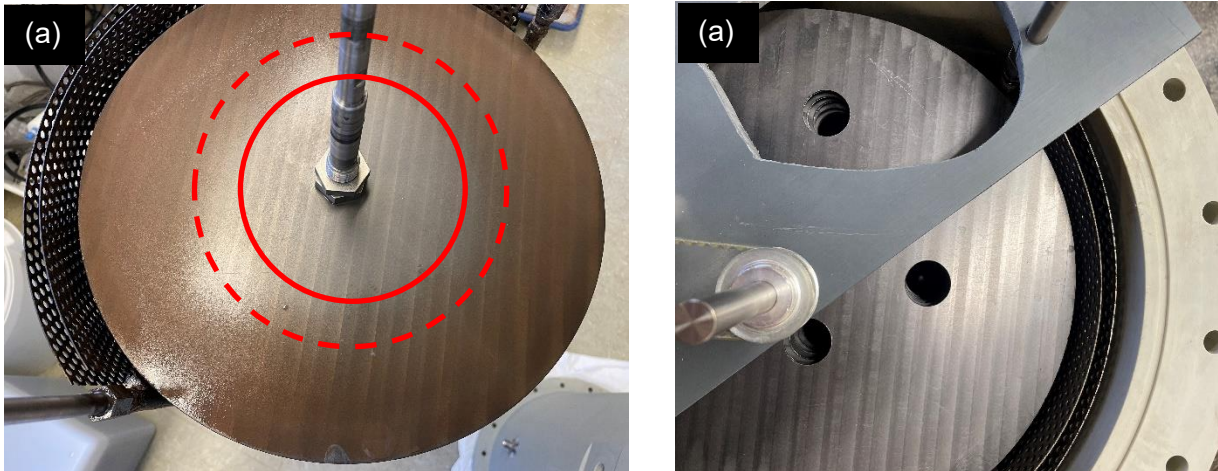


Abbildung AP6 - 7: (a) Bewuchsbereich des Biofilms in Vorversuch 2, (b) Modifizierung der Anodenscheiben

AP7 Entwicklung von Inokulationsroutinen für den Reaktorbetrieb (AG Gescher, TUHH)

Über die bisher durchgeführten Versuche konnten wir sowohl Rauigkeit, Funktionalisierung als auch Vorbeschickung mit exoelektrogenen Organismen als sinnvolle Maßnahmen für das Anfahren bioelektrochemischer Systeme etablieren.

Wir haben in vorhergehenden Untersuchungen aber auch zeigen können, dass exoelektrogene Biofilme synthetisch auf Oberflächen aufgebracht werden können. Die führte bei Verwendung von Riboflavin-funktionalisierten Matrices (siehe AP2) zu bis zu 14fach erhöhten Stromdichten. Wegen des sehr engen Zeitplans war es uns nicht möglich diese Sprühtechnik für den verwendeten 100 L Reaktor anzuwenden. Erste Versuche zeigten, dass der Einbau der Anodenscheiben zu lange dauert, als dass die Organismen in der aufgesprühten Matrix nicht absterben würden oder in Folge einer hohen Sauerstoffkonzentration absterben würden.

Allerdings haben wir die Sprühtechnik in diesem AP weiterentwickelt, um sie einfach für Hochskalierungen von bioelektrochemischen Reaktoren verfügbar zu machen. Hierbei gingen wir von der Annahme aus, dass Schüttungen von Elektrodenmaterialien in der Zukunft häufig Verwendung finden könnten. Wir haben es geschafft große Mengen von Graphitpartikeln auf einmal mit einem relativ gleichmäßigen Hydrogel zu benetzen (Abbildung AP7 - 1). Wir denken hier über eine Erweiterung der bisherigen Patentanmeldung nach.

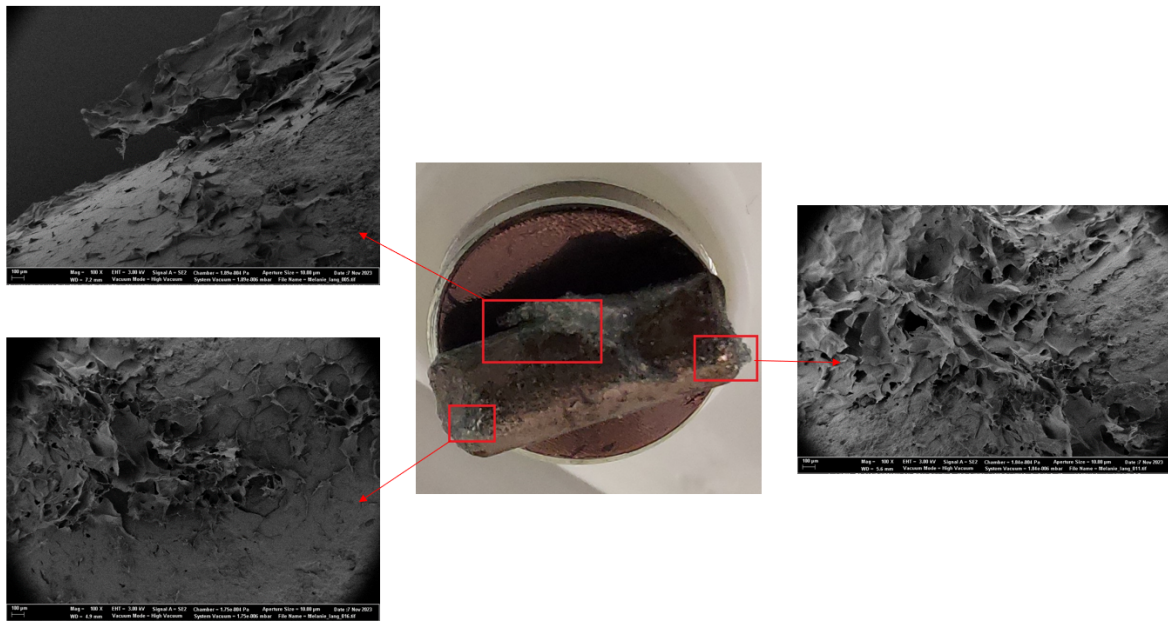


Abbildung AP7 - 1: Coating von Graphitpartikeln mit Hydrogelmatrices. Gezeigt ist ein herausgegriffener Partikel und elektronenmikroskopische Aufnahmen des Hydrogelcoatings. Zu sehen ist ein gleichmäßiger Hydrogelfilm auf der Partikeloberfläche.

AP8 Aufbau und Betrieb des 100 L RDBER auf der BUGA 2023 (AG Horn, DVGW)

Der RDBER wurde auf der BUGA23 über eine Dauer von 192 Tagen (05.04.2023 – 13.10.2023) betrieben. Anhand verschiedener Betriebsänderungen wurde die Zeitspanne in drei Phasen unterteilt. Eine Übersicht über die Betriebsphasen und die wichtigsten Ereignisse gibt Abbildung AP8 - 1.

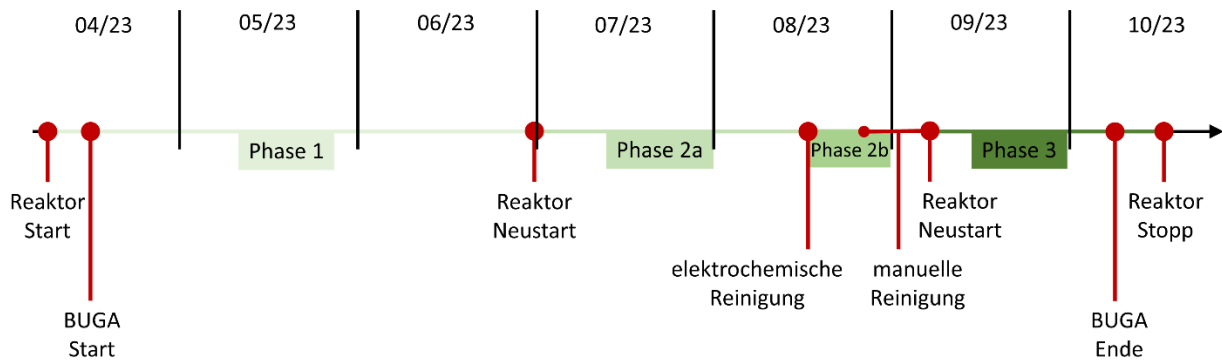


Abbildung AP8 - 1: Phasen des 100 L RDBER BUGA-Betriebs

Mit dem Reaktorstart kurz vor BUGA-Beginn startet Phase 1 des Betriebs. Aufgrund des Einsatzes von Molybdat zur Inhibierung (in Anlehnung an den Vorversuch, siehe AP6) kam die Produktivität des anodischen Biofilms zum Erliegen. Der Reaktorbetrieb wurde nach 87 Tagen unterbrochen und mit Unterstützung der AG Gescher neu inokuliert. Während des Betriebs in Phase 2 wurden nur geringe Stromdichten erreicht. Nach dem Testen verschiedener Lösungsansätze wurden die Elektrodenoberflächen elektrochemisch gereinigt. Nachdem der weitere Betrieb (→ Phase 2b) zu keiner Leistungssteigerung führte, wurde der Reaktor im Engler-Bunte-Institut demontiert, manuell gereinigt und erneut zusammen mit der AG Gescher mit neuen Kulturen auf der BUGA in Betrieb genommen (→ Phase 3). Nach Ende der BUGA lief der Reaktor weiter, bis der Urin aus dem Vorratstank aufgebraucht war.

Nachfolgend werden die Betriebsphasen im Detail besprochen.

Phase 1

Der Reaktor wurde am 05.04.2023 auf der BUGA mit synthetischem Medium befüllt und mit *Geobacter s.* und *Shewanella o.* Kulturen inokuliert und für 84 Tage semikontinuierlich betrieben, d.h. der 100 L Vorlagetank wurde abwechselnd gefüllt, dann erfolgte die pH-Einstellung, der Urin wurde mit pH 7 in den Reaktor gefördert, anschließend konnte der Vorlagetank wieder gefüllt werden. Die Parameter Stromdichte, Gasproduktion und CO₂-Gehalt im Produktgas während des Versuchsverlaufs sind in Abbildung AP8 - 2 aufgetragen.

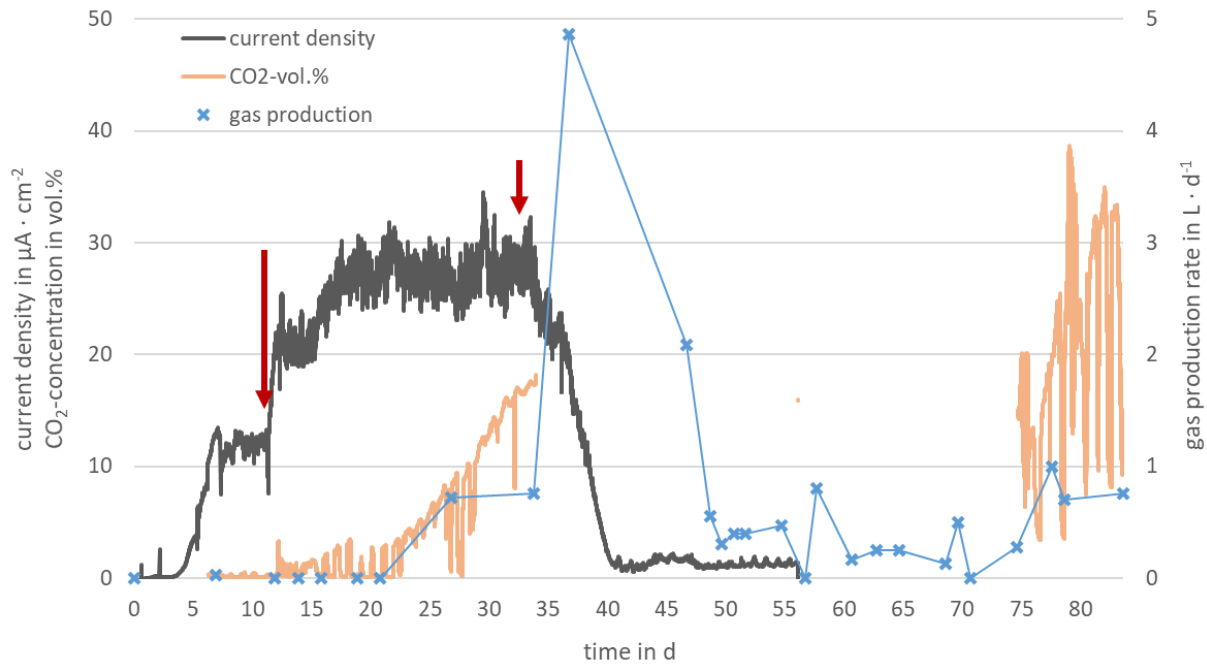


Abbildung AP8 - 2: Verlauf der Prozessparameter in Phase 1 des BUGA-Betriebs

Zunächst ist ein Anstieg der Stromdichte in den ersten 6 Tagen von 0 auf etwa 10 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ zu erkennen, was einer Gesamtstromstärke von 1 A entspricht. An Versuchstag 12 wurde Urin in den Reaktor eingeleitet (Kennzeichnung durch ersten roten Pfeil). Daraufhin stieg die Stromdichte in den folgenden 5 Tagen (Versuchstag 12 bis 18) auf Werte zwischen 2,5 und 3 A Gesamtstromstärke und verblieb dort bis Versuchstag 35. Eine Gasproduktion konnte ab Versuchstag 26 gemessen werden und betrug bis Versuchstag 35 knapp unter 1 L/d mit einem CO₂-Anteil von 10 bis 18 %. Dies entspricht der Gaszusammensetzung des zweiten Vorversuchs (siehe AP6), die Wasserstoffproduktion lag dementsprechend bei etwa 0,8 L/d bzw. 0,03 L/h .

Rein rechnerisch existiert eine maximal erreichbare Wasserstoffproduktion, die sich aus der Reaktionsgleichung von Elektronen und Protonen zu Wasserstoff ergibt:



Aus dem Elektronenfluss pro Ampere und dem Molvolumen von Wasserstoff folgt, dass bei 1 A, was im Reaktor einer Stromdichte von $10 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ entspricht, ein maximales Wasserstoffvolumen von $0,4 \text{ L/h}$ produziert werden kann. Wird dieser Wert mit der tatsächlichen Wasserstoffproduktion verglichen, erhält man den Coulombschen Wirkungsgrad des Reaktors:

$$\frac{0,033 \frac{\text{L}}{\text{h}}}{0,4 \frac{\text{L}}{\text{h}}} = 8,3 \%$$

Die erste Betriebsphase auf der BUGA zeigt mit dem späten Beginn der Gasproduktion und dem niedrigen Wirkungsgrad ein ähnliches Verhalten wie der Vorversuch 2. Aus diesem Grund wurde an Versuchstag 34 ebenfalls Molybdat in den Reaktor eingebracht. Aus der wissenschaftlichen Literatur wurden Werte zwischen $0,08$ und 5 mmol/L für eine erfolgreiche Inhibierung von Sulfat reduzierenden Bakterien angegeben [6–8]. Daran orientiert wurde der Reaktor auf eine molare Konzentration von $1,7 \text{ mmol/L}$ gebracht (Kennzeichnung durch zweiten roten Pfeil). Im Anschluss daran stieg die Gasproduktion stark an und fiel nach dem Maximum an Versuchstag 37 wieder ab. Die Stromdichte fiel nach der Zugabe ab. Die Entwicklung beider Parameter lässt vermuten, dass einerseits wie im Vorversuch 2 der Konsum von Wasserstoff durch Sulfat reduzierende Bakterien erfolgreich unterdrückt wurde (\rightarrow Anstieg Gasproduktion), andererseits auch der anodische Biofilm inhibiert wurde (\rightarrow Abfall Stromdichte).

Durch eine unbekannte Ursache erfolgte keine Datenaufzeichnung des CO_2 -Messgeräts zwischen Tag 35 und 75. Die Stromdichte wurde ab Tag 55 ebenfalls nicht aufgezeichnet. Aus Einträgen im Laborbuch lässt sich rekonstruieren, dass die Stromdichte auf dem gleichen Niveau bleibt und nicht wieder ansteigt. Es wurden verschiedene Versuche unternommen, die Produktivität des anodischen Biofilms wiederherzustellen: Reduzieren der Molybdatkonzentration durch Verdünnen des Reaktormediums mit Leitungswasser, Zugabe von Acetat als Kohlenstoffquelle, Austauschen des Reaktorvolumens mit Urin. Nach 84 Tagen, am 28.06.2023, wurde die erste Versuchsphase beendet, da die Gasproduktion nicht wieder gestiegen ist.

Phase 2a + 2b

Am 30.06.2023 wurde der Reaktor mit neuen Kulturen und Wachstumsmedium gestartet und später mit Urin semikontinuierlich betrieben, wie bei Phase 1 beschrieben. Der Versuchsverlauf für Phase 2a ist in Abbildung AP8 - 3 veranschaulicht.

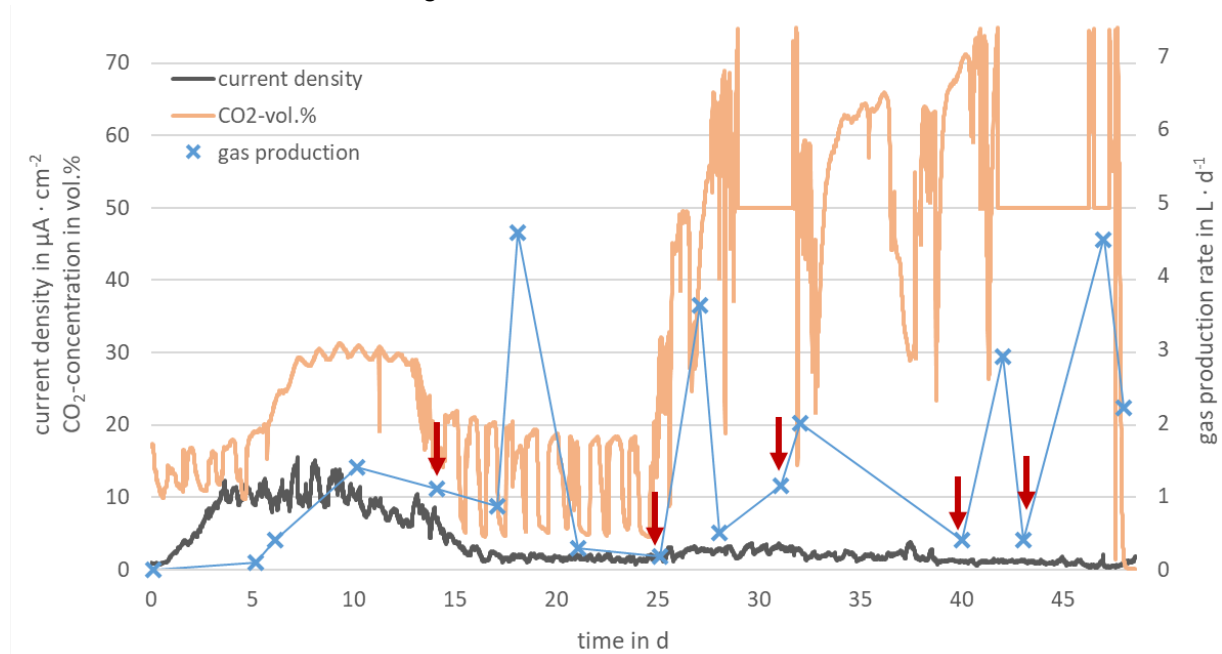


Abbildung AP8 - 3: Verlauf der Prozessparameter in Phase 2a des BUGA-Betriebs

In den ersten 14 Tagen, in denen der Reaktor mit Wachstumsmedium betrieben wurde, konnte schon eine Gasproduktion mit einem maximalen CO₂-Anteil von 31 % verzeichnet werden. Dies entspricht dem zu erwartenden Anteil im Produktgas. Die Stromdichte lag zu diesem Zeitpunkt bei 1 A mit leichten Schwankungen. Nach der Einleitung von Urin sinkt die Stromdichte auf einen Wert von $2 \pm 1 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ und bleibt bis Ende der Versuchsphase konstant. Die Gasproduktion schwankt ab der Urineinleitung zwischen Werten unter 1 L/d und 5 L/d. Ein lokales Maximum wird jeweils nach der Urineinleitung (rote Pfeile) erreicht. Allerdings zeigt die kontinuierliche Gasanalyse, dass die CO₂-Volumenkonzentration zwischen 30 und 70 % schwankt. Gaschromatographische Untersuchungen des Produktgases zeigen, dass Wasserstoff nur noch $< 5 \text{ vol.-%}$ im Produktgas vorliegt. Neben CO₂ ist hauptsächlich Methan im Produktgas enthalten.

Dies lässt sich wahrscheinlich auf die im Reaktor befindlichen Mikroorganismen zurückführen. Kurz vor dem Ende von Phase 2a wurde eine Flüssigkeitsprobe aus dem Reaktor entnommen und mittels Sequenzierung wurden die Bakterienspezies darin identifiziert (siehe AP9).

Um ein „Reset“ der Bakterienpopulation auf den Elektrodenoberflächen zu erreichen, wurde am 17.08.2023 ein Elektrolysestoß durchgeführt, bei dem starke Gasentwicklung an Anode und Kathode zu einem Ablösen des Biofilms führt. Anschließend wurde der Reaktor für 5 Tage kontinuierlich mit etwa 100 Liter Urin pro Tag Durchsatz betrieben. Erneut lag der CO₂-Anteil im Produktgas bei 60 vol.-%, daher wurde die Versuchsphase 2b beendet.

Phase 3

Der Reaktor wurde vollständig demontiert, manuell gereinigt, zusammengebaut und mit neuer Kultur und synthetischem Medium am 07.09.2023 gestartet. Der Reaktor wurde mittels automatischer pH-Einstellung des Urins im Vorlagetank kontinuierlich bei einem pH-Wert von 7 und einem Durchsatz von 45 L/d betrieben. Der Verlauf über die 34 Versuchstage ist in dargestellt.

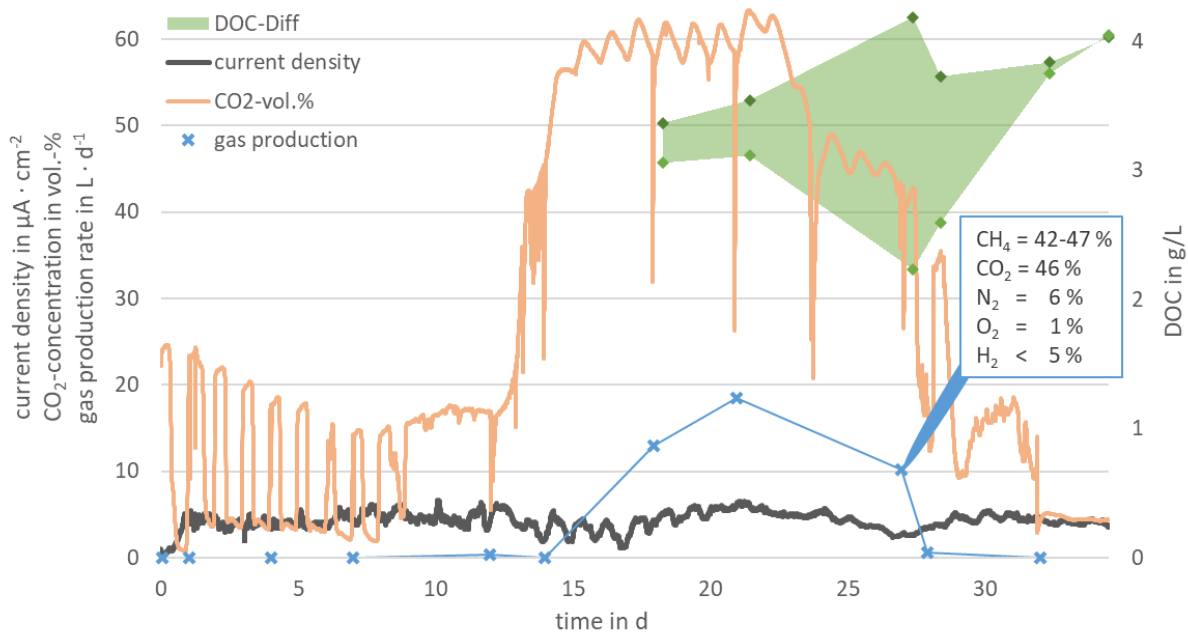


Abbildung AP8 - 4: Verlauf der Prozessparameter in Phase3 des BUGA-Betriebs

Während der Versuchsphase 3 blieb die Stromdichte auf einem Niveau um $5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, was einer Gesamtstromstärke von $0,5 \text{ A}$ entspricht. Zu erwarten wäre demnach eine maximale Wasserstoffproduktion von $4,8 \text{ L/d}$ (\rightarrow mit 33% CO_2 ergäbe dies einen Gasvolumenstrom von $7,2 \text{ L/d}$). Die tatsächliche Gasproduktion liegt mit $10\text{-}18 \text{ L/d}$ deutlich darüber. Der CO_2 -Anteil beträgt bei Beginn der Gasentwicklung bei etwa 60 vol.-% , gegen Ende niedriger. Die chromatographische Gasanalyse zeigt wie während der Phase 2a einen H_2 -Anteil von $< 5 \text{ vol.-%}$, dafür eine CH_4 -Konzentration über 40 vol.-% .

Die Konzentrationen des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) im Zu- und Ablauf des Reaktors sind in der Abbildung AP8 - 4 in grün dargestellt. Während der Gasproduktionsphase wurde maximal die Hälfte des DOC ($\sim 2 \text{ g/L}$) verbraucht. Mit dem Absinken des DOC Verbrauchs kommt auch die Gasproduktion zum Erliegen.

Brennstoffzelle

Ziel des Ausstellungsobjektes PeePower™ war es unter anderem, den produzierten Wasserstoff mittels einer Brennstoffzelle in Strom umzuwandeln und den Besucher:Innen in Form einer Ladestation zu Verfügung zu stellen. Dies hat aus zwei Gründen nicht funktioniert: Zum einen war die Wasserstoffproduktion für die Brennstoffzelle zu gering, da andere Mikroorganismen die Gasentstehung stark beeinflusst haben. Zum anderen benötigen Brennstoffzellen aus betriebstechnischen Gründen einen Vordruck im Feedgasstrom, in diesem Fall $0,3 \text{ bar}$. Dieser Druck konnte mit der realisierten Reaktorperipherie nicht kontinuierlich erreicht werden.

AP9 Korrelation von Mikrobiom- und Prozessstabilität (AG Gescher, TUHH)

Um einen Einblick in die mikrobielle Gemeinschaft des Anodenbioms zu erhalten, wurde eine Metagenomanalyse zu verschiedenen Zeitpunkten des Prozesses durchgeführt. Das Hauptziel bestand darin, die Entwicklung der exoelektrogenen Mikroorganismen im Biofilmkonsortium zu verfolgen, die für einen effizienten Betrieb der MEC notwendig sind.

Eine planktonische Probe wurde am Ende der Phase 2a während der BUGA entnommen und sequenziert, wobei die erreichte Stromdichte des Prozesses in diesem zeitlichen Rahmen unter den Erwartungen lag. Die Sequenzierung des Metagenoms ergab eine sehr vielfältige, von γ -Proteobakterien dominierte Gemeinschaft, die in Abbildung AP9 - 1 dargestellt ist. Die Analyse zeigte, dass nur 0,5% der Mikrobengemeinschaft dem Genus *Geobacter* zugeordnet werden konnten. Die geringe erreichte Stromdichte könnte somit mit dem geringen Anteil an *Geobacter* Zellen zusammenhängen, obgleich zu diesem Zeitpunkt keine Sequenzierung des Biofilms auf der Anode vorgenommen wurde. Des Weiteren konnte im Biofilm ein sehr hoher Anteil an *Bacillota* bzw. *Firmicutes* nachgewiesen werden. *Firmicutes* sind syntrophe Bakterien, von denen bekannt ist, dass sie flüchtige Fettsäuren (VFA) zu Wasserstoff abbauen und als Schlüsselorganismen für anaerobe Gärungsprozesse gelten. Es ist auch denkbar, dass *Geobacter* den von diesen Organismen lokal im Anodenbiofilm produzierten Wasserstoff nutzt, da dieser Organismus auch Wasserstoff als Elektronendonator nutzen kann. Somit könnte auch die Nährstoff- bzw. Substratverfügbarkeit einen Einfluss auf die *Geobacter*-Konzentration haben.

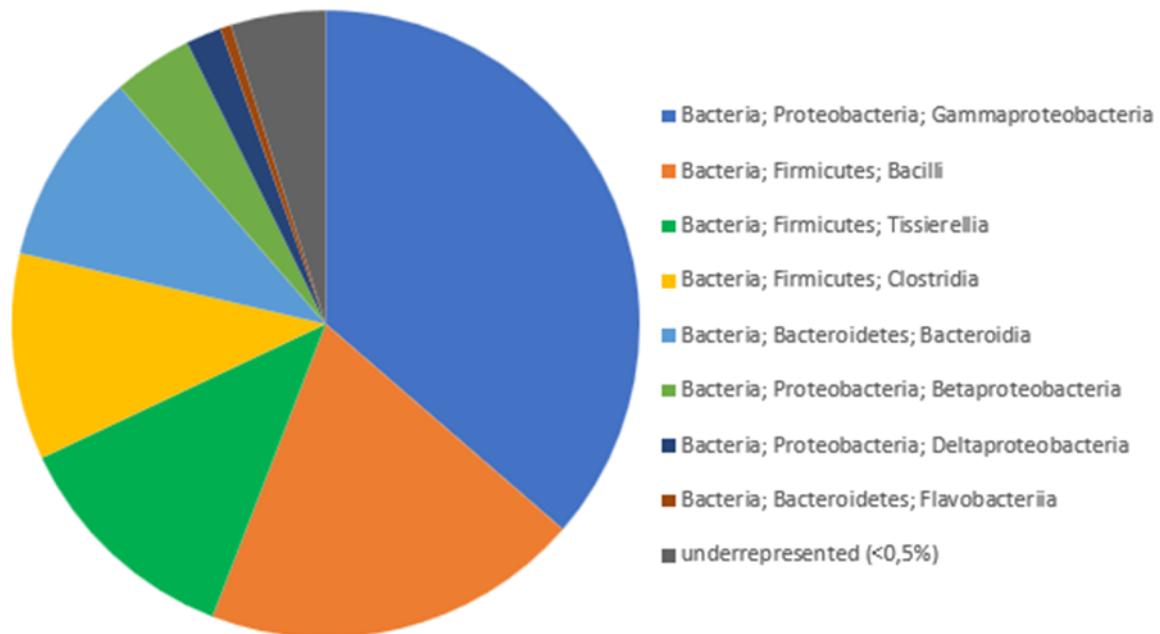


Abbildung AP9 - 1: Phylogenetische Zusammensetzung des planktonischen Mikrobioms auf Ebene der Klasse.

Nach Phase 2 wurde das System gereinigt und in Phase 3 neu gestartet. Hier wurde das System zunächst mit den exoelektrogenen Mikroorganismen *G. sulfurreducens* und *S. oneidensis* gestartet. Nach Zugabe von Urin wurde die Biofilmgemeinschaft am Ende der Phase 3 erneut sequenziert und eine Metagenomanalyse durchgeführt (Abbildung AP9 - 2). Dabei zeigte sich, dass noch 1,1 % der Gattung *Geobacter* zugeordnet werden konnten. Die geringe Stromdichte und der daraus resultierende geringe Wasserstoffanteil in der Gasphase hing also vermutlich mit dem geringen Anteil an exoelektrogenen Mikroorganismen im Anodenbiofilm zusammen. Dieser wurde von fermentativen Organismen aus der Abteilung Bacillota dominiert, die, wie

bereits erwähnt, für den Abbau von VFA bekannt sind. Darüber hinaus wurde in Phase 3 Methan im Gasstrom gemessen, was auf die nachgewiesene Anwesenheit von methanogenen Spezies, genauer *Methanosarcinia*, zurückzuführen zu sein scheint. Methanogene können Methan hydrogenotroph aus Wasserstoff und CO₂ oder acetoklastisch aus Acetat bilden. *Geobacter* und Methanogene teilen sich also das Substratangebot an vorhandenem Acetat und Wasserstoff, das von Organismen der Abteilung *Bacillota* gebildet werden kann.

Die Sequenzierung ergab insgesamt einen geringen Anteil an exoelektrogenen Mikroorganismen, die einen direkten Einfluss auf die Stromproduktion haben. Die Verwendung von unsterilem Urin zeigte deutlich die Veränderung der Biofilmgemeinschaft und den Einfluss auf die Stabilität des Anodenbiofilms und der erwünschten exoelektrogenen Mikroorganismen.

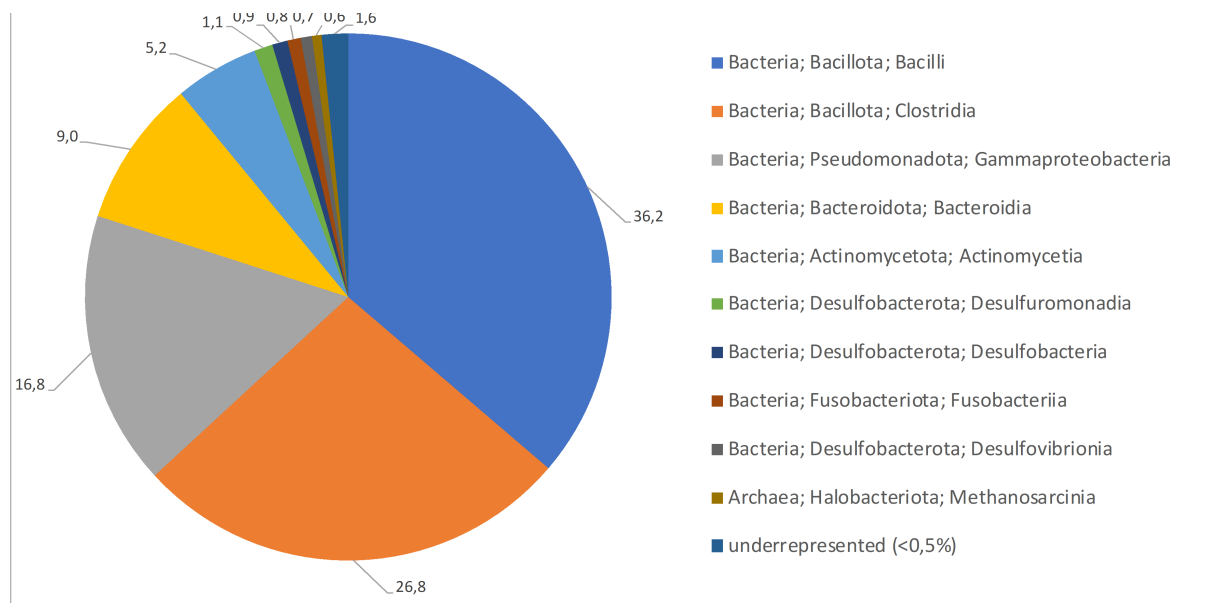


Abbildung AP9 - 2: Phylogenetische Zusammensetzung des planktonischen Mikrobioms auf Ebene der Ordnung.

AP10Finale Beurteilung des Gesamtprozesses und Einschätzung für die Nutzung auf Großveranstaltungen (AG Horn, DVGW; AG Gescher, TUHH)

Die mikrobielle Elektrolyse in dem Projekt PeePower™ baut auf den zwei elektroaktiven Mikroorganismen *G. sulfurreducens* und *S. oneidensis* auf. Während des Betriebs des 100 L Reaktors auf der BUGA23 wurden mit dem Urin der Besucher:Innen durch Luftkontakt und unsterile Peripheriebauteile unerwünschte Mikroorganismen eingetragen. Im Reaktor besteht theoretisch ein selektiver Vorteil für die chemoelektroaktiven Organismen indem auf den Aufwuchsflächen (Anodenscheiben) ein Potential angelegt wird.

Während die Wasserstoffproduktion zu Beginn erfolgreich war, wurde der Prozess später instabil. Schließlich wurde der Reaktor von fermentativen und methanogenen Organismen dominiert. Offensichtlich war der selektive Vorteil nicht groß genug und die beiden Zielorganismen wurden von der Anodenoberfläche verdrängt. Gleichzeitig wurden Anzeichen für einen kathodischen Biofilm festgestellt, der die Produktion von Wasserstoff beeinträchtigte.

Durch die gesammelten Erkenntnisse während des 6-monatigen Betriebs konnten einige mögliche Problemstellen identifiziert werden. Bereiche mit Untersuchungsbedarf, bzw. Lösungsansätze, die eine Weiterentwicklung des Reaktorsystems und damit ggf. den wirkungsvollen Einsatz auf Großveranstaltungen ermöglichen könnten, sind folgende:

- Um den pH-Wert des Urins von 9-10 auf 7 zu senken wurde eine erhebliche Menge Salzsäure eingesetzt. Dagegen könnte der hohe pH-Wert ein weiterer selektiver Vorteil für daran angepasste elektroaktive Organismen sein.
- Die Hydrodynamik im Reaktorinneren und damit die Stoffübertragung kann mit einer Veränderten Führung des Zu- und Ablaufs verbessert werden
- Die Peripherie des Reaktors sollte in situ zu spülen sein
- Eine Opferanode kann die elektrochemische Reinigung der Kathode ermöglichen, ohne den Biofilm auf den bewachsenen Anodenscheiben zu zerstören
- Das optimale Verhältnis zwischen Kathoden- und Anodenoberfläche bedarf weiterer Untersuchung

3. Nutzen, insbesondere praktische Verwertbarkeit der Ergebnisse und Erfahrungen

Die Erfahrungen beim Betrieb der 100 L Reaktors werden direkt im Rahmen des Projekts KoalAplan eingearbeitet. KoalAplan wird durch das Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg gemeinsam mit der EU-Kommission im Rahmen des EFRE-Förderprogramms „Bioökonomie – Bioraffinerien zur Gewinnung von Rohstoffen aus Abfall und Abwasser – Bio-Ab-Cycling“ gefördert.

4. Beitrag der Ergebnisse zu den Zielen des Förderprogramms des Zuwendungsgebers

In dem bearbeiteten Projekt wurden innovative Konzepte entwickelt, die insbesondere zu den Zielen 1 und 2 der „Landesstrategie Nachhaltige Bioökonomie“ beitragen [1]:

Aus dem Abfallstrom Urin soll bei einer Großveranstaltung mit einem Bioelektrischen System (BES) Energie gewonnen werden. Zudem wird der Energieverbrauch für die konventionelle Abwasserbehandlung reduziert. Dadurch kann perspektivisch der Einsatz fossiler Rohstoffe gesenkt und die Abhängigkeit von Energie- und Rohstoffimporten verringert werden. Gleichzeitig wird durch die Reduktion der CO₂-Emissionen ein Beitrag zu den Klimaschutzzielen in Baden-Württemberg geleistet.

5. Konzept zum Ergebnis- und Forschungstransfers

Die (Weiter)Entwicklung von bioelektrischen Systemen bzw. Reaktoren auf der Pilotskala hat mit dem Betrieb des 100L RDBER einen großen Schritt vorwärts gemacht. Der Reaktor hat verfahrenstechnisch alle Anforderungen erfüllt und lief über den gesamten Zeitraum der BUGA 2023 in Mannheim. Mit den Erkenntnissen bietet das Reaktorkonzept jetzt eine klare Perspektive für die Skalierung. Wichtig für einen solchen Schritt sind in der Tat stabil arbeitende mikrobielle Konsortien auf der Elektrode (Anode aber auch Kathode).

6. Erfolgte oder geplante Veröffentlichung der Ergebnisse

Zwischenzeitliche Projektergebnisse wurden bereits 2023 im Rahmen des Forschungsnetzwerks ValBio an der Universität Stuttgart mit anderen Institutionen aus dem Bereich Bioökonomie geteilt und diskutiert. Außerdem erfolgte die Präsentation von vorläufigen Ergebnissen auf der Scientific Conference on Transforming towards a Sustainable Society am KIT in Karlsruhe.

References

- [1] um Baden-Württemberg and mlr Baden-Württemberg, "Landesstrategie nachhaltige Bioökonomie Baden-Württemberg," 2019.
- [2] R. D. Cusick *et al.*, "Performance of a pilot-scale continuous flow microbial electrolysis cell fed winery wastewater," *Appl Microbiol Biotechnol*, early access. doi: 10.1007/s00253-011-3130-9.
- [3] P. Kuntke, T. Sleutels, M. Saakes, and C. Buisman, "Hydrogen production and ammonium recovery from urine by a Microbial Electrolysis Cell," *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 39, no. 10, pp. 4771–4778, 2014. doi: 10.1016/j.ijhydene.2013.10.089. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319913026013>
- [4] E. V. LaBelle, C. W. Marshall, J. A. Gilbert, and H. D. May, "Influence of acidic pH on hydrogen and acetate production by an electrosynthetic microbiome," *PLOS ONE*, early access. doi: 10.1371/journal.pone.0109935.
- [5] A. W. Jeremiase, H. V. Hamelers, M. Saakes, and C. J. Buisman, "Ni foam cathode enables high volumetric H₂ production in a microbial electrolysis cell," *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 35, no. 23, pp. 12716–12723, 2010. doi: 10.1016/j.ijhydene.2010.08.131. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360319910017702>
- [6] P. J. Newport and D. B. Nedwell, "The mechanisms of inhibition of *Desulfovibrio* and *Desulfotomaculum* species by selenate and molybdate," *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 65, no. 5, pp. 419–423, 1988, doi: 10.1111/j.1365-2672.1988.tb01911.x.
- [7] M. H. Isa and G. K. Anderson, "Molybdate inhibition of sulphate reduction in two-phase anaerobic digestion," *Process Biochemistry*, vol. 40, no. 6, pp. 2079–2089, 2005. doi: 10.1016/j.procbio.2004.07.025. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032959204003541>
- [8] K. C. Biswas, N. A. Woodards, H. Xu, and L. L. Barton, "Reduction of molybdate by sulfate-reducing bacteria," *Biometals*, early access. doi: 10.1007/s10534-008-9198-8.