

Energieforschungsprogramm

Publizierbarer Endbericht

Programmsteuerung:

Klima- und Energiefonds

Programmabwicklung:

Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft mbH (FFG)

Endbericht

erstellt am

04/07/2023

Projekttitel: Flexible acide ex-situ Methanisierung von Biogas mit erneuerbarem Wasserstoff

Projektnummer: 40220844

Energieforschungsprogramm - 7. Ausschreibung

Klima- und Energiefonds des Bundes – Abwicklung durch die Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft FFG

Ausschreibung	7. Ausschreibung Energieforschungsprogramm
Projektstart	01/10/2021
Projektende	31/03/2023
Gesamtprojektdauer (in Monaten)	18 Monate
ProjektnehmerIn (Institution)	Creonia e.U.
AnsprechpartnerIn	DI Dr. Ungerank, Markus
Postadresse	Münzbacher Straße 22, 4320 Perg
Telefon	+43 664 4612934
Fax	-
E-mail	markus.ungerank@creonia.at
Website	www.creonia-innovations.com

Flexible acide ex-situ Methanisierung von Biogas mit erneuerbarem Wasserstoff

FlaeXMethan

AutorInnen:

DI Dr. Markus Ungerank (Creonia e.U.)

DI Marco Orthofer (JKU)

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis	4
2	Einleitung	5
3	Inhaltliche Darstellung.....	8
3.1	Screening, Quantifizierung und Priorisierung der acidophilen Methanogenen.....	8
3.2	Quantifizierung und Optimierung der CH ₄ -Produktivität unter acidophilen Bedingungen und Hochdruck im "Fed-batch"-Verfahren.....	14
3.3	Langzeitrobustheit in kontinuierlicher Kultur, Gasaufbereitungstechnologie und Systemintegration	23
4	Ergebnisse und Schlussfolgerungen	26
5	Ausblick und Empfehlungen	29
6	Literaturverzeichnis.....	30
7	Kontaktdaten.....	33

2 Einleitung

Ausschreibungsschwerpunkt:	3.1 Chemische Speicher- und Umwandlungstechnologien
Instrument:	Kooperatives Projekt
Forschungskategorie:	Industrielle Forschung
Kurztitel des Projekts:	FlaeXMethan
Langtitel des Projekts:	Flexible acide ex-situ Methanisierung von Biogas mit erneuerbarem Wasserstoff
Projektbezogene Keywords:	Methanisierung, Biogas, Wasserstoff

Im FlaeXMethan-Projekt wurde untersucht, ob eine Methanisierungseinheit nach dem ex-situ Prinzip mit einer nachgeschalteten membranbasierten Biogasaufbereitung inkl. Steuerung zusammen kombiniert werden kann, um die biologische CH_4 -Produktion aus CO_2/H_2 durchführen zu können und dadurch die Effizienz von bestehenden Biogasanlagen zu verbessern.

Die Aufgabe bestand hierbei darin eine neue flexible Methanisierungstechnologie zu entwickeln die sich vom Stand der Technik abhebt die Technologie soll voll flexibel sein und unterschiedliche Mengen an Wasserstoff mit vorhandenem Kohlendioxid aus einer Biogasanlage umsetzen je nachdem wieviel Wasserstoff hergestellt durch Wasserelektrolyse aus Überschussstrom zur Verfügung steht.

Die Herausforderung des Projektes bestand darin geeignete Mikroorganismen zu finden die in der Gegenwart von überschüssigem Kohlendioxid und damit vermindertem pH-Wert eine brauchbare Methanisierung Reaktion von Wasserstoff und Kohlendioxid zu Methan zeigen.

In weiterer Folge besteht die Anforderung darin die notwendigen Mengen an Wasserstoff und Kohlendioxid in das flüssige Medium hin zu den Mikroorganismen einzubringen. Dazu sollen Verfahren entwickelt werden, um eine effiziente Einbringung zu bewerkstelligen.

Nachfolgend noch die Hauptziele des Projektes:

Ziel 1: Auswahl und Priorisierung von geeigneten Mikroorganismen

Die FlaeXMethan-Technologie stellt an den eingesetzten methanogenen Mikroorganismus spezielle Anforderungen. Im FlaeXMethan-Prozess liegt im Methanisierungsreaktor ein Überschuss an CO_2 und unter Druckbedingungen vor. Dies bedingt den Einsatz von acidophilen Methanogenen, dadurch pH-Wert auf etwa 6 absinkt. Auf Basis einer ausgedehnten Recherche der Einsetzbarkeit potenzieller Methanogene wurden diese verglichen und drei Kandidaten und ein Konsortium ausgewählt und näher untersucht. Die Ergebnisse, sowie eine Beurteilung der Organismen hinsichtlich ihrer Einsetzbarkeit in einer Full-Scale Anlage ergab einen besonders gut geeigneten Kandidaten: *Methanothermobacter marburgensis* (DSMZ 2133).

Ziel 2: Bestimmung der optimalen Bioprozessparameter der priorisierten Kulturen

Für die technologische Optimierung des Gesamtsystems hinsichtlich der optimalen Bioprozessparameter wurden Experimente im "closed-batch" und "fed-batch" Verfahren bei atmosphärischem Druck und unter Hochdruckbedingungen durchgeführt. Es zeigte sich, dass der ausgewählte Organismus gute Methanproduktions- und Wachstumsraten aufweist. Diese Erkenntnisse konnten in den Rührkesselsystem der wissenschaftlichen Partner ebenfalls nachgewiesen werden. Es zeigte sich, dass die Rührgeschwindigkeit einen erheblichen Einfluss auf die Methanproduktion hatte. Nach oben ist diese jedoch durch hohe Scherkräfte in der Flüssigkeit, welche den Organismus schädigen, limitierend. Die Ergebnisse ermöglichten den Aufbau und der Betrieb eines acidophilen CH₄-Produktionsverfahrens unter Überdruckbedingungen.

Ziel 3: Langzeitrobustheit der Kultur

Auf Basis der vorangegangenen Auswahl, Charakterisierung und Priorisierung, wurde der ausgewählte Organismus *M. marburgensis* hinsichtlich seiner Langzeitrobustheit überprüft. Dazu wurden Experimente im Hochdruck-Rührkesselsystem an der JKU durchgeführt. Über mehr als 10 Tage zeigte der Organismus eine Methanproduktion in einem semi-kontinuierlichen Verfahren. Die Projektergebnisse zeigten außerdem, dass eine aktive *M. marburgensis* einfach durch absenken der Temperatur und des Druckes in einen "Ruhemodus" überführt werden kann. Die Versuche zeigten, dass der Stamm bei 4 °C im Kühlschrank über Wochen bis und Monate lagerstabil ist. Ein mehrmaliges Erwärmen auf Raumtemperatur gefolgt von anschließender Abkühlung hatte keine signifikante Auswirkung auf die Produktivität der Kultur.

Ziel 4: Aufbereitung von Gasgemischen

FlaeXMethan verwendet zur Aufbereitung des Biogases die Evonik SEPURAN® Technologie. Diese membranbasierte Gasaufbereitung verwendet nach dem Stand der Technik eine Dreistufige Verschaltung von Membranmodulen. Das aktuell eingesetzte Steuerverfahren kann jedoch keine fluktuierenden Gasmengen und -zusammensetzungen verarbeiten. Auf der Grundlage des in WO 2014/075850 vorgeschlagenen Steuerungssystems wurden die in diesem Projekt die relevanten Steuerparameter definiert und ein Simulationsmodell abgeleitet. Dies ist in der Lage flexibel auf die Anforderungen der Methanisierung zu vollautomatisch reagieren. Um die Modelle in der Praxis zu testen, wurden diese in eine von BIOG gebaute Biomethan-Hoftankstelle implementiert im Testbetrieb verschiedene Einstellungen getestet. Die in der Hoftankstelle verbaute 4 Zoll SEPURAN® Membran wurde direkt mit komprimierten Biogas aus dem Fermenter am BIOG Standort beaufschlagt. Ein Vergleich der tatsächlich an der Anlage gemessenen Werte für Gaszusammensetzung und Volumenströme mit den Simulationsdaten und Fitmodellen lieferte eine überraschend hohe Übereinstimmung. Auch die Variation der Temperatur zeigte die erwarteten Effekte in Bezug auf Selektivität und Kapazität.

Ziel 5: Nachweis der Effizienzsteigerung von Biogasanlagen

Durch die Kopplung von effizienter acidophiler ex-situ Methanisierung mit effizienter Gasaufbereitung durch Membranen ist eine flexible Betriebsweise des Systems möglich. Biogasanlagen können so den gesamten verfügbaren erneuerbaren H₂ in CH₄ umwandeln. Derzeitige kommerzielle Anbieter von Elektrolyseanlagen in der MW-Klasse haben einen Wirkungsgrad von ca. 75 %. D.h. 25 % der

aufgewendeten elektrischen Leistung fallen als Abwärme an. Im Sinne eines hohen Gesamtwirkungsgrades, muss die Elektrolyseanlage eine Möglichkeit zur Wärmeauskopplung bieten. Diese Wärmequelle löst somit das bisherige BHKW der Biogasanlage ab, die anfallende Wärme wird im Anlagenverbund genutzt. Eine intensive Kostenanalyse zeigte, dass aktuell zwei große Hebel den finalen Biomethanpreis bestimmen: CAPEX und OPEX der Elektrolyse. Das erzeugte Biomethan kann über bestehende und entstehende Infrastruktur für Transport und Lagerung im Gasbereich überschüssigen PV- und Windstrom auch über Monate speicherbar machen. Sie gleichen Schwankungen in der Stromproduktion und -nachfrage aus, stellen Strom in der Nacht zur Verfügung, speichern Energie für die Wintermonate in Erdgasspeichern und fungieren nicht zuletzt als erneuerbare Kohlenstoffquelle für diverse chemische Prozesse und -produkte.

3 Inhaltliche Darstellung

3.1 Screening, Quantifizierung und Priorisierung der acidophilen Methanogenen

Ein erstes Screening nach geeigneten Methanproduktionszellfabriken für die Ex-situ-Methanisierung wurde mit Hilfe der Datenbank PHYMET2 durchgeführt [1]. Um die 153 Stämme weiter einzugrenzen, wurde eine Reihe von Kriterien festgelegt:

- CO₂-basierte (Klasse I) Methanogenese
- Acidophil oder tolerant gegenüber acidophilen Bedingungen
- Geeignete hohe Wachstumsrate
- Wachstum in chemisch definiertem Medium

Die festgelegten Anforderungen wurden von 32 Stämmen erfüllt. Organismen mit bereits vorhandenen physiologischen und biotechnologischen Studien wurden weiter zu 10 idealen Kandidaten zusammengefasst.

Tabelle 1: Übersicht über die optimalen Kandidaten.

Stämme / DSM	Herkunft	opt. pH-Wert	pH-Bereich	opt. Temp. / °C	μ / h ⁻¹	MER _{max} / mmol L ⁻¹ h ⁻¹	Fed-batch Kultiviert	Lit.
<i>Methanococcus maripaludis</i> DSM 2067	marines Sumpfsediment	6	5.2-7	37	0.35	27	Ja	[2–7]
<i>Methanocaldococcus jannaschii</i> DSM 2661	submariner hydrothermalmer Schlot	6	5.2-7	85	1.6	13	Ja	[8–11]
<i>Methanobakterium thermaggregans</i> DSM 3266	Schlamm von der Viehweide	7-7.5	5.5-9.5	65	0.198	96	Ja	[12–14]
<i>Methanothermobacter marburgensis</i> DSM 2133	anaerobe Abwasserreinigungsanlage	6.8-7.4	5-8	65	0.69	476	Ja	[15–17]
<i>Methanotorris igneus</i> DSM 5666	marines hydrothermales System	5.7	5-7.5	88	1.662	15.1	Nein	[18]
<i>Methanocaldococcus villosus</i> DSM 22612	heißes Meeressediment	6.5	5.5-7	80	0.942	6.5	Nein	[19]
<i>Methanopyrus kandleri</i> DSM 6324	geothermisch erhitztes Tiefseesediment	6.5	5.5-7	98	3.03	-	Nein	[20,21]
<i>Methanoculleus submarinus</i> DSM 15122	tiefe Meeressedimente	5.1-7.7	4.8-8.7	35-45	0.1	-	Nein	[22]
<i>Methanocaldococcus vulcanius</i> DSM 12094	Hydrothermalschlott-Schornstein	6.5	5.25-7	80	1.05	5	Nein	[23]
<i>Methanococcus aeolicus</i> DSM 17508	Meeresablagerungen	7	4.3-7.5	46	0.5	-	Nein	[24]

Für ideale Kandidaten wurde anschließend, eine ausführliche Literaturrecherche mit Schwerpunkt auf Biotechnologie, physiologischen Eigenschaften und methanogenem Potenzial durchgeführt und in die Datenbank aufgenommen. Die Quellen und projektrelevante Daten wurden festgehalten und befinden sich auf dem aktuellen wissenschaftlichen Stand.

Hyperthermophile Methanogene konnten in der Literaturrecherche die höchsten Methanproduktions- und Wachstumsraten aufweisen. Für die weitere Charakterisierung wurden vier Methanogene ausgewählt. Die Auswahl bestand aus einem thermophilen *Methanothermobacter marburgensis* und drei hyperthermophilen Stämmen *Methanotorrus igenus*, *Methanocaldococcus jannaschii* bzw. *Methanocaldococcus villosus*. Aufgrund der abweichenden optimalen Kultivierungstemperatur wurden nur die hyperthermophilen Organismen gemeinsam als Konsortien untersucht. Ein breites Spektrum von über 80 Methanogenen wurde bereits auf ihre industrielle Methanisierungsfähigkeit hin analysiert [25]. Diese bisherige Methode weist jedoch Einschränkungen auf, die sie für eine genauere Aufschlüsselung der physiologischen Parameter als ungeeignet erweist. Daher wurde beschlossen, eine neuartige Screening- und Kultivierungsmethode zu entwickeln. Im wesentlichen soll jegliche Gaslimitierung umgangen werden und somit optimale Vergleichbarkeit durch Maximierung der biokatalytischen Aktivität ermöglichen. Die neuartige Maschine, *Gas and Pressure Controller* (GPC) (Manuskript in Vorbereitung) genannt, erlaubt eine Aufzeichnung und Kontrolle des Drucks in Echtzeit und somit die Methanquantifizierung mittels des stöchiometrischen Druckabfalls in Abhängigkeit des umgesetzten Wasserstoffs bzw. Kohlendioxids [26].

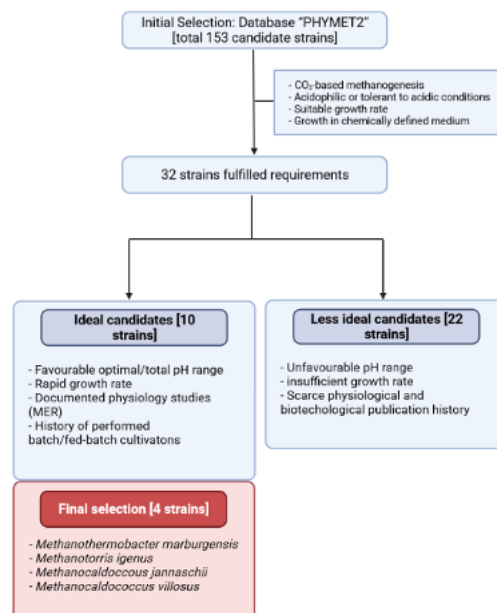


Abbildung 1: Überblick über den Auswahlprozess von acidophilen Methanzellenfabriken.

Die Experimente wurden durchgeführt, bis ein Abfall der Methanproduktionsrate (*methane evolution rate* (MER)) zu beobachten war. Die Gesamtkultivierungszeit reichte von 1,4 Stunden für *M. igenus* bis zu etwa 5,4 Stunden für *M. marburgensis*, wobei hier eine Abnahme der MER zusätzlich mit einem entsprechenden Abfall der OD einhergeht (Abbildung 2.2.2, A-B). Ein entsprechender Trend ist ebenso

bei der Produktausbeute $Y(x/CH_4)$ zu erkennen, wo ein Kohlenstofffluss in Richtung Energiemetabolismus nach der katalytischen Hemmung zu beobachten ist (Abbildung 2.2.2, C, E, G). Die gesamten Resultate können der Tabelle 2 entnommen werden.

Tabelle 2: Zusammenfassung aller ermittelten physiologischen Parameter.

Strain	OD _{max578nm}	Stdev	MER _{max} / mmol L ⁻¹ h ⁻¹	Stdev	q _{CH₄,max} / mmol g ⁻¹ h ⁻¹	Stdev	μ / h ⁻¹	Stdev
<i>M. marburgensis</i> pH 7.0	0,6746	0,0334	37,31	3,26	167,33	10,50	0,5669	0,06568
<i>M. marburgensis</i> pH 6.5	0,7256	0,0108	31,90	0,59	159,23	4,23	0,3602	0,02509
<i>M. marburgensis</i> pH 6.0	0,3476	0,0128	12,61	0,06	116,00	2,95	0,2856	0,02334
<i>M. marburgensis</i> pH 5.5	0,1898	0,0050	6,20	0,90	87,04	17,26	0,2363	0,00246
<i>M. villosus</i> pH 6.5	0,3676	0,0024	26,17	0,53	365,88	23,04	1,0787	0,13614
<i>M. villosus</i> pH 6.0	0,5006	0,0160	28,81	1,85	384,88	15,11	1,1255	0,17142
<i>M. jannaschii</i> pH 6.0	0,4526	0,0109	58,22	2,40	504,89	60,65	2,7757	0,10463
<i>M. jannaschii</i> pH 5.5	0,3582	0,0609	46,88	12,41	362,84	116,78	2,3680	0,11152
<i>M. igneus</i> pH 5.7	0,4548	0,0002	53,13	4,78	398,04	18,96	2,0481	0,10454
<i>M. igneus</i> pH 5.2	0,4320	0,0424	61,21	1,94	528,50	5,39	1,7589	0,05157
<i>M. villosus</i> + <i>M. jannaschii</i>	0,5496	0,0000	67,66	0,00	507,36	0,00	2,0224	0
<i>M. villosus</i> + <i>M. igneus</i>	0,8233	0,0140	114,03	5,43	611,19	52,68	2,3447	0,35807
<i>M. jannaschii</i> + <i>M. igneus</i>	0,4868	0,0007	64,25	3,94	397,80	30,70	2,4746	0,31578
<i>M. jannaschii</i> + <i>M. igneus</i> + <i>M. villosus</i>	0,3869	0,0049	58,21	2,32	554,65	4,67	2,7637	0,42392

Energieforschungsprogramm - 7. Ausschreibung

Klima- und Energiefonds des Bundes – Abwicklung durch die Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft FFG

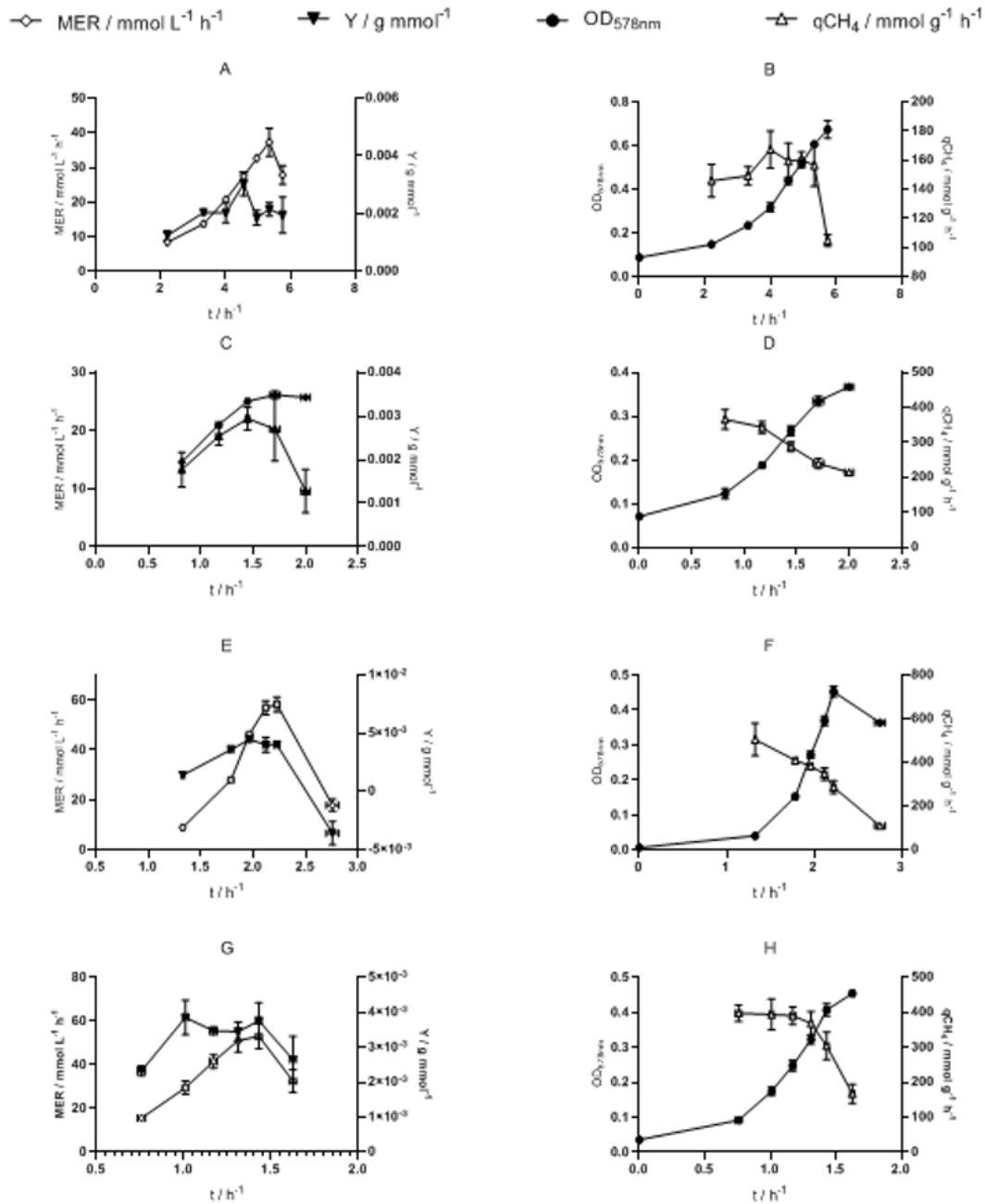


Abbildung 2: Vergleich der spezifischen physiologischen Parameter der vier Methanogene, die während der gesamten Kultivierungsdauer beobachtet wurden / h^{-1} . (A, B) *M. marburgensis* ($n = 3$). (C, D) *M. villosus* ($n = 3$). (E, F) *M. jannaschii* ($n = 3$). (G, H) *M. igneus* ($n = 3$).

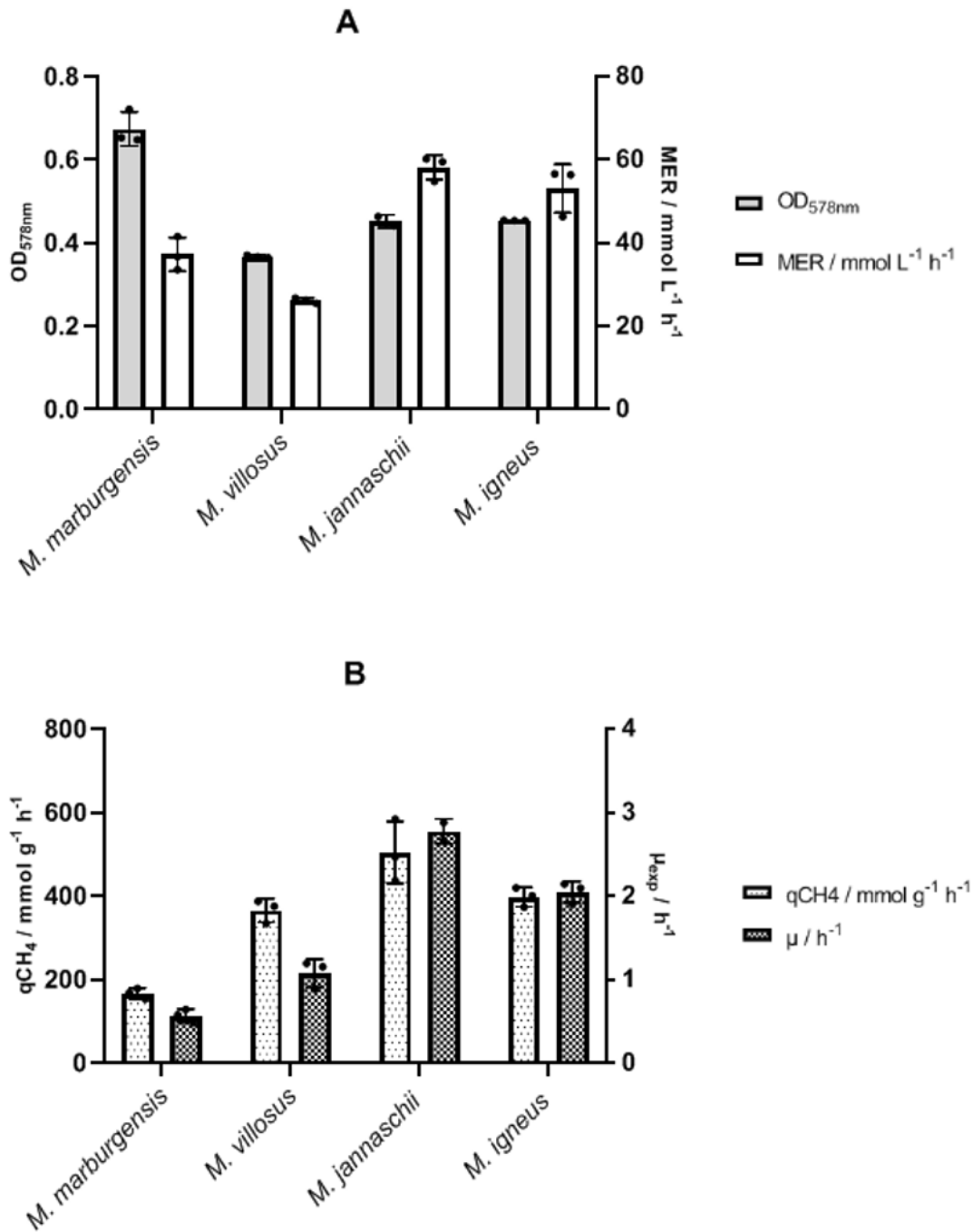


Abbildung 3: Vergleich der Höchstwerte der spezifischen physiologischen Parameter der vier Methanogene. (A) OD_{578nm} und MER. (B) qCH₄ und μ.

Das Konsortium wurde mit einer einheitlichen Temperatur von 80 °C und einem, für die einzelnen Organismen mittleren pH Wert kultiviert. Hier konnten die höchsten Werte für q_{CH₄} mit einem Konsortium von *M. igneus* und *M. jannaschii* erzielt werden (611,19 ± 52,7 mmol g⁻¹ h⁻¹).

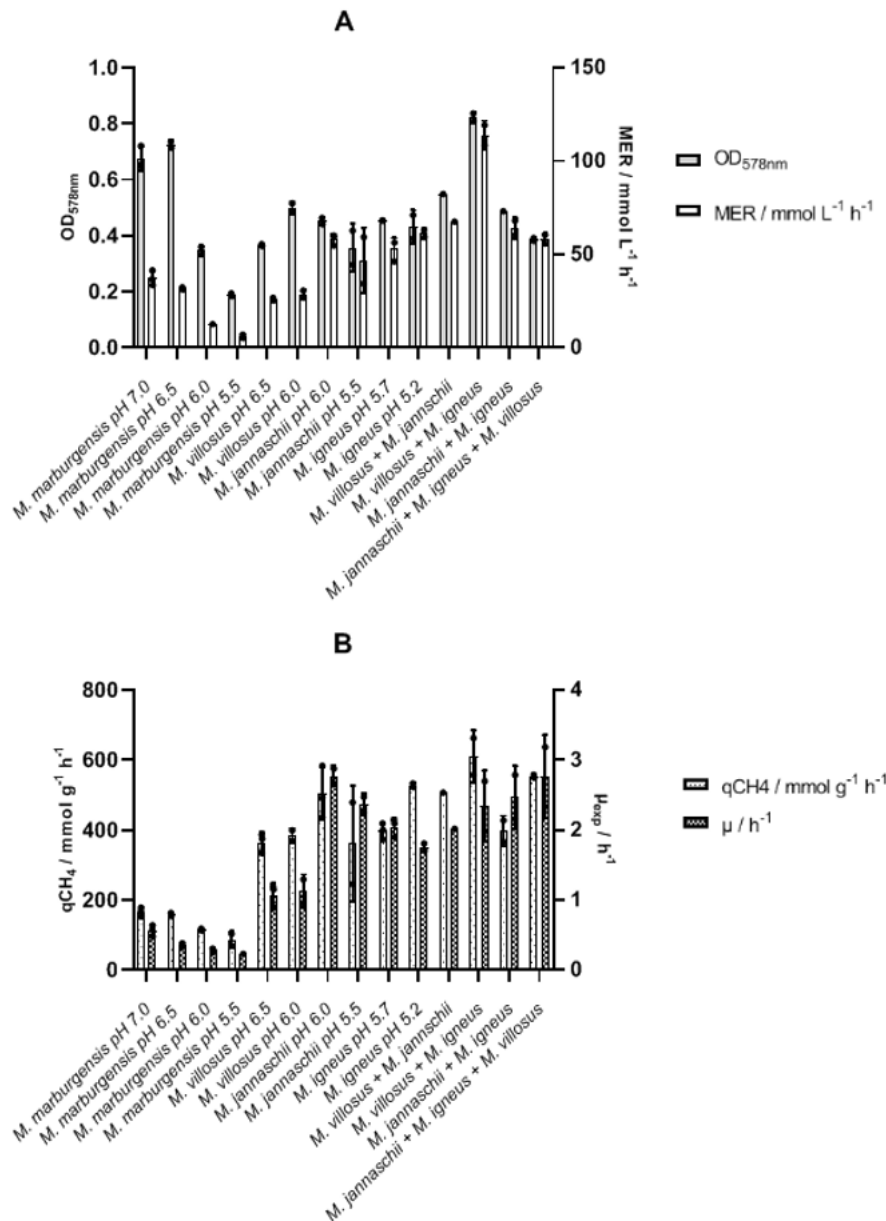


Abbildung 4: Vergleich der Höchstwerte der spezifischen physiologischen Parameter der vier Methanogene unter sauren Bedingungen und sowie Konsortien. (A) OD_{578nm} und MER. (B) q_{CH_4} und μ .

Die neuartige GPC erwies sich als hilfreiches Tool zu Kultivierung von Methanogenen, so konnten während der Kultivierung eine Gaslimitierung vollständig vermieden werden. Für die hyperthermophilen Methanogene wurden nie zuvor ermittelte maximale spezifische Methanproduktionsraten ermittelt [25]. Der Vergleich mit *M. marburgensis* zeigt zudem, dass trotz des Nichterreichens der maximalen Wachstumsrate von $0,69\ h^{-1}$, q_{CH_4} Werte erreicht werden können, die vorher dem Bioreaktorsystem vorbehalten waren [27]. Die Echtzeitmessung der Methanisierung zeigt zudem eine abrupte Abnahme von q_{CH_4} , bereits zu Beginn der Kultivierung der hyperthermophilen Organismen. Dies zeigt klar auf eine frühe Mediumslimitierung der Flüssigphasenkomponenten hin, was ein Anzeichen dafür ist, dass das Medium von *M. marburgensis* eine deutliche höhere Optimierung aufweist.

Eine Abnahme der katalytischen Aktivität bei nicht optimalen Bedingungen war zu erwarten, jedoch war die Zunahme bei den meisten der Hyperthermophilen überraschend. Das verwendete 282c Medium beinhaltet kein Puffersystem, deshalb ergab die Zugabe geringer Mengen Säure oder Base große Abweichungen. Da der pH-Wert unter aeroben Bedingungen eingestellt wurde, ist es schwierig den korrekten pH-Wert unter anaeroben Druckbedingungen zu bestimmen. Die CO_2 -Löslichkeit ist zudem temperaturabhängig und befindet sich in einem Bereich von 21 mmol L^{-1} bei 65°C bis 13,36 mmol L^{-1} bei 88°C. Fest definierte Konsortien mit hydrogenotrophen Methanogenen wurden bisher nicht ausreichend untersucht, sondern beschränkten sich vor allem auf gezielt syntropische Beziehungen [28].

Die Ergebnisse des Projekts sind vielversprechend im Hinblick auf die Entwicklung einer wirtschaftlichen Technologie für industrielle Methanproduktion. Es wurde ein neues System für optimale Kultivierungen im Closed-batch-Verfahren entwickelt. Damit war es möglich erstmals genauere q_{CH_4} -Werte als je zuvor für die untersuchten Organismen zu ermitteln. Andererseits eröffnet die symbiotische Kultivierung von methanogenen Organismen neue Möglichkeiten für eine bessere Ausbeute und Produktivität. Die technische Machbarkeit des Projekts im Mikro-Maßstab wurde nachgewiesen. Die Implementierung einer reinen sowie einer Mischkultur in Bioreaktoren stehen noch aus.

3.2 Quantifizierung und Optimierung der CH_4 -Produktivität unter acidophilen Bedingungen und Hochdruck im "Fed-batch"-Verfahren

M. marburgensis wurde für die Kultivierungen im Fed-batch als optimaler Kandidat verwendet. Dieser Organismus wurde bereits im Rührkesselreaktor charakterisiert und optimiert [15, 16, 27]. Jedoch fehlt bisher eine Upscaling-Schritt hin zur Technikums- bzw. auch Realanlage. Daher war es notwendig ein reproduzierbares Biomasseproduktionsverfahren zu etablieren, das einen stetigen Nachschub von biologischem Material für alle Experimente und den FlaeXMethan-Bioreaktor garantiert. Dazu wurde *M. marburgensis* in einem 22L Biostat® C15-3 reactor system mit 15L Arbeitsvolumen kultiviert. Die angewandte Methode ist hierbei bereits in der Literatur zu finden [6].

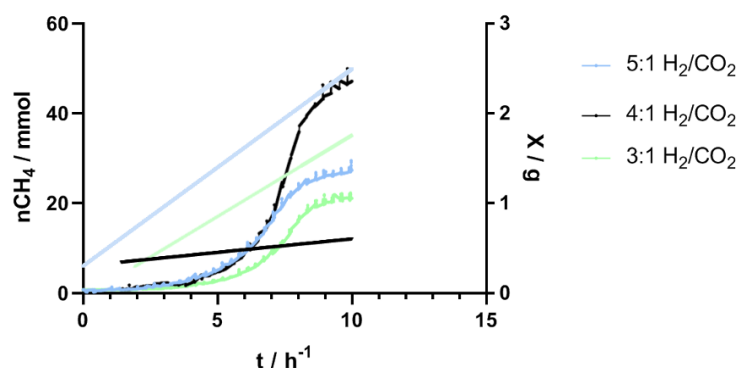


Abbildung 5: Nachgewiesene Biomasse in Gramm und produziertes Methan in mmol aus allen 3 Bioreaktordurchläufen mit unterschiedlichen H_2/CO_2 Verhältnissen.

Es wurden verschiedene H_2/CO_2 Verhältnisse (3:1, 4:1 und 5:1) und ihre Auswirkungen auf die Methan- und Biomasseproduktion untersucht. Die besten Ergebnisse konnten mit einem 4:1 Verhältnis erreicht werden, wo eine vollständige Umwandlung des Wasserstoffs in Methan vorliegt (kumulativ 47 mmol) und ein Großteil des Kohlenstoffs zur Energiekonservierung verwendet wird [29]. Dies wird weiter bestätigt durch eine sehr geringe totale Biomasse am Ende der Kultivierung von 0,6 g. Bei Veränderung des H_2/CO_2 Verhältnis kommt es zu einer Reduktion der Methanproduktion auf 20,77 bzw. 27,19 mmol und zu einem starken Kohlenstofffluss Richtung Biomasse (1,4 und 2,1 g). Eine Anpassung dieses Verhältnis ist daher nicht im Interesse der FlaexMethan Prozesses, da der Wasserstoff die wertvollste Ressource des Systems darstellt und vollständig umgewandelt werden soll, da eine Abtrennung des Wasserstoffs downstream des Biomethanisierungsreaktors nicht notwendig sein soll. Ein Begasungsverhältnis von 4:1 ist bereits etabliert und wird standardisiert angewandt [13, 16, 27, 30]. Eine Abweichung führt zur Destabilisierung des Systems, zum Beispiel durch eine Erhöhung des CO_2 Partialdruckes, was wiederum zum Sinken des pH-Wertes führt [31]. Ein linearer Anstieg der Biomasse lässt auf nicht exponentielles Wachstum schließen. Während der Kultivierung wurde das Redoxpotential gemessen und ggf. mittels Zusatz von $0.5 \text{ mol L}^{-1} Na_2S$ korrigiert. Über den gesamten Kultivierungszeitraum wurde ein Redoxpotential von ca. -400 mV gehalten.

Ausgangslage Hochdruckversuche JKU

An der JKU Linz wurde in der Vergangenheit ein Bioreaktorsystem bestehend aus vier parallelen Schüttelreaktoren für ein schnelles Hochdurchsatz-Screening von Mikroorganismen unter Hochdruckbedingungen aufgebaut und verwendet [32]. Diese zeigten über die Zeit diverse Probleme, welche in vorangegangenen Arbeiten thematisiert wurden [33]. V.a. Handling, Durchmischung, ein relativ kleines Reaktionsvolumen, Probenahme, Dichtheit des Systems, Reinigung, Softwareanbindung und mögliche Verschleppung von Zellen zwischen Versuchsserien, haben den Partner JKU Linz dazu bewogen eine neues System zu designen und aufzubauen, welches die genannten Probleme des „alten“ SBRS-I-Systems adressiert. Das neue SBRS-II (Simultaneous BioReactor System Gen. 2) besteht aus vier Edelstahl-Druckreaktoren, die mit einer Teflonhülse ausgestattet sind. Versuche und Analysen des Mediums vor und nach einem Versuchszyklus am SBRS-I System zeigten, Anzeichen von Korrosion der Reaktoren. Diese Vermutung konnte nach dem Öffnen der Reaktoren visuell bestätigt werden.

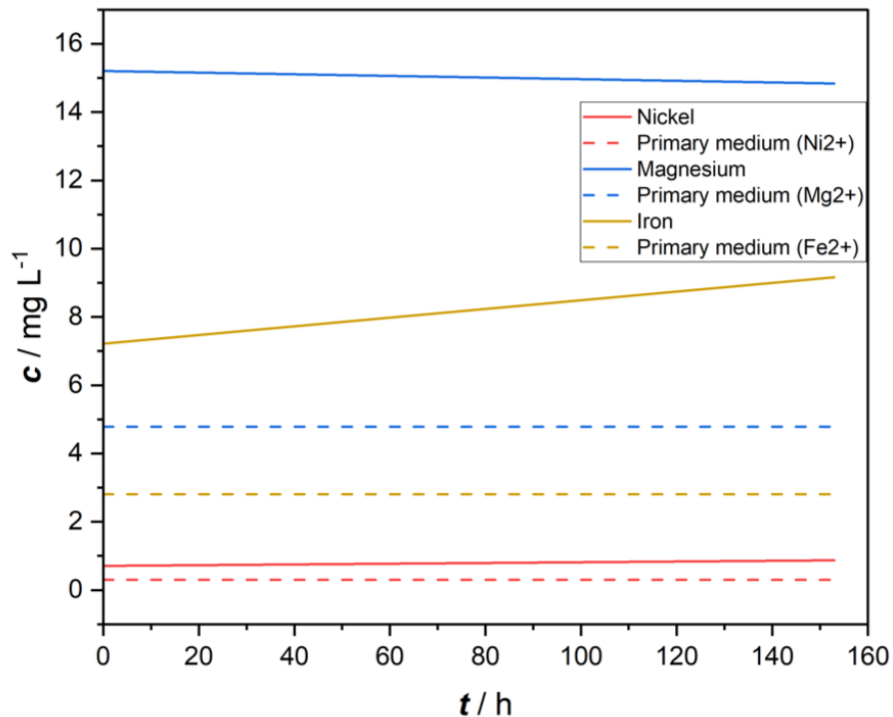


Abbildung 6: Konzentrationsanstieg für Eisen und Cobalt im "alten" SBRS-I System innerhalb eines Reaktionszyklus.

Das SBRS-II System verfügt außerdem über eine Steuereinheit. Diese kann ein vorgegebenes Programm durchlaufen und dabei verschiedene Ventile in Abhängigkeit des Druckes ansteuern. Es können bis zu vier verschiedene Gase, ein Abluftsystem oder Vakuumapparaturen angeschlossen werden. Der Maximalbetriebsdruck ist durch die verwendeten Apparate bzw. Sensoren und Leitungen auf einen Bereich von 0-17 bara limitiert. Während eines laufenden Versuches, wird der Druck des gewählten Reaktors aufgezeichnet. Jeder der vier Reaktoren kann dadurch individuell betrieben werden. Diese Steuereinheit ist analog zur Begasungsstation, welche im Zuge dieses Projekts an der Universität Wien aufgebaut wurde. Das ermöglicht den direkten Vergleich von Nieder- und Hochdruckexperimenten.



Abbildung 7: SBRS-II System zur Hochdruckuntersuchung von Methanogenen.

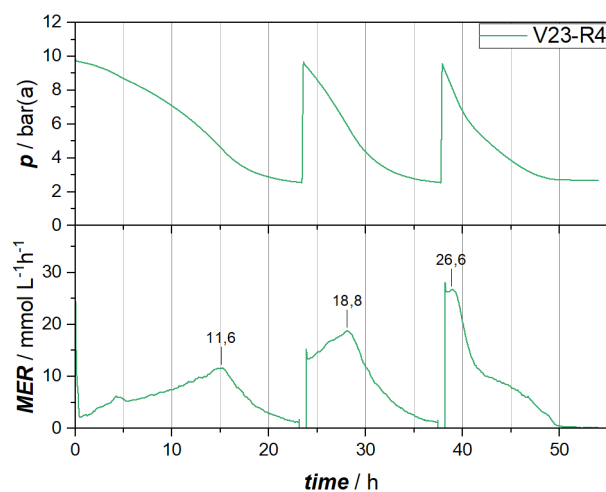


Abbildung 8: Exemplarische Darstellung eines Reaktionsprogrammes mit drei Zyklen inkl. MER-Auswertung.

Auf Basis der Erkenntnisse des AP2 und bereits bekannten publizierten Daten wurden methanogene Stämme vorgeschlagen, die potentiell unter acidophilen FlaeXMethan-Bedingungen eingesetzt werden können:

- *M. marburgensis* (DSM 2133)
- *M. villosus* (DSM 22612)
- *M. jannaschii* (DSM 2661)
- *M. igneus* (DSM 5666)

Neben den relevanten mikrobiologischen Parametern, Methanproduktionsrate und Wachstumsrate der Kultur, spielt auch die Zusammensetzung des Nährmediums eine prozessrelevante Rolle. Die FlaeXMethan-Technologie soll ein robustes Add-On zu bestehenden oder neuen Biogasanlagen sein. Das Konsortium hat sich in seinen Projektmeetings darauf verständigt, die Systemkomplexität möglichst gering zu halten. Das betrifft auch das für den arbeitenden Organismus notwendige Nährmedium. Für die ausgewählten acidophilen Stämme wurden, die der Literatur bekannten und an der Universität Wien verwendeten Medien miteinander verglichen [25].

Tabelle 3: Vergleich der Nährmedien für die priorisierten Methanogene.

Stamm	Medium	Zahl der Komponenten	Komplexität	Stabilität und Lagerung	Herstellkosten
M. marburgensis	119	29	Hoch	Gekühlte anaerobe Lagerung	mittel
M. marburgensis	MM minimal Medium	11	Gering	anaerobe Lagerung	gering
M. villosus	282c 18	28	Hoch	Gekühlte anaerobe Lagerung	mittel
M. jannaschii	282c 30	37	Sehr hoch	Gekühlte anaerobe Lagerung	hoch
M. igneus	282c 30 (modifiziert)	27	Hoch	Gekühlte anaerobe Lagerung	mittel

Tabelle 3 zeigt, dass aktuell nur für *M. marburgensis* ein einfaches Medium mit einer reduzierten Anzahl an Komponenten existiert. Im Hinblick auf die Versorgung einer FlaeXMethan-Anlage mit geringer Systemkomplexität, ist eine einfache Handhabung ausschlaggebend. Ein systematischer Vergleich der relevanten mikrobiologischen Parameter zeigte, dass der Methanproduktionsrate und der Wachstumsrate der Kultur, dass *M. marburgensis* der ideale Kandidat für das weitere Vorgehen im Projekt ist.

Das MM minimal medium enthält unter anderem Natriumcarbonat. Dieses liegt in Lösung ständig im Gleichgewicht mit seinen protonierten Formen Hydrogencarbonat und „Kohlensäure“ (dissoziiert als CO₂ und Wasser) vor. Dadurch wird eine Pufferwirkung erreicht. Dieses Gleichgewicht wirkt sich aber auch auf die Löslichkeit von CO₂ in der Flüssigphase aus. In der Literatur wird der pH-Wert als Funktion der Konzentration verschiedener gelöster Ionen als Komplexes System beschrieben. Es ist also davon auszugehen, dass sich das CO₂-Carbonat-Gleichgewicht auch über CO₂ aus der Gasphase einstellen wird [34].

Im Zuge der Planung für die in AP4 behandelte Systemintegration wurde nach Lieferanten für das ausgewählte Medium gesucht. Dabei stellte sich heraus, dass einige Komponenten im Handel reglementiert sind. Im Speziellen betrifft das die Komponenten NiCl und Nitrilotriessigsäure. Da sich aus

der Literatur und nach Diskussion unter den Partnern kein Widerspruch finden ließ, die Chlorid-Salze gegen Sulfat-Salze zu tauschen (Ausnahme NaCl), wurden Versuche dazu durchgeführt. Diese Versuche zeigten keine wesentliche Veränderung der relevanten Parameter.

Tabelle 4: Zusammensetzung des aus der Literatur bekannten chloridbasierten Mediums (MM-CF) ohne Carbonat und neues sulfatbasiertes Medium (MM-CF-S) [35].

MM-CF Medium		MM-CF-S Medium	
Komponente	Menge / mg L ⁻¹	Komponente	Menge / mg L ⁻¹
KH ₂ PO ₄	6.800	KH ₂ PO ₄	6.800
NH ₄ Cl	2.100	NH ₄ SO ₄	5.188
NaCl	1.000	NaCl	1.000
Na ₂ S · 9 H ₂ O	250	Na ₂ S · 9 H ₂ O	250
NTA	90	NTA	90
MgCl ₂ · 6 H ₂ O	40	MgSO ₄ · 7 H ₂ O	48
FeCl ₂ · 4 H ₂ O	10	FeSO ₄ · 7 H ₂ O	14
CoCl ₂ · 6 H ₂ O	0,20	CoSO ₄ · 7 H ₂ O	0,24
NiCl ₂ · 6 H ₂ O	1,20	NiSO ₄ · 6 H ₂ O	1,33
Na ₂ MoO ₄ · 2 H ₂ O	0,17	Na ₂ MoO ₄ · 2 H ₂ O	0,17

Um die Planungen für AP4 weiter voranzutreiben, wurde ein Testmedium durch einen Lieferanten hergestellt und an der JKU für Versuche eingesetzt. Dieses wurde als 200-faches Konzentrat formuliert. Nachfolgende Tabelle zeigt die Zusammensetzung des Testmediums.

Tabelle 5: Bereitgestelltes sulfatbasiertes Medium mit EDTA anstatt NTA als Komplexbildner. Der pH-Wert des Mediums wurde auf 7,3 eingestellt. Aus Gründen der Verarbeitbarkeit seitens des Herstellers muss Sulfid gesondert zugegeben werden.

Komponente	Menge [w%]
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,5188
KOH	0,5794
H ₃ PO ₄	0,6747
NaCl	0,2000
Na ₄ EDTA	5,9160
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,9699
FeSO ₄ · 6.5 H ₂ O	0,2879
CoSO ₄ · 7 H ₂ O	0,0047
NiSO ₄ · 6 H ₂ O	0,0265
Na ₂ MoO ₄ · 2 H ₂ O	0,0034
Osmose-Wasser	90,8186

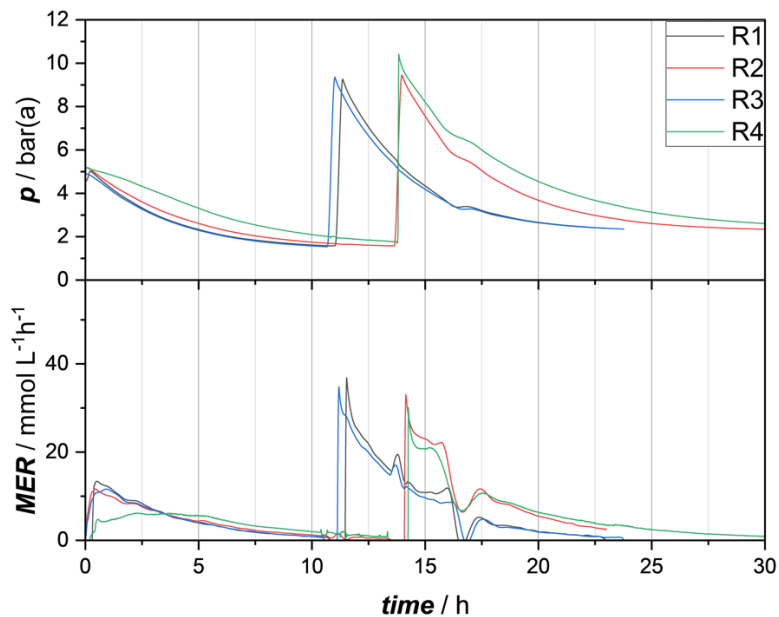


Abbildung 9: Exemplarische Darstellung des Vergleiches der verschiedenen Medien. (R1, R2 = MM-CF).
(R3, R4 = MMCF-S).

Das Konsortium verständigte sich bei der Diskussion der Ergebnisse darauf, dass für eine industrielle Einsetzbarkeit eines neuen kommerziellen sulfatbasierten Mediums eine weitreichende Neuoptimierung unumgänglich ist. Diese ist für ein Folgeprojekt geplant.

Hochdruck-Rührkesselsystem (Büchi® Bioreaktor-System, BBRS) JKU

Zum Vergleich der Eigenschaften und der Verhaltensweisen des priorisierten Stammes *M. marburgensis* wurde dieser im BBRS unter Hochdruckbedingungen kultiviert. Als Schlüsselement der Methanisierung gilt der Eintrag von Wasserstoff in die flüssige Phase. Bei der konventionellen Begasung im Rührkessel werden höhere Eintragsraten durch größere Rührgeschwindigkeiten erreicht.

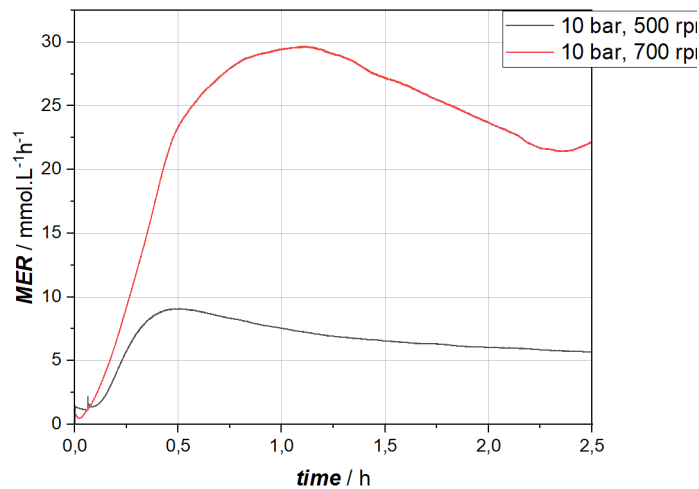


Abbildung 10: Einfluss der Rührerdrehzahl auf die MER Rate im Rührkesselsystem.

Die Ergebnisse zeigen, dass mit steigender Drehzahl des Rührers, auch die Methanausbeute im System steigt. Ein gleicher Effekt ist bei einer Erhöhung der Begasungsrate ersichtlich.

Mit steigender Drehzahl des Rührers steigen gleichzeitig aber auch die Scherkräfte, welche an der äußeren Stelle der Rührblätter in die flüssige Phase eingetragen werden. Es muss also davon ausgegangen werden, dass ab einer gewissen Drehzahl eine mechanische Schädigung der Mikroorganismen auftreten wird.

Das Hauptziel von FlaeXMethan ist es, die maximale Menge an Wasserstoff umzuwandeln, da er die wertvollste Ressource im Prozess ist. Zur Optimierung von Reaktordesign und Produktivität ist die Bestimmung der Stoffübergangseigenschaften von entscheidender Bedeutung. Um die Verfügbarkeit der gasförmigen Substrate für Mikroorganismen in Bioprozessen der Gasfermentation zu verbessern, muss die Beziehung zwischen den Gasübertragungseigenschaften von Bioreaktoren und dem mikrobiologischen Gegenstück verstanden werden. Die charakteristische Größe dabei ist dabei der Massentransferkoeffizient $k_L\alpha$. Dieser setzt sich aus dem Stoffübergangskoeffizienten k_L und der Grenzfläche α zwischen Gas- und Flüssigphase zusammen. Die Rührgeschwindigkeit und die Begasungsrate beeinflussen die Größe der Gasblasen und damit ihre spezifische Grenzfläche α , welche wiederum $k_L\alpha$ bestimmt. Die Bestimmung des gas-flüssig Stoffübergangs in mikrobiologischen Systemen wird nach einer Methode von Hass, Pörtner [36] durchgeführt. Diese ist aufgrund der Verwendung von (Luft-)Sauerstoff auf anaerobe Systeme nicht übertragbar.

In Anlehnung an diese Methode wurde in diesem Projekt eine Bestimmung der Wasserstofftransfercharakteristika über biologische Kenngrößen vorgeschlagen. Diese Methode verwendet die Wasserstoffaufnahme (Hydrogen Uptake Rate HUR) als Rechengröße aus Messdaten. Die HUR beschreibt dabei den Massentransfer von Wasserstoff über das Gesamtsystem von der Gasblase bis hin zur Zelle. Das hier vorgestellte System stellt somit einen „biologischen Sensor“ dar.

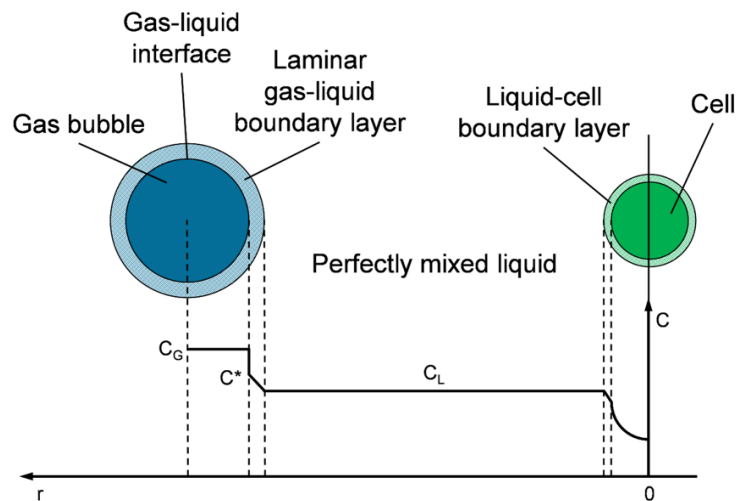


Abbildung 11: Schematische Darstellung des Stoffübergangs aus der Gasblase in die Zelle [36, 37].

Dazu wird das Reaktorsystem mit Stickstoff gespült, bevor es mit CO₂/H₂-Substratgas beaufschlagt wird. Am Gasausgang ist ein Anstieg der Methankonzentration zu verzeichnen, welcher gleichzusetzen ist mit einem Anstieg des Wasserstoffverbrauchs. Durch entsprechende Umrechnung und Auflösung Gl.1 können anschließend die $k_L\alpha$ Werte approximiert werden.

$$\text{Gl. 1: } HUR = dc/dt = k_L\alpha \cdot (C^* - C)$$

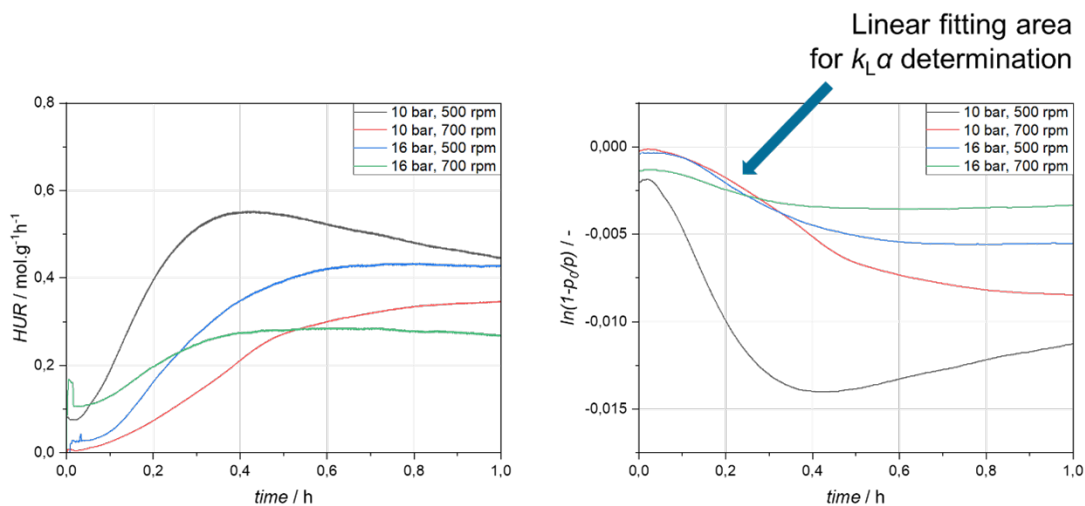


Abbildung 12: Links: Berechnete Wasserstoffaufnahme (HUR) aus der Online-Abgasanalyse bei verschiedenen Druck- und Rührwerkseinstellungen und fester Begasungsrate. Rechts: Diagramm der integrierten und substituierten Form von Gl. 1 zur Bestimmung von $k_L\alpha$.

Die Ergebnisse zeigen starke Auswirkungen der verschiedenen Bioreaktoreinstellungen auf die Stofftransporteigenschaften. Bei einer bestimmten Begasungsrate, Temperatur und Druck ist der Massentransfer direkt abhängig von der Rührgeschwindigkeit. Höhere Rührgeschwindigkeiten führen im gegenständlichen Setup zu niedrigeren $k_L\alpha$ -Werten, was auf die Bildung von Thromben hinweist. Dadurch wird das eingebrachte Gas nicht mehr ausreichend in die Flüssigkeit eingebracht. Daher

können ungeeignete Reaktorkonfigurationen schnell identifiziert werden. Ein höherer Systemdruck führte in den dargestellten Versuchen zu keinem signifikanten Anstieg des Stofftransportes, was auf biologische Limitierung hinweist.

Diese Arbeit wurde im Zuge einer Posterpräsentation auf den Chemietagen 2022 in Wien gezeigt. Die Diskussionen und Fachgespräche vor Ort, zeigten, dass diese Methode vielversprechend ist um künftig anaerobe biologische Systeme einfach, schnell und kostengünstig in Hinblick auf die Stofftransportcharakteristika zu untersuchen.

Die in diesem Arbeitspaket gewonnenen Erkenntnisse sind sehr vielversprechend für eine weitere kommerzielle Entwicklung der FlaeXMethan-Technologie.

3.3 Langzeitrobustheit in kontinuierlicher Kultur, Gasaufbereitungstechnologie und Systemintegration

Kontinuierliche Kultivierungen von *M. marburgensis* wurden nach Bedarf im Eppendorf Bioreaktorsystem der Universität Wien durchgeführt, die Biomasse anaerob geerntet und an die Projektpartner a.d. JKU für weitere Experimente übergeben.

Dort wurde *M. marburgensis* im Büchi Rührkesselsystem hinsichtlich seiner Langzeitstabilität untersucht. Dazu wurde die Kultur kontinuierlich mit einer definierten Gasflussrate beaufschlagt. Um einen (semi-) kontinuierlichen Prozess zu simulieren, wurde in definierten Zeitabständen frisches Medium hinzugegeben und Zellsuspension abgezogen. Dabei wurden kontinuierlich Druck, Temperatur so wie die Methankonzentration im Abgas aufgezeichnet. Die Ergebnisse zeigen, dass sich über mehrere Tage ein stabiler Zustand einstellt. Nicht nur eine kontinuierliche Produktion, sondern auch ein rasches An- und Abfahren des Prozesses ist von großer Wichtigkeit. Es ist bekannt, dass Methanogene bei niedrigen Temperaturen eine geringere Produktivität aufweisen und darüber hinaus in der Kälte in einen Ruhemodus wechseln. Diese Eigenschaft macht sich die FlaeXMethan-Technologie zunutze, um ein flexibles Prozessfenster zu erreichen. Durch ein Absenken der Temperatur wird bei konstantem Druck jedoch die Löslichkeit von CO₂ erhöht, wodurch ein pH Abfall ausgelöst wird. Um dies zu verhindern ist das es notwendig den Druck abzusenken, wenn die Kultur in den Ruhemodus gebracht werden soll.

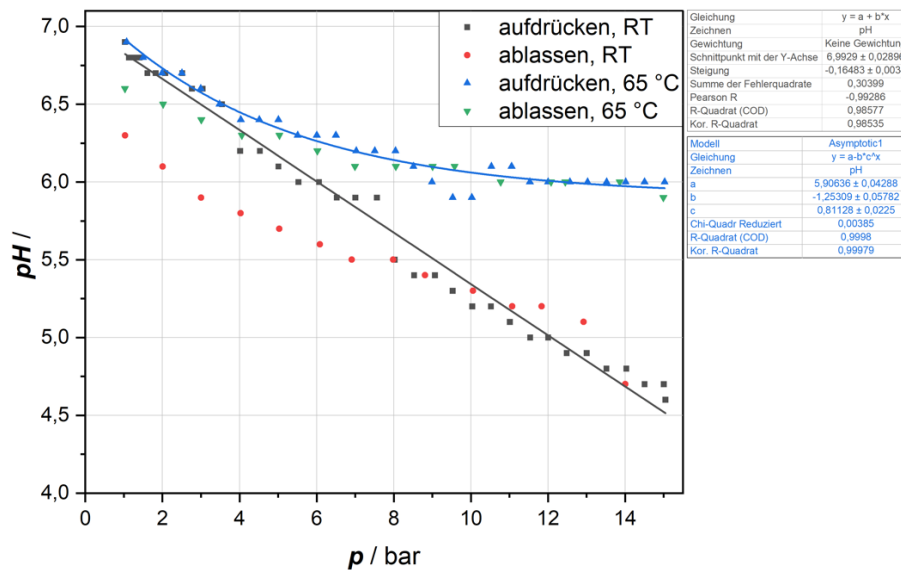


Abbildung 13: pH-Wert Verhalten des MM-CF Mediums bei RT und 65 °C in Abhängigkeit des Druckes.

Die Versuche zeigten außerdem, dass der Stamm bei 4°C im Kühlschrank über Wochen bis und Monate lagerstabil ist. Ein mehrmaliges Erwärmen auf Raumtemperatur gefolgt von anschließender Abkühlung hatte keine signifikante Auswirkung auf die Produktivität der Kultur.

Die Systemintegration der Methanisierung in eine bestehende Biogasanlage und eine Biogasaufbereitungsanlage erfolgt folgendermaßen. Das Rohgas wird an einer definierten Schnittstelle von der Biogasanlage übernommen, mit Rückströmen aus der Gasaufbereitung vereint und anschließend komprimiert. Druckseitig wird Wasserstoff in das System eingebracht. Die eingebrachte Wasserstoffmenge richtet sich dabei nach der Produktionsleistung der Elektrolyseanlage. Im Volllastbetrieb entspricht die eingebrachte Menge exakt dem stöchiometrischen Äquivalent an verfügbarem CO₂ aus der Aufbereitung. Der Betriebsdruck der Methanisierung liegt bei bis zu 16 bara und die nominelle Betriebstemperatur bei 65°C in Abhängigkeit der verwendeten Mikroorganismen. Das aus dem Methanisierungsreaktor strömende Gas wird entschwefelt und getrocknet in die membranbasierte Gasaufbereitung geleitet. Diese kann flexibel zwischen 10 und 16 bar betrieben werden. Die dreistufige Verschaltung ermöglicht eine Trennung der Gase mit einer Produktgasreinheit von >98%. Der CO₂-reiche Gasstrom enthält bei optimierter Fahrweise unter 0,5% Methan. Im Volllastbetrieb wird der gesamte CO₂-reiche Gasstrom in die Methanisierung rückgeführt und saugseitig des Kompressors eingebracht. Im Teillastbetrieb, d.h. es steht nicht ausreichend günstiger Wasserstoff zur Verfügung, wird gerade so viel Gas rückgeführt, sodass mit der verfügbaren Wasserstoffmenge das stöchiometrische Verhältnis eingehalten werden kann ist. Der Rest wird einer geeigneten Nachbehandlung zugeführt, verflüssigt oder in die Atmosphäre entlassen. Im Methanisierungsreaktor liegt somit eine Gasmischung bestehend aus dem Rohgas, sowie einer 1:4 Mischung aus rückgeführtem CO₂ und Wasserstoff vor. CO₂ liegt dadurch immer im Überschuss vor, wodurch das Gleichgewicht der Reaktion den Wasserstoffumsatz begünstigt. Steht kein ausreichend günstiger Wasserstoff zur Verfügung, wird die Methanisierung langsam entspannt und abgekühlt. Dadurch kann das Mikrobiom in Ruhe versetzt werden. Das Temperaturniveau in Ruhe richtet sich nach der Dauer des Ruhemodus. Für

Tage liegt es bei Umgebungstemperatur (25°C), für Wochen bei 4°C. Das stetig anfallende Biogas wird dann an der Methanisierung vorbeigeführt und in der Gasaufbereitung zu Biomethan aufbereitet.

Gasaufbereitung

FlaeXMethan verwendet zur Aufbereitung des Biogases die Evonik SEPURAN® Technologie. Diese membranbasierte Gasaufbereitung verwendet nach dem Stand der Technik eine dreistufige Verschaltung von Membranmodulen. Das aktuell eingesetzte Steuerverfahren kann jedoch keine fluktuierenden Gasmengen und -zusammensetzungen verarbeiten.

Auf der Grundlage des in WO 2014/075850 vorgeschlagenen Steuerungssystems wurden die in diesem Projekt die relevanten Steuerparameter definiert und ein Simulationsmodell abgeleitet. Grundsätzlich sind drei Stellgrößen für die Prozesssteuerung zur Einstellung der Produktgasqualität und der Offgasqualität von Interesse, nämlich der Druck auf der Retentatseite der Stufe 2 (p_{Ret2}), der Druck auf der Permeatseite der Stufe 2 (p_{Perm2}) und der Druck der Retentatseite der Stufe 3, (p_{Ret3}). Auf der Eingangsseite wird der Volumenstrom vorgegeben. Die entsprechenden zweidimensionalen Zusammenhänge werden auch in WO 2014/075850 zur Steuerung der Produktgasqualität diskutiert. Bei der FlaeXMethan-Technologie ändert sich jedoch die Zusammensetzung und die Menge des Rohgases, das in die 3-stufige Verschaltung der Gasaufbereitung eingebracht wird, weshalb dieses Regelkonzept der WO 2014/075850 nicht funktioniert. Deshalb wurde hier ein neues Regelkonzept entwickelt, das diese Anforderungen an die Aufbereitung verschiedener Gasströme mit verschiedenen Gaszusammensetzungen (CH₄/ CO₂) bei steter Konstanz der Produktgaszusammensetzung und der Offgaszusammensetzung erfüllt. Weitere Details können aufgrund einer gerade in Vorbereitung befindlichen Patentanmeldung nicht veröffentlicht werden.

Um das hier beschriebenen Modell in der Praxis zu testen, wurden diese in eine von BIOG gebaute Biomethan-Hoftankstelle implementiert im Testbetrieb verschiedene Einstellungen getestet. Die in der Hoftankstelle verbaute 4 Zoll SEPURAN® Membran wurde direkt mit komprimiertem Biogas aus dem Fermenter am BIOG Standort beaufschlagt. Ein Vergleich der tatsächlich an der Anlage gemessenen Werte für Gaszusammensetzung und Volumenströme mit den Simulationsdaten und Fitmodellen lieferte eine überraschend hohe Übereinstimmung. Auch die Variation der Temperatur zeigte die erwarteten Effekte in Bezug auf Selektivität und Kapazität.

Nachweis der Effizienzsteigerung

Die Bereitstellung von Wasserstoff kann grundsätzlich auf verschiedene Arten erfolgen. Naheliegender ist die Gewinnung von Wasserstoff über Elektrolyse. Diese ist mit erneuerbarem Strom zu versorgen, der vorzugsweise aus PV, Windkraft oder erneuerbarem Überschussstrom aus dem Netz bezogen wird. Derzeitige kommerzielle Anbieter von Elektrolyseanlagen in der MW-Klasse haben einen Wirkungsgrad von ca. 75%. D.h. 25 % der aufgewendeten elektrischen Leistung fallen als Abwärme an. Im Sinne eines hohen Gesamtwirkungsgrades, muss die Elektrolyseanlage eine Möglichkeit zur Wärmeauskopplung bieten. Diese Wärmequelle löst somit das bisherige Blockheizkraft der Biogasanlage ab, das bis jetzt Biogas in Strom und meist ungenutzte Abwärme umgewandelt hat. Eine intensive Kostenanalyse zeigte, dass aktuell zwei große Hebel den finalen Biomethanpreis bestimmen: CAPEX und OPEX der Elektrolyse. Die nachfolgenden Energieflussdiagramme zeigen, dass die nutzbare Energieausbeute durch den FlaeXMethan-Kombinationsbetrieb deutlich gesteigert werden kann.

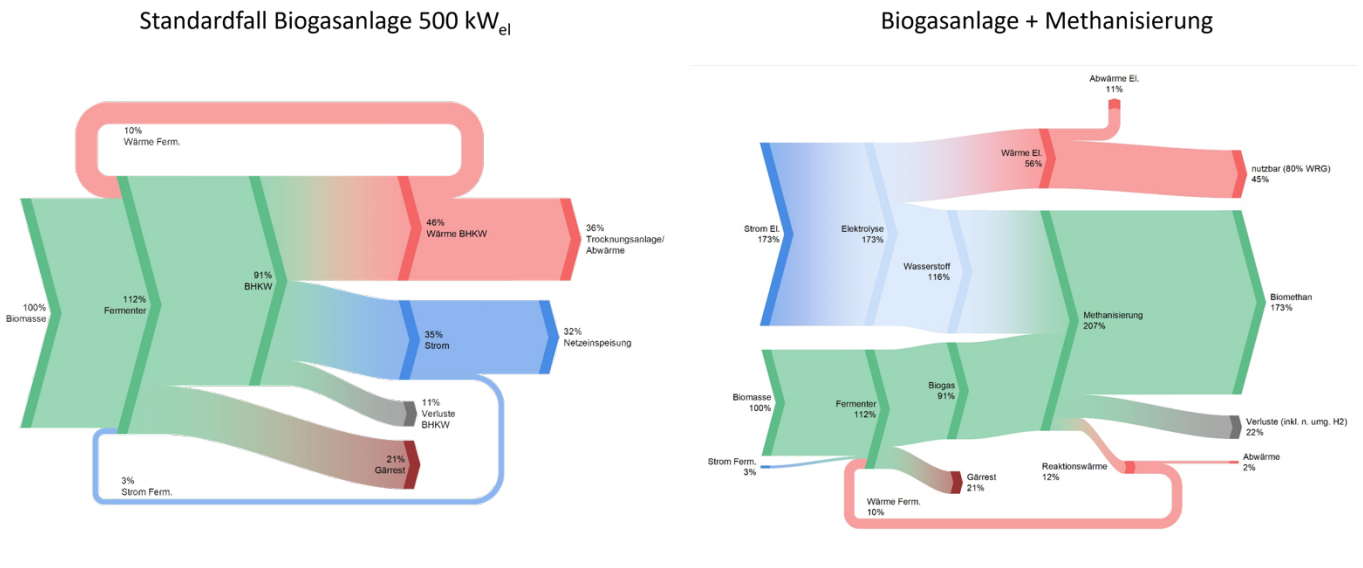


Abbildung 14: Energieflüsse einer 500 kW_{el} Biogasanlage und einer Biogasanlage mit nachgeschalteter FlaeXMethan-Anlage bezogen auf die eingesetzte Biomasse.

4 Ergebnisse und Schlussfolgerungen

Im vorliegenden Projekt wurde untersucht, ob eine biologische Methanisierungseinheit nach dem ex-situ Prinzip mit einer nachgeschalteten membranbasierten Biogasaufbereitung inkl. Steuerung zusammen kombiniert werden kann. Ziel war es Methan auf biologischem Wege aus erneuerbarem, überschüssigem CO₂ (aus der Fermentation von Biomasse) und erneuerbarem H₂ durchführen zu können, um dadurch die Effizienz von bestehenden Biogasanlagen zu verbessern. Es wurde ein neuartiger Ansatz zur CH₄ Produktion mittels maßgeschneiderter mikrobieller Konsortien untersucht, welche unter aciden Bedingungen besonders vorteilhafte Methanbildungsraten aufweisen. Durch ein neues Gasaufbereitungssystem ist es so nun möglich, biogasbasiertes Biometan herzustellen dessen An- und Verwendbarkeit fossilem Gas keineswegs nachsteht.

Dieses Projekt hat dazu beitragen, innovativ technisch-wissenschaftliche Entwicklungen im Bereich der ex-situ Methanisierung anzustoßen und hat auch die Grundlagen bereitet eine kontinuierliche biologische Methanisierungsreaktion mit einer Gasaufbereitung zu kombinieren und eine Integration in ein technisches Gesamtsystem vorzubereiten. Das Projekt gibt einen deutlichen Technologieschub für die regenerative CH₄-Produktion durch Methanisierung von CO₂ aus biologischen Quellen mit regenerativ hergestelltem Wasserstoff.

Dieser neuartige Prozess erlaubt eine vollkommene Flexibilisierung des Methanisierungsprozesses, indem unterschiedliche Mengen an Wasserstoff, je nach Verfügbarkeit, mit CO₂, das aus der Gasaufbereitung rückgeführt wird, im Verhältnis 4 zu 1 in die Methanisierung eingebracht werden und dort zu Methan umgesetzt werden. Somit wird der Ertrag an Methan in einer Biogasaufbereitungsanlage um bis zu 80% gesteigert.

Das Hauptziel des Projektes, ein wirtschaftlich tragfähiges Verfahren zur Herstellung von Biomethan in Biogasanlagen zu konzeptionieren, das aktuell wenig bis mittelfristig weitgehend unabhängig von öffentlichen Subventionen ist, wurde erreicht. Dazu wurden in den Planungen und Berechnungen bestehende Biogasanlagen unter anderem um zwei Schlüsselkomponenten erweitert. Erstens um eine membranbasierte mehrstufige Biogasaufbereitung und zweitens um eine biologische ex-situ Methanisierung. Die Produkte der Gasaufbereitung sind reines Biomethan, welches eine breite Einsatzmöglichkeit und eine klimaneutrale Alternative zu Erdgas darstellt, sowie reines Kohlendioxid. Dieses wird nun in der zweiten Schlüsselkomponente, einer biologischen ex-situ Methanisierungseinheit, zu Methan umgesetzt. Dazu wird Wasserstoff aus regenerativer Erzeugung eingesetzt.

Das Verfahren wurde so konzipiert, dass immer nur so viel Wasserstoff mit der entsprechenden Menge CO_2 aus dem Rückstrom der Gasaufbereitung zum Rohbiogas aus dem Fermenter zugesetzt wird, wie gerade durch verfügbaren Überschussstrom zur Verfügung steht. Das Arbeiten mit einem Überschuss an CO_2 führt zu einer Übersäuerung des Methanisierungsmediums, aber zu einem stabilen gleichmäßigen pH-Wert. Dadurch müssen zur Anpassung und Stabilisierung des pH-Wertes im Methanisierungssystem, für den Fall, dass wie in anderen Systemen das CO_2 durch die Methanisierungsreaktion aufgebraucht ist, keine Chemikalien zugesetzt werden. Es mussten jedoch methanogene Kulturen und Konsortien von Mikroorganismen gefunden werden, die unter den sauren pH-Bedingungen Wasserstoff und CO_2 mit genügend hohen Raten zu Methan umsetzen, was in der Regel nicht der Fall ist. Diese Methanogenen wurden aus einer Datenbank mit einer Vielzahl von Einträgen ausgewählt und gefiltert. Die Vielversprechendsten wurden gezielt getestet. Dazu wurde eigens eine Testanlage entwickelt und gebaut, die die Aktivität der Methanogenen unter geringen Drücken von 1 bis 2 bar reproduzierbar und automatisch testeten. Es erfolgte dann die weitere Testung bei Drücken von bis zu 16 bar, was dem Betriebsdruck der Methanisierungsanlage entspricht. Auch unter diesen Bedingungen konnten gute Methanbildungsraten erzielt werden. Durch diese gezielte Auswahl der Mikroorganismen wurde eine stabile Kopplung der Methanisierung mit einer Biogasanlage und einer Gasaufbereitung überhaupt erst möglich und eine Verbesserung der Effizienz des Prozesses erzielt. Nach dem Testen im kleinen Maßstab bei verschiedenen Drücken wurde eine kontinuierliche Betriebsweise im Rührkessel getestet zum Upscaling der Biomasse und zur Erarbeitung verfahrenstechnischen Methoden der Wasserstoffeinbringung, da die Löslichkeit des Wasserstoffes einen entscheidenden Einfluss auf die Produktivität des Methanisierungssystems hat. Aufgrund der Fahrweise der Methanisierung in einem optimierten Zusammenspiel aus Druck, Temperatur und Mikrobiologie mit einem Überschuss an CO_2 ergibt sich ein stabiler pH-Bereich, in dem die Anlage betrieben werden kann und somit sollten Schwierigkeiten in der Prozessführung bei zukünftigen technischen Methanisierungsanlagen wie in anderen vorgeschlagenen Technologien nicht auftreten. Hier führt die vollständige Umsetzung des CO_2 zu einem sprunghaften pH Anstieg und dadurch zu einem Einbruch in der Methanbildung.

Eine Aufbereitung des gewonnenen Gasgemisches aus der Methanisierung ist, um die Richtlinien für die Einspeisung von Biomethan in das Erdgasnetz zu erfüllen, erforderlich, da der Umsatz des überschüssigen CO_2 aus dem Biogas nicht vollständig ist. In Bezug auf Flexibilität, Anwendbarkeit und Einfachheit im Betrieb ergaben Literaturrecherchen, dass die Membrantechnologie die Methode der Wahl für die Gasaufbereitung ist. Besonders gut geeignet dafür ist das SEPURAN® Green System des Marktführers Evonik (Produktion der Membranen in Schörfing am Attersee/Österreich). Im Folgenden

wurde dieses auf seine Anwendbarkeit im Rahmen des FlaeXMethan-Konzepts analysiert. Es wurde festgestellt, dass das derzeitige System nach dem Stand der Technik zur bereits hunderte Male erprobten technischen Anwendung der Biogasaufbereitung auf das Zweistoffsystem Methan/CO₂ ausgelegt ist und die derzeitige Steuerung des Prozesses nach dem Stand der Technik mit einer schwankenden Produktgasqualität und -menge nur ungenügend automatisch umgehen kann. Durch Simulationen des Methanisierungsbehälters und des Gaseinbringsystemes und der seriellen Verschaltung mehrerer Methanisierungsgefäße gehen wir davon aus, dass der Wasserstoff so zu einem überwiegenden Teil umgesetzt werden kann und der Verlust ökonomisch vertretbar ist. Diese geringen Mengen nicht umgesetzten Wasserstoffs werden in der Gasaufbereitung zusammen mit dem CO₂ aus dem Biogas entfernt und thermisch nachverbrannt. Die Abtrennung der geringen Mengen an nicht umgesetztem Wasserstoff und die gleichzeitige Aufbereitung einer Gasmischung von z.B. 70% Methan mit 30% Kohlendioxid in einem dreistufig verschalteten Sepuran-Membran System zu einem einspeisefähigen Biomethan konnte durch Simulation mit einer Software von Evonik sicher nachgewiesen werden. Dadurch wurde darauf verzichtet, die Abtrennung 3-stufig nachzubauen. Es wurde lediglich einstufig getestet, ob die Abtrennung des Wasserstoffes in einer einzelnen Membran mit der Simulation übereinstimmt, was mit hoher Genauigkeit der Fall war.

Weiters wurde ein neuartiges Steuerungsverfahren erarbeitet, das die Aufbereitung von Biogas bzw. auch jenen Gasgemischen, welche aus der Methanisierung stammen, so erledigt, dass immer die gleiche Biomethanproduktgasqualität und die Kohlendioxidabgasqualität erhalten bleibt auch dann, wenn unterschiedliche Stoffströme und -zusammensetzungen aufzubereiten sind, die sich bei einer modulierenden Fahrweise der Methanisierung bei unterschiedlicher Verfügbarkeit des Wasserstoffs ergeben.

Die Fahrweise mit einem Überschuss an CO₂ stellt somit einen entscheidenden Vorteil gegenüber jener mit H₂-Überschuss dar, da in Kombination mit der Gasaufbereitungstechnologie zu jedem Zeitpunkt, an dem Überschussstrom zur Verfügung steht, Wasserstoff produziert und dieser überwiegend vollständig zu Biomethan umgesetzt werden kann. Andere Anlagenkonzepte brauchen dazu zwei verschiedene Anlagen oder sie können nur eine definierte Menge an Wasserstoff verarbeiten, was weitere Speicher für Wasserstoff oder Überschussstrom bedarf, wenn volatiler erneuerbarer Strom in speicherbares Biomethan umgewandelt werden soll. Somit kann regenerative überschüssige elektrische Energie verlustarm und flexibel je nach Aufkommen chemisch gespeichert werden. Elektrische Energie wird somit als chemischer Baustein dem gesamten Anwendungsspektrum zur Verfügung gestellt.

Im Anlagenverbund aus Biogasanlage, Methanisierung und Aufbereitung entsteht durch das erarbeitete Konzept eine Stromspeichereinheit, welche einen erneuerbaren regenerativen Rohstoff zur Verfügung stellt, der zu 100% in einem geschlossenen Stoffkreislauf geführt werden kann. Neben der Funktion als Langzeitspeicher von elektrischer Energie kann das Biomethan auch in Zukunft als erneuerbarer Kohlenstofflieferant der chemischen Industrie zur Verfügung gestellt werden.

5 Ausblick und Empfehlungen

In weiteren Entwicklungsprojekten muss nun das im kleinen Maßstab erarbeitete Laborwissen im Umgang mit den Mikroorganismen und das technische Konzept zusammengeführt werden. Damit werden dann technische Prototypen im Pilotmaßstab realisierbar sein, die zeigen werden, ob sich die im Labormaßstab erarbeiteten sehr vielversprechenden Ergebnisse umsetzen lassen in eine Methanisierungs- und Gasaufbereitungseinheit mit technisch relevanter Größe, die eine stabile und ökonomisch attraktive Technologie zur Herstellung von Methan aus Kohlendioxid und Wasserstoff bietet. Das Projektkonsortium empfiehlt die FlaeXMethan-Technologie in einer eigenen Gesellschaft weiter zur Marktreife zu entwickeln und ist sich dabei sicher, dass sie einen nicht unerheblichen Beitrag zur Speicherung von Überschussstrom liefern kann, damit Stromnetze lokal entlasten werden können durch Verbrauch des PV Stromes zur Mittagszeit und des Windstroms bei Starkwind, damit die Substituierung von fossilem Erdgas durch erneuerbares ermöglicht wird und damit schlussendlich die im Sommer via PV erzeugte Energie für den Winter in Form von erneuerbarem Methan zur Verfügung steht.

6 Literaturverzeichnis

1. PhyMet2 : a database and toolkit for phylogenetic and metabolic analyses of methanogens. *Environ Microbiol Rep* **10**, 605 (2018).
2. Abdel Azim, A., Rittmann, S. K.-M. R., Fino, D. & Bochmann, G. The physiological effect of heavy metals and volatile fatty acids on *Methanococcus maripaludis* S2. *Biotechnol Biofuels* **11**, 301 (2018).
3. Haydock, A. K., Porat, I., Whitman, W. B. & Leigh, J. A. Continuous culture of *Methanococcus maripaludis* under defined nutrient conditions. *FEMS Microbiol Lett* **238**, 85–91 (2004).
4. Jones, W. J., Paynter, M. J. B. & Gupta, R. Characterization of *Methanococcus maripaludis* sp. nov., a new methanogen isolated from salt marsh sediment. *Archives of Microbiology* (1983) doi:10.1007/BF00408015.
5. Müller, A. L. *et al.* An alternative resource allocation strategy in the chemolithoautotrophic archaeon *Methanococcus maripaludis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **118**, e2025854118 (2021).
6. Palabikyan, H. *et al.* Scale-up of biomass production by *Methanococcus maripaludis*. *Frontiers in Microbiology* **13**, (2022).
7. Flux measurements and maintenance energy for carbon dioxide utilization by *Methanococcus maripaludis* | Microbial Cell Factories | Full Text.
<https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-015-0336-z>.
8. Jones, W. J., Leigh, J. A., Mayer, F., Woese, C. R. & Wolfe, R. S. *Methanococcus jannaschii* sp. nov., an extremely thermophilic methanogen from a submarine hydrothermal vent. *Arch. Microbiol.* **136**, 254–261 (1983).
9. Miller, J. F., Shah, N. N., Nelson, C. M., Ludlow, J. M. & Clark, D. S. Pressure and Temperature Effects on Growth and Methane Production of the Extreme Thermophile *Methanococcus jannaschii*. *Appl Environ Microbiol* **54**, 3039–3042 (1988).
10. Mukhopadhyay, B., Johnson, E. F. & Wolfe, R. S. Reactor-Scale Cultivation of the Hyperthermophilic Methanarchaeon *Methanococcus jannaschii* to High Cell Densities. *Appl Environ Microbiol* **65**, 5059–5065 (1999).
11. Topçuoğlu, B. D., Meydan, C., Nguyen, T. B., Lang, S. Q. & Holden, J. F. Growth Kinetics, Carbon Isotope Fractionation, and Gene Expression in the Hyperthermophile *Methanocaldococcus jannaschii* during Hydrogen-Limited Growth and Interspecies Hydrogen Transfer. *Applied and Environmental Microbiology* **85**, e00180-19 (2019).
12. Blotevogel, K.-H. & Fischer, U. Isolation and characterization of a new thermophilic and autotrophic methane producing bacterium: *Methanobacterium thermoaggregans* spec. nov. *Arch. Microbiol.* **142**, 218–222 (1985).
13. Mauerhofer, L.-M. *et al.* Physiology and methane productivity of *Methanobacterium thermaggregans*. *Appl Microbiol Biotechnol* **102**, 7643–7656 (2018).

14. Pappenreiter, P. A., Zwirtmayr, S., Mauerhofer, L., Rittmann, S. K. R. & Paulik, C. Development of a simultaneous bioreactor system for characterization of gas production kinetics of methanogenic archaea at high pressure. *Eng Life Sci* **19**, 537–544 (2019).
15. Rittmann, S., Seifert, A. & Herwig, C. Quantitative analysis of media dilution rate effects on *Methanothermobacter marburgensis* grown in continuous culture on H₂ and CO₂. *Biomass and Bioenergy* **36**, 293–301 (2012).
16. Bernacchi, S. *et al.* Experimental methods for screening parameters influencing the growth to product yield ($Y_{(x/CH_4)}$) of a biological methane production (BMP) process performed with *Methanothermobacter marburgensis*. *AIMSBOA* **1**, 72–87 (2014).
17. Wasserfallen, A., Nöling, J., Pfister, P., Reeve, J. & Conway de Macario, E. Phylogenetic analysis of 18 thermophilic *Methanobacterium* isolates supports the proposals to create a new genus, *Methanothermobacter* gen. nov., and to reclassify several isolates in three species, *Methanothermobacter thermautotrophicus* comb. nov., *Methanothermobacter wolfeii* comb. nov., and *Methanothermobacter marburgensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* **50 Pt 1**, 43–53 (2000).
18. Burggraf, S. *et al.* *Methanococcus igneus* sp. nov., a novel hyperthermophilic methanogen from a shallow submarine hydrothermal system. *Syst Appl Microbiol* **13**, 263–269 (1990).
19. Bellack, A., Huber, H., Rachel, R., Wanner, G. & Wirth, R. *Methanocaldococcus villosus* sp. nov., a heavily flagellated archaeon that adheres to surfaces and forms cell-cell contacts. *Int J Syst Evol Microbiol* **61**, 1239–1245 (2011).
20. Takai, K. *et al.* Cell proliferation at 122°C and isotopically heavy CH₄ production by a hyperthermophilic methanogen under high-pressure cultivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 10949–10954 (2008).
21. *Methanopyrus kandleri*, gen. and sp. nov. represents a novel group of hyperthermophilic methanogens, growing at 110°C | SpringerLink.
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF00262992>.
22. Mikucki, J. A., Liu, Y., Delwiche, M., Colwell, F. S. & Boone, D. R. Isolation of a methanogen from deep marine sediments that contain methane hydrates, and description of *Methanoculleus submarinus* sp. nov. *Appl Environ Microbiol* **69**, 3311–3316 (2003).
23. Jeanthon, C. *et al.* *Methanococcus vulcanius* sp. nov., a novel hyperthermophilic methanogen isolated from East Pacific Rise, and identification of *Methanococcus* sp. DSM 4213T as *Methanococcus fervens* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* **49 Pt 2**, 583–589 (1999).
24. Kendall, M. M. *et al.* *Methanococcus aeolicus* sp. nov., a mesophilic, methanogenic archaeon from shallow and deep marine sediments. *Int J Syst Evol Microbiol* **56**, 1525–1529 (2006).
25. Mauerhofer, L.-M. *et al.* Hyperthermophilic methanogenic archaea act as high-pressure CH₄ cell factories. *Commun Biol* **4**, 1–12 (2021).
26. Taubner, R.-S. & Rittmann, S. K.-M. R. Method for Indirect Quantification of CH₄ Production via H₂O Production Using Hydrogenotrophic Methanogens. *Front Microbiol* **7**, 532 (2016).
27. Abdel Azim, A. *et al.* The physiology of trace elements in biological methane production. *Bioresour Technol* **241**, 775–786 (2017).
28. Zipperle, A. *et al.* Biomethanation of Carbon Monoxide by Hyperthermophilic Artificial Archaeal Co-Cultures. *Fermentation* **7**, 276 (2021).

29. Rittmann, S., Seifert, A. & Herwig, C. Essential prerequisites for successful bioprocess development of biological CH₄ production from CO₂ and H₂. *Crit Rev Biotechnol* **35**, 141–151 (2015).
30. Mauerhofer, L.-M. *et al.* Hyperthermophilic methanogenic archaea act as high-pressure CH₄ cell factories. *Commun Biol* **4**, 1–12 (2021).
31. Wahid, R., Mulat, D. G., Gaby, J. C. & Horn, S. J. Effects of H₂:CO₂ ratio and H₂ supply fluctuation on methane content and microbial community composition during in-situ biological biogas upgrading. *Biotechnology for Biofuels* **12**, 104 (2019).
32. Pappenreiter, P. *et al.* Development of a simultaneous bioreactor system for characterization of gas production kinetics of methanogenic archaea at high pressure. *Eng Life Sci* **19**, 537– 544 (2019)
33. Pappenreiter, P. Development of a pressurized biomethanation reactor system using CO₂-type methanogenic strains. *JKU* (2020).
34. Nguyen MK, Kao L, Kurtz I. Calculation of the equilibrium pH in a multiple-buffered aqueous solution based on partitioning of proton buffering: a new predictive formula. *Am J Physiol Renal Physiol.* **296(6)**, F1521-9 (2009).
1. Erratum in: *Am J Physiol Renal Physiol.* **298(3)**, F838 (2010). PMID: 19339630; PMCID: PMC2692448.
35. Taubner, RS., Pappenreiter, P., Zwicker, J. *et al.* Biological methane production under putative Enceladus-like conditions. *Nat Commun* **9**, 748 (2018).
36. Hass, Pörtner. Praxis der Bioprozesstechnik. **1. Aufl.** Heidelberg: Spektrum Akademischer Verl. (2009).
37. Henzler, H.-J. Verfahrenstechnische Auslegungsunterlagen für Rührbehälter als Fermenter. *Chemie Ingenieur Technik*, **54**, 461-476 (1982).

7 Kontaktdaten

ProjektleiterIn:

DI Dr. Markus Ungerank

Creonia e.U.

Münzbacher Straße 22

4320 Perg

markus.ungerank@creonia.at

Tel: +43 664 4612934

Auflistung der weiteren Projekt- bzw. KooperationspartnerInnen Name / Institut oder Unternehmen

- Christian Paulik / Johannes Kepler Universität Linz, Institut für Chemische Technologie organischer Stoffe
- Simon Rittmann / Universität Wien, Department für Funktionelle und Evolutionäre Ökologie, Archaea Biology and Ecogenomics Unit
- Josef Höckner / BioG GmbH Weilbolden 18 4972 Utzenaich