

Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH  
Hochschule für Technik und Wirtschaft des Saarlandes  
IGV Institut für Getreideverarbeitung GmbH  
Subitec GmbH

# LANDMARK

## **Förderinitiative Aquakultur: Nährstoff-Recycling in landbasierten marinen Kreislaufanlagen durch die integrierte Produktion von Algenbiomasse (Laborphase)**

Zwischenbericht für die erste Projektphase über ein Nachhaltigkeitsprojekt,  
gefördert unter dem Az: 28173-23 von der Deutschen Bundesstiftung Umwelt

von

Prof. Dr. rer. nat. Uwe Waller (HTW)  
M. Sc. Peter Bergmann, Dr. Peter Ripplinger (Subitec GmbH)  
Dr. Ing. Jürgen Broneske, Prof. Dr. Dr. Otto Pulz (IGV)  
PD Dr. Anneliese Ernst (HTW)  
Prof. Dr. Ing. Benedikt Faupel (HTW)  
Dipl. Biol. Verena Hanke (HTW)  
B. Sc. Andreas Kulakowski (HTW)  
Dr. Bert Wecker (Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH)

**Januar 2012**

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>HAUPTTEIL</b> .....	<b>11</b>
3.1	AUFBAU EINES FLUID-KREISLAUFS ALS BELASTUNGSSTUFE [AP1] .....	11
3.2	ANALYSE DER SPEZIFISCHEN KULTIVATIONSBEDINGUNGEN [AP 2] .....	17
3.3	SELEKTION GEEIGNETER MIKROALGEN [AP 3] .....	20
3.3.1	<i>Auswahl und Beschaffung der Arten</i> .....	20
3.3.2	<i>Nährstoffangebot, Nährstoffaufnahme und Mangelversorgung</i> .....	20
3.3.3	<i>Kulturversuch mit Tageslicht</i> .....	24
3.4	LABORVERSUCHE SUBITEC .....	25
3.4.1	<i>Kalibrierung der Biomassebestimmung</i> .....	25
3.4.2	<i>Bestimmung der Nährstoffaufnahme von Nannochloropsis salina bei einer Zunahme der Optischen Dichte (Subitec Sensor) um eine Einheit</i> .....	26
3.4.3	<i>Versuche zur Bestimmung der Produktivität von Nannochloropsis salina bei unterschiedlichen Produktionsbedingungen in 6 L Subitec Flachbett Photobioreaktoren</i> .....	27
3.4.3.1	Die Temperaturabhängigkeit der Produktivität von Nannochloropsis salina .....	27
3.4.3.2	Der Einfluss einer Eisenzufuhr zum Photobioreaktor-Fluid auf die volumetrische Produktivität von Nannochloropsis salina in künstlichem Seewasser. ....	29
3.4.3.3	Der Einfluss des Salzgehaltes auf die volumetrische Produktivität von Nannochloropsis salina .....	30
3.4.4	<i>Produktivität von Nannochloropsis salina im kontinuierlichen Betrieb eines 6 l Subitec Flachbett Photobioreaktors</i> .....	31
3.5	AUFBAU UND INBETRIEBNAHME DER 120 LITER PHOTOBIOREAKTOREN [AP 4] .....	33
3.6	VORVERSUCHE ZUR PROZESSOPTIMIERUNG [AP 5] .....	37
3.6.1	<i>Vorversuche zur Flotation von N. salina</i> .....	37
3.6.1.1	Energetische Bewertung der Algen-Abschäumung .....	40
3.6.1.2	Potentiale der Algen-Abschäumung .....	42
3.6.2	<i>Vorversuche zur Zellretention von N. salina</i> .....	43
3.6.2.1	Vorausgehende Modellierung der Zellretention .....	43
3.6.2.2	Laborversuche zur Zellretention von N. salina .....	45
3.7	VORLÄUFIGE MACHBARKEITSANALYSE ZUM PRODUKTIONSINTEGRIERTEN VERFAHREN .....	47
<b>4</b>	<b>FAZIT</b> .....	<b>51</b>

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 3.1-1: DER FLUID-KREISLAUF IN DER FORSCHUNGSHALLE IN VÖLKLINGEN. IM HINTERGRUND DIE WASSERAUFBEREITUNG, IM VORDERGRUND DER HALTUNGSTANK, LINKS DER SUBITEC PHOTOBIOREAKTOR. ....	11
Abb. 3.1-2: FLIEßBILD DES PRIMÄREN FLUID-KREISLAUFS ALS BELASTUNGSSTUFE FÜR DIE EXPERIMENTELLEN UNTERSUCHUNGEN MIT UNTERSCHIEDLICHEN PHOTOBIOREAKTOREN. ....	12
Abb. 3.1-3: DER FLUID-KREISLAUF IN DER FORSCHUNGSHALLE VÖLKLINGEN. IM VORDERGRUND DER ABSCHÄUMER, IM HINTERGRUND DER SUBITEC PHOTOBIOREAKTOR. ....	13
Abb. 3.1-4: DIE CALCIUMHYDROXID-DOSIERUNG. ....	15
Abb. 3.1-5: BLICK IN DEN HALTUNGSTANK MIT 2000 JUVENILEN WOLFSBARSCHEN KURZ NACH DEM BESATZ. DIE BESATZDICHT BEZOGEN AUF DAS VOLUMEN DES HALTUNGSTANKS BETRUG $1.7 \text{ kg/M}^3$ . ....	15
Abb. 3.2-1: PROZESSVARIABLEN IM LANDMARK FLUID-KREISLAUF FÜR WOLFSBARSCHEN, <i>DICENTRARCHUS LABRAX</i> . ....	17
Abb. 3.2-2: PROZESSVARIABLEN IM FLUID-KREISLAUF FÜR KINGFISH, <i>SERIOLA LALANDI</i> , DER ERWIN SANDER ELEKTROAPPARATEBAU GMBH. ....	18
Abb. 3.3-1: MIKROPLATTEN-VERSUCHSAUFBAU (LINKS) UND MIKROPLATTENREADER (RECHTS). ....	21
Abb. 3.3-2: ASYMPTOTISCHE OPTISCHE DICHTEN FÜR <i>BRACHIOMONAS SP.</i> (OBEN) UND <i>PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM</i> (UNTEN) IN KÜNSTLICHEM MEERWASSER UND PROZESSWASSER OHNE UND MIT ZUSATZ VON NÄHRSTOFFEN. SÄULENGRUPPEN 1 UND 2: MDV-KULTURMEDIUM (CEME), SÄULENGRUPPE 3 UND 4: KÜNSTLICHES MEERWASSER «TROPIC MARIN», SÄULENGRUPPE 5 UND 6: PROZESSWASSER AUS KREISLAUFANLAGE FÜR MARINE GARNELEN IN VÖLKLINGEN. IN DEN SÄULEN 2,4 UND 6 WURDE ZUSÄTZLICH EISEN ( $0.7 \text{ mg/L}$ ) DOSIERT. DIE ASYMPTOTISCHE OPTISCHE DICHTEN WURDEN MIT HILFE EINER ITERATIVEN ANPASSUNG EINER SIGMOIDEN FUNKTION BESTIMMT. DIE RESIDUEN DER ANPASSUNGEN (REGRESSIONSFEHLER) SIND ALS LINIEN MIT BEGRENZUNGSSTRICHEN IN DIE ABBILDUNG EINGETRAGEN. ....	21
Abb. 3.3-3: WACHSTUM DER GRÜNALGE <i>BRACHIOMONAS SP.</i> IM PROZESSWASSER EINER KREISLAUFANLAGE FÜR <i>SERIOLA LALANDI</i> GEMESSEN ALS ZUNAHME DER OPTISCHEN DICHTEN BEI $750 \text{ nm}$ WELLENLÄNGE. DAS WACHSTUM IM NICHT ANGEREICHERTEN PROZESSWASSER IST MIT ROTEN UND GRÜNEN SYMBOLEN DARGESTELLT. BLAUE UND SCHWARZE SYMBOLE KENNZEICHNEN VERSUCHSREIHEN, IN WELCHEN DAS PROZESSWASSER MIT $1/3$ DER NORMALKONZENTRATION DES MDV-KULTURMEDIUMS ANGEREICHERT WORDEN WAR. DIE ERGEBNISSE DIESER VERSUCHSREIHEN WURDEN ALS REFERENZWERT FÜR DIE POTENTIELLE BIOMASSEPRODUKTION ANGENOMMEN. ZUSÄTZLICH IST IN JEDER ABBILDUNG DER IN ALLEN VERSUCHSREIHEN ANGEREICHERTER NÄHRSTOFF (BIKARBONAT, NITRAT, EISEN, SPURENELEMENTE + VITAMINE) ANGEZEIGT. ....	22
Abb. 3.3-4: WACHSTUM DER EUSTIGMATOCEAE <i>NANNOCHLOROPSIS SALINA</i> IM PROZESSWASSER EINER KREISLAUFANLAGE FÜR <i>SERIOLA LALANDI</i> GEMESSEN ALS ZUNAHME DER OPTISCHEN DICHTEN BEI $750 \text{ nm}$ WELLENLÄNGE. DAS WACHSTUM IM NICHT ANGEREICHERTEN PROZESSWASSER IST MIT ROTEN UND GRÜNEN SYMBOLEN DARGESTELLT. BLAUE UND SCHWARZE SYMBOLE KENNZEICHNEN VERSUCHSREIHEN, IN WELCHEN DAS PROZESSWASSER MIT $1/3$ DER NORMALKONZENTRATION DES MDV-KULTURMEDIUMS ANGEREICHERT WORDEN WAR. DIE ERGEBNISSE DIESER VERSUCHSREIHEN WURDEN ALS REFERENZWERT FÜR DIE POTENTIELLE BIOMASSEPRODUKTION ANGENOMMEN. IN DREI ABBILDUNGEN WURDEN ZUDEM DIE WIRKUNG EINE ZUSATZES VON EINZELNEN NÄHRSTOFFEN (NITRAT, PHOSPHAT UND EISEN), GETESTET. DAS FEHLEN EINER ERTRAGSSTEIGERUNG ZEIGT, DASS <i>NANNOCHLOROPSIS</i> DURCH PROZESSWASSER BEREITS OPTIMAL MIT NÄHRSTOFFEN VERSORGT WIRD. ....	23
Abb. 3.3-5: ZELLKULTURFLASCHEN ALS MODEL FÜR FLACHPLATTENREAKTOREN; IM HINTERGRUND DER LICHTSCHACHT, ÜBER DEN DAS TAGESLICHT IN DAS LABOR GELANGT. DURCH DIE LAGE DES LABORS WAR DIE DIREKTE SONNENBESTRAHLUNG DER KULTURFLASCHEN ABHÄNGIG VOM SONNENSTAND AUF 45 BIS 90 MIN BEGRENZT. DIE TEMPERATUR IN DEM SOUTARRAIN-LABOR ERHÖHTE SICH IM VERSUCHSZEITRAUM NUR LANGSAM VON $18^\circ\text{C}$ AUF $23^\circ\text{C}$ . ....	24
Abb. 3.3-6: ZUNAHME DER OPTISCHEN DICHTEN ( $880 \text{ nm}$ ) VON <i>NANNOCHLOROPSIS SALINA</i> IM PROZESSWASSER DER <i>SERIOLA LALANDI</i> KREISLAUFANLAGE DER ERWIN SANDER ELEKTROAPPARATEBAU GMBH. DER NÄHRSTOFFGEGEHALT WURDE MIT MDV-MEDIUM ANGEREICHERT. ....	24
Abb. 3.4-1: ERGEBNIS DES KALIBRIERUNGS-EXPERIMENTES FÜR DEN OPTISCHE DICHTEN SENSOR DER SUBITEC GMBH. ....	25
Abb. 3.4-2: VERSUCHSERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG DER TEMPERATURABHÄNGIGKEIT DER VOLUMETRISCHEN PRODUKTIVITÄT VON <i>N. SALINA</i> BEI UNTERSCHIEDLICHEN FLUID-TEMPERATUREN IN EINEM SUBITEC 6 L FLACHBETT PHOTOBIOREAKTOR MIT LUFTHEBER. KULTURMEDIUM: MODIFIZIERTES ASFW (TAB. 3.4-2). ....	28

ABB. 3.4-3: TEMPERATURABHÄNGIGKEIT DER PRODUKTIVITÄT VON <i>N. SALINA</i> . ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE AUS ABB. 3.4-2. DER HELLGRÜNE MARKIERUNGSPUNKT WURDE EXTRAPOLIERT UND ZEIGT DIE TEMPERATUR BEI EINER PRODUKTIVITÄT VON 1.12 G TROCKENSUBSTANZMASSE PRO TAG (SIEHE KAPITEL 3.7).....	28
ABB. 3.4-4: VERSUCHSERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES EINER STERILINJEKTION VON 4.7 MG/L EISENCITRAT-MONOHYDRAT (+FE-SPURENELEMENTE PH 7.3) AUF DIE VOLUMETRISCHEN PRODUKTIVITÄT VON <i>N. SALINA</i> IN EINEM SUBITEC 6 L FLACHBETT PHOTOBIOREAKTOR MIT LUFTHEBER.....	29
ABB. 3.4-5: VERSUCHSERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES DES SALZGEHALTES AUF DIE VOLUMETRISCHEN PRODUKTIVITÄT VON <i>N. SALINA</i> IN EINEM SUBITEC 6 L FLACHBETT PHOTOBIOREAKTOR MIT LUFTHEBER.....	30
ABB. 3.4-6: PRODUKTIVITÄT VON <i>NANNOCHLOROPSIS SALINA</i> IM KONTINUIERLICHEN BETRIEB EINES 6 L SUBITEC FLACHBETT PHOTOBIOREAKTORS.....	32
ABB. 3.5-1: FLIEßSCHEMA DER 120 L LABORANLAGE MIT VIER 30 L FLACHPLATTEN-PHOTOBIOREAKTOR MIT AIRLIFT.....	33
ABB. 3.5-2: 3D ANSICHT DES 120 LITER PHOTOBIOREAKTORS BESTEHEND AUS VIER 30 LITER FPA-MODULEN MIT ZENTRALER INNENBELEUCHTUNG UND KÜHLUNG ÜBER EINE AM BODEN ANGEORDNETES KÜHLBECKEN.....	33
ABB. 3.5-3: 3-D ANSICHT DES 120 LITER RÖHRENREAKTORS MIT AUßENBELEUCHTUNG.....	34
ABB. 3.5-4: ZEITVERLAUF DER BIOMASSENKONZENTRATION MIT PROZESSWASSER ALS BASISMEDIUM. IN DEN ERSTEN 15 TAGEN WURDE EIN FED-BATCH BETRIEB DURCHFÜHRT BEI DEM ALLE 48H EIN REAKTORVOLUMENANTEIL VON 12% AUSGETAUSCHT WURDE. DIE OPTISCHE DICHT BEI 880NM IST HIER EIN MAß FÜR DIE BIOMASSENKONZENTRATION. FOLGENDE SYMBOLIK WIRD VERWENDET: ROTER PFEIL - ADDITION 50-80 MG NO <sub>3</sub> -N/L, BLAUER PFEIL - ADDITION 52 MG PO <sub>4</sub> -P/L, DUNKELGRAUER PFEIL – ADDITION EISENCITRAT (+24 MG FE/L), HELLGRAUER PFEIL – ADDITION EISENCITRAT (+1 MG FE/L), SCHWARZER PFEIL –ADDITION VON SPURENELEMENTMIX.....	34
ABB. 3.5-5: EXEMPLARISCHER ZEITVERLAUF DER BIOMASSENKONZENTRATION (MAß DAFÜR IST OD 750NM) IN DEN ERSTEN BETRIEBSWOCHEEN EINES 30 LITER FLAT PANEL AIRLIFT REAKTOR AUF BASIS VON KÜNSTLICHEN PROZESSWASSER (20 PSU): ROTER PFEIL - ADDITION VON 50-80 MG NO <sub>3</sub> -N/L, BLAUER PFEIL - ADDITION VON 52 MG PO <sub>4</sub> -P/L, ADDITION VON SPURENELEMENTMIX +1MG FE/L, WEIßER PFEIL - AUSTAUSCH DER KULTURLÖSUNG DURCH NEUES MEDIUM IN % DES GESAMTVOLUMENS. UNTEN: ZEITVERLAUF DER NITRATSTICKSTOFF- UND DER PHOSPHAT-PHOSPHOR-KONZENTRATION IM EXTRAZELLULÄREN MEDIUM DER REAKTORLÖSUNG.....	35
ABB. 3.6-1: VERSUCHSAUFBAU FÜR DIE FLOTATION VON DER MIKROALGE <i>N. SALINA</i> : 1. ABSCHÄUMER; 2. SCHAUMKOPF MIT SCHAUMROHR; 3. REAKTIONSRaum (50L); 4. PUFFERBEHÄLTER FÜR RETENTAT; 5. SCHAUMFALLE FÜR FLOTAT; 6. MESSSTRECKE MIT PH-, REDOXPOTENTIAL- UND VOLUMENSTROMMESSUNG; 7. INJEKTIONSDÜSE FÜR LUFT- UND OZONGEMISCH; 8. ANSAUGSTELLE FÜR LUFT. GAS- UND FLÜSSIGPHASE FLIEßEN IM GEGENSTROM.....	37
ABB. 3.6-2: BIOMASSENKONZENTRATIONEN IM RETENTAT ALS FUNKTION DER FLOTATIONSDAUER. DIE BATCHVERSUCHE WURDEN BEI EINER OZONDOSIERUNG VON 10 G OZON/(M <sup>3</sup> REAKTIONSRaum*H) (HELLGRÜN) UND 20G OZON/(M <sup>3</sup> REAKTIONSRaum*H) DURCHFÜHRT.....	38
ABB. 3.6-3: MIKROSKOPISCHE AUFNAHMEN VON KONZENTRAT AUS EINEM ALGENABSCHÄUMER (LINKS) UND EINER VITALEN ALGENKULTUR (RECHTS). BEI BEIDEN AUFNAHMEN HANDELT ES SICH UM <i>NANNOCHLOROPSIS SALINA</i> .....	38
ABB. 3.6-4: ANSICHT DES SCHAUMKOPFES MIT ALGENKONZENTRAT (OBEN) UND DES BEREITS AUSGEDÜNNTEN RETENTATS (UNTEN) BEI EINEM AUSTRAGSGRAD VON 95% DER ALGENBIOMASSE.....	39
ABB. 3.6-5: ANALYSE DER BIOMASSENKONZENTRATION DES FLOTATS BEI ZWEI VERSCHIEDENEN OZONDOSIERUNGEN (10 G/(M <sup>3</sup> *H)-HELLGRÜN; 20 G/(M <sup>3</sup> *H)-DUNKELGRÜN) UND BEI VERSCHIEDENEN TEMPORÄREN BIOMASSENKONZENTRATIONEN IM RETENTAT.....	39
ABB. 3.6-6: SPEZIFISCHE ERNTELEISTUNG (G GEERNTETE BIOMASSE/M <sup>2</sup> QUERSCHNITT REAKTIONSRaum*H) UND REDOXPOTENTIAL ALS FUNKTION DER BIOMASSENKONZENTRATION IM RETENTAT.....	40
ABB. 3.6-7: ENERGIEBEDARF IN KWH/M <sup>3</sup> REAKTIONSRaum ALS FUNKTION DES AUSTRAGSGRADES AN BIOMASSE IM RETENTAT. ...	40
ABB. 3.6-8: ENERGIEBEDARF IN KWH/M <sup>3</sup> EINLAUFLÖSUNG VON VERSCHIEDENEN ERNTEVERFAHREN FÜR MIKROALGEN. DURCH EINE VORKONZENTRIERUNG MIT DEM ABSCHÄUMER WURDE DER GESAMTENERGIEBEDARF DEUTLICH GESENKT. DIE BERECHNUNGEN BEZIEHEN SICH AUF EINE EINLAUFKONZENTRATION VON 287 MG BIOMASSE/L (DATEN FÜR DEKANTER, TROMMELFILTER UND TELLERSEPARATOR AUS GRIMA ET AL. 2004).....	41
ABB. 3.6-9: FLIEßSCHEMA DER GEPLANTEN PRODUKTIONSINTEGRIERTEN ALGENPRODUKTION. BASIS FÜR DIE MASSENBILANZ UND SOMIT FÜR DIE MODELLIERUNG STELLEN DIE EINLAUFENDEN MASSENSTRÖME PROZESSWASSER UND KOHLENSTOFFDIOXID SOWIE DIE AUSLAUFENDEN MASSENSTRÖME ALGENKONZENTRAT UND PERMEAT DAR.....	43

ABB. 3.6-10: MODELLIERTE WACHSTUMSRATE AN <i>NANNOCHLOROPSIS SALINA</i> SOWIE GLEICHGEWICHTSKONZENTRATION FÜR NITRATSTICKSTOFF IN EINEM 120 L PHOTOBIOREAKTOR ALS FUNKTION DES PERMEATFLUSSES DURCH EINE ZELLRETENTIONSSTUFE. ....	43
ABB. 3.6-11: MODELLIERTE WACHSTUMSRATE FÜR <i>NANNOCHLOROPSIS SALINA</i> SOWIE DER ZUSÄTZLICHE CO <sub>2</sub> -BEDARF DURCH EINE BEGASUNG ALS FUNKTION DES PERMEATFLUSSES DURCH EINE ZELLRETENTIONSSTUFE. ....	44
ABB. 3.6-12: VERSUCHSANLAGE FÜR DIE ZELLRETENTION VON <i>N. SALINA</i> MIT HYDRAULISCHER UND PNEUMATISCHER RÜCKSPÜLMÖGLICHKEIT; B-1 - RETENTATBEHÄLTER MIT ALGENLÖSUNG, B-2 - FILTRATBEHÄLTER, P-1 PROGRAMMIERBARE SCHLAUCHPUMPE MIT WECHSELBARER FÖRDERRICHTUNG, 1 – KERAMISCHE MONOKANAL ROHRMEMBRAN, 2 – RÜHRWERK, 3 – DRUCKLUFTZUFUHR MIT VORGESCHALTETEN STERILFILTER FÜR RÜCKSPÜLUNG, 4 – KOHLENSTOFFDIOXIDZUFUHR (10 BAR) FÜR RÜCKSPÜLUNG, 5 – 5,8W LED BELEUCHTUNG MIT ROTEN UND BLAUEN DIODEN 6 - PERMEATRÜCKFÜHRUNG. ....	45
ABB. 3.6-13: ERGEBNISSE EINES VERSUCHES ZUM MEMBRANFLUSS IN EINEM MIT <i>NANNOCHLOROPSIS SALINA</i> ANGEREICHERTEM FLUID. ....	46
ABB. 3.7-1: DER ERWEITERTE FLUID-KREISLAUF BESTEHEND AUS DEM PRIMÄREN PRODUKTIONS-KREISLAUF, DER PRODUKTIONSINTEGRIERTEN SEKUNDÄREN NÄHRSTOFFENTSORGUNG UND DER ENERGIERÜCKFÜHRUNG ÜBER BIOGAS UND ENERGIEWANDLUNG (BLOCKHEIZKRAFTWERK). ....	47

## TABELLENVERZEICHNIS

TAB. 3.1-1: BESCHREIBUNG DER ZENTRALEN KOMPONENTEN DES PRIMÄREN FLUID-KREISLAUFS FÜR DIE EXPERIMENTELLEN UNTERSUCHUNGEN AN PHOTOBIOREAKTOREN. ....	13
TAB. 3.2-1: MITTELWERTE FÜR GRUNDLEGENDE PROZESSVARIABLEN DES LANDMARK FLUID-KREISLAUFS. ....	17
TAB. 3.2-2: MITTELWERTE FÜR GRUNDLEGENDE PROZESSVARIABLEN IM FLUID-KREISLAUF FÜR KINGFISH, <i>SERIOLA LALANDI</i> , DER ERWIN SANDER ELEKTROAPPARATEBAU GMBH. ....	18
TAB. 3.3-1: LISTE DER ARTEN. ....	20
TAB. 3.4-1: ERGEBNISSE DER BESTIMMUNG DER NÄHRSTOFFAUFNAHME VON <i>NANNOCHLOROPSIS SALINA</i> BEI EINER ZUNAHME DER OPTISCHEN DICHTEN (SUBITEC SENSOR) UM EINE EINHEIT. ....	26
TAB. 3.4-2: ZUSAMMENSETZUNG DES MODIFIZIERTEN ASFW NACH BOUSSIBA. ES WURDE CaCl <sub>2</sub> AN STELLE VON CaCl <sub>2</sub> * 2 H <sub>2</sub> O VERWENDET; Fe-CITRAT * H <sub>2</sub> O WURDE AN STELLE VON FeCl <sub>3</sub> * 6 H <sub>2</sub> O UND Na <sub>2</sub> EDTA VERWENDET. ....	27
TAB. 3.4-3: VERSUCHSBEDINGUNGEN UND MESSWERTE FÜR DIE KULTIVIERUNGSEXPERIMENTE VON <i>N. SALINA</i> BEI VERSCHIEDENEN TEMPERATURREGIMEN IN EINEM SUBITEC 6 L FLACHBETT PHOTOBIOREAKTOR MIT LUFTHEBER. SOWEIT MÖGLICH SIND DIE WERTE ALS MINIMUM/ARITHMETISCHES MITTEL/MAXIMUM ANGEZEIGT. ....	27
TAB. 3.4-4: PRODUKTIVITÄT FÜR <i>NANNOCHLOROPSIS SALINA</i> BEI UNTERSCHIEDLICHEN SALZGEHALTEN IM FLUID DES SUBITEC FLACHBETT PHOTOBIOREAKTOR MIT LUFTHEBER. ....	31
TAB. 3.6-1: EIGENSCHAFTEN DER ZELLRETENTIONS-MEMBRAN. ....	46

# 1 ZUSAMMENFASSUNG

In modernen Fluid-Kreisläufen der landbasierten marinen Aquakultur ist ein Hauptaspekt die Schonung der Ressourcen. Produktionsintegrierte Photobioreaktoren mit Mikroalgen sind eine Möglichkeit, das Prozesswasser von gelösten Nährstoffen zu befreien. Mikroalgen sind photosynthetisch aktive Organismen, die die gelösten Nährstoffe in energetisch hochwertige und verwertbare Biomasse umwandeln, dem Kreislauf-Prozess überschüssiges Kohlenstoffdioxid entziehen und gleichzeitig essentiellen Sauerstoff an das Kreislauf-System abgeben. Neben dem Nährstoffrecycling haben Mikroalgen ein großes Potential als alternative Rohstofflieferanten für Lebensmittel, pharmazeutische Industrie, aber auch als Biokraftstoffe (Biomethan und Biodiesel). Das hier verfolgte Vorhaben fokussiert sich auf die Entwicklung eines neuen Verfahrens für die marine Aquakultur mit der Besonderheit der Nutzung verfügbarer Nährstoffe aus einem industriellen Lebensmittelproduktionsprozess (Aquakultur). Die Integration eines zweiten Produktionsprozesses (Mikroalgen) in den Basisproduktionsprozess (Fischproduktion) eröffnet die Möglichkeit des Recyclings und damit einer Verbesserung der Nachhaltigkeit bzw. der Umweltverträglichkeit in Aquakulturen.

Um Mikroalgen im Großmaßstab einsetzen zu können, wurde für die experimentellen Untersuchungen an unterschiedlichen Typen von Photobioreaktoren ein Fluid-Kreislauf als Belastungsstufe aufgebaut, in dem, als primärer Kreislauf, Fische gehalten werden. Der primäre Kreislauf erzeugt aquakulturtypische Nährstoffflüsse für den Betrieb der Photobioreaktoren, die in einem sekundären Kreislauf betrieben werden. Das Prozesswasser aus dem Primärkreislauf wird zum sekundären Kreislauf geführt, dort aufbereitet und dem Primärkreislauf wieder zugeleitet. Parallel dazu wurde die Leistungsfähigkeit von verschiedenen Mikroalgen, Prozesswasser aus der Aquakultur als Quelle für Nährstoffe zu nutzen untersucht. Die Wahl der Mikroalge für dieses Vorhaben fiel auf *Nannochloropsis salina* und ist begründet durch ihre Wachstumsfähigkeit in Prozesswasser sowie ihre relativ geringe Größe, die sie gegenüber den Scherkräften, wie sie in Photobioreaktoren, Rückhaltungsstufen und Ernteprozessen auftreten, stabiler<sup>1</sup> machen.

Die Laborarbeiten bei der Subitec GmbH lieferten die ersten Erkenntnisse über das Wachstumverhalten von *Nannochloropsis* in Flachplatten- Airlift Reaktoren. Zunächst wurden die methodischen Voraussetzungen für die Biomassebestimmung als Trockensubstanz in einem Kalibrierungsexperiment geschaffen. Die Produktivität von *N. salina* bei unterschiedlichen Produktionsbedingungen (Temperaturabhängigkeit und Zugabe von Eisen) wurde in einem 6 L Subitec Flat Panel-Airlift (FPA) Photobioreaktor experimentell ermittelt. Es zeigte sich, dass sich eine Zunahme der volumetrischen Produktivität sowohl mit steigenden Fluid-Temperaturen als auch durch eine Eisenzufuhr erzielen lässt. In der Versuchshalle der HTW wurde ein 120 L Photobioreaktors der Subitec GmbH aufgebaut. Langzeitversuche zeigten Wachstum und Ansprüche von *Nannochloropsis* in künstlichem Meerwasser und Prozesswasser aus der dafür aufgebauten Belastungsstufe.

Im Rahmen von Vorversuchen wurde die energetische sowie verfahrenstechnische Eignung eines Flotationsverfahrens als Erntestufe innerhalb einer produktionsintegrierten Mikroalgen-Anlage überprüft. In der Firma Sander durchgeführte Experimente zeigten, dass eine Abschäumung bzw. Flotation von Mikroalgen im technisch sinnvollen Maßstab nur mit einem Luft/Ozon-Gemisch machbar ist. In jedem Fall verbessert das produktionsintegrierte Verfahren des Photobioreaktors die Energiebilanz des primären Produktionskreislaufs dadurch, dass Prozessenergie und Hilfsstoffe für die Denitrifikation eingespart werden können. Gleichzeitig wird mit dem aus den Photobioreaktoren zurückgeführ-

---

<sup>1</sup> Vandanjon, L., Rossignol, N., Jaouen, P., Robert, J.M., Quemeneur, F., 1999: Effect of Shear on Two Microalgae Species. Contribution of Pumps and Valves in Tangential Flow Filtration Systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 63(1):1-9.

ten Prozesswasser, Sauerstoff in den primären Kreislauf überführt, was von Bedeutung für die Wirtschaftlichkeit des primären Produktionsprozesses ist bzw. die Nachhaltigkeit und Umweltverträglichkeit von landbasierten Aquakulturanlagen deutlich verbessert. Es konnte gezeigt werden, dass Kohlenstoffdioxid effektiv über den sekundären Produktionskreislauf aus dem Prozesswasser des primären Kreislaufs entfernt- und der Energiebedarf für eine Kohlenstoffdioxidgasung im Primärprozess gesenkt werden kann. Neben den vorläufigen Versuchen zur Algenflotation wurden weitere Untersuchungen zur Prozessoptimierung durchgeführt. Ein optimiertes Zellretentionsverfahren ist essentiell für eine hohe Biomasseproduktion sowie eine hohe Nährstoffelimination in Photobioreaktoren. Hierzu wurde ausgehend von Nährstoffdaten der Landmark Belastungsstufe eine erste abschätzende Modellierung eines Zellretentionsverfahrens durchgeführt. Die Modellierung dient einerseits als Basis für die Auslegung einer Zellretentionsmembran und andererseits als Grundlage für weitere Messprogramme. Im Labor konnten bereits erste Ergebnisse hinsichtlich einer Algenrückhaltung mittels Membranverfahren gewonnen werden. Demnach ist die Filterbarkeit der Mikroalge *Nannochloropsis salina* und die Machbarkeit des Membranverfahrens gegeben und muss in fortgeführten Experimenten weiter optimiert werden.

In einer ersten Machbarkeitsanalyse konnte das ökonomische Potential einer Bioerdgasproduktion in Kombination mit dem produktionsintegrierten Verfahren aufgezeigt werden.

Durch die Förderung dieses Projektes konnte ein erfolgversprechender Weg beschritten werden. In der ersten Projektphase konnten verschiedene Fragestellungen erfolgreich bearbeitet werden. An diese Ergebnisse kann in der folgenden zweiten Projektphase angeknüpft werden, in der sich die Arbeiten auf die Entwicklung eines funktionsfähigen Verfahrens fokussieren. Die Bislang erzielten Ergebnisse zeigen die Machbarkeit auf, sodass mit einer erfolgreichen Bearbeitung in der zweiten Projektphase gerechnet werden kann.

## 2 EINLEITUNG

Das in der Förderinitiative Aquakultur geförderte Projekt «Nährstoff-Recycling in landbasierten marinen Kreislaufanlagen durch die integrierte Produktion von Algenbiomasse» befasst sich mit der Entwicklung neuer biotechnologischer Konzepte und Verfahren, speziell zur Verbesserung der Umweltverträglichkeit und allgemein zur Verbesserung der Nachhaltigkeit von Aquakulturen.

Die Nachhaltigkeit der marinen Aquakultur wird durch die Verfahrenstechnik bestimmt, wobei die Verfahrenstechnik des «Fluid-Kreislaufs» in Zukunft einen besonderen Stellenwert einnehmen wird. Das Verfahren des «Fluid-Kreislaufs» ist von der Umwelt entkoppelt, so dass extreme meteorologische und hydrologische Bedingungen (Sturm, Wellen, Sturmfluten), industrielle (Ölunfälle, Kernreaktorunfälle) oder biogene Gefahren (z.B. Red Tides, hohe Primärproduktion, gelatinöses Plankton) nicht zu einer Beeinflussung der Produktionsbedingungen führen, die in konventionellen Verfahren der Aquakultur weder strukturell noch konstruktiv beherrscht werden können.

Insbesondere Ursache und Wirkungen der biogenen Gefahren müssen zu der Überlegung führen, die Produktionen aus ökologischen und ökonomischen Abwägungen in sichere Produktionsverfahren zu überführen. Die ökologischen Folgen von Aquakulturen sind vielfach beschrieben. Mittlerweile existieren regional erhebliche Risiken für Aquakulturen, die in Verbindung mit der Umwelt stehen. Zwei Beispiele zeigen die Problematik auf: (1) Habitatveränderungen durch Aquakulturen können die Entwicklung gelatinösen Planktons fördern<sup>2</sup>, das in unglücklichen Konstellationen die Fischpopulation in

---

<sup>2</sup> Zhijun Dong, Dongyan Liu, John K. Keesing, 2010: Jellyfish blooms in China: Dominant species, causes and consequences. Marine Pollution Bulletin 60:954–963

Netzgehegen<sup>3</sup> auslöschen kann. (2) Die primäre Planktonproduktion, selbst wenn es sich nicht um toxische Dinoflagellaten (Red Tide) handelt, kann zu einer Verknappung von Sauerstoff im Bereich von Aquakulturen<sup>4</sup> führen, wobei auch vermutet werden kann, dass die Zufuhr von Nährstoffen als Folge der Exkretion der Zuchttiere (Ammoniotelie), die Entwicklung des Phytoplanktons begünstigt. Die Gefahren sind also offensichtlich auch auf Kaskadeneffekte zurückzuführen, so dass nur die Entkoppelung der Aquakultur von der Umwelt die Sicherheit von Produktionssystemen wirklich verbessern kann.

Im Gegensatz zu technischen Gefahren (Kontaminationen, Havarien) erscheinen insbesondere die biologischen Gefahren für die konventionelle Aquakultur kaum beherrschbar. Vielfach handelt es sich dabei um irreversible ökologische Schäden als Folge anthropogener Eingriffe in natürliche Lebensräume. Diese Situation hat einen neuen, fragwürdigen Trend ausgelöst, die Offshore Aquakultur. Ein Ausweichen der Aquakultur auf den offenen Ozean vermindert ohne Frage die Risiken küstennaher Standorte, ist aber mit einer Reihe von weiteren Schwierigkeiten<sup>5</sup> behaftet, die auch Fragen der Zugänglichkeit (Extremwetterlagen), der Sicherheit von Schifffahrtswegen oder die Transportenergie umfassen. Aufgrund der kontinuierlichen Freisetzung von Organismen und Stoffen aus Aquakulturen, ist zu hinterfragen, ob Ozean-Aquakulturen überhaupt nachhaltig sein können. Auf kurzen Zeitskalen sind die Effekte nur schwer erkennbar, selbst wenn sie aus grundlegender wissenschaftlicher Erkenntnis systemimmanent und damit real sind.

Auf der anderen Seite sind «Fluid-Kreisläufe» moderner Bauart nahezu geschlossene Produktionssysteme, aus denen Stoffströme kontrolliert verwertet werden können. Das eröffnete die Möglichkeit des Recyclings und damit einer Verbesserung der Nachhaltigkeit. Ökosysteme werden bei dieser Form der Aquakultur vor Nährstoffeinträgen<sup>6</sup> geschützt. Die im Prozesswasser zirkulierenden Nährstoffe, Stickstoff (N) und Phosphor (P), global knappe Ressourcen<sup>7,8</sup>, können für die Produktion von Mikroalgen verwendet werden. Dazu wird hier das Verfahren des Photobioreaktors eingesetzt, welches eine bessere Effizienz gegenüber Tanksystemen<sup>9</sup> erwarten lässt. Dabei kann die Nutzung von Nährstoffen aus Abwässern die Wirtschaftlichkeit der Mikroalgenproduktion<sup>10,11</sup> verbessern. Hier wird ein zweiter Weg verfolgt. Durch die Koppelung der Produktionssysteme für Fisch und Mikroalgen wird nicht nur verwertbare Mikroalgen-Biomasse produziert, der autotrophe Produktionsprozess trägt gleichzeitig zur Wasseraufbereitung (Nährstoffelimination) in der Fischproduktion bei; Abwasser wird vermieden, die Umweltverträglichkeit der Aquakultur verbessert.

---

<sup>3</sup> Ulf Båmstedt, Jan Helge Fosså, Monica B. Martinussen & Audun Fosshagen, 1998: Mass Occurrence Of The Physonect Siphonophore *Apolemia Uvaria* (Lesueur) In Norwegian Waters. *Sarsia*. 83:79-85

<sup>4</sup> Takashi Yoshikawa, Osamu Murata, Ken Furuya, Mitsuru Eguchi, 2007: Short-term covariation of dissolved oxygen and phytoplankton photosynthesis in a coastal fish aquaculture site. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 74:515-527

<sup>5</sup> Mark J. Kaiser, Brian Snyder, Yunke Yu, 2011: A review of the feasibility, costs, and benefits of platform-based open ocean aquaculture in the Gulf of Mexico. *Ocean & Coastal Management* 54:721-730.

<sup>6</sup> Julio A. Camargo, Álvaro Alonso, 2006: Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, 32(6):831-849

<sup>7</sup> David A. Vaccari, 2009: Phosphorus Famine: The Threat to Our Food Supply. *Scientific American Magazine*, June 3, 38

<sup>8</sup> Philip H. Abelson, 1999: A Potential Phosphate Crisis, *Science* 283(5410):2015

<sup>9</sup> Pierre Collet, Arnaud Hélias, Laurent Lardon, Monique Ras, Romy-Alice Goy, Jean-Philippe Steyer, 2011: Life-cycle assessment of microalgae culture coupled to biogas production. *Bioresource Technology* 102:207–214

<sup>10</sup> Chang Duk Kang, Jin Young An, Tai Hyun Park, Sang Jun Sima, 2006: Astaxanthin biosynthesis from simultaneous N and P uptake by the green alga *Haematococcus pluvialis* in primary-treated wastewater. *Biochemical Engineering Journal* 31:234–238

<sup>11</sup> Luis F. Razon, Raymond R. Tan, 2011: Net energy analysis of the production of biodiesel and biogas from the microalgae: *Haematococcus pluvialis* and *Nannochloropsis*. *Applied Energy* 88:3507-3514.



Mikroalgen sind auf ganz unterschiedliche Weise verwertbar: Sie können wertvolle Rohstoffe liefern, können für die Herstellung von Biotreibstoffen verwendet oder auch unmittelbar einer Energiewandlung zugeführt werden:

### Lebensmittelproduktion

Aquakultur Essentielle Fettsäuren Astaxanthin Lebendfutter Fischfutter Proteine	Patil V, Kallqvist T, Olsen E, Vogt G, Gislerod HR., 2007: Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. <i>Aquaculture International</i> , 15:1–9. Reitan, K. I., Rainuzzo, J. R., Øie, G., and Olsen, Y., 1997: A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae. <i>Aquaculture</i> , 155, 207–221 Jaime Fabregas and Conception Herrero, 1986: Marine microalgae as a potential source of minerals of fish diets. <i>Aquaculture</i> , 51 (1986) 237–243
--	--

### Industrie

Kosmetika	Stolz, P. and Obermayer, B.: Manufacturing microalgae for skin care. <i>Cosmetics Toiletries</i> , 120, 99–106 (2005).
Feinchemikalien	Rosignol, N., Lebeau T., Jaouen P., Robert J. M., 2000: Comparison of two membrane photobioreactors, with free or immobilized cells, for the production of pigments by a marine diatom. <i>Bioprocess Engineering</i> 23, 495-501
Biotreibstoffe	Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. Teresa M. Mata, Antonio A. Martins, Nidia. S. Caetano <i>Renewable and Sustainable Energy Reviews</i> 14 (2010), 217–232 Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products Liam Brennan, Philip Owende <i>Renewable and Sustainable Energy Reviews</i> 14 (2010) 557–577

### Medizin/Pharmazeutische Anwendungen

Immunstimulanzien	Kube N. und Waller U., 2003: Blaue Biotechnologie: Stand und Perspektiven der marinen Naturstoffe. <i>Studien der Technologiestiftung Schleswig-Holstein</i> 23
Tumor-Therapie	
Diagnostika	

### Ernährung

Essentielle Fettsäuren	Owen P. Ward , Ajay Singh, 2005: Omega-3/6 fatty acids: Alternative sources of production. <i>Process Biochemistry</i> , 40:3627–3652
Nahrungsergänzung	Guerin, M., Huntlea, M.E. and Olaizola, M., 2003: <i>Haematococcus</i> astaxanthin: applications for human health and nutrition. <i>TRENDS in Biotechn.</i> 21,;210-216.
Functional Food	L. Gouveia , B.P. Nobre, F.M. Marcelo, S. Mrejen, M.T. Cardoso, A.F. Palavra b, R.L. Mendes, 2007: Functional food oil coloured by pigments extracted from microalgae with supercritical CO <sub>2</sub> . <i>Food Chemistry</i> 101:717–723

### Energieträger

Biodiesel	Lixian Xu, Derk W.F. (Wim) Brilman, Jan A.M. Withag, Gerrit Brem, Sascha Kersten, 2011: Assessment of a dry and a wet route for the production of biofuels from microalgae: Energy balance analysis. <i>Bioresource Technology</i> 102:5113-5122
-----------	--

### Umwelt

CO <sub>2</sub> -Recycling	Michele Greque de Morais, Jorge Alberto Vieira Costa, 2007: Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. <i>Energy Conversion and Management</i> 48:2169–2173
Abwasserreinigung	Shi J, Podola B, Melkonian M., 2007: Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study. <i>Journal of Applied Phycology</i> , 19:417–23 Luz E. de-Bashan, Yoav Bashan, 2010: Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects <i>Bioresource Technology</i> 101:1611–1627
Schwermetallabsorption	Romera E, Gonzalez F, Balleste A, Blazquez ML, Munoz JA., 2008: Biosorption of Cd, Ni, and Zn with mixtures of different types of algae. <i>Environmental Engineering Science</i> , 25:999–1008.

In nächster Zukunft wird die kommerzielle Produktionslage der Meeresfischzucht (MFV) in Betrieb gehen, die eine Jahresproduktion von 500 Tonnen Fisch anstrebt. Ein Ziel in Völklingen ist es, eine Brutanstalt für Larvenstadien und Jungfische neuer Arten, d.h. Arten, die nicht standardmäßig für die Aquakultur verfügbar sind, aufzubauen. Für dieses Vorhaben ist eine sichere Versorgung mittels Mikroalgen unabdingbar. Mikroalgen bilden die Basis des marinen Nahrungsnetzes und sind eine vornehmliche Quelle von essentiellen Fettsäuren (EFAs) in der Aquakultur. Sie werden in einer höheren Trophiestufe unter anderem von Rädertierchen (Zooplankton) aufgenommen. Die Fettsäuren gewährleisten z. B. die Fruchtbarkeit und das Wachstum von Zooplanktonarten<sup>12,13</sup>, welche wiederum, wie die Rädertierchen der Gattung *Brachionus*, in vielen Aufzuchtstadien für den Transfer von essentiellen Fettsäuren in die Fischlarven eingesetzt werden. Renaud und Perry<sup>14</sup> konnten in ihren Experimenten nachweisen, dass sich ein erhöhter Salzgehalt (20-30 PSU) positiv auf den Gesamtlipidgehalt und den Gehalt an essentiellen Fettsäuren (EFAs) wie 20:5 (n-3) und/oder 22:6 (n-3) in Mikroalgen auswirkt.

Das hier verfolgte Vorhaben fokussiert sich auf die Entwicklung eines neuen Verfahrens für die marine Aquakultur mit der Besonderheit der Nutzung verfügbarer Nährstoffe aus einem industriellen Lebensmittelproduktionsprozess (Aquakultur). Das anhaltend starke Wachstum der Aquakultur dient der Versorgung der weiter wachsenden Weltbevölkerung mit Nahrungsmitteln. Durch die Integration eines zweiten Produktionsprozesses (Mikroalgen) in den Basisproduktionsprozess (Fischproduktion), werden Biomassen in Koppel- und Kaskadennutzungen hergestellt. Dieses Nutzungskonzept ist aufgrund der zunehmenden globalen Verknappung von Ressourcen eine in vielen Bereichen vorrangig zu verfolgende Zukunftsstrategie und wird in diesem Projekt erstmalig für landbasierte Produktionsanlagen für die marine Aquakultur demonstriert.

---

<sup>12</sup> Levine, D.M., Sulkin, S.D., 1984: Nutritional significance of longchain polyunsaturated fatty acids to the zoel development of the Brachyuran crab, *Eurypanopeus depressus*. J. Exp. Mar. Bio., 211-223

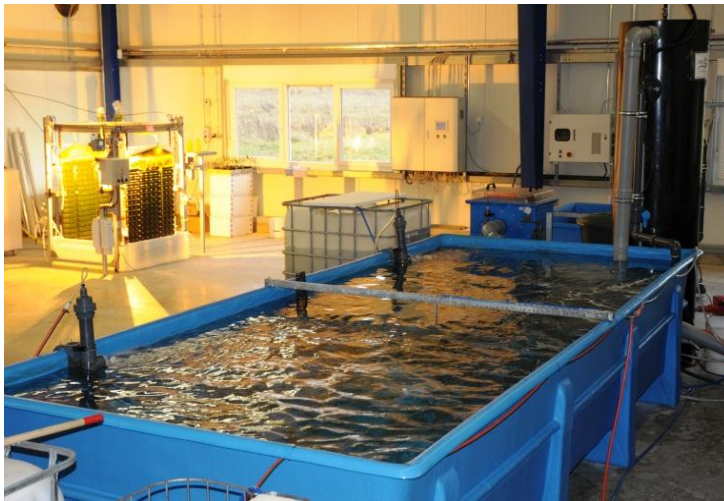
<sup>13</sup> Enright, C.T. et al. 1986: Evaluation of Phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis*. J. Exp. Mar. Bio., 1-13

<sup>14</sup> Renaud, S.M., Parry, D.L. 1994: Microalgae for use in tropical aquaculture II: Effect of salinity and growth, gross chemical composition and fatty acid composition of three species of marine microalgae. J. Appl. Phycol., 347-356

## 3 HAUPTTEIL

### 3.1 Aufbau eines Fluid-Kreislaufs als Belastungsstufe [AP1]

Für die experimentellen Untersuchungen an unterschiedlichen Typen von Photobioreaktoren musste ein Fluid-Kreislauf als Belastungsstufe aufgebaut werden, in dem, als primärer Kreislauf, Fische gehalten werden sollten. Der primäre Kreislauf sollte aquakulturtypische Nährstoffflüsse für den Betrieb der Photobioreaktoren erzeugen, die in einem sekundären Kreislauf betrieben werden sollten. Das Prozesswasser aus dem primären Kreislauf sollte zum sekundären Kreislauf geführt, dort aufbereitet



**Abb. 3.1-1:** Der Fluid-Kreislauf in der Forschungshalle in Völklingen. Im Hintergrund die Wasseraufbereitung, im Vordergrund der Haltungstank, links der Subitec Photobioreaktor.

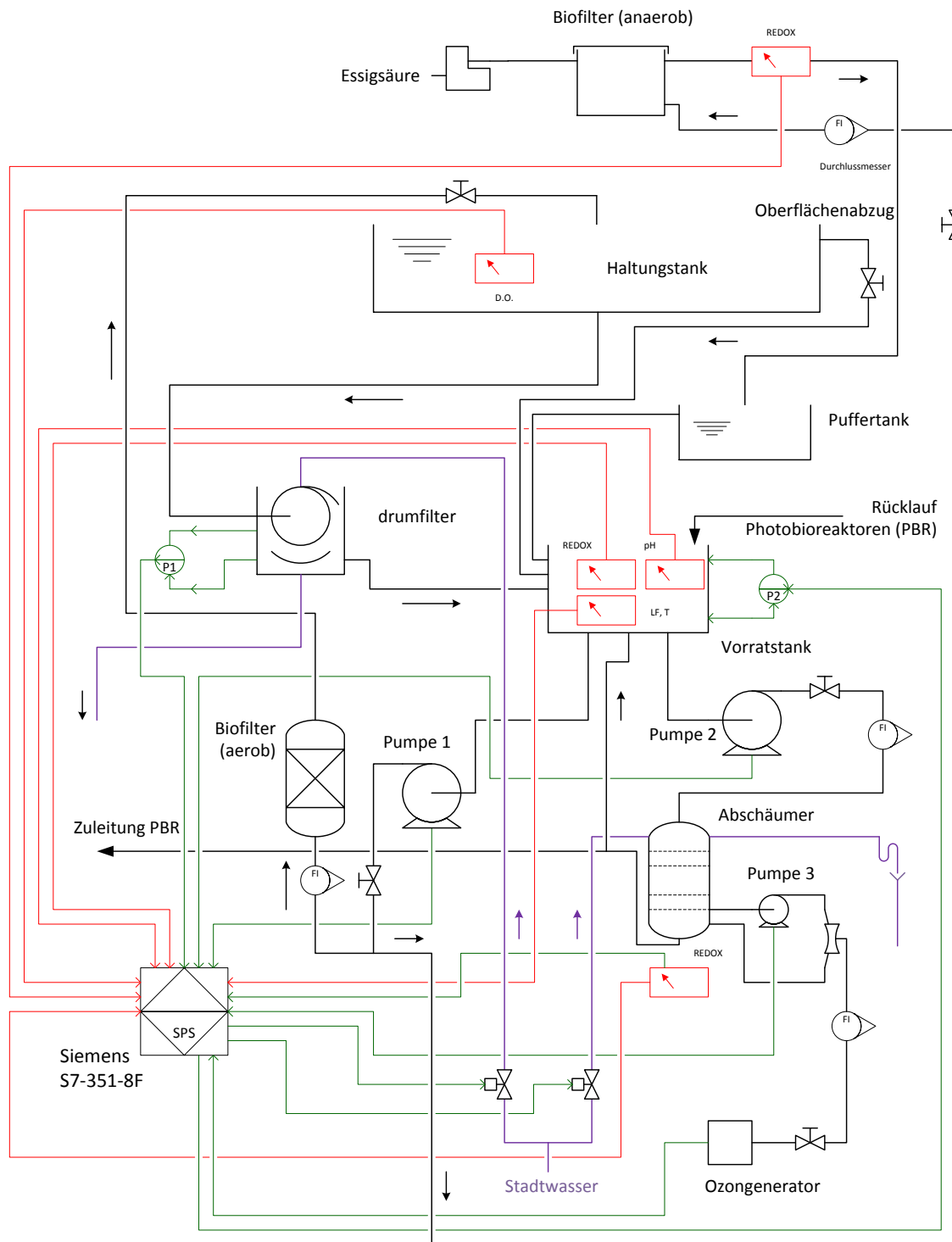
und dem Primärkreislauf wieder zugeleitet werden.

Der Aufbau des Fluid-Kreislaufs wurde in enger Zusammenarbeit mit dem Institut für Physikalische Prozesstechnik der HTW (IPP) durchgeführt. Das Projekt hatte zu dieser Zeit noch keinen Mitarbeiter, sodass die Arbeiten von Mitarbeitern des IPP durchgeführt wurden. Dadurch war es möglich, den primären und sekundären Kreislauf nicht nur mit den notwendigen Basis-komponenten auszustatten, sondern auch, den Anlagenbetrieb zu automatisieren. Die Vorgehensweise war streng systematisch, um Biologen,

Ingenieure und insbesondere Studenten bzw. Examenskandidaten auf dem gleichen Wissensstand zu halten. Das Lastenheft war der erste Schritt, das neben Fließbild, Aufstellungsplan und Beschreibung der einzelnen Komponenten auch biologische und hydrodynamische Berechnungen, Grenzwerte und eine grundlegende Beschreibung der Automatisierung umfasste. Es war Grundlage für die Auswahl und Beschaffung der Komponenten und für die Aufstellung des Pflichtenhefts, das alle Arbeiten, die auch durch Studierende der HTW als Examensarbeiten durchgeführt wurden, umfasste. Unterstützung erhielt das Projekt durch die Mitarbeit von Fulvio Mafucci, einem Gastwissenschaftler der Biologischen Station Anton Dohrn in Neapel, der zwei Monate in der Forschungshalle Völklingen mitarbeitete. Für die Beschaffung der Komponenten und die Ausführung der Arbeiten wurden in deutlichem Umfang Mittel über ein paralleles Projekt, ARTESS<sup>15</sup>, eingesetzt. Ohne diese zusätzlichen Projektmittel hätte der Fluid-Kreislauf nicht in der geplanten Form aufgebaut werden können.

Der Salzwasser-Fluid-Kreislauf in der Forschungshalle in Völklingen konnte im März 2011 in Testbetrieb genommen werden. Zu diesem Zeitpunkt waren zunächst nur die absolut notwendigen Kontrollinstrumente und Regelkreise implementiert. Der Testbetrieb diente einerseits der Erprobung der Anlage, andererseits der Konditionierung des nitrifizierenden Biofilters, der während der Testphase mit gelösten Nährstoffen (suspendierte Futterpellets) belastet wurde. Im weiteren Verlauf wurde die Automatisierung vorangetrieben. Der Aufbau und die Automatisierung des Fluid-Kreislaufs sind in Abb. 3.1-2 dargestellt. Die Komponenten des Fluid-Kreislaufs sind in Tab. 3.1-1 zusammengestellt und grundlegend beschrieben.

<sup>15</sup> ARTESS: Automatisierung von kreislaufgeführten Prozessen. Initialförderung im Bereich Automatisierung (Projektleitung: Prof. Dr. B. Faupel und Prof. Dr. U. Waller) durch die Hochschule für Technik und Wirtschaft des Saarlandes.



**Abb. 3.1-2: Fließbild des primären Fluid-Kreislaufs als Belastungsstufe für die experimentellen Untersuchungen mit unterschiedlichen Photobioreaktoren.**

Der Fluid-Kreislauf mit einem Volumen von  $\approx 10.1 \text{ m}^3$  besteht aus einem Produktionsbecken, das mit der Prozesswasseraufbereitung verbunden ist. Der Einlauf für das aufbereitete Prozesswasser ist an der Wasseroberfläche montiert, der Auslauf ist zentral am Beckenboden eingebaut. Zusätzlich gibt es ein in der Beckenwand montiertes Überlaufrohr (Skimmer), das über eine Leitung direkt mit dem Vorratsbehälter verbunden ist. Im Normalbetrieb fließt das Wasser durch die Abflussleitung am Beckenboden in den Trommelfilter. Die Höhe des Einlaufs am Trommelfilter bestimmt den Wasserpegel



**Abb. 3.1-3:** Der Fluid-Kreislauf in der Forschungshalle Völklingen. Im Vordergrund der Abschäumer, im Hintergrund der SUBITEC Photobioreaktor.

im Fischbecken. Nach der ersten mechanischen Filtration im Trommelfilter, die der Abscheidung größerer Partikel dient ( $> 40 \mu\text{m}$ ), wird das Prozesswasser zu einem Vorratsbehälter geführt. Aus dem Vorratsbehälter wird das Prozesswasser mittels einer Pumpe dem Abschäumer zur Feinfiltration zugeführt, wo es zusätzlich mit Ozon behandelt wird. Die Dosierung von Ozon, welches vor Ort in einem Ozongenerator hergestellt wird, erfolgt mittels der Messung des Redox-Potentials.

Die Hauptförderpumpe fördert das physikalisch/chemisch aufbereitete Prozesswasser zum aeroben, nitrifizierenden Biofilter, von wo es frei über ein Strahlrohr zurück in den Fischtank fällt. Im Fischtank wird damit eine zirkuläre Grundströmung angeregt. Im Fischtank wird zusätzlich mittels eines Lufthebers Wasser am Boden angesaugt, belüftet und mit einem

Strahlrohr an der Oberfläche zur Strömungsinduktion abgeleitet. Damit wird das Prozesswasser mit Sauerstoff versorgt. Ein zweiter, identischer Heber wird unabhängig von der Anlage als Notsystem kontinuierlich im Fischtank betrieben.

**Tab. 3.1-1:** Beschreibung der zentralen Komponenten des primären Fluid-Kreislaufs für die experimentellen Untersuchungen an Photobioreaktoren.

Bezeichnung	Beschreibung
Fischbecken	Das Fischbecken ist aus GFK gefertigt und hat die Dimensionen (LxBxH) von 5.07 x 2.02 x 0.7 m (7.1 m <sup>3</sup> ). Die Ecken sind abgerundet. In der Mitte am Boden befindet sich ein zentraler Wasserablauf, der mit einem Standrohr verbunden ist, so dass der Wasserstand innerhalb des Fischbeckens eingestellt werden kann.
Trommelfilter	HYDROTEC Trommelfilter mit Kunststoff-Filtergaze. Das Prozesswasser wird druckfrei filtriert. Die Reinigung der Filtergaze erfolgt durch Rückspülung mittels eines Düsenystems bei drehender Trommel. Die Schlämme werden in einer Spülrinne aufgefangen und können gezielt entsorgt werden.  Hersteller: Hydrotec Typ: HDF501-1P in GRP Wasserfluss typisch: 7.2 m <sup>3</sup> /h bei 25 mg/l suspended solids. Wasserfluss maximal: 15 m <sup>3</sup> /h Filterporengröße: 40 $\mu\text{m}$ Elektrischer Anschluss: 3x380-415V, 50Hz
Vorratsbehälter	Der Vorratsbehälter ist aus GFK gefertigt und hat die Dimensionen (LxBxH) von 1.79 x 0.68 x 0.5 m (0.61 m <sup>3</sup> ). Der Wasserstand im Behälter wird durch eine Pegelsonde (1/0) über die SPS überwacht und bei Niedrigstand die an den Vorratsbehälter angeschlossenen Pumpen ausgeschaltet.
Puffertank	Der Puffertank nimmt bei Anlagenstillstand das Restwasservolumen auf, das nicht im Sammelbehälter gespeichert werden kann. Er hat die Dimensionen (LxBxH) von 1.15 x 0.96 x 0.66 m (0.73 m <sup>3</sup> ).

Bezeichnung	Beschreibung
Pumpe 1	Kreiselpumpe aus Kunststoff, Fabrikat BADU 44/4. Maximale Fördermenge 21 m <sup>3</sup> bei 2.2 m Förderhöhe (gemessene Fördermenge).
Abschäumer	<p>Der Abschäumer dient der Entfernung (Filterung) feiner partikulärer Substanz. Die grundlegende Funktionsweise ist die Aufbereitung des Wassers im Gegenstrom mit einem Luft/Ozon-Gemisch. Die Zufuhr des Luft/Ozongemisches erfolgt durch einen Venturi Injektor. Durch die Luft/Ozon-Zugabe entsteht an der atmosphärischen Grenzfläche aus oberflächenaktiven Substanzen Schaum, an dem Partikel anhaften. Das Filtersubstrat sind also Luft bzw. Ozonblasen mit einer organischen Grenzflächenmembran zwischen Luft/Gasraum und Fluid (Prozesswasser). Die Abfuhr des Schaums und der Partikel erfolgt über einen Schaumauffangbehälter nach Übertritt des wasserhaltigen Schaums an der Oberkante eines Schaumsammelrohrs. Der Prozesswasser-Auslauf erfolgt druckfrei.</p> <p>Hersteller: Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH  Typ: Helgoland 500  Nennhöhe HN 2000 mm  Wasserdurchsatz 11 m<sup>3</sup>/h  Verweilzeit 1.5 min  Eingesaugte Luftmenge 5 m<sup>3</sup>/h  Wasserinhalt 270 l</p>
Ozongenerator	<p>Ozongenerator: Ozon wird durch den sogenannten Corona-Effekt erzeugt. Luft oder Sauerstoff wird zwischen zwei Elektroden geführt. Elektrische Entladungen erzeugen das Ozon aus den Sauerstoffmolekülen. Das Ozon wird dem Abschäumer zugeführt. Die Menge des zugeführten Ozons kann durch die Messung des REDOX-Potentials im Prozesswasser geregelt werden, da die Zuführung von Ozon das REDOX-Potential im Wasser anhebt. Als Regelalgorithmus kann eine nicht-lineare Regressionsgleichung, die den Zusammenhang zwischen der Ozonkonzentration und dem REDOX-Potential beschreibt, verwendet werden.</p> <p>Hersteller: Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH  Typ: Multizon 5</p>
Pumpe 2	Kreiselpumpe aus Kunststoff, Fabrikat BADU 21/40 53. Maximale Fördermenge 21 m <sup>3</sup> /h bei 2 m Förderhöhe (Herstellerangabe).
Biofilter (aerob)	<p>Der Biofilter dient der Entgiftung des Prozesswassers. Giftiges Ammoniak, das Hauptexkretionsprodukt von aquatischen Organismen, wird in Nitrat umgesetzt. Der Biofilter ist ein umschlossener Reaktionsraum, in dem ein Trägermaterial (Füllkörper) mit einem spezifischen Gewicht nahe dem des Prozesswassers als Aufwuchsfläche für Bakterien bewegt wird. Die Bakterien wandeln den in das Wasser exkretierten Ammoniumstickstoff in Nitratstickstoff um, der in erster Näherung als nicht toxisch angenommen werden kann. Die Bewegung der Biokörper erfolgt mittels eines Luftstroms (Luftblasen) aus einer Düse am Boden des Biofilters. Der Biofilter ist aus PE/PP gefertigt und verschweißt. Es werden Füllkörper der Fa Kaldness verwendet.</p> <p>Abmessungen:  Durchmesser 0.7 m  Gesamthöhe 2.5 m  Auslaufhöhe 2.2 m  Volumen 0.85 m<sup>3</sup></p>
Biofilter (anaerob)	<p>Der anaerobe Biofilter dient der Entfernung des Nitratstickstoffs (Denitrifikation). Konstruktiv ist die Denitrifikation als Festbettfilter ausgeführt und wird im Nebenstrom zum aeroben Biofilter mit einem geringen Prozesswasserfluss betrieben. Als Kohlenstoffquelle wird Essigsäure in den Zulauf dosiert, die einerseits den mikrobiellen Abbau des im Wasser gelösten Sauerstoffs fördert, andererseits ist sie die Kohlenstoffquelle für die Denitrifikanten (Bakterien). Während des Experimentes sichert die Denitrifikation die Stickstoffentfernung, wenn nicht ausreichend Stickstoff in den Photobioreaktoren festgelegt werden kann.</p>





**Abb. 3.1-5:** Blick in den Haltungstank mit 2000 juvenilen Wolfsbarschen kurz nach dem Besatz. Die Besatzdichte bezogen auf das Volumen des Haltungstanks betrug  $1.7 \text{ kg/m}^3$ .

Der Trommelfilter und der Abschäumer werden beim momentanen Stand der Ausrüstung noch mit



**Abb. 3.1-4:** Die Calciumhydroxid-Dosierung.

Stadtwasser rückgespült, um die aus dem Prozesswasser entfernten Partikel abzutransportieren. Die Druckpumpen für eine Erweiterung der Anlagen sind vor Ort, können aber aufgrund fehlender Mittel nicht angeschlossen werden. Es bestehen Kontakte zu Unternehmen, die an einer Zusammenarbeit interessiert sind und eventuell fehlende Komponenten zur Verfügung stellen werden.

Der Trommelfilter wird zeitlich kontrolliert und in Abhängigkeit vom Pegelstand gespült, die Spülung des Abschäumers erfolgt zeitgesteuert. Im Haupttank sowie im Vorratsbehälter sind Sonden für die Messung des pH-Werts, des Redox-Potentials, der Leitfähigkeit und der Konzentration von gelöstem Sauerstoff eingebaut. Die Wassertemperatur wird als sekundäre Messgröße der Leitfähigkeitssonde erfasst. Die analogen Messsignale werden über Analog-Digitalwandler an eine SIEMENS

speicherprogrammierbare Steuerung (SPS) übergeben. Die SPS nimmt zusätzlich die binären Signale der Pegelsonden im Trommelfilter sowie im Vorratsbehälter auf. Im Nebenstrom ist zusätzlich ein Denitrifikationsfilter eingebaut, der mit Essigsäure als organisches Substrat betrieben werden kann. Bislang konnte dieser Filter noch nicht aktiviert werden, da notwendige Dosierpumpen fehlten. Die Dosierung der Essigsäure soll später in Abhängigkeit vom im Auslauf gemessenen Redox-Potential über die SPS erfolgen. Die Regulation des pH-Wertes im Prozesswasser erfolgt zurzeit mittels Calciumhydroxid-Dosierung (Kalkmilch). Sinkt der pH-Wert aufgrund der Kohlenstoffdioxidausscheidung der Fische unterhalb des festgelegten Wertes von  $\text{pH}_{\text{Soll}} \geq 7.4$ , wird Kalkmilch über eine Membranpumpe zu dosiert.

Die Automatisierung des Fluid-Kreislaufs ist mittlerweile in den Grundoperationen abgeschlossen und die Funktionen sind überprüft worden. Der nächste Schritt ist die Konkretisierung eines Prozessleitsystems zum Führen der verfahrenstechnischen Anlagen in der zweiten Projektphase. Das Leitsystem besteht aus prozessnahen Komponenten (PNK) und Bedien- und Beobachtungsstationen (BuB), die mit Mitteln eines Interreg-Projektes beschafft werden konnten. Das Prozessleitsystem wird nach aktueller Planung folgende Routinen beinhalten:

PNK zur Steuerung von Aktoren und Aufnahme der Messwerte

- (1) Alarmsystem
- (2) Anlagenvisualisierung
- (3) Messwertvisualisierung
- (4) Technische Diagnosemöglichkeiten
- (5) Datenschnittstellen zu externen Systemen
- (6) Recheneinheiten für anspruchsvollere Regelungstechnik
- (7) Systeme zur Datensicherung.

Hard- und Software werden durch das Labor «Automatisierung» der HTW unter der Leitung von Prof. Faupel implementiert. Weitere Ziele, die in der zweiten Projektphase in Zusammenarbeit mit Unternehmen verfolgt werden sollen, sind der

- (1) Abbau von Unvorhersagbarkeit durch Datenanalyse
- (2) Erkennen von Ursachen für fehlerhafte Prozesse
- (3) Formalisieren des «Produktionswissens»
- (4) Unterstützung bei der Prozessführung
- (5) Exakte Kapazitätsanalyse durch Monitoring der Produktionsdaten.



### 3.2 Analyse der spezifischen Kultivationsbedingungen [AP 2]

Der vollständig automatisierte Fluid-Kreislauf (10 m<sup>3</sup>) für die Bereitstellung der gelösten Nährstoffe läuft seit Mai 2011 mit einem Fischbesatz, *Dicentrarchus labrax*, in der Forschungshalle Völklingen. Der primäre Kreislauf (Fluid-Kreislauf) hat die Aufgabe, aquakulturtypische Nährstoffflüsse für den Betrieb der Photobioreaktoren als sekundären Kreislauf aufzubauen. Das mit Nährstoffen beaufschlagte Prozesswasser aus dem primären Kreislauf wird am Auslass des Abschäumers zum sekundären Kreislauf geführt und in den sekundären Komponenten, den produktionsintegrierten Photobioreaktoren, aufbereitet. Danach wird es wieder dem Primärkreislauf zugeleitet.

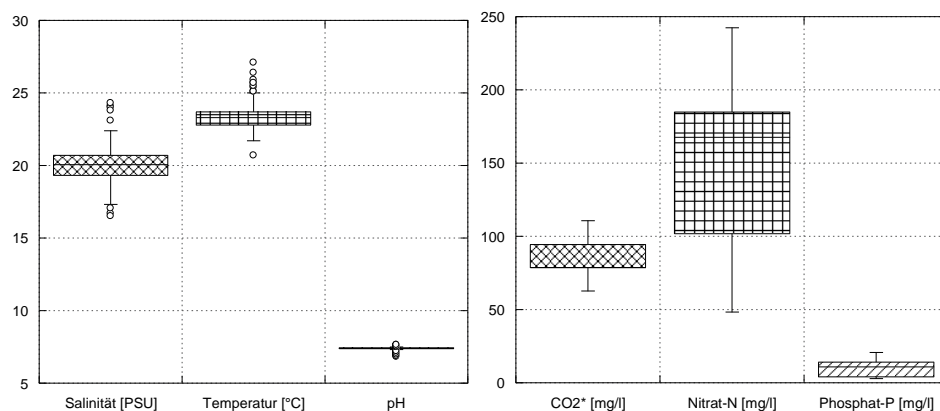


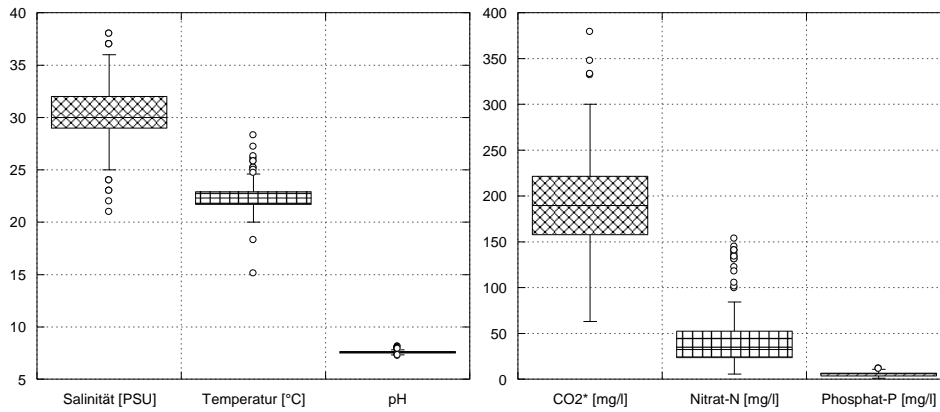
Abb. 3.2-1: Prozessvariablen im LANDMARK Fluid-Kreislauf für Wolfsbarsche, *Dicentrarchus labrax*.

Seit Inbetriebnahme des Fluid-Kreislaufs wurden die grundlegenden Prozessvariablen in der experimentellen Anlage kontinuierlich gemessen. Im Haupttank sowie im Vorratsbehälter sind Messsonden für die Erfassung des pH-Werts, des REDOX-Potentials, der Leitfähigkeit und der Konzentration von gelöstem Sauerstoff eingebaut. Die Wassertemperatur wird als sekundäre Messgröße der Leitfähigkeitssonde erfasst. Die analogen Messwerte werden über Analog/Digitalwandler an die speicherprogrammierbare Steuerung (SPS) übergeben, sodass ein kontinuierliches Datenlogging sowie eine Archivierung der Daten erfolgt. Parallel dazu wurde in regelmäßigen Messphasen die Konzentration von Ammonium/Ammoniak, Nitrit, Nitrat sowie Phosphat im Fluid des primären Kreislaufs kolorimetrisch erfasst. Ergänzend zu der photometrischen Verfahrensweise wurde im Januar 2012 ein C/N-Analysengerät für Flüssigproben kalibriert und in Betrieb genommen, der das komplette Kohlenstoff- und Stickstoffspektrum erfasst (TN, TIC, TOC und TC). Im Februar 2012 wird zusätzlich ein Flow-Injection Analyser für die Erfassung von Nitrit und Ammonium zur Verfügung stehen, um die genauen Stoffflüsse zu verfolgen und zu analysieren. Die Abb. 3.2-1 und Tab. 3.2-1 geben einen Überblick über die Prozessvariablen Salzgehalt, Wassertemperatur, pH-Wert, Kohlenstoffdioxid-Angebot (CO<sub>2</sub>\*= physikalisch gelöster sowie anorganisch gebundener Kohlenstoff) sowie die Stickstoff- und Phosphatkonzentrationen in der LANDMARK-Anlage.

Tab. 3.2-1: Mittelwerte für grundlegende Prozessvariablen des LANDMARK Fluid-Kreislaufs.

	Salzgehalt [PSU]	Temperatur [°C]	pH	CO <sub>2</sub> * [mg/l]	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N [mg/l]	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> [mg/l]
<b>Mittelwert</b>	<b>20.05</b>	<b>23.39</b>	<b>7.37</b>	<b>80.73</b>	<b>145.87</b>	<b>10.54</b>
<b>σ</b>	<b>1.3</b>	<b>0.9</b>	<b>0.1</b>	<b>11.5</b>	<b>58.7</b>	<b>5.9</b>

Optisch ist das Prozesswassers ohne Trübung und Färbung. Die Fische zeigen bei einer Besatzdichte von ca. 20 kg/m<sup>3</sup> spontanes Verhalten und ordnen sich in Schwarmstrukturen an. Die verhaltensbiologischen Beobachtungen zeigen keine Auffälligkeiten, das Fressverhalten ist rigoros, was typisch für Fische ist.



**Abb. 3.2-2: Prozessvariablen im Fluid-Kreislauf für Kingfish, *Seriola lalandi*, der Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH.**

Weitere Messwerte wurden im Prozesswasser einer semi-kommerziellen Kreislaufanlage mit dem Fisch *Seriola lalandi* bei der Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH in Uetze/Eltze erhoben (Abb. 3.2-2, Tab. 3.2-2). Sie sind Vergleichswerte für die typische Belastung in Produktionssystemen. Der allgemeine Aufbau dieser Kreislaufanlage inklusive der Komponenten der Wasseraufbereitung ist in erster Näherung identisch zur Völklinger Forschungsanlage. Die Größe des Biofilters, die Parallelschaltung einer Denitrifikationsstufe sowie eine höhere Besatzdichte mit Kingfish, *Seriola lalandi*, weichen hingegen von den Bedingungen in Völklingen ab. Die Tab. 3.2-2 gibt eine Übersicht über die Prozessvariablen Salzgehalt, Wassertemperatur, pH-Wert, Kohlenstoffdioxid-Angebot sowie die Stickstoff- und Phosphatkonzentrationen.

**Tab. 3.2-2: Mittelwerte für grundlegende Prozessvariablen im Fluid-Kreislauf für Kingfish, *Seriola lalandi*, der Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH.**

	Salinität [PSU]	Temperatur [°C]	pH	CO <sub>2</sub> * [mg/l]	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N [mg/l]	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> [mg/l]
<b>Mittelwert</b>	<b>30.37</b>	<b>22.66</b>	<b>7.55</b>	<b>199.02</b>	<b>48.46</b>	<b>6.39</b>
<b>σ</b>	<b>3.2</b>	<b>1.4</b>	<b>0.1</b>	<b>49.2</b>	<b>34.6</b>	<b>2.3</b>

Mikroalgen ändern ihre zelluläre, biochemische Zusammensetzung in Abhängigkeit von auftretenden Umweltbedingungen (Prozessparameter) und zeigen unter artspezifischen Bedingungen ein optimales Wachstum. Dies impliziert vorrangig das Nährstoff-Angebot, das Licht, die Temperatur sowie den Salzgehalt im umgebenden Medium (Brown et al. 1989, Roessler 1990). Anhand von Literaturdaten lassen sich für *Nannochloropsis salina* folgende spezifische Optimalbereiche festlegen. Bei einem Salzgehalt von 20-31 PSU, einer Temperatur von 19-26 °C und einem pH von 7.4-7.8 lassen sich hohe Zelldichten sowie eine gute Wachstumsrate erzielen. Die aktuellen Prozessvariablen sowohl aus der LANDMARK- als auch aus der KINGFISH-Anlage erfüllen diese elementaren Kriterien. Für die Aquakul-

tur ist die Mikroalge *N. salina* aufgrund der hohen Qualität der Biomasse (hohe Konzentration von zellulärer Eicosapentaensäure) und ihrem immensen Adaptationspotential von großer Bedeutung.

In nächster Zukunft können ebenso Messdaten aus dem Prozesswasser der kommerziellen Produktionsanlage der Meeresfischzucht (MFV) gewonnen werden bzw. wird es möglich sein, Prozesswasser für weitere experimentelle Untersuchungen aus einer produzierenden Kreislaufanlage zu erhalten. Die Fertigstellung der Produktionsanlagen der MFV erfolgt zeitrichtig zum Beginn der zweiten Projektphase, in der die Photobioreaktoren in der so genannten Freilandphase betrieben und optimiert werden sollen. Die messtechnische Ausrüstung wurde in der ersten Phase abgeschlossen.

### 3.3 Selektion geeigneter Mikroalgen [AP 3]

Die Leistungsfähigkeit von verschiedenen Mikroalgen, Prozesswasser aus der Aquakultur als Quelle für Nährstoffe zu nutzen, wurde in zwei Ansätzen untersucht: Ein Methode waren Mikroplatten (Kulturvolumen 1 ml) mit ganztägiger künstlicher Beleuchtung. Die zweite Methode waren Kulturflaschen, die natürlichem Licht ausgesetzt wurden. Die Mikroplatten wurden für die Artenselektion eingesetzt, die Kulturflaschen dienten dem Nachweis eines kontinuierlichen Wachstums unter den gegebenen Bedingungen.

#### 3.3.1 Auswahl und Beschaffung der Arten

Die Integration von Photobioreaktoren für die Produktion von Mikroalgen in eine Wasseraufbereitung eines Fluid-Kreislaufs stellt spezielle Anforderung an die Mikroalgen:

- (1) Mikroalgen müssen in nährstoffreichem Meerwasser (Prozesswasser) wachsen,
- (2) sie sind potentiell hohen Scherkräften in Photobioreaktoren, Pumpen und Filtern ausgesetzt und
- (3) es sollten Stämme sein, die in der Aquakultur als sicher (nicht toxisch) gelten.

Marine Mikroalgen wurden aus der Kultursammlung des Centre of Marine and Estuarine Ecology (CEME, Niederlande), der Sammlung Algenkulturen in Göttingen (SAG) und von dem Lieferanten BlueBioTech GmbH (BB) beschafft und untersucht. Die in Tab. 3.3-1 aufgeführten sechs Arten kamen nach einer Vorselektion in MDV-Kulturmedium (CEME) in die nähere Wahl.

Tab. 3.3-1: Liste der Arten

Familie	Art	Stammnummer	Lieferant
<b>Chlorophyceae</b>	<i>Chlorella autotrophica</i>	CCY 9931, CCMP 243	CEME, NL
	<i>Chlorella stigmatophora</i>	SAG 9.86	SAG
	<i>Brachiomonas sp.</i>	CCY 0810	CEME, NL
	<i>Tetraselmis chui</i>	SAG 8-6	SAG, BB
<b>Eustigmatoceae</b>	<i>Nannochloropsis salina</i>	SAG 40.85	SAG, BB
<b>Diatomeae</b>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	CCY 9811, UTCC 162	CEME, NL

#### 3.3.2 Nährstoffangebot, Nährstoffaufnahme und Mangelversorgung

Zur Verbesserung der Nachhaltigkeit der Wasseraufbereitung sollen die Mikroalgen die im Prozesswasser des primären Kreislaufs gelösten Pflanzennährstoffe Nitrat, Phosphat und Hydrogencarbonat in Biomasse einbauen. Mit der Ernte der Mikroalgen werden die Nährstoffe physikalisch aus dem Prozesswasser entfernt. Damit die Mikroalgen diese Funktion, Aufnahme von Nitrat, Phosphat und Hydrogencarbonat (Bikarbonat) optimal ausführen, darf das Wachstum nicht durch das Fehlen eines Nährstoffs oder durch bestimmte Inhaltsstoffe im Prozesswasser behindert werden. Um festzustellen, welche Arten im Prozesswasser den höchsten Ertrag erbringen, wurde die Nährstoffaufnahme in Kleinstkulturen auf Mikroplatten untersucht. Das Wachstum wurde mit einem Mikroplatten-Reader als Zunahme der Trübung bei 750nm Wellenlänge gemessen (Abb. 3.3-1).

In den Mikroplatten mit einer Anordnung von 48 einzelnen Mikrokulturen in Reihen und Spalten, wurde für die Versuche nur die 24 innen gelegenen Mikrokulturen benutzt, um gleiche Bedingungen hinsichtlich Licht (Energiesparlampe 27 W) und Temperatur (18 – 22°C) voraussetzen zu können.



Abb. 3.3-1: Mikroplatten-Versuchsaufbau (links) und Mikroplattenreader (rechts).

Zu Beginn der Untersuchungen war Prozesswasser aus einem Fluid-Kreislauf in der Forschungshalle Völklingen für die Zucht einer marinen Garnele (*Penaeus monodon*) verfügbar. Das Seewasser war mit einer hochwertigen, handelsüblichen Seesalz Mischung «Tropic Marin», die speziell für die Haltung von empfindlichsten Organismen ausgelegt ist, hergestellt worden. Die Untersuchungen ergaben, dass die marinen Grünalgen *Chlorella autotrophica* und *Brachiomonas sp.* sowie die Kieselalge *Phaeodactylum tricornutum* in dem Prozesswasser einen deutlichen Biomassertrag aufwiesen. Im

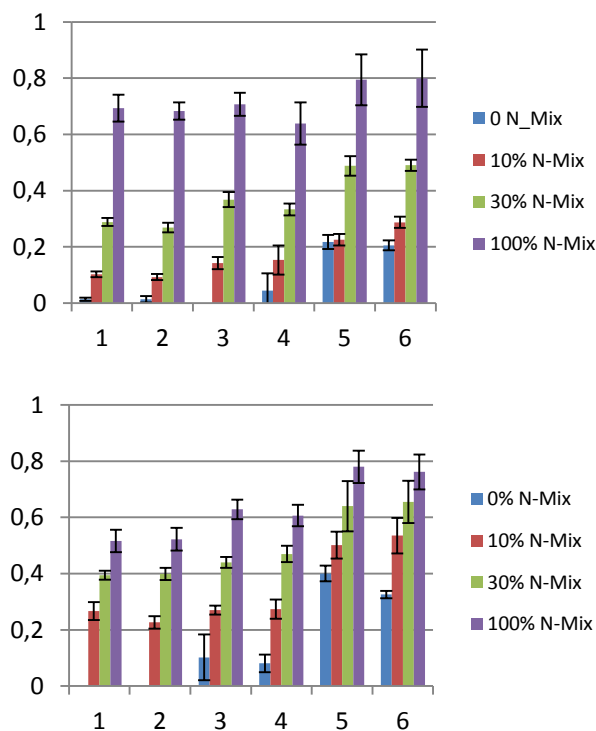


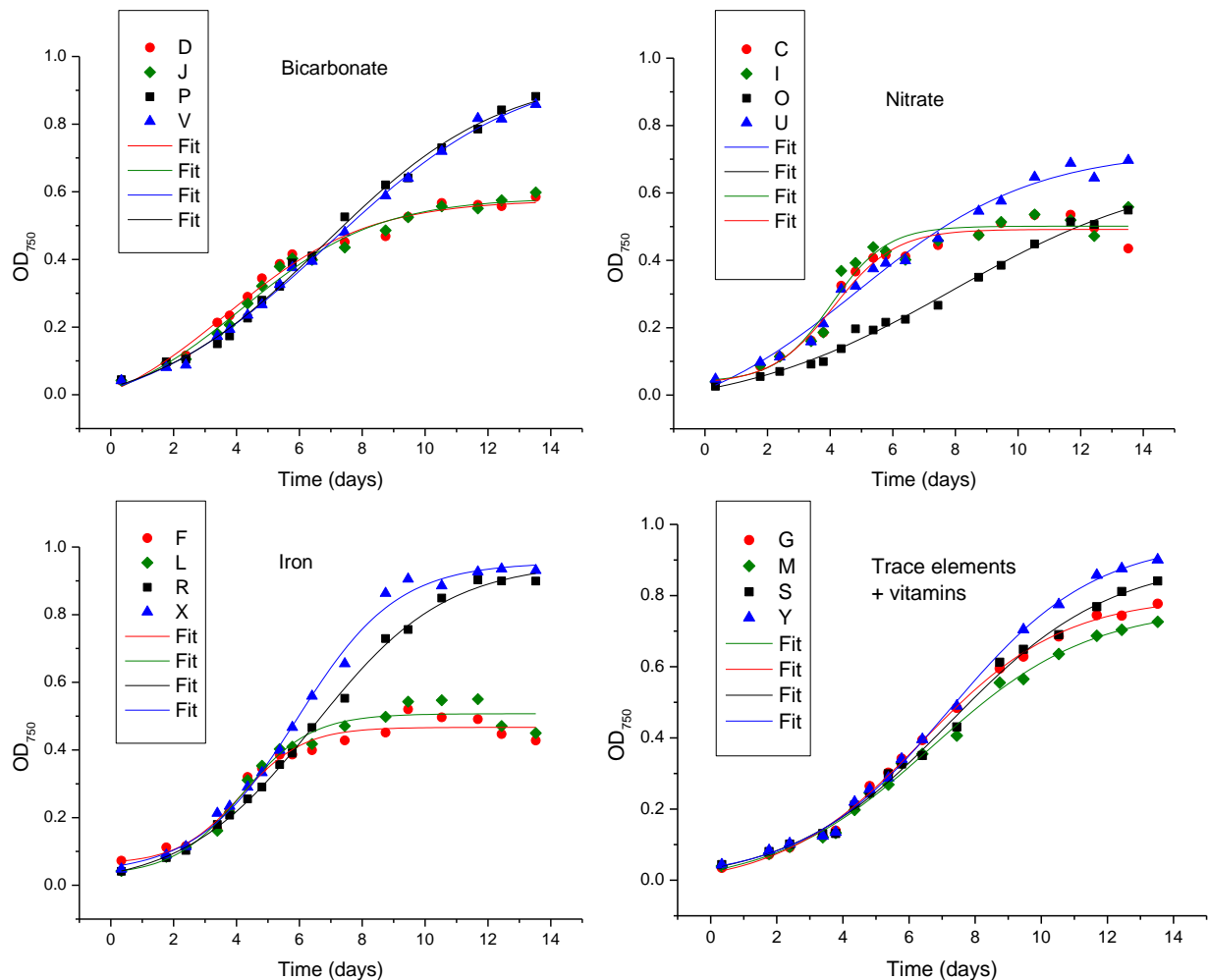
Abb. 3.3-2: Asymptotische Optische Dichte für *Brachiomonas sp.* (oben) und *Phaeodactylum tricornutum* (unten) in künstlichem Meerwasser und Prozesswasser ohne und mit Zusatz von Nährstoffen. Säulengruppen 1 und 2: MDV-Kulturmedium (CEME), Säulengruppe 3 und 4: Künstliches Meerwasser «Tropic Marin», Säulengruppe 5 und 6: Prozesswasser aus Kreislaufanlage für marine Garnelen in Völklingen. In den Säulen 2,4 und 6 wurde zusätzlich Eisen (0.7 mg/l) dosiert. Die asymptotische Optische Dichte wurden mit Hilfe einer iterativen Anpassung einer sigmoiden Funktion bestimmt. Die Residuen der Anpassungen (Regressionsfehler) sind als Linien mit Begrenzungsstrichen in die Abbildung eingetragen.

MDV-Kulturmedium und im künstlichen Meerwasser war die asymptotische Optische Dichte (maximaler Ertrag der Biomasse) geringer, bzw. konnte kein Wachstum verzeichnet werden (Abb. 3.3-2). Bei Zugabe zusätzlicher Nährstoffe erhöhte sich der Ertrag in allen Kulturen (Abb. 3.3-2). In jedem Fall konnte eine Wachstumshemmung durch Inhaltsstoffe im Prozesswasser anhand der vorliegenden Ergebnisse ausgeschlossen werden.

Im Prozesswasser bedingt der Ozon gestützte Abschäumprozess die Oxidation von Eisenionen. In den in Abb. 3.3-2 dargestellten Versuchsserien wurde jeweils eine Gruppe zusätzlich mit 0.7 mg/l Eisen versorgt. Der Vergleich der asymptotischen Optischen Dichten zeigt, dass in diesen Versuchen (maximale Optische Dichte <1.2) der Zusatz von Eisen keinen Effekt auf den Ertrag hatte. Ein Eisenmangel lag demzufolge in diesem Versuchsmaßstab nicht vor.

Der Fluid-Kreislauf in der Forschungshalle Völklingen für die Zucht von marinen Garnelen war auf geringe Nährstoffkonzentrationen (Nitrat) ausgelegt worden. Deshalb wurde im weiteren Verlauf Prozesswasser aus einem experimentellen Fluid-Kreislauf der Erwin Sander Elektroaparatbau GmbH verwendet. Dieses Seewasser

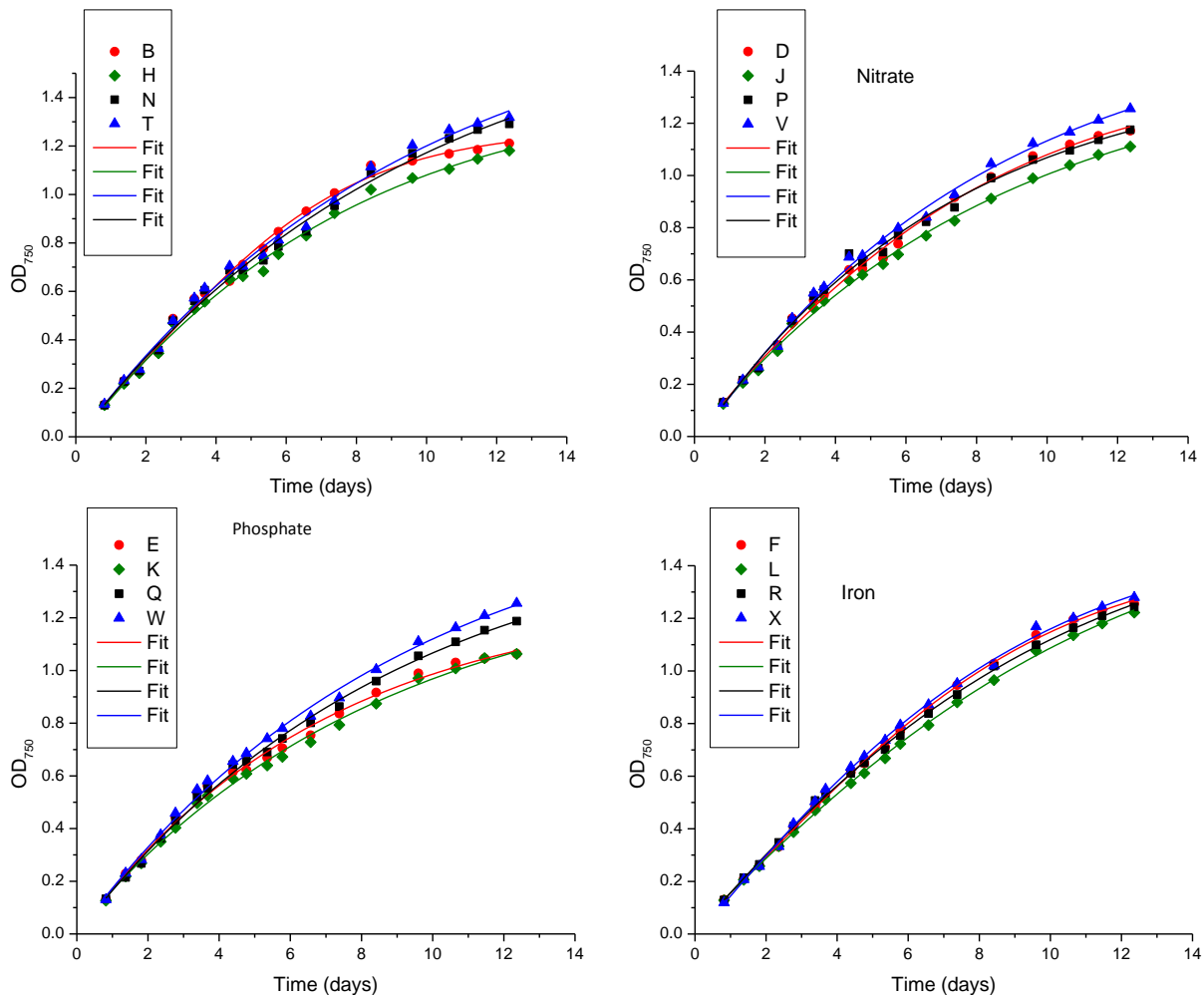
war mit einer speziell für die Fischzucht entwickelten Salzmischung hergestellt. Am Tag der Entnahme (11.3.2011) war diese Kreislaufanlage 142 Tage mit Gelbschwanzmakrelen (*Seriola lalandi*) besetzt. Die Nitratkonzentration im Prozesswasser wurde durch eine Denitrifizierung begrenzt. Dieses Wasser enthielt 33 mg/l Nitrat-N, und 18 mg/l Phosphat. Die Ergebnisse dieses Mikroplatten-Versuches sind am Beispiel von Versuchen mit *Brachiomonas sp.* in Abb. 3.3-3 dargestellt.



**Abb. 3.3-3:** Wachstum der Grünalge *Brachiomonas sp.* im Prozesswasser einer Kreislaufanlage für *Seriola lalandi* gemessen als Zunahme der optischen Dichte bei 750nm Wellenlänge. Das Wachstum im nicht angereicherten Prozesswasser ist mit roten und grünen Symbolen dargestellt. Blaue und schwarze Symbole kennzeichnen Versuchsreihen, in welchen das Prozesswasser mit 1/3 der Normalkonzentration des MDV-Kulturmediums angereichert worden war. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen wurden als Referenzwert für die potentielle Biomasseproduktion angenommen. Zusätzlich ist in jeder Abbildung der in allen Versuchsreihen angereicherte Nährstoff (Bikarbonat, Nitrat, Eisen, Spurenelemente + Vitamine) angegeben.

Das Ergebnis zeigt, dass die Zugaben von Bikarbonat, Nitrat oder Eisen nicht zu einer asymptotischen Optischen Dichte im Prozesswasser (grün und rot in Abb. 3.3-3) führte, die in den mit Nährstoffen angereicherten Kontrollreihen gemessen werden konnten (blau und schwarz in Abb. 3.3-3). Erst die Zugabe von Spurenelementen und Vitaminen brachte eine deutliche Veränderung. Die Asymptoten der beiden Versuchsreihen für nicht angereichertes Prozesswasser (grün und rot in Abb. 3.3-3) näherten sich sichtlich der maximal im angereichertes Prozesswasser erzielbaren Asymptoten an. Dies deutet darauf hin, dass *Brachiomonas sp.* durch die dem Prozesswasser zugrunde liegende Seesalzmischung nicht ausreichend mit Spurenelementen und Vitamine versorgt werden kann. Dem Photobioreaktor-Prozesswasser müssten die fehlenden Stoffe zugesetzt werden, um die notwendigen hohen Produktionsraten zu erhalten.

In gleicher Weise wurden vier weitere Mikroalgen *Chlorella autotrophica* und *Chlorella stigmatophora*, *Nannochloropsis salina* und *Phaeodactylum tricornutum*, getestet. Diese Algen erreichten im Prozesswasser ohne eine Anreicherung die maximal erwartete Asymptote. Unter dem Aspekt der Nährstoffnutzung aus Prozesswasser sind diese Arten gut geeignet. Das sind jedoch nicht die einzigen bestimmenden Faktoren. Licht (Lichtempfindlichkeit), Temperatur und Scherkräfte (Fluid-Zirkulation über Pumpen) können die Produktivität von Algen zusätzlich beeinflussen. Kleinere Algenzellen erscheinen gegenüber den Kräften in Photobioreaktoren stabiler<sup>16</sup> zu sein, so dass aufgrund der Verfügbarkeit die Entscheidung getroffen wurde, im weiteren Verlauf die Experimente mit *N. salina* durchzuführen, die sich in den Selektionsversuchen bewährt hatte (Abb. 3.3-4).



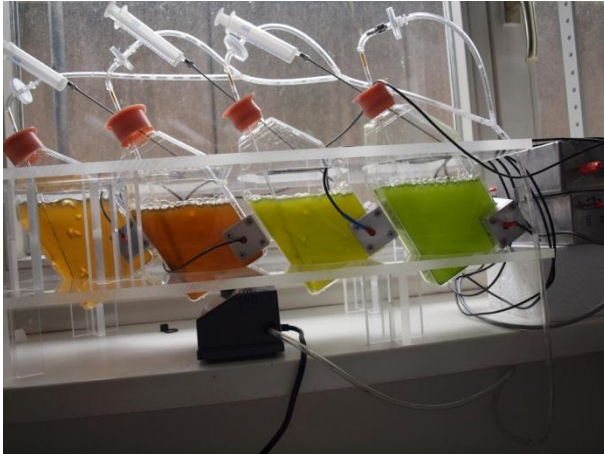
**Abb. 3.3-4:** Wachstum der Eustigmatocoeae *Nannochloropsis salina* im Prozesswasser einer Kreislaufanlage für *Seriola lalandi* gemessen als Zunahme der optischen Dichte bei 750nm Wellenlänge. Das Wachstum im nicht angereicherten Prozesswasser ist mit roten und grünen Symbolen dargestellt. Blaue und schwarze Symbole kennzeichnen Versuchsreihen, in welchen das Prozesswasser mit 1/3 der Normalkonzentration des MDV-Kulturmediums angereichert worden war. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen wurden als Referenzwert für die potentielle Biomasseproduktion angenommen. In drei Abbildungen wurden zudem die Wirkung eines Zusatzes von einzelnen Nährstoffen (Nitrat, Phosphat und Eisen), getestet. Das Fehlen einer Ertragssteigerung zeigt, dass *Nannochloropsis* durch Prozesswasser bereits optimal mit Nährstoffen versorgt wird.

<sup>16</sup> Vandanjon, L., Rossignol, N., Jaouen, P., Robert, J.M., Quemeneur, F., 1999: Effect of Shear on Two Microalgae Species. Contribution of Pumps and Valves in Tangential Flow Filtration Systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 63(1):1-9.

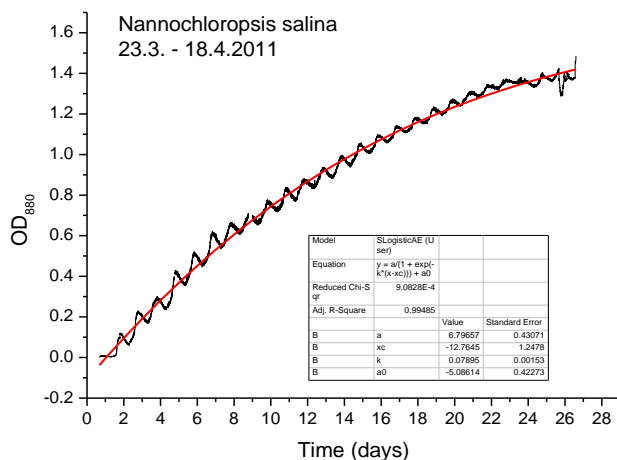


### 3.3.3 Kulturversuch mit Tageslicht

Um den Einfluss des Faktors Tageslicht abschätzen zu können, wurden Versuche in Zellkulturflaschen durchgeführt (Kulturvolumen 400 ml), die mit einer Schichtdicke von 43 mm einen vergleichbaren Lichtweg wie die später eingesetzten Photobioreaktoren hatten. Es wurden verschiedenen Mikroalgen getestet: *Brachiomonas sp.*, *Chlorella sp.*, *Tetraselmis chuii* (Butcher), *Phaeodactylum tricornutum* und *Nannochloropsis salina*.



**Abb. 3.3-5:** Zellkulturflaschen als Model für Flachplattenreaktoren; im Hintergrund der Lichtschacht, über den das Tageslicht in das Labor gelangt. Durch die Lage des Labors war die direkte Sonnenbestrahlung der Kulturflaschen abhängig vom Sonnenstand auf 45 bis 90 min begrenzt. Die Temperatur in dem Soutarrain-Labor erhöhte sich im Versuchszeitraum nur langsam von 18°C auf 23°C.



**Abb. 3.3-6:** Zunahme der Optischen Dichte (880nm) von *Nannochloropsis salina* im Prozesswasser der *Seriola lalandi* Kreislaufanlage der Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH. Der Nährstoffgehalt wurde mit MDV-Medium angereichert.

Die geringe Turbulenz in den über eine Pipette belüfteten Zellkulturflaschen führte jedoch bei den größeren Algen der Gattungen *Brachiomonas*, *Tetraselmis* und *Phaeodactylum* dazu, dass ein Teil der Zellen bei Zunahme der Zelldichte im Fluid wahrscheinlich durch Speicherstoffbildung sedimentierte (höheres spezifisches Gewicht). Bei den kleineren Algenzellen der Gattungen *Chlorella* und *Nannochloropsis* verhielt es sich anders. Die weiteren Versuche wurden, auch aus den oben schon genannten Gründen, mit der kleinen und in der Aquakultur häufig verwendeten Mikroalge *Nannochloropsis salina* durchgeführt.

Die Abb. 3.3-6 zeigt Ergebnisse eines exemplarisch gewählten Batchversuchs zur Langzeitkultivierung von *N. salina* in Kreislaufwasser. Die kontinuierliche Zunahme der Optischen Dichte zeigt die generelle Eignung dieser Mikroalge für die Nährstoffverwertung aus dem Prozesswasser.

Deutlich werden hier tageszeitlich auftretende Schwankungen der Optischen Dichte, die bei der Entwicklung von Sensoren für die Automatisierung von Photobioreaktoren berücksichtigt werden müssen. Diese, wahrscheinlich sinusförmig approximierbare Störung des Messsignals, muss durch Softwaremodule, die diese Schwankungen berücksichtigen, vor der weiteren Verarbeitung korrigiert werden.

In jedem Fall zeigt sich, dass eine Produktion unter Tageslichtbedingungen möglich ist.



### 3.4 Laborversuche Subitec

#### 3.4.1 Kalibrierung der Biomassebestimmung

Die Laborarbeiten bei der Subitec GmbH befassten sich mit der experimentellen Produktion von Mikroalgenbiomasse mit der zuvor selektierten Mikroalge *Nannochloropsis salina*. In einem ersten Arbeitsschritt wurden die methodischen Voraussetzungen für die Biomassebestimmung als Trockensubstanz in einem Kalibrierungsexperiment geschaffen. Dazu wurde mit einem Standardsensor der Subitec GmbH die optische Dichte bei 750 nm Wellenlänge in Nannochloropsis-Kulturen unterschiedlicher Zelldichte gemessen und parallel dazu die Trockenmasse gravimetrisch bestimmt. Dieser Schritt war notwendig, da eine Kontamination der beschafften Nannochloropsis-Stammkultur von einem kommerziellen Anbieter nicht ausgeschlossen werden konnte. Da eine Biomassekultur in der hier angezielten Form nicht unter axenischen Bedingungen erfolgen kann, ist eine Kalibrierung bei veränderten Kulturbedingungen sowieso ein notwendiger Vorgang, der bei Veränderungen der Bedingungen wiederholt bzw. überprüft werden muss.

Die methodische Vorgehensweise war wie folgt:

- Schritt 1: 40 mL Probenahme und parallele Messung der optischen Dichte
- Schritt 2: 3 x 10 mL Probennahme
- Schritt 3: Zentrifugation bei 10,000 U.p.M.
- Schritt 4: 2 x Waschung mit VE-Wasser
- Schritt 5: Resuspension in bi-distilliertem Wasser
- Schritt 6: Überführung auf getrocknete + gewogene Aluminiumschalen
- Schritt 7: Trocknung bei 105°C für mindestens 12h
- Schritt 8: Wägung
- Schritt 9: Zweite Wägung (Gewichtskonstanz) und Berechnung der Trockensubstanzmasse

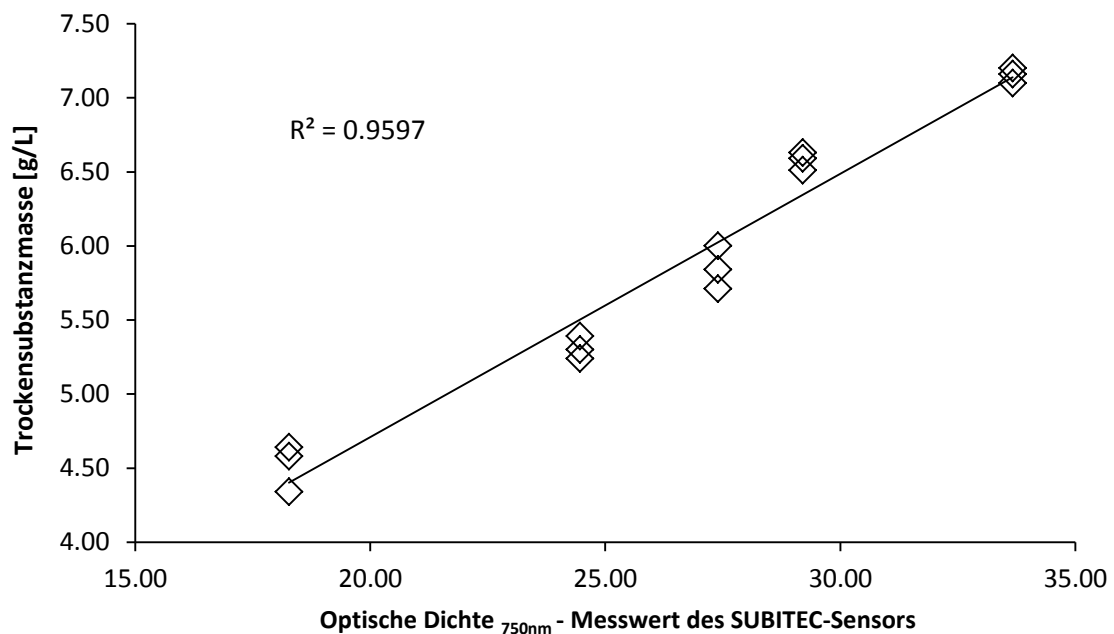


Abb. 3.4-1: Ergebnis des Kalibrierungs-Experimentes für den Optische Dichte Sensor der Subitec GmbH.

Die Abb. 3.1-2 zeigte das Ergebnis des Kalibrierungs-Experimentes, das mit 96 % erklärter Streuung für die Regression von Optischer Dichte auf Trockensubstanzmasse abgeschlossen werden konnte. Demnach entspricht 1 Einheit der Optischen Dichte des Subitec Sensors einer Trockensubstanzmasse von 0.22 g in einem Liter Kulturmedium.

### 3.4.2 Bestimmung der Nährstoffaufnahme von *Nannochloropsis salina* bei einer Zunahme der Optischen Dichte (Subitec Sensor) um eine Einheit

Zur Abschätzung der Nährstoffaufnahme wurde durch wiederholte Differenzmessung der optischen Dichte und der Nährstoffkonzentration im Fluid des Photobioreaktors die Nährstoffaufnahme durch *N. salina* bei der Veränderung der Optischen Dichte um eine Einheit abgeschätzt. Dazu wurde wie folgt vorgegangen:

- Schritt 1: Einstellung der Nährstoffkonzentration im Fluid des Photobioreaktors auf ungefähr 500 mg  $\text{NO}_3^-$ /l
- Schritt 2: Einstellung der Nährstoffkonzentration im Fluid des Photobioreaktors auf ungefähr 200 mg  $\text{PO}_4^{3-}$ /l
- Schritt 3: Gleichzeitige Messungen der
  - a: Nährstoffkonzentrationen im Fluid von  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{PO}_4^{3-}$  mit Testverfahren der Firma HACH-LANGE
  - b: Optischen Dichte im Fluid bei 750 nm
- Schritt 4: 24 Stunden Produktionsphase
- Schritt 5: Gleichzeitige Messungen der
  - a: Nährstoffkonzentrationen im Fluid von  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{PO}_4^{3-}$  mit Testverfahren der Firma HACH-LANGE
  - b: Optischen Dichte im Fluid bei 750 nm
- Schritt 6: Berechnung der Nährstoffaufnahme aus den Differenzen der Optischen Dichte und der Nährstoffkonzentrationen.

Die Ergebnisse der Bestimmung der Nährstoffaufnahme sind in Tab. 3.4-1 zusammengefasst. Die hohe Standardabweichung der Bestimmungen zeigt, dass es sich bei dem Ergebnis nur um Näherungswerte handelt, die für die technischen Arbeiten an den Photobioreaktoren aber ausreichende Genauigkeit bieten, um zum Beispiel die Nährstoffkonzentrationen in den Photobioreaktoren auf die notwendige Höhe einzustellen.

**Tab. 3.4-1: Ergebnisse der Bestimmung der Nährstoffaufnahme von *Nannochloropsis salina* bei einer Zunahme der Optischen Dichte (Subitec Sensor) um eine Einheit**

Nährstoff	Verbrauch [mg / (gTS * l)] ± Standardabweichung
$\text{NO}_3^-$	361 ± 228
Stickstoff	86 ± 48
$\text{PO}_4^{3-}$	90 ± 69
Phosphor	29 ± 23

### 3.4.3 Versuche zur Bestimmung der Produktivität von *Nannochloropsis salina* bei unterschiedlichen Produktionsbedingungen in 6 L Subitec Flachbett Photobioreaktoren

Die Versuche mit *N. salina* in den Subitec 6 L «Flat Panel Airlift Reaktoren» wurden zunächst im Batchbetrieb durchgeführt. Das heißt, dass ausgehend von einer Mikroalgen-Biomasse von 2 bis 4 g/L Trockensubstanz in den Bioreaktoren die Kulturen solange betrieben wurden, bis die Trockensubstanzmasse auf über 10 g/L im Reaktor angestiegen war. Die Kulturzeiten für einzelne Versuche betragen 20 bis 40 Tage.

Beim Start der Kulturen wurden die gewünschten Versuchsbedingungen eingestellt und das Kulturmedium mit  $\text{KNO}_3$  auf auf 500 mg  $\text{NO}_3^-/\text{L}$  bzw. mit  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  und  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  auf 200 mg  $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$  angereichert. In einigen Experimenten wurden zusätzlich Spurenelemente zugeführt. Die Zusammensetzung der Spurenelemente Lösung ist in Tab. 3.4-2 zusammengestellt.

Tab. 3.4-2: Zusammensetzung des modifizierten ASFW nach Boussiba. Es wurde  $\text{CaCl}_2$  an Stelle von  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  verwendet; Fe-Citrat  $\cdot \text{H}_2\text{O}$  wurde an Stelle von  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  und  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  verwendet.

Grundmedium	Komponente	Konzentration [g/L]
	NaCl	27,0
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	6,60
	$\text{CaCl}_2$	1,257
	Fe-Citrat $\cdot \text{H}_2\text{O}$	0,0133
Spurenelementelösung (1mL / 1 L ASW)	Komponente	Konzentration [mg/L]
	$\text{ZnCl}_2$	40
	$\text{H}_3\text{BO}_3$	600
	$\text{CaCl}_2$	1,5
	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	40
	$\text{MnCl}_2$	400
	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	370

Spätestens jeden zweiten Tag wurde über die Abschätzung der Nährstoffaufnahme bzw. die Messung der Nährstoffkonzentrationen der Nährstoffgehalt im Fluid der Reaktoren festgestellt. Je nach Ergebnis wurde das Fluid mit  $\text{KNO}_3$  auf 500 mg  $\text{NO}_3^-/\text{L}$  bzw. mit  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  und  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  auf 200 mg  $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$  angereichert.

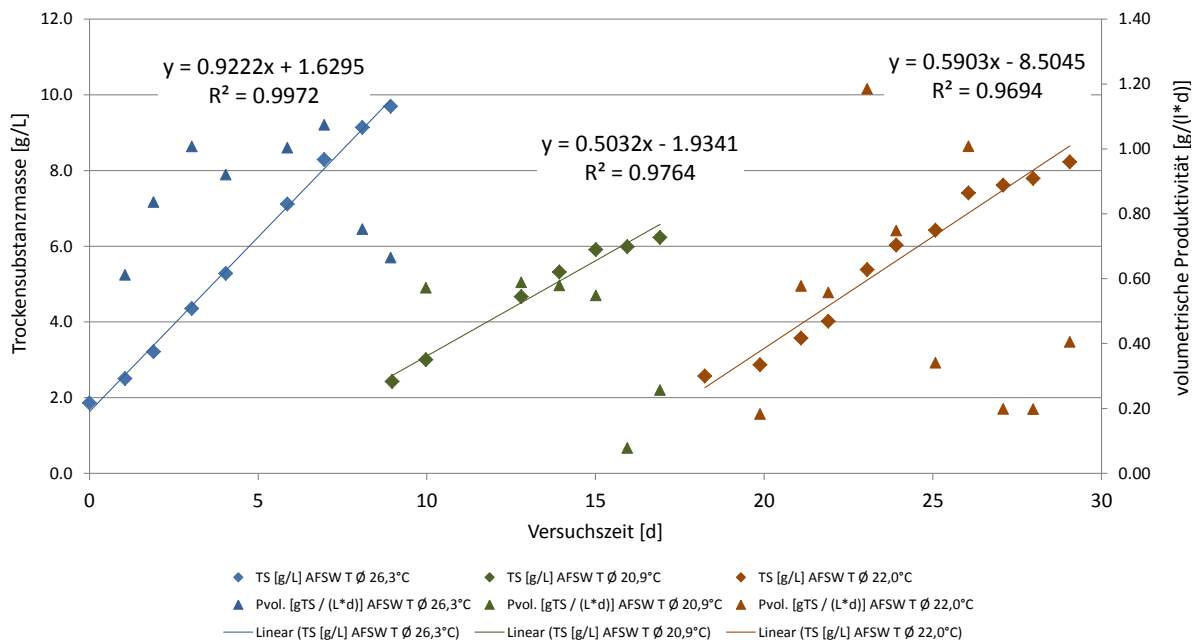
#### 3.4.3.1 Die Temperaturabhängigkeit der Produktivität von *Nannochloropsis salina*

Die Temperaturabhängigkeit der volumetrischen Produktivität wurde in drei aufeinanderfolgenden Teilversuchen mit derselben Mikroalgenpopulation bei 26.3, 20.9 und 22.0 °C Betriebstemperatur untersucht. Die Versuchsbedingungen und Ergebnisse sind in Tab. 3.4-3 zusammengefasst. Die Versuche wurden mit dem modifizierten ASW-Medium Tab. 3.4-2 durchgeführt.

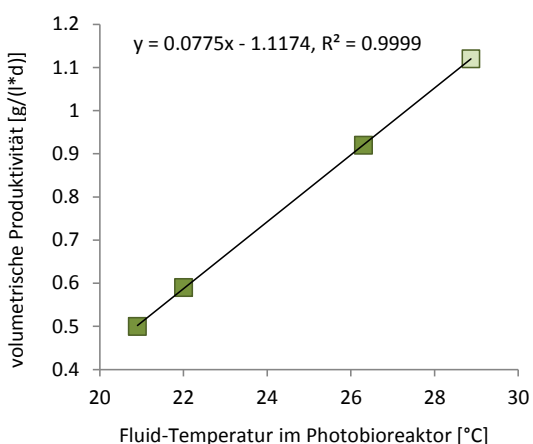
Tab. 3.4-3: Versuchsbedingungen und Messwerte für die Kultivierungsexperimente von *N. salina* bei verschiedenen Temperaturregimen in einem Subitec 6 l Flachbett Photobioreaktor mit Luftheber. Soweit möglich sind die Werte als Minimum/arithmetisches Mittel/Maximum angegeben.

Variable	Teilversuch 1	Teilversuch 2	Teilversuch 3
pH	7,18 / 7,36 / 7,51	7,09 / 7,25 / 7,37	7,27 / 7,33 / 7,38
T (°C)	24,3 / 26,3 / 27,9	19,4 / 20,9 / 25,8	19,6 / 22,03 / 22,9
Luftzufuhr (L/h)	180	180	180
CO <sub>2</sub> Anteil (%)	0,8 / 1,7 / 2,7	1,1 / 2,2 / 4,0	1,0 / 3,1 / 5,3

Variable	Teilversuch 1	Teilversuch 2	Teilversuch 3
Strahlungsintensität [ $\mu\text{E} / (\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$ ]	470	470	520
$\text{NO}_3^-$ (mg/L)	500	500	500
$\text{PO}_4^{3-}$ (mg/L)	200	200	200
Steigung der Regressionsgerade, siehe Abb. 3.1-2	0.92	0.50	0.59
Arithmetisches Mittel der volumetrischen Produktivität [g Trockensubstanzmasse/(L*d)]	0,86	0,44	0,54



**Abb. 3.4-2: Versuchsergebnisse der Untersuchung der Temperaturabhängigkeit der volumetrischen Produktivität von *N. salina* bei unterschiedlichen Fluid-Temperaturen in einem Subitec 6 L Flachbett Photobioreaktor mit Luftheber. Kulturmedium: Modifiziertes ASFW (Tab. 3.4-2).**



**Abb. 3.4-3: Temperaturabhängigkeit der Produktivität von *N. salina*. Zusammenfassung der Ergebnisse aus Abb. 3.4-2. Der hellgrüne Markierungspunkt wurde extrapoliert und zeigt die Temperatur bei einer Produktivität von 1.12 g Trockensubstanzmasse pro Tag (siehe Kapitel 3.7).**

Es zeigt sich erwartungsgemäß eine Zunahme der volumetrischen Produktivität mit steigenden Fluid-Temperaturen. Die um 10% höhere Strahlungsintensität im Teilversuch 3 stellte einen zusätzlich fördernden Einfluss auf die Produktivität dar (Tab. 3.4-3), kann hier aber nicht von dem Temperatureffekt getrennt werden. Die Produktivität nahm von 0.5 – 0.6 g Trockensubstanzmasse/(L\*d) bei 21 – 22 °C auf 0.9 g Trockensubstanzmasse/(L\*d) bei 26 °C zu (Abb. 3.4-3). Der funktionale Zusammenhang ist linear.

Wie später in Kapitel 3.7 gezeigt werden wird, wird für die Machbarkeit des produktionsintegrierten Verfahrens eine Produktivität von 1.12 g Trockensubstanzmasse/d benötigt. Nach den vorliegenden

Ergebnissen kann diese Produktivität durch Erhöhung der Fluid-Temperatur im Photobioreaktor erreicht werden. Die Parameter der linearen Regression lassen eine Extrapolation und damit eine erste, vorläufige Schätzung zu. Eine Produktivität von 1.12 g Trockensubstanzmasse/d wird bei einer Temperatur von ca. 29°C erreicht, die im physiologischen Bereich für *N. salina* liegt. Weitere Untersuchungen zur Temperaturabhängigkeit der Produktivität müssen in der zweiten Projektphase durchgeführt werden, um das Optimum bzw. die physiologischen Grenzen im Photobioreaktorbetrieb festzustellen.

### 3.4.3.2 Der Einfluss einer Eisenzufuhr zum Photobioreaktor-Fluid auf die volumetrische Produktivität von *Nannochloropsis salina* in künstlichem Seewasser.

Zunächst sollte in einem Versuch untersucht werden, ob eine Standard-Seesalzmischung, die im primären Produktionskreislauf für Fische für die Herstellung des Seewassers verwendet wird, ausreichend Eisenionen für eine maximale Mikroalgenproduktion (*N. salina*) enthält. Die Abhängigkeit der volumetrischen Produktivität von der Dosierung von Eisenionen wurde in zwei aufeinanderfolgenden Teilversuchen mit derselben Mikroalgenpopulation untersucht. Die Prüfung dieser Fragestellung erfolgte indirekt in einem Versuch ohne und mit Zudosierung von Eisenionen. Die Vorgehensweise war eine Sterilinjektion in den Photobioreaktor im Wochenturnus, beginnend 7 Tage nach der Inokulation, mit 4.7 mg/L Eisencitrat-Monohydrat.

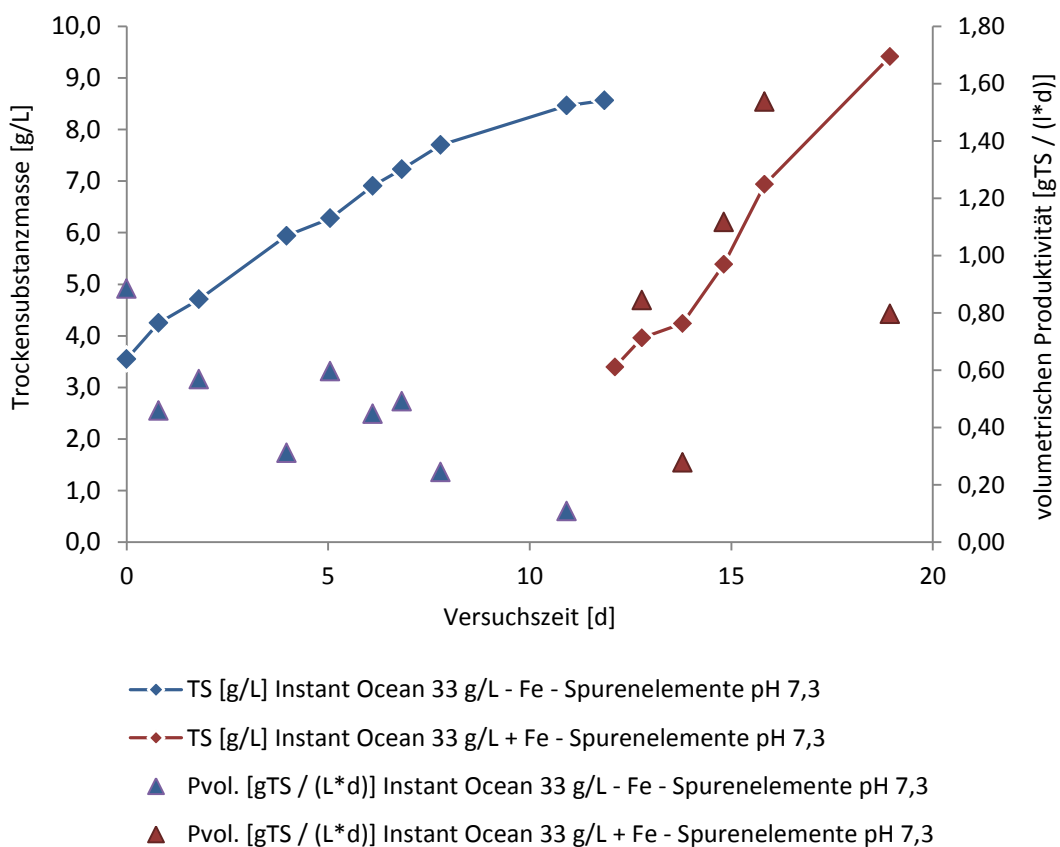


Abb. 3.4-4: Versuchsergebnisse der Untersuchung des Einflusses einer Sterilinjektion von 4.7 mg/L Eisencitrat-Monohydrat (+Fe-Spurenelemente pH 7.3) auf die volumetrischen Produktivität von *N. salina* in einem Subitec 6 l Flachbett Photobioreaktor mit Luftheber.

Vergleicht man die Steigungen der linearen Intervalle für beide Produktionskurven in Abb. 3.4-4 kommt man zu dem Ergebnis, dass eine Sterilinjektion von 4.7 mg/L Eisencitrat-Monohydrat zu einer deutlichen Zunahme der Produktivität führt. Ohne eine Sterilinjektion erreicht *N. salina* unter den

gegebenen Versuchsbedingungen rechnerisch eine Produktivität von 0.54 g Trockensubstanzmasse/(L\*d). Nach der Sterilinjektion nahm die Produktivität auf 0.92 g Trockensubstanzmasse/(L\*d) zu. Eine Dosierung von Eisen ist also alleine schon aufgrund der nicht hinreichenden Zusammensetzung der Seesalzmischung angezeigt.

Das Prozesswasser in Fluid-Kreisläufen für die Produktion von Fischen wird in dem hier eingesetzten Anlagentyp mit einem Abschäumer auf gereinigt. Ein Abschäumer ist ein vertikales Gegenstromsystem, in dem ein Gemisch aus Luft und Ozon gegen einen entgegengesetzt fließenden Wasserstrom am Boden des Reaktionsraumes injiziert wird. Diese Art der Wasserbehandlung führt dazu, dass Eisenionen als Hydroxid ausfallen, das Prozesswasser an Eisenionen verarmt. Eisenionen könnten also auch aus diesem Grund ein kritischer Faktor beim Betrieb der Photobioreaktoren sein. Die Notwendigkeit, Eisenionen zu dosieren, muss in der zweiten Projektphase noch unter Betriebsbedingungen untersucht werden.

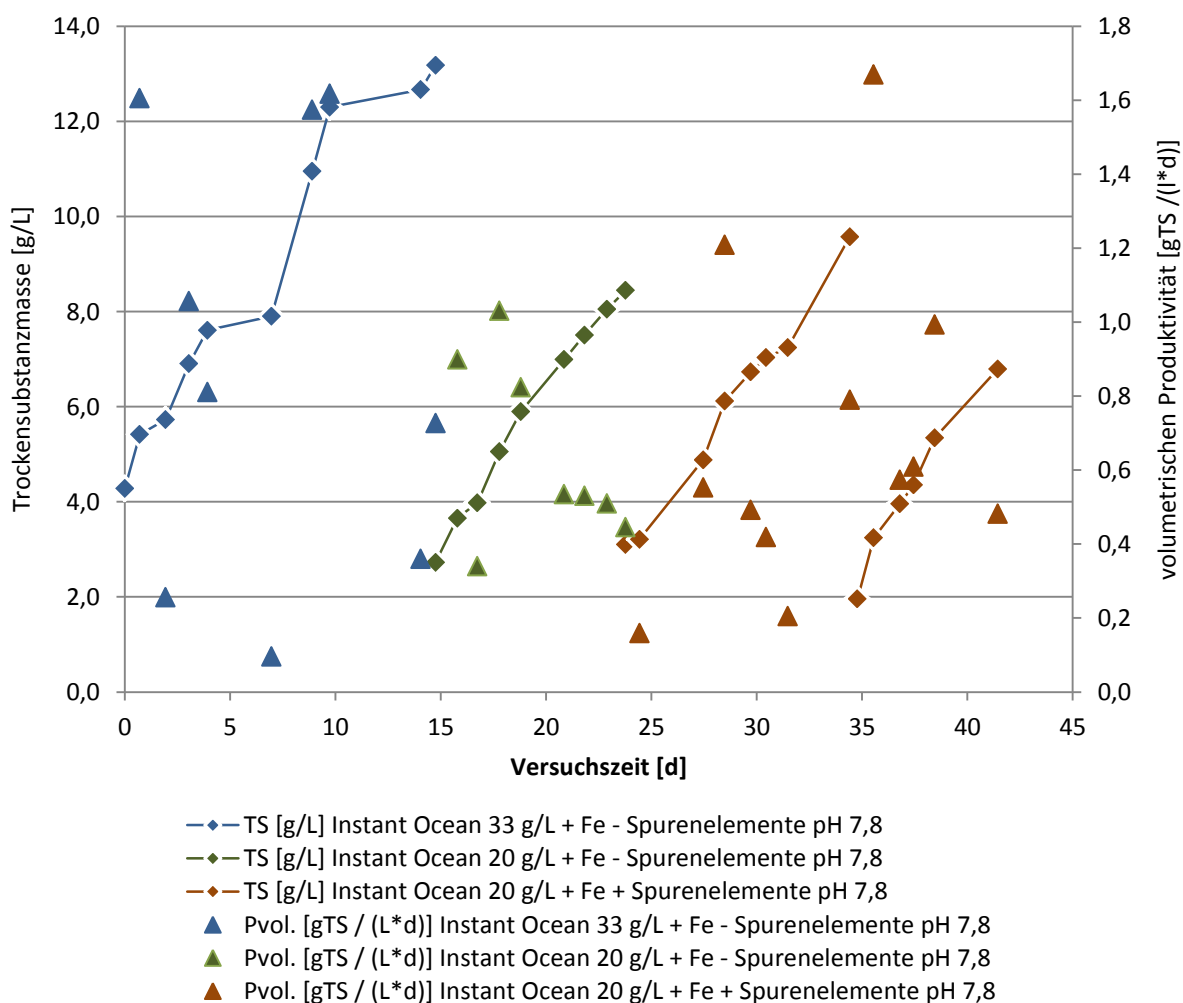


Abb. 3.4-5: Versuchsergebnisse der Untersuchung des Einflusses des Salzgehaltes auf die volumetrischen Produktivität von *N. salina* in einem Subitec 6 I Flachbett Photobioreaktor mit Luftheber.

### 3.4.3.3 Der Einfluss des Salzgehaltes auf die volumetrische Produktivität von *Nannochloropsis salina*

Die Salzgehaltsabhängigkeit der volumetrischen Produktivität wurde in vier aufeinanderfolgenden Teilversuchen mit derselben Mikroalgenpopulation untersucht. In den Teilversuchen wurden drei unterschiedliche Bedingungen eingestellt:

- (1) Salzgehalt: 33 g/L, mit Eisenzudosierung ohne Spurenelemente-Anreicherung,
- (2) Salzgehalt: 20 g/L, mit Eisenzudosierung ohne Spurenelemente-Anreicherung und
- (3) Salzgehalt: 20 g/L, mit Eisenzudosierung und Spurenelemente-Anreicherung.

*N. salina* zeigte in zwei von drei Teilversuchen bei 20 g/L Salzgehalt eine reduzierte Produktivität im Vergleich zu dem Teilversuch mit einem Salzgehalt von 33 g/L (Abb. 3.4-5). Berechnet man für die linearen Intervalle in Abb. 3.4-5 die Geradensteigung, so erhält man Produktivitäten von 0.75 g Trockensubstanzmasse/(L\*d) bei einem Salzgehalt von 33 g/L und 0.61 – 0.72 g Trockensubstanzmasse/(L\*d) bei einem reduziertem Salzgehalt von 20 g/L (Tab. 3.4-4).

**Tab. 3.4-4: Produktivität für *Nannochloropsis salina* bei unterschiedlichen Salzgehalten im Fluid des Subitec Flachbett Photobioreaktor mit Luftheber.**

Teilversuch 1 33 g/L + Fe - Spurenelemente	Teilversuch 2 20 g/L + Fe - Spurenelemente	Teilversuch 3 20 g/L + Fe + Spurenelemente	Teilversuch 4 20 g/L + Fe + Spurenelemente
0.75	0.63	0.61	0.72
Produktivität [g Trockensubstanzmasse/(l*d)]			

Das Ergebnis muss zum momentanen Zeitpunkt als indifferent angesehen werden, da der Teilversuch 4 eine hohe Produktivität bei einem Salzgehalt von 20 g/L erreichte, die nur geringfügig unterhalb der des Teilversuches 1 mit einem Salzgehalt von 33 g/L lag. Es stellt sich die Frage, ob der Salzgehalt überhaupt einen Einfluss auf die Versuchsergebnisse hatte oder, ob der Salzgehaltseffekt eigentlich auf eine zu geringe Verfügbarkeit von Spurenelementen bei einer geringeren Konzentration von Seesalz im Fluid zurückzuführen ist. Die erst spät einsetzende Verbesserung des Wachstums könnte auch auf eine Anpassung des Stoffwechsels an die verbesserte Versorgung mit Spurenelementen nach dem Versuchstag 25 (Abb. 3.4-5) hinweisen, die dann erst im letzten Teilversuch 4 zu einer deutlich besseren Produktivität von *N. salina* führte. Hier müssen weitere experimentelle Untersuchungen in der zweiten Projektphase anschließen.

### 3.4.4 Produktivität von *Nannochloropsis salina* im kontinuierlichen Betrieb eines 6 l Subitec Flachbett Photobioreaktors

In einem 55 Tage dauernden Versuch wurde die Produktivität von *N. salina* in einem Subitec 6 l Flachbett Photobioreaktor mit Luftheber im Batchbetrieb und als kontinuierliche Kultur untersucht. Basis für die Versuche war Prozesswasser aus dem primären Fluid-Kreislauf in Völklingen (siehe Kapitel 3.1). Der initiale Batchbetrieb begann mit einer Biomasse von 2.4 g Trockensubstanzmasse/L (Abb. 3.4-6). Nach 12 Tage hatte die Biomasse auf 8.1 g Trockensubstanzmasse/L zugenommen, wobei Produktivitäten von bis zu 0.64 g Trockensubstanzmasse/(L\*d) gemessen wurden. Der Reaktor wurde abgeerntet und erneut mit 1.3 g Trockensubstanzmasse/L in Betrieb genommen. Nachdem anfänglich die Biomasse auf 0.9 g Trockensubstanzmasse/L abgenommen hatte, wurde eine kontinuierliche Zunahme der Biomasse gemessen. Am Tag 33 hatte die Biomasse wieder 8.2 g Trockensubstanzmasse/L erreicht. Die Produktivität schwankte zwischen 0.01 und 0.6 g Trockensubstanzmasse/(L\*d). Ab dem Tag 35 wurde der Versuch auf den kontinuierlichen Betrieb umgestellt, das heißt, dass täglich Prozesswasser aus dem experimentellen Kreislauf in Völklingen zugeführt wurde. Das zugeführte Volumen betrug ein Zehntel des Volumens des Photobioreaktors. In diesem Modus

schwankte die Produktivität deutlich und lag den Messwerten nach höher als zuvor im Batchbetrieb. Die Biomasse verblieb anhand der Messwerte auf einem hohen Niveau.

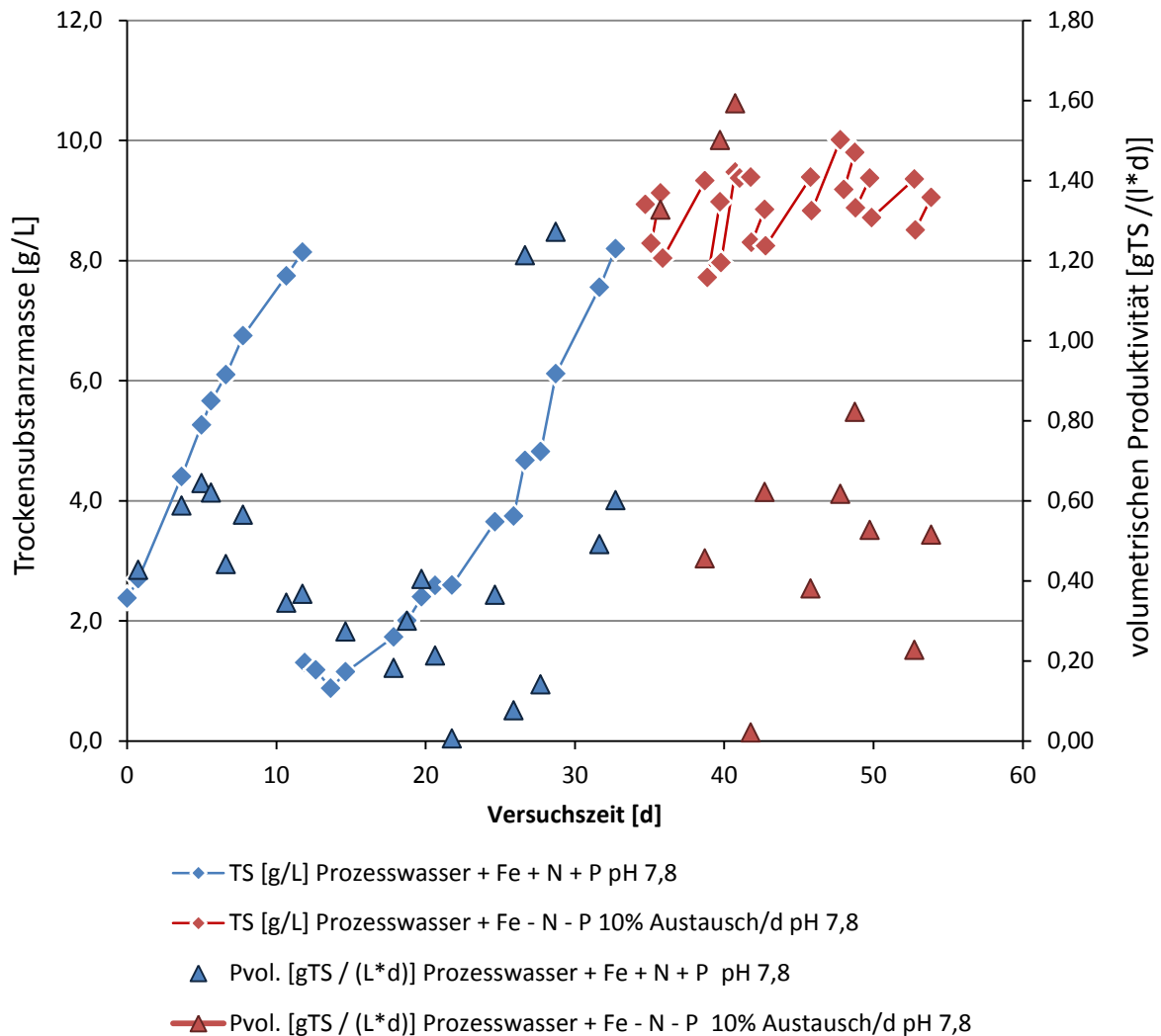


Abb. 3.4-6: Produktivität von *Nannochloropsis salina* im kontinuierlichen Betrieb eines 6 l Subitec Flachbett Photobioreaktors.

Die Kultivierung von *N. salina* auf der Basis von Prozesswasser mit manueller Anreicherung von Fe, N und P war möglich. Der Nährstoffeintrag durch einen täglichen Austausch von 10% des Reaktorvolumens mit Prozesswasser war bei der schon erreichten Biomasse (9 g Trockensubstanzmasse/L) offensichtlich zu gering. Zwar zeigt die Verfolgung der optischen Dichte und die daraus errechnete stehende Biomasse einen stetigen Zuwachs, die Beobachtung der Kultur führte aber zu der Feststellung, dass durch Nährstofflimitation eine sogenannte «Lipidphase» induziert worden war. Mikroalgen bilden bei Stickstoffmangel typischerweise Lipide als Speicher- und Reservestoff, die in den Zellen akkumulieren. Optisch war dies unschwer durch eine zunehmende gelbliche Verfärbung der Algenkultur zu beobachten. Zurückzuführen ist die Verfärbung auf den Abbau der Chlorophylle. Damit, das heißt aufgrund des veränderten physiologischen Status, sind die Biomassebestimmungen und die errechneten volumetrischen Produktivitäten nicht zuverlässig und können nur den Trend über den Produktionszeitraum aufzeigen. Um einen dauerhaft stabilen Betrieb mit Prozesswasser zu gewährleisten ist eine Biomasseretention im Photobioreaktor notwendig, was intensiver weitere Forschung und Entwicklung in der zweiten Projektphase notwendig macht.



### 3.5 Aufbau und Inbetriebnahme der 120 Liter Photobioreaktoren [AP 4]

Im Rahmen des Arbeitspaket 4 wurden der tubuläre Photobioreaktor sowie der Flachplattenreaktor mit Airlift (FPA) der Firma Subitec für die Anwendung mit Prozesswasser aus einem marinen Fluid-Kreislauf geplant und gefertigt und zum Teil (FPA) in Betrieb genommen. Nachdem die Laborversuche gezeigt hatten, dass *N. salina* für die Biomasseproduktion in Photobioreaktoren geeignet und die Kultivierung in 6 Liter FPA-Photobioreaktoren bei der Subitec GmbH erfolgreich verlaufen war, wurde eine Anlage mit vier 30 Liter Module geplant. Das 120 Liter System bestehend aus vier 30 Liter FPA ist aufgebaut und zwei Module sind bereits in Betrieb genommen worden.

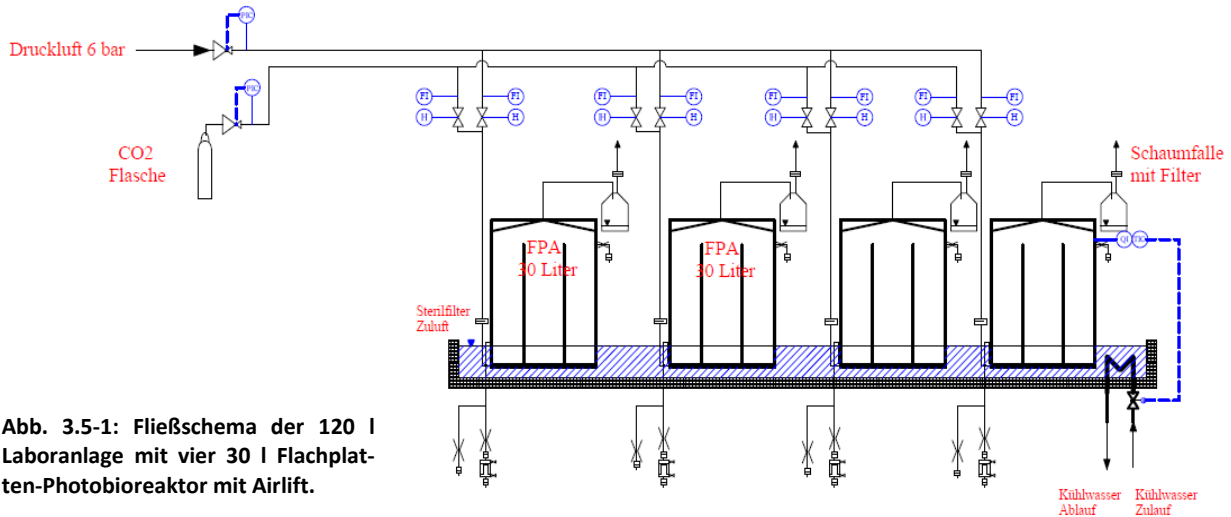


Abb. 3.5-1: Fließschema der 120 l Laboranlage mit vier 30 l Flachplatten-Photobioreaktor mit Airlift.

Die FPA-Anlage (Abb. 3.5-1) setzt sich aus insgesamt vier einzelnen Photobioreaktor-Modulen zusammen, die alle gesondert mit Druckluft- und Kohlendioxid versorgt werden, zusammen. Die Betriebsluft sowie das Kohlenstoffdioxid werden durch einen Steril-Filter geleitet, um mikrobielle Kontaminationen zu verhindern.

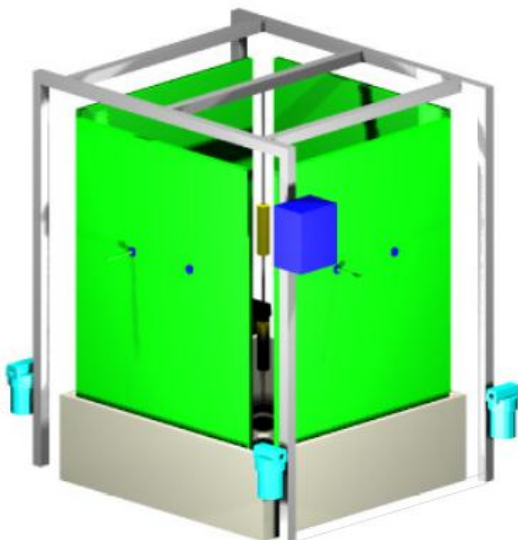


Abb. 3.5-2: 3D Ansicht des 120 Liter Photobioreaktors bestehend aus vier 30 Liter FPA-Modulen mit zentraler Innenbeleuchtung und Kühlung über eine am Boden angeordnetes Kühlbecken.

Die einzelnen 30 Liter FPA-Reaktoren sind jeweils mit einer Schaumfalle ausgestattet und werden am unteren Ende in einem Becken mit Kühlwasser gekühlt. Das Beckenwasser wird über einen separaten Kühlwasserkreislauf mit einem Kältekompressor gekühlt.

Die Beleuchtung der vier 30 Liter FPA Module erfolgt zentral in der Mitte der Anlage durch zwei Tageslicht-Lampen (Lucalox PSL) mit einer elektrischen Anschlussleistung von 800W (Abb. 3.5-2). Als Messwerte des Photobioreaktors wurden pH-Wert, Temperatur, Optische Dichte sowie Kohlenstoffdioxid- und Luftfluss überwacht.

Neben der Inbetriebnahme des FPA Moduls wurde ein salzwasserbeständiges tubuläres Reaktormodul konstruiert und gefertigt (Abb. 3.5-3). Das Modul setzt sich im Wesentlichen aus dem für die Photosynthese notwendigen Reaktorrohrsystem (Abb. 3.5-3, grün) und einem Entgasungsbehälter (Abb. 3.5-3, orange), um die Möglichkeit einer zusätzlichen Sau-

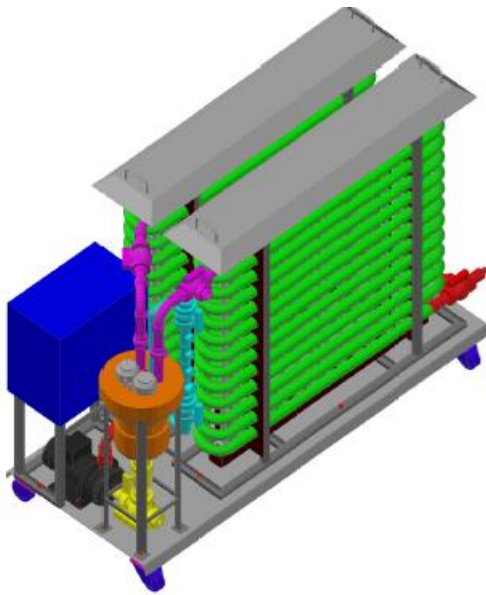


Abb. 3.5-3: 3-D Ansicht des 120 Liter Röhrenreaktors mit Außenbeleuchtung.

erstoffentgasung zu gewährleisten, zusammen. Der Kreislaufstrom in den Röhrenmodulen wird über eine Frequenzumrichter gesteuerte Kreiselpumpe (Abb. 3.5-3, schwarz) erzeugt. Durch die Einstellung geringer Drehzahlen, kann dabei eine Mikroalgen schonende Förderung erfolgen<sup>17</sup>. Zusätzlich ist ein Schaltschrank (Abb. 3.5-3, blau) zur Steuerung und zur Erfassung der in der Messstrecke (Abb. 3.5-3, türkis) ermittelten Werte integriert.

Als wesentliche spezifische Prozessvariablen des Reaktorsystems werden pH-Wert, Sauerstoffgehalt sowie optische Dichte im Betrieb erfasst werden. Dabei wird die Kohlenstoffdioxid dosierung in Abhängigkeit von dem pH-Wert gesteuert.

Der Austrag von Biomasse soll in beiden Systemen, FPA und tubulärer Photobioreaktor, über die Optische Dichte geregelt und über ein Flotationsverfahren (Abschäumung) realisiert werden.

Im Rahmen der Inbetriebnahme der FPA Photobioreaktoren werden zwei Module seit vier Monaten im Batch Modus betrieben. Dabei hat man zwei verschiedene Ansätze verfolgt. Ein Photobioreaktor wurde dabei in regelmäßigen Abständen mit Prozesswasser aus der LANDMARK-Anlage, die schon einen dichten Fischbesatz hatte, aufgefüllt. Die Nitratstickstoff- sowie die Phosphatkonzentration wurden im Produktionsverlauf überwacht. Bei einem zu starken Konzentrationsabfall wurden Nitrat- sowie Phosphat nachdosiert, da die Konzentrationen dieser Stoffe im Prozesswasser der LANDMARK-Anlage für einen Fed-Batch-Betrieb zu gering waren.

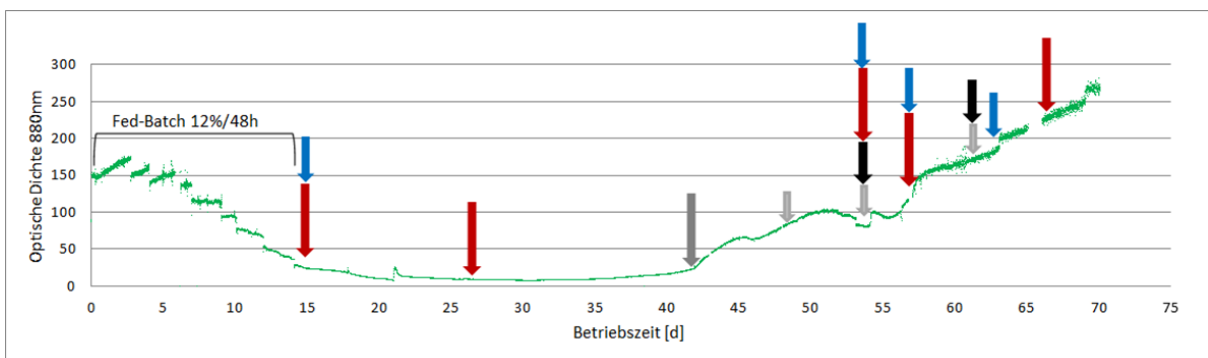


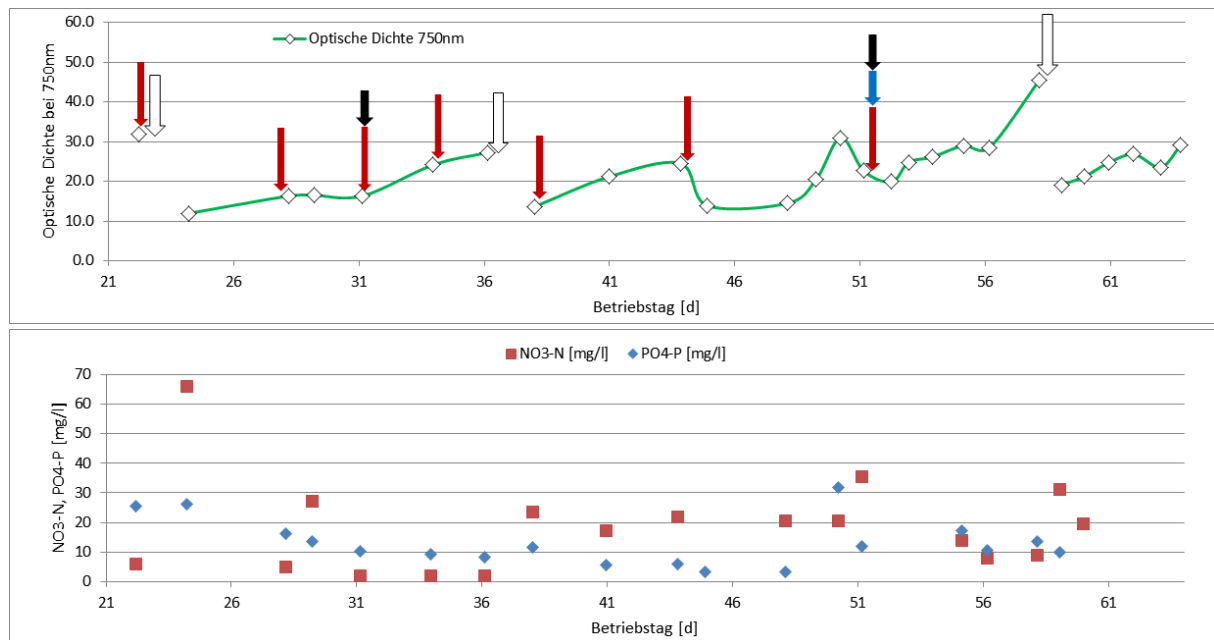
Abb. 3.5-4: Zeitverlauf der Biomassenkonzentration mit Prozesswasser als Basismedium. In den ersten 15 Tagen wurde ein Fed-Batch Betrieb durchgeführt bei dem alle 48h ein Reaktorvolumenanteil von 12% ausgetauscht wurde. Die optische Dichte bei 880nm ist hier ein Maß für die Biomassenkonzentration. Folgende Symbolik wird verwendet: Roter Pfeil - Addition 50-80 mg NO<sub>3</sub>-N/l, Blauer Pfeil - Addition 52 mg PO<sub>4</sub>-P/l, Dunkelgrauer Pfeil – Addition Eisencitrat (+24 mg Fe/l), Hellgrauer Pfeil – Addition Eisencitrat (+1 mg Fe/l), Schwarzer Pfeil – Addition von Spurenelementmix.

Im einen zweiten Ansatz wurde künstliches Seewasser (Prozesswasser), welchem Nitrat und Phosphat in den notwendigen Konzentrationen zugesetzt wurden, als Prozesswasser, im Fed-Batch-

<sup>17</sup> Vandanjon L., Rossignol N., Jaouen P., Robert J.M., Quéméneur F., 1998. Effect on Shear on two Microalgae Species. Contribution of Pumps and Valves in Tangential Flow Filtration Systems.

Betrieb eingesetzt. Als Inokulum wurden *N. salina* Kulturen aus 6l FPA Reaktoren genutzt. Um die Biomassenkonzentrationen im Reaktor zu quantifizieren, wurde die optische Dichte bei 750nm gemessen. Zusätzlich wurde in Kooperation mit der Hochschule für Technik und Wirtschaft ein Streulichtverfahren bei 880nm etabliert. Die notwendigen Kalibrierfunktionen für eine Umrechnung in eine Biomassenkonzentration werden zurzeit noch erstellt.

Im Laufe der ersten zwei Versuchsmonate kristallisierte es sich bei beiden Reaktoransätzen heraus, dass die Fed-Batch Betriebsweise, auch nach zusätzlicher Addition von Phosphat- und Nitratlösung, nicht ausreichend für die Erhaltung eines stabilen Prozesses war. So kam es bei beiden Ansätzen nach ca. drei Wochen Betrieb zur starken Ausdünnung (Versuch Prozesswasser) bzw. zum vollständigen Zusammenbruch der Kultur (Versuch künstliches Prozesswasser).



**Abb. 3.5-5:** Exemplarischer Zeitverlauf der Biomassenkonzentration (Maß dafür ist OD 750nm) in den ersten Betriebswochen eines 30 Liter Flat Panel Airlift Reaktor auf Basis von künstlichen Prozesswasser (20 psu): Roter Pfeil - Addition von 50-80 mg NO<sub>3</sub>-N/l, Blauer Pfeil - Addition von 52 mg PO<sub>4</sub>-P/l, Addition von Spurenelementmix +1mg Fe/l, Weißer Pfeil - Austausch der Kulturlösung durch neues Medium in % des Gesamtvolumens. Unten: Zeitverlauf der Nitratstickstoff- und der Phosphat-Phosphor-Konzentration im extrazellulären Medium der Reaktorlösung.

Dies deutete darauf hin, dass, wie in den Versuchen in 3.4.3.3 eine Überlagerung von Eisen- und Spurenelementmangel vorlag. Ein stabiler Betrieb und Produktion konnte erst nach regelmäßigen Zugaben von Eisencitrat und Spurenelementen erreicht werden. In Abb. 3.5-4 ist der Biomassenverlauf eines 70 Tage dauernden Versuches mit Prozesswasser dargestellt. In den ersten drei Wochen wurde eine Fed-Batch-Betriebsweise durchgeführt, bei dem alle 48h ein Anteil von 12% des Reaktorvolumens durch Prozesswasser ausgetauscht wurde. Die Abb. 3.4-5 zeigt in diesem Versuchsabschnitt eine stetige Abnahme der Biomassenkonzentration bis zu einem Wert von 10% der Anfangskonzentration. Auch nach der Zudosierung von Nitrat- und Phosphatlösung konnte kein signifikantes Wachstum erzielt werden. Erst nach der Zugabe von Eisencitrat am Tag 42 veränderte sich die Situation. Die Biomasse im Photobioreaktor stieg kontinuierlich an. Eine weitere starke Wachstumszunahme folgte nach der Zugabe von einer Spurenelemente-Lösung am Tag 54 bestehend aus den Elementen Mangan, Zink, Molybdän, Kobalt und Kupfer und einer zusätzlichen Nachdosierung von Eisen, Nitrat und Phosphat (Abb. 3.5-4). Es ist also zu erwarten, dass unter den Bedingungen einer Fischproduktion weder die Basiskomponenten (Salzmischung) noch die aus dem Futter akkumulierten Stoffe im Prozesswasser ausreichende Mengen an Eisen und Spurenelementen mit sich führen, die benötigt wer-

den. Zusätzlich wurde beobachtet, dass es während den Mangelsituationen zu erheblichem Fouling an den Wandungen in den Photobioreaktoren kam.

Zurzeit wird seit 60 Tagen ein stabiler Fed-Batch Prozess betrieben (Siehe Abbildung 3.5-5). Dabei wird künstliches Prozesswasser, was mit Nitrat, Phosphat, Eisen und Spurenelementen ergänzt worden ist, als Nährmedium eingesetzt. Zusätzlich werden die genannten Substanzen regelmäßig in konzentrierter Weise in den Reaktor nachdosiert. Aufgrund der optimalen Nährstoffbedingungen produzierte der Bioreaktor konstant und es konnten keine Foulingprozesse beobachtet werden.

Obwohl die Fed-Batch Betriebsweise nicht das Verfahren der Wahl für eine integrierte Mikroalgenproduktion mit Prozesswasser aus einer marinen Fischzucht ist, konnten die ersten Betriebsmonate ohne Zellretention zum tieferen Verständnis der Dynamik eines Photobioreaktors beitragen. Letztendlich wird deutlich, dass, neben der Implementierung einer Zellretention und einer Erntestufe, innerhalb der kontinuierlichen Mikroalgenproduktion, die Addition von Spurenelementen und Eisen verfahrensentcheidend ist. Dabei ist es wichtig, die Dosierungen der entsprechenden Metallionen möglichst stöchiometrisch zu vollziehen, um einerseits eine Überdosierung im Photobioreaktor und andererseits eine Akkumulation im Prozesswasser der Fischproduktion zu vermeiden. In der folgenden, weiteren Projektphase müssen die Gehalte an Eisen und weiteren Spurenelementen in der Algenbiomasse bestimmt werden, um Basiswerte für den optimalen Bedarf eines Photobioreaktors zu ermitteln. Andererseits müssen durch replizierte Experimente mit Mikrotiterplatten Grenzwerte zur sublethalen Limitierung und Toxizitäten für Metallionen erarbeitet werden. So kann z.B. Mangan bereits in geringen Konzentrationen bei *Nannochloropsis* wachstumshemmend wirken, während Selen wachstumsaktivierende Eigenschaften in einem großen Konzentrationsbereich zeigt<sup>18</sup>. Die Kenntnis über die notwendige und richtige Dosierung von Metallionen stellt einen weiteren Schlüssel zur Steigerung der Produktivität der Photobioreaktoren in diesem produktionsintegrierten Verfahren dar und kann somit zur Steigerung der Wirtschaftlichkeit des Verfahrens führen.

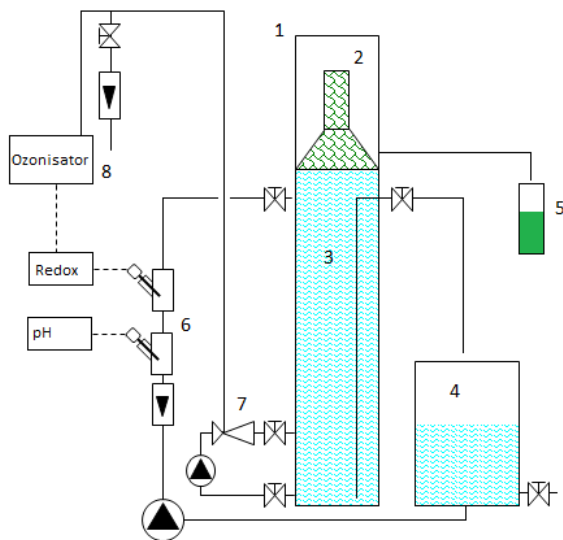
---

<sup>18</sup> Gao Y., Yang X., Chen X., Wang D., Hong L., 2002. Effect of Zinc, Selenium and Manganese on the Growth of a Marine Microalga *Nannochloropsis oculata* (*Eustigmatophyceae*). Chinese Journal of Oceanology and Limnology 20, 93-101

## 3.6 Vorversuche zur Prozessoptimierung [AP 5]

### 3.6.1 Vorversuche zur Flotation von *N. salina*

In Rahmen von Vorversuchen für das Arbeitspaket 4 wurde die energetische sowie verfahrenstechnische Eignung eines Flotationsverfahrens als Erntestufe innerhalb einer produktionsintegrierten Mikroalgen-Anlage überprüft. Voran gegangene Experimente haben gezeigt, dass eine Abschäumung bzw. Flotation von Mikroalgen im technisch sinnvollen Maßstab nur mit einem Luft/Ozon-Gemisch machbar ist (Kulakowski 2009, Kube 2006, Csordas & Wang 2003). Im Folgenden wurden Versuche durchgeführt, um in erster Linie den Effekt des Ozons auf die Flotationskinetik zu quantifizieren und letztendlich Auslegungsparameter für einen entsprechenden Flotationsapparat zu erhalten. Für die Versuche wurde ein Abschäumer (Modell AA III P) der Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH genutzt. Dabei wurden Batchversuche mit Algensuspension (*Nannochloropsis salina*) durchgeführt, d.h. die Versuchslösung wurde bis zur kompletten Ausdünnung flotiert. Als wesentliche Parameter wurden der Fluss an Schaumkonzentrat, Redoxpotential, pH-Wert und die Biomassenkonzentration des Retentats, sowie des Konzentrats erfasst. Ausgehend von den Konzentrations-Zeitverläufen konnte eine Abschäumkinetik und somit eine Beurteilung der Energieeffizienz und der Dimension des Ernteverfahrens durchgeführt werden. In der Abb. 3.6-1 ist der Versuchsaufbau dargestellt.



**Abb. 3.6-1: Versuchsaufbau für die Flotation von der Mikroalge *N. salina*: 1. Abschäumer; 2. Schaumkopf mit Schaumrohr; 3. Reaktionsraum (50l); 4. Pufferbehälter für Retentat; 5. Schaumfalle für Flotat; 6. Messstrecke mit pH-, Redoxpotential- und Volumenstrommessung; 7. Injektionsdüse für Luft- und Ozongemisch; 8. Ansaugstelle für Luft. Gas- und Flüssigphase fließen im Gegenstrom.**

Im Versuchsaufbau wurde ein Pufferbehälter für das Retentat implementiert, um einen Gegenstrom der Gas- und Flüssigphase darzustellen und ein konstantes Niveau während der Abschäumung zu halten. Dabei simuliert der Pufferbehälter mit Algenlösung einen Photobioreaktor. Die Ozondosierung wurde durch die Erfassung des Redoxpotentials überwacht. Der Fluss an Konzentrat wurde über eine regelmäßige Volumenbestimmung in der Schaumfalle erfasst. Zur Zeit der Versuche standen als Basislösung für das Retentat Mikroalgenkulturen aus Säulenreaktoren zur Verfügung. Die Dichten der Basislösung lagen dabei im Bereich von 150-300 mg Biomasse/L. Die Konzentrationen an Mikroalgen wurden durch Messung der optischen Dichte bei 665nm erfasst. Zur Erfassung einer idealen Flotationskinetik wurden Versuche bei zwei verschiedenen Dosierungen an Ozon durchgeführt (20- und 10 g/m<sup>3</sup>\*h).

In Abb. 3.6-2 ist die Biomassenkonzentration an Mikroalgen im Retentat als Funktion der Flotationsdauer und bei verschiedenen Ozondosierungen dargestellt. Im Wesentlichen wird deutlich, dass bei gleichem Volumenstrom an Flotationsgas und gleichen hydrodynamischen Bedingungen im Reaktionsraum ein deutlich schnellerer Schaumaustrag von Biomasse durch steigende Ozondosierung folgt. So wurde bei einer Ozondosierung von 10 g/(m<sup>3</sup>\*h) eine Flotationsdauer von 180min benötigt, um 99% der Mikroalgenbiomasse aus dem Retentat auszutragen. Bei einer Verdopplung der Ozondosierung konnte diese Flotationsdauer auf 20min reduziert werden.

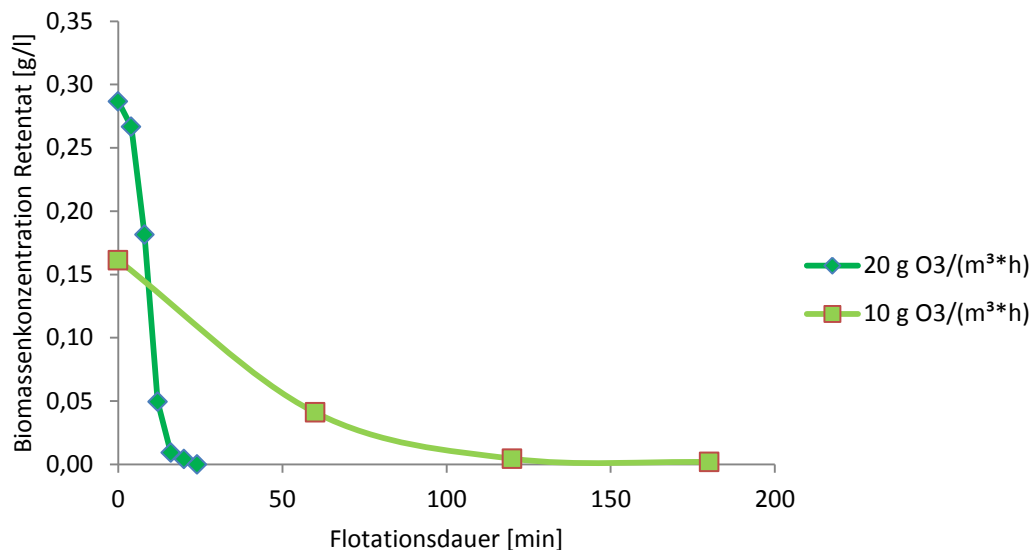


Abb. 3.6-2: Biomassenkonzentrationen im Retentat als Funktion der Flotationsdauer. Die Batchversuche wurden bei einer Ozondosierung von 10 g Ozon/(m<sup>3</sup> Reaktionsraum\*h) (hellgrün) und 20g Ozon/(m<sup>3</sup> Reaktionsraum\*h) durchgeführt.

Der dargestellte Zusammenhang zwischen Ozondosierung und Austrag an Biomasse legt die Vermutung nahe, dass die Flotationskinetik für *Nannochloropsis salina* durch die Ozondosierung bestimmt wird. Es wird vermutet, dass aufgrund des partiellen kationischen Charakters des Ozonmoleküls eine Entpolarisierung der anionischen Mikroalgenoberfläche (Polysaccharide) induziert wird oder es zur Teiloxidation von Oberflächensacchariden kommt. Letztendlich führt dies zu einer Herabsetzung der

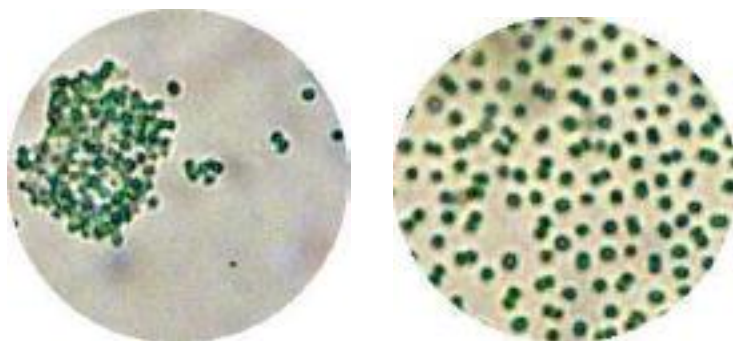


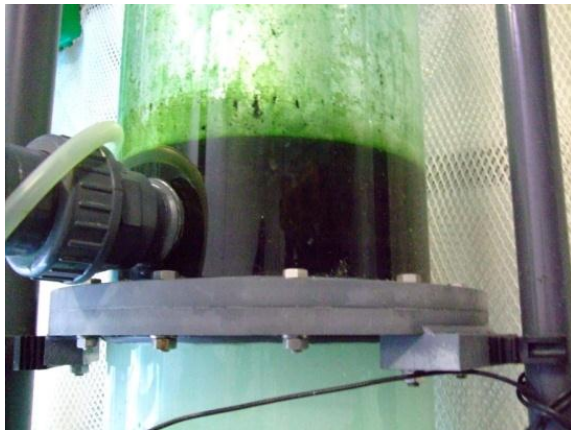
Abb. 3.6-3: Mikroskopische Aufnahmen von Konzentrat aus einem Algenabschäumer (links) und einer vitalen Algenkultur (rechts). Bei beiden Aufnahmen handelt es sich um *Nannochloropsis salina*.

Abstoßungskräfte und somit zu einer Flockung der Algenpartikel sowie zu einer Anlagerung an die Gasbläschen im Reaktionsraum. Eine Agglomeration von Mikroalgen konnte in Vorversuchen durch mikroskopische Aufnahmen des Flotats nachgewiesen werden (Abb. 3.6-3).

Eine oxidative Zerstörung durch die Ozon gestützte Flotation von Mikroalgen kann aus zwei wesentlichen Gründen ausgeschlossen werden. Erstens ergibt die Verwendung von Konzentrat aus einem Algenabschäumer vitale Algenlösungen (Abb. 3.6-4), die sich als Starterkultur verwenden lassen. Zweitens kann eine signifikante Oxidation allein aus stöchiometrischen Gründen ausgeschlossen

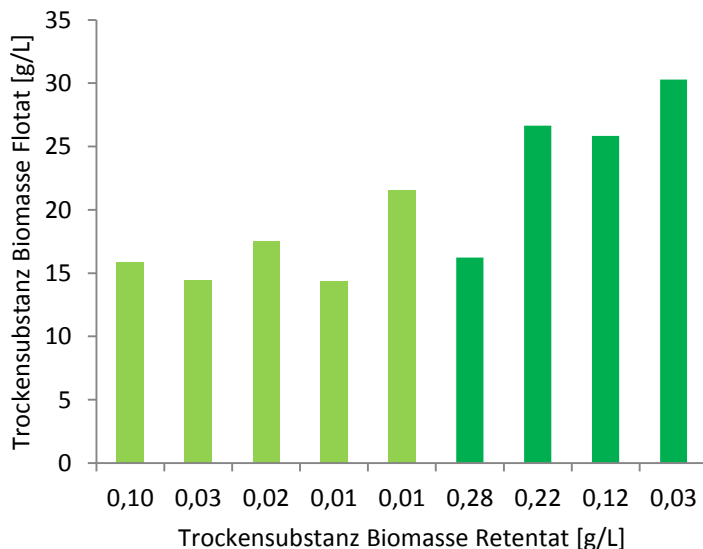


werden. So hat man bei Einstellung eines optimalen Betriebspunktes ein Ozonbedarf von 0,01 g Ozon/g geerntete Biomasse (Siehe auch Abbildung 3.6-6).



**Abb. 3.6-4:** Ansicht des Schaumkopfes mit Algenkonzentrat (oben) und des bereits ausgedünnten Retentats (unten) bei einem Austragsgrad von 95% der Algenbiomasse.

In Abb. 3.6-5 sind die Biomassenkonzentrationen des Flotats bei zwei verschiedenen Ozondosierungen dargestellt. Die einzelnen Messungen wurden bei verschiedenen mittleren Konzentrationen im Retentat erfasst. Bei einer bestimmten Betriebsbedingung (20g O<sub>3</sub>/(m<sup>3</sup>\*h) und 29 mg TS/L) konnte eine Flotatkonzentrationen von 30,3 g/L erreicht werden. Ausgehend von der Angangskonzentration im Retentat konnte so eine Aufkonzentrierung um den Faktor 106 erreicht werden. Dies zeigt eindeutig, dass sich die Abschäumung als Ernteverfahren innerhalb einer produktionsintegrierten Mikroalgen-Anlage eignet.



**Abb. 3.6-5:** Analyse der Biomassenkonzentration des Flotats bei zwei verschiedenen Ozondosierungen (10 g/(m<sup>3</sup>\*h)- Hellgrün; 20 g/(m<sup>3</sup>\*h)-dunkelgrün) und bei verschiedenen temporären Biomassenkonzentrationen im Retentat.

Wichtig für die Bewertung des Flotationsverfahren ist die spezifische Ernteleistung des Verfahrens, d.h. welcher Massenstrom an Biomasse pro Querschnittsfläche Reaktionsraum wird durch den Abschäumer ausgetragen. In Abb. 3.6-6 wurde die Ernteleistung und das Redoxpotential gegen die Konzentration im Retentat bei 20g/(m<sup>3</sup>\*h) Ozondosierung aufgetragen. Es ist erkenntlich, dass es einen optimalen Betriebspunkt gibt, bei dem sich eine maximale spezifische Ernte (3133 g Alge/(m<sup>2</sup>\*h)) einstellt. Dabei beträgt die Ozondosierung an diesem Punkt einen Wert von 0,01 g Ozon/ g geerntete Alge. Im niedrigen

Konzentrationsbereich (Austragsgrad Retentat > 85%) gibt es neben der geringen Ernteleistung eine starke Zunahme des Redoxpotentials. In diesem Bereich sind oxidative Schäden an den Mikroalgen zu erwarten. Aus diesem Grund eignet sich die Abschäumung nicht als „Dead-End-Verfahren“. Dies bedeutet, dass ein Abschäumer parallel zu einem Photobioreaktor geschaltet werden muss. D.h., dass immer nur ein Teil der Biomasse in der Einlaflösung durch die Schäumung ausgetragen wird. Die abgereicherte und vitale Auslaflösung wird dem Photobioreaktor wieder zurückgeführt.

Ausgehend von den dargestellten Ergebnissen liegt es nahe, dass die Ernteleistung der Abschäumung einerseits von der Biomassenkonzentration und andererseits von der Ozondosierung abhängig ist. Durch das Einstellen eines optimalen Verhältnisses von gelösten Ozon zu gelöster Biomasse im Reaktionsraum lassen sich oxidative Schäden begrenzen bzw. ausschließen. Die mathematischen Zusammenhänge müssen in weiteren Versuchen genauer quantifiziert werden. Tendenziell lässt sich

jedoch sagen, dass mit einer Erhöhung der Biomassenkonzentration im Retentat und einer Erhöhung der Ozondosierung eine Steigerung der spezifischen Ernteleistung zu erwarten ist.

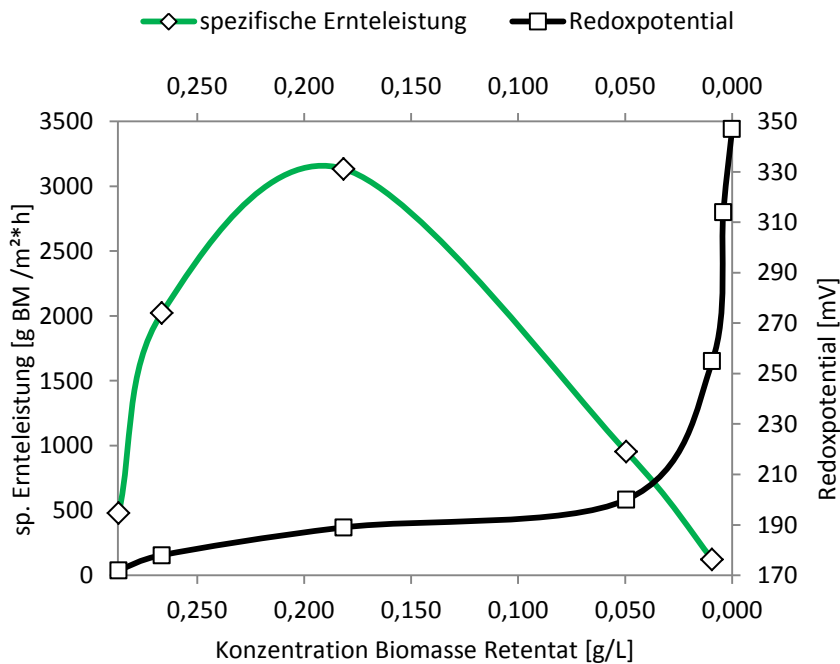


Abb. 3.6-6: Spezifische Ernteleistung (g geerntete Biomasse/m<sup>2</sup> Querschnitt Reaktionsraum\*h) und Redoxpotential als Funktion der Biomassenkonzentration im Retentat.

### 3.6.1.1 Energetische Bewertung der Algen-Abschäumung

Der Energieverbrauch des Algen-Abschäumers definiert sich hauptsächlich über das Eintragen des Flotationsgases und der Ozonherstellung. Bei einer Ozondosierung von 20 g/(m<sup>3</sup>\*h) und einer Eintragung von 11 m<sup>3</sup>/(m<sup>2</sup>\*h) Flotationsgas ergab sich bei einer Ausgangskonzentration von 287mg

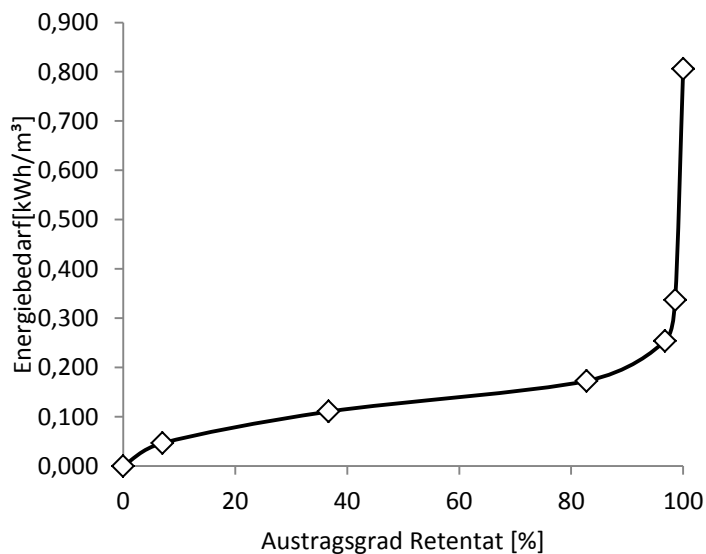


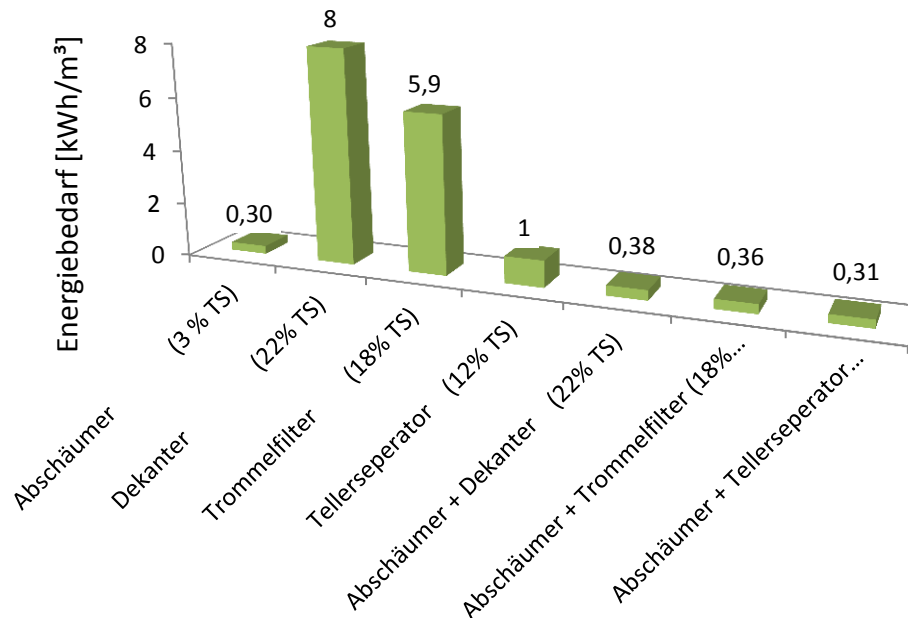
Abb. 3.6-7: Energiebedarf in kWh/m<sup>3</sup> Reaktionsraum als Funktion des Austragsgrades an Biomasse im Retentat.

Alge/l ein Energiebedarf von 0,35 kWh/m<sup>3</sup>, um einen Austragsgrad von 100% zu erreichen. In Abb. 3.6-7 ist der Energiebedarf der Abschäumung als Funktion des Austragsgrades dargestellt. Es wird deutlich, dass der Energiebedarf ab einem Austragsgrad von 80% übermäßig zunimmt. Durch eine Überdosierung an Ozon und geringe Biomassenkonzentrationen in diesem Bereich wird die Abschäumung ineffizienter.

Unter der Annahme einer Parallelschaltung des Abschäumers, einem Austragsgrad im Gleichgewicht von 37% (optimaler Betriebspunkt) und von 287 mg Alge/L Einlaufkonzentration ergibt sich ein theoretischer Energieverbrauch von 0,30 kWh/m<sup>3</sup> Einlauflösung. Dieser Wert



dient als Vergleichswert für andere Ernteeinheiten, da typischerweise die Energieverbräuche pro m<sup>3</sup> Einlauflösung und auf eine 100 prozentige Abreicherung bezogen sind. In Abb. 3.6-8 ist der Vergleich des Algen-Abschäumers mit anderen Ernteeinheiten wie Trommelfilter, Dekanter und Tellerseparator dargestellt. Zusätzlich sind die Energiekosten bei einer Reihenschaltung von Abschäumer und den entsprechenden Ernteeinheiten dargestellt.



**Abb. 3.6-8: Energiebedarf in kWh/m<sup>3</sup> Einlauflösung von verschiedenen Ernteverfahren für Mikroalgen. Durch eine Vorkonzentrierung mit dem Abschäumer wurde der Gesamtenergiebedarf deutlich gesenkt. Die Berechnungen beziehen sich auf eine Einlaufkonzentration von 287 mg Biomasse/l (Daten für Dekanter, Trommelfilter und Tellerseparator aus Grima et al. 2004<sup>19</sup>)**

Da die Ausgangslösung durch den Abschäumer um den Faktor 106 aufkonzentriert wird, reduziert sich die Wassermenge, die in einer nachfolgenden Aufkonzentrierung durchgesetzt wird, entsprechend. Folglich können die Energiekosten für die Ernte der Algenlösung erheblich durch die Reihenschaltung eines Abschäumers gesenkt werden. Die dargestellten Flotationsversuche konnten nur für geringe Biomassekonzentrationen dargestellt werden. Im Verlauf der zweiten Projektphase muss die Ernteleistung im Biomassenkonzentrationsbereich typischer industrieller Photobioreaktoren (Röhrenreaktor und Flachplattenreaktor) bewertet werden. Grundsätzlich wird jedoch eine Steigerung der Ernteleistung und der Energieeffizienz durch die höheren Konzentrationsbereiche erwartet. Durch weitere Optimierungen in Bezug auf Ozondosierung, Schaumrohrgeometrie und Volumenstrom an Flotationsgas ist eine zusätzliche Effizienzsteigerung denkbar.

<sup>19</sup> E. Molina Grima, F.G. Ación Fernández and A. Robles Medina, 2004. Downstream Processing of Cell-mass and Products. In: Richmond A. (Ed.). Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. S.215 ff

### 3.6.1.2 Potentiale der Algen-Abschäumung

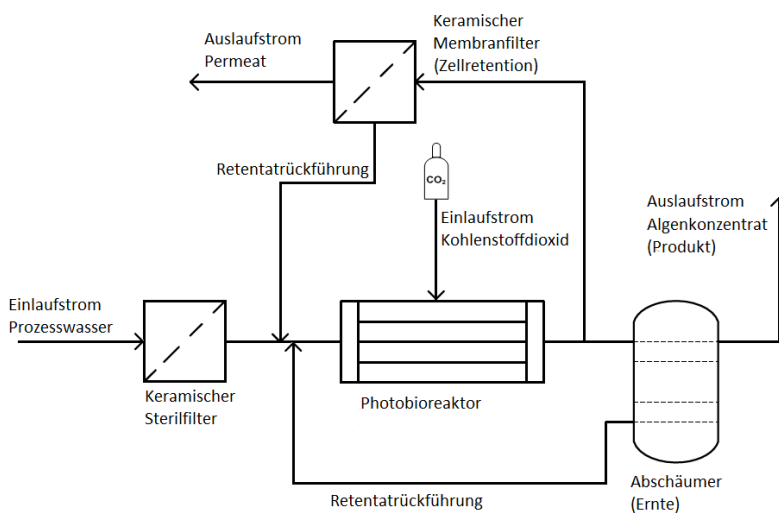
Neben den nachgewiesenen Ernteleistungen birgt die Integration der Abschäumung für den Betrieb einer produktionsintegrierten Algenanlage folgende Potentiale:

1. Durch das Einbringen von Flotationsgas kann überschüssiger Sauerstoff ausgetragen werden. Durch die Verwendung von Verbrennungsgas aus einem Blockheizkraftwerk als Rohgas für die Flotation kann dabei auch zusätzlich Kohlenstoffdioxid eingetragen werden.
2. Durch die oxidative Wirkung des Ozons können extrazelluläre organische Substanzen, die inhibierend auf das Wachstum von Mikroalgen wirken, reduziert werden. Auf diese Weise kann die Produktivität des Photobioreaktors gesteigert werden.
3. Die Algenabschäumung ist ein wesentlicher Schritt, um die Energieeffizienz einer algenbasierten Biogasproduktion zu steigern. Dabei könnte das Flotat aus dem Abschäumer sogar direkt in den Vergasungsprozess eingeleitet werden.
4. Aus betriebswirtschaftlicher Sicht ist die Algenabschäumung für ein Verfahren mit marinen Algen deutlich besser geeignet als Ernteeinheiten wie Tellerseparatoren oder Dekanter. Aufgrund der Korrosivität des Prozesswassers müssten diese Einheiten aus speziell beschichteten Edelstahl gebaut sein. Dabei würde es sich um Sonderanfertigungen handeln, die mit entsprechenden Investitionskosten verbunden wären.
5. Durch die Integration der Abschäumung können nachgeschaltete Ernteeinheiten deutlich kleiner dimensioniert werden.

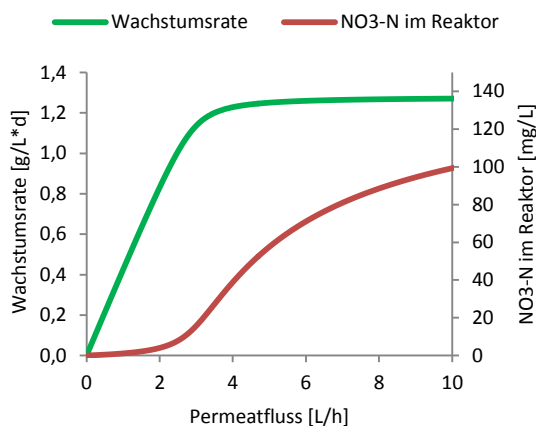
### 3.6.2 Vorversuche zur Zellretention von *N. salina*

#### 3.6.2.1 Vorausgehende Modellierung der Zellretention

Ausgehend von Nährstoffdaten der LANDMARK Belastungsstufe ( $\text{NO}_3\text{-N} \approx 145 \text{ mg/L}$ ,  $\text{CO}_2 \approx 81 \text{ mg/L}$ , Tab. 3.2-1), wurde eine erste abschätzende Modellierung eines Zellretentionsverfahrens durchgeführt. Die Modellierung dient einerseits als Basis für die Auslegung einer Zellretentionsmembran und andererseits als Grundlage für weitere Messprogramme. Basis für die Modellierung ist eine vorangehende Massenbilanz des produktionsintegrierten Algenproduktionssystems. In Abb. 3.6-9 ist ein Fließschema des geplanten Produktionssystems dargestellt, aus dem sich eine entsprechende Massenbilanz herleiten lässt. So sind die wesentlichen einlaufenden Massenströme die Prozesswasser sowie die Kohlenstoffdioxidzufuhr. Auslaufende Massenströme sind das Permeat aus der Zellretentionsstufe sowie das Konzentrat aus der Abschäumung. Bezug nehmend auf die bisherigen Ergebnisse ist hierbei eine Parallelschaltung der Abschäumung sowie der Zellretention an den Photobioreaktor geplant.



**Abb. 3.6-9:** Fließschema der geplanten produktionsintegrierten Algenproduktion. Basis für die Massenbilanz und somit für die Modellierung stellen die einlaufenden Massenströme Prozesswasser und Kohlenstoffdioxid sowie die auslaufenden Massenströme Algenkonzentrat und Permeat dar.



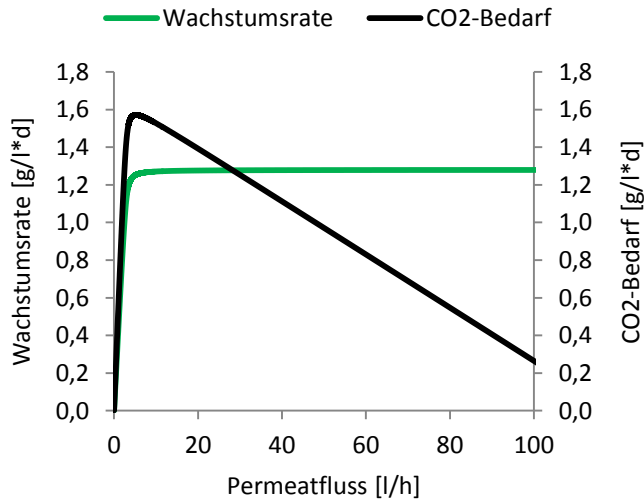
**Abb. 3.6-10:** Modellierte Wachstumsrate an *Nannochloropsis salina* sowie Gleichgewichtskonzentration für Nitratstickstoff in einem 120 l Photobioreaktor als Funktion des Permeatflusses durch eine Zellretentionsstufe.

geplant.

Da Kohlenstoffdioxid bei Bedarf in den Photobioreaktor dosiert wird, ist zunächst die mit dem Prozesswasser zugeführte Nitratstickstoffmenge für die Biomasseproduktion in dem Photobioreaktor bestimmend. Unter der Annahme einer konstanten Biomassekonzentration und einer Monod-Kinetik für Nitratstickstoff als limitierendes Substrat, wurde die mögliche Wachstumsrate an Biomasse, die Nitratstickstoffkonzentration im Reaktor und der Bedarf an

Kohlenstoffdioxid als Funktion des Permeatflusses abgeschätzt. Als Monod-Parameter wurden für die maximale Wachstumsrate  $r_{B,max}=1,3 \text{ g Biomasse/L*d}$  und für die Monod-Konstante  $K_{S,NO_3}=2,3 \text{ mg NO}_3\text{-N/L}$  angenommen. Die Modellierung wurde hier auf einen 120 l Flachplatten-Photobioreaktor mit Luftheber (Subitec) bezogen, lässt sich jedoch auch für einen tubulären Photobioreaktor anwenden. In der Abb. 3.6-10 ist die Wachstumsrate sowie die Nitratstickstoffkonzentration im Photobioreaktor als Funktion des Permeatflusses dargestellt.

Es ergibt sich, dass ein Permeatfluss von 4 L/h für einen 120 L Flat-Panel-Airlift Reaktor benötigt wird, um 95% der maximal möglichen Wachstumsrate zu erreichen. Dieser hohe Durchfluss würde auf Grund der geringen relativen Wachstumsrate bei einem konventionellen Chemostat-Betrieb zu einer starken Ausdünnung an Mikroalgen und entsprechend geringen absoluten Wachstumsraten führen.



**Abb. 3.6-11: Modellierter Wachstumsrate für *Nannochloropsis salina* sowie der zusätzliche CO<sub>2</sub>-Bedarf durch eine Begasung als Funktion des Permeatflusses durch eine Zellretentionsstufe.**

Eine weitere Zunahme des Permeatflusses würde nicht zu einer Zunahme der Wachstumsrate, sondern lediglich zu einer Zunahme der Gleichgewichtskonzentration an Nitratstickstoff im Photobioreaktor führen. In Abb. 3.6-11 ist die absolute Wachstumsrate sowie der zusätzliche CO<sub>2</sub>-Bedarf durch eine Begasung dargestellt. Da das Prozesswasser eine gewisse Menge an physikalisch gelösten sowie anorganisch gebundenen Kohlenstoffdioxid enthält, nimmt die, dem Photobioreaktor zugeführte Kohlenstoffdioxidfracht, mit steigendem Prozesswasserzufluss und damit ansteigendem Permeatstrom zu. Folglich nimmt dann der zusätzliche Kohlenstoff-

dioxidbedarf durch eine Begasung ab. Durch eine zunehmende Zehrung an Kohlenstoffdioxid aus dem Prozesswasser nimmt auch die Menge der Sauerstofffracht, die der Fischproduktion zurückgeführt wird, zu. Dies hat auf Seiten der Fischzucht den Vorteil, dass einerseits der Sauerstoffbedarf und andererseits die Kapazität einer Kohlenstoffdioxidengasung gesenkt werden kann und somit Energie- sowie Betriebsmittelkosten eingespart werden können.

In einer zweiten Projektphase muss eine experimentelle Präzisierung der Modellierung durchgeführt werden und durch weitere Parameter, wie Lichtregime, Nährstoffschwankungen und hydrodynamische Belastungen der Mikroalgen erweitert werden. Ziel ist es dabei, eine wirtschaftliche sowie energetische Beurteilung eines optimalen Permeatflusses zu erhalten. Im gleichen Zuge wird durch die Auswahl einer geeigneten Membran eine weitere Optimierung erwartet.

### 3.6.2.2 Laborversuche zur Zellretention von *N. salina*

Im Rahmen von Vorversuchen für das Arbeitspaket 4 wurde eine Zellretentionsanlage im kleinen Maßstab aufgebaut, um die Filtrierbarkeit der Mikroalge *Nannochloropsis salina* sowie die Machbarkeit des Membranverfahrens zu überprüfen. Es wurde ein Membranverfahren realisiert, das relativ geringe Druckdifferenzen als Triebkraft für den Permeatfluss benötigt. In Abb. 3.6-12 ist der entsprechende Versuchsaufbau dargestellt. Im Versuch wurde ein Unterdruck durch ein Ansaugen mit einer Schlauchpumpe auf der Permeatseite erzeugt. Durch eine regelmäßige hydrodynamische Rückspülung mit Permeat und eine pneumatische Rückspülung mit Luft und reinen Kohlenstoffdioxid wurde Fouling- sowie Verblockungseffekten entgegen gewirkt.

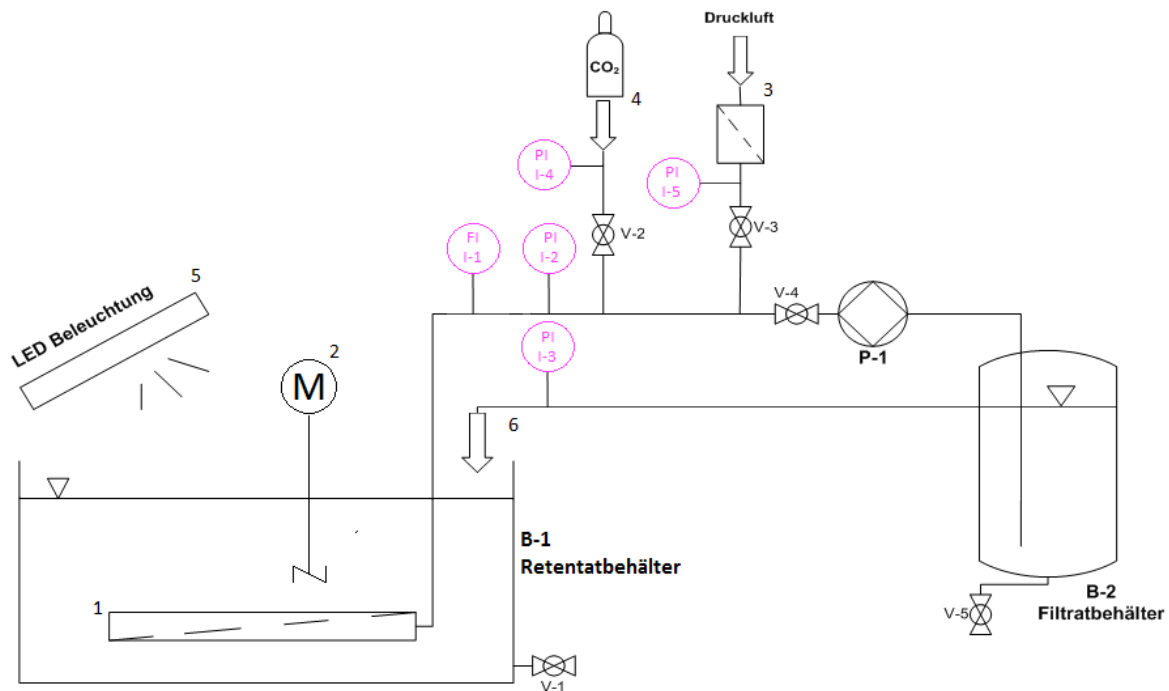


Abb. 3.6-12: Versuchsanlage für die Zellretention von *N. salina* mit hydraulischer und pneumatischer Rückspülmöglichkeit; B-1 - Retentatbehälter mit Algenlösung, B-2 - Filtratbehälter, P-1 programmierbare Schlauchpumpe mit wechselbarer Förderrichtung, 1 - keramische Monokanal Rohrmembran, 2 - Rührwerk, 3 - Druckluftzufuhr mit vorgeschalteten Sterilfilter für Rückspülung, 4 - Kohlenstoffdioxidzufuhr (10 bar) für Rückspülung, 5 - 5,8W LED Beleuchtung mit roten und blauen Dioden 6 - Permeatrückführung.

Um einen längeren Membranbetrieb zu simulieren, wurde das Permeat aus der Algensuspension wieder zurückgeführt. Um eine gleichmäßige Lichtbestrahlung der Mikroalgen zu ermöglichen, wurde die Suspension mit einer 5,8W LED-Leuchtplatte bestrahlt und zusätzlich gerührt. Die Mikroalgenkonzentration wurde über eine photometrische Chlorophyllbestimmung bei 665nm detektiert und lag zu Beginn bei 7,5 mg/l. In Tab. 3.6-1 sind die Eigenschaften der verwendeten Membran dargestellt.

Tab. 3.6-1: Eigenschaften der Zellretentions-Membran

Membran	
Hersteller	3C Membrane AG
Geometrie	Rohrmembran, monokanal
Material	Aluminiumoxid
Aufbau	asymetrische Membran, Trennschicht außen
Porenweite Trennschicht	200 nm
Porenweite Stützschiicht	800 nm
Außendurchmesser	15mm
Innendurchmesser	8 mm
Membranfläche	0,0141 m <sup>2</sup>

Da die Porenweite der äußeren Trennschicht 0,2 µm beträgt und die Größe von *Nannochloropsis salina* zwischen 2-3µm liegt, eignete sich die verwendete Membran für eine entsprechende Zellretention. Das Membranmaterial weist zudem eine hohe chemische Beständigkeit auf, um es bei Bedarf durch Fouling mit diversen Lösungen zu reinigen. In Abb. 3.6-13 sind die Ergebnisse der Vorversuche zusammengefasst. Dabei ist der bei Filtrationsbetrieb erreichte Membranfluss (Volumenstrom pro Fläche Membran) und der Nettofluss als Funktion der Betriebsdauer dargestellt.

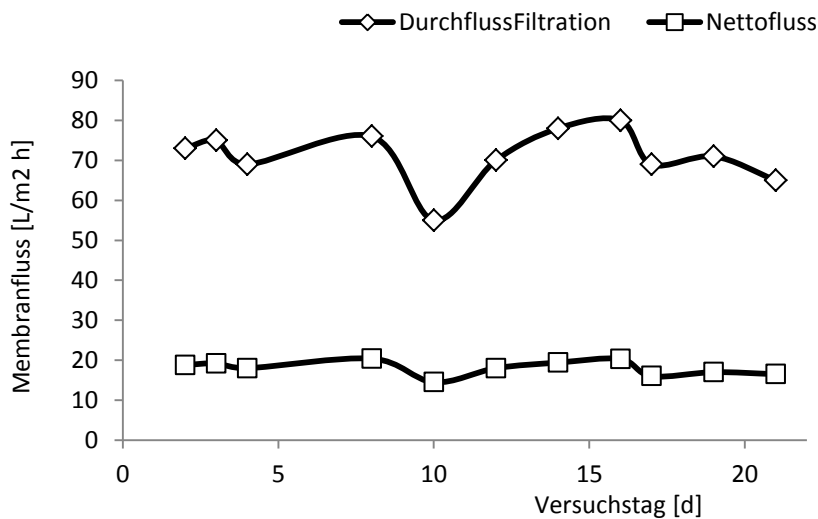
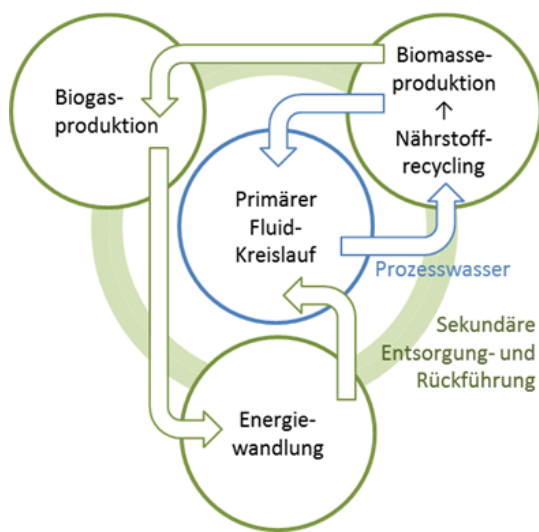


Abb. 3.6-13: Ergebnisse eines Versuches zum Membranfluss in einem mit *Nannochloropsis salina* angereichertem Fluid.

Der Nettofluss errechnet sich hierbei aus dem Durchfluss der Filtration abzüglich der Zeit, die für die Spülvorgänge benötigt wird. Insgesamt wird deutlich, dass die Kombination aus hydrodynamischer Permeatspülung sowie pneumatischer Luft- und Kohlendioxidspülung ausreichend war, um einen relativ konstanten Membranfluss von durchschnittlich 18 l/m<sup>2</sup>\*h zu halten. Die Schwankungen im Membranfluss sind in einer bewussten Variation der Spülintervalle und -abläufe begründet. Hierbei wurde zusätzlich deutlich, dass durch eine optimale Wahl des Spülregimes der ermittelte durchschnittliche Fluss gesteigert werden kann. In der weiteren Projektphase muss der Einfluss der Zellretention auf die Produktivität eines Photobioreaktors im Betrieb beurteilt werden. Dabei muss die Auswahl eines Verfahrens getroffen werden, was neben einem maximalen und energetisch günstigen Membranfluss, minimale bzw. vernachlässigbare hydrodynamische Belastungen für die Algensuspension gewährleistet. Das dargestellte Saugverfahren stellt einen guten Ansatz zur Erfüllung dieser Bedingungen dar. In einem integrierten Verfahren wird dabei ein gewisser Teil an Algensuspension aus dem Photobioreaktor an der Saugmembran im Parallelbetrieb vorbei geleitet.

### 3.7 Vorläufige Machbarkeitsanalyse zum produktionsintegrierten Verfahren



**Abb. 3.7-1:** Der erweiterte Fluid-Kreislauf bestehend aus dem primären Produktionskreislauf, der produktionsintegrierten sekundären Nährstoffsorgung und der Energierückführung über Biogas und Energiewandlung (Blockheizkraftwerk).

Auf Basis von Daten, die bei der Firma Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH in Pilotanlagen gewonnen werden konnten und Daten aus der ersten Projektphase dieses Projektes, konnte eine erste, vorläufige Machbarkeitsanalyse erarbeitet werden, die sich zunächst auf die Verwertung der Mikroalgenbiomasse in der Energiewandlung fokussiert. Dieser Weg überführt zunächst die im Prozesswasser des primären Kreislaufs gelösten Nährstoffe (Stickstoff, Phosphat, Kohlenstoffdioxid) zu den Photobioreaktoren für die Biomasseproduktion. Das nährstoffarme Prozesswasser wird in den primären Kreislauf zurückgeführt (Abb. 3.7-1). Die produzierte Mikroalgen-Biomasse wird nach der Entwässerung der Biogasproduktion zugeführt. Das Biogas wird in einem Blockheizkraftwerk in elektrische und thermische Energie gewandelt, die in die Produktionsprozesse zurückgeführt werden kann. Die weiteren Abschätzungen basieren zunächst auf dem aus einem primären Produktions-

prozess verfügbaren Stickstoff- und Kohlenstoffdioxidmassen. In der zweiten Projektphase werden Eckdaten für weitere Elemente, zum Beispiel der zusätzliche Bedarf an Spurenelementen, verfügbar werden, die in die Berechnungen eingehen können.

Für diese erste Machbarkeitsanalyse wurden zunächst die Nährstoffmengen abgeschätzt, die für die sekundäre Biomasseproduktion (Mikroalgen) in Photobioreaktoren während eines Produktionszyklus (Fisch, Warmwasser, Produktionszeit 1 Jahr) zur Verfügung steht (A). Zyklische Schwankungen im Produktionsprozess konnten in diesen ersten Berechnungen noch nicht berücksichtigt werden, da dazu erst in der zweiten Projektphase grundlegende kinetische Daten für die verwendeten Photobioreaktoren erhoben werden müssen.

#### (A) Fischproduktion im primären Kreislauf

Produktionsvolumen, Produktionstank	1,500,000 L
Volumen Wasseraufbereitung	900,000 L
Gesamtvolumen Fluid-Kreislauf	2,400,000 L
Lebensmittelproduktion	125,000 kg/a
Futterquotient	1.5 Kg Futtermasse/kg Körpermasse
Nahrungszufuhr für einen Produktionszyklus	187,500 kg/a
Proteinanteil Nahrung	0.5 kg Protein/kg Futter
Proteinmenge Nahrung	93,750 kg/a
Stickstoffanteil Nahrung	0.16 kg Stickstoff/kg Protein
Stickstoffmenge Nahrung	15,000 kg/a
Exkretionsrate Stickstoff	0.5 kg/kg Stickstoff
<b>Stickstoffexkretion pro Produktionszyklus</b>	<b>7,500 kg/a</b>
Exkretionsrate Kohlenstoffdioxid	0.4 kg/kg Futter
<b>Kohlenstoffdioxidexkretion pro Produktionszyklus</b>	<b>75,000 kg/a</b>

Mit der verfügbaren Stickstoffmenge (7.5 t pro Produktionsjahr) kann die Mikroalgenproduktion und der Prozessenergiebedarf abgeschätzt werden **(B)**:

### **(B) Energieumwandlung über Mikroalgenproduktion**

Stickstoffanteil in Mikroalgenbiomasse (Redfield)	0.075	kg Stickstoff/kg Trockenmasse
<b>Mikroalgenproduktion</b> geschätzt aus der <b>exkretierten Stickstoffmasse (A)</b>	<b>100,000</b>	<b>kg Trockengewicht/a</b>
Biomassenkonzentration Photobioreaktor	13	kg/m <sup>3</sup>
Produzierte Mikroalgensuspension	7,692	m <sup>3</sup>
Spezifischer Energiebedarf für die Abtrennung der Mikroalgenzellen vom Prozesswasser (Tellerseparator, Trockensubstanz ≈ 120kg/m <sup>3</sup> )	1	kWh/m <sup>3</sup>
Produktivität Photobioreaktor (12h)	1.12	kg/(m <sup>3</sup> *d)
Produktionsvolumen	245	m <sup>3</sup>
Spezifischer Energiebedarf für den Reaktorbetrieb <sup>20</sup>	0.200	kW/m <sup>3</sup>
<b>Prozessenergiebedarf elektrisch für den Betrieb und die Abtrennung</b>	<b>222,000</b>	<b>kWh/a</b>

Die Zufuhr der Nährstoffe aus der primären Fischproduktion erfolgt mit dem Prozesswasser als Nitrat, da die prozessintegrierte Nitrifikation (Biofiltration) das von den Fischen exkretierte Ammonium in Nitrat wandelt. Mit der Annahme einer Grenzkonzentration von 50 mg/l Nitrat-N im Prozesswasser der primären Fischproduktion und einer Minimalkonzentration von 25 mg/l Nitrat-N im Photobioreaktor (Kulakowski unveröffentlichte Daten), ergibt sich eine Konzentrationsdifferenz von 25 mg/l Nitrat-N, die im Prozesswasser für die Mikroalgenproduktion verfügbar ist. Der kompensatorische Prozesswasserstrom überführt den zugeführten Stickstoff aus der primären Produktion zu den Photobioreaktoren; er ergibt sich aus dem Quotienten von zugeführter Stickstoffmenge und Konzentrationsdifferenz **(C)**:

### **(C) Prozesswasserstrom aus primärem Kreislauf**

Grenzkonzentration Stickstoff im Prozesswasser	0.00005	kg/l
Grenzkonzentration Photobioreaktor	0.000025	kg/l
<b>Kompensatorischer Prozesswasserfluß geschätzt mit der exkretierten Stickstoffmasse (A)</b>	<b>300,000,000</b>	<b>l/a</b>
<b>Kompensatorischer Prozesswasserfluß während der Lichtphase = 12 h</b>	<b>68,493</b>	<b>l/h</b>

Ein stündlicher Wasserfluss von 69 m<sup>3</sup> zu den Photobioreaktoren mit einem Produktionsvolumen von 245 m<sup>3</sup> erfordert eine effektive Rückhaltung der Mikroalgen im Photobioreaktor. Erste Versuche mit Membranen und Kleinreaktoren an der HTW zeigten grundsätzlich gute Ergebnisse, müssen aber noch unter realen Bedingungen mit den hier verwendeten Photobioreaktoren getestet werden. Ein weiteres Verfahren befindet sich in der Entwicklungsphase, das ebenfalls erst in der zweiten Projektphase getestet werden kann. Ziel ist es, ein energieeffizientes Verfahren für die Rückhaltung darzustellen. Die Rückhaltung der Mikroalgen im Photobioreaktor ist von zentraler Bedeutung für das produktionsintegrierte Verfahren, da man mit einem klassischen Chemostatbetrieb bei gegebener

<sup>20</sup> Ripplinger P, 2008; Flat Panel Airlift 3. Generation, Vortrag auf der Hannovermesse



Stickstoffkonzentration im Prozesswasser nur unzureichende Produktivität erreichen würde. Die Biogasproduktion lässt sich anhand von Literaturdaten für *Nannochloropsis* abschätzen **(D)**:

## **(D) Biogasproduktion**

Biogasproduktion für Nannochloropsis	500 l/kg organische Trockenmasse <sup>21</sup>
Relativer Methanertrag	0.8 <sup>21</sup>
Methanertrag aus Mikroalgenproduktion	400 l/kg organische Trockenmasse
<b>Methanproduktion</b> geschätzt aus <b>Mikroalgenproduktion (B)</b>	<b>40,000,000 l/a</b>
Dichte von Methan	0.00072 kg/l
Methanproduktion	28,800 kg/a
Energiegehalt für Methan	55.5 MJ/kg
Energieumwandlung - Betrag	1,598,400 MJ/a
Umrechnungsfaktor	3.6 MJ/kWh
Wirkungsgrad Blockheizkraftwerk	50 %
Energieumwandlung Betrag	444,000 kWh/a
Elektrische Energieumwandlung im Blockheizkraftwerk	222,000 kWh/a
<b>Prozessenergiebedarf Photobioreaktor elektrisch für den Betrieb und die Abtrennung (B)</b>	<b>222,000 kWh/a</b>
<b>Elektrische Energieumwandlung Betrag</b>	<b>0 kWh/a</b>
<b>Abwärme aus Energieumwandlung Betrag</b>	<b>222,000 kWh/a</b>

Die in den Photobioreaktoren für einen Produktionszyklus (1 Jahr) produzierte Algenbiomasse (*Nannochloropsis*) kann zur Produktion von 40,000 m<sup>3</sup> Methangas verwendet werden. Die Energieumwandlung in einem Blockheizkraftwerk führt zu einer elektrischen Energiemenge von 222 MWh, die zunächst mit dem Energiebedarf für den Betrieb der Photobioreaktoren und die Abtrennung der Algenbiomasse aus dem Fluid verrechnet werden muss. Da der Prozessenergiebedarf hoch ist und, der geschätzte Prozessenergiebedarf den Betrag der elektrischen Energieumwandlung überstieg, wurde iterativ die Produktivität des Photobioreaktors angepasst, so dass Energieumwandlung und Prozessenergiebedarf denselben Betrag haben. Das bedeutet, dass ein Photobioreaktor unter den hier getroffenen Annahmen eine Produktivität von 1.12 kg/(m<sup>3</sup>\*d) erreichen muss **(B)**, was nach eigenen Abschätzungen und Untersuchungen anderer Forschergruppen<sup>22</sup> möglich ist. Der Betrag der Elektrische Energieumwandlung in der Berechnung **(D)** ist dementsprechend gleich Null. Dieses Ergebnis zeigt, dass, solange keine alternativen Energien für den Betrieb von Photobioreaktoren eingesetzt werden, keine Rückführung von elektrischer Energie in den primären Produktionsprozess möglich ist. Ein wichtiger Entwicklungsschritt ist also das Verfahren des Photobioreaktors energetisch zu optimieren. Eine Möglichkeit stellt der parallele Betrieb von Photobioreaktoren und photovoltaischen Kollektoren dar. Hier können in der zweiten Projektphase notwendige Eckdaten für eine konstruktive Überarbeitung erarbeitet werden. Die Abwärme aus der Energieumwandlung erreicht einen Betrag von 222 MWh. Diese Wärmemenge könnte zukünftig für die Entwässerung der Mikroalgenbiomasse eingesetzt werden, so dass sich die elektrische Prozessenergiemenge für den Photobioreaktor-

<sup>21</sup> Schneider G, 2009: Biogas aus Mikroalgen. Ergebnisse des Forschungsprojektes EBSIE. Vortrag, 3. Bundes-Algen-Stammtisch am 22/23. Juni, Köln

<sup>22</sup> E. Sierra, F.G. Acien, J.M. Fernandez, J.L. Garcia, C. Gonzalez, E. Molina, 2008: Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. Chemical Engineering Journal 138:136–147

Betrieb verringern würde. Abschätzungen dazu können in der zweiten Projektphase auf der dann verfügbaren Datenbasis erfolgen.

Ein weiterer wesentlicher Optimierungsschritt im Laufe der zweiten Projektphase ist die Ermittlung von Betriebsbedingungen im Photobioreaktor, die die angestrebte Produktivität von 1,12 g/l\*d sogar übersteigen. Dies ermöglicht eine Nettoproduktion von elektrischer Energie. Eine Temperierung der Photobioreaktoren durch Abwärme stellt hierbei eine sinnvolle Strategie dar.

In jedem Fall verbessert das produktionsintegrierte Verfahren des Photobioreaktors die Energiebilanz des primären Produktionskreislaufs dadurch, dass Prozessenergie und Hilfsstoffe für die Denitrifikation eingespart werden können. Gleichzeitig wird mit dem aus den Photobioreaktor zurückgeführten Prozesswasser, Sauerstoff in den primären Kreislauf zurückgeführt, was von Bedeutung für die Wirtschaftlichkeit des primären Produktionsprozesses ist. Die Anreicherung von Kohlenstoffdioxid im Fluid des primären Kreislauf macht es notwendig, mit speziellen Verfahren Kohlenstoffdioxid aus dem Prozesswasser zu entfernen, was unter Energieaufwand durch eine starke Belüftung des Prozesswassers erfolgen kann. Es kann hier gezeigt werden, dass Kohlenstoffdioxid effektiv über den sekundären Produktionskreislauf aus dem Prozesswasser des primären Kreislaufs ohne einen zusätzlichen Energiebedarf entfernt werden kann (E):

### (E) Kohlenstoffdioxidbilanz

Kohlenstoffdioxid-Assimilation Mikroalgen (Xu et al. 2011)	1.678 kg/kg Trockenmasse
<b>Assimilation durch Mikroalgenproduktion</b>	<b>167,800 kg/a</b>
<b>Kohlenstoffdioxidexkretion pro Produktionszyklus (A)</b>	<b>75,000 kg/a</b>
Kohlenstoffdioxidkonzentration im Prozesswasser	0.000216 kg/l
<b>Kohlenstoffdioxid mit Prozesswasser dem Photobioreaktor zugeführt</b>	<b>64,800 kg/a</b>
<b>Kohlendiooxidnutzungsgrad für primäre Produktion</b>	<b>86 %</b>
<b>Kohlendiooxid-Bedarf für Mikroalgen aus BHKW</b>	<b>103,000 kg/a</b>

50

Mit dem zu den Photobioreaktoren zugeführten Prozesswasser werden 65 t Kohlenstoffdioxid oder 86% der exkretierten Kohlenstoffdioxidmenge aus dem Prozesswasser entfernt. Zusätzlich müssen aber noch 103 t dem Prozess zugeführt werden, so dass auch noch Kohlenstoffdioxid aus dem Biogasprozess benötigt wird und auch Kohlenstoffdioxid aus dem Verbrennungsprozess im BHKW zugeführt werden muss.

Eine weitere Verbesserung der Effizienz des produktionsintegrierten Verfahrens ist dadurch gegeben, dass das produzierte Biogas durch die Aufreinigung in einem Photobioreaktor einen höheren volumenbezogenen Brennwert erhält und als Bioerdgas aus dem Prozess herausgeschleust und dem BHKW zugeführt werden könnte.

In Bezug auf die Kohlenstoffdioxidbilanz ist das Verfahren mehr als ausgeglichen. In der zweiten Projektphase müssen die Abschätzungen validiert und einem konstruktiven Prozess zugeführt werden. Hier bietet die HTW mit ihrem neuen Studiengang «Erneuerbare Energien/Energiesystemtechnik» beste Voraussetzungen für studentische Mitarbeit und den unmittelbaren Transfer der Projektergebnisse.

## 4 Fazit

Die Forschungs- und Entwicklungsarbeiten an der Hochschule für Technik und Wirtschaft in Saarbrücken und in der Forschungshalle in Völklingen zusammen mit dem Institut für Getreideverarbeitung GmbH, der Erwin Sander Elektroapparatebau GmbH und der Subitec GmbH in Stuttgart haben die grundlegende Machbarkeit des produktionsintegrierten Verfahrens gezeigt. Auf Basis der gelösten Exkretionsprodukte aus einem Fluid-Kreislauf für die Aquakultur mariner Fische können ausreichend Nährstoffe für eine intensive Produktion von Mikroalgen in einem sekundären Kreislauf bereitgestellt werden. Durch das produktionsintegrierte Verfahren wird die Wasseraufbereitung im primären Fluid-Kreislauf entlastet. Dadurch ergeben sich für den primären und sekundären Kreislauf deutliche ökonomische Vorteile:

### Primärer Kreislauf:

**Abbau gelöster Nährstoffe mit positiver Wirkung auf die Gesundheit der Organismen** → Wegfall der Komponenten für die Denitrifikation. Kostenreduktion (organisches Substrat, Prozessenergie) bei der anaeroben Biofiltration.

**Reduzierter Kohlenstoffdioxideintrag durch anaerobe Biofiltration** → Einsparung von Komponenten und Betriebskosten für die Entgasung.

**Entzug von Kohlenstoffdioxid aus dem Prozesswasser** → Einsparung von Komponenten und Betriebskosten für die Entgasung.

**Zufuhr von gelöstem Sauerstoff in das Prozesswasser** → Einsparung von Kosten für Belüftung bzw. Begasung mit Sauerstoff.

### Sekundärer Kreislauf:

**Zufuhr von Nährstoffen** → Kosteneinsparung bei anorganischen Nährstoffen (N, P).

**Zufuhr von gelöstem Kohlenstoffdioxid** → Kosteneinsparung beim Transport und der Einbringung des Prozessgases

**Abfuhr von gelöstem Sauerstoff** → Verbesserung der Reaktorproduktivität

Die Ergebnisse zeigen, dass im technisch Machbaren noch ein großes Optimierungspotential liegt. So wurde zwar die Automatisierung des Fluid-Kreislaufs in den Grundoperationen abgeschlossen, für die Erhöhung der Zuverlässigkeit ist jedoch eine Konkretisierung eines Prozessleitsystems bestehend aus prozessnahen Komponenten (PNK) zur Steuerung von Aktoren und der Aufnahme der Messwerte, sowie externen Bedien- und Beobachtungsstationen (BuB) unerlässlich. Ein weiteres Ziel, das in der zweiten Projektphase in Zusammenarbeit mit Unternehmen verfolgt werden soll, ist die Reduzierung von Unvorhersagbarkeit in Prozessen durch Datenanalyse und Modellbildung, sowie eine Präzisierung der Kapazitätsanalyse durch Monitoring und Auswertung der Produktionsdaten.

Die im Projekt verfolgte Strategie der Reinigung des Prozesswassers durch den Einbau der im Fluid-Kreislauf akkumulierenden, gelösten Nährstoffe in Algenbiomasse ist umso effizienter, je höher die volumetrische Produktivität im Photobioreaktor ist. Eine erfolgreiche Integration von Mikroalgenprozessen in Fluid-Kreisläufe erfordert deshalb eine sehr spezifisch auf den jeweiligen Reaktortyp abgestimmte Optimierung der Wachstumsbedingungen für die Algen.

Im vorliegenden Fall zeigte die in Wachstumsversuchen mit Mikroplatten ausgewählte Alge *Nannochloropsis salina* keinerlei Wachstumsbegrenzungen durch die im Prozesswasser vorhandenen Nähr-

und Inhaltsstoffe. Auch beim Betrieb des für 10 – 20 fach höhere Zelldichten optimierten Photobioreaktors der Fa. Subitec kann der Stickstoff- und Phosphatbedarf mit Prozesswasser in erster Näherung gedeckt werden. Um optimale Raten bei der Entfernung der gelösten Algen-Nährstoffe zu erzielen, sollten allerdings Limitierungen im Spurenelementbereich durch entsprechende Addition der Elemente vermieden werden.

Die hier bereits etablierte Screening-Technik mit Mikroplatten, soll in der zweiten Projektphase zu einem Spurenelement-Screening weiterentwickelt werden, mit dem die Ertragsbegrenzung durch diverse Spurenelemente in der Algenkultur nachgewiesen und die erforderliche Addition abgeschätzt werden kann. Der eigentliche Nachweis muss jedoch in Langzeitversuchen unter den Betriebsbedingungen des Photobioreaktors erfolgen. Um die Interpretation der Ergebnisse nicht durch andere Einflussfaktoren zu erschweren, sollten diese Versuche weiterhin unter konstanten Bedingungen in der Forschungshalle der HTW erfolgen.

Grundlegende Entwicklungsschritte zur Algenretention konnten im Labormaßstab in der ersten Projektphase abgeschlossen werden. Algenretention ist bei Verfahren mit hohen Zelldichten, wie z.B. dem Subitec Photobioreaktor erforderlich, um den Prozesswasserstrom und damit die Versorgung mit Nährstoffen zu optimieren. Dabei muss die Algenbiomasse im Reaktor gehalten werden, um die volumetrische Produktivität auf hohem Niveau zu halten. Im Laborversuch konnte bereits gezeigt werden, dass in einer *Nannochloropsis*-Kultur eine Zellretention mit hydraulischen und pneumatischen Rückspülmöglichkeiten über mehrere Wochen verblockungsfrei betrieben werden konnte. In der zweiten Projektphase muss gezeigt werden, dass dies auch im Freiland mit unterschiedlichem Lichtregimen, Temperatur- und Nährstoffschwankungen und längerfristiger hydrodynamischer Belastung durchführbar ist. Optimierungsmöglichkeiten bestehen durch die Wahl der Membran und der Betriebsweise.

Versuche zur Ernte der Algenbiomasse wurden durchgeführt. Sie zeigten, dass auch in diesem Bereich eine Weiterentwicklung des Stands der Technik erforderlich und zum Teil schon innerhalb des Projektes erfolgt ist. Es konnte gezeigt werden, dass die durch Ozon unterstützte Flotation ein energiesparendes sowie technisch geeignetes Verfahren ist, um Algen aus dem Prozess zu entfernen und Biomasse zu ernten.

Der Betrieb von hochdichten FPA-Photobioreaktoren wurde bereits unter Laborbedingungen über mehrere Monate erprobt. Die Ergebnisse brachten wichtige Hinweise zum Betriebsmodus von Langzeitkulturen von *Nannochloropsis salina*. Insbesondere zeigten sie, dass neben den Nährstoffen Nitrat und Phosphat auch die Zufuhr von Spurenelementen von entscheidender Bedeutung ist und in der folgenden Projektphase im Laborbetrieb bilanziert und automatisiert werden muss. Die Freilandphase wird zusätzlich weitere wichtige Ergebnisse für eine Beurteilung bringen.

Bislang wurden die Forschungs- und Entwicklungsarbeiten am FPA-Photobioreaktor der Subitec GmbH durchgeführt. Der zweite Reaktortyp, der tubuläre Photobioreaktor der IGV GmbH, ist konstruiert und wird noch innerhalb der ersten Projektphase in Betrieb genommen (Berichtsdatum vor Abschluss der ersten Projektphase). Es wird eine Übertragbarkeit vieler Ergebnisse auf diesen Photo-

bioreaktortyp erwartet. Eine vergleichende Bewertung kann erst in der zweiten Projektphase nach Abschluss der Freilandphase vorgenommen werden.

Eine erste Machbarkeitsanalyse zeigt, dass der hier verfolgte Lösungsweg schon in Verbindung mit einer Energiewandlung über Bioerdgasproduktion und einer Nutzung in einem Blockheizkraftwerk zu einer wirtschaftlichen Lösung führen kann. Damit wird gleichzeitig die Nachhaltigkeit der gesamten Prozesskette verbessert.

Insgesamt kann ein positives Fazit aus der ersten Projektphase gezogen werden. Eine nachhaltige Wirkung wird nur erzielt, wenn in der zweiten Projektphase die aufgezeigten Optimierungsmöglichkeiten getestet und implementiert werden können.