

Biokohle zur Prozessoptimierung der Biogasproduktion

Prof. Dr. Christian Abendroth
FG Kreislaufwirtschaft

Heitkamp et al. *Biotechnol Biofuels* (2021) 14:185
<https://doi.org/10.1186/s13068-021-02034-5>

Biotechnology for Biofuels

RESEARCH

Open Access

Monitoring of seven industrial anaerobic digesters supplied with biochar



Kerstin Heitkamp^{1†}, Adriel Latorre-Pérez^{2†}, Sven Nefigmann³, Helena Gimeno-Valero², Cristina Vilanova², Efri Jahmad⁵ and Christian Abendroth^{4,5*} 

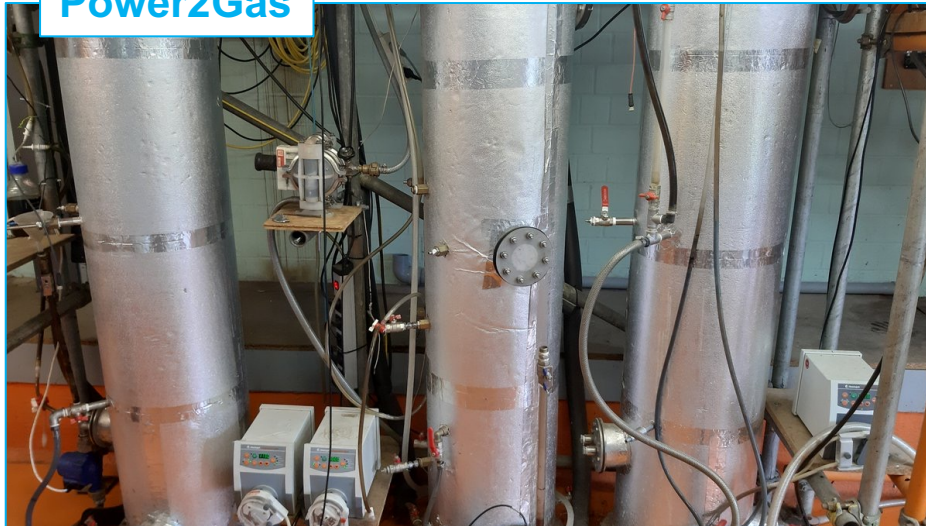
Unsere Schlüsselthemen

<https://www.b-tu.de/fg-kreislaufwirtschaft/>



Brandenburgische
Technische Universität
Cottbus - Senftenberg

Power2Gas



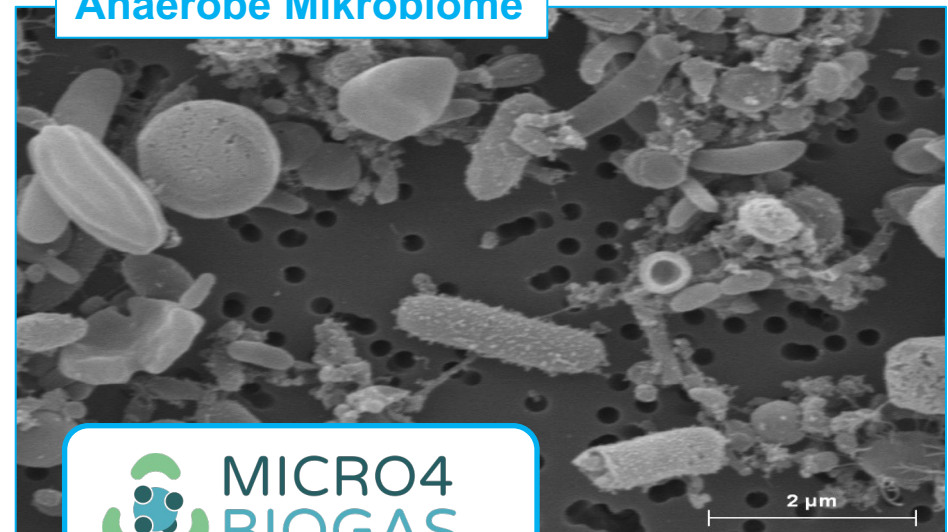
Mehrphasige Vergärung



Lehre (Kreislaufwirtschaft und Entsorgung)



Anaerobe Mikrobiome



MICRO4
BIOGAS

2 μm

30. März 2023

<https://micro4biogas.eu/>

ANAEROBE MIKROBIOME

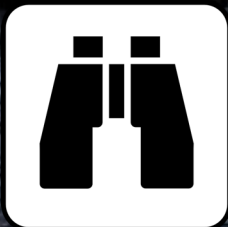
MOs vernetzen sich über Pili und manche sind leitfähig (e-Pili)

- **Direkter Interspezieselektronentransfer (DIET) ist aktuell ein relevantes Thema in der Forschung**

BIOKOHLE ALS SUPPLEMENT

Kontaktaufnahme zur Firma LUCRAT GmbH

- Direkter Interspezieselektronentransfer (DIET) ist aktuell ein relevantes Thema in der Forschung
- DIET vermindert H₂-bedingte Hemmeffekte in Biogasanlagen
- Häufige, zu DIET befähigte Methanbildner in Biogasanlagen: *Methanosarcina* und *Methanothrix*!



Habilitation: *Towards multifunctional microbiomes: The search for new commands for programming anaerobic microbiomes*, eingereicht

BIOKOHLE VS. MIKROBIOME

Ein Kleinprojekt über einen Innovationsgutschein

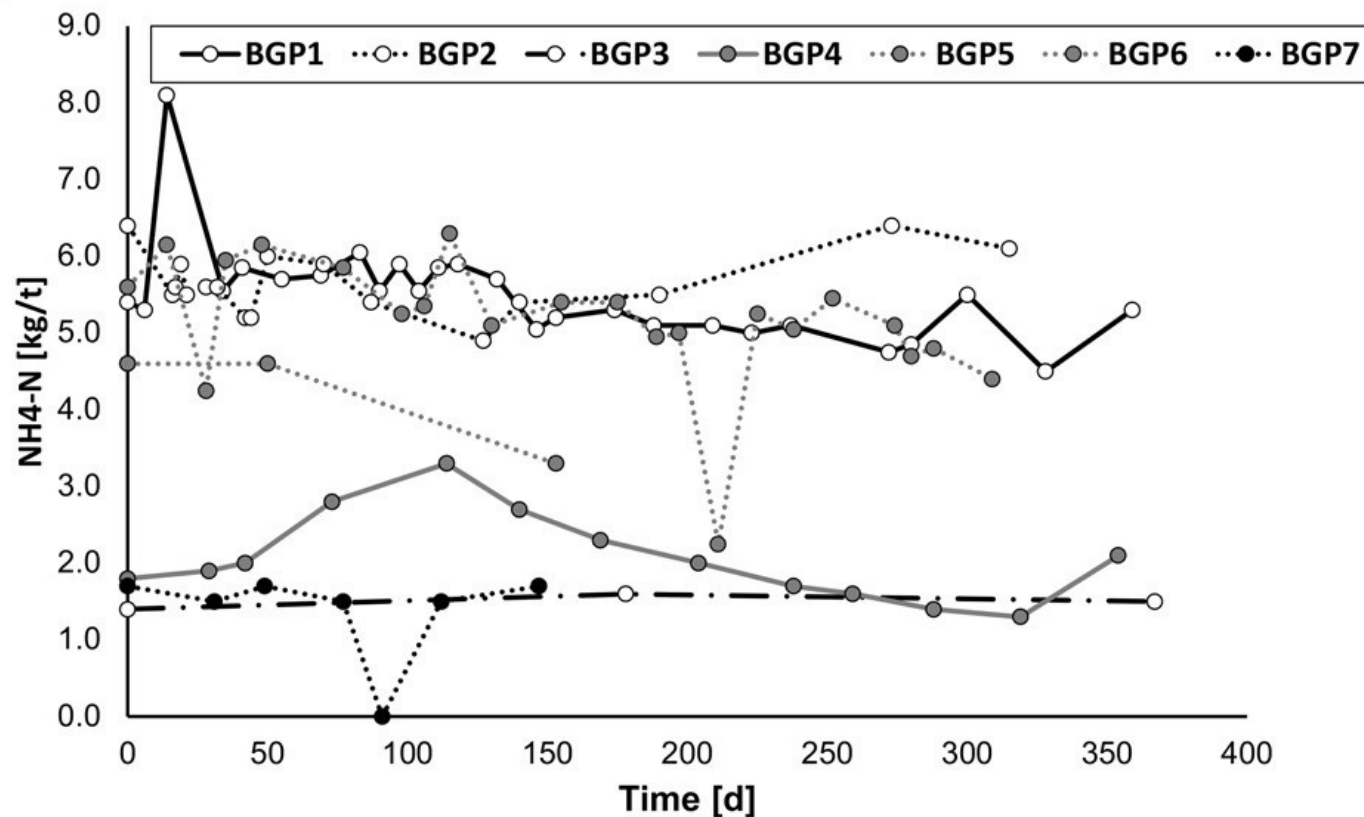
Mehrere industrielle Biogasanlagen wurden mit der **Kapillarkohle Carboferm** versorgt

| Anaerobic digester | Substrates | Loading rate [kg VS m ⁻³ d ⁻¹] | Retention time in days [d] |
|--------------------|--|---|----------------------------|
| BGP1 | Corn silage, poultry manure, cereal silage, sugar beet, swine manure, grain kernel (mashed) | 2.9 | 117 |
| BGP2 | Corn silage, poultry manure, grass silage, sugar beet | 3.1 | 113 |
| BGP3 | Corn silage, grain kernel (mashed), perennial rye, cereal silage, cattle manure, cattle slurry | 2.7 | 85 |
| BGP4 | Corn silage, cereal silage, cup plant, swine slurry, cattle manure | 4.3 | 54 |
| BGP5 | Cattle manure, corn silage, poultry manure, swine slurry | 2.1 | 105 |
| BGP6 | Corn silage, cereal grain (mashed), poultry manure, cattle manure with feed residues | 3.2 | 95 |
| BGP7 | Corn silage, cereal silage, grass silage, sugar beet, cereal grains (mashed) | 2.3 | 153 |

KRITISCHE N-GEHALTE

Manche Anlagen waren an der Belastungsgrenze?

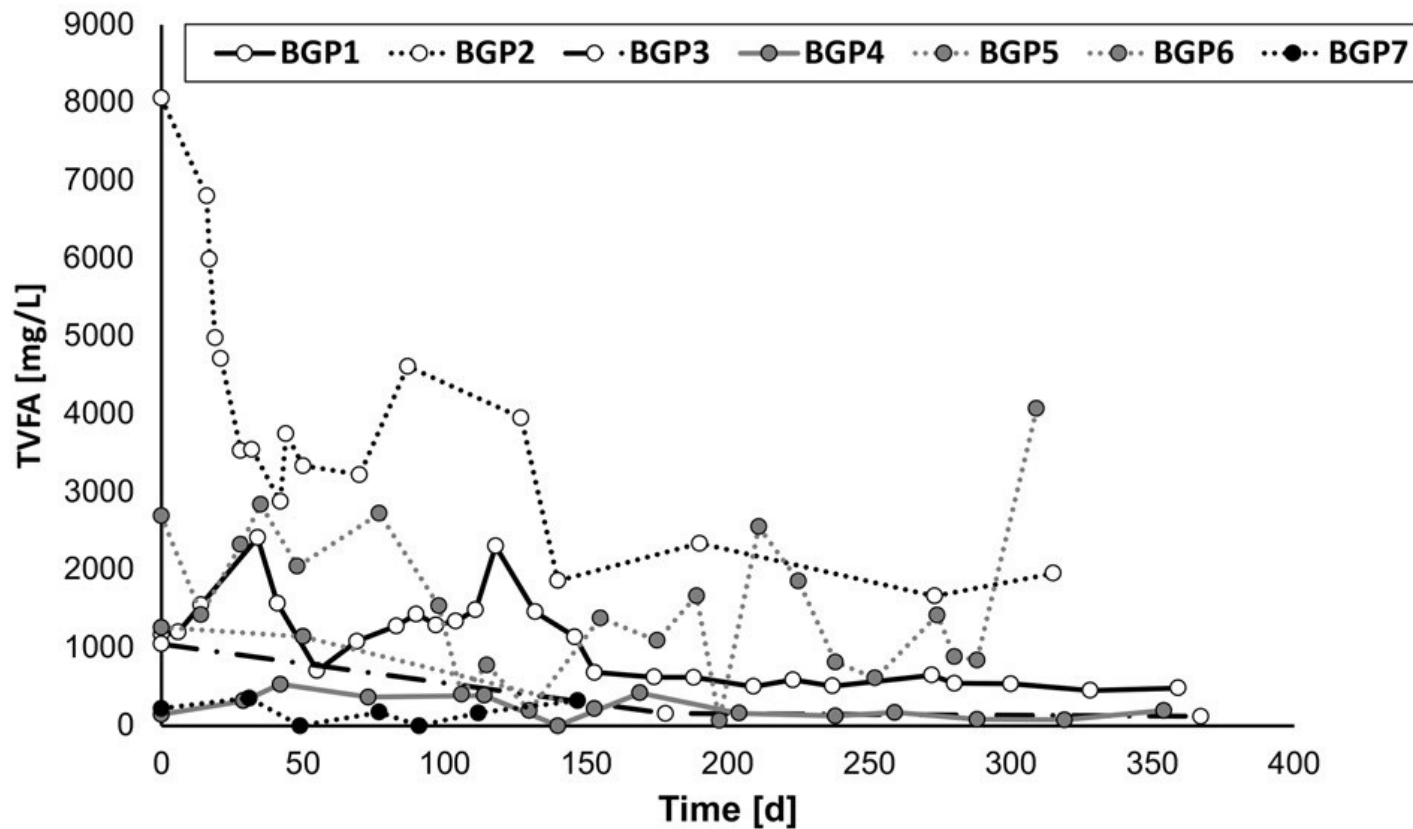
Durch fehlende Gasanalytik konnte keine konkrete Aussage über das Leistungsniveau der Anlagen gemacht werden!



ORGANISCHE SÄUREN

Hemmstoffe könnten minimiert werden?!

Kein relevanter Trend für pH, FOS/TAC, TS und oTS, **ABER:**
Ein abnehmender Trend in der Menge organischer Säuren?



SÄUREN WURDEN REDUZIERT!

Aber ist es signifikant?

Korrelationsanalyse für die einzelnen Biogasanlagen führte zu einem unklaren Ergebnis, **ABER...**

Table 1 Correlation of VFAs over time applying a nonparametrical Spearman test

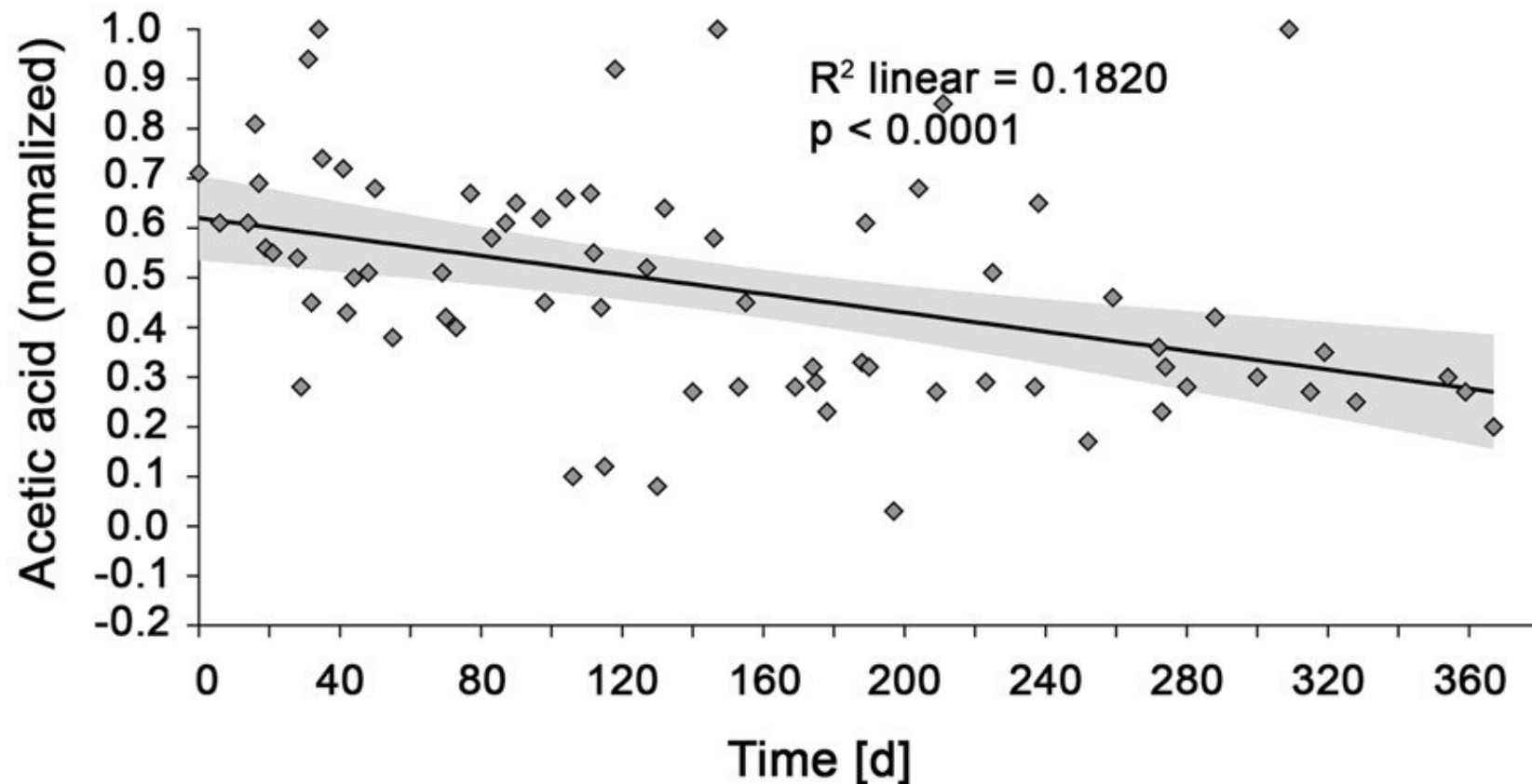
| | TVFAs | | Acetic acid | | Propionic acid | | Butyric acid | |
|------|-----------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|
| | <i>R</i> ² | <i>p</i> -value | <i>R</i> ² | <i>p</i> -value | <i>R</i> ² | <i>p</i> -value | <i>R</i> ² | <i>p</i> -value |
| BGP1 | 0.4807 | <0.0001**** | 0.5663 | <0.0001**** | 0.2558 | <0.0001**** | 1.000 | na |
| BGP2 | 0.4849 | <0.0001**** | 0.4633 | 0.0003*** | 0.5118 | <0.0001**** | 0.3455 | 0.0001**** |
| BGP3 | 0.7677 | na | 0.7617 | na | 0.7349 | na | 0.7349 | na |
| BGP4 | 0.3696 | 0.1041ns | 0.1058 | 0.1967ns | 0.1627 | 0.6441ns | 1.000 | na |
| BGP5 | 0.9505 | na | 0.9504 | na | 0.9456 | na | 1.000 | na |
| BGP6 | 0.0350 | 0.1965ns | 0.0100 | 0.4650ns | 0.1104 | 0.0924ns | 0.0272 | 0.3847ns |
| BGP7 | 0.0011 | 0.7833ns | 0.0091 | 0.9500ns | 0.0007 | >0.9999ns | 1.000 | na |

Several results were not significant (ns). The significance level was not determined for fewer than three values (na)

VERGLEICH VON ESSIGSÄURE

Anlagenübergreifende Analyse

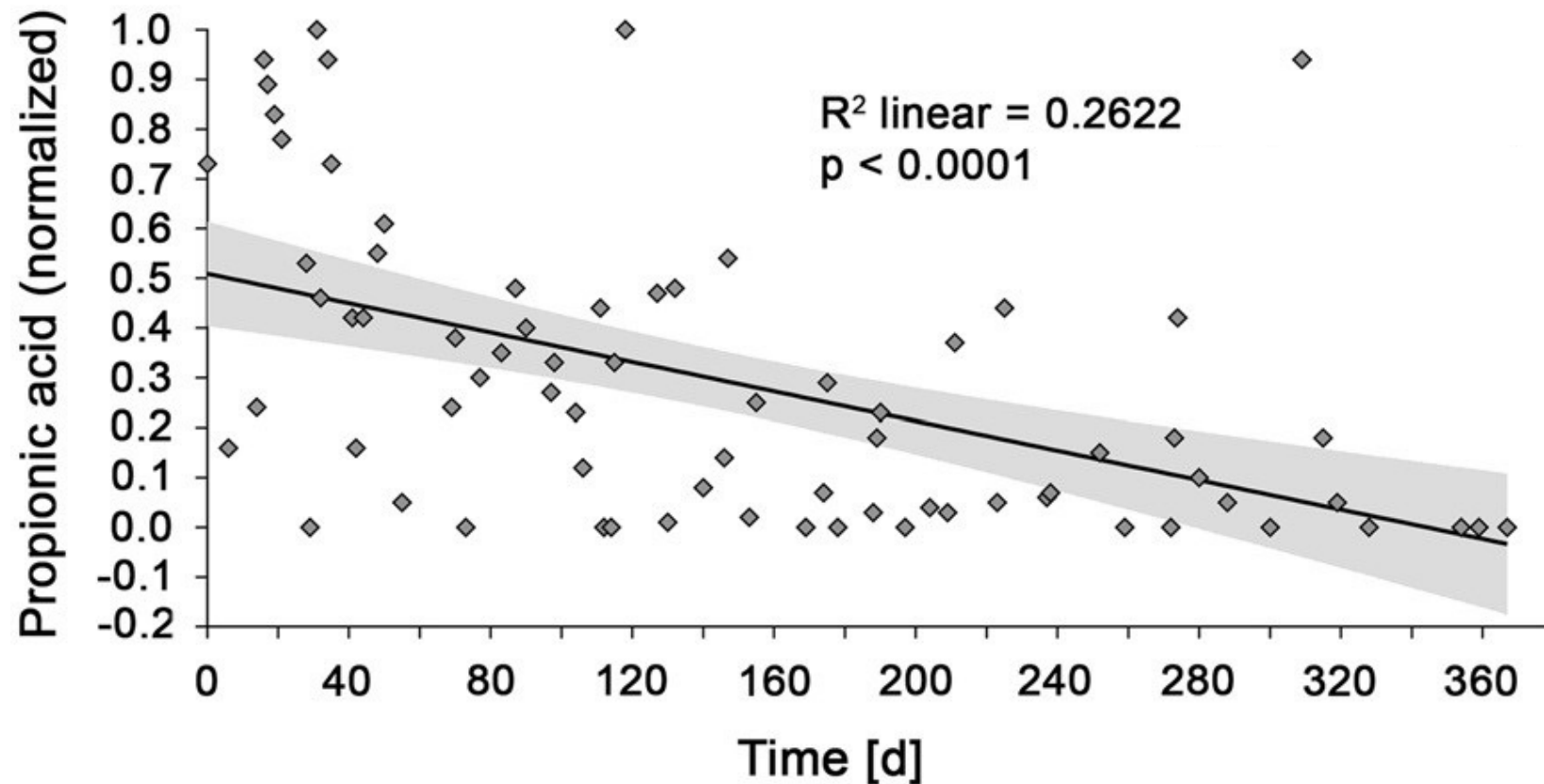
Säurekonzentrationen aller Anlagen wurden auf einen Wert zwischen 0 und 1 normalisiert



VERGLEICH VON PROPIONSÄURE

Anlagenübergreifende Analyse

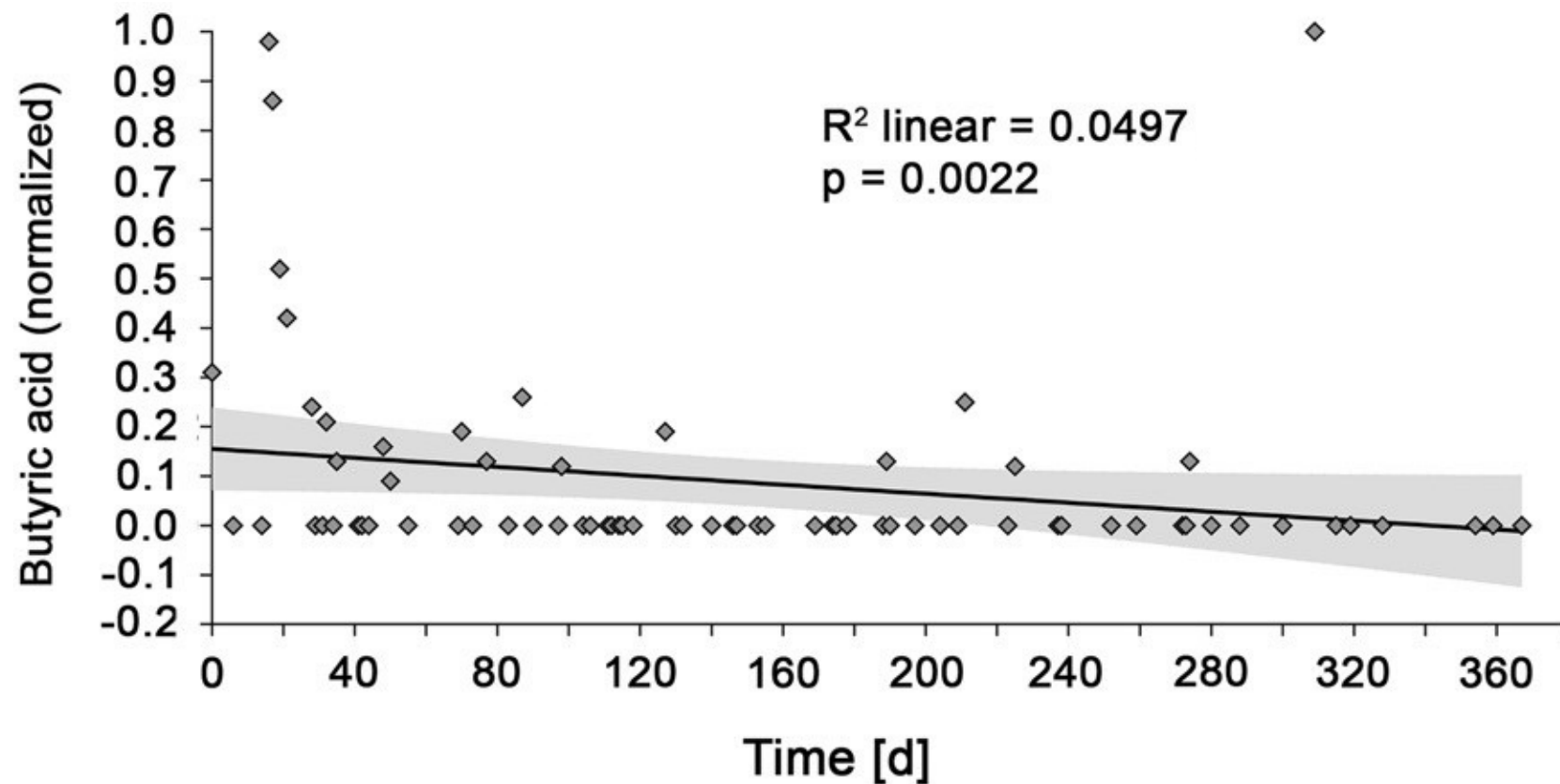
Säurekonzentrationen aller Anlagen wurden auf einen Wert zwischen 0 und 1 normalisiert



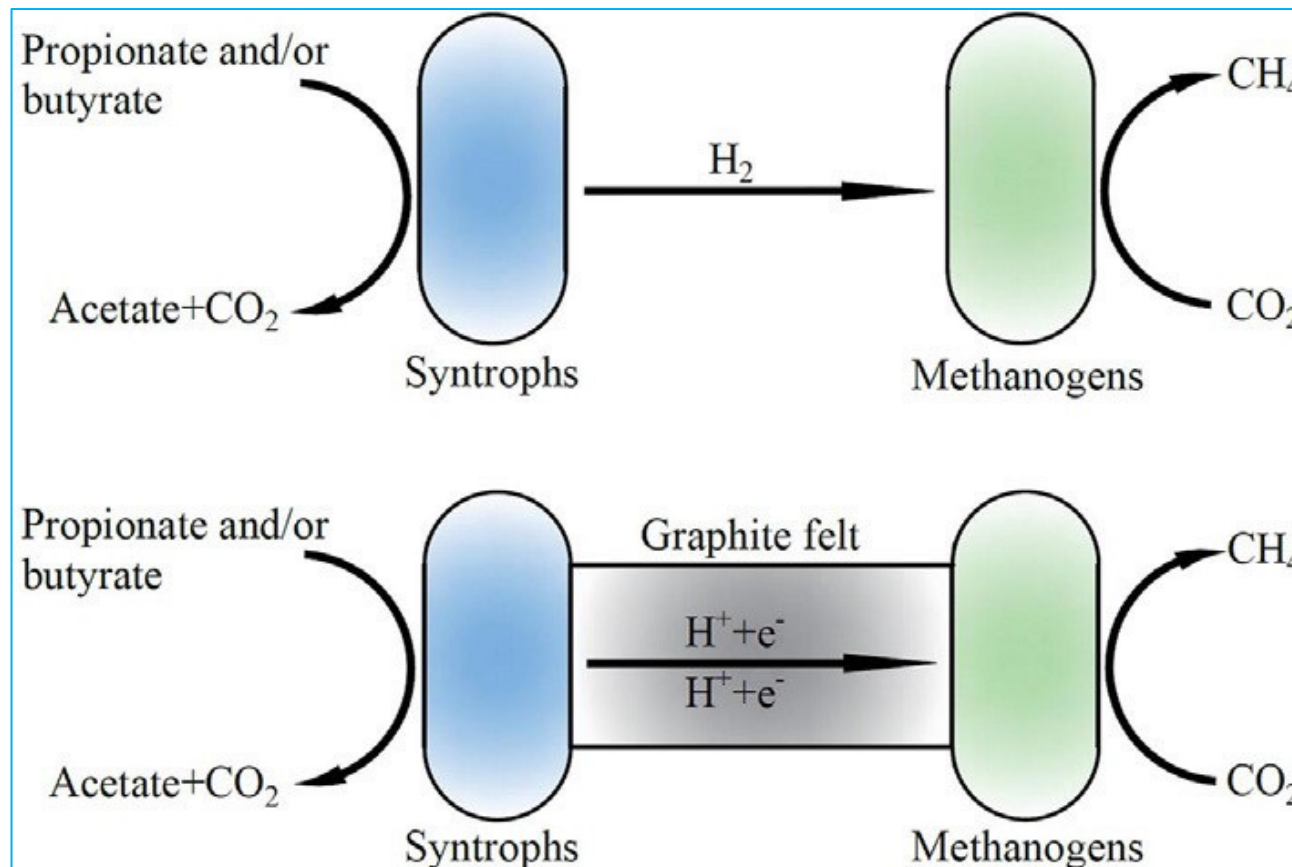
VERGLEICH VON BUTTERSÄURE

Anlagenübergreifende Analyse

Säurekonzentrationen aller Anlagen wurden auf einen Wert zwischen 0 und 1 normalisiert



Forscher vermuten Zusammenhang zwischen direktem Interspezies Elektronentransfer und der Säurekonzentration!



EINFLUSS LEITFÄHIGER PARTIKEL

Magnetit, Aktivkohle, Kohlefaser & Biokohle

Forscher vermuten Zusammenhang zwischen direktem Interspezies Elektronentransfer und Prozessleistung!

| Material | Partikelgröße (µm) | c (g/L) | Verbesserung | Referenzen |
|------------|--------------------|--------------|------------------|------------|
| Magnetit | 0,01 – 0,3 | 0,01 - 25 | 1,3 - 3,6 | 12 Stk. |
| GAC | 841 - 2000 | 3,3 - 50 | 1,1 - 18 | 11 Stk. |
| Kohlefaser | - | 10 - 20 Stk. | 1,1 - 10 | 6 Stk. |
| Biokohle | 60 - 700 | 0,3 - 42,7 | 1,2 - 1,3 | 5 Stk. |

Verändert nach Martins et al., 2018

PAPER

[View Article Online](#)

[View Journal](#) | [View Issue](#)



CrossMark
click for updates

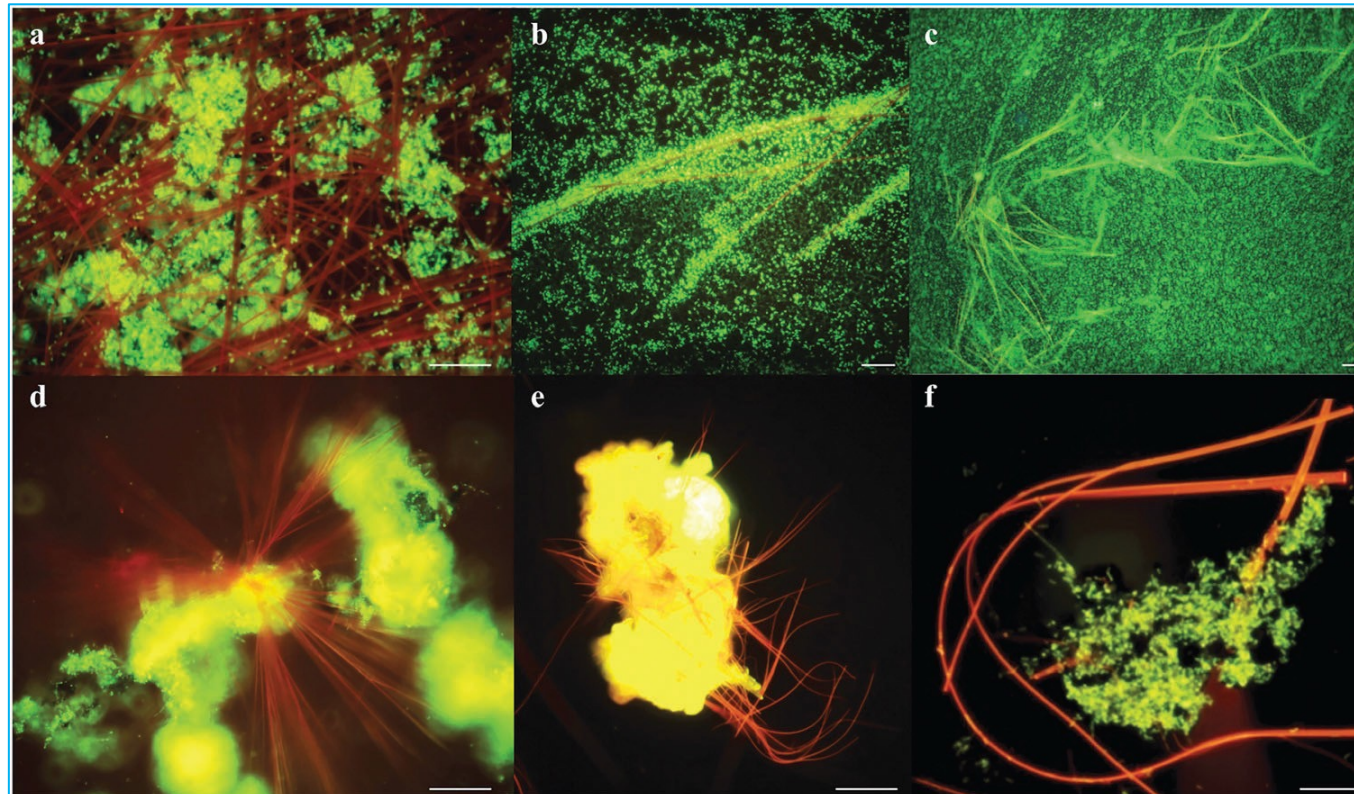
Cite this: *Energy Environ. Sci.*,
2016, 9, 644

Novel phenazine crystals enable direct electron transfer to methanogens in anaerobic digestion by redox potential modulation†

Sabrina Beckmann,^{*a} Cornelia Welte,^{‡b} Xiaomin Li,^a Yee M. Oo,^{§a}
Lena Kroeninger,^b Yooun Heo,^c Miaomiao Zhang,^a Daniela Ribeiro,^a
Matthew Lee,^a Mohan Bhadbhade,^d Christopher E. Marjo,^d Jan Seidel,^c
Uwe Deppenmeier^b and Mike Manfield^{*ae}

Forscher suchen nach
geeigneten Supplementen

Ein Goldrausch
bricht aus!



BIOKOHLE VS. MIKROBIOME

Die Frage beschäftigt uns seit 2019

Nachdem wir einen praxisrelevanten Effekt mit der Biokohle der LUCRAT GmbH sahen, wollten wir mehr über das Mikrobiom herausfinden...

BIOKOHLE VS. MIKROBIOME

Die Frage beschäftigt uns seit 2019

Nachdem wir einen praxisrelevanten Effekt mit der Biokohle der LUCRAT GmbH sahen, wollten wir mehr über das Mikrobiom herausfinden...

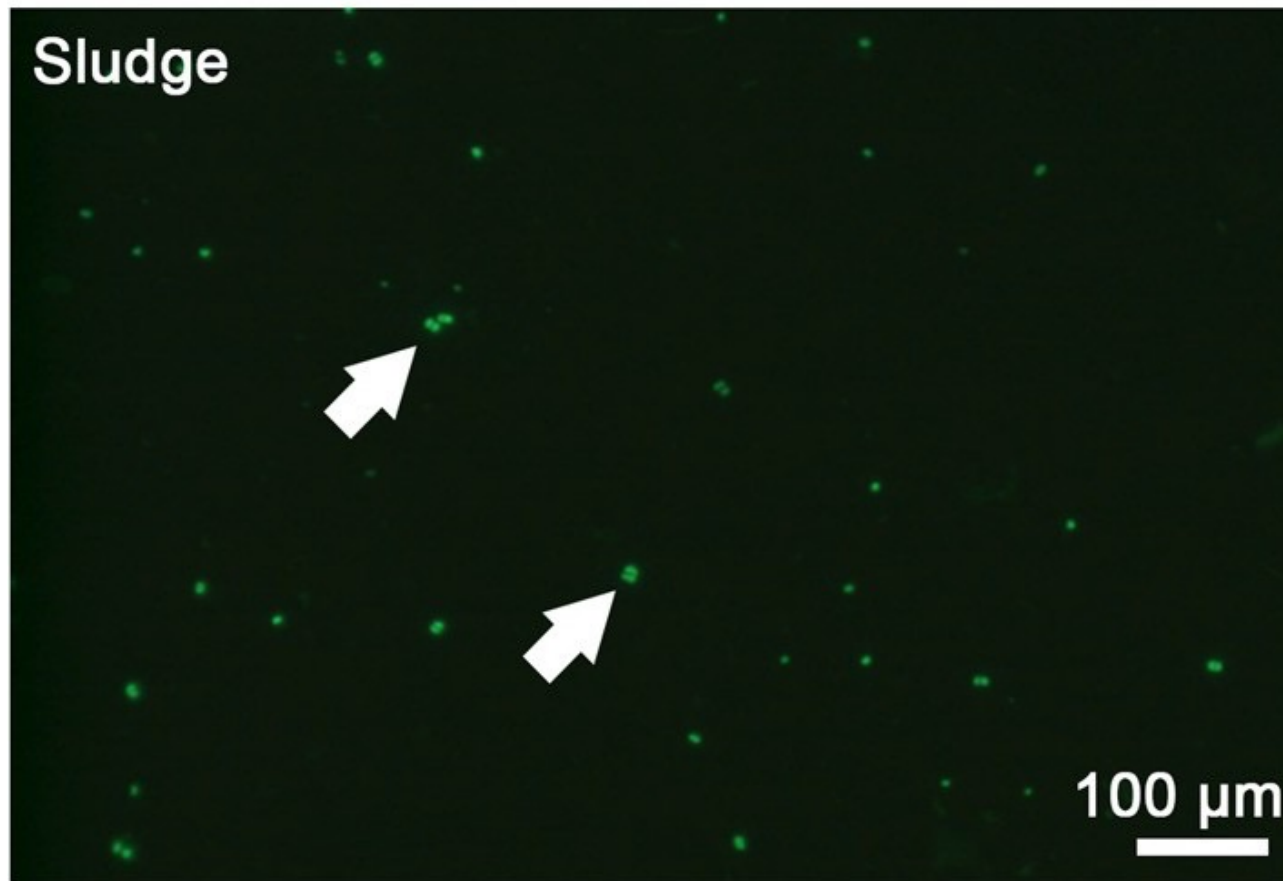
- ▶ *Methanosarcina* & *Methanothrix*; Schlüsselspieler der methanogenen Archaeen
- ▶ Beide Gattungen zu direktem Interspezieselektronentransfer befähigt
- ▶ Der Gegenspieler *Methanoculleus* ist nicht zu DIET befähigt!
- ▶ Hinweise zur Häufigkeit dieser Gattungen über **420-Fluoreszenzmikroskopie** ist möglich...!



F420-FLUORESZENZMIKROSKOPIE

Eine günstige Methode wurde benötigt...

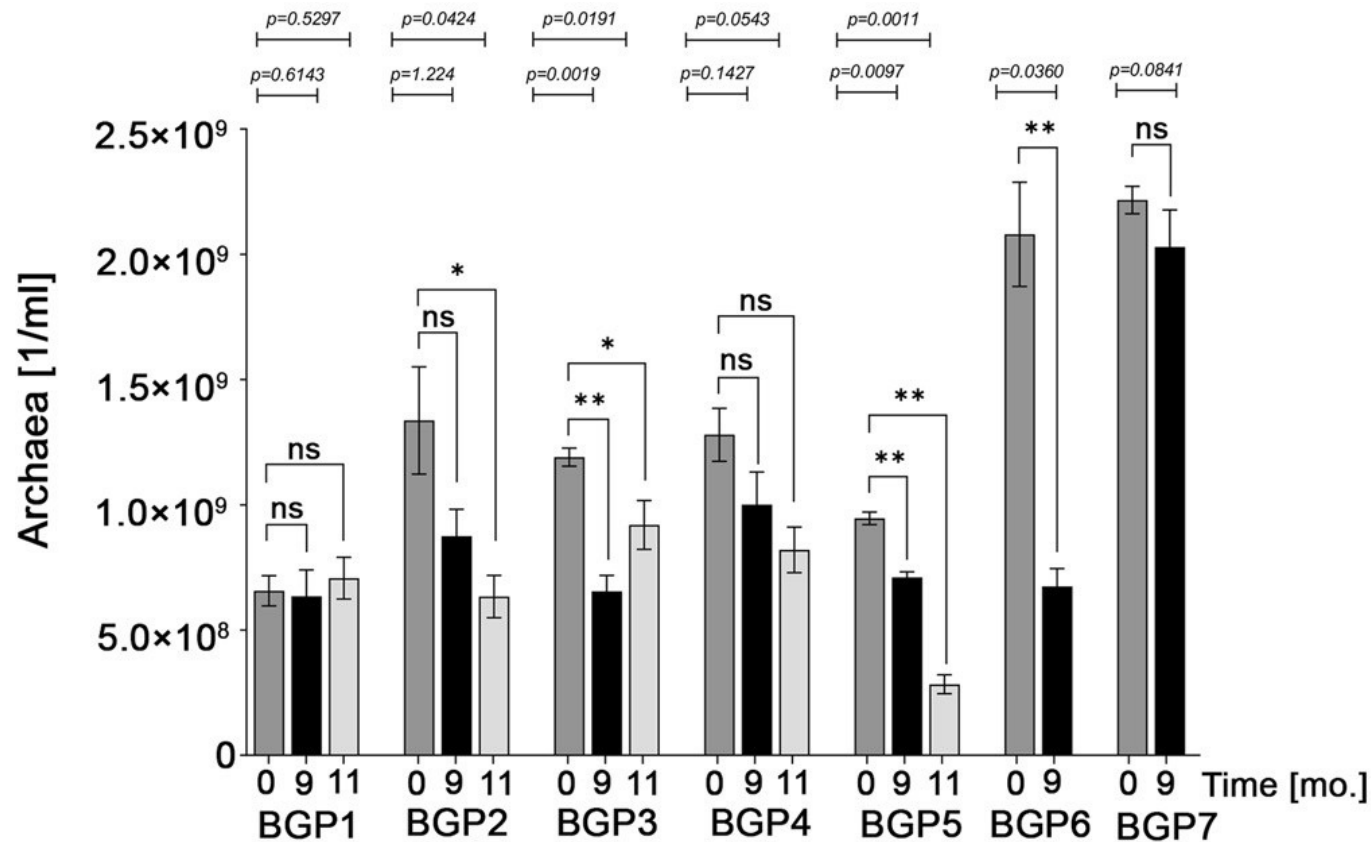
Der Kofaktor 420 absorbiert Licht mit 420 nm und emittiert Licht mit 520 nm; Der Kofaktor ist typisch für Methanogene!



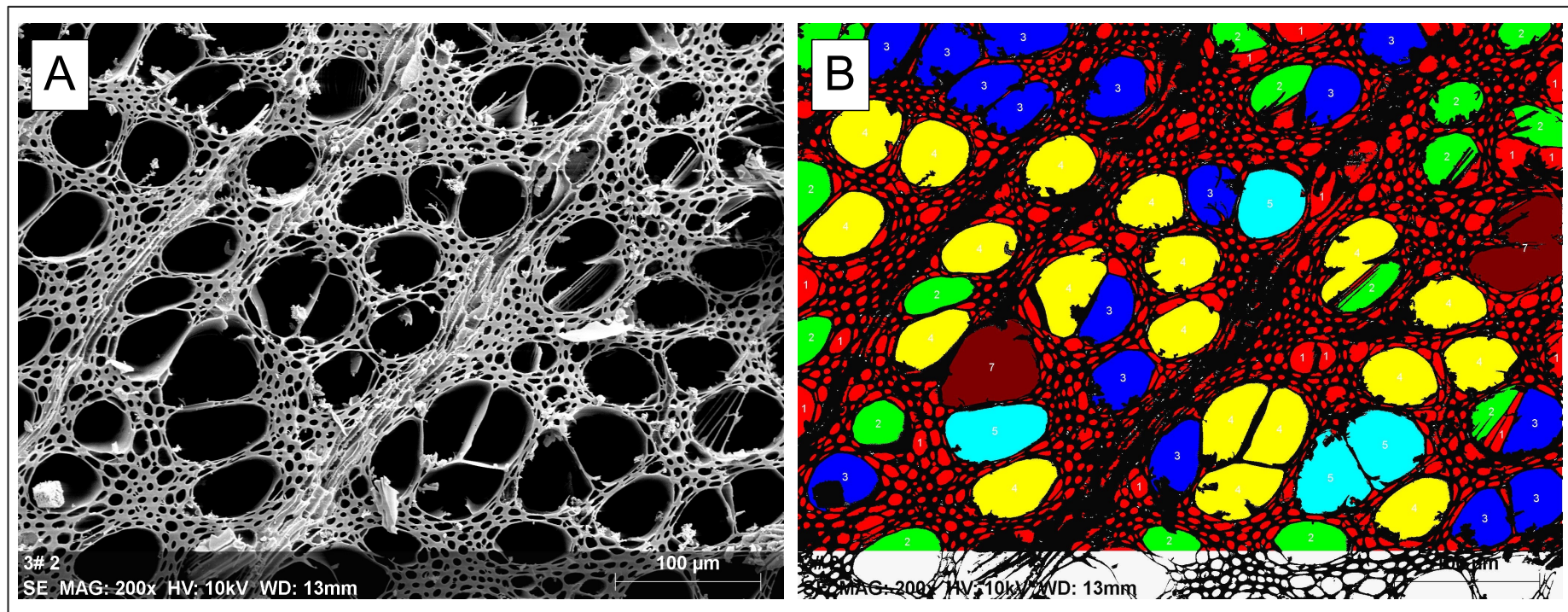
DIE ZELLMENGE NIMMT AB?

Gibt es weniger methanogene Archaeen?

Mögliche Erklärungen: Fixierung in Biokohle?



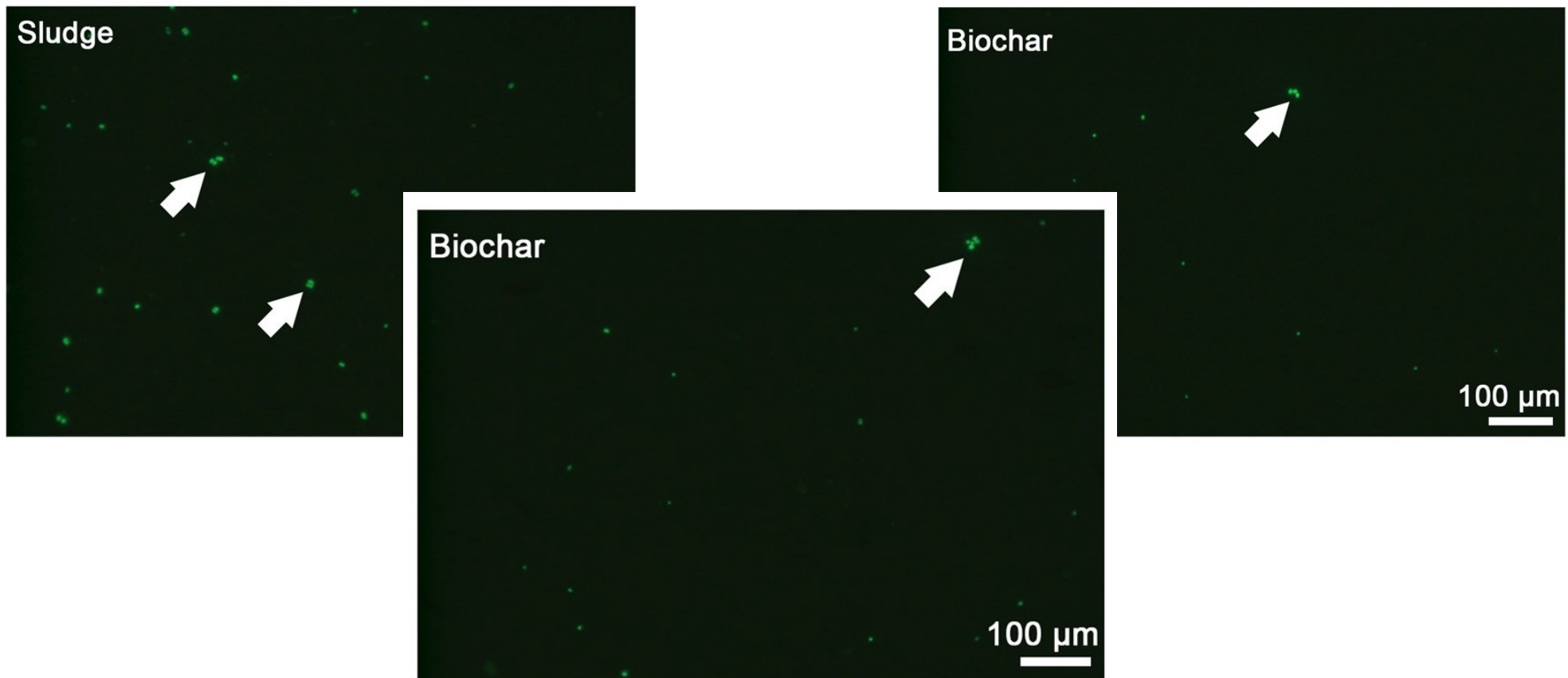
Anfärbung nach Porengröße: Rot < 10 μM ; Grün 10 – 20 μM ; Blau 20 – 30 μM ; Gelb 30 – 40 μM ; Türkis 40 – 50 μM ; Weinrot 50 – 70 μM



ORGANISMEN WACHSEN IN BIOKOHLE

Es gibt ausreichend große Kapillaren

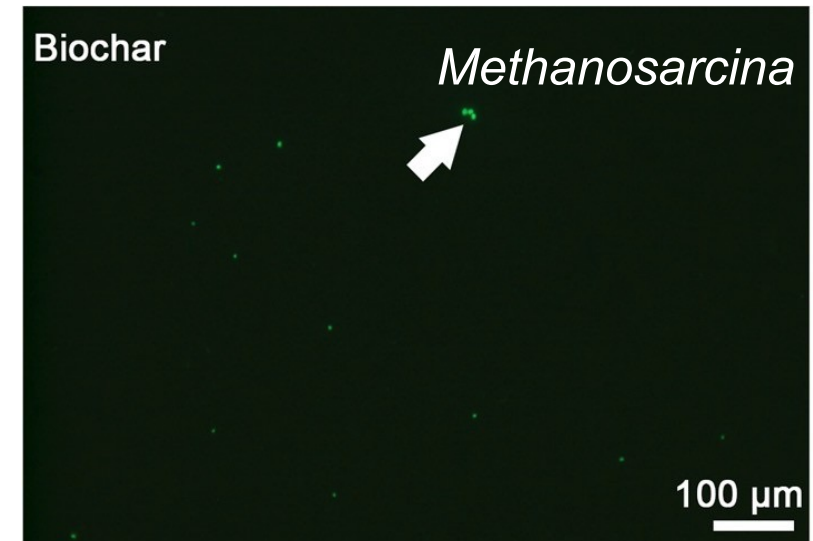
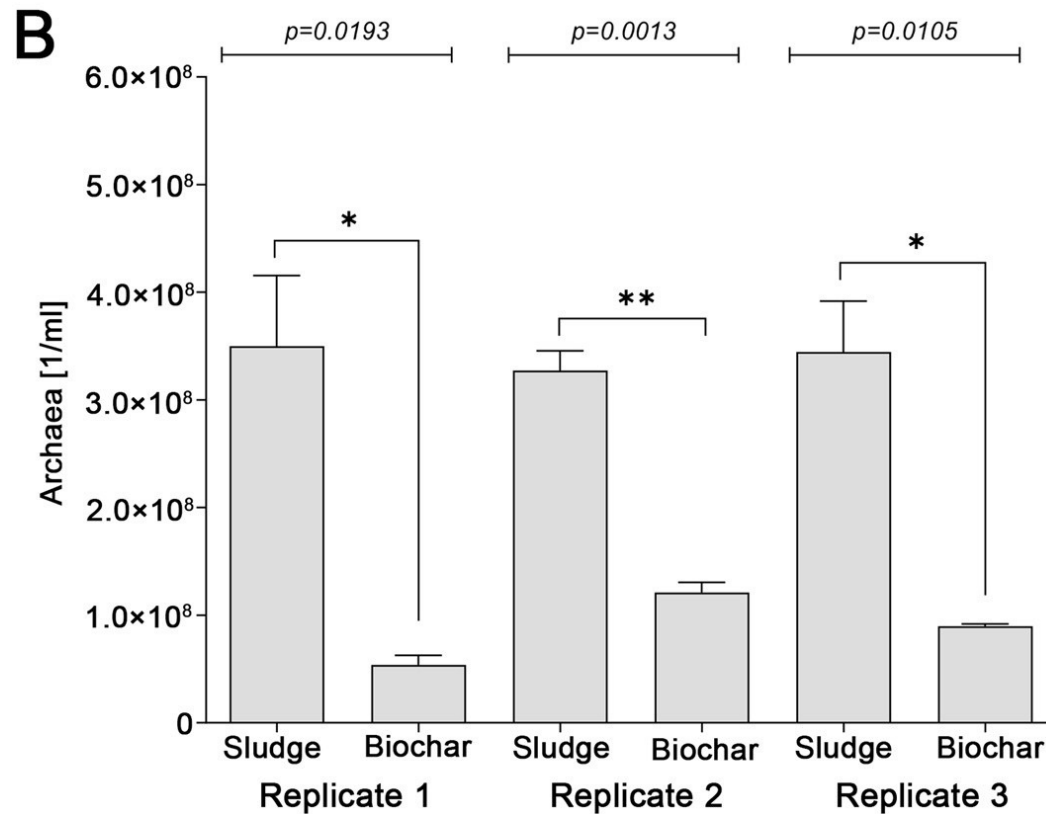
Linkes Bild: Methanbildner im umgebenden Schlamm
Mittleres & rechtes Bild: Methanbildner in Biokohle



ORGANISMEN WACHSEN IN BIOKOHLE

Es gibt ausreichend große Kapillaren

Es sind wenige Methanbildner in der Biokohle enthalten!



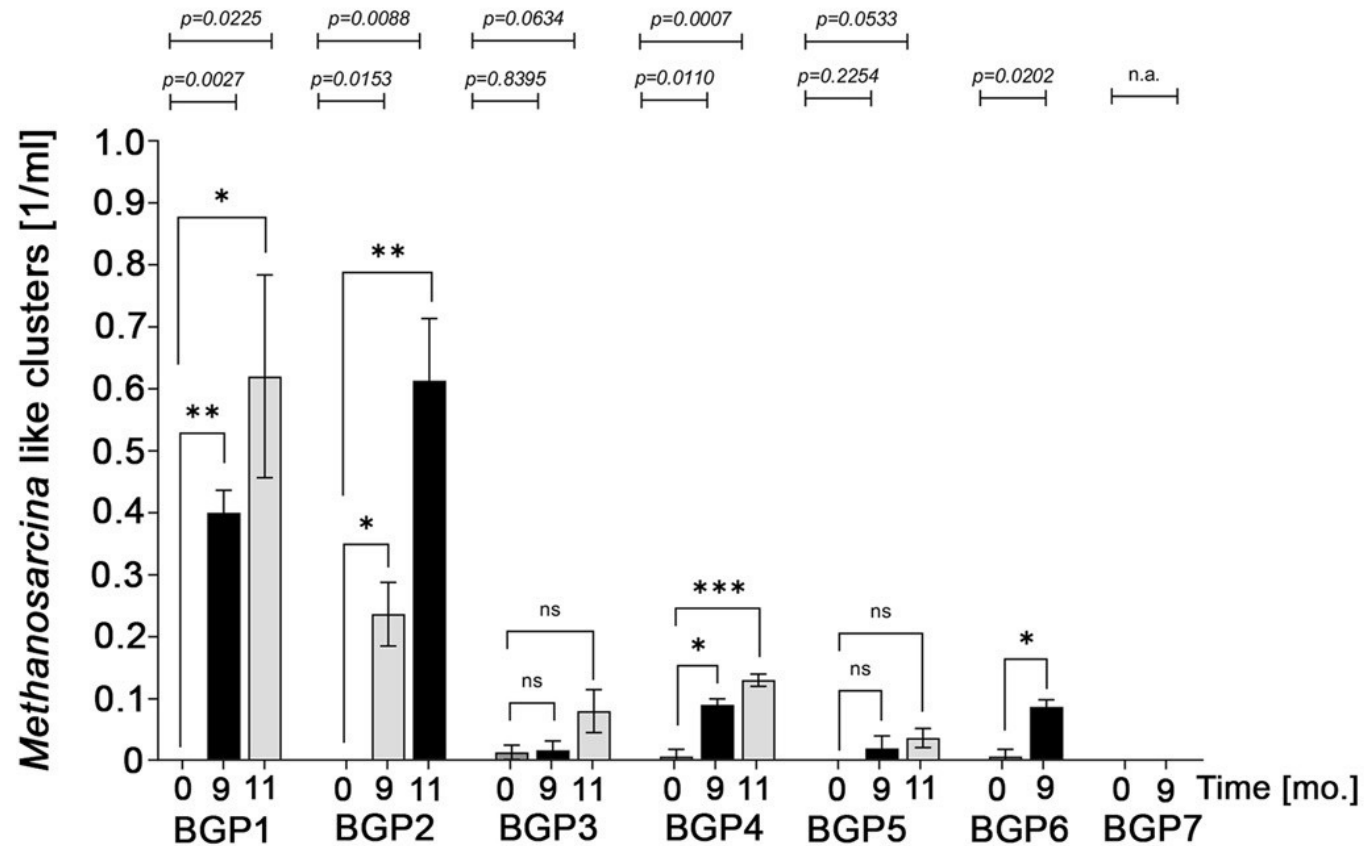
- ▶ Ein Teil der Prozessbiozönose wurde in die Biokohle verschoben
- ▶ Kleinere Zellklumpen wurden gefunden (*Methanosarcina*)

EIN ANSTIEG FÜR *METHANOSARCINA*

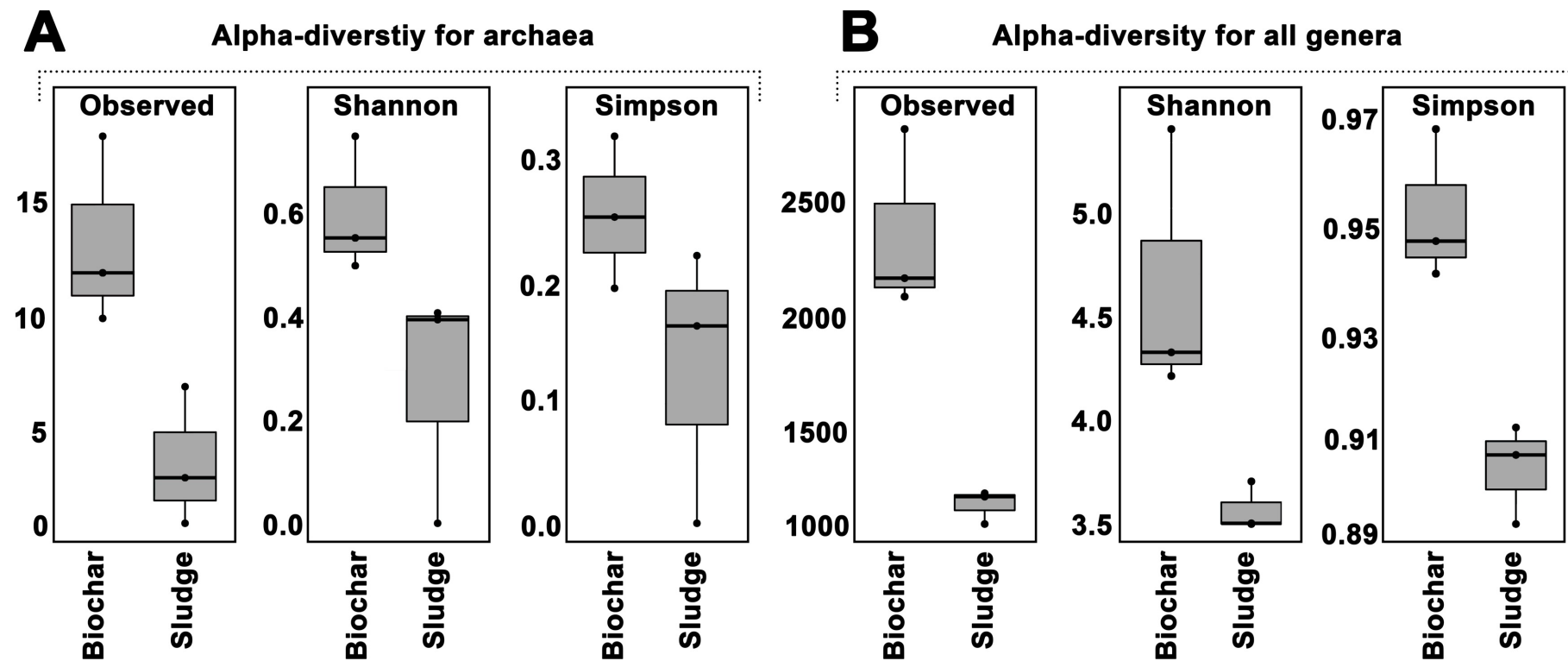
Ein signifikanter Anstieg!

Erhöhte Menge an *Methanosarcinen*! Hinweis auf DIET?

Ähnliche Beobachtung für *Methanotherix*...



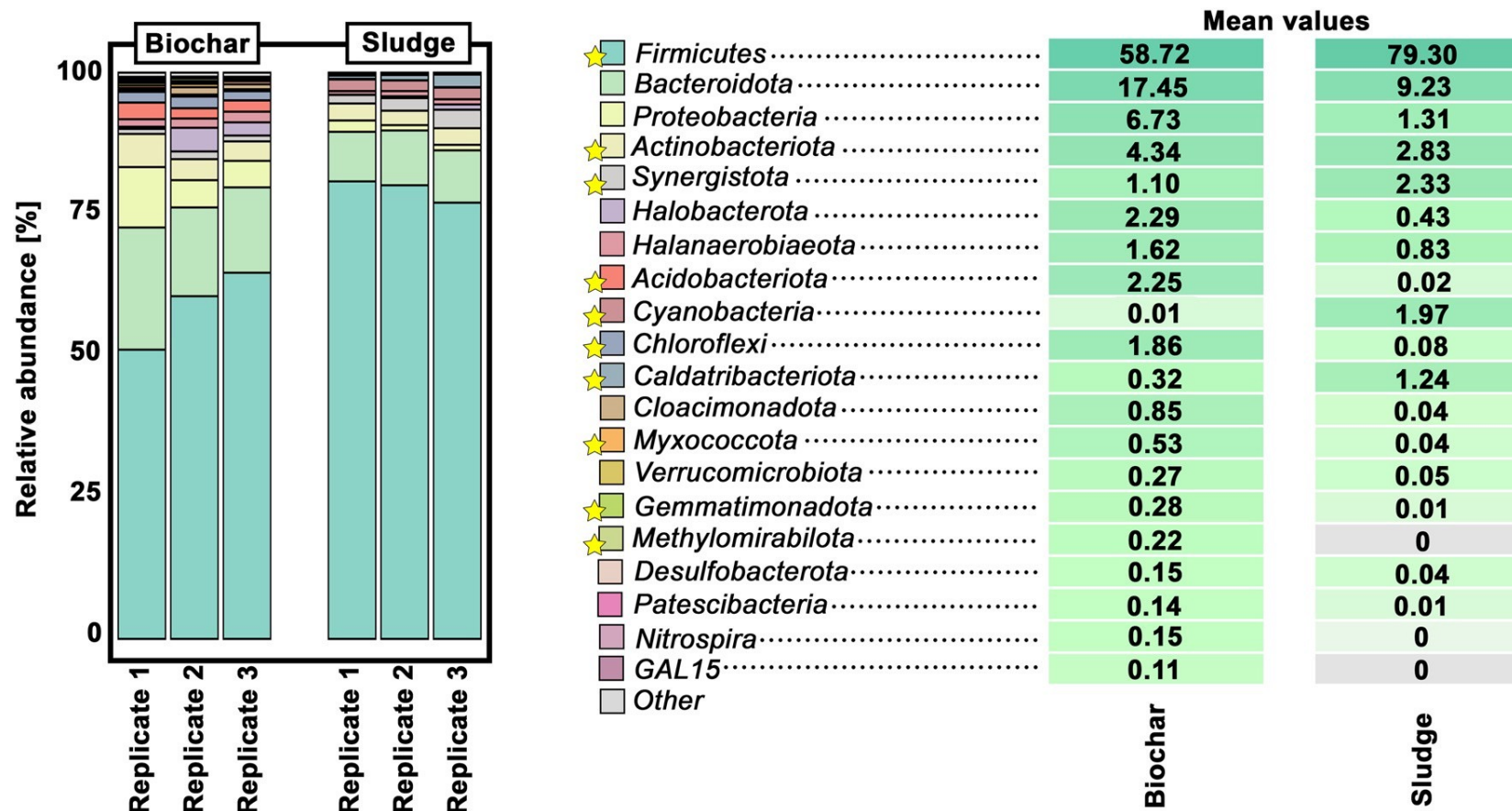
Biokohle enthält weniger Methanbildner, zeigt aber eine höhere Biodiversität!



DNA-ANALYSE STATT MIKROSKOPIE

16S-rRNA Gen Amplikon Sequenzierung

Bereits auf Phylum Ebene unterscheiden sich Biokohle und der umgebende Schlamm deutlich!



DNA-ANALYSE STATT MIKROSKOPIE

16S-rRNA Gen Amplikon Sequenzierung

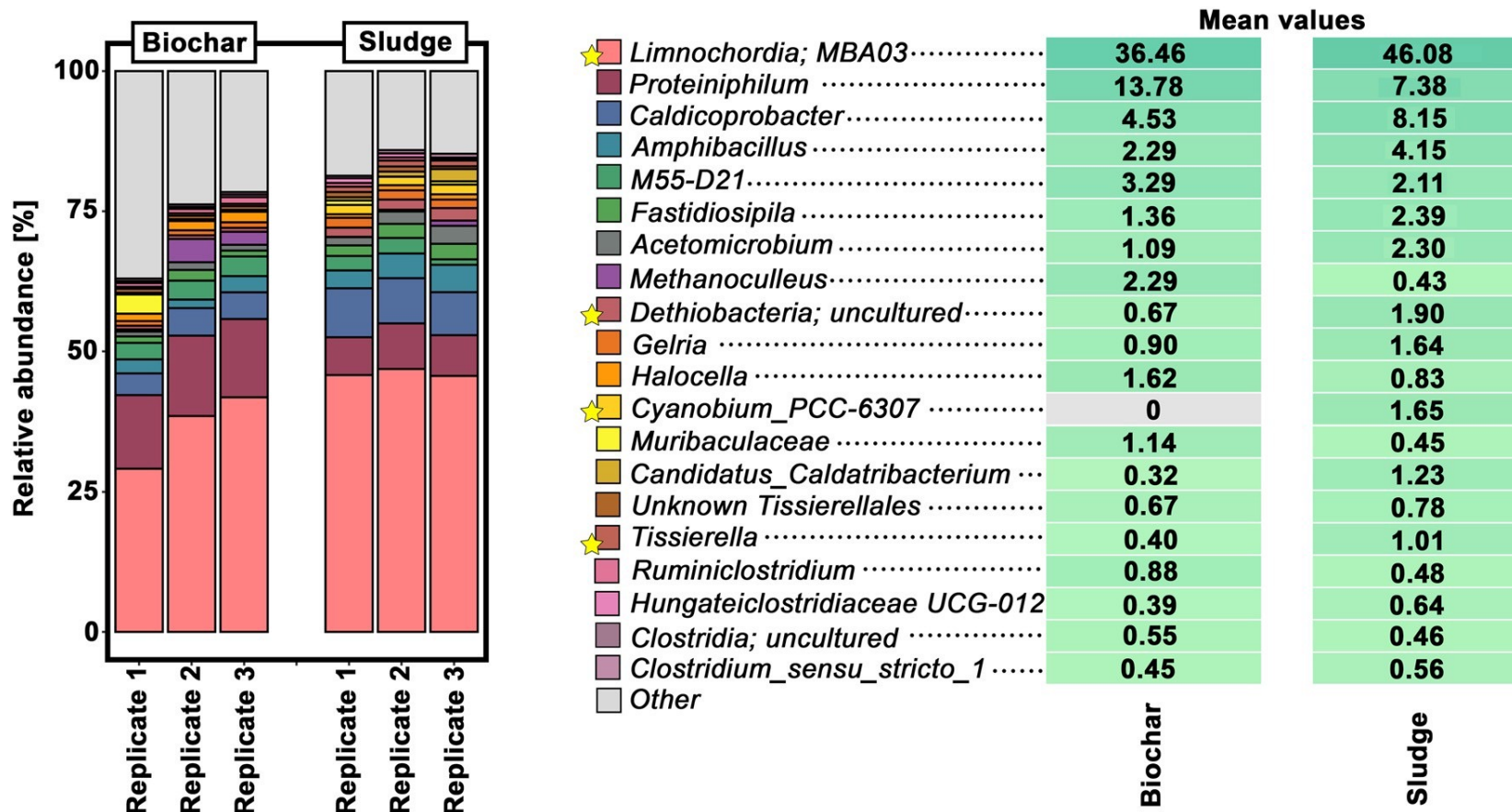
In der Biokohle sind harsche Bedingungen gegeben: Kann dies die Ausbildung robuster Mikroorganismen begünstigen?

- Anstieg in *Halanaerobiaeota* (Anpassung an Salz?)
- Anstieg in *Acidobacteriota* (vorherig Beschrieben als Reaktion auf ungünstige Bedingungen in Erde)
- Anstieg in Proteobacteria (vorherig beschrieben als Reaktion auf hohe Stickstoffgehalte)

Mean values

| | Biochar | Sludge |
|----------------------------|---------|--------|
| ★ Firmicutes | 58.72 | 79.30 |
| Bacteroidota | 17.45 | 9.23 |
| Proteobacteria | 6.73 | 1.31 |
| ★ Actinobacteriota | 4.34 | 2.83 |
| ★ Synergistota | 1.10 | 2.33 |
| Halobacterota | 2.29 | 0.43 |
| Halanaerobiaeota | 1.62 | 0.83 |
| ★ Acidobacteriota | 2.25 | 0.02 |
| ★ Cyanobacteria | 0.01 | 1.97 |
| ★ Chloroflexi | 1.86 | 0.08 |
| ★ Caldatribacteriota | 0.32 | 1.24 |
| Cloacimonadota | 0.85 | 0.04 |
| ★ Myxococcota | 0.53 | 0.04 |
| Verrucomicrobiota | 0.27 | 0.05 |
| ★ Gemmatimonadota | 0.28 | 0.01 |
| ★ Methyloirabilota | 0.22 | 0 |
| Desulfobacterota | 0.15 | 0.04 |
| Patescibacteria | 0.14 | 0.01 |
| Nitrospira | 0.15 | 0 |
| GAL15 | 0.11 | 0 |
| Other | | |

Unterschiede auf der Gattungsebene (genauere taxonomische Klassifikation)



DNA-ANALYSE STATT MIKROSKOPIE

16S-rRNA Gen Amplikon Sequenzierung

Gibt es einen Hinweis auf DIET?

- MBA03 & Proteiniphilum
- Beide in Zusammenhang mit DIET-Artikeln beschrieben
- **ABER:** auch in anderen Artikeln
- **Hohe Abundanz von *Methanoculleus* untypisch für DIET**
- Auf Sequenzebene keine deutlichen Hinweise!

| | Mean values | |
|---|-------------|--------|
| | Biochar | Sludge |
| ★ <i>Limnochordia; MBA03</i> | 36.46 | 46.08 |
| <i>Proteiniphilum</i> | 13.78 | 7.38 |
| <i>Caldicoprobacter</i> | 4.53 | 8.15 |
| <i>Amphibacillus</i> | 2.29 | 4.15 |
| <i>M55-D21</i> | 3.29 | 2.11 |
| <i>Fastidiosipila</i> | 1.36 | 2.39 |
| <i>Acetomicrobium</i> | 1.09 | 2.30 |
| <i>Methanoculleus</i> | 2.29 | 0.43 |
| ★ <i>Dethiobacteria; uncultured</i> | 0.67 | 1.90 |
| <i>Gelria</i> | 0.90 | 1.64 |
| <i>Halocella</i> | 1.62 | 0.83 |
| ★ <i>Cyanobium_PCC-6307</i> | 0 | 1.65 |
| <i>Muribaculaceae</i> | 1.14 | 0.45 |
| <i>Candidatus_Caldatribacterium</i> ... | 0.32 | 1.23 |
| <i>Unknown Tissierellales</i> | 0.67 | 0.78 |
| ★ <i>Tissierella</i> | 0.40 | 1.01 |
| <i>Ruminiclostridium</i> | 0.88 | 0.48 |
| <i>Hungateiclostridiaceae UCG-012</i> | 0.39 | 0.64 |
| <i>Clostridia; uncultured</i> | 0.55 | 0.46 |
| <i>Clostridium_sensu_stricto_1</i> | 0.45 | 0.56 |
| Other | | |

Carboferm scheint die Reaktorleistung und das zugrunde liegende Mikrobiom zu beeinflussen!

Es gab Hinweise auf:

- Verbesserten Abbau organischer Säuren
- Anstieg in Populationen von *Methanosarcina*- und *Methanothrix* (Hinweis auf DIET?)
- Trotz allem hoher Anteil an *Methanoculleus* (kein DIET?)
- Hohe Menge adsorbierter Salze/Störstoffe (Adsorption muss eine Rolle spielen!)
- Höhere Menge stressresistenter Mikroorganismen als Folge von Adsorptionseffekten

Wir brauchen mehr Proben, tiefergreifendere Analytik und weitere Modelle sollten in Betracht gezogen werden!

- Mehr Daten für eine robustere Statistik; bessere Zeitauflösung
- Nicht nur 16S-rRNA Sequenzierung sondern auch Metagenomik
- Mehrere Proben sollten sequenziert werden
- Zusätzliche Gasanalytik wäre relevant
- Neuer Mechanismus? 2017 wurde von Salvador *et al.* ein positiver Effekt von Kohlenstoffnanoröhren auf Methanbildung beschrieben (auf *Methanoculleus* ohne Co-Kultur)
- Vergleich von leitfähigen und nicht-leitfähigen Supplementen?

Wir arbeiten an alternativen Versuchsansätzen...!



Aus der Promotionsschrift von Savannah Baptist

- Abendroth C, Rückert A, Bierwage H, et al. 2021. Greening Belarus – Export grüner Technologien mit dem Schwerpunkt Kompostierung und Biogas. Müll und Abfall. 6.21, 296 – 302.
- Beckmann S, Welte C, Li X, et. al. 2016. Novel phenazine crystals enable direct electron transfer to methanogens in anaerobic digestion by redox potential modulation. Energy Environ Sci. 9, 644.
- Cheng Q, Call DF. 2016. Hardwiring microbes via direct interspecies electron transfer: mechanisms and applications. Environ Sci: Processes Impacts. 18, 968.
- Heitkamp K, Latorre-Pérez A, Nefigmann S. et al. 2021. Monitoring of seven industrial anaerobic digesters supplied with biochar. Biotechnol Biofuels. 14:185.
- Martins G, Salvador AF, Pereira L, et al. 2018. Methane Production and Conductive Materials: A Critical Review. Environ Sci Technol. 52, 10241-10253.
- Salvador AF, Martins G, Melle-Franco M, et al. 2017. Carbon nanotubes accelerate methane production in pure cultures of methanogens and in a syntrophic coculture. Environ Microbiol. 19:2727–39.
- Zhang M, Ma Y, Dandan J, et al., 2019. Synergetic promotion of direct interspecies electron transfer for syntrophic metabolism of propionate and butyrate with graphite felt in anaerobic digestion. Bioresour Technol. 287, 121373.



Brandenburgische
Technische Universität
Cottbus - Senftenberg

Brandenburgische Technische Universität Cottbus – Senftenberg
Fakultät 2 – Institut für Umweltwissenschaften und Umwelttechnik
Fachgebiet für Kreislaufwirtschaft
Prof. Dr. Christian Abendroth

Lehrgebäude 4A R2.25,
Siemens-Halske-Ring 8
03046 Cottbus

T +49 (0)355 69 1185
E christian.abendroth@b-tu.de

<https://www.b-tu.de/fg-kreislaufwirtschaft/>

