



# Herstellung und Charakterisierung biogener mikrostrukturierter Partikel

Prof. Dr.-Ing. Ulrich Teipel  
Makrina Chairpoulou  
Fakultät Verfahrenstechnik  
Forschungsgruppe (FPR)  
Technische Hochschule Nürnberg

## Wesentliche Projektziele

Das Projekt „Herstellung und Charakterisierung biogener mikro-strukturierter Partikel“ zielt darauf ab, die Kultivierung der Mikroalge *Emiliania Huxleyi*, eine spezielle Algen-Spezies im Labormaßstab zu erforschen. Im Fokus steht die Fähigkeit des biogenen Systems, Partikel mit definierter Struktur zu erzeugen. In den Reaktoren der TH Nürnberg wird zuerst der Kultivierungsprozess für das biogene Gemisch etabliert und eine hinreichende und fehlerfreie Menge von Coccolithen, sogenannte Kalzitplättchen, hergestellt. In der Aufbereitungsstrategie werden die Coccolithen bis zu einer hinreichenden Konzentration (nahe dem Konzentrationsmaximum) produziert und einem Reinigungsprozess zugeführt. Bei dem derzeitigen Prozess kann es zum Teilverlust der Coccolithen kommen. Es ist geplant, an der TH Nürnberg ein Alternativverfahren zu entwickeln, so dass die komplexe Struktur dieser Partikel erhalten bleibt. Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Charakterisierung der Partikel mit Fokus auf die Struktur der Coccolithen.

### 1. Projektdaten

Fördersumme	30.000 Euro
Laufzeit	Februar bis Dezember 2016
Fakultät / Institut / Kompetenzzentrum	Fakultät Verfahrenstechnik / Mechanische Verfahrenstechnik / Fraunhofer Forschungsgruppe (FPR)
Projektleitung	Prof. Dr.-Ing. Ulrich Teipel
Kontaktdaten	E-Mail: ulrich.teipel@th-nuernberg.de

### 2. Ausgangslage

Im Fokus dieses Projekts steht die Fähigkeit einer speziellen Algen Spezies, Partikel mit definierter Struktur herzustellen. Basierend auf statistischen Analysen für den zukünftigen globalen Markt wird ein Bedarf von 108,5 Mio. t/a an Calciumcarbonatpartikeln prognostiziert. In diesem Umfeld haben die hier entwickelten, neuen Partikel mit deutlich komplexer Struktur hinreichend gute Chancen am zukünftigen Markt. Diese spezielle Struktur, die synthetisch nicht herstellbar ist, in dem Gesamtprozess zu erhalten, stellt besondere Herausforderungen an den Aufbereitungsprozess.

Im ersten Schritt wurde in drei Bioreaktoren an der TH Nürnberg eine ausreichende Menge Biosuspension hergestellt. Die Arbeitsgruppe des Kooperationspartners Karlsruher Institut für Technologie (KIT) von Prof. Dr. Clemens Posten stellte dafür eine Stammkultur (CCMP 3266) bereit. Diese wird in den Laboren der Mechanischen Verfahrenstechnik an der TH Nürnberg kultiviert. Es konnte eine hinreichende Produktion von Coccolithen erreicht und die Untersuchungen der folgenden Arbeitspakete durchgeführt werden:

- Aufbereitung der Suspension
- Charakterisierung der Partikel

### 3. Ziele des Forschungsprojekts

Ziele dieses Projektes sind die Kultivierung, aber vor allem die Aufbereitung der biogenen Suspensionen und die anschließende Charakterisierung der Partikel und der komplexen Struktur.

### 4. Versuchsdurchführung

In den Reaktoren der TH Nürnberg wurde in einem ersten Schritt der Kultivierungsprozess für die biogenen Suspensionen etabliert und eine hinreichende Menge hergestellt und drei verschiedene Reaktorsysteme wurden im Labor untersucht. Diese Reaktorsysteme unterscheiden sich in verschiedenen Bautypen und Möglichkeiten (siehe Tabelle 1). Zwei wichtige Unterschiede sind zum Beispiel das Belüftungssystem und die Durchmischung der biogenen Suspension, die zu deutlich unterschiedlichen Wachstumsraten führen.

Die drei verwendeten Systeme werden in der Abbildung 1 vorgestellt:

- Plattenreaktor, Labfors 5 Lux, Infors (R1)
- Schottflasche Reaktor, KIT System (R2)
- selbstgebauter Bagreaktor (R3)



Abbildung 1: Plattenreaktor, Labfors 5 Lux mit LED flat panel (Infors HT) (l.), Schottflasche Reaktor, KIT System (m.) und Bag-Reaktor (r.).

Die Bedienungen für die Kultivierung sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

	Plattenreaktor (R1)	Schottflasche	Bag Reaktor
pH-Wert	pH 8,5 Automatisierte Regelung (2M NaOH)	pH 8,5 Tägliche Regelung (0.5 M HCl)	pH 8,5 Tägliche Regelung (1 M NaOH)
Gaszufuhr	Druckluft (1 L·min <sup>-1</sup> , 1 bar)	Keine Begassung	Druckluft (36 mL·min <sup>-1</sup> , 1 bar)
Temperatur	19 °C	17 °C	20 °C
Medium	1.8 L	5 L	1.2 L
Lichtquelle	LED-Platte (PFD = 300 μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) 10/14 Stunden Tag/Nacht- Zyklus	LED-Band (PFD = 300 μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) 10/14 Stunden Tag/Nacht- Zyklus	LED-Band (PFD = 38 μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) 10/14 Stunden Tag/Nacht- Zyklus
Durchmischung	Zirkulation durch Begassung	Magnetrührer (300 rpm)	Begassung über Belüftersteine
Kohlenstoffquelle	CO <sub>2</sub> -Gas (1.0 mL·min <sup>-1</sup> , 1 bar)	37.5 mL NaHCO <sub>3</sub>	7.5 mL NaHCO <sub>3</sub>

Tabelle 1: Parameter für die drei Reaktor Systeme

In einem zweiten Schritt untersuchte die Arbeitsgruppe die Aufbereitung der hergestellten Suspension. Hierbei ist es von besonderer Bedeutung, eine Aufbereitungsstrategie zu entwickeln, bei der die Partikelstruktur nicht beschädigt wird. Zur Aufbereitung (zum Aufschluss des Zellsystems) wurde ein Temperaturgradient eingesetzt. Ein weiterer wichtiger Parameter ist die Aufkonzentrierung der Suspension. Je höher die Anzahldichte von Partikeln im System ist, d. h. je weniger Medium vorhanden ist, umso wahrscheinlicher ist es, dass die Partikel agglomerieren. Eine spätere Separation wird dadurch immer aufwendiger. Vor weiteren Untersuchungen wurde die Konzentration der Kultivierungsbrühe auf 80 Prozent ihres Volumens reduziert.

Die produzierten Coccolithen wurden mit folgendem Verfahren gereinigt:

#### Ablauf des Reinigungsprozesses:

Die Coccolithen wurden bis zu einer hinreichenden Konzentration (nahe dem Konzentrationsmaximum) produziert und anschließend in einem für diese spezifische Anwendung entwickelten Reinigungsprozess behandelt.

Im ersten Schritt wurde die Kultivierungsbrühe in einem Klimaschrank auf 80 °C erhitzt. Durch diese Temperierung der Trübe schließen sich die Zellen auf. Nach dem Zellaufschluss sedimentieren die Coccolithen und der Überstand wird entfernt. Im Anschluss wurde das Sediment in eine Zentrifuge bei 8000 xg behandelt, um weitere Restfeuchte zu entfernen. Zunächst wurden die Partikel in einer 12-prozentigen NaOCl Lösung resuspendiert.

Das Sediment wurde für 15 bis 20 Minuten inkubiert und anschließend mit einer  $\text{NaHCO}_3$  Lösung gewaschen. Dieser Prozess wurde mehrmals wiederholt. Nach dem Waschprozess wurden die Partikel getrocknet. In diesem Verfahren wurde eine Zentrifuge eingesetzt – ein Nachteil dieses Prozesses ist ein Teilverlust der Coccolithen. Ein weiterer ungünstiger Aspekt des beschriebenen Prozesses ist der zeitintensive Ablauf und dass zudem nur kleine Mengen an Suspension bearbeitet werden können.

Aufgrund dieser Erkenntnisse zielen wir als Arbeitsgruppe darauf ab, ein Alternativverfahren an der TH Nürnberg zu entwickeln. Eine zentrale Vorgabe für das Redesign dieses Prozesses ist, dass die komplexe Struktur dieser Partikel erhalten bleibt. Aufgrund der hohen strukturzerstörenden Kräfte ist das eine besondere Herausforderung.

Der zweite Teil dieser Arbeit beschäftigt sich mit der Charakterisierung der Partikel. Auch hier wird der Fokus auf der weiteren Analyse der Struktur der Coccolithen liegen.

## 5. Ergebnisse

Der nachfolgende Teil stellt die geplanten Arbeitspakete und die bereits produzierten Ergebnisse vor und diskutiert sie.

### Arbeitspaket 1: Aufbereitungstechnologie

Die Aufbereitung der Biogenen Suspension ist in hohem Maße von dem eingesetzten Kraftfeld und den möglichen Lösungsmitteln abhängig. Zur Ermittlung ausgewählter Einflussparameter führte die Arbeitsgruppe folgende Versuchsreihen durch:

#### ■ Untersuchung der Biogenen Suspension

Der erste Schritt zielt auf die Entwicklung eines geeigneten Separationsmechanismus, dazu wurden die in der Suspension vorhandenen biogenen Agglomerate untersucht. Das zentrale Ergebnis dieses Arbeitspaketes ist es, die Gestalt und die Größe der Agglomerate nach der Kultivierung definieren zu können.

#### ■ Ultraschallbehandlung der Suspensionen

Schon in früheren Forschungsarbeiten wurde diskutiert, dass es möglich ist die Coccolithen aus den Zellen mittels Ultraschall trennen zu können. Die freie Coccolithenzahl in der Suspension kann hierdurch i. d. R. gesteigert werden. Eine Behandlung der Suspension mit Ultraschall wurde in verschiedenen Zeitintervallen durchgeführt.

#### ■ Untersuchung der Fraktionen im Produkt

Ein weiterer wichtiger Parameter dieser Systeme ist die Partikelgrößenverteilung der gereinigten Coccolithen. Dieser Arbeitsschritt zielt auf die Untersuchung des Agglomerationsgrades im System.

### Arbeitspaket 2: Charakterisierung

Die komplexe und charakteristische Form der Coccolithen zeigt Abbildung 2. Jeder Partikel besteht aus zwei gekrümmten ovalen Platten mit Strahlen, die in der Mitte durch einen Ring verbunden sind. Bei dem derzeitigen Aufbereitungsprozess werden Teilerstörungen an den Partikeln beobachtet. Die vorliegenden Ergebnisse repräsentieren nur einen Teil der im System vorhandenen Partikeleigenschaften. Hier besteht noch ein deutlicher Optimierungsbedarf.

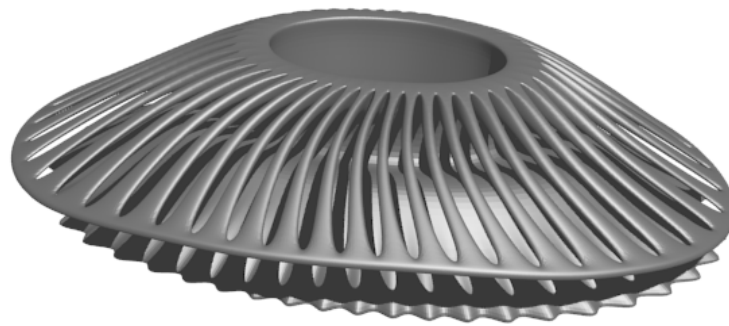


Abbildung 2: Aufbau und Struktur der Coccolithen

Die Grundform dieser Partikel ist eine kreisförmige Scheibe mit einer Vielzahl von Stegen mit einem Zwischenraum. Die spezifische Oberfläche wurde durch eine Gasadsorption (multi-BET) im Bereich von 12 bis 19 m<sup>2</sup>/g ermittelt. Der mittlere Durchmesser der Partikelgrößenverteilung (Laserbeugungsspektrometrie) ergibt sich zu  $x_{50,3} = 3,11\mu\text{m}$ . Der Äquivalentdurchmesser  $x_{St,50,3}$  aus der Sedimentationsanalyse liegt bei  $x_{St,50,3} = 0,95\mu\text{m}$ . Der Versuch zeigt, dass diese Partikel aufgrund ihrer Struktur geometrisch und physikalisch deutlich unterschiedliches Verhalten aufweisen. Abbildung 3 zeigt beispielhaft einige Ergebnisse von Partikelgrößenverteilungen in Abhängigkeit der Ultraschallenergie. Durch Ultraschallbehandlung verschiebt sich die Verteilung leicht in den Fein- gutbereich.

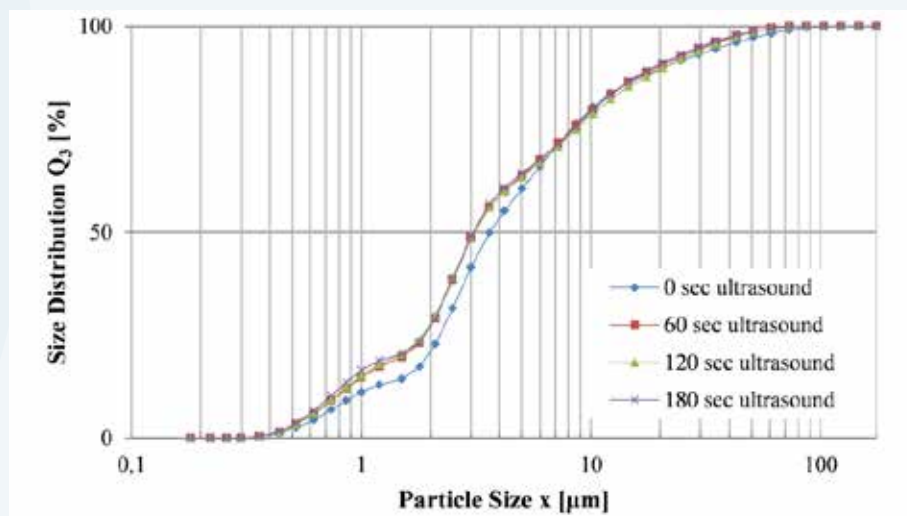


Abbildung 3: Partikelgrößenverteilungen bei verschiedenen Ultraschall-Bearbeitungszeiten

Es hat sich gezeigt, dass bei dem Strukturaufbau verschiedene Elemente eingebettet werden. Neben 85 Prozent CaO weisen die Coccolithen auch ca. 6,5 Prozent MgO und SiO<sub>2</sub> und Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> auf, die allerdings in geringen Mengen detektiert werden konnten. Diese biologisch erzeugten Coccolithen weisen durch das Vorhandensein dieser Zusatzelemente eine deutlich robustere Struktur auf als das synthetisch hergestellte CaCO<sub>3</sub>. Das Einbetten von verschiedenen Elementen steht in Abhängigkeit zum Wachstumsmedium und kann zu einer unterschiedlichen Komposition der Coccolithen führen. Mittels einer XRD-Analyse könnten auch die Kristallphasen der Coccolithen bestimmt werden. Aragonit und Calcit sind die zwei Modifikationen, die in der Struktur der Coccolithen definiert werden konnten (Abbildung 4).

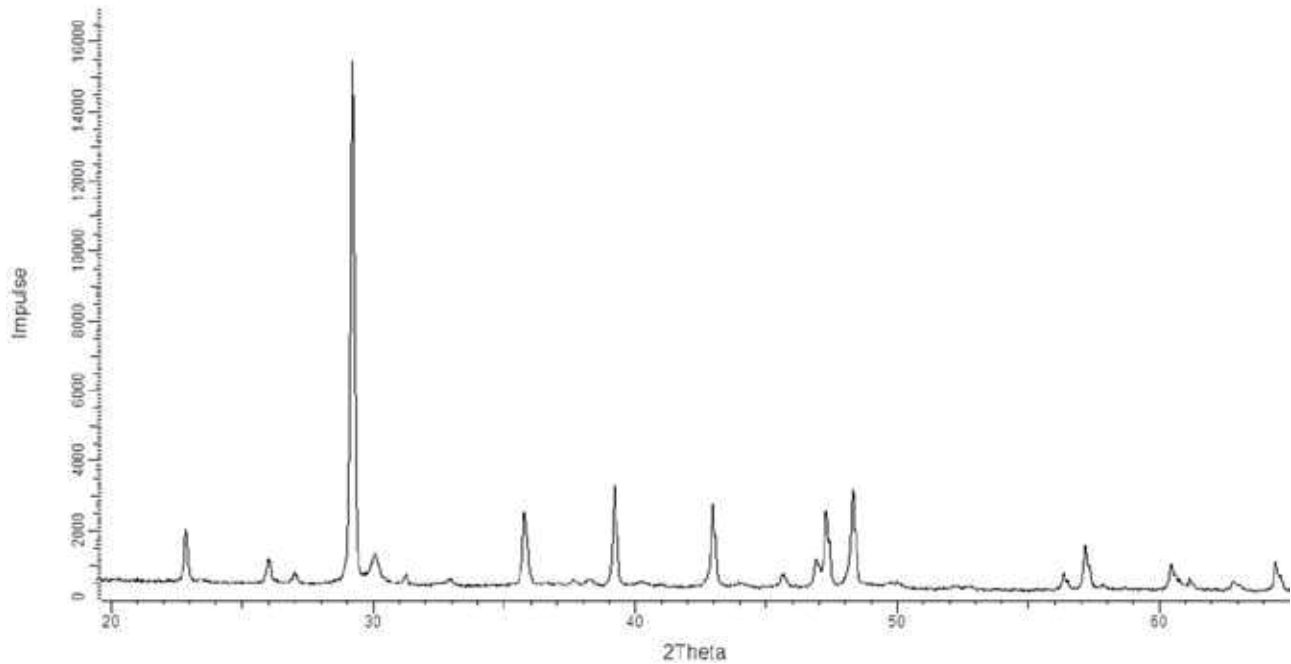


Abbildung 4. XRD Analyse von Coccolithen (XRD; Bragg-Brentano-Diffraktometer, D8 Advance von Bruker AXS).

Mittels FT-IR Analyse ist es möglich, bisherige Ergebnisse weiter zu verifizieren. Abbildung 5 zeigt charakteristische Reflexe für  $\text{CaCO}_3$  bei  $1394,02 \text{ cm}^{-1}$ ,  $871,45 \text{ cm}^{-1}$  und  $71,4 \text{ cm}^{-1}$ .

Die Reflexe bei  $712,4 \text{ cm}^{-1}$  und  $871,45 \text{ cm}^{-1}$  sind typisch für Calcite. Ein kleineres Signal bei  $2515,03 \text{ cm}^{-1}$  deutet auf C-O Bindungen hin. Die drei weiteren Signale zwischen  $2800 \text{ bis } 3000 \text{ cm}^{-1}$  sind typisch für C-H Ausdehnungen. Wie erwartet, sind Spuren von Kohlenwasserstoffe in der Probe vorhanden, aber der Anteil der Organik in der Probe ist relativ gering.

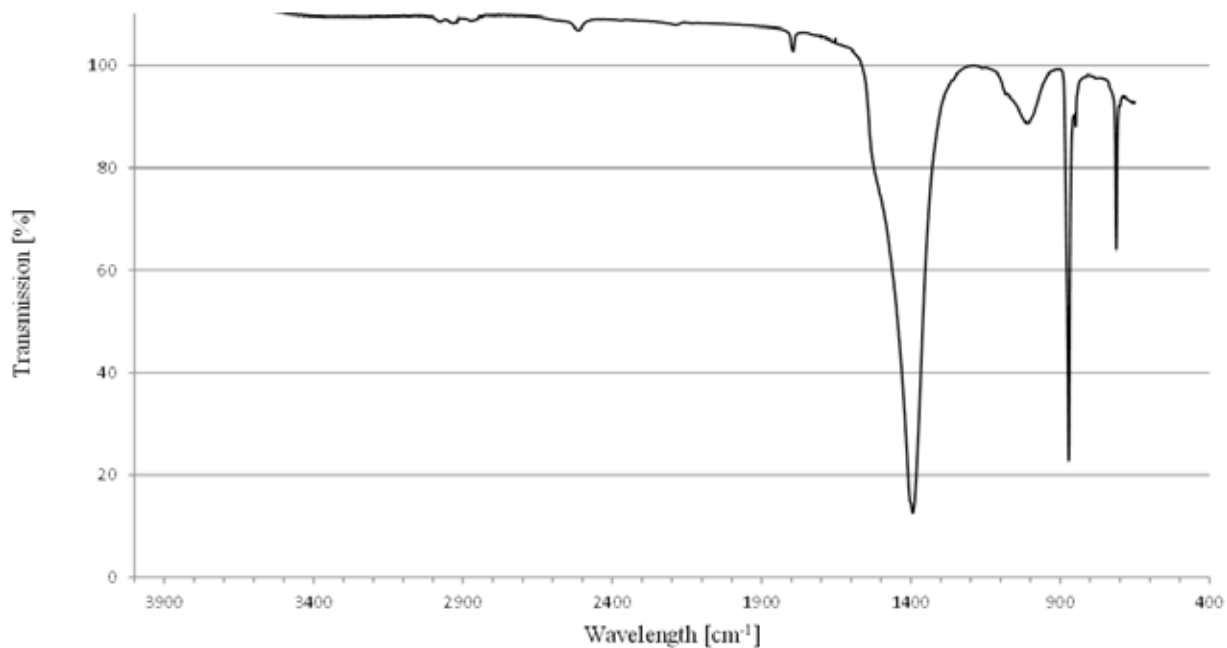


Abbildung 5: FT-IR Spektrum für Coccolithen (FT-IR-Spektrometer Nicolet 6700).

Um weitere Ergebnisse zu evaluieren ist eine Bildauswertungsmethode geplant, die direkt die Größe und geometrische Form der Partikel bestimmen. Zur Gewinnung intakter Partikel ist der Abtrennungsprozess zu modifizieren.

## 6. Nachhaltigkeit / Verwertung / wissenschaftliche Arbeiten

Die Ergebnisse zeigen ein interessantes Produkt mit komplexer Struktur. Es ist zu erwarten, dass aufgrund der speziellen Struktur der Partikel in weiteren Versuchen sehr interessante Eigenschaften des Produktes zu finden sind. Um Coccolithen als Produkt in einem konkreten Anwendungsbezug einsetzen zu können, sind noch offene Fragen zu klären. Diese ersten Ergebnisse tragen dazu bei, Coccolithen als einen nachhaltigen Rohstoff am Markt platzieren zu können.

Dieses Projekt hat einen deutlichen Beitrag dazu geleistet, erste Ergebnisse zur Aufbereitung der Systeme zu untersuchen und einige Eigenschaften der Coccolithsysteme zu ermitteln.

Es wurden folgende Schritte durchgeführt:

- Erfolgreiche Kultivierung von Ehux Zellen in ESAW Medium
- Untersuchungen von definierten Parametern Aufbereitung der Partikel
- Charakterisierung von Coccolithen Eigenschaften

Künftige Untersuchungsziele zur Optimierung der Ergebnisse

- Separationsverfahren optimieren
- Untersuchungen zum Einfluss der Partikelstruktur
- Charakterisierung von einzelnen intakten Coccolithen

In Juni 2016 wurden die ersten Ergebnisse auf dem Symposium „Rohstoffeffizienz und Rohstoffinnovation“ an der Evangelischen Akademie in Tutzing vorgestellt. Weiterhin wurde auf dem „International Kongress of Particle Technology 2016“ (April 2016) der Stand des Projektes vorgestellt.

Gemeinsam mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Clemens Posten vom Karlsruher Institut of Technology (KIT) wurden die Ergebnisse in dem Journal „Engineering von Life Science“ veröffentlicht.

2017 hat die Arbeitsgruppe die Forschungsergebnisse in weiteren Beiträgen vorgestellt:

1. International Symposium „Relpowflo V“ in Skien, Norwegen (Juni 2017)
2. 8. Symposium „Produktgestaltung in der Partikeltechnologie“ in Karlsruhe (Juni 2017)
3. European Congress and Exhibition on Advanced Materials and Processes „Euromat 2017“ in Thessaloniki, Griechenland (September 2017).

Die Promotion von Makrina Chairiopoulos ist für Ende 2018 an der Universität Cadiz in Spanien geplant und mit der Universität Cadiz vereinbart.