

# Untersuchung der Mikroflotation als biotechnologisches Trennverfahren

zur Erlangung des akademischen Grades einer  
DOKTORIN DER INGENIEURWISSENSCHAFTEN (DR.-ING.)

Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik des  
Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte

**DISSERTATION**

von

Dipl.-Ing. Susanne Jolan Gulden

aus Rinteln

Referent: Prof. Dr.-Ing. habil. Hermann Nirschl

Korreferent: Prof. Dr. rer. nat. Christoph Syldatk

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.2018







# Danksagung

Die vorliegende Dissertation entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Lehrstuhl für Verfahrenstechnische Maschinen, innerhalb des Instituts für mechanische Verfahrenstechnik und Maschinen am Karlsruher Institut für Technologie. Die Arbeit basiert auf Forschungen, die im Rahmen des BASF Konzernforschungsprojekts „Adsorptive Bubble Separation“ durchgeführt wurden. Die Projektleitung und Umsetzung erfolgte bei der BASF SE.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr.-Ing. habil. Hermann Nirschl für die Betreuung der vorliegenden Arbeit sowie für die Möglichkeit, an seinem Lehrstuhl zu promovieren. Seine Unterstützung und Anregungen waren stets wertvoll und haben diese Arbeit erst ermöglicht.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. Christoph Syldatk danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferats und das damit verbundene Interesse an meiner Arbeit.

Prof. Michael Kopf und Dr. Sascha Rollié möchte ich danken, für die Projektidee und die Projektvorbereitung, die eine vollständige Finanzierung des Forschungsprojektes durch die BASF SE ermöglichten. Prof. Michael Kopf gilt zudem mein Dank, für sein Interesse und seine Neugier an den Weiterentwicklungen im Projekt, sowie für seine Unterstützung über die gesamte Projektlaufzeit. Für ihre, im Rahmen der Projektleitung gegebene Unterstützung und die wertvollen, konstruktiven und offenen Diskussionen möchte ich mich bei Dr.-Ing. Sascha Rollié und Dr.-Ing. Christian Riedele herzlich bedanken. Des Weiteren möchte ich mich für die gute Zusammenarbeit innerhalb des Teams im Adsorptive Bubble Separation Projekt bedanken. Peter Bechtloff, Fritz Ziegert und Stefan Prahm gilt mein Dank für ihre Hilfe und Mitarbeit im Labor. Herzlich gedankt sei auch meinen Studenten Julian Ungerer, Florian Vogt und Talita Cadorin Fraiz für ihre guten experimentellen Laborarbeiten. Für die Leitung des Bio-Miniplant Labors und die damit einhergehende Sicherheitsarbeit möchte ich mich bei Dr.-Ing. Sebastian Briechle und Dr.-Ing. Ronja Münkel bedanken. Dr.-Ing. Julia Hofinger, von der BASF Fachabteilung für Computational Fluid Dynamics (CFD) danke ich herzlichst für ihre Strömungsberechnungen und den regen projektbezogenen Austausch. Für ihren Beitrag bei der Entwicklung der spezifischen Rasterkraftmikroskopie Technik möchte ich Dr. rer. nat. Roelf Peter Baumann und Sebastian Müller, von der BASF Fachabteilung für Material Physik, sowie Lisa Ditscherlein und Prof. Dr.-Ing. Urs Peuker, von der Technischen Universität Bergakademie Freiberg danken. Die Entwicklung des Blasengrößenmessgeräts „Bubble Size Analyzer“ wäre ohne die freundliche Unterstützung von Dr.-Ing. Rainer Friehmelt, Hendrik Monschau und Patrick Graefen von der Fachabteilung für Partikelmesstechnik nicht möglich gewesen, wofür ich Ihnen sehr dankbar bin. Bei den Kollegen der Gruppe für Bioprozessentwicklung bei der

BASF SE sowie den Kollegen am Lehrstuhl für Verfahrenstechnische Maschinen am KIT möchte ich mich für anregende fachliche und private Diskussionen bedanken.

Mein besonderer Dank für wertvolle Anregung beim Verfassen dieser Arbeit gilt Lucas Jakob und Manuel Meier vom Lehrstuhl für Verfahrenstechnische Maschinen am KIT, Dr.-Ing. Christian Riedele von der BASF SE, sowie Dr.-Ing. Matthias Balazs und Barbara Baltzer.

Für den Rückhalt und die ermutigenden Gespräche möchte ich Hanna Hoffmann, Moyra Granda-Alcon und Dr.-Ing. Matthias Balazs herzlich danken.

Mein immerwährender Dank gilt meinen Eltern Heike und Dr. med. Johannes Baltzer für Ihre universelle Unterstützung. Von dem, was sie mir mit auf den Weg gegeben haben, konnte und werde ich jederzeit profitieren. Meiner Tochter Isabelle danke ich für ihre unkomplizierte fröhliche Art, womit sie ein perfektes Gleichgewicht zwischen Familie und Promotion ermöglichte. Für sein Vertrauen, seine Hilfsbereitschaft und den bedingungslosen Rückhalt in den letzten Jahren danke ich meinem Mann Alexander.

Hofheim am Taunus, Oktober 2018

Susanne Gulden

# Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Flotation sowie deren Anwendungspotenzial als Fest-Flüssig-Trennschritt im biotechnologischen Downstream. Das Funktionsprinzip der Flotation ist vereinfacht beschrieben: Zur Biomasseabtrennung werden Luftblasen in eine Flotationszelle eingeleitet. Dort steigen sie auf Grund ihrer, im Vergleich zum Fermentationsmedium, geringeren Dichte auf. Eine Biomasseabtrennung findet statt, wenn einzelne, in der Fermentationsbrühe suspendiert vorliegende, Zellen oder Biomasseflocken an eine Blasenoberfläche adsorbieren und flotieren. An der Flüssigkeitsoberfläche der Flotationszelle bildet sich ein (stabiler) Schaum aus, in welchem die Biomasse aufkonzentriert vorliegt. Zur Abtrennung des Schaumes kann ein Räumler eingesetzt werden.

Die Flotation ist ein Separationsprozess mit geringen Investitions- und Betriebskosten. Als etablierter großtechnischer Prozessschritt kommt sie in der Mineralien-, Abwasser- und Altpapieraufbereitung zum Einsatz. Die dort gewonnenen Erkenntnisse können teils auf Anwendungen in der Biotechnologie übertragen werden. In dieser werden jedoch auch neue Herausforderungen an die Flotationstechnik gestellt. Diese bestehen im Wesentlichen in der Analyse sowie in der Optimierung verfahrenstechnischer und physico-chemischer Prozessparameter. Weitere Aspekte sind die höheren Hygieneanforderungen sowie die Notwendigkeit eines Containment-Konzeptes beim Einsatz von gentechnisch veränderten Organismen (GVO).

Im Rahmen einer Wirtschaftlichkeitsbetrachtung wurde die Flotation mit den etablierten Zellernteverfahren der Zentrifugation und der Querstromfiltration verglichen. Dabei zeigte sich, dass die Flotation eine sowohl energetisch als auch finanziell konkurrenzfähige und somit interessante Separationstechnik sein kann.

Ein detailliertes Prozessverständnis ist Voraussetzung, um das Einsatzpotenzial der Flotation zur Abtrennung von Mikroorganismen aus Fermentationsbrühen abschätzen zu können. Zu diesem Zweck wurde eine Laborflotationsanlage in Kooperation mit der Firma Enviplan Ingenieurs-GmbH entwickelt und gebaut, deren Blasenerzeugung auf dem Prinzip der Druckentspannungsflotation (DAF) beruht. Sie ermöglicht eine kontinuierliche Erzeugung von Mikroblasen mit Durchmessern unterhalb von 100  $\mu\text{m}$ .

In Prozessmodellen wird die Kinetik der Flotation durch eine exponentielle Flotationsratenkonstante ausgedrückt. Diese beschreibt die Reduktion der Partikelkonzentration im Medium über der Flotationszeit. Die Flotationsratenkonstante steht in linearer Abhängigkeit zum spezifischen Grenzflächeneintrag sowie zur Flotationswahrscheinlichkeit, die beide durch die Blasengröße beeinflusst werden. Je kleiner

die generierten Blasen sind, desto größer ist das Verhältnis von Blasenoberfläche zu Blasenvolumen jeder einzelnen Blase. Bei konstantem Blasenvolumen steigt die Flotationsratenkonstante mit der Blasenanzahl, was auf der positiven Erhöhung der verfügbaren Blasengrenzfläche beruht. Die Größe einer Blase beeinflusst deren Aufstiegsgeschwindigkeit im Medium, die Wahrscheinlichkeit der Koaleszenz mit anderen Blasen sowie die Interaktion mit weiter vorhandenen Partikeln und dem Medium selbst. Somit stellt die Blasengröße im Flotationsprozess einen Schlüsselparameter dar. Deshalb nehmen Blasengrößenmessungen für die Prozessoptimierung der Flotation eine fundamentale Rolle ein.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine online-Blasengrößenanalysetechnik mit automatisierter Software für die Bildauswertung entwickelt, der „Bubble Size Analyzer“ (BSA). Die Kalibrierung und Evaluation des BSA erfolgte mit zertifizierten monodispersen Referenzpartikeln. Eine inline Blasenanalyse direkt in der Flotationszelle war wegen zu hoher Blasenanzahlkonzentration und mangelnder Bildausleuchtung nicht möglich. Deshalb erfolgte die Messung online, indem ein Probenstrom aus der Flotationszelle abgezogen und in einem Messspalt analysiert wurde. Der durch die Probenentnahme verursachte Messfehler basierend auf Klassierung und Koaleszenz von Blasen wurde für verschiedene Stoffsysteme abgeschätzt. Die Klassierung beschreibt eine Verfälschung der Stichprobe durch ungleichmäßige Anpassung an Strömungsveränderungen. Sie konnte durch isokinetische Probenentnahme weitgehend ausgeschlossen werden. In Koaleszenz fördernden Medien (z.B. Wasser) ist eine Abweichung der gemessenen gegenüber der realen Blasengröße im Prozess zu berücksichtigen. In Koaleszenz hemmenden Stoffsystemen (z.B. Fermentationsbrühe, konzentrierte Saline) kann diese jedoch vernachlässigt werden. Somit zeigte sich der BSA als geeignet, die Blasengröße als Schlüsselparameter für die Flotationskinetik in der Laborflotationszelle zu bestimmen und ermöglichte eine prozessnahe Optimierung der Blasengröße.

Durch operative Prozessparameter konnte Einfluss auf die Blasengröße im Flotationsprozess genommen werden. Da die Blasenerzeugung in der Laborflotationszelle auf dem Prinzip der Druckentspannungsflotation basierte, waren Gas- und Recyclevolumenstrom sowie der Sättigungsdruck relevante zu untersuchende operative Prozessparameter. Blasengrößenanalysen wurden in einem Modellstoffsystem, dem Fermentationsmedium Yeast-Malt-Broth (YMB, Hefe-Malz-Brühe) durchgeführt und es wurden die Blasengrößenverteilung sowie der spezifische Grenzflächeneintrag ermittelt. Zusätzlich wurden Flotationskinetiken des Modellmikroorganismus Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) in YMB aufgenommen und in Form ihrer Flotationsratenkonstanten verglichen. Das Ausmaß des Einflusses der Blasengröße sowie der spezifischen Grenzflächeneinträge auf die Flotationsratenkonstante wurde ermittelt und die Energieeffizienz des Prozesses berechnet. Dabei wurde beobachtet, dass die Blasengeneration in der Laborflotationsanlage im Betrieb mit YMB, einem Koaleszenz hemmendem Medium, medienbedingt nicht ausschließlich durch Druckentspannungsflotation



(DAF) stattfand, sondern durch Induced Air Flotation (IAF) ergänzt wurde. Dadurch war der Gaseintrag nicht, wie bei der reinen DAF, thermodynamisch durch die druckabhängige Gaslöslichkeit limitiert. Messergebnisse des BSA zeigten, dass mit zunehmendem Gas- und Recyclevolumenstrom, wie auch bei höherem Sättigungsdruck steigende spezifische Grenzflächeneinträge erzielt wurden. Die Flotationsratenkonstante stieg stets proportional zum spezifischen Grenzflächeneintrag. Die Energieeffizienz konnte jedoch nur durch den zunehmenden Gasvolumenstrom signifikant verbessert werden, ein steigender Recyclevolumenstrom und Sättigungsdruck hatten nur einen geringen Effekt. Somit konnte die Anhebung des Gasvolumenstroms als der energetisch interessanteste operative Prozesseinfluss zur Steigerung der Flotationsratenkonstante herausgearbeitet werden.

Zuletzt lag der Fokus auf der Entwicklung und Kombination geeigneter Analysemethoden für die Schlüsselparameter Partikelgröße, Partikelhydrophobizität und Blasengröße und die Partikel-Blase-Wechselwirkungen. Die Flotationsratenkonstante des Mikroorganismus Hefe wurde in zwei Modellstoffsystemen, komplexer Fermentationsbrühe YMB und isotonischer Saline (NaCl), untersucht. Mit variierenden pH-Werten und Flockungsmittelkonzentrationen wurde gezielt Einfluss auf diese Schlüsselparameter und damit auf das Flotationsergebnis genommen. Dies erfolgte mit dem Ziel, den physico-chemischen Effekt eines Additivs auf die Flotation durch eine Kombination der Analysemethoden begründen zu können. Durch eine zielgerichtete Kombination der einzelnen Analysemethoden für Schlüsselparameter im Labormaßstab konnte ein besseres Prozessverständnis erreicht werden. Mit Hilfe der kombinierten Methoden war es möglich, die Einflüsse auf die Flotierbarkeit von Hefe in verschiedenen Stoffsystemen in kleinstem Maßstab zu charakterisieren. Anhand der Ergebnisse konnte ein Flotationsmodell entwickelt werden, welches auf den Parametern Partikel- und Blasengröße und Partikelhydrophobizität basiert. Dieses Flotationsmodell wurde mit einem verbreiteten Modell nach Yoon et al. verglichen und dessen Validität wurde diskutiert. Die Schlüsselparameteranalysen in Kombination mit dem erarbeiteten Flotationsmodell erwiesen sich als geeignet für eine Flotationsprognose. Sie können zukünftig dafür genutzt werden, um das Potenzial der Flotation im Downstream für verschiedene biotechnologische Prozesse zu eruieren. Des Weiteren ermöglichen sie eine gezielte und effiziente Prozessoptimierung durch die Untersuchung des Einflusses verfahrenstechnischer und physico-chemischer Parameter auf die Schlüsselparameter.

# Abstract

This dissertation deals with flotation and its application potential as a solid-liquid separation step in the biotechnological downstream process (DSP). The functional principle of flotation is described in simplified form: For biomass separation, air bubbles are introduced into a flotation cell. There they rise due to their lower density compared to the fermentation medium. Biomass separation takes place when in the fermentation broth suspended individual cells or biomass flocs adsorb to a bubble surface and float. A (stable) foam forms on the liquid surface of the flotation cell in which the biomass is concentrated. A scraper can be used to separate the foam.

Flotation is a separation process with low investment and operating costs. As an established large-scale process step, it is used in the treatment of minerals, waste water and waste paper. The knowledge gained there can partly be transferred to applications in biotechnology. However, the application in biotechnology also poses new challenges for flotation technology. These mainly consist of the analysis and optimization of engineering and physico-chemical process parameters. Further aspects are the higher hygiene requirements and the necessity of a containment concept for the use of genetically modified organisms (GMOs).

In the context of an economic feasibility study, flotation was compared with the established DSP cell harvesting methods like centrifugation and cross-flow filtration. The results showed that flotation can not only be a competitive, but also a more interesting separation technique both financially and energetically.

A detailed understanding of the process is a requirement for estimating the application potential of flotation for the separation of microorganisms from fermentation broths. For this purpose, a laboratory flotation plant was developed and built in cooperation with Enviplan Ingenieure-GmbH, whose bubble generation is based on the principle of dissolved air flotation (DAF). It enables the continuous generation of microbubbles with diameters below 100  $\mu\text{m}$ .

In process models, the kinetics of flotation are expressed by an exponential flotation rate constant. It describes the reduction of the particle concentration in the medium over the flotation time. The flotation rate constant is linearly dependent on the bubble surface area flow rate and the flotation probability, both of which are influenced by the bubble size. The smaller the bubbles generated, the larger the ratio of bubble surface to bubble volume of each individual bubble. At constant bubble volume, the flotation rate constant increases with the number of bubbles, due to the positive increase in the available bubble interface. The size of a bubble influences the rate at which it rises in the medium as well as the probability of coalescence with other bubbles and the interaction with other particles or the medium itself.

Thus, bubble size is a key parameter in the flotation process. Therefore, bubble size measurements play a fundamental role in the optimization of the flotation process.

Within the scope of this work, an online bubble size analysis technique with automated software for image analysis was developed, the „Bubble Size Analyzer“ (BSA). The BSA was calibrated and evaluated using certified monodisperse reference particles. Inline bubble analysis within the flotation cell was not possible due to the number concentration of bubbles being too high and due to insufficient image illumination. Therefore, the measurement was performed online by withdrawing a sample from the flotation cell, which was analysed in a sample gap. The measurement error caused by the sampling based on classification and coalescence of bubbles was estimated in different media. In this context classification could be excluded by isokinetic sampling. In coalescence-promoting media (e.g. water), a deviation of the measured bubble size from the real bubble size in the flotation cell must be considered. However, in coalescence-inhibiting media (e.g. fermentation broth, concentrated saline) coalescence can be neglected. The BSA thus proved to be suitable for determining the bubble size as a key parameter for flotation kinetics in the laboratory flotation cell and therewith enabled a process-oriented optimization of the bubble size.

The bubble size in the flotation process could be influenced by operative process parameters. Since bubble generation in the laboratory flotation cell was based on the principle of dissolved air flotation, gas and recycling volume flow as well as saturation pressure were the relevant operative process parameters to be investigated. Bubble size analyses were performed in a model medium, the fermentation medium Yeast-Malt-Broth (YMB). Bubble size distributions as well as the bubble surface area flow rates were determined. In addition, flotation kinetics of the model microorganism yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) were recorded in YMB and compared in terms of their flotation rate constants. The extent of the influence of the bubble size and the bubble surface area flow rate on the flotation rate constant was determined and the energy efficiency of the process was calculated. It was observed that the bubble generation in the laboratory flotation cell in operation with YMB, a coalescence-inhibiting medium, did not occur exclusively by dissolved air flotation (DAF), but was supplemented by induced air flotation (IAF).

As a result, the gas input was not thermodynamically limited by the pressure-dependent gas solubility, which is the case with pure DAF. Measurement results of the BSA showed that with increasing gas and recycling volume flow, as well as with higher saturation pressure, increasing specific interfacial inputs were achieved. The flotation rate constant always increased proportionally to the bubble surface area flow rate. However, the energy efficiency could only be significantly improved by increasing the gas volume flow, meanwhile an increasing recycle volume flow or saturation pressure only had a minor effect. Thus, the increase of the gas

volume flow could be worked out as the most energetically interesting operative process influence for the increase of the flotation rate constant.

Finally, the focus has been on the development and combination of suitable analysis methods for the key process parameters particle size, particle hydrophobicity and bubble size and the particle-bubble interaction force. The flotation rate constant of the microorganism yeast was investigated in two model material systems, complex fermentation broth YMB and isotonic saline (NaCl). With varying pH values and flocculant concentrations, an influence was exerted on these key parameters and thus on the flotation result. This was done with the aim of being able to justify the physico-chemical effect of an additive on flotation by combining the analytical methods. By a combination of the individual analysis methods for the key parameters a better understanding of the process could be achieved. Using the combined methods, it was possible to characterize the influences on the floatability of yeast in different media on a very small scale. Based on the results a flotation model could be developed which is based on the parameters particle and bubble size and particle hydrophobicity. This flotation model was compared with a common model by Yoon et al. and its validity was discussed. The key parameter analysis values in combination with the developed flotation model proved to be suitable for a flotation prognosis. In the future, they can be used to determine the potential of flotation to be applied in various biotechnological downstream processes. Furthermore, they allow a targeted and efficient process optimization by investigating the influence of process engineering and physico-chemical parameters on the key parameters.

# Gliederung

Danksagung.....	i
Zusammenfassung.....	iii
Abstract.....	vi
Gliederung .....	ix
1 Einleitung.....	1
1.1 Motivation .....	1
1.2 Zielsetzung der Arbeit .....	3
2 Theoretische Grundlagen .....	5
2.1 Einflussparameter der Flotation.....	5
2.2 Flotationstechniken.....	7
2.2.1 Begasungstechniken.....	8
2.2.2 Geometrien von Flotationszellen .....	9
2.3 Anwendungsbereiche .....	10
2.3.1 Mineralaufbereitung .....	11
2.3.2 Abwasseraufbereitung .....	13
2.3.3 Altpapier-Deinking.....	14
2.3.4 Biotechnologie .....	14
2.4 Modellierung der Flotation.....	16
2.4.1 Direkte Flotation .....	17
2.4.2 Auslegung von Flotationszellkreisläufen .....	20
3 Apparate, Material und Methoden.....	22
3.1 Flotationsanlage .....	22
3.1.1 Aufbau der Flotationsapparatur .....	22
3.1.2 Betrieb der Anlage.....	25
3.2 Blasengrößenanalyse .....	26
3.2.1 Aufbau und Betrieb des Blasengrößenanalyse Aufbaus.....	29

3.2.2	Software des BSA.....	31
3.2.3	Kalibrierung des BSA.....	34
3.3	Modellstoffsystem für die Flotation.....	34
3.3.1	Fermentative Zellaktivierung in Yeast-Malt-Broth.....	35
3.3.2	Hefe in isotonischer Natriumchloridlösung .....	35
3.3.3	Geflockte Hefe in Yeast-Malt-Broth .....	36
3.4	Partikelanalysemethoden .....	36
3.4.1	Partikelkonzentration .....	36
3.4.2	Partikelgröße.....	38
3.4.3	Partikelhydrophobizität.....	39
3.5	Rasterkraftmikroskopie für die Mikroorganismus-Blase Interaktion .....	41
3.6	Strömungsanalyse .....	43
3.6.1	Computational Fluid Dynamics (CFD) Simulation .....	43
3.6.2	Experimentelle Verweilzeitanalyse in der Flotationszelle .....	44
3.7	Prozessanalytik .....	45
3.7.1	pH-Wert .....	45
3.7.2	Temperatur .....	45
3.7.3	Füllstand.....	45
3.7.4	Oberflächenspannung.....	46
4	Ergebnisse .....	48
4.1	Flotationsgrundlagen .....	48
4.1.1	Wirtschaftlichkeitsvergleich von Zentrifugation, Querstrom-Filtration und Flotation als DSP Schritt zur Zellernte.....	48
4.1.2	Flotationsexperiment unter Standardbedingungen .....	51
4.1.3	Nachweis der direkten Flotation.....	52
4.1.4	Theoretische Flotationsgeschwindigkeiten.....	53
4.1.5	Theoretischer Gaseintrag durch Druckentspannungsflotation.....	55
4.1.6	Strömungsanalyse in der Flotationszelle.....	58

4.2	Analyse der Blasengröße und des spezifischen Grenzflächeneintrags .....	62
4.2.1	Evaluation des „Bubble Size Analyzers“ (BSA) .....	63
4.2.2	Charakterisierung des Drucksättigers der Flotationsanlage .....	71
4.3	Verfahrenstechnische Einflussparameter der Flotation von Mikroorganismen.....	74
4.3.1	Einfluss auf die Blasengeneration .....	75
4.3.2	Einfluss auf die Flotationsratenkonstante .....	77
4.3.3	Einfluss auf die Energieeffizienz .....	79
4.4	Untersuchung und Optimierung der Flotation mittels Schlüsselparameteranalysen	82
4.4.1	Einfluss der Medienzusammensetzung und des pH-Wertes .....	82
4.4.2	Auswirkung des Flockungsmittels Chitosan .....	88
4.4.3	Kombination der Schlüsselparameteranalysen.....	90
4.5	Modellierung der Flotation.....	91
5	Schlussfolgerungen und weiteres Vorgehen .....	95
A	Anhang.....	101
A.1	Abbildungsverzeichnis .....	101
A.2	Tabellenverzeichnis.....	104
A.3	Abkürzungs- und Formelzeichenverzeichnis .....	106
A.3.1	Abkürzungen.....	106
A.3.2	Formelzeichen .....	107
A.4	Publikationsliste .....	111
A.4.1	Referierte Zeitschriftenartikel .....	111
A.4.2	Vorträge/Poster.....	111
A.4.3	Studentenarbeiten .....	111
A.5	Literaturverzeichnis .....	112
A.6	Verfahrensfließbild der Laborflotationsanlage LabFloat 200 .....	124
A.7	Lebenslauf .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>





# 1 Einleitung

## 1.1 Motivation

Biotechnologische Produkte finden heute vielfältig Anwendung. Im industriellen Maßstab dienen sie der Veränderung von lebender oder nichtlebender Materie zur Herstellung diverser Güter. Mit ihnen lassen sich neue Medikamente entwickeln, Lebens- und Futtermittelproduktionen beeinflussen oder Alltagsprodukte wie Waschmittel und Kosmetika effizienter herstellen. Die industrielle Biotechnologie bietet gegenüber chemischen Verfahren den Vorteil eines Herstellungsprozesses unter milden, umweltschonenderen Bedingungen, bei dem komplexe Stoffumwandlungen mit hoher Ausbeute und Stereoselektivität durch die Mikroorganismen erfolgt. Zusätzlich sind die dabei entstehenden Produkte meist biologisch abbaubar und enthalten im Vergleich zu herkömmlichen rein chemischen bzw. physico-chemischen Verfahren weniger Nebenprodukte (Buchholz und Kasche 1997).

Bis ein einsatzfähiges biotechnologisches Produkt entsteht, erfolgt zunächst im Upstream-Prozess (USP) die Fermentation der Mikroorganismen, welche das biotechnologische Produkt synthetisieren. Hier sind die Stellschrauben, die eine wirtschaftliche Produktion von Biomolekülen ermöglichen, eine optimierte Produktivität und somit auch die Produkt/Substrat-Ausbeute. Mit dem Ziel das Prozessvolumen zu reduzieren, die Produktkonzentration und –Reinheit zu erhöhen und dabei möglichst wenig Produkt zu verlieren, folgt anschließend ein Aufbereitungsverfahren, der Downstream-Prozess (DSP) (Flickinger 2013). In dessen Verlauf findet eine Separation des Wertprodukts von den Organismen und weiterer Komponenten der Fermentationsbrühe und, wenn gefordert, in manchen Fällen auch eine Kristallisation und Entfeuchtung statt. Die Wirtschaftlichkeit des DSP hängt maßgeblich von der geforderten Produktreinheit, sowie der Anzahl, Ausbeute und Effizienz der dafür benötigten Verfahrensschritte ab. Der DSP macht einen großen Anteil der Herstellungskosten aus. Bei technischen Enzymen liegt dessen Anteil bei über 50 % und bei biopharmazeutischen Produkten (BioAPIs) kann er über 90 % betragen (Chmiel 2011).

Weltjahresproduktionen einzelner biotechnologisch hergestellter Produkte variieren im Bereich von wenigen Tausend bis über 150 Millionen Tonnen. Die größten biotechnologischen Produktionen gibt es in der Lebens- und Futtermittelindustrie, sie liegen zum Beispiel für Bier bei 155 Mio. t/a, für Wein bei 28 Mio. t/a und für Futter- und Backhefe bei 5 Mio. t/a. Als Lösungsmittel und Energieträger werden jährlich 50 Mio. t Bioethanol hergestellt. Die Produktion von Waschmittelenzymen beträgt 100 Mio. t/a. Pharmazeutische Produkte wie Vitamine, Insuline und Antibiotika werden in deutlich geringeren Mengen von 3 bis 50 kt/a produziert. Dafür werden sie aufwändiger aufbereitet und sind wertvoller, da ihr

Weltmarktpreis bei 20 bis 25.000 €/kg liegt (Schmid 2016). Die Produktionen können batch-, fed-batchweise oder kontinuierlich erfolgen. Produktionsgrößen variieren dabei von unter 1 bis zu 250 m<sup>3</sup> pro Batch (Storhas 2013; Meyer et al. 2017).

Leistungen und Wirtschaftlichkeit eines Produktionsprozesses werden häufig durch Entscheidungen in der frühen Prozessentwicklung geprägt. Spätere Änderungen am Prozess erfordern neue und aufwendige Zulassungsverfahren. Deshalb sind sie mit unverhältnismäßig hohen Kosten verbunden und können die Vorteile der effizienten Abtrennung hinsichtlich der Ausbeuteerhöhung oder Energieersparnis reduzieren oder vollständig aufheben (Goedecke et al. 2008).

Als erster Schritt im Downstream Verfahren erfolgt in der Regel eine Fest-Flüssig-Trennung, zur sogenannten Zellernte, um die Organismen von der Fermentationsbrühe zu separieren. Liegt das Wertprodukt extrazellulär vor, erfolgt eine weitere Prozessierung der Brühe. Wenn der Organismus selbst das Produkt ist, oder das Produkt intrazellulär vorliegt, erfolgt eine weitere Prozessierung des Feststoffes.

Klassisch eingesetzte Fest-Flüssig-Trennverfahren sind die Sedimentation, die Zentrifugation und die Mikrofiltration. Die Sedimentation im Erdschwerefeld kann mit Hilfe der Stokes-Sinkgeschwindigkeit beschrieben werden und hängt von der Größe der dispersen Phase, der Dichtedifferenz der zu separierenden Phasen und der Viskosität der kontinuierlichen Phase ab. Die Sedimentation ist auf Grund geringer Sinkgeschwindigkeiten selten ohne vorhergehende Koagulation/Flockung möglich, da diese die Sedimentation deutlich beschleunigt (Chmiel 2011).

Die Zentrifugation ist heute oft die erste Wahl für die Zellabtrennung und Proteinaufbereitung in Fermentationsprozessen. Sie ist eine durch die Phasendichtedifferenz (hier Organismus vs. Fermentationsbrühe) hervorgerufene Sedimentation, die durch ein angelegtes Zentrifugalfeld beschleunigt wird. Ihr Vorteil ist die zuverlässige und schnelle Zellabtrennung. Als Nachteile der Zentrifugation gelten hohe Anlageninvestitionskosten, großer Energiebedarf und das Risiko der Schädigung der abzutrennenden Mikroorganismen. Es gilt, dass mit zunehmender Partikelgröße und zunehmendem Prozessmaßstab die Zentrifugation im Vergleich zur Mikrofiltration der effizientere und kostengünstigere Prozessschritt ist, das Gegenteil gilt für abnehmende Partikelgröße und Prozessmaßstab. Eine optimale Phasentrennung wird erreicht, wenn eine feine Filtration nachgeschaltet ist (Axelsson 2002).

Mikrofiltrationsmembranen kommen zur Zellernte von intakten Zellen oder Zellbruchstücken zum Einsatz. Der Trennmechanismus ist die Siebung über eine Membran, deren Porengröße zwischen 0,1 – 0,8 µm liegt. Der mit Druck beaufschlagte Zulauf sorgt für einen Membrandurchtritt der kontinuierlichen Phase. Während die Organismen im Retentat auf der Innenseite der Membran verbleiben und aufkonzentriert werden, enthält das Permeat Wasser,

Proteine, Salze und niedermolekulare Moleküle (Hunt 2010). Da Mikroorganismen dazu neigen eine kompressible Deckschicht (Fouling) auf der Membran zu bilden, wird diese meist tangential überströmt (Querstrom-Filtration). Dabei sind oft hohe Umpumpraten und somit ein hoher Energieaufwand nötig um das Membranfouling zu verhindern bzw. den dadurch ausgelösten Druckverlust auszugleichen.

Mit dem Bestreben den DSP möglichst ressourcenschonend und energieeffizient zu realisieren, wurde in der jüngsten Vergangenheit viel in die Optimierung etablierter Verfahren, wie der Zentrifugation (Axelsson 2002; Szepessy und Thorsson 2016) und der Cross-Flow-Filtration investiert. Ein weiterer Fokus lag auf der Entwicklung von in der Biotechnologie weniger erprobten Techniken, wie der Flotation (Bare et al. 1975; Bahr und Schügerl 1992; Edzwald 1993; Chen et al. 1998; Aulenbach et al. 2010; Coward et al. 2013) und dem Hydrozyklon (Habibian et al. 2008; Bicalho et al. 2012; Vega-Garcia et al. 2018).

## 1.2 Zielsetzung der Arbeit

Die Flotation ist eine Separationstechnik, die in großen Maßstäben, ressourcenschonend und energieeffizient und dadurch besonders wirtschaftlich eingesetzt werden kann. Deshalb widmet sich diese Arbeit der Untersuchung des Potenzials der Flotation zur Zellernte im biotechnologischen DSP. Die Gliederung erfolgt in die folgenden Hauptaspekte:

### **A) Design, Konstruktion und Charakterisierung einer Laborflotationsanlage**

Zu Beginn werden potentielle Flotationstechniken für den Fest-Flüssig-Trennschritt im biotechnologischen DSP analysiert und diskutiert. Nach der Wahl einer geeigneten Flotationstechnik wird eine Laboranlage entworfen und konstruiert. Anhand eines Wirtschaftlichkeitsvergleichs soll die Konkurrenzfähigkeit der Flotation zu etablierten Separationstechniken geprüft werden. Darauf folgt eine grundlegende theoretische und experimentelle Anlagencharakterisierung auf Basis verschiedener operativer Prozessparameter und Suspensionen. Strömungsprofile und Verweilzeiten für gewählte Anlageneinstellungen werden mittels Computational Fluid Dynamics (CFD) abgeschätzt und mit Strömungsversuchen verglichen. Aus Flotationsmodellen (Yoon und Luttrell 1989; Nguyen et al. 1998) folgt, dass die Blasengröße und der spezifische Grenzflächeneintrag Schlüsselparameter der Flotation sind. Mit der Zielsetzung diese Parameter in der Laboranlage zu analysieren, wird eine online-Blasengrößenanalysetechnik entwickelt und validiert.

### **B) Untersuchung des Einflusses operativer Prozessparameter auf die Flotation**

Anhand eines biologischen Modellstoffsystems wird die Auswirkung variierender operativer Prozessparameter auf die Flotation analysiert. Das Augenmerk liegt dabei auf dem Einfluss der Prozessparameter Gasvolumenstrom, Recyclevolumenstrom und Druckdifferenz auf die damit

beeinflussbaren Schlüsselparameter Blasengröße, spezifischer Grenzflächeneintrag und die im jeweiligen Prozess erreichte Flotationsratenkonstante. Die Flotationsratenkonstante wird anschließend auf die benötigte Prozessenergie normiert und daraus die Energieeffizienz bestimmt. Ziel ist es, Kenntnis darüber zu erlangen, in welchem Maße einzelne operative Parameter eine Prozessbeschleunigung oder Energieeffizienzsteigerung ermöglichen.

### **C) Beschreibung der Flotation durch das Zusammenspiel von Schlüsselparametern**

Der Flotationsprozess unterliegt neben den operativen auch physico-chemischen Einflüssen. Dies ermöglicht eine Prozessoptimierung durch Zugabe von Additiven wie oberflächenaktiven Substanzen oder Flockungsmitteln. Diese physico-chemische Optimierung ist stoffspezifisch für jedes biologische Stoffsystem und erfordert somit zeit- und materialaufwendige Flotationsversuche. Daher stellt sich die Frage, wie durch Analysen von Schlüsselparametern eine gezielte Konditionierung des Stoffsystems im Labormaßstab erfolgen und dadurch das Flotationsergebnis verbessert werden kann. Zur Klärung dieser Frage werden mit einem biologischen Modellstoffsystem Flotationsversuche und Schlüsselparameteranalysen durchgeführt. Der Einfluss von Additiven auf die Schlüsselparameter und deren Zusammenspiel für das Flotationsergebnis wird ausgewertet. Die Ergebnisse werden für die Entwicklung eines Flotationsmodells genutzt. Die Bedeutung und Eignung der Schlüsselparameteranalysen für eine Flotationsprognose wird diskutiert.

## 2 Theoretische Grundlagen

Die Flotation ist eine Separationstechnik die auf physico-chemischen Oberflächeneigenschaften und Dichtegradienten basiert. Dabei werden emulgierte oder suspendierte Stoffe/Partikeln durch anhaftende Gasblasen an die Oberfläche einer Emulsion bzw. Suspension transportiert. Die dort entstehende Schaumphase trägt die flotierten und konzentrierten Stoffe und kann durch eine geeignete Räumungsvorrichtung entfernt werden. Das Trennprinzip der Flotation ist somit eine Umkehrung der Sedimentation, basierend auf der Dichtedifferenz der Partikel-Blase-Komplexe zum umgebenden Medium. Solche Stoffe können beispielsweise Minerale, Erze, Präzipitate, nicht-organische Abwasserbestandteile, Farbstoffe, Fette/Öle, Mikroorganismen oder Proteine sein.

Für eine erfolgreiche Flotation sind folgende Mikroprozesse von entscheidender Bedeutung: Kollision, erfolgreiche Adsorption, keine Desorption und ausreichender Auftrieb.

Zunächst müssen Partikel und Blase die Chance bekommen zu kollidieren. Die Kollisionswahrscheinlichkeit hängt sowohl von der Partikelgröße und -konzentration als auch von der Blasengröße und -konzentration ab. Zur direkten Adsorption kommt es, wenn die Kontaktzeit zwischen Partikel und Blase länger ist, als die Zeit für die Ausdünnung und den Riss des Flüssigkeitsfilms zwischen beiden, wodurch ein stabiler Drei-Phasen-Kontakt entsteht. Indirekte Anlagerung entsteht, wenn ein im „Strömungsschatten“ der Blase gefangener Partikel an die Oberfläche getragen wird. Die Adsorptionswahrscheinlichkeit ist neben der bereits erwähnten Partikel- und Blasengröße auch von der Partikel-, Mediums- und Gasdichte abhängig, da diese die Kontaktzeit bestimmen. Zudem spielt die Oberflächenspannung zwischen Partikel, Gas und Medium eine Rolle, da sie den Drei-Phasen-Kontakt beeinflusst. Zur Desorption kann es beim Platzen oder Koaleszieren von Blasen oder durch starke Turbulenzen und Scherungen kommen, wenn dadurch der Drei-Phasen-Kontakt destabilisiert wird. Die Desorptionswahrscheinlichkeit kleiner Partikeln ( $<10\ \mu\text{m}$ ) ist jedoch vernachlässigbar (Schulze 1993). Wurde schließlich ein stabiler Partikel-Blase-Komplex gebildet, kommt zuletzt der Auftriebswahrscheinlichkeit eine wichtige Rolle zu. Sie hängt vom Äquivalenzdurchmesser und der mittleren Dichte des Komplexes und des umgebenden Mediums ab, da diese die Auftriebskraft bestimmen. Die Auftriebskraft muss groß genug sein, um die sonstigen Strömungen im Flotationsbehälter zu übersteigen.

### 2.1 Einflussparameter der Flotation

Einfluss auf den Flotationsprozess kann sowohl verfahrenstechnisch als auch physico-chemisch genommen werden. Verfahrenstechnische Aspekte beinhalten apparative und operative

Gesichtspunkte während physico-chemische Aspekte stoffsystemische und partikuläre Eigenschaften berücksichtigen (s. Abbildung 2.1).

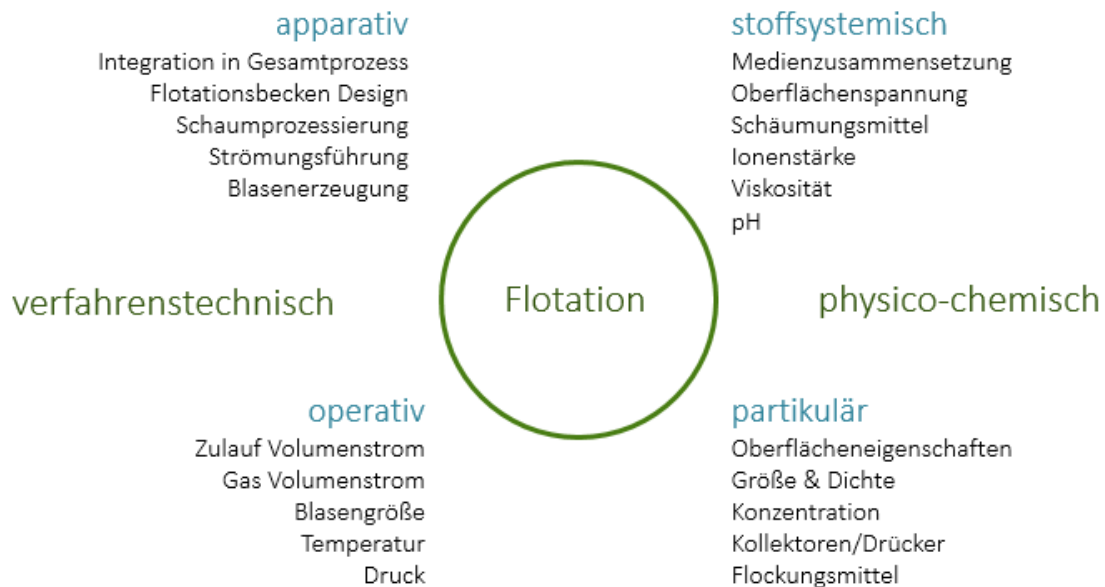


Abbildung 2.1: Der Erfolg der Flotation wird sowohl durch verfahrenstechnische als auch physico-chemische Einflüsse bedingt. Diese lassen sich in apparative, operative sowie Stoffsystem oder Partikel beeinflussende Parameter unterteilen.

Ob und wie häufig die Flotation im Gesamtprozess integriert werden kann, gilt als ein apparativer Einfluss. Weitere sind die Gestaltung der Flotationszelle, z.B. durch Form, Größe und Einbauten; die Schaumprozessierungstechnik, mit oder ohne Waschung und Räumung sowie die Wahl der Blasenerzeugungstechnik, z.B. Zweistoffdüse, Rotor-Stator, Fritte, Druckentspannung.

Als operative Parameter sind solche zusammengefasst, die prozessspezifisch sind oder flexibel gesteuert werden können. Dazu gehören der Zulauf- und Gasvolumenstrom, sowie die Blasengröße, die Temperatur und der Druck. Physico-chemische Parameter beschreiben das Stoffsystem oder die Partikel. Relevante Größen des Stoffsystems sind die Medienzusammensetzung, Viskosität, Ionenstärke, Oberflächenspannung und der pH-Wert. Partikeleigenschaften wie die Oberflächenladung, Hydrophobizität, Größe, Dichte und Konzentration spielen eine bedeutende Rolle. Sie können mit Hilfe von Additiven wie Kollektoren, Drückern oder Flockungsmitteln optimiert werden.

An der primären Adsorption eines Mikroorganismus an eine Luftblase sind verschiedene Wirkmechanismen beteiligt. Sie leisten in Abhängigkeit von den Oberflächeneigenschaften beider Partner, ihrem Abstand zueinander und den äußeren Einflussparametern einen variierenden Beitrag zur Adhäsion. Als wichtigste Oberflächenwechselwirkungen sind die Van-der-Waals und

elektrostatischen Kräfte sowie hydrophobe und spezifische Wechselwirkungen zu nennen. Sie unterscheiden sich in ihrer Wirkweise, Stärke und Reichweite.

Van-der-Waals Kräfte sind relativ schwache Kräfte, die aber mit einer großen Reichweite von >50 nm wirken. Elektrostatische Kräfte sind abhängig von dem Verhältnis positiver zu negativen Ladungen, woraus die Nettoladung resultiert. Sie zeigen eine Reichweite von 10 bis 20 nm. Hydrophobe Wechselwirkungen haben kurze Reichweiten von 0,5 bis 2 nm und spielen eine zentrale Rolle bei der Verdrängung des Flüssigkeitsfilms zwischen zwei Oberflächen (Martienssen 2001).

Spezifische Wechselwirkungen spielen in der Flotation nur eine Rolle, wenn die Blasenoberfläche durch die Zugabe von Kollektoren spezifische Strukturkomponenten trägt. Hydrophobe Wechselwirkungen bedingen die direkte und stabile Adhäsion des Mikroorganismus an die Blase, da sie für die Verdrängung des Wasserfilmes zwischen Mikroorganismus und Luftblase sorgen. Ausgelöst werden können sie durch hydrophobe Gruppen oder hydrophob wirkende Oberflächenbereiche mit einer neutralen Nettoladung.

Ihnen wird eine elementare Rolle in der Flotation zugesprochen (Yoon und Luttrell 1989; Nguyen et al. 1998; deSousa et al. 2003).

Als Schlüsselparameter, mit deren Hilfe eine Modellierung der Prozesskinetik möglich ist, werden in dieser Arbeit die Einflussparameter bezeichnet, welche besonders geeignet sind Trends des Flotationsprozesses zu begründen. Diese Schlüsselparameter sind die Partikelgröße  $D_p$ , die Partikelhydrophobizität  $H$ , die Blasengröße  $D_b$  und der spezifische Blasengrenzflächeneintrag  $S_b$ .

## 2.2 Flotationstechniken

Auf Grund der verschiedenen Anwendungsbereiche der Flotation und den sich daraus ergebenden Prozessanforderungen gibt es eine Vielzahl verschiedener Flotationstechniken.

Eine interessante Übersicht der unterschiedlichen Anforderungen in den Anwendungsbereichen Mineral- und Abwasseraufbereitung wurde von Rubio et. al erstellt (Rubio et al. 2002), s. Tabelle 2.1. Der Feststoffanteil  $w_p$ , die Dichte  $\rho_p$  und der Durchmesser  $D_p$  der zu flotierenden Partikeln sind in der Mineralaufbereitung bis zu 10-fach größer als in der Abwasseraufbereitung. Dementsprechend werden auch etwa 20-fach größere Luftblasen mit über 30-fach schnelleren Aufstiegsgeschwindigkeiten zur Flotation genutzt. Auf Grund der bis zu 20-fach größeren Blasen ist die Blasenkonzentration  $N_b/V_{FZ}$ , trotz doppelt so großem Gasholdup  $V_g/V_{FZ}$ , um bis zu  $10^6 \text{ cm}^{-3}$  geringer und damit die bereitgestellte spezifische Gasoberfläche  $A_{OF,b,ges.}/V_{FZ}$  20- bis 400-fach kleiner.

Tabelle 2.1: Unterschiede in der Flotation zwischen den Anwendungsbereichen Mineral- und Abwasseraufbereitung, wobei bei letzterer differenziert wird zwischen Blasenenerzeugung durch Dissolved Air Flotation (DAF) und Induced Air Flotation (IAF) mit Dispersion über Düse (-D) oder an einer Fritte in einer Blasenkolonne (-BC) nach Rubio et. al 2002.

Parameter	Formelzeichen	Einheit	Mineralaufbereitung	Abwasseraufbereitung
Feststoffanteil	$w_p$	kg/kg ges.	25-40	<4 (DAF) 13-30 (IAF-D/IAF-BC)
Partikelgröße	$D_{p-50,0}$	$\mu\text{m}$	10-150	1-50 (ungeflockt) $1 \cdot 10^3$ - $5 \cdot 10^3$ (geflockt, inkl. Gas)
Blasengrößenspektrum	$D_{b,\text{min}}-D_{b,\text{max}}$	$\mu\text{m}$	200-600	30-100 (DAF) 100-600 (IAF-D/IAF-BC)
Blasenaufstiegs- geschwindigkeit	$u_b$	m/h	250-800	0,7-30 (DAF) 30-1000 (IAF-D/IAF-BC)
Blasenanzahl- konzentration	$N_b/V_{FZ}$	$\text{cm}^{-3}$	$9 \cdot 10^3$ - $2 \cdot 10^2$	$6 \cdot 10^8$ - $2 \cdot 10^6$ (DAF) $2 \cdot 10^6$ - $9 \cdot 10^3$ (IAF-D/IAF-BC)
Blasenoberflächen- konzentration	$A_{\text{OF},b,\text{ges.}}/V_{FZ}$	$\text{cm}^2\text{cm}^{-3}$	100-30	4000-600 (DAF) 600-100 (IAF-D/IAF-BC)
Gasanteil	$V_g/V_{FZ}$	%	15-25	8-14 (DAF) 20-40 (IAF-D/IAF-BC)

### 2.2.1 Begasungstechniken

Die Wahl der Begasungstechnik bedingt in hohem Maße die in der Flotationsanlage möglichen Strömungen, Blasengrößenverteilungen und spezifischen Grenzflächeneinträge. Unterschieden wird in Dissolved Air Flotation (DAF), Vakuumflotation (VF), Induced Air Flotation (IAF), Elektroflotation (EF), Ultraschall Flotation (USF).

#### Druckentspannungs-/ Dissolved Air Flotation (DAF)

Das Prinzip der DAF ist die Einsättigung von Gas in einer Flüssigkeit unter Druck. Dieses Gas liegt bei anschließender Druckentspannung, auf Grund der niedrigeren Gaslöslichkeit bei geringerem Druck, übersättigt vor und fällt in Form von Blasen aus.

#### Vakuumflotation (VF)

Die VF funktioniert wie die DAF, nur, dass hier der Druckunterschied zwischen Normaldruck und angelegtem Vakuum aufgebaut wird.

#### Induced Air Flotation (IAF)

Bei der IAF, oft auch Dispersed Air Flotation genannt, wird ein Gasstrom direkt in den Flotationsbehälter eingebracht. Die Gasdispersion kann entweder in einem Rotor-Stator-Aufbau (IAF-RS), durch eine Ein-/Zweistoffdüse (IAF-D) oder an einer porösen



Fritte/Sinterplatte (IAF-F) erfolgen. Die ersten beiden kommen in der Mineralaufbereitung (Denver und Jameson Zelle) und letztere in Blasenkolonnen (BC) zum Einsatz.

### **Elektroflotation (EF)**

Bei der EF werden durch elektrolytische Wasserzersetzung gasförmiger Sauerstoff und Wasserstoff erzeugt und als Flotiergas genutzt. Ausreichende Leitfähigkeit (Salzkonzentration) ist hierfür eine Voraussetzung.

### **Ultraschallflotation (USF)**

Bei der USF erzeugen alternierende Ultraschallwellen Kavitation, wobei Wasserdampfblasen entstehen. Diese Dampfblasen wachsen und implodieren mit hoher Geschwindigkeit und weisen sehr geringe Durchmesser auf.

## **2.2.2 Geometrien von Flotationszellen**

Auf Grund der verschiedenen Anwendungsbereiche und Begasungstechniken gibt es eine große Varianz in der Gestaltung der Flotationszellen. In dieser Arbeit wird darauf jedoch nicht im Detail eingegangen. Die Geometrien von Flotationszellen lassen sich in die zwei Grundformen zylindrisch und quaderförmig unterteilen. Zylindrische Zellen weisen eine kreisförmige Grundfläche auf. Der Zulauf befindet sich zentral am Boden und die Zuführung von Gasblasen erfolgt entweder im Zulaufrohr (DAF), über einen Teil des Zellenbodens oder über den gesamten Zellenboden (IAF, Fritte) oder über eine zentrierte über dem Boden liegende Begasung (IAF, Rotor-Stator, EF und USF). Das Verhältnis von Zellenhöhe zum Durchmesser ist anwendungsabhängig, liegt aber in DAF-Anwendungen in der Regel zwischen 0,4 und 2 (Wang et al. 2010), im Falle von Flotationskolonnen zwischen 5 und 15 (Dobby und Finch 1986; Finch und Dobby 1991). In rechteckigen Zellen erfolgt der Zulauf auf der schmalen Seite der Zelle und ist in Zulaufnähe oft durch ein Wehr von der restlichen Zelle getrennt, sodass beim Durchströmen der Längsseite ausreichend Verweilzeit für die Separation durch Auftrieb bleibt.

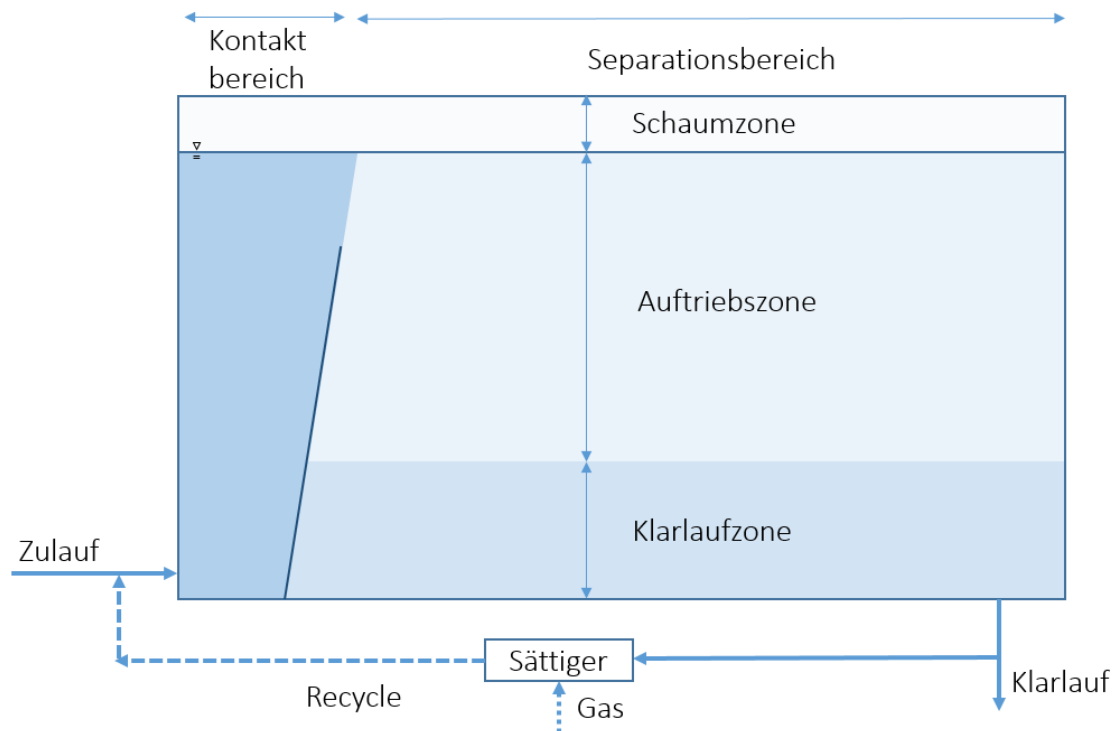


Abbildung 2.2: Schematische Aufteilung einer Flotationszelle in einen durchmischten, turbulenten Kontaktbereich und einen laminaren Separationsbereich.

In ihrer grundsätzlichen Struktur sind Flotationszellen so aufgebaut, dass sie einen Kontakt- und einen Separationsbereich haben. Der Kontaktbereich ist meistens durch innenliegende Wehre mechanisch vom Separationsbereich abgetrennt um die dortigen turbulenten Strömungen vom restlichen Behälter zu trennen. Im restlichen Zellenvolumen herrscht eine laminare Strömung, die der Separation durch Auftrieb der partikelbeladenen Blasen dient. Der Separationsbereich kann demzufolge in die Schaum-, Auftriebs- und Klarlaufzone unterteilt werden. Dies ist in Abbildung 2.2 schematisch für eine rechteckige Flotationszelle dargestellt. Im Falle eines kreisförmigen Beckens läge der Kontaktbereich im zentralen Ring, meist ebenfalls durch ein Wehr getrennt, und der Separationsbereich rund herum im Außenring der Flotationszelle.

### 2.3 Anwendungsbereiche

Die Anwendungsbereiche der Flotation sind vielseitig. In der Mineral- und Abwasseraufbereitung und dem Deinking (Altpapieraufbereitung) finden sie seit langer Zeit Anwendung und sind in den dortigen Prozessen nicht mehr wegzudenken. In der Biotechnologie ist die Flotation eher eine Randerscheinung, obwohl es bereits in den 1950-er Jahren erste Forschungsarbeiten in diesem Bereich gab.

Ihren geschichtlichen Ursprung hat die Flotation in Bereich der Mineralaufbereitung. Der grundlegende Schritt, die Anreicherung von Mineralpartikeln an Blasen und die Bildung eines

mineralreichen Schaumes war ein immer wieder beobachtetes Phänomen. Eine erste Erwähnung der gezielten Nutzung von Flotation zur Anreicherung von Kupferkarbonat erfolgte laut Schulz bereits im 15. Jahrhundert (Schulz 1979). Aber erst die industrielle Revolution und der stark wachsende Bedarf nach Mineralien, Erzen und Kohle sorgte für intensivere Forschung und ermöglichte die Entwicklung der Flotation zu einem klassischen Prozess der Mineralaufbereitung.

Neben der Anwendung in der Mineralindustrie, ist die Flotation auch zur Aufbereitung von Industrie- und Kommunalabwasser geeignet. Dabei kann das primäre Ziel sowohl die Entfernung, als auch die (Rück-) Gewinnung verschiedener Stoffe aus dem Abwasser sein. Teilweise wird sie auch als Zwischenbehandlungsschritt genutzt um das Recycling von Prozesswasser zu ermöglichen.

Die Flotation kommt heute in der Abwasserbehandlung als Vorbehandlung (Edzwald 1995; Krofta et al. 1995), in der zweiten Klärstufe – ggf. mit oder ohne chemische Additive (Wang et al. 2007a), in der dritten Klärstufe (Edzwald 2007) oder zur Belebtschlammendickung (Wang et al. 2007b; Aulenbach et al. 2010) zum Einsatz.

Im Deinking werden Bestandteile wie Druckerfarbe und Coatings, die eine höhere Hydrophobizität als Cellulose Fasern aufweisen von diesen getrennt. Die Effizienz des Deinkings wird durch das zu recycelnde Altpapier, wie auch durch physico-chemische und verfahrenstechnische Einstellungen des Recyclingprozesses beeinflusst. Die Flotation hat sich im Deinking zu einem breitflächig eingesetzten Prozess entwickelt (Borchardt 1997).

### **2.3.1 Mineralaufbereitung**

Bis in das späte Mittelalter erfolgte die Erzseparation vom Gestein durch Sortierung von Hand. Deutliche Vereinfachung und Beschleunigung brachte die nassmechanische Trennung. Sie basiert darauf, dass Erzpartikeln auf Grund höherer Dichte in strömendem Wasser schneller Sedimentieren als Gesteinspartikeln und so von diesen getrennt werden können. Ein einfaches Beispiel hierfür ist die Goldwäsche aus Flusssand. Wichtige Voraussetzung für die nassmechanische Separation ist eine ausreichende Zerkleinerung, welche die Trennung von Erz und Gestein ermöglicht. Dabei sollte die Korngröße 0,3 mm jedoch nicht unterschreiten, da zu geringe Partikelgrößen die Differenz der Sedimentationsgeschwindigkeit verringern bis keine Separation mehr möglich ist (Hanisch 1960).

Ende des 19. Jahrhunderts waren die Ressourcen hochwertiger Erze fast erschöpft. Um die Nachfrage weiterhin decken zu können, arbeiteten Ingenieure deshalb mit Nachdruck daran Methoden zu entwickeln, die eine Konzentrierung und Aufreinigung aus mageren oder komplexen Erzen ermöglichte. Diese waren in großen Mengen verfügbar, ließen sich jedoch nicht oder nicht wirtschaftlich verarbeiten (Bunyak 2000).

Frühe Aufkonzentrierungstechniken separierten Edelmetalle und Gestein anhand ihrer verschiedenen Dichten und somit Sedimentationsgeschwindigkeiten. Durch oberflächen-selektive Anlagerung von Luftblasen an partikuläre Edelmetalle fand ebenfalls eine Dichteseperation statt. Auf Grund der geringeren Dichte der Partikel-Blase-Komplexe kam es zur Separation durch Aufschwimmen bzw. längeres Schweben im Wasser, einer Art Flotation. Durch einfache und energieeffiziente Handhabung ersetzte die Flotation schnell herkömmliche Techniken und eröffnete neue Anwendungsgebiete. Mit ihr konnte die Mineralproduktion bereits bis Mitte des 20. Jahrhunderts auf 24 metallische und 19 nicht-metallische, reine Mineralien erweitert werden. Beispiele für flotativ aufzubereitende metallische Mineralien sind Kupfer, Blei, Zink, Silber, Gold und für nicht-metallische Mineralien Ton, Kohle und Phosphat (Fuerstenau 1962).

Die ersten wissenschaftlichen Erkenntnisse und Entwicklungsstufen wurden im 19. Jahrhundert dokumentiert. In seinem 1860 veröffentlichten Patent beschrieb der Engländer Hynes eine besondere Affinität öligere und bitumiger Substanzen gegenüber sulfidischen Erzen, wodurch sich ihre Benetzbarkeit verringerte und sie sich, gemeinsam mit dem Öl flotierend, an der Oberfläche anreicherten (Haynes 1860). Die technische Anwendung dieser Erkenntnis für die Aufbereitung von Graphit wurde jedoch erst 1877 von den deutschen Brüdern Bessel beschrieben. Sie versetzten Graphit Erzschlamm mit Öl und erzeugten Gasblasen, durch Aufkochen oder durch Zersetzung von Karbonat mit Säure (Bessel und Bessel 1877). Etwa zeitgleich kamen die Amerikaner Everson und Hebron zu ähnlichen Erkenntnissen. Everson empfahl 1885 die intensive Dispersion von Erzschlamm mit geringen Mengen Öl, um dadurch aufsteigende Erzteilchen und sedimentierende Nebengesteine und somit eine Separation hervorzurufen (Everson 1886). Gemeinsam mit Hebron verbesserte er dieses Verfahren, in dem er in die Dispersion Luftblasen eintrug und damit die Flotation der Erzpartikeln beschleunigte und den Ölverbrauch reduzierte (Hebron und Everson 1892). In Ihrem Patent von 1905 beschreiben Sulman und Picard, dass die Flotation durch Luftblasen (Dispersion zugeführter Luft) derjenigen durch Gasblasen (Produkt chemischer Zersetzung) vorzuziehen ist. Damit legten sie den entscheidenden Grundstein für die heutige Schaumflotation (Fuerstenau et al. 2007). Erste großtechnische Anwendung fand die Flotation in der Aufbereitung von fein gemahlenem Sphalerit (ZnS) in Broken Hill, Australien (1905) und in der Timber Butte Mill in Basin, Montana, Vereinigte Staaten von Amerika (1911).

Weitere Entwicklungsarbeiten befassten sich sowohl mit der physico-chemischen als auch der verfahrenstechnischen Prozessoptimierung. Durch die Suche nach geeigneten oberflächenaktiven Substanzen (Additive, wie Sammler, Schäumer und Drücker), wurde die selektive Abtrennung der Erze vom Gestein verbessert. Verfahrenstechnische Optimierung erfolgte durch Weiterentwicklung des Designs, der Anordnung der Flotationszellen sowie durch Variation der operativen Prozesseinstellungen.

In der Erzindustrie ist die Flotation heute ein zentraler Prozessschritt, der breitflächig in großen Maßstäben eingesetzt wird. Einzelne Flotationszellen für die Separation von Erzen haben heute ein Fassungsvermögen von unter 30 m<sup>3</sup> bis hin zu 300 m<sup>3</sup>. Durch einfaches Zelldesign konnten die Flotationszellen über einen Zeitraum von etwa 100 Jahren auf das 150-fache vergrößert und Investitions- sowie Betriebskosten signifikant gesenkt werden (Fuerstenau et al. 2007; Wang et al. 2010).

### 2.3.2 Abwasseraufbereitung

In der Abwasseraufbereitung werden suspendierte und gelöste Stoffe aus dem Abwasser entfernt. Suspendierte Stoffe können in Absatzbecken durch reine Sedimentation (Dichtentrennung) abgetrennt werden. Kolloidale und gelöste Stoffe können ebenfalls entfernt werden, wenn sie zuvor durch chemische oder biologische Vorbehandlung in absetz- oder flotierbare suspendierte Stoffe umgewandelt wurden. Sehr kleine Partikel oder solche mit geringer Dichtedifferenz zum umgebenden Medium, weisen nur geringe Sedimentationsgeschwindigkeiten auf, sodass ihre Separation unterstützt werden muss.

Eine vorgeschaltete Flockung ist ein oft notwendiger und prozessbeschleunigender Verfahrensschritt (Shammas 2005). Alternativ zur Sedimentation kann auch die Flotation genutzt werden. Voraussetzung dafür ist die Bildung stabiler Partikel-Blase-Komplexe. Im Abwasser suspendierte Partikel können, bei ausreichender Affinität zur Gasgrenzfläche von Blasen, durch Flotation abgetrennt werden.

Erste dokumentierte Einsätze der Flotation in der Abwassertechnik gab es ab den 1940er Jahren mit Anlagen von 35m<sup>2</sup> Klärfläche und dem Vermögen bis zu 250 m<sup>3</sup>/h Abwasser aufzubereiten. Sie benötigten deutlich weniger Klärfläche als klassische Absatzbecken. Die Betriebskosten lagen jedoch höher, nicht zuletzt auf Grund des für die Blasenenerzeugung notwendigen Energieaufwandes (Hess 1953). Bei der Betrachtung der Wirtschaftlichkeit beider Verfahren müssen jedoch auch die Kosten für Sammlung und Entsorgung des Klärschlammes berücksichtigt werden. Da der flotierte Klärschlamm deutlich weniger Wasser enthält und nur ein Bruchteil (25 - 30 %) des Schlammvolumens kostenintensiv entsorgt werden muss, sind die Gesamtbetriebskosten der Flotation geringer als die der Sedimentation in Absatzbecken (Hanisch 1960).

Deshalb kommt die Flotation heute in der Abwasserbehandlung als Vorbehandlung (Edzwald 1995; Krofta et al. 1995), zweite Klärstufe (mit oder ohne chemische Additive) (Wang et al. 2007a), dritte Klärstufe (Edzwald 2007) oder in Belebtschlammverdickern (Wang et al. 2007b; Aulenbach et al. 2010) zum Einsatz.

Die Flotation ist zudem dazu geeignet, neben Kommunal- auch Industrieabwässer aufzubereiten. Dabei kann das primäre Ziel sowohl die Entfernung als auch die (Rück-)

Gewinnung verschiedener Stoffe aus dem Abwasser sein. Teilweise wird sie auch als Zwischenbehandlungsschritt genutzt, um das Recycling von Prozesswasser zu ermöglichen. In der Mineralindustrie wird die flotative Abwasserbehandlung z.B. für die folgende Stoffe genutzt: Ionen (Schwer- oder Edelmetalle, Anionen, organische Chemikalien, Komplexe/Chelate), Öle, Lösungsmittel, Additive (Schäumer, Kollektoren, Drücker, pH-Wert Stellmittel) und Kunststoffe (Smith 1996). Weitere mittels Flotation aufzubereitende industrielle Abwässer enthalten Fette, Öle, Zellstoffe und Papierfasern, Proteine und Gefahrstoffe und/oder fallen bei der Tierzucht, in Schlachtereien, bei der Meeresfrüchte- und Fischverarbeitung oder in Gerbereien an (Eckenfelder 1966; Cooper und Denmead 1979; Wang et al. 2009).

In der Abwasseraufbereitung sind die Vorteile der Flotation gegenüber der Sedimentation eine kürzere Verweilzeit (Beckenvolumen/ Volumenstrom), größere Flächenbeschickung (Volumenstrom/ Beckenquerschnitt) und größere Oberflächenbelastung (Trockensubstanzgehalt mal Flächenbeschickung) und evtl. reduzierter Bedarf an Flockungsmitteln. Nachteile ergeben sich aus den höheren Anlageninvestitions- und Betriebsenergiekosten und den gegebenenfalls benötigten Flotationsadditiven (z.B. Schäumer, Kollektoren).

### 2.3.3 Altpapier-Deinking

Das Deinking (Entfärben) von Altpapier ist eine Notwendigkeit, um qualitativ hochwertiges Recyclingpapier für Zeitungen, Zeitschriften und andere Druckmedien herstellen zu können. Als erster Schritt muss hierfür das Papier in Einzelfasern zerkleinert werden. Dabei wird das Lösen der Farbstoffe von den Zellfasern sowohl chemisch durch Lösungsmittel, oberflächenaktive Substanzen und pH-Stellmittel, als auch mechanisch gefördert. Beim darauf folgenden Deinking Prozessschritt, der Flotation, werden Bestandteile wie Druckerfarbe und Coatings, die eine höhere Hydrophobizität als Cellulose Fasern aufweisen, entfernt (Borchardt 1997).

Die Effizienz des Deinkings wird beeinflusst durch das zu recycelnde Altpapier (Druckmethode, chemische Zusammensetzung der Druckfarbe und Beschaffenheit des bedruckten Papiers), wie auch durch physico-chemische und verfahrenstechnische Einstellungen des Recyclingprozesses. Als solche sind unter anderem die Art und Menge der Chemikalien/Additive, der pH-Wert, die Konsistenz der Zellfaserschlemme, der spezifische Grenzflächeneintrag und die Verweilzeit (das Strömungsprofil je Aufbereitungsschritt) zu nennen (Borchardt 1999; Heindel 1999; Zhao et al. 2004).

### 2.3.4 Biotechnologie

Flotation ist eine vielversprechende Separationstechnik für die Biotechnologie. Sie ist sowohl geeignet als erster DSP Schritt zur Abtrennung von Mikroorganismen bei der Zellernte, als auch

zur Proteinabtrennung oder –Fraktionierung (Gehle et al. 1991; Bahr und Schügerl 1992; Edzwald 1993; Palmieri et al. 1996). Erste Forschungen zur Anwendung der Flotation in der Biotechnologie wurden von Dognon in den frühen 1950er Jahren publiziert. Er zeigte, dass sich die Mikroorganismen *Escherichia coli* und *Mycobacterium tuberculosis* durch Flotation von ihren Fermentationsbrühen separieren ließen (Dognon 1941a; Dognon 1941b). Die meisten frühen Forschungen zur Mikroorganismenflotation bezogen sich auf das Anwendungsgebiet der Abwasseraufbereitung (Hansen und Gotaas, H. B. 1943; Hopper, S. H. 1945; Hopper, S. H. und McCowen, M. C. 1952).

Die Anwendung der Flotation im biotechnologischen Downstream wurde erst ab den späten 1960er Jahren detailliert untersucht. Hier ist die Arbeit von Boyles und Lincoln von 1958 zu nennen, in der sie Flotation als eine selektive Methode zur Abtrennung und Aufkonzentrierung von Bakteriensporen aus einem Fermentationsmedium mit vegetativen Zellen vorstellen (Boyles und Lincoln 1958). Gaudin et al. zeigten, wie die Flotierbarkeit von *Bacillus subtilis* und *Escherichia coli* durch Wachstumsbedingungen bei der Fermentation, sowie durch Additive und Gasdurchflussraten beeinflussbar ist (Gaudin et al. 1960). Levin et al. präsentierten die Schaumflotation als eine hocheffiziente Technik, um die Alge *Chlorella vulgaris* aus gering konzentrierten Suspensionen abzutrennen (Levin et al. 1962). Rubin et al. veröffentlichten, dass sich der Mikroflotationsprozess von Bakterien und Algen stark verbessern ließ, wenn sie der Suspension Additive wie Schäumer, Kollektoren und Flockungsmittel zusetzten (Rubin et al. 1966). Eine weiterführende Übersicht über die frühe Forschung auf dem Gebiet der Flotation von Mikroorganismen gab Smith in einem Review Artikel (Smith 1989). Schügerl und Kollegen betrieben intensive Forschung im Bereich der Hefeseperation in einer Gegenstrom-Flotationskolonne. Dabei untersuchten sie den Einfluss der Hefearten und deren Fermentationsbedingungen, sowie apparativer und operativer Parameter des Flotationsequipments (Viehweg und Schügerl 1983; Bahr et al. 1991; Gehle et al. 1991; Bahr und Schügerl 1992; Tybussek et al. 1994; Schügerl 2000).

In den letzten Jahrzehnten wurde die Flotation als Downstream-Verfahren vor allem für Algen verwendet und erforscht (Smith 1989; Chen et al. 1998; Ma und Liu 2002; Phoochinda und White 2003; Ometto et al. 2014; Ndikubwimana et al. 2016; Cui et al. 2017). In der Algenaufbereitung ist der zentrale Vorteil der Flotation gegenüber der Zentrifugation und Filtration, dass der Prozess auch bei geringen Algenkonzentrationen energetisch interessant bleibt. Phoochinda und White zeigten, dass Algenflotation mit Ausbeuten von 90-99 %, mit geringem apparativem Aufwand und Energieeinsatz betrieben werden kann. Dadurch fielen sowohl die Investitions- als auch die Betriebskosten niedrig aus (Phoochinda und White 2003). Gao et al. kombinierten eine Elektro-Koagulation mit der Flotation und erreichten so eine hundertprozentige Algenausbeute mit einem Energieverbrauch von nur 0,4 kWh/m<sup>3</sup> (Gao et al. 2010). Ndikubwimana stellte eine Übersicht über verschiedene Flotationstechnologien

zusammen, die er für vielversprechend und kosteneffizient für die Ernte und Entwässerung von Mikroalgen für biologisch hergestellten Treibstoff hält. Daraus zog er die Schlussfolgerung, dass die Mikroalgenflotation noch in den Anfängen steckt. Weshalb er auf die Notwendigkeit von ausführlichen Studien mit dem Fokus auf der Laufzeit und Nachhaltigkeit von Flotationszellen verwies. Des Weiteren sah er Bedarf in der Optimierung operativer Prozessparameter in der Anwendung mit verschiedenen Algenarten (Ndikubwimana et al. 2016).

Jüngste Forschung in der Hefeflotation fokussierten sich auf den Einfluss verschiedener Hefearten (*Hansenella polymorpha*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida albicans*) und deren Fermentationsbedingungen, sowie auf deren Hydrophobizität und Flotierbarkeit (deSousa et al. 2003). Auch wurde untersucht, wie die Separation rehydrierter Trockenhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) durch Additive wie Alkylpolyglycoside (APGs) in Flotationskolonnen verbessert werden kann (Husband Devon L. et al. 2009).

## 2.4 Modellierung der Flotation

Das wachsende Verständnis des Prozesses und seiner Einflussparameter führten in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts zur Entwicklung erster Modellierungsansätze. Hier sind Derjaguin und Dushkin zu nennen, die als erste die Partikel-Blase-Interaktion anhand von Oberflächen-Interaktionskräften modellierten (Derjaguin und Duhkin 1961; Derjaguin und Duhkin 1979). In ihren Überlegungen berücksichtigten sie jedoch nur elektrostatische und Van-der-Waals Kräfte, welche keine Attraktion zwischen Partikeln und Blase verursachen, wenn beide negative Oberflächenladungen aufweisen. Somit lässt sich die Partikel-Blase-Adhäsion mit ihrem Modell nicht ausreichend beschreiben. Erst 1982 gelangen Israelachvili und Pashley Messungen attraktiver Wechselwirkungen, die sie hydrophobe Kräfte nannten. Ihre Stärke lag etwa beim 10-fachen der Van-der-Waals Kräfte (Israelachvili und Pashley 1982). Yoon und Kollegen integrierten daraufhin erfolgreich hydrophobe Kräfte in die Modellierung der Partikel-Blase Interaktion (Yoon und Luttrell 1989; Yoon 1993; Yoon 2000).

Die direkte Flotation berücksichtigend, basiert ein häufiger Modellierungsansatz auf der Flotationskinetik, die durch eine Flotationsratenkonstante erster Ordnung beschrieben wird (Mehrotra und Kapur 1974; Dey et al. 1989; Yoon und Luttrell 1989; Guria et al. 2005). Dieser wurde erstmals 1948 von Sutherland angewandt (Sutherland 1948). Da der Ansatz die direkte Adsorption von Partikeln an Luftblasen modelliert, ist er abhängig von der Flotierbarkeit eines Materials, dem bereitgestellten spezifischen Grenzflächeneintrag und der Verweilzeit. Die Beschreibung der direkten Flotation mittels der Flotationsratenkonstante erster Ordnung wird als angemessen betrachtet, wenn das Retentat und die Partikelkonzentration darin im Fokus stehen (Guria et al. 2005).



Dieser Modellierungsansatz gilt jedoch als unzureichend um die Prozesse im Flotationsschaum zu beschreiben (Neethling und Cilliers 2003; Hu et al. 2013). Da Flotationsschaum immer eine gewisse Restfeuchte aufweist, und diese ein Entrainment von Partikeln in der Schaumflüssigkeit verursacht, betrachten neuere Modellierungsansätze die Flotation deshalb als eine Mischung aus direkter und indirekter Flotation (Gorain et al. 1998; Savassi et al. 1998). Die indirekte Flotation durch Entrainment ist proportional zur Schaumrestfeuchte und umgekehrt proportional zur Partikelgröße (Smith und Warren 1989).

Da in der vorliegenden Arbeit über die Flotationsratenkonstante die Reduktion der Mikroorganismenkonzentration im Retentat beschrieben wird, ist ein Modell für die direkte Flotation ausreichend.

### 2.4.1 Direkte Flotation

Direkte Flotationsmodelle betrachten die Flotation als direkte Interaktion zwischen Partikel und Blase. Sie gehen davon aus, dass es nur zur erfolgreichen Flotation kommen kann, wenn drei Teilprozesse stattfinden (Mehrotra und Kapur 1974; Ahmed und Jameson 1985; Dey et al. 1989; Yoon und Luttrell 1989; Nguyen et al. 1998; Dai et al. 2000; Jameson 2010). Zunächst muss es zur Kollision zwischen Partikel und Blase und einer Adhäsion des Partikels an die Blase kommen. Kommt es anschließend nicht zur Desorption des Partikels von der Blase, so kann der Partikel-Blase-Komplex an die Flüssigkeitsoberfläche flotieren.

Die Wahrscheinlichkeit der direkten Flotation  $P$  ist das Produkt der Wahrscheinlichkeiten der oben genannten Teilprozesse Kollision  $P_c$ , Adsorption  $P_a$  und Desorption  $P_d$ ,

$$P = P_c P_a (1 - P_d). \quad 2.1$$

Für Partikeln kleiner als 100  $\mu\text{m}$  gilt die Desorptionswahrscheinlichkeit  $P_d$  auf Grund der geringen Massenträgheit der Partikeln als sehr klein (Yoon 1993). Somit kann sie in der Flotation von Mikroorganismen, auch wenn diese in geflockter Form vorliegen, vernachlässigt werden. Die Wahrscheinlichkeit der Kollision zwischen Partikel und Blase  $P_c$  wird durch die Größenverteilungen von Partikeln und Blasen bedingt. Diese werden in der Kollisionswahrscheinlichkeit durch einen Mittelwert, im besten Fall durch den Sauter-Durchmesser, berücksichtigt. Zudem enthält die Kollisionswahrscheinlichkeit einen Term  $A$  sowie einen Exponenten  $n$ , welche in Abhängigkeit der vorliegenden Strömungsbedingungen variieren

$$P_c = A \left( \frac{D_p}{D_b} \right)^n. \quad 2.2$$

Unter laminaren oder gering turbulenten Strömungen wiesen Reay und Ratcliff experimentell nach, dass  $n$  gleich 2 und somit die Kollisionswahrscheinlichkeit  $P_c$  proportional zum

quadratischen Verhältnis aus Partikel-  $D_p$  und Blasengröße  $D_b$  ist (Reay und Ratcliff 1973; Schubert und Bischofberger 1978). Unter laminaren Stokes Bedingungen ist  $A$  als Konstante von  $2/3$  zu setzen, bei gering turbulenten Strömungen ist  $A$  eine Funktion der Blasen-Reynoldszahl  $Re_b$  (Gaudin 1957; Reay und Ratcliff 1973; Schubert und Bischofberger 1978). In Anbetracht der Tatsache, dass hier die Flotation mit Mikroblasen mit Sauter-Durchmessern kleiner  $100 \mu\text{m}$  durchgeführt wird, kann  $P_c$  für laminare Stokes Bedingungen angenommen werden und ist somit proportional zu  $2/3$  und dem quadratischen Verhältnis aus Partikelgröße  $D_p$  und Blasengröße  $D_b$ , also

$$P_c = \frac{2}{3} \left( \frac{D_p}{D_b} \right)^2. \quad 2.3$$

Für die Bestimmung der Adsorptionswahrscheinlichkeit, wird angenommen, dass die Zeit  $t_s$ , in der ein Partikel nach der Kollision über die Blasenoberfläche gleitet, größer sein muss als die Induktionszeit  $t_i$ . Letztere ist definiert als die mindestens benötigte Zeit, um den Flüssigkeitsfilm zwischen Partikel und Blase zu verdünnen und diesen zum Aufreißen zu bringen. Nur in diesem Fall kommt es zur direkten Adsorption. Ansonsten läge indirekte Flotation z.B. durch Auftrieb im Strömungsschatten der Blase vor. Unter Verwendung dieses Kriteriums entwickelten Yoon und Luttrell folgende Formel für die Adsorptionswahrscheinlichkeit eines Partikels an eine Blase

$$P_{a \text{ Yoon}} = \sin^2 \left( 2 \arctan \exp \left( - \frac{(45+8 Re_b^{0,72}) u_b t_i}{D_p + D_b} \right) \right). \quad 2.4$$

Sie basiert auf der Partikelgröße  $D_p$  und der Blasengröße  $D_b$ , der Blasen-Reynoldszahl  $Re_b$ , der relativen Blasenauftiegs geschwindigkeit  $u_b$  und der Induktionszeit  $t_i$ . Die Blasen-Reynoldszahl

$$Re_b = \frac{\rho_{fm} u_b D_b}{\mu_{fm}} \quad 2.5$$

und die relative Blasenauftiegs geschwindigkeit

$$u_b = \frac{1}{18} \frac{D_b^2 g (\rho_{fm} - \rho_g)}{\mu_{fm}} \quad 2.6$$

variieren mit dem Blasendurchmesser  $D_b$ , der Viskosität  $\mu_{fm}$  und der Dichte des Flotationsmediums  $\rho_{fm}$ . Die Induktionszeit  $t_i$  wird durch die wirkenden DLVO-Kräfte (Derjaguin 1934; Verwey et al. 1948; Overbeek 1984; Derjaguin und Landau 1993), wie London Dispersions-, van der Waals-, elektrische und hydrophobe Interaktionskräfte zwischen Partikel und Blase bedingt (Yoon 1993). Die Literatur verweist zwar auf Techniken um die Induktionszeit  $t_i$  zu messen (Yoon und Jordan 1991; Xing et al. 2017). In dieser Arbeit wurde die Induktionszeit jedoch basierend auf der Hydrophobizität  $H$ , welche als Ergebnis aus der Hydrophobizitätsmessung folgte, abgeschätzt

$$t_{i^*} = 12,5 H^{0,5} . \quad 2.7$$

Als eine alternative Gleichung für die Adsorptionswahrscheinlichkeit wurde zudem

$$P_a = \frac{1}{2} \left( \frac{D_b^{0,55}}{D_p^{0,75}} \right) \exp \left( -\frac{17,5}{H^{0,5}} \right), \quad 2.8$$

basierend auf den aus den experimentellen Laboranalysemethoden resultierenden Schlüsselparametern aufgestellt.  $P_a$  ist deshalb eine Funktion der Partikelgröße  $D_p$  und der Blasengröße  $D_b$  sowie der Partikelhydrophobizität  $H$ .

Aus der Kollisionswahrscheinlichkeit  $P_c$  und den beiden Varianten der Adsorptionswahrscheinlichkeit  $P_a$  oder  $P_{a\text{Yoon}}$  lässt sich die gesamte Flotationswahrscheinlichkeit  $P$

$$P = P_c P_a = \frac{1}{3} \left( \frac{D_b^{1,25}}{D_p^{1,45}} \right) \exp \left( -\frac{17,5}{H^{0,5}} \right) \quad 2.9$$

beziehungsweise  $P_{\text{Yoon}}$  bestimmen zu

$$P_{\text{Yoon}} = P_c P_{a\text{Yoon}} = \frac{2}{3} \left( \frac{D_p}{D_b} \right)^2 \sin^2 \left( 2 \arctan \exp \left( -\frac{(45+8 Re_b^{0,72}) u_b t_i}{D_p + D_b} \right) \right). \quad 2.10$$

Wird DAF als Technik zur Blaserzeugung eingesetzt, so kann direkte Flotation auch ohne die Kollision von Partikel und Blase stattfinden. In dem Fall entsteht die Luftblase auf Grund von Gasübersättigung direkt am Partikel, da dieser als Blasenkeim dient (Rodrigues und Rubio 2007; Oliveira et al. 2014). Dies wird jedoch in beiden obigen Modellen für die Flotationswahrscheinlichkeit nicht berücksichtigt.

Liegt die Wahrscheinlichkeit der Flotation  $P$  oder  $P_{\text{Yoon}}$  basierend auf dem detaillierten Verständnis der Teilprozesse vor, so kann mit ihr die exponentielle Flotationsratenkonstante erster Ordnung  $k_m$  oder  $k_{m\text{Yoon}}$  anhand des Zusammenhangs

$$k_m = \frac{S_b P}{4} \quad 2.11$$

modelliert werden. In diesen geht der spezifische Grenzflächeneintrag

$$S_b = \frac{\dot{V}_g}{A_f} \frac{A_b}{V_b} = \frac{\dot{V}_g}{A_f} \frac{\pi D_b^2}{\frac{1}{6} \pi D_b^3} = v_g \frac{6}{D_b} \quad 2.12$$

ein, welcher für die spezifische Rate des Blasengrenzflächeneintrags (engl. bubble surface area flow) steht und der die Einheit  $s^{-1}$  oder  $h^{-1}$  hat. Der spezifische Grenzflächeneintrag ist die kumulierte Blasengrenzfläche pro Zeit und Querschnittsfläche der Flotationszelle  $A_f$ .  $S_b$  hängt somit von der Blasengröße  $D_b$  und der mittleren Strömungsgeschwindigkeit des Gases  $v_g$  ab.

Letztere ergibt sich aus dem Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$  geteilt durch die Querschnittsfläche der Flotationszelle  $A_F$  (Yoon 1993).

## 2.4.2 Auslegung von Flotationszellkreisläufen

Die Integration der Flotation in das Gesamtverfahren ist stark durch die jeweilige Anwendung geprägt. Im Flotationsprozess wird ein Zulauf in Schaum und Klarlauf getrennt. Dabei werden hydrophobe Komponenten im Schaum angereichert und hydrophile verbleiben im Klarlauf. Eine vollständige Ausbeute in einem Flotationsschritt ist auf Grund der limitierten Verweilzeit in einer Flotationszelle nicht möglich. Die Gesamtausbeute kann jedoch durch weitere Flotationsschritte erhöht werden. Optimierte Separation der Komponenten ist häufig durch die optimale Verschaltung einzelner Flotationszellen zu einem Zellkreislauf realisierbar. In der Mineralaufbereitung und der Abwasseraufbereitung kann die Flotation in Form eines einzelnen Prozessschrittes, häufiger aber auf mehreren Prozessstufen, direkt in Reihe oder parallel gefahren, ggf. auch durch andere Prozessschritte ergänzt, vorkommen. Im Altpapier-Deinking wird sie allerdings immer in Reihenschaltung eingesetzt.

Um die Performance einzelner Flotationszellen abschätzen und darauf aufbauend deren optimale Verschaltung in einem Zellkreislauf realisieren zu können, muss die Flotation modelliert werden. Dazu gibt es zwei etablierte Modellierungsmethoden. Sie unterscheiden sich darin, dass sie ausschließlich direkte Flotation, durch Adsorption von Partikeln an Luftblasen, oder aber zusätzlich auch indirekte Flotation, durch Entrainment von Partikeln in der Schaumflüssigkeit berücksichtigen.

Durch die beschriebenen Methoden lässt sich die Ausbeute  $R_j$  je Flotationsschritt  $j$  berechnen. In einfachster Annäherung, mit der Annahme einer konstanten Ausbeute  $R_1 = R_2 = R_j = \text{konst.}$  der einzelnen Flotationszellen, kann mit einer Anzahl an Flotationszellen  $N_{FB}$  die Gesamtausbeute des Flotationszellenkreislaufs durch Gleichung 2.1

$$R_{FB} = \sum_{j=1}^{N_{FB}} R(1 - R)^{j-1} = 1 - (1 - R)^{N_{FB}} \quad 2.1$$

bestimmt werden (Nguyen 2013). Die oben genannte Vereinfachung erlaubt jedoch keine Aussage darüber, welche Anordnung der Flotationszellen zur optimalen Gesamtausbeute führt. Ebenso muss die optimale Gesamtausbeute nicht das Auswahlkriterium darstellen, dies kann z.B. auch eine minimale Restfeuchte und die damit einhergehende Verunreinigung sein. Zur Berechnung der idealen Verschaltung mehrerer Flotationszellen gibt es konventionelle Kreislauf-Optimierungsmethoden, mathematische Programmierung und genetische Algorithmen.

Die konventionellen Methoden lassen sich in drei Hauptgruppen unterteilen: differentialgleichungsbasiert, enumerativ und randomisiert (Hu et al. 2013). Differentialgleichungsbasierte Methoden können direkt oder indirekt nach lokalen Optima suchen. Im direkten Fall werden lokale Optima gefunden indem lokale Gradienten der Zielfunktion gesucht und zum Optimum hin verfolgt werden. Indirekte Methoden lösen die nichtlinearen Differentialgleichungen indem sie die Gradienten der Zielfunktionen gleich Null setzen. Die auf diese Weise gefundenen lokalen Optima sind nicht zwangsweise auch das globale Optimum, können aber für das Design des Zellkreislaufs hilfreich sein (Mehrotra und Kapur 1974). Bei der enumerativen Methode werden alle möglichen Zellkreislauf-Konfigurationen getestet und berechnet, wodurch sie sehr ineffizient ist und nur für eine geringe Flotationszellenanzahl in Frage kommt (Hu et al. 2013). Randomisierte Algorithmen berechnen die Ausbeute von zufällig gewählten Zellkreislaufkonfigurationen. Im Vergleich zweier Ergebnisse wird immer das Bessere gewählt, an dem dann zukünftige Konfigurationen gemessen werden (Kapur et al. 1991). Diese Methode gilt ebenfalls als ineffizient.

Die Nutzung mathematischer Programmierung verwendet Superstrukturen um verschiedene Flotationskreislauf-Konfigurationen zu repräsentieren und deren Optimierung als mathematisches Programm zu formulieren, welches dann mittels unterschiedlicher mathematischer Programmierungen (lineare Programmierung, gemischte ganzzahlige nichtlineare Programmierung oder gemischte ganzzahlige lineare Programmierung) gelöst werden kann. Detaillierte Flotationsmodelle können aber nur schwer in diese Programme integriert werden (Hu et al. 2013).

Zuletzt kommt noch der Einsatz genetischer Algorithmen in Frage. Diese Technik funktioniert nach dem Prinzip der natürlichen Selektion und Genetik. In der Anwendung um Flotationszellkreisläufe zu optimieren, werden verschiedene Zellkreislaufkonfigurationen vorgegeben und untereinander zufällig oder gerichtet mit anderen Konfiguration kombiniert. In einzelnen Berechnungen überdauern die am besten angepassten Zellkreislaufkonfigurationen und werden dadurch untereinander rekombiniert und optimiert (Guria et al. 2005).

## 3 Apparate, Material und Methoden

Um chemische und apparative Einflüsse auf die Flotation charakterisieren zu können, bedarf es diverser Analysemethoden und Messtechniken. Sie ermöglichen die Erfassung der Schlüsselparameter, welche den Flotationsprozess beeinflussen. Dazu gehören detaillierte Informationen zum Stoffsystem. Konkret sind dies die Art, Größe, Konzentration und Hydrophobizität der Mikroorganismen sowie die Oberflächenspannung und die Neigung der Suspension Blasenkoaleszenz zu Hemmen. Zusätzlich spielen die Begasungstechnik, das Begasungsvolumen und die Strömungen in der Anlage eine wichtige Rolle, da sie die resultierende Blasengröße und den spezifischen Grenzflächeneintrag beeinflussen.

### 3.1 Flotationsanlage

Zu Beginn dieses Flotations-Projektes wurde eine detaillierte Literaturrecherche zu verschiedenen Begasungstechniken und Anlagendesigns durchgeführt. Mit dem Ziel Mikroorganismen nach Möglichkeit ungeflokt flotieren zu können, lag die anzunehmende Partikelgröße unter 10  $\mu\text{m}$ . Um derart kleine Partikeln flotieren zu können, sind möglichst kleine Gasblasen notwendig. Eine hohe Konzentration kleiner Gasblasen steigert nicht nur die Kollisions- und Adsorptionswahrscheinlichkeit und senkt die Desorptionswahrscheinlichkeit, sondern erlaubt auch die Bereitstellung einer maximierten spezifischen Gasgrenzfläche.

In Frage kam die Begasung durch Induced Air Flotation (IAF), Ultraschallflotation (USF), Elektroflotation (EF) oder Druckentspannungsflotation (DAF). Die Wahl fiel auf die Druckentspannung um enge Blasengrößenverteilungen mit mittleren Durchmessern von 30-100  $\mu\text{m}$  generieren zu können (De Rijk et al. 1994; Rykaart 1995; Burns et al. 1997; Chen et al. 2004; Leppinen und Dalziel 2004). Der Vorteil gegenüber Ultraschall und Elektroflotation, welche ebenfalls die Generation von Blasen mit geringen Durchmesser erlauben, ist, dass die DAF energieeffizienter ist (Edzwald 1995). Als Nachteil der DAF ist die Limitierung des Gaseintrags zu nennen, da die Gaslöslichkeit im Recyclevolumen beim eingestelltem Sättigungsdruck auf dem Henry Gesetz (Henry 1803) basiert. Auf Grund der Löslichkeitskinetik werden üblicherweise in Drucksättigern von DAF Anlagen lediglich 80-95 % des maximal löslichen Gasvolumens erreicht (Edzwald 2010).

#### 3.1.1 Aufbau der Flotationsapparatur

Für diese Arbeit wurde in Kooperation mit der Enviplan Ingenieurgesellschaft mbH eine Laboranlage für Druckentspannungsflotation entwickelt. Ein Bild und eine Skizze der Laborflotationszelle sind in Abbildung 3.1 wiedergegeben.

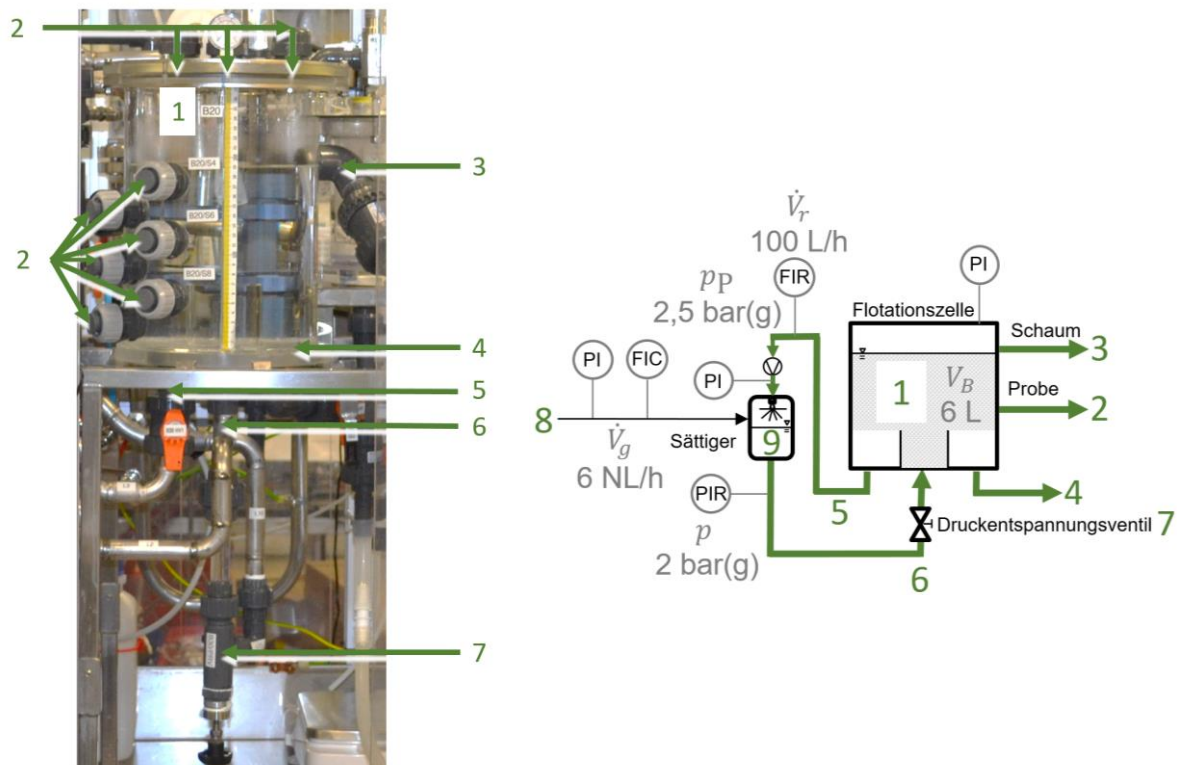


Abbildung 3.1: Bild und Skizze der Laborflotationszelle mit (1) Flotationszelle, (2) Probenentnahmestutzen, (3) Schaumablauf, (4) seitlichem Klarlaufablass, (5) seitlichem Recyclevolumenabzug, (6) zentralem Zulauf, (7) manuellem Druckentspannungsventil, (8) Gaszufuhr und (9) Druckbehälter. In der Skizze angegeben sind die Standardprozessbedingungen: 6 L Batchvolumen, 100 L/h Recyclevolumenstrom, 6 NL/h Gasvolumenstrom, 2 bar(g) Sättigungsdruck. In der Flotationszelle lag Normaldruck vor.

Die Anlage ist so aufgebaut, dass sie sowohl Batch- als auch kontinuierlichen Betrieb erlaubt. Bei Batch-Betrieb wird die Anlage mit 6 L Flotationssuspension gefüllt und die Blasenenerzeugung erfolgt durch Abzug und Aufsättigung unter Druck, gefolgt von Druckentspannung und Rückführung eines Recyclevolumenstroms.

Der kontinuierliche Betrieb ist auf zwei Arten möglich. Bei der einen Option wird der Zulaufvolumenstrom direkt durch den Drucksättiger geleitet. In diesem Fall ist kein Recyclevolumenstrom nötig und am Boden des Flotationsbehälters wird der Klarlauf, dem hydrostatischen Druck folgend, abgelassen. Diese Fahrweise wurde bei den Verweilzeitmessungen genutzt, da die Strömung in dem Fall spiegelverkehrt aber ansonsten gleich dem Batch-Betrieb ist. Alternativ wäre es auch möglich, die Anlage für einen kontinuierlichen Prozess zu nutzen. Dann würde, wie im Batch-Betrieb, ein Recyclevolumenstrom für die Blasenenerzeugung genutzt und im druckfreien Bereich hinter dem Druckentspannungsventil ein Zulaufvolumenstrom dem Blasen tragenden Recyclevolumenstrom zugeführt.

### 3.1.1.1 Druckentspannungsventil iFloat®

Beim iFloat® Druckentspannungsventil handelt es sich um ein patentiertes Kegelsitzventil. Durch manuelle Regelung wird die Distanz des Kegels zum Sitz variiert und somit die Spaltbreite eingestellt. Die Spaltbreite und -Länge beeinflussen, wie stark der Druckverlust im Ventil bei gegebenem Recyclevolumenstrom ist.

### 3.1.1.2 Flotationszelle

Die Geometrie der Flotationszelle ist in Abbildung 3.2 einsehbar. Sie ist zylindrisch und hat einen Innendurchmesser von 200 mm. Die maximale Füllstandshöhe bis zum Schaumablass liegt bei 180 mm. Sie verfügt über einen zentralen Bodenzulauf und zwei seitliche Bodenabzüge mit einem Durchmesser von 12,7 mm (½ Zoll).

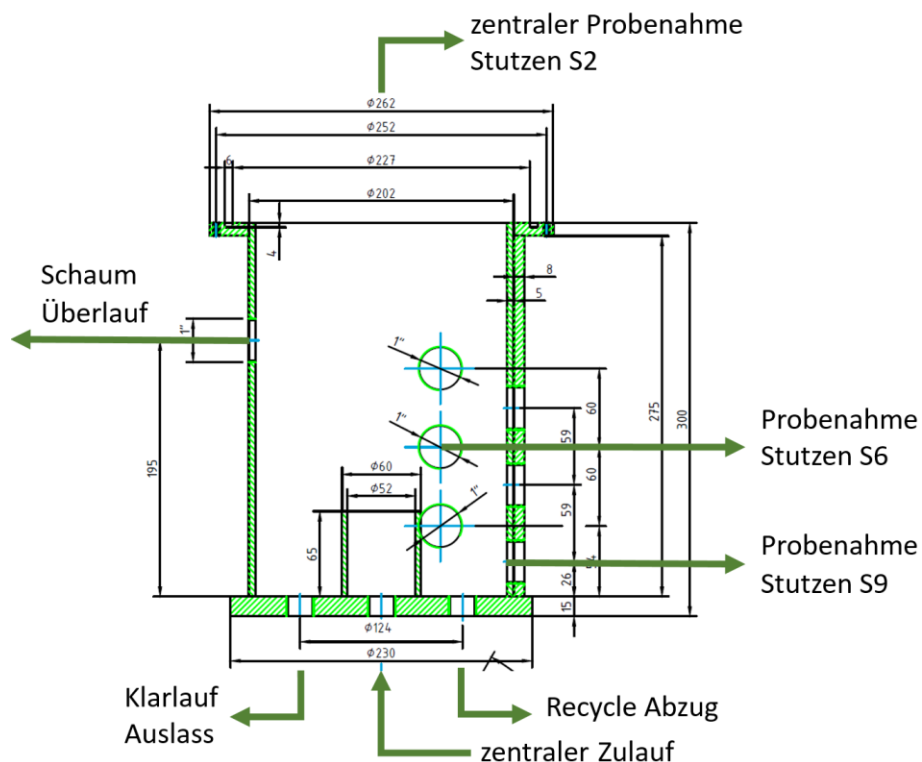


Abbildung 3.2: Flotationszelle der DAF-Laborflotationsanlage

Der Zulauf führt zunächst in einen inneren zentralen Strömungsführungszylinder, der eine Höhe von 65 mm, einen Innendurchmesser von 52 mm und einen Außendurchmesser von 60 mm hat. Einströmende Flüssigkeit strömt zunächst zentral zur Flüssigkeitsoberfläche, wobei sich der Strahl kontinuierlich aufweitet. Die Probenentnahme in Flotationsversuchen erfolgt seitlich über die Stutzen S6 und/oder S9, mittels einer Kanüle und 10 mm Abstand zum Zellenrand. Die kontinuierliche Probe für Blasengrößenanalysen wird am zentralen Stutzen S2 bei einer Eintauchtiefe von 40 mm abgezogen.



### 3.1.1.3 Einstellungen der Flotationsapparatur

Wenn nicht anders beschrieben, wurde die Anlage mit den in Tabelle 3.1 gegebenen Standardbedingungen 6 NL/h Gaseintrag, 2 bar(g) Sättigerüberdruck und 100 L/h Recyclevolumenstrom im Batch-Betrieb betrieben. NL steht dabei für Normliter, das Gasvolumen unter Normbedingungen: Normtemperatur von 0 °C und Normdruck von 1,013 bar. Der Überdruck wird in bar gauge bzw. bar(g) angegeben und steht für den Absolutdruck bar(a) abzüglich des Normdrucks. Auf Grund des Druckverlusts im Dispersionsventil des Sättigers lag der Druck in der Leitung zwischen Pumpe und Ventil bei 2,5 bar(g).

Tabelle 3.1: Standardbedingungen und Variabilität der Prozessparameter der Laborflotation

Detail	Formelzeichen	Standard	Variabilität
Druckluft Volumenstrom	$\dot{V}_g$	6 NL/h	1...24 NL/h
Recycle Volumenstrom	$\dot{V}_r$	100 L/h	50...150 L/h
Druck im Druckbehälter	$p$	2 bar(g)	0...4 bar(g)
Druck nach Pumpe	$p_p$	2,5 bar(g)	$p + 0,3...0,7$ bar(g)
Druck in der Flotationszelle	$p$	0 bar (g), 1 atm	-
Füllpegel Flotationszelle	$FH_{FB}$	160 mm	160-180 mm
Batch Volumen	$V_B$	6 L	-
Probenentnahmeort Flotation	-	S6	S6, S9
Probenentnahmeort BSA	-	S2	-

### 3.1.2 Betrieb der Anlage

Die Beschickung der Anlage erfolgt über den Deckel der Flotationszelle mit dem vollständigen Batchvolumen. Die Blasengeneration ist abhängig vom Gasvolumenstrom, Recyclevolumenstrom und Druck im Sättiger. Um diese drei Größen den Vorgaben entsprechend einzustellen, wird zunächst das Druckentspannungsventil vollständig geöffnet. Der Gasvolumenstrom wird mittels Steuereinheit auf den gewünschte Wert zwischen 0 und 24 NL/h hochgefahren. Um diese Bandbreite abdecken zu können muss die Steuereinheit mit einem von zwei Massendurchflussmessern (Bronkhorst, F-101D-RGB-33-V) gekoppelt werden. Selbige sind auf Luft mit einem Vordruck von 6 bar(g) geeicht und erlauben eine Variabilität des Luftvolumenstroms von 0-6 NL/h oder 12-600 NL/h. Anschließend erfolgt das Hochfahren der Pumpe für den Recyclevolumenstrom. Eingesetzt ist eine Gather Zahnradpumpe G22D60 mit externer manueller Steuerung LAB22-ST und Nenndrehzahl von 60 - 6000 min<sup>-1</sup>. Der Recyclevolumenstrom wird mittels magnetisch-induktivem Durchflussmessgerät (KROHNE Messtechnik GmbH) gemessen. Er muss zunächst im druckfreien Betrieb höher liegen, als für den späteren Betrieb unter Druck gewünscht. Der Druck im Sättiger wird manuell über die Spaltbreite und somit den Druckverlust im Druckentspannungsventil eingestellt. Je größer der

Spalt, desto geringer der Druckverlust. Iterativ werden die Pumpendrehzahl und die Spaltbreite optimiert, bis Druck und Recyclevolumenstrom den Sollwert erreicht haben.

### 3.2 Blasengrößenanalyse <sup>1</sup>

Blasengrößenmessungen spielen für die Prozessoptimierung in verschiedenen Bereichen der Verfahrenstechnik, insbesondere aber in der Flotation eine fundamentale Rolle. Die Größe einer Blase beeinflusst ihre Aufstiegs geschwindigkeit, sowie die Wahrscheinlichkeit der Koaleszenz mit anderen Blasen und die Interaktion mit Partikeln und dem Medium. Deshalb wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Technik zur online-Blasengrößenanalyse mit automatisierter Software für die Bildauswertung entwickelt. Im Rahmen der Entwicklung wurde die Bedeutung der isokinetischen Probenentnahme für ein repräsentatives Messergebnis untersucht. Auf die wichtigsten Softwareparameter wurde im Detail eingegangen. Die Messtechnik wurde genutzt, um die Laborflotationsanlage zu charakterisieren und operative ebenso wie physico-chemische Einflüsse auf die Blasengeneration zu untersuchen.

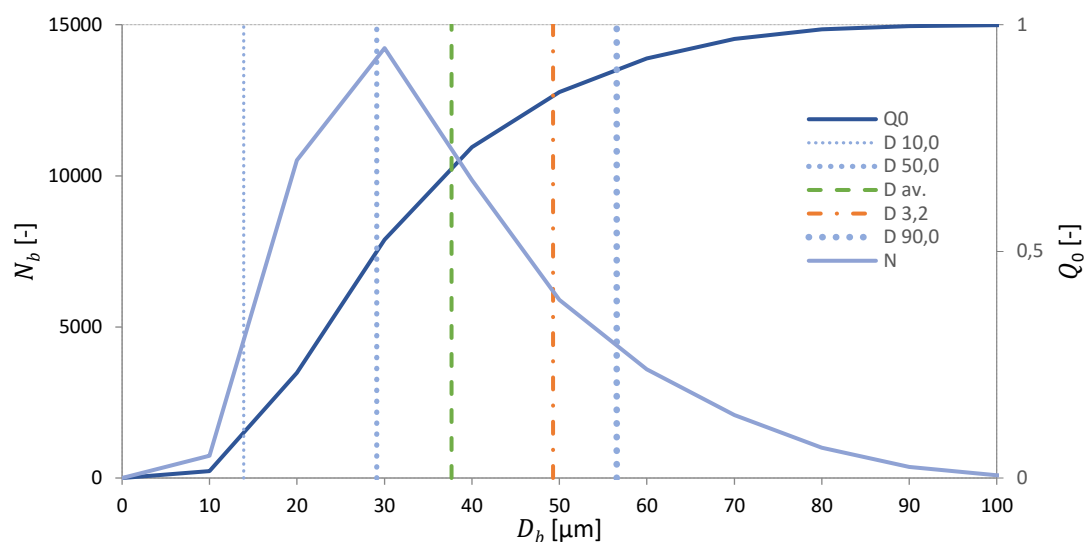


Abbildung 3.3: Exemplarisches „Bubble Size Analyzer“-Ergebnis mit Blasenanzahl  $N_b$ , Summenhäufigkeitsverteilung  $Q_0$ , den spezifischen Durchmessern Median  $D_{50,0}$ ,  $D_{10,0}$  and  $D_{90,0}$ , dem arithmetischen Mittelwert  $D_{av}$  und dem Sauter-Durchmesser  $D_{3,2}$ .

Die signifikanten Unterschiede hinsichtlich Median, arithmetischem Mittelwert und Sauter-Durchmesser einer herkömmlichen Summenhäufigkeitsverteilung  $Q_0$  sind in Abbildung 3.3 an einem exemplarischen BSA Ergebnis verdeutlicht. Sie zeigen, wie wichtig es ist, die korrekten spezifischen Durchmesser zu vergleichen bzw. in einem Modell einzusetzen, da ansonsten

<sup>1</sup> Die in diesem Kapitel präsentierten Ergebnisse wurden im Rahmen von (Gulden et al. 2018c) veröffentlicht. Die Daten und Abbildungen wurden mit Genehmigung von Elsevier in dieser Dissertation verwendet.

starke Abweichungen zu erwarten sind. Wie im Folgenden erläutert wird, wurden aus diesem Grund in der vorliegenden Arbeit je nach Anwendung verschiedene spezifische Durchmesser genutzt.

Die Flotation ist ein Prozess, der stark von der Oberfläche und der relativen Blasengeschwindigkeit der Einzelblase sowie vom spezifischen Grenzflächeneintrag des Blasenkollektivs abhängt. Je kleiner die generierten Blasen sind, desto größer ist das Verhältnis von Blasenoberfläche zu Blasenvolumen bei jeder einzelnen Blase. Dabei wird bei gleichbleibendem Gasvolumenstrom die Blasenanzahl und zugleich die gesamte generierte Blasenoberfläche erhöht. Im Flotationsprozess ist somit die Kenntnis der Oberfläche der Einzelblasen ebenso wie die gesamte generierte Blasenoberfläche relevant. Aus diesem Grunde ist der Blasen-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  welcher das gleiche Oberflächen/Volumenverhältnis hat, wie das Blasenkollektiv, am besten dafür geeignet, die Blasengrößenverteilung zu repräsentieren (Grau und Heiskanen 2002). Für die Berechnung des Sauter-Durchmessers einer Größenverteilung nach Gleichung 3.1 werden die Parameter Größenintervall  $\bar{D}_i$ , Anzahlhäufigkeit im Größenintervall  $q_0(\bar{D}_i)$ , Intervallbreite  $\Delta D_i$  benötigt.

$$D_{3,2} = \frac{\int \bar{D}_i^3 q_0(\bar{D}_i) dD_i}{\int \bar{D}_i^2 q_0(\bar{D}_i) dD_i} \approx \frac{\sum_1^\infty [\bar{D}_i^3 q_0(\bar{D}_i) \Delta D_i]}{\sum_1^\infty [\bar{D}_i^2 q_0(\bar{D}_i) \Delta D_i]} \quad 3.1$$

Der arithmetische Mittelwert wurde in dieser Arbeit genutzt, um die Messergebnisse mit Literaturwerten vergleichen zu können. Von einer weiteren Nutzung des  $D_{av}$  wurde abgesehen, da er die Größenverteilung im Flotationsprozess nur unzureichend repräsentiert. Wird er dazu verwendet den bereitgestellten spezifischen Grenzflächeneintrag zu berechnen, wird dieser deutlich überschätzt.

Für die Charakterisierung des BSA, sowie für die Untersuchung eines möglichen Einflusses durch Klassierung bei anisokinetischer Probenentnahme, wurden Standardpartikeln (BS Partikel GmbH, LS0500b20 Kalibrierung Standard Set mit 5 Partikelgrößen) mit engen Größenverteilungen verwendet. Um ihre Größenverteilung zu beschreiben, eignete sich der Median  $D_{50,0}$  der Anzahlhäufigkeitsverteilung  $Q_0$  besonders gut. Er ist der Wert, bei welchem 50 % der Partikeln kleiner und 50 % größer sind.

Tabelle 3.2: Beispiele für Blasengrößenanalysemethoden basierend auf Bildanalyse (Fotografien, digitale Bilder & Videos). Die Methoden der Blasengeneration werden differenziert in Dissolved Air Flotation (DAF), Induced Air Flotation (IAF), Elektro Flotation (EF) und in Blasensäule (BC) (Gulden et al. 2018c).

Flotation	Analyseort/Probenentnahme	Blasengröße	Literatur
DAF	Online, Luftfilter Messmodul	29-77 $\mu\text{m}$	Rykaart 1995
DAF	Online, Küvetten-Zelle	10-300 $\mu\text{m}$	de Rijk et al. 1994
DAF	Online, Hydrostatische Auftriebskammer, LTB-B sizer	30-40 $\mu\text{m}$	Rodrigues und Rubio 2003
DAF	Online, Probenkammer	70-150 $\mu\text{m}$	Leppinen und Dalziel 2004
DAF	In situ, Blasenfilter Glaskolonne	10-200 $\mu\text{m}$	Chen et al. 2004
IAF	Online, hydrostatische Auftriebskammer, McGill bubble viewing box	0,35-1,75 mm	Chen et al. 2001
EF, IAF, DAF	In situ, Sichtfenster	47-58 $\mu\text{m}$	Burns et al. 1997
EF, IAF	In situ, Glasflotationszelle	28-32 $\mu\text{m}$	Han et al. 2002
IAF, BC	In situ, Glaskolonne	0,1-2 mm	Majumder 2006
IAF, BC	In situ, Sichtfenster, optische Auftriebsanalyse	0,5 – 1,5 mm	Diaz-Penafiel und Dobby 1994
IAF, BC	In situ, Sichtfenster	0,5-1,5 mm	Moruzzi und Reali 2010
IAF, BC	In situ, Sichtfenster	> 2 mm	Lage und Espósito 1999
-	UCT & HUT sizer, hydrostatische Auftriebskammer	0,5-3 mm	Grau und Heiskanen 2002

Blasengrößenverteilungen in DAF Anlagen wurden mit verschiedenen Messtechniken analysiert und liegen im Bereich von 10 – 500  $\mu\text{m}$  (De Rijk et al. 1994; Edzwald 2010). Eine Übersicht über publizierte Bildanalysetechniken, die für die Größenanalyse von Blasen zum Einsatz kamen, ist in Tabelle 3.2 gegeben. Die verschiedenen dort genannten Methoden der Blasengenerierung sind in DAF, IAF, EF und in BC unterteilt. Bei der Messtechnik wird differenziert, ob es sich um eine online-Analyse oder eine Analyse in situ handelt, was in diesem Zusammenhang bedeutet, dass die Blasen nach Probenentnahme außerhalb des Prozesses oder direkt im Prozess vermessen werden konnten.

Die Analyse in situ erfolgte an durchsichtigen Glaswänden (Diaz-Penafiel und Dobby 1994; Burns et al. 1997; Lage und Espósito 1999; Han et al. 2002; Majumder et al. 2006; Moruzzi und Reali 2010). Dies ist der interessanteste Ansatz, eignet sich jedoch nur für geringe Blasenkonzentrationen. Denn nur dann kann sichergestellt werden, dass die Bildausleuchtung ausreichend und die Erkennung und Differenzierung der Einzelblasen gewährleistet ist. Andernfalls sind online-Messtechniken vorzuziehen. Sie ermöglichen die Blasendifferenzierung durch Verringerung des Analysevolumens in einem flachen Probenraum (Ahmed und Jameson 1985; Leppinen und Dalziel 2004), durch Blasenvereinzelnung in einem größeren Volumen einer

online Viewing Box (Chen et al. 2001; Grau und Heiskanen 2002; Rodrigues und Rubio 2003) oder durch Blasenvereinzelung an Luftfiltern (Rykaart 1995; Chen et al. 2004).

Online-Techniken bergen die Gefahr der Verfälschung der Größenverteilung. Erfolgt die Probenentnahme nicht isokinetisch, kann es zu Größenklassierung kommen (Dennis et al. 1957). In diesem Zusammenhang bedeutet isokinetische Probenentnahme, dass sowohl die Strömungsgeschwindigkeit als auch die Strömungsrichtung am Entnahmeort im Prozess, derjenigen im Probenrohr entspricht (Nasr-El-Din et al. 1996). Dennoch kann es bei der Probenentnahme zu Blasenkoaleszenz kommen, wobei mehrere kleine Blasen verschmelzen und als eine große Blase in der Verteilung berücksichtigt werden. Deshalb sollte der BSA Aufbau einen minimalen Einfluss durch Koaleszenz auf die Verteilung haben. Zur Blasenkoaleszenz kommt es, wenn drei Mikroprozesse zwischen zwei Blasen ablaufen: Kollision, Flüssigkeitsfilmdrainage und Flüssigkeitsfilmriss (Prince und Blanch 1990). Kollision wird durch Turbulenz, Auftrieb und laminare Scherung verursacht. Der Auftrieb wird nicht durch die Probenentnahme beeinflusst, dabei sollten jedoch Turbulenzen und Scherung so gering wie möglich gehalten werden.

Der in dieser Arbeit entwickelte „Bubble Size Analyzer“ erlaubt Blasengrößenanalysen in hochkonzentrierten Blasenschwärmen. Das Ziel war eine Apparatur zu entwickeln, die durch online-Anwendung ausreichende Beleuchtung und Blasenvereinzelung ermöglicht. Eine isokinetisch an das Strömungsprofil im Prozess angepasste Probenentnahme ist durch eine saugseitig hinter dem Probenraum des BSA installierte, flexibel steuerbare Pumpe sichergestellt. Hochgeschwindigkeitsfotografie des Probenfensters erlaubt, dank einer von der Kamera getriggerten Köhler'schen Beleuchtung (Köhler 1893) beste Voraussetzungen für scharfe, ausreichend ausgeleuchtete Bilder zu schaffen. Die automatisierte Bildanalysesoftware garantiert aufgrund der Kreisschärfe (Bubble Border) Definition die Erkennung scharfer, in der Fokusebene liegender Blasen. So können unscharfe, zu groß oder zu klein erscheinende Blasen verworfen werden, um die Größenverteilung nicht zu verfälschen. Bei Überlappung mehrerer Blasen ermöglicht der Hough Transformation Algorithmus deren virtuelle Separation und einzelne Berücksichtigung in der Größenverteilung. Da den Blasengrößenverteilungen hohe Blasenanzahlen zugrunde liegen, ist die statistische Aussagekraft ebenso wie die Reproduzierbarkeit der Technik hoch.

### **3.2.1 Aufbau und Betrieb des Blasengrößenanalyse Aufbaus**

Der hier vorgestellte Blasengrößenanalyse Aufbau BSA wurde im Rahmen dieser Arbeit entwickelt und charakterisiert, mit dem Ziel, ihn anschließend zur Prozesscharakterisierung und -optimierung in der Laborflotationsanlage nutzen zu können. Durch den BSA konnte die

Blasengröße bei variierenden Prozessbedingungen gemessen und daraus der spezifische Grenzflächeneintrag berechnet werden.

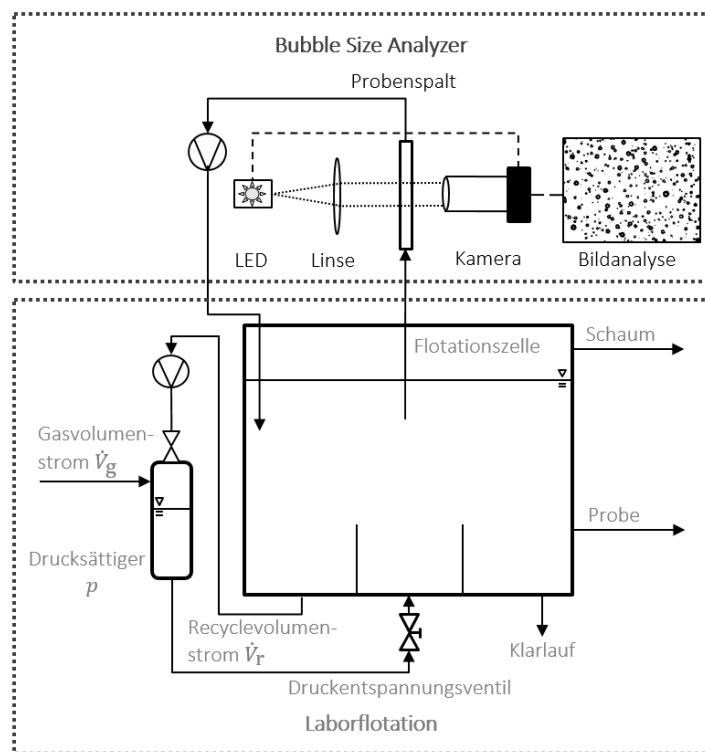


Abbildung 3.4: Skizze der Laborflotationsanlage mit Blasengrößenanalyse Aufbau „Bubble Size Analyzer“ (BSA) (Gulden et al. 2018c)

Eine Skizze des „Bubble Size Analyzers“ ist in Abbildung 3.4 gegeben. Für Blasengrößenmessungen wird die Flotationsanlage gemäß Abschnitt 3.1.2 in Betrieb genommen und der zu analysierende Blasenschwarm aufgebaut. Die Beförderung des blasentragenden Probenstroms durch den Messspalt wird durch eine saugseitig angeschlossene Ismatec<sup>®</sup> Zahnradpumpe (Typ BVP-Z ISM 446, mit Pumpenkopf Z 140 MI 0016, Cole-Parmer GmbH) realisiert. Die saugseitige Installation der Pumpe schränkt die Gefahr der durch sie verursachten Blasenkoaleszenz und Blasendispersion ein. Der zwischen zwei Glasfenstern liegende Messspalt hat eine variable Tiefe von 100, 200 oder 500  $\mu\text{m}$  und wird von einer Hochfrequenzkamera (UI-2250SE-M-GL, IDS Imaging Development Systems GmbH) mit einer Auflösung von 1600x1200 Pixeln und durch 4-fach Vergrößerung mit einer Pixellänge von 1,1  $\mu\text{m}$  fokussiert. Die Probe wird am zentralen Deckelstutzen S2 (s. Abbildung 3.2) mit einem Probenentnahmerohr 40 mm unterhalb des Füllpegels abgezogen. Das Probenentnahmerohr hat eine variable Länge von 300, 600 oder 900 mm und einen Innendurchmesser von 10 mm. Die Rückführung des Probevolumenstroms in die Flotationszelle garantiert einen konstanten Füllpegel in der Zelle, ohne die Notwendigkeit

Medien nachzuführen. Die Rückführung erfolgt über einen flexiblen Teflonschlauch, der entweder über den Deckelstutzen S1 oder den seitlichen Stutzen S9 in die Flotationszelle zurückgeführt wird und in der Nähe des Recyclevolumen Abzugs endet. Dabei ist darauf zu achten, dass die frische Blasenprobe durch den rückgeführten Probevolumenstrom nicht beeinflusst wird. Die Bildausleuchtung wird durch eine LED erreicht, die auf der der Kamera gegenüberliegenden Seite der Messzelle installiert ist. Ihr Licht wird von einer Kollimatorlinse gebündelt und parallelisiert (Köhler'sche Beleuchtung, (Köhler 1893)). Die LED blitzt, von der Kamera getriggert auf, wodurch scharfe, gleichmäßig ausgeleuchtete Bilder realisiert werden. Der BSA Messspalt wird für hohe Blasenkonzentrationen auf 200  $\mu\text{m}$  eingestellt, da so der beste Kompromiss zwischen Blasenanzahlkonzentration im Messspalt und Klassierung erreicht wird. In diesem Fall verursacht ein größerer Blasenspalt von z.B. 500  $\mu\text{m}$  zu starke Blasenüberlappung und mangelhafte Ausleuchtung des Bildes wodurch die Bildauswertung unzureichend wird. Ein kleinerer Spalt von z.B. 100  $\mu\text{m}$  wird zu schmal, da im Medium durchaus Blasen von bis zu 150  $\mu\text{m}$  Durchmesser präsent sein können und diese im engen Spalt abgeflacht werden wodurch sie zu groß erscheinen. Für geringe Blasenkonzentrationen und in der Anwesenheit von Blasen mit Durchmesser  $>150 \mu\text{m}$  wird der dafür besser geeignete 500  $\mu\text{m}$  Spalt verwendet. Die Spezifikationen der Hardware des Aufbaus sind noch einmal in Tabelle 3.3 zusammengefasst.

Tabelle 3.3: „Bubble Size Analyzer“ Hardware Detailinformationen (Gulden et al. 2018c).

BSA Hardware	Detail
Pumpgeschwindigkeit	0,03-0,2 m/s
Probenentnahmerohr Länge	0,3 m; 0,6 m; 0,9 m
Probenentnahmerohr Eintauchtiefe	40 mm
Probenentnahmerohr Durchmesser	10 mm innen, 12 mm außen
Analysespalt	100 $\mu\text{m}$ , 200 $\mu\text{m}$ , 500 $\mu\text{m}$
Kamera	ul2250, Auflösung 1600x1200 Pixel
Kameralinse	mit 4-facher Vergrößerung auf 1,1 $\mu\text{m}/\text{Pixel}$

### 3.2.2 Software des BSA

Die Kamera ist über einem Computer mit der „Bubble Size Analyzer“ LabVIEW Software Anwendung verbunden, welche in der BASF SE entwickelt wurde. Sie wird für die automatische Aufnahme, Speicherung und Analyse von Blasenbildern verwendet. Auf Grund variierender Blasenanzahlkonzentrationen basieren die Blasengrößenverteilungen auf der Auswertung von 100-2000 Bildern und damit auf etwa 1000-35000 Blasen. Die online-Analysedauer schwankt dabei zwischen ein und fünf Minuten. Es kann notwendig sein die optimalen Software Einstellungen für jedes Bildersetz zu suchen, wenn z.B. hohe Blasenanzahlkonzentrationen zu

einer Verdunklung der Bilder führt und eine Anpassung der Grauwerte notwendig ist. Durch die offline Funktion der BSA Software kann dies auch im Nachhinein erfolgen, sodass nicht während der Messung bereits das Optimum gefunden und eingestellt sein muss.

Die BSA Größenverteilungen basieren auf dem Waddell Kreisdurchmesser, dem äquivalenten Kreisdurchmesser der Projektionsfläche der Partikel/Blasen, da die Kugelform die energetisch optimale Form für Mikroblasen ist und diese eine Zirkularität nahe 1 (perfekte Kugel) aufweisen. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass, kleinere Blasen weniger Pixel im Bild belegen, wodurch die Abweichung zwischen realem Durchmesser und Waddell Kreisdurchmesser geringfügig zunimmt (Moruzzi und Reali 2010). Die Bildanalyse erfolgt anhand der Software Einstellungen und Algorithmen, die in Tabelle 3.4 beschrieben sind. Die Software analysiert die Bilder mit zwei Blasenerkennungsalgorithmen. Der „Hough Kreis-Transformations-Algorithmus“ (HKT) ermöglicht die Erkennung und Separation sich überlappender Blasen. Um dessen Schwächen bei der Erkennung einzelner Blasen auszugleichen, wird ein „Einzelblase Algorithmus“ (EA) eingesetzt. Eine Doppelzählung wird durch einen Filter vermieden, der alle vom HKT gefundenen Blasen vom binarisierten Bild abzieht, bevor der EA die Daten verarbeitet. Das Edge-Gradient Kriterium erlaubt die Berücksichtigung von Blasen, gefunden mit HKT oder EA, in der Größenverteilung nur, wenn diese in der Fokusebene der Kamera liegen und somit auf dem Bild scharf erscheinen. Als Analyseergebnis wird die Anzahl-  $q_0$  und Volumenhäufigkeitsverteilung  $q_3$ , die Summenanzahl-  $Q_0$  und Summenvolumenverteilung  $Q_3$ , der Sauter-Durchmesser  $D_{3,2}$  sowie der Median  $D_{50,0}$  und die Verteilungsbreite mit  $D_{10,0}$  und  $D_{90,0}$  ausgegeben.



Tabelle 3.4: „Bubble Size Analyzer“ Software Detailinformationen und Beschreibungen (Gulden et al. 2018c).

BSA Software	Detail
Intervall Definition	Minimale und maximale Blasengröße, Anzahl der Intervallschritte und lineare Intervall Einteilung
Hintergrund- bild	Eine Aufnahme des blasenfreien, mit Flotationsmedium gefüllten Messspalts wird als Hintergrundbild vom Messbild abgezogen, wodurch darin eine gleichmäßige Ausleuchtung gewährleistet wird.
Grenzgrauwer- t Binarisierung (GGB)	Bei der Binarisierung wird der Grauwert jedes Pixels (GP) mit dem Grenzgrauwert (GGB) verglichen und das Bild in schwarz ( $GP < GGB$ ) und weiß ( $GP > GGB$ ) differenziert. Der GGB muss angepasst werden, wenn hohe Bildbelegung zu Verdunklung bzw. geringe Belegung zu Überlichtung führt.
Grauwert Hintergrund (GH)	Der Grauwert des Hintergrundes (GH), also von hellen Bildbereichen ohne Partikel/Blasen. Der GH muss ebenfalls angepasst werden, wenn hohe Bildbelegung zu Verdunklung bzw. geringe Belichtung zu Überlichtung führt.
Partikel- verwerfen	Kleinste Partikeln von 2x2 Pixeln werden nicht in der Größenverteilung berücksichtigt, da sie häufig nur ein Hintergrundrauschen darstellen.
Randgradient Interpolation	Die geringe Tiefenschärfe der Kamera sorgt für die Präsenz unscharfer Partikeln/Blasen, wenn diese nicht in der Fokusebene liegen. Unschärfe ist definiert, als ein geringer Grauwert-Gradient am Partikel/Blasenrand. Die verwendete Interpolation ist ein angepasster Algorithmus von National Instruments (National Instrument 2016).
Canny Edge Filter (Edge)	Algorithmus, der Blasenränder erkennt. Er basiert auf GGB, GH und Randgradient Interpolation. Damit Partikeln/Blasen in der Größenverteilung berücksichtigt werden, müssen sie einen Mindest-Gradienten aufweisen. Dieser lag, wenn nicht anders angegeben, bei 45.
Kreisform (Circularity)	Formfaktor nachdem nur runde Blasen berücksichtigt werden. Ein perfekter Kreis hat eine Circularity von 1. Je größer der Wert ist, desto weniger rund ist der Partikel/die Blase. In der Software war Wert auf 1,03 gesetzt.
Lochauffüllen	Auf Grund der Krümmung von runden Blasen wird das Licht in den Randbereichen gebrochen und die Blase erscheint dort dunkel. Im Zentrum kann das Licht passieren. Deshalb weisen Blasen nach der Binarisierung einen weißen inneren Kreis auf. Dieser wird durch die Bedingung „Loch Auffüllen“ eingeschwärzt und der Kreisfläche für die Größenberechnung zugerechnet.
Hough Kreis- Transforma- tion (HKT)	Die Hough Kreis-Transformation erlaubt die Erkennung, Differenzierung und Berücksichtigung überlappender Blasen, basierend auf Canny Edge Filter und Circularity. Sie wurde adaptiert von OpenCV (OpenCV 2016).
Einzelblase Algorithmus (EA)	Der Einzelblase Algorithmus basiert ebenfalls auf Canny Edge Filter und Circularity, und berücksichtigt dabei ausschließlich einzelne Blasen. Falsche Software Einstellungen können zu Mehrfachzählung einzelner Blasen durch den EA führen, dies ist durch mehrere übereinanderliegende rote Kreise um einzelne Blasen im Analysebild gekennzeichnet. Der Fehler kann durch Optimierung der Software Einstellungen behoben werden.
Anti- Doppelzählung Filter	Um zu vermeiden, dass HKT und EA dieselben Blasen berücksichtigen und diese doppelt gezählt werden, werden alle durch die HKT bereits gezählten Blasen durch einen Filter vom Bild entfernt, bevor dieses durch den EA auf Einzelblasen abgesucht wird.

### 3.2.3 Kalibrierung des BSA

Für die Kalibrierung des BSA wurde ein Referenzpartikelset mit fünf monodispersen Partikelgrößen verwendet (BS Partikel GmbH, LS0500b20 Kalibrierungsstandard-Set mit 5 Partikelgrößen). Der zertifizierte Median der Silicapartikeln lag bei 4,88 µm, 9,7 µm, 19,55 µm, 40,3 µm and 75,5 µm. Bei der Lieferung lagen die Partikeln in den Konzentrationen von  $3 \times 10^5$  bis  $7 \times 10^6$  Partikel/mL vor. Je kleiner die Partikeln, desto höher war die Konzentration. Für die BSA Messungen wurden die Partikeln in Schottflaschen in 1 L Wasser (APW) verdünnt. Die Menge der dispergierten ursprünglichen Partikelsuspensionen wurde dabei variiert, um die Konzentrationsdifferenzen anzugleichen. Zusätzlich wurde eine Mischung angesetzt, in der die fünf monodispersen Suspensionen zu gleichen Volumenanteilen (je 200 mL) gemischt wurden. Der BSA wurde zentral über der Schottflasche positioniert und mit einem 0,3 m langen Probenrohr in die Partikellösung getaucht. Partikelsedimentation während der Messung wurde durch leichtes Rühren mittels Magnetrührer verhindert. Der Probenstrom wurde über einen Teflonschlauch am Flaschenboden rückgeführt. Die Probenströmungsgeschwindigkeit wurde auf 0,05 m/s gesetzt. Auf Grund geringer Partikelkonzentrationen wurden je Messung 2000 Bilder ausgewertet.

## 3.3 Modellstoffsystem für die Flotation

Die Eignung der Flotation zum Separieren von Hefezellen von einem Fermentationsmedium, wurde in der Literatur wiederholt beschrieben (Bahr und Schügerl 1992; Palmieri et al. 1996; deSousa et al. 2003; Husband Devon L. et al. 2009; Hanotu et al. 2014). Auf Grund der gut dokumentierten Flotierbarkeit von Hefe und der Beeinflussbarkeit dieser Flotierbarkeit durch verfahrenstechnische und physico-chemische Prozessoptimierung wurde Hefe als Modellorganismus zur Anlagencharakterisierung und Methodenentwicklung für diese Arbeit gewählt.

Erste Versuche erfolgten mit Hefe aus dem Filterrückstand der Bierproduktion der Brauerei Eichbaum in Mannheim. Aus zwei Gründen wurde jedoch im Folgenden nicht weiter mit der Bierhefe gearbeitet. Da nicht gewährleistet werden konnte, dass immer der gleiche Hefestamm bezogen wurde, war eine Vergleichbarkeit der Versuche mit verschiedenen Hefebatches nicht gegeben. Auch das variierende Alter der Hefe aus einem Batch, wenn dieser über mehrere Versuche hinweg genutzt wurde, beeinflusste die Ergebnisse, da die Zellhydrophobizität, Flockungsneigung und Flotierbarkeit schwankten.

Die Hydrophobizität von Mikroorganismen ist abhängig von der Wachstumsphase (Neufeld et al. 1980; Nayyar et al. 2014), dem Fermentationsmedien (Fisher 1975) und den Fermentationsbedingungen (Bahr und Schügerl 1992). Um gleichbleibende

Versuchsbedingungen zu ermöglichen, wurden alle Experimente in dieser Arbeit mit Trockenhefe nach standardisierter Zellaktivierung durchgeführt. Der bezogene Hefestamm CH 158 wurde gewählt, da er sich durch kurze Aktivierungszeit auszeichnet. Deshalb basieren die in dieser Arbeit publizierten Ergebnisse auf experimentellen Arbeiten mit dem Hefemodellmikroorganismus der Gattung *S. cerevisiae*. Die Hefe (CH 158, SIHA® Aktivhefe 4, Begerow E. GmbH & Co, Deutschland) wurde als sprühgetrocknetes Granulat bezogen.

### 3.3.1 Fermentative Zellaktivierung in Yeast-Malt-Broth

Das Ziel der Aktivierung war mit geringem Zeitaufwand ausreichende Mengen an Hefesuspension mit aktiven Zellen bereitzustellen und reproduzierbare Oberflächeneigenschaften zu gewährleisten. Eine Zellreproduktion war nicht relevant.

Deshalb wurde die fermentative Zellaktivierung wie nachfolgend beschrieben umgesetzt. Als komplexes Fermentationsmedium wurde Yeast-Malt-Broth (YMB, Y3752, Sigma-Aldrich, USA) verwendet, dessen Zusammensetzung in Tabelle 3.5 angegeben ist.

Tabelle 3.5: Komponenten Zusammensetzung der Yeast-Malt-Broth (YMB) in Lösung (Sigma-Aldrich 2013)

Komponente	Gewichtskonzentration
Peptide aus zersetztem tierischem Gewebe	5 g/L
Hefeextrakt	3 g/L
Malzextrakt	3 g/L
Dextrose	10 g/L

Zunächst wurden 126 g YMB-Pulver in 1 L vollentsalztem (VE) Wasser aufgelöst. In diesem Konzentrat wurden 60 g Trockenhefe unter 5 min Rühren aufgelöst. Die Mischung wurde für 2 h im Inkubator bei 30°C und 120 rpm aktiviert. Anschließend wurde das Konzentrat mit VE-Wasser auf das benötigte Flotations-Batchvolumen von 6 L verdünnt. In vielen Versuchen wurde die aktivierte Hefe-YMB-Suspension direkt verwendet. Dabei lag die Temperatur der Suspension bei 23-25°C und der pH-Wert der Suspension bei 4,8-5. Die Hefekonzentration nach der Zellaktivierung variierte zwischen 10 und 10,5 g Biotrockenmasse pro Liter Suspension. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) (Engelhardt 1986) des Fermentationsmediums ergab, dass der Zucker während der Inkubation vollständig umgesetzt wurde und das Medium anschließend 4,6 g/L Ethanol enthielt.

### 3.3.2 Hefe in isotonischer Natriumchloridlösung

Um den Einfluss der Beschaffenheit des wässrigen Mediums auf die Oberflächeneigenschaften der Hefe und ihre Flotierbarkeit analysieren zu können, wurde das Hefe-YMB-Konzentrat nach der Zellaktivierung abzentrifugiert und in 1 L isotonischer Natriumchloridlösung resuspendiert. Dieses Abzentrifugieren und Resuspendieren erfolgte insgesamt dreimal, um im Hefepellet

verbleibende komplexe Medienbestandteile herauszuwaschen. Die letzte Resuspendierung erfolgte in 6 L, wodurch die Hefekonzentration zwischen 10 und 10,5 g Biotrockenmasse pro Liter isotonischer Natriumchloridlösung lag. Die Temperatur der Suspension lag bei 23-25°C und der natürliche pH-Wert der Suspension bei 4,8-5.

### **3.3.3 Geflockte Hefe in Yeast-Malt-Broth**

In dieser Arbeit wurde Chitosan zur Flockung eingesetzt, da es in der Literatur als effektives Flockungsmittel für Hefe dokumentiert ist (Bahr und Schügerl 1992; Hanotu et al. 2014). Niedrig molekulgewichtiges Chitosan (448869, Sigma-Aldrich, USA) ist deacetyliertes Chitin, Poly-D-Glucosamin, welches aus Krabbenschalen gewonnen wird. Es ist ein gelbliches Pulver, das in verdünnten Säuren aufgelöst werden kann, z.B. in Zitronen-, Essig- und Salzsäure. Flockung wurde mit allen drei Chitosan-Säure-Lösungen getestet und als vergleichbar gut befunden. Im Weiteren wurde mit einer Konzentration von einem Gewichtsprozent (Gew.-%) Chitosan gearbeitet. Da sich das Chitosan in 0,1 M HCl am besten auflösen ließ, wurde diese Säure in allen Experimenten für die Chitosanlösung eingesetzt.

Die Flockung der 6 L Hefefermentationsbrühe erfolgte in einem 10 L Eimer mit einem 50 mm Triangel Magnetrührfisch. Nach der Dosierung von 0, 20, 40 und 60 ppm Chitosan zur Fermentationsbrühe, wurde diese für 10 min bei 800 rpm auf dem Magnetrührer durchmischt und anschließend in die Flotationszelle gegeben. Die Temperatur der Brühe lag bei Raumtemperatur.

## **3.4 Partikelanalysemethoden**

### **3.4.1 Partikelkonzentration**

Die Partikelkonzentration wurde anfangs sowohl photometrisch mittels optischer Dichte als auch gravimetrisch mittels Biotrockenmasse bestimmt. Da die Werte zuverlässig korrelierten und für die photometrische Analyse weniger Probenvolumen und Analysezeit nötig sind, wurde sie als Hauptmethode zum Bestimmen der Partikelkonzentration in den weiteren Versuchen angewandt.

#### **3.4.1.1 Thermogravimetrische Biotrockenmasse Bestimmung**

Die thermogravimetrische Biotrockenmasse-Bestimmung ist eine kombinierte Wäge-Trocknungs-Methode. Für die Biotrockenmassebestimmung in dieser Arbeit wurde eine Halogen Trockenwaage (HE73 Halogen Moisture Analyzer, Mettler Toledo) verwendet.

Die Waage wurde zunächst mit einem Aluschälchen und darauf liegendem Filterpapier tariert. Anschließend wurde ein definiertes Probenvolumen von 2 mL darauf verteilt. Die von der Halogenlampe ausgestrahlte Wärme sorgte, bis zum Erreichen einer Massenkonstanz, für Verdampfung der flüchtigen Probenbestandteile. Somit endete die Trocknung beim Erreichen eines Gleichgewichtszustandes, wenn der Dampfdruck des feuchten Stoffes dem Dampfdruck der Umgebung entsprach. Die Massenänderung wurde als abgegebene Feuchtigkeit und das finale Gewicht als Biotrockenmasse interpretiert.

### 3.4.1.2 Photometer

Die Konzentration von Mikroorganismen wurde photometrisch mithilfe eines BioPhotometers D30 (Eppendorf AG, Deutschland) ermittelt. Das Photometer wird zu den UV-/VIS-Spektroskopie Methoden gezählt. Die Funktionsweise eines Photometers ist Extinktion. Sie basiert darauf, dass in einer durchsichtigen Probe der Länge  $L_{pr}$  (hier  $L_{pr} = 10$  mm) ein Lichtstrahl der Intensität  $I_0$  geleitet und auf der gegenüberliegenden Seite von einem Detektor die verbleibende Intensität  $E_{pr}$  gemessen wird.  $E_{pr}$  bezeichnet somit nach dem Lambert-Beerschen Gesetz die Extinktion und ist ein Maß für die Lichtdurchlässigkeit einer Probe,  $c_{PM}$  steht für die Probenkonzentration in der Messküvette und  $\varepsilon_{PM}$  für den molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten. Die Extinktion  $E_{pr}$  ist nur in niedriger Mikroorganismenkonzentration linear abhängig von der Probenkonzentration  $C_{pr}$ . Deshalb ist es notwendig, diesen linearen Bereich mittels einer Konzentrationsgeraden zu ermitteln.

$$E_{pr} = \varepsilon_{pr} C_{pr} L_{pr} \quad 3.2$$

Bei Suspensionen mit hohen Konzentrationen  $C_{pr,0}$  ist eine vorhergehende Probenverdünnung  $\varphi_{pr}$  notwendig, da die Extinktion nur bei geringen Konzentrationen linear mit der Partikelkonzentration zunimmt. Die im Photometer ermittelte Konzentration der verdünnten Probe  $C_{pr}$  wird anschließend durch die Verdünnung dividiert und ergibt somit die Konzentration der ursprünglichen Probe.

$$C_{pr,0} = C_{pr} / \varphi_{pr} \quad 3.3$$

Für die Kalibriergerade wurde die Biotrockenmasse mittels Halogen-Trockner (Mettler Toledo) bestimmt.

Im Flotationsexperiment wurde durch kontinuierliche Begasung und Flotation die Konzentration des Modellmikroorganismus Hefe (s. Abschnitt 3.1) in der Fermentationsbrühe über die Zeit reduziert. Diese Konzentrationsabnahme über die Zeit wurde photometrisch bei der Wellenlänge von 600  $\mu\text{m}$  (Optische Dichte  $OD_{600}$ ) analysiert. Proben wurden alle 1-5 min genommen. Die Ausbeute der Flotation  $R_f(t)$  zum Probenentnahmezeitpunkt  $t$  ergibt sich aus der Startkonzentration  $C(t_0)$  zum Zeitpunkt  $t_0$  in der Fermentationsbrühe und der verbliebenen

Konzentration  $C(t)$ . Die Flotation wurde gestoppt, wenn mindestens 98 % Ausbeute  $R_f$  (Recovery) erreicht waren.

$$R_f(t) = 1 - \frac{C(t)}{C(t_0)} \quad 3.4$$

Die exponentielle Abnahme der Mikroorganismenkonzentration lässt sich mit Gleichung **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** durch eine Exponentialfunktion erster Ordnung mit der Flotationsratenkonstante  $k$  beschreiben. Die Flotationsratenkonstante wird durch lineare Regression nach Gleichung **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** ermittelt.

$$C(t) = C(t_0) e^{-kt} \quad 3.5$$

$$\ln [C(t)] = -kt + \ln[C(t_0)] \quad 3.6$$

## 3.4.2 Partikelgröße

### 3.4.2.1 Mastersizer 2000

Die Partikelgröße der Mikroorganismen wurde mittels Master Sizer 2000 (Malvern Instruments, UK) analysiert, dessen Messprinzip auf der Laserbeugung beruht. Trifft der Laserstrahl beim Durchtritt des Messspaltes auf einen Mikroorganismus, so wird er teilweise gebeugt. Dies wird von einem, der Laserquelle gegenüberliegenden, Detektionssensor erfasst. Das Detektionslimit des verwendeten Sensors lag zwischen 20 nm und 2 mm. Um eine Messung in der Mikroorganismensuspension zu ermöglichen, musste diese 1:100 verdünnt eingesetzt werden. Die Verdünnung erfolgte, entsprechend der Ursprungslösung, mit YMB oder NaCl. Als Messergebnis gibt der Master Sizer die Volumenhäufigkeitsverteilung aus. Das Partikelvolumen wird dabei, die Partikelform als Kugel idealisierend, als Waddell Kreisdurchmesser angegeben. Der Waddell Kreisdurchmesser ist der Durchmesser eines flächengleichen Kreises, dessen Projektionsfläche der des analysierten Partikels entspricht. Aus der Partikelgrößenverteilung wurde anschließend der Partikel-Sauter-Durchmesser  $P_{3,2}$  errechnet. Er ist die mittlere Partikelgröße, die das gleiche Verhältnis aus Partikeloberfläche zu Partikelvolumen, wie das Partikelkollektiv aufweist. Die Reproduzierbarkeit der Partikelgrößenmessung wurde gewährleistet, in dem jede Messung mind. 5-fach wiederholt wurde.

### 3.4.2.2 Particle size analyzer (PSA)

Der „Bubble Size Analyzer“ ist ebenfalls geeignet, um Partikelgrößen zu analysieren. Da die Kamera im Analyseaufbau eine Auflösung von 1,1  $\mu\text{m}/\text{Pixel}$  hat und über die Auswertesoftware vorgegeben ist, dass nur Partikeln von mindestens 2x2 Pixeln berücksichtigt werden, ist der

kleinste analysierbare Partikelquerschnitt  $4,84 \mu\text{m}^2$  und somit der minimale äquivalente Durchmesser  $2,48 \mu\text{m}$ . Eine Definition der Randschärfe, wie sie für die Blasengröße möglich ist, ist für die Partikelränder, insbesondere bei Partikeln mit Durchmessern  $< 10 \mu\text{m}$ , jedoch nicht umzusetzen. Dadurch ist die Gefahr einer Unterschätzung im unteren und somit eine Überbewertung im oberen Bereich der Partikelgrößenverteilung groß und sollte bei der Datenauswertung berücksichtigt werden. Dennoch kann der Einsatz des PSA zur Analyse geflockter Mikroorganismenbrühen interessante Informationen bringen, da er nicht nur Informationen zur Flockengröße, sondern auch zur Flockenform liefert.

### 3.4.3 Partikelhydrophobizität

Die Hydrophobizität eines Mikroorganismus steht in direktem Zusammenhang mit der freien Energie, bzw. der Grenzflächenspannung zwischen dem Organismus und dem Umgebendem Medium. Deshalb soll im Folgenden auf mögliche Methoden zur Hydrophobizitätsanalyse von Mikroorganismen eingegangen und die in dieser Arbeit verwendete „Microbial Adhesion to Hydrocarbons“ (MATH) Methode genauer beschrieben werden.

Als Methoden zur Hydrophobizitätsmessung von Mikroorganismen werden in der Literatur Kontaktwinkelmessungen oder Analysen der Mikroorganismenaffinität zu hydrophoben Lösemitteln genannt.

Van der Mei et al. geben eine übersichtliche Zusammenfassung für Hydrophobizitätsmessungen anhand der Kontaktwinkelmethode (van der Mei et al. 1998). Da die Kontaktwinkelanalyse auf Grund von Größenlimitierung nicht an einzelnen Mikroorganismen durchgeführt werden kann, wird ein Mikroorganismenfilm auf einem Membranfilter erzeugt und der Kontaktwinkel zum Film analysiert. Der Mikroorganismenfilm sollte dabei möglichst homogen und glatt sein, da die Oberflächenrauheit das Messergebnis verfälschen kann. Zusätzlich spielt die Restfeuchte des Mikroorganismenfilmes eine Rolle. Da die Mikroorganismen die Wechselwirkungen im hydratisierten Zustand eingehen, kann ein zu trockener Film keine zuverlässigen Ergebnisse liefern. Verbleibende Feuchtigkeit kann das Ergebnis verfälschen, da nicht die hydrophobe Wechselwirkung zu den Mikroorganismen, sondern zur darüber befindlichen Flüssigkeitsschicht gemessen wird (Martienssen 2001).

Die häufigste Methode zur Analyse der Oberflächenhydrophobizität von Mikroorganismen ist der sogenannte „Microbial Adhesion to Hydrocarbons“ (MATH) Test. Sein Ergebnis, die relative Hydrophobizität  $H [\%]$ , ist ein Maß für die Affinität der Mikroorganismen, sich aus einer wässrigen Phase in einer hydrophoben organischen Phase anzureichern. In der Regel beschreibt das Ergebnis das Zusammenspiel aus Hydrophobizität und elektrostatischen Wechselwirkungen, welche zwischen Mikroorganismen und der hydrophoben organischen Phase wirken. Der Einfluss von elektrostatischen Wechselwirkungen auf das Messergebnis kann

jedoch reduziert werden, wenn durch die Zugabe von Ionen entweder die Zellen oder die Kohlenwasserstofftropfen eine neutrale Oberflächenladung aufweisen (Geertsema-Doornbusch et al. 1993). Die am häufigsten im MATH Test genutzten Kohlenwasserstoffe sind n-Hexan, n-Octan, p-Xylen and Toluol (Busscher et al. 1995).

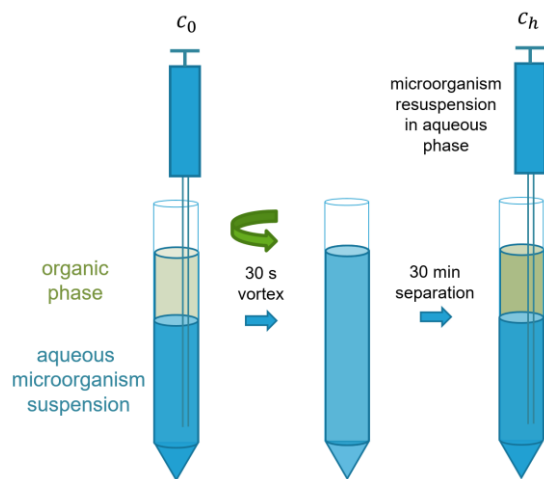


Abbildung 3.5: MATH Tests Versuchsskizze: Extraktion von Mikroorganismen aus 3 mL wässrigem Medium in 1 mL organischer Phase durch intensive Dispersion.

Die Durchführung des MATH Tests erfolgte nach der Versuchsskizze in Abbildung 3.5. In einem 15 mL Falcon wurden 3 mL wässrige Mikroorganismensuspension (*S. cerevisiae* in komplexem Yeast-Malt-Broth Fermentationsmedium oder isotonischer Natriumchloridlösung) mit 1 mL hydrophober organischer Phase (n-Hexan) mittels Vortex für 30 s dispergiert. In einer 30-minütigen Wartepause erfolgte eine Phasenseparation durch Sedimentation. Da es in der Zeit auch zu einer Bodensatzbildung durch Mikroorganismensedimentation kam, wurde der Bodensatz mittels 10-facher Betätigung einer 1 ml Pipette redispergiert. Anschließend wurde eine Probe aus der wässrigen Mikroorganismensuspension entnommen. Die Mikroorganismenkonzentration in der wässrigen Phase, zu Beginn  $c_0$  und nach der hydrophoben Extraktion  $c_h$ , wurden photometrisch als optische Dichte  $OD_{600}$  bestimmt. Die relative Hydrophobizität  $H$  [%] wurde, Gleichung 3.7 entsprechend, basierend auf den Konzentrationen  $c_0$  und  $c_h$  berechnet.

$$H [\%] = 1 - \frac{c_h}{c_0} \quad 3.7$$

Die Reproduzierbarkeit wurde gewährleistet, indem der MATH-Test für jeden Messwert in Dreifachbestimmung erfolgte. Jede Probe wurde zudem dreifach photometrisch analysiert.



### 3.5 Rasterkraftmikroskopie für die Mikroorganismus-Blase Interaktion

Hydrophobe Mikroorganismen-Oberflächen haben eine Affinität zu hydrophoben Blasenoberflächen, wodurch die Adsorption des Mikroorganismus an die Blase ermöglicht wird. Flotation wird jedoch nicht nur durch die Hydrophobizität von Mikroorganismus und Blase beeinflusst, sondern auch durch Eigenschaften wie die Viskosität und Dichte des Flotationsmediums und weitere Mikroorganismus-Blase-Interaktionskräfte: elektrostatische, Dipol-Dipol und sterischen Wechselwirkung (Stumm et al. 1992). Strömungen können die Annäherung, die für den Mikroorganismus-Blase Kontakt notwendig ist, ebenso verhindern wie die DLVO- Interaktionskräfte (Derjaguin 1934; Verwey et al. 1948; Overbeek 1984; Derjaguin und Landau 1993). Die Quantifizierung der direkten Interaktionskräfte zwischen Mikroorganismus und Blase ist essentiell um deren Anhaftung verstehen und verbessern zu können. Aus diesem Grunde wurde im Rahmen dieser Arbeit, in Kooperation mit dem Institut für Mechanische Verfahrenstechnik und Aufbereitungstechnik der Technischen Universität Bergakademie Freiberg eine spezielle Rasterkraftmikroskopie Methode entwickelt. Die Methode nutzt die „Colloidal Probe“-Technik, um die direkte Mikroorganismus-Blase Interaktion messen zu können (Ditscherlein et al. 2018).

Die Rasterkraftmikroskopie ermöglicht mit der „Colloidal Probe“-Technik direkte Messungen der Partikel-Blase-Wechselwirkungen. Dabei wird ein Partikel an den Cantilever eines Mikroskops fixiert („Colloidal Probe“) und seine Interaktion mit einem anderen Partikel oder einer Oberfläche mit dem Rasterkraftmikroskop analysiert. Die „Colloidal Probe“-Technik wurde erstmals 1991 vorgestellt. Butt klebte Glasskugeln, und Ducker et al. Silicakugeln auf Cantilever (Butt 1991; Ducker et al. 1991). Die Technik birgt folgende Vorteile: mit glatten, runden Partikeln mit definiertem Radius kann die Kraft quantitativ ausgewertet werden; die „Colloidal Probe“-Messung ist sensitiver und die absolute Interaktionskraft ist größer als wenn die beiden Partikel/Oberflächen separat untersucht würden; es ist möglich, eine Vielzahl physico-chemisch unterschiedlicher Partikeln auf dem Cantilever zu fixieren und somit die „Colloidal Probe“ zu variieren; hydrophobe Interaktionsmessungen sind auch möglich (Butt et al. 2005). Erste „Colloidal Probe“-Messungen gaben einen Einblick in die zwischen den Grenzflächen wirkenden Kräfte wie van der Waals, elektrostatische und hydrophobische Kräfte zwischen dem am Cantilever fixierten Partikel und einer Oberfläche oder einem zweiten Partikel (Butt 1994; Ducker et al. 1994; Fielden et al. 1996). 2009 fixierten Varkarelski et. al Blasen am Cantilever und nutzen diesen erfolgreich für Messungen (Varkarelski et al. 2008). Seitdem wurde die „Colloidal Probe“ divers genutzt und weiterentwickelt und mit ihr befassen sich mehrere Reviewartikel (Johnson et al. 2006; Tabor et al. 2012; Wang et al. 2015; Xing et al. 2017).

Für die Mikroorganismus-Blase Interaktionsmessungen in dieser Arbeit wurde ein Rasterkraftmikroskop (MFP-3D, Asylum Research, Oxford Instruments, Großbritannien) kombiniert mit einem Inversen Lichtmikroskop (DSX510i, Olympus K.K., Japan) verwendet. Das MFP-3D ist mit einer Fluidzelle ausgestattet. Die Messungen fanden in einem auf bei 23 °C klimatisierten Labor statt. Der eingesetzte Cantilever ist ein All-In-One-Al-Tipless-Silicium-Cantilever mit Aluminium Coating (BudgetSensors® Innovative Solutions Bulgaria Ltd., Bulgarien). Er hat eine Resonanzfrequenz von 15 kHz und eine Federkonstante von 0,2 N/m. Um eine Luftblase an einem Cantilever immobilisieren und somit die „Colloidal Probe“-Methode nutzen zu können, ist eine Hydrophobierung mittels Silanlösung (Dynasylan® F8261, Evonik Industries AG, Deutschland) des Cantilevers nötig. Für die Mikroorganismen Immobilisierung in einem Monolayer wurde ein Objektträger mit Corning® Cell-Tak™ (Thomas Scientific Inc., USA) beschichtet (Ditscherlein et al. 2018).

Basierend auf den Mikroorganismus-Blase-Interaktions Kraftkurven können Debye-Länge  $\lambda_D$  in nm und die normalisierte Adhäsionskraft zwischen Microorganismus und Blase  $F_A/r_b$  in nN/ $\mu$ m berechnet werden. Elektrostatische Abstoßung zwischen den beiden gleich geladenen Oberflächen führt bei der Annäherung zunächst zu positiven Kräften. Liegt bei weiterer Annäherung eine Anziehung vor, so verursacht diese negative Kräfte, da sich der Cantilever zur Oberfläche hinbiegt, dieser Effekt wird als Snap-in bezeichnet. Die Debye-Länge wird aus einem linearen Fit an die exponentielle Kraftkurve erhalten. Sie ist definiert als der Abstand, bei dem das Oberflächenpotenzial  $\psi_0$  um die Eulersche Zahl  $e$  auf  $\psi = \psi_0/e$  gefallen ist (Butt 1994).

Abbildung 3.6 zeigt repräsentative einzelne Kraft-Abstandskurven zwischen Luftblase und Hefe in YMB bei verschiedenen pH-Werten. Da sowohl die Luftblase als auch die Hefe eine negative Oberflächenladung aufweisen, wurde eine elektrostatische Abstoßung bei der Annäherung beobachtet. Je steiler die Kraft-Abstandskurve verlief, desto niedriger war die resultierende Debye-Länge. Positiv geladene Wasserstoffionen, welche vermehrt mit sinkendem pH-Wert vorhanden waren, wirkten abschirmend auf die Abstoßung, weshalb die Abstoßung bei einem pH-Wert von 3 am niedrigsten ausfiel und die geringste Reichweite hatte. Deshalb lag bei einem pH-Wert von 3 die niedrigste Debye-Länge vor.

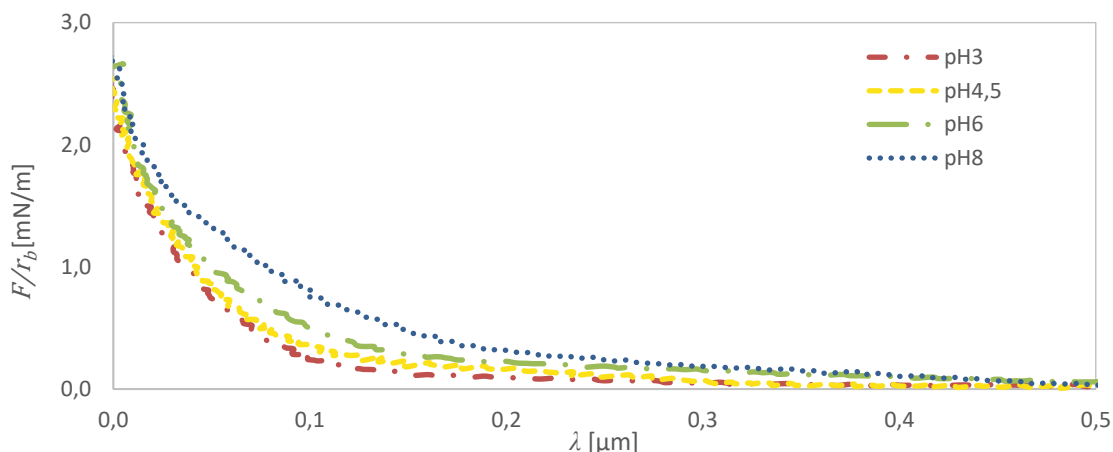


Abbildung 3.6: Kraft-Abstands-Kurven gemessen zwischen einem „Colloidal Probe“-Cantilever, mit anhaftender Luftblase des Radius  $r_b$ , und einem Mikroorganismen Monolayer. Die Kurven wurden in YMB-Medium bei pH-Werten von 3, 4,5, 6 und 8 aufgezeichnet und die resultierenden Kräfte mit dem Blasenradius  $r_b$  normiert.

Die Adhäsionskraft  $F_A/r_b$  beschreibt die Kraft, die notwendig ist, um eine Blase wieder von dem Mikroorganismenmonolayer zu lösen. Sie ist deshalb ein Parameter, der nicht aus der Annäherungs- sondern aus der Rückzugskurve ermittelt wird.

## 3.6 Strömungsanalyse

### 3.6.1 Computational Fluid Dynamics (CFD) Simulation

Die CFD Simulationen erfolgten in Ansys Fluent. Basierend auf der Geometrie der Flotationszelle, sowie des Querschnitts, des Volumenstroms und der Gasfracht des Zulaufs wurde die Strömung in der Flotationszelle simuliert. In einem weiteren Schritt wurde auch die Auswirkung der Entspannungsventilgeometrie auf das Strömungsbild im Zulaufrohr untersucht.

Die Geometrie der Flotationszelle (s. hierzu Abbildung 3.7) wurde in einem Gitter (Hex Mesh) von 1,76 Mio. Zellen aufgelöst (s. Abbildung 3.7). Das Gitter wurde an den Grenzflächen, um den Zu- und Ablauf und für Strahlzerfall verfeinert.

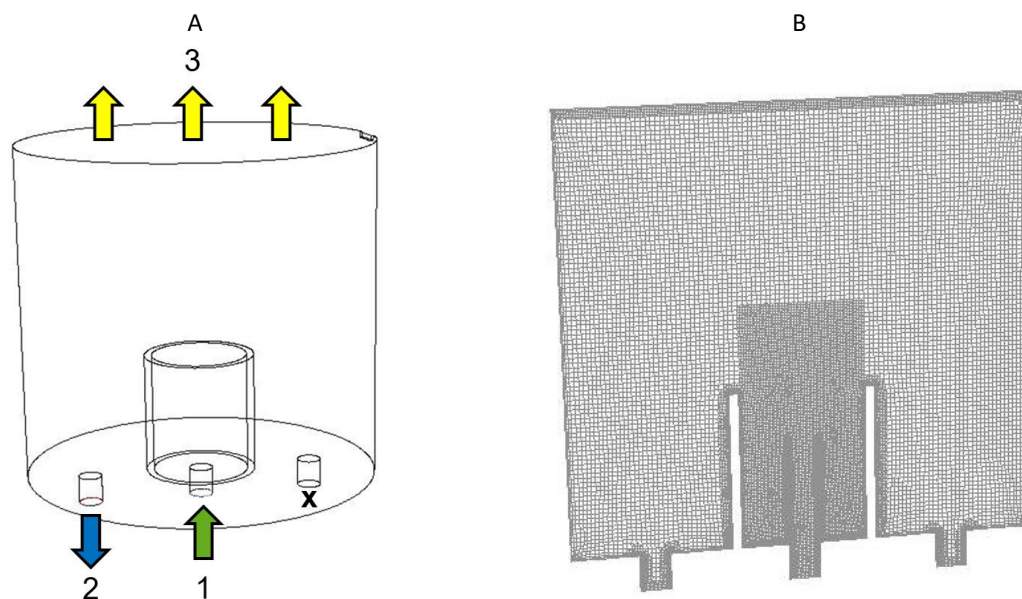


Abbildung 3.7: A) Geometrie der Flotationszelle mit den definierten Randbedingungen: 1) zentraler, gastragender Recyclevolumenstrom Zulauf 2) seitlicher Recyclevolumenstrom Abzug und 3) für Gas, jedoch nicht für Flüssigkeiten passierbare Oberfläche. B) Zentraler Beckenschnitt des Flotationszellen CFD-Gitters aus 1,76 Mio. Zellen, mit detaillierterer Auflösung an den Grenzflächen, Zu- und Abläufen (Hofinger 2014)

Gerechnet wurde mit einem Euler-Euler Zweiphasen-Strömungsmodell. Die Blasengröße wurde mit einem mittleren Blasen-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2}$  von 40  $\mu\text{m}$  berücksichtigt. Der Zulauf (s. 1 in Abbildung 3.7 - A) wurde als Massenstrom (Recycleflüssigkeit und Gas) vorgegeben. Der Bodenabzug (2) ist ein Massenstrom der Recycleflüssigkeit, der dem Zulauf entsprechend vorgegeben wurde. Die Oberfläche (3) ist für Gas frei passierbar definiert. Alle CFD-Berechnungen erfolgten transient.

Es wurden verschiedene Drag- (Schiller und Naumann 1935; Tomiyama et al. 1998), Universal- und Turbulenzmodelle (laminar, k-epsilon, RSM, SST, etc.) untersucht. Wie auf Grund der in geringem Ausmaß vorliegenden Turbulenzen zu erwarten war, wurden vergleichbare Ergebnisse erzielt. Deshalb wurde im Weiteren mit dem Tomiyama Drag-Modell und dem k-epsilon Turbulenzmodell gearbeitet. Der relativ stabile, zentrale Zulaufstrom und die Bildung eines Blasenschwarms in der Rezirkulationszone wurden sowohl in der CFD-Simulation, als auch im Laborexperiment beobachtet. Da die Höhe des Blasenschwarms, bedingt durch Strömungsprofile und –Geschwindigkeiten im System, signifikant von den operativen Prozessparametern beeinflusst wird, ist sie eine gute Option, um CFD-Simulation und Experiment zu vergleichen.

### 3.6.2 Experimentelle Verweilzeitanalyse in der Flotationszelle

Die Versuchsbedingungen der Verweilzeitanalyse in der Flotationszelle waren folgende. Im Becken wurden 5 L vollentsalztes Wasser (VEW) mit einer Füllhöhe von ca. 160 mm vorgelegt.

Als Zulaufvolumenstrom wurden 100 L/h frisches VEW aus einem Vorlagetank, in einen Druckbehälter (Aquatector) gepumpt. Dort wurde er mit 2,8 NL/h Luft bei 2,5 bar(g) aufgesättigt, was einer Sättigungseffizienz von 90,5 % entspricht. Bei der Entspannung auf Umgebungsdruck wurden die 2,8 NL/h Gas am Druckentspannungsventil (iFloat-Ventil) in Form von Mikrobblasen freigesetzt. Das Druckentspannungsventil lag zentral und 315 mm unterhalb des Flotationszellenbodens. Der Ablauf der 100 L/h erfolgte am rechten seitlichen Stutzen. Die Farbstoffdosierung von 5 ml Cochenillerot (Lebensmittelfarbstoff, E124, Caesar & Loretz GmbH, Deutschland) erfolgte, über eine Kanüle durch ein Septum mittig in das Zulaufrohr, auf einer Höhe von 92 mm unterhalb des Flotationszellenbodens. Die Verteilung und Verweilzeit der Farbe in der Flotationszelle wurde sowohl in einem Video dokumentiert als auch photometrisch analysiert.

## 3.7 Prozessanalytik

### 3.7.1 pH-Wert

Die pH-Wert Analyse erfolgte mit einer Hamilton Polilyte Laborelektrode (Hamilton Bonaduz AG), welche an ein Knick 766 Calimatic pH-Meter angeschlossen war. Mindestens einmal täglich erfolgte eine Zweipunkt-Kalibrierung der Elektrode mit einer Kalibrierlösung mit einem pH-Wert von 4 und 7. Die Messgenauigkeit der Elektrode wird vom Hersteller mit  $< \pm 0,01$  angegeben.

Anpassung des pH-Wertes der Medien erfolgte mit 50 Vol.-% Salzsäure (HCl) und 50 Vol.-% Natronlauge (NaOH).

### 3.7.2 Temperatur

Die Erfassung der Temperatur in der Flotationsanlage und während der Laborversuche erfolgte mit einem Pt100-Fühler (Ahlborn Mess- und Regelungstechnik GmbH) mit einer Messgenauigkeit von  $\pm 0,3$  °C im Einsatzbereich von -40 bis +400 °C. Bei der Temperaturmessung mit Pt100-Fühlern wird deren Widerstandserhöhung mit zunehmender Temperatur ausgenutzt. Der Messwiderstand wird mit einem konstanten Strom gespeist und der Spannungsabfall am Widerstand in Abhängigkeit von der Temperatur gemessen.

### 3.7.3 Füllstand

Sowohl in der Flotationszelle, als auch im Aquatector wurde der Füllstand manuell eingestellt und visuell durch angebrachte Messpunkte kontrolliert. In der Flotationszelle wurde der Pegel durch Nachfüllen von Flotationsbrühe über den Stutzen S2 im Deckel, durch Überlaufen am

Schaumauslass oder durch Ablassen über den rechten Bodenauslass (4 in Abbildung 3.2) gesteuert. Im Aquatector gab es nur im Betrieb mit koaleszenzierenden Medien (Wasser, gering konzentrierte Saline) einen sichtbaren Pegel am Übergang vom Gaspolster zum Flotationsmedium. In diesem Fall wurde der Pegel über die Gaszufuhr gesteuert. Die Gaszufuhr musste im Löslichkeitsgleichgewicht zum Recyclevolumenstrom stehen, da eine Überschreitung der maximalen thermodynamischen Gaslöslichkeit zu regelmäßigen Druckstößen und direktem Gasdurchtritt in die Flotationszelle führte. Bei unzureichender Dispersion lag die Gaslöslichkeit deutlich unterhalb der thermodynamisch maximalen Löslichkeit, weshalb die Gaszufuhr gedrosselt werden musste. Im Betrieb mit Koaleszenz hemmenden Medien (Fermentationsbrühe, konzentrierte Saline) lag die zugeführte Luft vollständig dispergiert vor. Deswegen konnten auch deutlich größere Gasvolumenströme in die Flotationszelle eingebracht werden als durch Druckentspannung allein möglich wäre, da eine Kombination aus IAF und DAF vorlag.

### 3.7.4 Oberflächenspannung

Die Oberflächenspannungen der Flotationsmedien wurden über das Tensiometer Tracker (Teclis Scientific, Frankreich) analysiert. Die Messmethode (Pendant Drop Methode) basiert auf der automatischen optischen Formerkennung eines hängenden Tropfens mit vorgegebenem Volumen (16 µl). Die Tropfenform wurde über eine angemessene Zeit aufgezeichnet und hyperbolisch nach unendlich extrapoliert. Die Tropfenkontur folgt aus dem Gleichgewicht zwischen Gravitation und Grenzflächenspannung. Voraussetzung für die Pendant Drop Methode ist ein viskoses Verhalten, das eine Tropfenbildung zulässt. Die Messung hier erfolgte gegen Luft. Sie ließe sich jedoch auch gegen eine andere Phase durchführen, wenn mindestens eine Phase durchsichtig ist und die Brechungsindizes ausreichend differenzierbar sind. Anhand der nach der Schwingrohrmethode gemessenen Dichte wurde die Oberflächenspannung nach Gleichung 3.8 berechnet.

$$\sigma = \frac{\Delta p r}{2} \quad 3.8$$

Der angegebene Fehler ist die Standardabweichung von drei Wiederholungen je Medium. Sowohl die Dichte- als auch die Oberflächenspannungswerte wurden bei 23°C Umgebungstemperatur gemessen.

Die Werte der Oberflächenspannung und Dichte wurden in den folgenden Medien analysiert: isotonische Natriumchlorid Saline (isot. NaCl), Yeast-Malt-Broth (YMB, Y3752, Sigma-Aldrich, USA), Yeast-Malt-Broth nach der Hefefermentation, abzentrifugiert (YMBF), Lysogenic-Broth (LB), Yeast-Peptone-Dextrose Medium (YPD, Y1375, Sigma-Aldrich, USA), 5 Vol.-% Ethanol in Wasser (5 % EtOH), Deionisiertes Wasser (DW), Phosphat gepufferte Saline (PBS), 1 Vol.-%

Cochenillertlösung Lebensmittelfarbstoff in Wasser (1% CNR, Cochenillerot, E124, Caesar & Loretz GmbH, Deutschland), reine Cochenillertlösung.

Sie sind in Tabelle 3.6 aufgeführt.

Tabelle 3.6: Dichte und Oberflächenspannung der analysierten Flotationsmedien.

Medium	Dichte kg/m <sup>3</sup>	Oberflächenspannung mN/m	Standardabweichung mN/m
isot. NaCl	1004,3	70,1	0,1
YMB	1006,2	59	0,2
YMBF	1002,3	55,7	0,2
LB	1011,6	53,8	0,4
YPD	1016,6	52,8	0,4
5 % EtOH	989,5	53,7	0,1
DW	998,4	68,5	0,1
PBS	1006,3	69,9	0,1
1 % CNR	998,6	69,9	0,1
100 % CNR	1018	64,4	0,2

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Flotationsgrundlagen

In den Grundlagen der Flotation wurde ein Wirtschaftlichkeitsvergleich der Flotation mit den etablierten Zellernteverfahren Zentrifugation und Querstromfiltration durchgeführt. Hier ist auch das Flotationsexperiment sowie seine Auswertung unter Standardbedingungen dargestellt. Bilder von Luftblasen, an deren Oberflächen Hefe und Hefeflocken anhaften, zeigen, dass es sich bei der Flotation von Hefe um direkte Flotation handelt. Des Weiteren werden Berechnungen der theoretischen Auftriebsgeschwindigkeit von Partikel-Blase-Komplexen und des theoretischen Gaseintrags bei der Druckentspannungsflotation präsentiert.

#### 4.1.1 Wirtschaftlichkeitsvergleich von Zentrifugation, Querstrom-Filtration und Flotation als DSP Schritt zur Zellernte<sup>2</sup>

Im folgenden Kapitel wird die wirtschaftliche Konkurrenzfähigkeit der Flotation (F) im Einsatz als alternatives Zellernteverfahren des biotechnologischen DSP untersucht. Dafür wird sie mit den etablierten Verfahren Zentrifugation (ZF) und Querstromfiltration (QF) verglichen. Die Ermittlung der Gesamtkosten der jeweiligen Trenntechnik erfolgte unterteilt in Investitions-, Instandhaltungs-, Energie- und Additivkosten.

Die Wirtschaftlichkeitsbetrachtung wurde am Beispiel einer organischen Säure durchgeführt, welche in einem Fermentationsprozess von Hefen gebildet wird und extrazellulär im Fermentationsmedium vorliegt. Die Jahresproduktion  $\dot{m}_{\text{Prod}}$  der aufbereiteten organischen Säure liegt bei von 100 kt/a. Ein Produktverlust von 5 % wird angenommen, da in allen Prozessen die separierte Biomasse noch ein Fermentationsmedium in Form von Restfeuchte enthält. Daraus folgt eine Ausbeute  $y_A$  in allen drei Separationstechniken von 95 %, sodass der Produktmassenstrom  $\dot{m}_{\text{Prod},0}$  in die Anlagen bei 105,27 kt/a liegen muss. Die Konzentration  $C_{\text{Prod}}$  der organischen Säure in der Fermentationsbrühe ist 100 g/L, sodass ein Fermentationsbrühen Volumen  $\dot{V}_{\text{fm}}$  von 140 m<sup>3</sup>/h in einer Jahresprozesszeit  $t_{\text{h/a}}$  von 8000 h/a zu verarbeiten ist. Die Konzentration  $C_m$  trockener Biomasse in der Fermentationsbrühe beträgt 10 g/L. Die Dichte der Fermentationsbrühe  $\rho_{\text{fm}}$  wurde vereinfacht mit 1000 kg/m<sup>3</sup> berücksichtigt.

---

<sup>2</sup> Die in diesem Kapitel präsentierten Ergebnisse wurden im Rahmen von (Gulden et al. 2018a) veröffentlicht. Die Daten und Abbildungen wurden mit Genehmigung von Elsevier in dieser Dissertation verwendet.



Für alle drei Techniken wurde ein Lang-Faktor  $f_L$  von 2,5 angenommen. Er beschreibt das Verhältnis zwischen Investitionskosten  $K_A$  für die zentralen Prozessbauteile und der Gesamtinvestitionskosten  $K_{INV}$  für die installierte Anlage. Der Abschreibungszeitraum  $t_{AS}$  der Gesamtinvestitionskosten  $K_{INV}$  der installierten Anlage wurde auf 10 Jahre festgelegt. Die Energiekosten  $K_{kWh}$  lagen bei 0,076 €/kWh (Stand 2018). Der gewichtsspezifische Additivpreis  $K_{ADD,kg}$  wurde mit 5 €/kg berücksichtigt, dies ist der Preis eines im Beispielprozess möglichen Additivs.

Tabelle 4.1: Spezifische Informationen zu den Prozesstechnologien für die Zellernte im DSP: Zentrifugation (ZF), Querstromfiltration (QF) und Flotation (F)

Symbol	Detail	Einheit	ZF	QF	F
$K_A$	Anlagenkosten	Mio.€/Anlage	2,1	2,8	1,0
$\alpha_{ISH}$	Instandhaltungssatz	%/a	5	5	3
$E_A$	Volumenspezifischer Leistungseintrag	kWh/m <sup>3</sup>	0,50	1,50	0,25
$\omega_{ADD}$	Additivanteil in der Fermentationsbrühe	ppm	50	0	75

Die folgenden anlagenspezifischen Parameter basieren auf BASF internen Erfahrungswerten.

Eine Zentrifugationsanlage, die in der Lage ist, ein Fermentationsvolumen  $\dot{V}_{fm}$  von 140 m<sup>3</sup>/h zu prozessieren, muss unter der Annahme, dass eine Untereinheit 50 m<sup>3</sup>/h aufbereiten kann, eine Anzahl  $N_{ZF,UE}$  von drei Untereinheiten (UE) aufweisen. Eine solche Untereinheit hat einen Investitionspreis  $K_{ZF,UE}$  von 0,7 Mio.€/UE. Dadurch ergeben sich mit Gleichung 4.1 Anlageninvestitionskosten für die ZF  $K_{ZF,A}$  von 2,1 Mio.€. Der volumenspezifische Energiebedarf einer solchen Zentrifuge  $E_{ZF,A}$  liegt bei 0,5 kWh/m<sup>3</sup> prozessierte Fermentationsbrühe, vorausgesetzt die Biomasse darin wurde vorher mit einer Additivkonzentration  $\omega_{ZF,Add}$  von 50 ppm (Gramm Additiv pro Tonne Fermentationsbrühe) geflockt und dadurch die Separation begünstigt. Diese Additivkonzentration entsprach im gegebenen Anwendungsfall einer Dosierung von 2,5 Kilogramm Additiv pro Tonne trockene Biomasse.

Der Berechnung der Querstromfiltrationsanlage wurde ein Preis  $K_{QF,m^2}$  von 4000 €/m<sup>2</sup> zugrunde gelegt. Die Größe der benötigten Membranfläche  $A_{QF}$  folgt aus der Division des Fermentationsvolumens  $\dot{V}_{fm}$  von 140 m<sup>3</sup>/h mit dem flächenbezogenen Volumenstrom  $J_{QF}$  von 0,2 m<sup>3</sup>/(m<sup>2</sup>h) und liegt bei 700 m<sup>2</sup>. Daraus folgen Anlageninvestitionskosten für die QF  $K_{QF,A}$  von 2,8 Mio.€. Der volumenspezifische Energiebedarf  $E_{QF,A}$  einer solchen Anlage liegt bei 1,5 kWh/m<sup>3</sup>.

Für die Flotationsanlage wurde angenommen, dass bei der Biomassekonzentration  $C_m$  von 10 g/L eine Flockung mit einer Additivkonzentration  $\omega_{F,Add}$  von 75 ppm und ein Verhältnis von Recyclevolumen zu Fermentationsvolumen von 200 % notwendig ist. Daraus folgte eine Verweilzeit der Fermentationsbrühe von 2 h in der Flotationszelle. Mit der Annahme, dass eine

einzelne Flotationszelle eine Klärfläche  $A_{F,UE}$  von  $40 \text{ m}^2$  und einen Preis  $K_{F,UE}$  von  $0,5 \text{ Mio.€}$  hat, wird für das vorgegebene Volumen  $\dot{V}_{fm}$  von  $140 \text{ m}^3/\text{h}$  mindestens eine Anzahl  $N_{F,UE}$  von zwei Untereinheiten benötigt. Somit ergeben sich mit Gleichung 4.1 Anlageninvestitionskosten für die Flotation  $K_{F,A}$  von  $1 \text{ Mio.€}$ . Der volumenspezifische Energiebedarf  $E_{F,A}$  dieser Flotationsanlage liegt bei  $0,25 \text{ kWh/m}^3$ .

Die jährlichen Ausgaben zur Anlageninstandhaltung folgen aus dem Instandhaltungssatz  $\alpha_{ISH}$  der jeweiligen Anlage. Auf Grund von Verschleiß durch schnell rotierende Bauteile, liegt der  $\alpha_{ZF,ISH}$  bei  $5 \%$ . Für die QF beträgt der  $\alpha_{QF,ISH}$  ebenfalls  $5 \%$ , da hier sogenanntes Fouling zum Verstopfen der Membran führt und deren regelmäßigen Ersatz notwendig macht. Die F gilt als wartungsarmer und robuster Prozess, weshalb hier der  $\alpha_{F,ISH}$  auf  $3 \%$  festgelegt wurde.

$$K_A = N_{UE} K_{UE} \quad 4.1$$

$$\dot{m}_{\text{Prod}} = \dot{V}_{\text{fm}} C_{\text{Prod}} t_{\text{h/a}} \quad 4.2$$

$$K_{\text{INV}}/\dot{m}_{\text{Prod}} = (K_A f_L)/(t_{\text{AS}} \dot{m}_{\text{Prod}}) \quad 4.3$$

$$K_{\text{ISH}}/\dot{m}_{\text{Prod}} = (K_A f_L \alpha_{\text{ISH}})/\dot{m}_{\text{Prod}} \quad 4.4$$

$$K_E/\dot{m}_{\text{Prod}} = (E_A \dot{V}_{\text{fm}} K_{\text{kWh}})/\dot{m}_{\text{Prod}} \quad 4.5$$

$$K_{\text{ADD}}/\dot{m}_{\text{Prod}} = (\omega_{\text{ADD}} \dot{V}_{\text{fm}} K_{\text{Add,kg}})/\dot{m}_{\text{Prod}} \quad 4.6$$

Eine Übersicht der produktspezifischen Separationskosten der drei betrachteten Aufbereitungstechnologien ist in Abbildung 4.1 gegeben und beruht auf Berechnungen anhand der Gleichungen 4.1 bis 4.6.

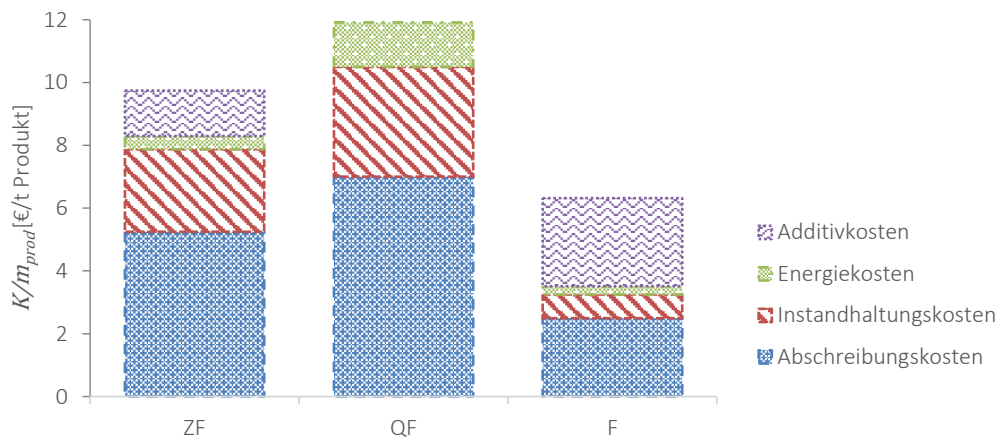


Abbildung 4.1: Prozesskosten der biotechnologischen Zellernte  $K/m_{\text{Prod}}$  am Beispiel einer organischen Säure, wenn die Separation durch Zentrifugation (ZF), Querstromfiltration (QF) oder Flotation (F) erfolgt. Die jeweiligen Gesamtkosten der Separationstechnik ergeben sich aus der Summe der produktspezifischen Kosten für Anlage, Instandhaltung, Energie- und Additivbedarf.

Für die oben beschriebenen Prozessvoraussetzungen liegen die produktspezifischen Anlagenkosten (s. Abbildung 4.1) der Zentrifugation 2,1-mal und der Querstromfiltration 2,8-mal höher, als die der Flotation. Dies ist darauf zurück zu führen, dass die Komplexität der

Flotationsanlage deutlich geringer ist und somit deren Konstruktion weniger Aufwand erfordert. Dies gilt noch ausgeprägter für die Instandhaltungskosten, da, wie bereits beschrieben, auf Grund von Abnutzung durch schnell rotierende Teile bei der ZF und durch Fouling und Membranverstopfung in der QF, in diesen Verfahren höherer Verschleiß einzukalkulieren ist. Die Energiekosten der Flotation betragen mit 0,27 €/t Produkt nur 63 % der Kosten der ZF beziehungsweise 19 % der QF. Nur die Kosten des Additivbedarfs für die Flotation lagen höher, da für die ZF nur 66 % und für die QF 0 % der Additivdosierung für die F nötig waren.

Die Flotation stellt sich im Ergebnis der Wirtschaftlichkeitsbetrachtung sowohl finanziell als auch energetisch nicht nur als konkurrenzfähige, sondern als interessantere Separationstechnik dar.

#### 4.1.2 Flotationsexperiment unter Standardbedingungen

Wie unter Kapitel 3.4.1.2 beschrieben, wurde im Flotationsexperiment die Konzentration des Modellmikroorganismus in der Fermentationsbrühe über die Versuchslaufzeit reduziert. Diese Konzentrationsabnahme wurde photometrisch analysiert. Die exponentielle Abnahme der Mikroorganismenkonzentration lässt sich mit einer Flotationsratenkonstante  $k$  beschreiben, welche durch lineare Regression ermittelt wird.

Die Recovery Verläufe und zugehörigen linearen Regressionsgeraden aus Dreifachversuchen unter Standardbedingungen mit Hefe in YMB bei dem pH-Wert von 5 sind in Abbildung 4.2 A gegeben. Die in der Abbildung 4.2 B eingetragenen Recovery Werte basieren auf der Konzentration zum Probenentnahmezeitpunkt und zum Start des Versuchs (siehe Gleichung 5.1). Durch lineare Regression lässt sich aus den Konzentrationen die Flotationsratenkonstante ermitteln. Die Daten weisen eine hohe Reproduzierbarkeit auf, da die mittlere Abweichung der mittleren Flotationsratenkonstante  $k_i = 0,120 \text{ min}^{-1}$  nur  $0,005 \text{ min}^{-1}$  betrug. Der mit der mittleren Flotationsratenkonstante modellierte Recovery Verlauf liegt nur in den ersten Minuten leicht über den real gemessenen Werten und modelliert ansonsten sehr gut die Messergebnisse.

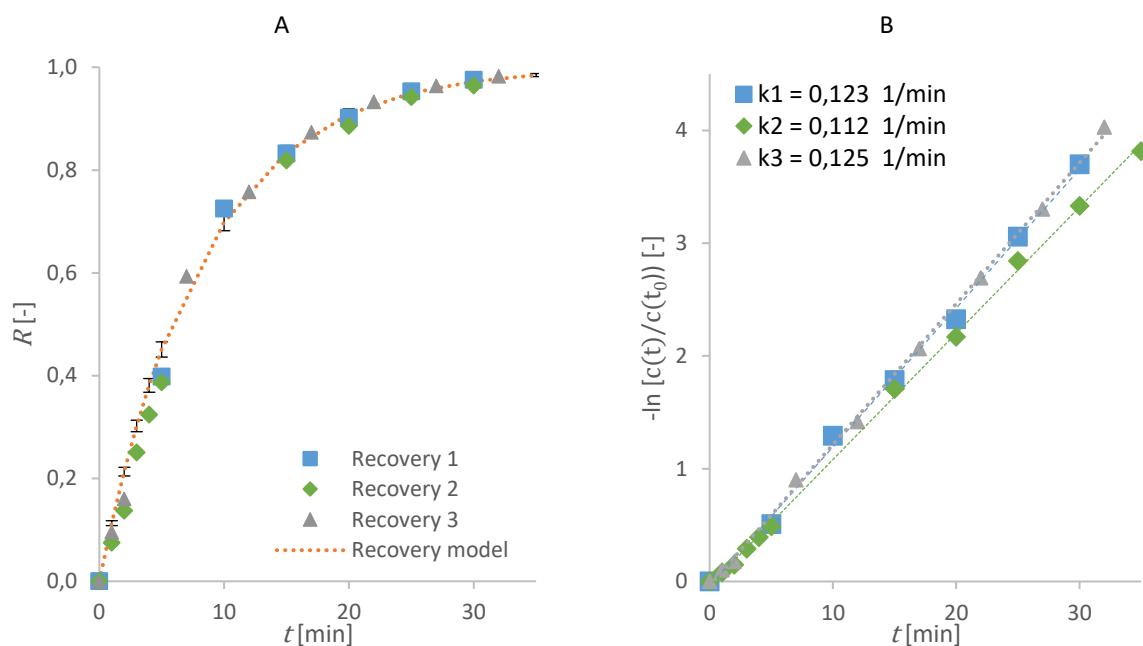


Abbildung 4.2: A) Flotation Recovery Verläufe von Hefe in YMB bei dem pH-Wert von 5 unter Standardbedingungen der Flotationsanlage, drei Wiederholungsmessungen. Der modellierte Recovery Verlauf basiert auf dem Mittelwert der Flotationsratenkonstanten aus A, die Fehlerabweichung entspricht der Abweichung zwischen den drei Versuchen. B) Lineare Regressionsgerade der Recovery Daten aus B, aus deren Steigung die Flotationsratenkonstanten folgen.

In allen durchgeführten Flotationsversuchen wird die mittels linearer Regression ermittelte Flotationsratenkonstante  $k$  genutzt, um Versuche miteinander vergleichen zu können.

### 4.1.3 Nachweis der direkten Flotation

Da Stoffe auch durch sogenanntes Entrainment indirekt flотиert werden können, galt es nachzuweisen, dass es sich bei der Aufkonzentrierung des Beispielorganismus *S. cerevisiae*, um direkte Flotation handelt. Dies wird anhand von Bildaufnahmen deutlich, die mit dem „Bubble Size Analyzer“ aufgenommen wurden und in Abbildung 4.3 dargestellt sind. Die Bilder sind bei einem pH-Wert von 2 in YMB aufgenommen worden. Die ausgewählten Blasen haben einen Durchmesser von 100 bis 200  $\mu\text{m}$ . Der mittlere Partikeldurchmesser der Hefe, analysiert bei Verdünnung von 1:100 im Mastersizer 2000, lag bei einem pH-Wert von 2 in YMB bei 13,4  $\mu\text{m}$ .

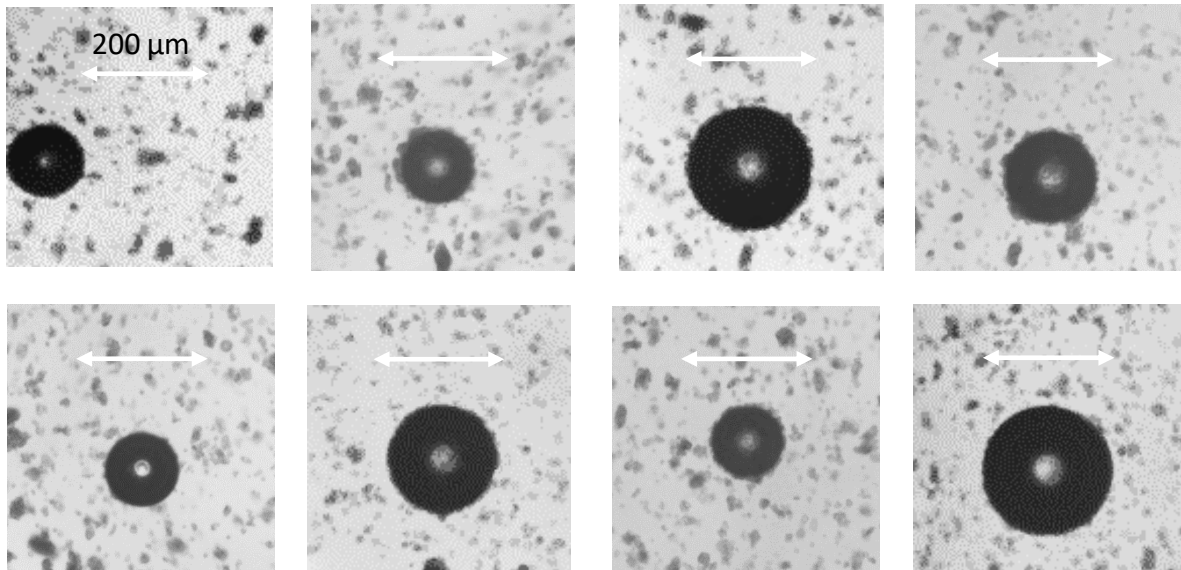


Abbildung 4.3: Luftblasen mit direkt angelagerter Hefe in YMB bei einem pH-Wert von 2. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von 200  $\mu\text{m}$ .

Auf den Bildern ist eine starke Anhäufung von Mikroorganismen direkt an der Blasenoberfläche deutlich erkennbar. Es ist keine erhöhte Konzentration im Strömungsschatten unterhalb der Blase zu beobachten. Dafür liegt eine Anhäufung und gleichmäßige Verteilung der Hefe rund um die Blase vor. Dies spricht dafür, dass die Hydrophobizität und damit Affinität der Hefe, sich an die Blaugrenzfläche anzulagern, ausreichend groß ist und es sich bei der Flotation von *S. cerevisiae* um direkte Flotation handelt.

#### 4.1.4 Theoretische Flotationsgeschwindigkeiten

Die theoretische Auftriebsgeschwindigkeit eines Mikroorganismen-Blasen-Komplexes kann mit dem Stokes Gesetz berechnet werden. Dafür müssen folgende Annahmen getroffen, bzw. Parameter variiert werden.

Mit der Annahme, dass die Mikroorganismen einen Durchmesser von  $D_m$  von 5  $\mu\text{m}$  aufweisen, folgt die maximale Belegung einer Gasblase mit vorgegebenem Durchmesser von  $D_b$  aus der verfügbaren Blasenoberfläche  $A_{OF,b}$  und der Projektionsfläche, bzw. dem Querschnitt der Mikroorganismen  $A_{PF,m}$ . Die aus der Gesamtmasse  $m_{\text{komplex}}$

$$m_{\text{komplex}} = N_{m,\text{max}} V_m \rho_m + V_b \rho_b \quad 4.1$$

und dem Gesamtvolumen des Komplexes  $V_{\text{komplex}}$

$$V_{\text{komplex}} = N_{m,\text{max}} V_m + V_b \quad 4.2$$

resultierende mittlere Dichte des Mikroorganismen-Blase-Komplexes  $\rho_{\text{komplex}}$

$$\rho_{\text{komplex}} = m_{\text{komplex}} / V_{\text{komplex}} \quad 4.3$$

bedingt die nach dem Stokes Gesetz berechnete Aufstiegsgeschwindigkeit  $v_{\text{komplex}}$

$$v_{\text{komplex}} = \frac{1}{18} \frac{r_{\text{komplex}}^2 g |\rho_{\text{komplex}} - \rho_{\text{fm}}|}{\nu_{\text{fm}}} \quad 4.4$$

Die Dichte des Fermentationsmediums  $\rho_{\text{fm}}$  wurde mit  $998 \text{ kg/m}^3$  und seine Viskosität  $\nu_{\text{fm}}$  mit  $890,45 \cdot 10^{-6} \text{ kg/(ms)}$  berücksichtigt. Die Dichte der Blase  $\rho_b$  entspricht der von Luft unter Standardbedingungen und lag bei  $1,184 \text{ kg/m}^3$ . Die Dichte der Mikroorganismen  $\rho_m$  wurde mit  $1100 \text{ kg/m}^3$  berücksichtigt. Wie in Tabelle 4.2 dargestellt, nimmt die maximale Blasenbelegung mit der Blasengröße proportional zur größeren Blasenoberfläche zu. Die resultierende mittlere Dichte des Mikroorganismen-Blase-Komplexes  $\rho_{\text{komplex}}$  ist jedoch bei der kleinsten Blase am größten, da das Verhältnis Blasenoberfläche/Blasenvolumen und damit der Einfluss der schwereren Mikroorganismen, welche die gesamte Blasenoberfläche belegen, am größten ist. Die Aufstiegsgeschwindigkeit der Komplexe  $v_{\text{komplex}}$ , steigt proportional zur zweiten Potenz der Komplexgröße.

Tabelle 4.2: Maximale Mikroorganismenbelegung auf einer Gasblase mit der Annahme eines Mikroorganismus Monolayers und die resultierende Aufstiegsgeschwindigkeit des Komplexes.

$D_b$	$\mu\text{m}$	40	50	100
$V_b$	$\mu\text{m}^3$	3,4E+04	6,5E+04	5,2E+05
$D_m$	$\mu\text{m}$	5	5	5
$A_{\text{OF},b}$	$\mu\text{m}^2$	5,0E+03	7,9E+03	3,1E+04
$A_{\text{PF},m}$	$\mu\text{m}^2$	20	20	20
$N_{\text{m,max}}$	-	256	400	1600
$\rho_{\text{komplex}}$	$\text{kg/m}^3$	387	331	191
$v_{\text{komplex}}$	$\text{mm/s}$	0,76	1,23	5,45

In Tabelle 4.3 sind variierende Aufstiegsgeschwindigkeiten von Mikroorganismen-Blase-Komplexen für den konstanten Blasendurchmesser von  $40 \mu\text{m}$  mit steigender Anzahl an Mikroorganismen berechnet. Je höher die Belegung der Blasenoberfläche mit Mikroorganismen ist, desto höher ist die resultierende mittlere Dichte des Mikroorganismen-Blase-Komplexes  $\rho_{\text{komplex}}$ . Da die Größe des Komplexes durch vermehrte Mikroorganismenanlagerung nur unwesentlich größer wird, sinkt die Aufstiegsgeschwindigkeit.

Tabelle 4.3: Auftriebsgeschwindigkeit eines Mikroorganismus-Blase-Komplexes mit einer 40 µm Blase, in Abhängigkeit der Anzahl adsorbierter Mikroorganismen

$N_m/b$	-	1	10	20	50	100	200	256
$\rho_{\text{komplex}}$	kg/m <sup>3</sup>	2	16	31	76	152	303	387
$v_{\text{komplex}}$	mm/s	1,23	1,22	1,20	1,14	1,05	0,86	0,76

Aus Berechnungen folgt, wie eine Flotationszelle konstruiert werden muss, sodass eine ausreichend große Ruhezone mit geringer Strömung vorliegt und somit ein Auftrieb der mit Mikroorganismen behafteten Luftblasen gewährleistet werden kann. Je kleiner die Luftblasen, desto größer ist bei gleichen Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$  der spezifische Grenzflächeneintrag  $S_b$ , was für den Prozess von Vorteil ist. Dafür sinkt jedoch die Auftriebsgeschwindigkeit der Blase  $v_b$  mit der Blasengröße  $D_b$  und je stärker die Blasenoberfläche mit Mikroorganismen belegt ist, desto niedriger die Auftriebsgeschwindigkeit des Mikroorganismus-Blase-Komplexes  $v_{\text{komplex}}$ . Dies kann sich nachteilig auf die Separation auswirken, wenn die Strömungen in der Flotationszelle einen Auftrieb der Komplexe verhindern und somit die Dichtentrennung gestört wird.

#### 4.1.5 Theoretischer Gaseintrag durch Druckentspannungsflotation

Die Auswahl der Druckentspannungsflotation als Begasungstechnik bringt den Vorteil, dass durch sie eine hohe Konzentration kleiner Blasen mit enger Blasengrößenverteilung generiert werden kann. Jedoch ist das Gasvolumen thermodynamisch durch die Löslichkeit von Gas in Flüssigkeit limitiert. Es hängt linear sowohl von der Temperatur, dem Druck als auch dem Recyclevolumen ab.

Die Berechnung des theoretischen Gaseintrags durch Druckentspannungsflotation erfolgte nach der, basierend auf experimentellen Daten von Battino, aufgestellten Formel,

$$\ln S = -46,031 + \frac{68,471}{\left(\frac{\tau}{100 K}\right)} + 19,316 \ln\left(\frac{\tau}{100 K}\right) - 0,020613 \left(\frac{p}{\text{MPa}}\right) + 1,1243 \ln\left(\frac{p}{\text{MPa}}\right) \quad 4.5$$

für die Luftlöslichkeit in Wasser (Battino et al. 1984). Damit lässt sich die Löslichkeit von Luft in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Druck berechnen. Wird von der jeweiligen Löslichkeit bei Sättigungsdruck und Prozesstemperatur, die Löslichkeit bei gleicher Temperatur und Entspannungsdruck abgezogen, wird die Luftmenge erhalten, die bei Druckentspannung freigesetzt wird. Die Luftfreisetzung in NL Luft pro m<sup>3</sup> Wasser, bei den Prozesstemperaturen 12, 20, 25 und 30°C und bei den Sättigungsdrücken von 2, 3, 4 und 5 bar(a) sind in Abbildung 4.4 dargestellt.

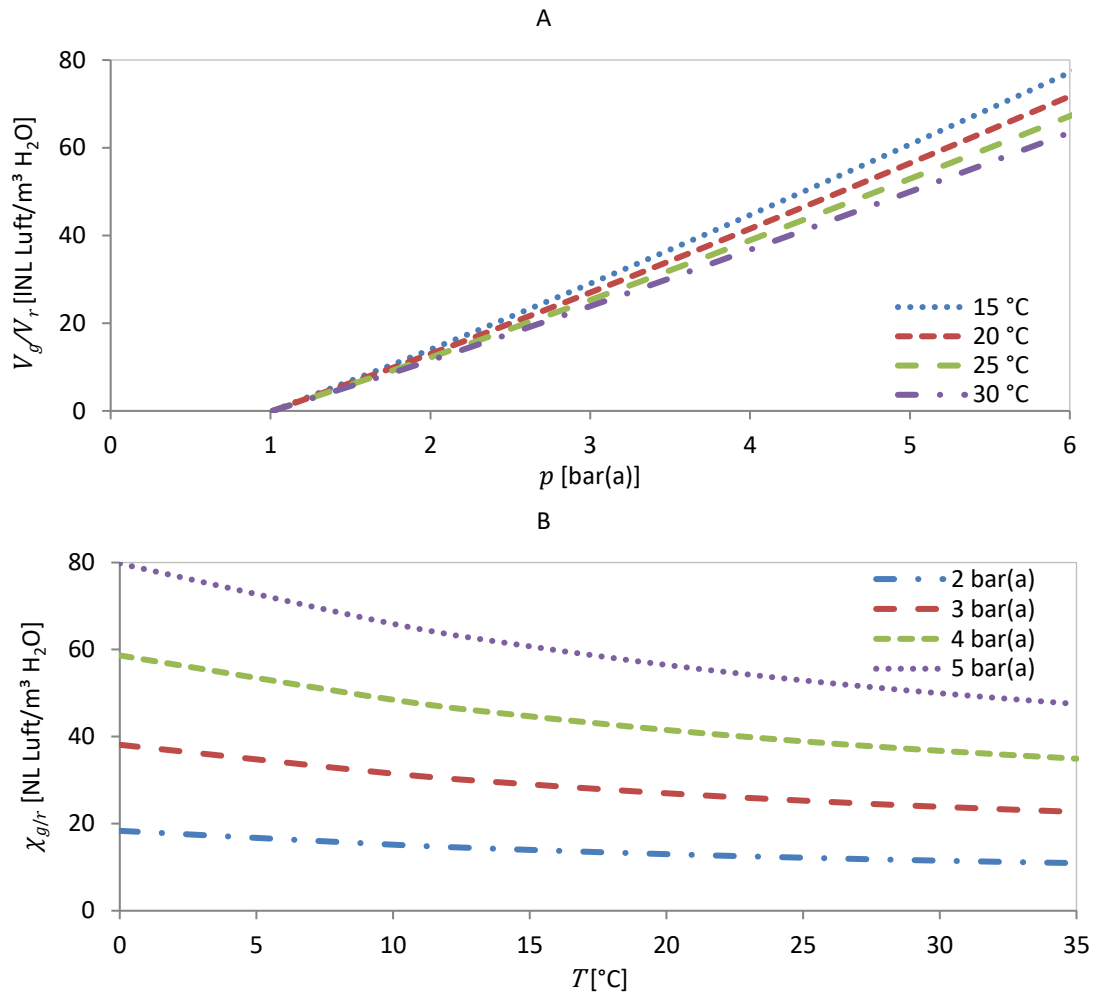


Abbildung 4.4: maximale Luftfreisetzung  $\chi_{g/r}$  in NL Luft/m<sup>3</sup> Wasser, bei Druckentspannung vom Sättigungsdruck  $p$  in bar(a) auf Normaldruck bei verschiedenen Temperaturen  $T$ .

In Tabelle 4.4 ist der thermodynamisch maximale Gaseintrag  $\dot{V}_g$  präsentiert, der bei reiner DAF mit einer Sättigungseffizienz im Aquatecor<sup>®</sup> von 90 % oder 100 %, für die Recyclevolumenströme  $\dot{V}_r$  von 75 L/h und 100 L/h (Standardbedingung) möglich ist. Bei Standardbedingungen ( $p$  von 2 bar(g) und  $\dot{V}_r$  von 100 L/h) wäre also ein maximaler Gaseintrag  $\dot{V}_g$  von 2,53 NL möglich.



Tabelle 4.4: Nach Battino (Battino et al. 1984) berechnete mögliche Gasfreisetzung  $\dot{V}_g$  für reine Druckentspannungsflotation. Getroffene Annahme: Prozesstemperatur T als 25°C. Der Sättigungsdruck ist sowohl als Absolutdruck in bar(a), als auch als Überdruck in bar(g) angezeigt. Variiert wurde die Sättigung (90 % und 100 %) und der eingestellte Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$  (75 L/h und 100 L/h).

		Sättigung 100 %	Sättigung 100 %	Sättigung 90 %	Sättigung 90 %
		$\dot{V}_r$ l/h	$\dot{V}_r$ l/h	$\dot{V}_r$ l/h	$\dot{V}_r$ l/h
		75	100	75	100
$p$ bar(a)	$p$ bar(g)	$\dot{V}_g$ NL/h	$\dot{V}_g$ NL/h	$\dot{V}_g$ NL/h	$\dot{V}_g$ NL/h
1,013	0	0	0	0	0
2	1	0,91	1,22	0,74	0,99
2,5	1,5	1,40	1,87	1,18	1,57
3	2	1,90	2,53	1,63	2,17
3,5	2,5	2,40	3,21	2,08	2,78
4	3	2,92	3,89	2,55	3,40
4,5	3,5	3,44	4,59	3,02	4,02
5	4,0	3,97	5,29	3,49	4,66

Da die Flotationsratenkonstante proportional zum spezifischen Grenzflächeneintrag  $S_b$  ist, so ist sie auch proportional zum eingebrachten Gasvolumenstrom. Die Berechnung des theoretischen Gaseintrags durch Druckentspannungsflotation zeigt, wie groß der Gasvolumenstrom bei gegebenem Recyclevolumenstrom maximal sein kann, wenn es sich um reine DAF handelt. So können unter Standardbedingungen, also mit einem Recyclevolumen von 100 L/h bei 2 bar(g), maximal 2,53 NL/h Gasvolumen in die Flotationszelle eingebracht werden. Mit der Annahme, dass die Sättigung nicht vollständig ist, sondern nur 90 % erreicht, wäre nur ein Gasvolumenstrom vom 2,17 NL/h möglich. Eine Steigerung des Gaseintrages wäre bei reiner DAF durch eine Anhebung des Recyclevolumenstroms möglich, diese würde jedoch auch die Strömungen in der Flotationszelle beeinflussen. Ebenfalls möglich wäre eine Absenkung der Temperatur des Flotationsmediums, was jedoch sehr energieaufwändig wäre. Zuletzt bliebe noch eine Erhöhung des Sättigungsdrucks, zu dem der Gaseintrag proportional ist. So wäre eine Verdopplung des Gaseintrags durch eine Verdopplung des Sättigungsdrucks auf 4 bar(g) möglich. Ein höherer Druck erfordert ebenfalls einen höheren Energieeintrag.

## 4.1.6 Strömungsanalyse in der Flotationszelle

### 4.1.6.1 Strömungsprofil- und Verweilzeitanalyse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse des Strömungsprofils und der Verweilzeit vorgestellt, welche durch CFD-Analyse und experimenteller Analyse ermittelt wurden.

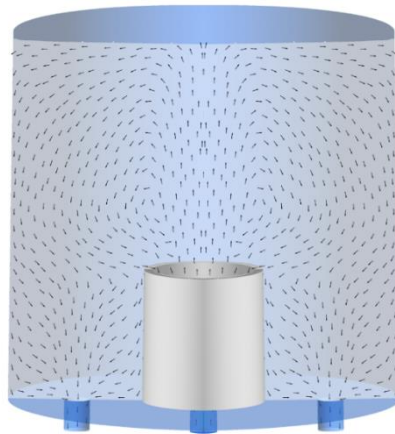


Abbildung 4.5: CFD Grafik des Strömungsprofils mit Richtungsvektoren in der Flotationszelle (Hofinger und Gulden 2017)

Die CFD-Analyse zeigte (s. Abbildung 4.6 und Abbildung 4.7), dass sich im oberen Füllvolumen der Flotationszelle eine Zirkulationsströmung einstellte. Sie führte vom unteren Zentrum, zur Flüssigkeitsoberfläche, nach außen zum Behälterrand, am Behälterrand nach unten und von dort zurück Richtung Zentrum.

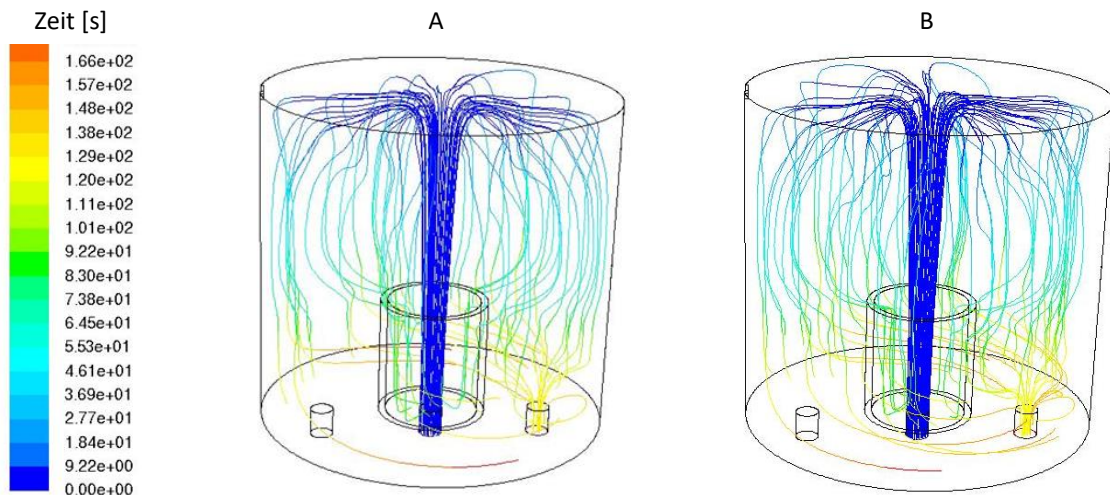


Abbildung 4.6: A und B) CFD Simulationen der Zirkulationsprofile der wässrigen Phase im Flotationstank unter Standardbedingungen, die Farbskala zeigt die Verweilzeit in der Flotationszelle in Sekunden (Hofinger 2014)

Diese Zirkulation war sowohl in den CFD Simulationen der Verweilzeit von Tracer-Partikeln in der Flotationszelle als auch bei den Verweilzeitmessungen mit Lebensmittelfarbstoff (Abbildung 4.7) sichtbar. Der einseitige Abzug sorgte für eine asymmetrische Strömung und höhere Verweilzeiten auf der, dem Ablauf gegenüberliegenden Seite.

Die Versuchsbedingungen der Verweilzeitanalyse mittels Lebensmittelfarbstoff in der Flotationszelle sind im Kapitel 3.6.2 beschrieben. Die Verteilung und Verweilzeit der Farbe in der Flotationszelle wurde sowohl in einem Video dokumentiert als auch photometrisch analysiert. Bildausschnitte der Videoaufzeichnung von Versuch 1 sind in Abbildung 4.7 und die auf photometrischer Analyse basierenden Volumenanteilsergebnisse von drei Versuchen sind in Abbildung 4.8 dargestellt. Einzelbilder der Videodokumentation von Versuch 1 zeigen die Farbverteilung 2, 5, 20, 40, 180 und 720 s nach der Farbdosierung. Nach 2 s ließ sich eine leicht turbulente rote Strömung in der inneren Strömungsführung und eine leichte rosa Färbung im Blasenschwarm beobachten. Nach 5 s war die innere Strömungsführung vollständig rot gefärbt und erste rote Schlieren sind im Blasenschwarm bis an den Behälterrand geströmt. Nach 20 s war der Blasenschwarm fast vollständig rot gefärbt, einzig am oberen und unteren Rand des Blasenschwarms war am Behälterrand die Farbe noch nicht angelangt. Nach 40 s war die Rotfärbung bereits bis auf 30-40 mm über dem Behälterboden vorgedrungen. Sichtbar ist, dass sich die Strömung nicht in einer einheitlichen Front, sondern in leichten Verwirbelungen ausbreitete. Nach 180 s war eine einheitliche Rotfärbung der Flotationszellenfüllung sichtbar, als letzter Bereich war das Volumen knapp über dem Boden, auf der dem Abzug gegenüberliegenden Seite rot geworden. Ein vollständiges Auswaschen der Rotfärbung war erst nach über 720 s, 12 min erreicht. Auch hier waren letzte rosa Schlieren zuletzt noch im Volumen knapp über dem Boden, auf der dem Abzug gegenüberliegenden Seite, sichtbar.

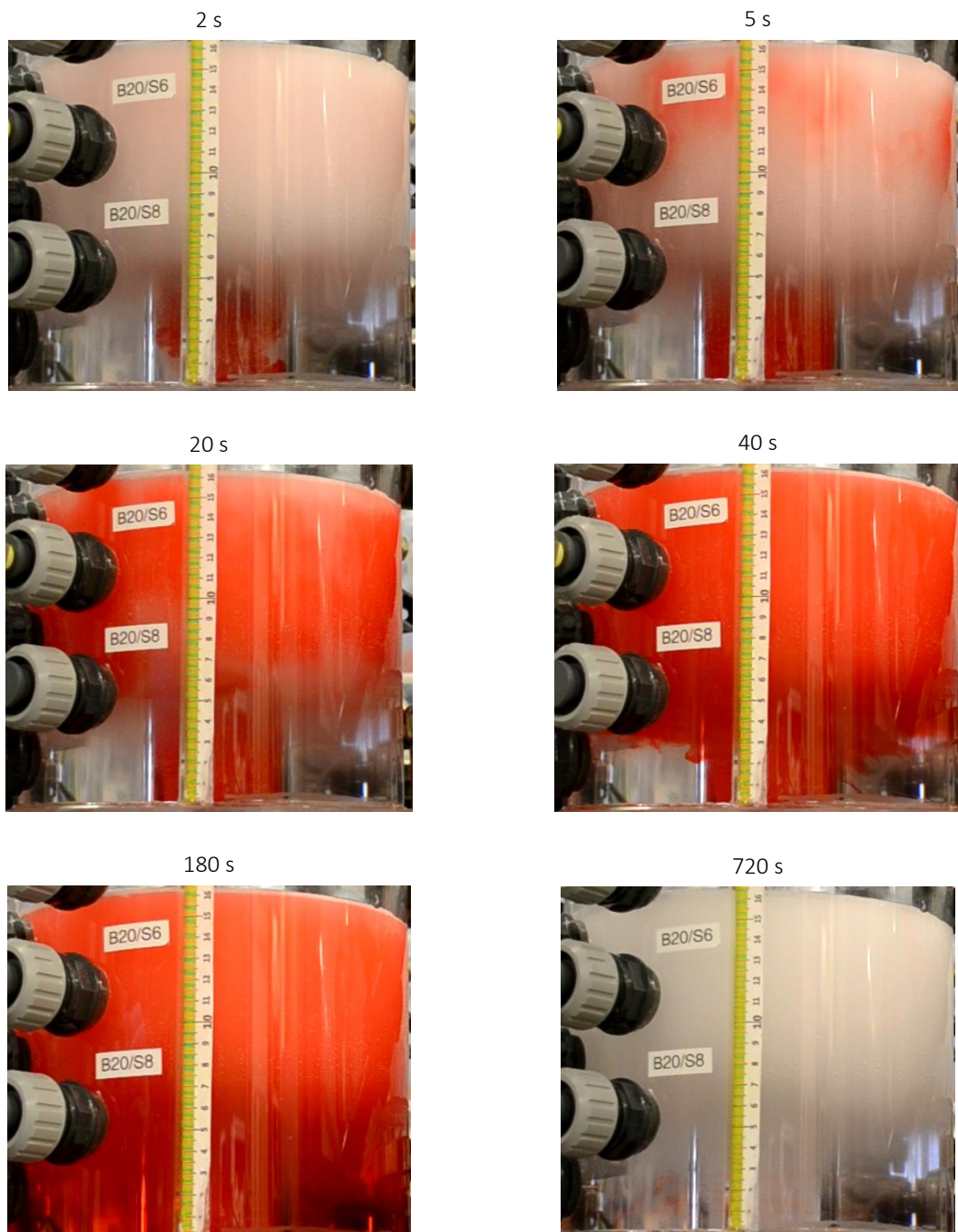


Abbildung 4.7: Experimentelle Verweilzeitanalyse in der Flotationszelle nach Impulsdosierung von 5 mL Lebensmittelfarbstoff Cochenillerot. Bildausschnitte aus Videoaufnahme 2, 5, 20, 40, 180 und 720 s nach der Farbdosierung.

Die Volumenanteilsanalyse erfolgte photometrisch. Hierfür wurden mit einer Kanüle, deren Spitze mit 10 mm Abstand zum Behälterrand in die Flotationszelle eintauchte, an zwei Stützen (B20/S8, Höhe ab Boden 54 mm und B20/S6, Höhe ab Boden 114 mm) Proben entnommen. Photometrischen Analyse des Farbstoffvolumenanteils erfolgte bei einer Wellenlänge von

490 nm, da dort eine maximale Absorption von Cochenillerot gemessen wurde. Auf Grund der linearen Abhängigkeit ließ sich der Farbstoffvolumenanteil mit Formel 4.6

$$\varphi_{\text{CNR}} = 0,088 OD_{490} \text{ [Vol.\%]} \quad 4.6$$

aus den Absorptionswerten berechnen.

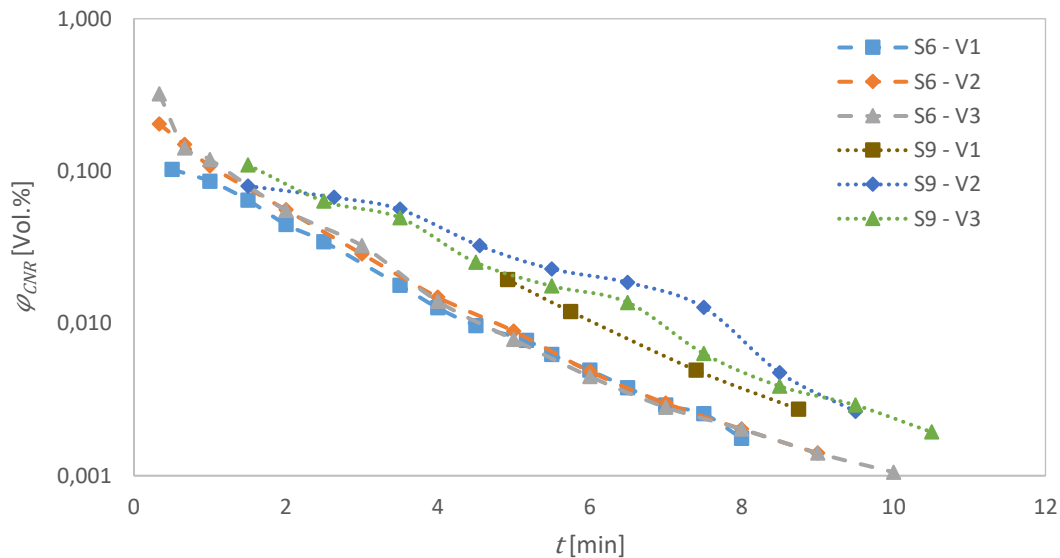


Abbildung 4.8: Abnahme des Farbstoffvolumenanteils in der Flotationszelle über die Zeit, nach Impulsdosierung von 5 mL Cochenillerot Lebensmittelfarbstoff im Zulauf. Proben wurde an den Stutzen S6 und S9 entnommen. Der Volumenanteil folgt aus dem linearen Zusammenhang zur photometrischen Absorption bei der Wellenlänge von 490 nm.

Die Ergebnisse der experimentellen Verweilzeitmessungen sind in Abbildung 4.8 gegeben. Der Volumenanteil des aufgegebenen Cochenillerot betrug 0,1 Vol.% der Flotationszelle. Die Verteilung des Cochenillerot war direkt nach der Farbstoffzugabe zunächst inhomogen. Im Probereich des Stutzen 6 betrug die zu Beginn gemessene Farbstoffkonzentration ca. 0,33 Vol.%. Nach 90 s lagen die gemessenen Konzentrationen sowohl im Bereich des Stutzen 6 als auch des Stutzen 9 bei ca. 0,1 Vol.% und nahmen dann, wie bei einer Auswaschkurve zu erwarten, exponentiell ab. Im Vergleich der drei Versuche schwankte nur der erste Wert an Stutzen 6, während die weitere Werte dort lagen dicht beieinander. An Stutzen 9 unterlag die Volumenanteilsabnahme größeren Schwankungen, sowohl innerhalb der jeweiligen Versuche über die Zeit, als auch im Vergleich der drei Versuche. Die beobachteten Volumenanteilsschwankungen beweisen Strömungsschwankungen in der Flotationszelle, was durch die Bildauswertung ebenfalls bestätigt wurde.

Knapp über dem Boden waren selbst nach 12 min bzw. 720 s noch Farbschlieren sichtbar, also eine sehr geringe Strömung. Dies wird auch in den Zirkulationsprofilen der CFD-Simulation deutlich. Auf der Seite mit dem Abzug verlaufen weit mehr Kurven und die Verweilzeiten sind

auf Grund der kürzeren Strömungswege und höheren Strömungsgeschwindigkeit kürzer, als auf der gegenüberliegenden Seite.

Die Ergebnisse vom Strömungsprofil und von der Verweilzeit wiesen auf eine inhomogene Strömung in der Flotationszelle hin. Die zentrale Zufuhr des Gas- und Recyclevolumenstroms würde ein gleichmäßiges Strömungsprofil ermöglichen, der seitliche punktuelle Abzug jedoch nicht. So ergeben sich relativ lange Verweilzeiten in der Flotationszelle. Dies kann einen negativen Effekt auf die in Batch-Versuchen ermittelte Flotationsratenkonstante haben, da Mikroorganismen im unteren Beckenvolumen nur erschwert oder nach langer Versuchszeit in Kontakt mit Blasen gebracht werden können. Aus diesem Grunde kann nicht direkt aus der Flotationsratenkonstante aus Batchversuchen auf ein benötigtes Verhältnis von Recyclevolumen zu Zulaufvolumen in einem kontinuierlichen Versuch geschlossen werden. Jedoch dürften jegliche Trends bezüglich Prozess-beschleunigenden und -hemmenden Prozessparametern übertragbar sein und somit wertvoll zur Prozessoptimierung sein.

### 4.1.6.2 Vergleich von Blasenschwarm und Gasanteil

Wie in Abbildung 4.9 gezeigt, weisen die CFD Simulation und das Laborexperiment unter Standardprozessbedingungen in der Gegenüberstellung optisch gute Übereinstimmungen auf.

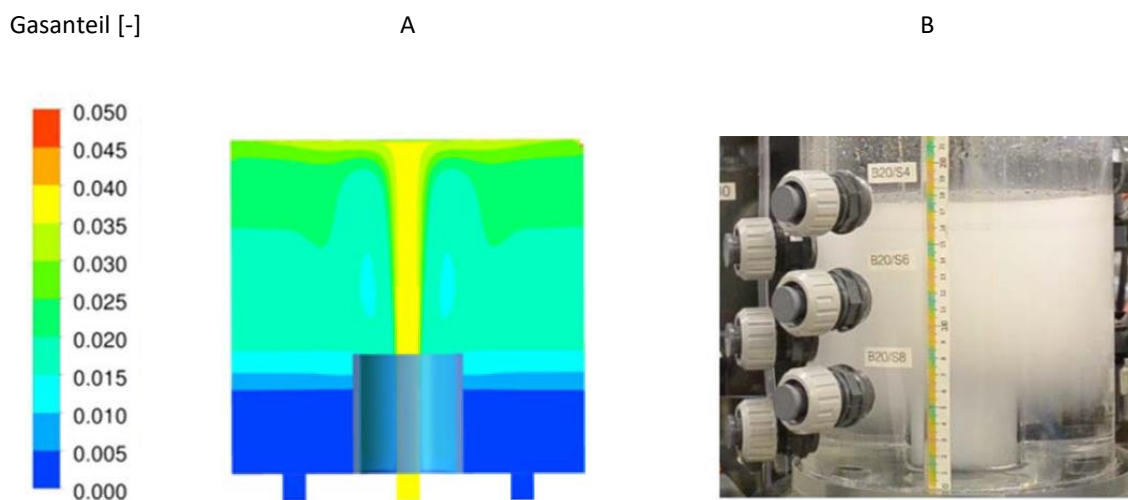


Abbildung 4.9: Gasvolumenanteilverteilung unter Standardprozessbedingungen A) in der CFD Simulation und B) im Laborexperiment (Hofinger und Gulden 2017)

Auch unter extremen Bedingungen, wie sehr niedrigem Recyclevolumenstrom von 40 L/h, oder hohem Volumenstrom von 120 L/h, wurden vergleichbare Blasenschwarmhöhen gefunden. Bei geringem Recyclevolumenstrom schwankte die Blasenschwarmhöhe leicht und reichte zu keiner Zeit bis zum inneren Zylinder herunter. Dadurch waren die geringen Oszillationen des blasentragenden Zulaufstroms sichtbar.

Eine Gegenüberstellung des Blasenschwarmbildes des experimentellen Versuchs und dem aus den CFD Simulationen mit einem Gasanteil von 80 % und 100 % der maximalen Gaslöslichkeit, nach Battino ergab, dass die Simulation mit einem Gasanteil von 80 % dem Bild des realen Experiments deutlich ähnlicher ist. Dies passt zur Berechnung, dass der eingestellte Gasvolumenstrom von 2,8 NL/h Luft bei 2,5 bar(g) und 100 L/h Recyclevolumenstrom einer Sättigungseffizienz von 87,3 % entspricht. Der mögliche Gaseintrag bei reiner DAF in der Laborflotation liegt also eher bei unter 90 % Sättigungseffizienz im Drucksättiger (Bezug zu 4.1.5), was den Angaben in der Literatur von realistischen Sättigungseffizienzen bei der DAF von 80-95 % (Edzwald 2010) entspricht.

## 4.2 Analyse der Blasengröße und des spezifischen Grenzflächeneintrags<sup>3</sup>

Die Blasengrößenanalyse spielt im Flotationsprozess eine wichtige Rolle, da dieser stark von der bereitgestellten Oberfläche und der relativen Aufstiegs geschwindigkeit der Einzelblasen sowie vom spezifischen Grenzflächeneintrag des Blasenkollektivs abhängt. Deshalb wurde im Rahmen dieser Arbeit eine online-Blasengrößenanalysetechnik mit automatisierter Software für die Bildauswertung entwickelt, der „Bubble Size Analyzer“ (BSA). Im Folgenden wurde der BSA anhand von Größenmessungen mit Standardpartikeln und Blasen evaluiert.

### 4.2.1 Evaluation des „Bubble Size Analyzers“ (BSA)

Um die Eignung des BSA für die Partikel- und Blasengrößenanalyse zu testen, wurden zunächst Referenzpartikeln mit fünf monomodalen Partikelgrößen vermessen. Des Weiteren wurde untersucht, ob und in welchem Ausmaß das Ergebnis von Partikel- und Blasengrößenanalyse durch verschiedene Hardware- und Software-Settings beeinflusst wird.

#### 4.2.1.1 Kalibrierung des BSA mit Referenzpartikeln

Die Kalibrierung des BSA mit Referenzpartikeln erfolgte wie unter Kapitel 3.2.3 beschrieben. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.10 dargestellt. Die Abbildung 3.5 A zeigt die gemessenen Summenanzahlhäufigkeitsverteilungen  $Q_0$  der fünf Partikelgrößen, sowie der Mischung (mix-experimentell). Zusätzlich wurde eine theoretische  $Q_{0-mix}$ , basierend auf den Volumenanteilen in der Mischung und den fünf monodispersen  $Q_0$  berechnet und integriert. Die Abbildung B stellt die gemessenen Mediane  $D_{50,0-m}$  den zertifizierten  $D_{50,0-z}$  des Herstellers gegenüber.

---

<sup>3</sup> Die in diesem Kapitel präsentierten Ergebnisse wurden im Rahmen von (Gulden et al. 2018c) veröffentlicht. Die Daten und Abbildungen wurden mit Genehmigung von Elsevier in dieser Dissertation verwendet.

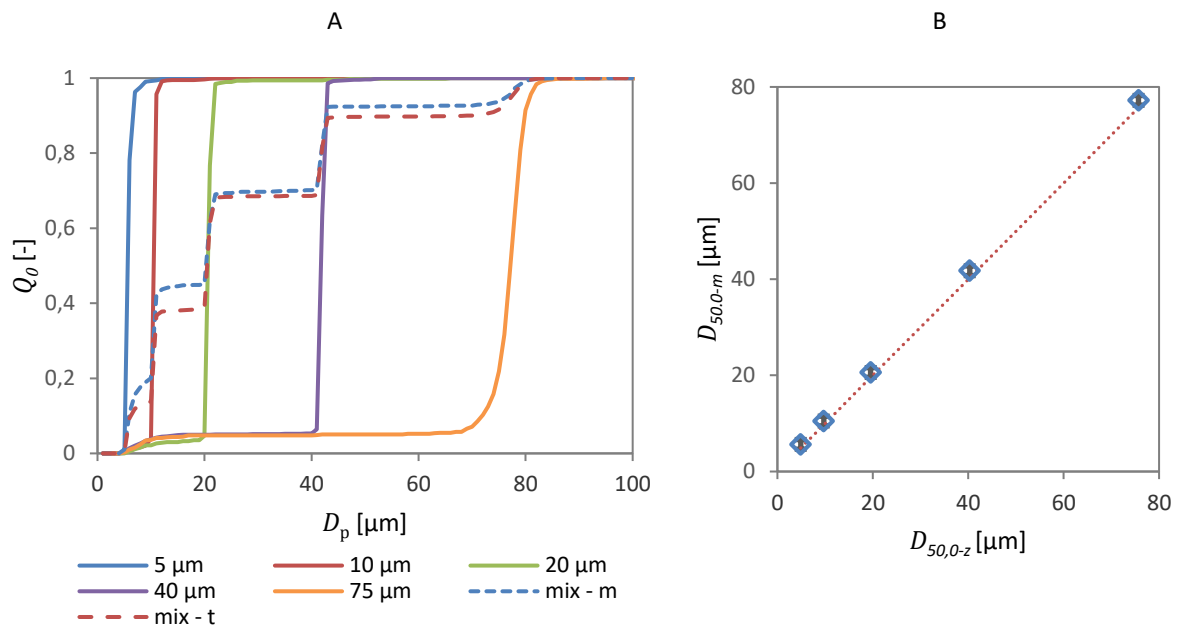


Abbildung 4.10: A) Mit dem BSA gemessene Summenanzahlhäufigkeitsverteilung  $Q_0$  von monomodalen Referenzpartikeln der Durchmesser  $D_p$  von 4,88  $\mu\text{m}$ , 9,7  $\mu\text{m}$ , 19,55  $\mu\text{m}$ , 40,3  $\mu\text{m}$  und 75,5  $\mu\text{m}$  sowie einer Mischung der fünf Partikelgrößen (mix - m) und im Vergleich dazu die theoretische  $Q_0$  der Mischung (mix - t). B) der dazu gehörige Median  $D_{50,0-m}$ , wobei der Fehlerbalken die Monomodalität der Verteilungen durch Anzeige des  $D_{10,0-m}$  und  $D_{90,0-m}$  verdeutlicht (Gulden et al. 2018c).

Alle gemessene Summenanzahlhäufigkeitsverteilungen  $Q_0$  wiesen einen Anteil von bis zu 5 % an Partikeln unterhalb von 10  $\mu\text{m}$  auf. Dieser Anteil war kein Messfehler, sondern in den zertifizierten Größenverteilungen ebenfalls so angegeben. Wie durch die Fehlerbalken in Abbildung 3.5 B deutlich wird, wichen in allen fünf Verteilungen der  $D_{10,0-m}$  und  $D_{90,0-m}$  kaum vom  $D_{50,0-m}$  ab. Im Vergleich lagen die gemessenen  $D_{50,0-m}$  mit einer mittleren Abweichung von 1,1  $\mu\text{m}$  über den zertifizierten  $D_{50,0-z}$ . Dies entspricht einer Überschätzung in der Länge der Auflösung eines Pixels und ist ein gut hinzunehmendes Maß. Wie erwartet, weisen (in Abbildung 3.5 A) sowohl die gemessene  $Q_{0,mix-m}$  als auch die theoretische  $Q_{0,mix-t}$  diskrete Partikelgrößenstufen auf, die mit den monodispersen Größenverteilungen übereinstimmen. Dass nicht jede Größe, dem Suspensionsvolumenanteil entsprechend, exakt 20 % der Partikelanzahl ausmacht, liegt erwartungsgemäß an den ungleichen Konzentrationen der monodispersen Partikelsuspensionen. Jedoch wird im Vergleich zwischen  $Q_{0,mix-m}$  und  $Q_{0,mix-t}$  deutlich, dass der Anteil von Partikeln unterhalb von 10  $\mu\text{m}$  in der Messung ( $Q_{0,mix-m}$ ), den Anteil in der theoretischen Kurve ( $Q_{0,mix-t}$ ) überschreitet. Dies bedeutet, dass bei der Messung eine größere Anzahl kleiner Partikeln gezählt wurde, als theoretisch hätte vorhanden sein dürfen. Da diese Partikeln auf Grund der Bildauflösung (Pixelanzahl) höhere Zirkularitätswerte aufweisen, ist in der Software hinterlegt, dass sie weniger strenge Zirkularitätskriterien erfüllen müssen, um berücksichtigt werden zu können. Dies könnte auf der Kehrseite zu einer



Überschätzung der Partikeln unterhalb von 10  $\mu\text{m}$  geführt haben, da weniger kleine als große Partikeln verworfen werden. Da Blasengrößenverteilungen in DAF Anlagen zwischen 10 und 500  $\mu\text{m}$  liegen (De Rijk et al. 1994; Edzwald 2010), sollte der Fehler, der durch die Überschätzung der Partikeln unterhalb von 10  $\mu\text{m}$  verursacht wird, vernachlässigbar klein sein.

#### 4.2.1.2 Klassiereinfluss auf Größenanalyse von Referenzpartikeln

Um den Klassiereinfluss durch anisokinetische Probenentnahme auf das Messergebnis einzuschätzen, wurde eine Mischung aus vier Referenzpartikelgrößen (10, 20, 40 und 76  $\mu\text{m}$ ) angesetzt. Außerdem wurden bei Probenentnahmegeschwindigkeiten von 0,05, 0,15 und 0,2 m/s jeweils 5000 Bilder aufgezeichnet. Anhand dieser Bilder wurde ebenfalls die Bedeutung des Softwarefilters Edge-Gradient, dem „Schärfe-Kriterium“ für Partikeln und Blasen, für die zuverlässige Bildanalyse gezeigt. Er wurde auf 15 und 45 eingestellt, was bedeutet, dass fast alle oder keine unscharfen Partikeln berücksichtigt wurden. Die gemessene Partikelanzahl  $\sum_i^j N$  in festgelegten Intervallschritten  $\int_i^j D_p$  für die drei verschiedenen Probenentnahmegeschwindigkeiten  $v_{pr}$  und zwei Edge-Gradienten sind in Tabelle 4.5 gegeben. Die Partikeln der Größen 20, 40 und 76  $\mu\text{m}$  konnten in einem Intervall  $\int_{16}^{100} D_p$  zusammengefasst werden, da sie von der Probenahmegeschwindigkeit und dem Edge-Gradienten gleichermaßen beeinflusst wurden.

Tabelle 4.5: Partikelanzahl in diskreten Größenintervallen  $\sum_i^j N$ . Dafür wurden 5000 Blasenbilder bei drei verschiedenen Probenentnahmegeschwindigkeiten  $v_{pr}$  aufgezeichnet und mit zwei Software Edge-Gradienten ausgewertet (Gulden et al. 2018c).

Edge-Gradient		15			45		
$\sum_i^j N$		$v_{pr}$ [m/s]			$v_{pr}$ [m/s]		
		0,05	0,15	0,2	0,05	0,15	0,2
$\int_i^j D_p$ [ $\mu\text{m}$ ]	0-15	606	964	1494	461	697	1123
	16-100	3899	3743	3715	2143	1787	1663
	0-100	4505	4707	5209	2604	2484	2786

Bei einem niedrigen Edge-Gradienten von 15 stieg die Anzahl von 10  $\mu\text{m}$  Partikeln ausgeprägt mit der Pumpgeschwindigkeit an, während die Anzahl im Partikelgrößenintervall  $\int_{16}^{100} D_p$  leicht abnahm. Dies hatte zur Folge, dass der Anteil, den die 10  $\mu\text{m}$  Partikeln an der Gesamtpartikelanzahl hatten, von 13 % bei 0,05 m/s über 20 % bei 0,15 m/s auf 29 % bei 0,2 m/s anstieg. Als Ursache für diese Verschiebung ist die anisokinetische Probenentnahme zu nennen. Ist das Verhältnis zwischen Strömungsgeschwindigkeit bei der Probenentnahme und im Behälter ungleich eins, löste dies eine Strömungsverzerrung (Distorsion) vor dem Probenrohr aus. Die Strömungsgeschwindigkeit im Behälter wurde nicht gemessen, sondern aus den obigen Ergebnissen abgeleitet. Bei einem Geschwindigkeitsverhältnis größer eins

(Strömungsgeschwindigkeit der Probenentnahme größer als im Behälter) konvergieren die Strömungslinien in die Probe. Kleine Partikeln mit geringer Trägheit folgen der Flüssigkeitsströmung und treten mit dieser in die Probe ein, während große Partikeln mit großer Trägheit daran vorbei strömen. Das Partikelkollektiv weist eine geringere Feststoffkonzentration auf, wobei kleine Partikeln überrepräsentiert sind (Nasr-El-Din et al. 1996). Bei einem Strömungsverhältnis kleiner eins ist das Gegenteil der Fall. Übertragen auf die obigen Ergebnisse bedeutet das, dass die Anhebung der Pumpgeschwindigkeit eine Klassierung durch anisokinetische Probenentnahme verursachte.

Der Einfluss des Softwarefilters Edge-Gradient war folgender: Bei einem niedrigen Edge-Gradienten von 15 wurden alle runden Partikeln, deren Zirkularität den Anforderungen entsprach, der Verteilung zugerechnet. Es wurde nicht differenziert, ob diese in oder außerhalb der Fokusebene fotografiert wurden. Im Gegensatz dazu verhinderte der Edge-Gradient von 45 die Zählung unscharfer Partikeln. Eine Anhebung über 45 hinaus verursachte, dass auch scharfe Partikeln nicht berücksichtigt wurden, da der Gradient technisch limitiert ist. Aus diesem Grunde wurde der Edge-Gradient auf 45 gesetzt. Im Vergleich mit den Partikelanzahlen bei einem Edge-Gradienten von 15 wurde eine signifikante Reduktion der Partikelanzahl aller Partikelgrößen festgestellt, diese war jedoch deutlich stärker ausgeprägt bei den großen Partikeln  $\sum_{16}^{100} N$ . Mit zunehmender Probenentnahmegeschwindigkeit stieg die Anzahl unscharf aufgenommener Partikeln und die gezählte Partikelanzahl nahm weiter ab. Große Partikeln wurden eher durch das Edge-Gradient Kriterium verworfen. Dadurch stieg der gezählte Anteil der 10  $\mu\text{m}$  Partikeln an der Gesamtpartikelanzahl von 18 % bei 0,05 m/s über 28 % bei 0,15 m/s auf 40 % bei 0,2 m/s. Eine Klassierung kann demnach sowohl durch anisokinetische Probenentnahme als auch durch schnelle Probenentnahme und den Softwarefilter Edge-Gradient verursacht werden. Doch auch hier gilt, dass die Klassierung vor allem eine Überbewertung der kleinsten Partikeln zur Folge hatte. Diese sind, wie bereits genannt, in Blasengrößenverteilungen von DAF Anlagen kaum vorhanden sind (De Rijk et al. 1994; Edzwald 2010). Deshalb sollte der Fehler durch Klassierung für die Blasengrößenanalyse in der praktischen Anwendung vernachlässigbar klein sein.

Die Evaluation des „Bubble Size Analyzer“ mittels Standardpartikeln ergab, dass er geeignet ist Partikelgrößen im Größenspektrum von 10 bis 100  $\mu\text{m}$  zu messen. Die Relevanz isokinetischer Probenahme und korrekt eingestellter Softwareparameter wurde experimentell bestätigt.

### 4.2.1.3 Klassier- und Koaleszenzeinfluss auf Blasengrößenanalyse

Im Gegensatz zur Analyse von Standard-Silikapartikeln, kann das Resultat bei der Analyse von Gasblasen auch durch Koaleszenz verfälscht werden. Aus diesem Grunde wurden die BSA Betriebsparameter gesucht, die das Messergebnis minimal beeinflussten. Um eine

Differenzierung des Klassier- und Koaleszenzeinflusses auf Blasengrößenanalyse zu ermöglichen, wurde die Laborflotationsanlage mit drei Flotationsmedien betrieben, welche verschiedene Oberflächenspannungen und Neigungen zur Blasenkoaleszenz aufwiesen. Die Oberflächenspannungen wurden mittels der Methode des „hängenden Tropfens“ (Stauffer 1965) analysiert. Zum Einsatz kam reines Wasser (Aqua Purificata - APW), welches Koaleszenz fördernd ist und eine Oberflächenspannung von 73 mN/m bei 293,5 K aufweist. In konzentrierter zwei-molarer Natriumchloridlösung ist Koaleszenz auf Grund repulsiver elektrostatischer Kräfte zwischen Blasenoberflächen gehemmt (Li 1996). Die Elektrolyte verstärken die Dipolkräfte in der Lösung (Jäger 1891; Jones und Ray 1941), weshalb die Oberflächenspannung von zwei-molarer Natriumchloridlösung bei 293,5 K bei 76 mN/m liegt. Die komplexe Fermentationsbrühe (Yeast-Malt-Broth, YMB) enthält Elektrolyte, Zucker und verschiedene Proteine. Proteine können hydrophobe und hydrophile Oberflächenbereiche haben und somit, wie ein Tensid, als oberflächenaktiver Stoff wirken (Kinsella 1979). Mit ihrer hydrophoben Seite können sie in der hydrophoben Gas-Flüssigkeits-Grenzfläche von Blasen liegen, wodurch diese stabilisiert und Koaleszenz stark gehemmt wird. Die Oberflächenspannung von YMB lag bei 293,5 K bei 56 mN/m.

Die Einstellungen in der Laborflotationsanlage wurden so gewählt, dass mit dem jeweiligen Medium eine gleichmäßige, reproduzierbare Blasengeneration möglich war. Im Einsatz mit YMB wurde der Sättigungsdruck auf 2 bar(g) und der Gasvolumenstrom auf 6 NL/h gesetzt. Mit NaCl waren die Einstellungen 2 bar(g) und 3 NL/h und mit APW 3 bar(g) und 3 NL/h.

Die BSA Software wurde mit Standardeinstellungen genutzt (Tabelle 3.4). Der Betrieb der BSA Hardware erfolgte nur teilweise unter Standardbedingungen. Auf Grund variierender Blasenkonzentrationen in den Medien, wurde die Messspaltbreite für YMB auf 200  $\mu\text{m}$  und für APW und NaCl auf 500  $\mu\text{m}$  festgesetzt. Dies ermöglichte sowohl eine ausreichende Blasenvereinzelnung und -beleuchtung als auch eine Minimierung von Koaleszenz und Klassierung im Blasenspalt.

Um die Bedeutung der isokinetischen Probenentnahme zu bemessen, wurde die Probenentnahmegeschwindigkeit  $v_{pr}$  variiert. Mittels Computational Fluid Dynamic (CFD) Simulation wurde die Strömungsgeschwindigkeit am Probenentnahmeort in der Flotationszelle berechnet. Diese lag bei Standardbedingungen der Flotationsanlage bei 0,13 - 0,15 m/s. Um sowohl die Auswirkung niedrigerer und höherer  $v_{pr}$  zu untersuchen, wurde die Probe mit 0,03; 0,05; 0,1; 0,15 und 0,2 m/s abgezogen. Die Länge des Probenrohrs lag bei diesen Versuchen bei 0,3 m. Die eingestellten  $v_{pr}$  verursachten Reynoldszahlen von 313 bei 0,03 m/s bis 2230 bei 0,2 m/s. Letztere lag nah an 2300, bei welchem der Übergang von laminarer zu turbulenter Strömung beginnt (H. W. Emmons 1951). Um den Einfluss von Koaleszenz auf das Blasenergebnis abzuschätzen, wurde die Verweilzeit  $\tau$  im Probenentnahmerohr erhöht. Hierfür

wurde mit einer isokinetischen  $v_{pr}$  von 0,15 m/s und drei Rohrlängen 0,3; 0,6 und 0,9 m gearbeitet.

Die Ergebnisse in den Medien YMB, NaCl und APW, bei variierenden Probenentnahmegeschwindigkeiten  $v_{pr}$  (A) und variierenden Verweilzeiten  $\tau$  (B), sind als Anzahlhäufigkeitsverteilungen in Abbildung 4.11 sowie mit den zugehörigen Sauter-Durchmessern in Abbildung 4.12 angegeben.

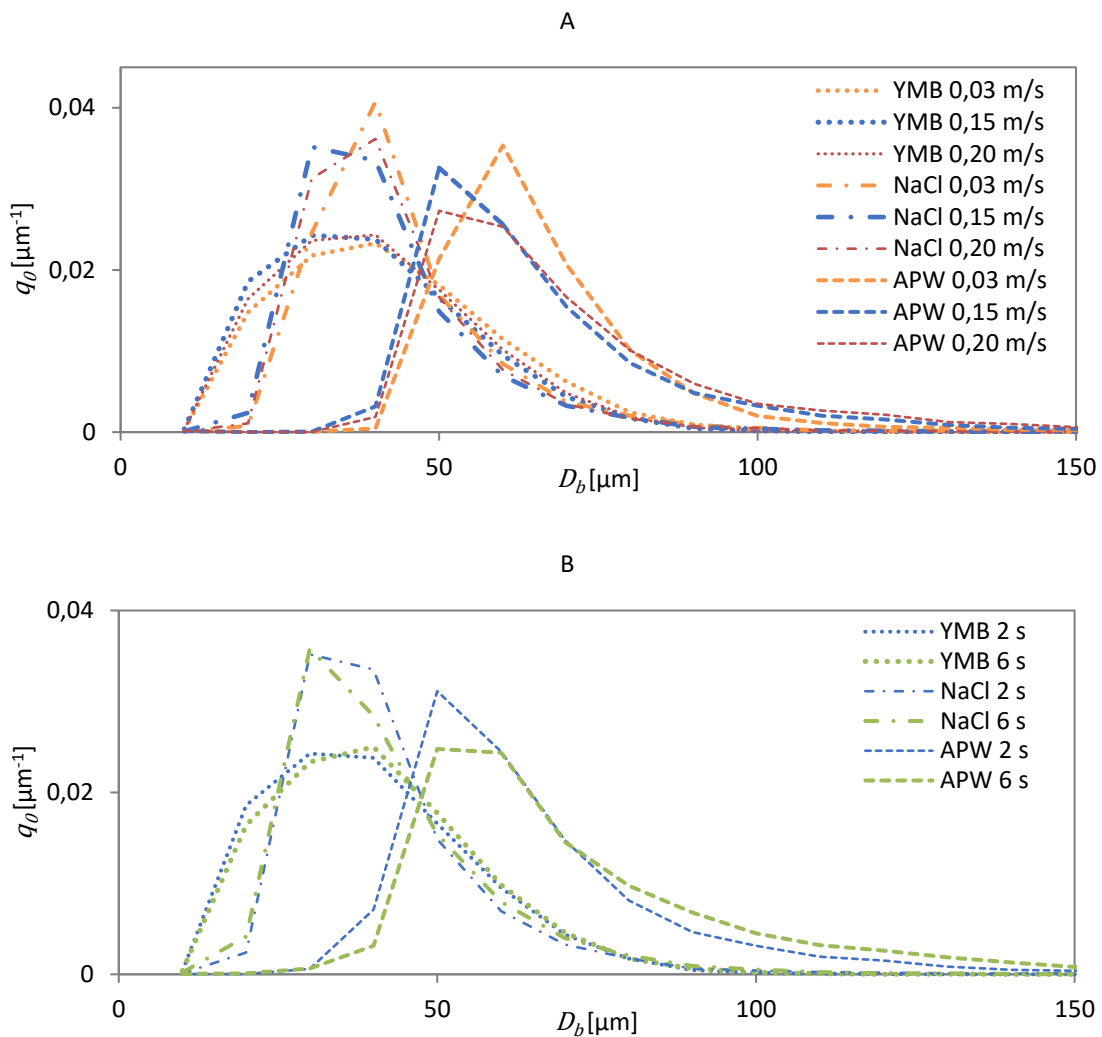


Abbildung 4.11: A) Einfluss der Probenentnahmegeschwindigkeit  $v_{pr}$  des BSA und B) Einfluss der Verweilzeit  $\tau$  im Probenentnahmerohr auf die Anzahlhäufigkeitsverteilung  $q_0$  von Blasen, die in der Flotationszelle unter Standardbedingungen in Yeast-Malt-Broth (YMB), Saline (NaCl) und Wasser (APW) generiert wurden. (Gulden et al. 2018c)

Der Einfluss anisokinetischer Probenentnahmegeschwindigkeit  $v_{pr}$  war in allen drei Medien ähnlich (Abbildung 4.11 A und Abbildung 4.12 A). Bei einer  $v_{pr}$  von 0,03 m/s, die deutlich unter der isokinetischen Strömungsgeschwindigkeit lag, wurde beobachtet, dass der Modalwert (Peak der Anzahlhäufigkeitsverteilung  $q_0$ ) etwa 10  $\mu\text{m}$  höher lag als bei isokinetischer

Probenentnahme. Der Grund hierfür liegt wahrscheinlich darin, dass durch die niedrige Strömungsgeschwindigkeit die meisten Strömungslinien am Probenentnahmerohr vorbei führten (Nasr-El-Din et al. 1996). Während kleine Blasen wegen ihrer geringen Trägheit den Strömungslinien folgen, gelangten größere Blasen in das Probenentnahmerohr. Somit sind kleine Blasen in der Verteilung unterrepräsentiert. Eine weitere Beobachtung war, dass in APW bei 0,03 m/s die Anzahlhäufigkeit von Partikeln größer als 80  $\mu\text{m}$  geringer war. Wenn man an diesem Versuch nur Klassierungseffekte beobachten würde, wäre das Gegenteil zu erwarten gewesen, da größere Blasen, wegen ihrer Trägheit, eher in die gezogene Probe gelangen. Da die reduzierte Häufigkeit von Blasen größer als 80  $\mu\text{m}$  nur in APW beobachtet wurde, und Wasser ein Koaleszenz förderndes Medium ist, ist die Beobachtung auf ausbleibende Koaleszenz zurück zu führen. Durch die niedrige Probenentnahmegeschwindigkeit  $v_{pr}$  lag die Reynoldszahl bei 313 vergleichsweise niedrig und der laminare Fluss verhinderte Koaleszenz. Koaleszenz ist auch der Grund, weshalb der Modalwert bei isokinetischer Probenentnahme bei den geringsten Blasengrößen liegt.

Leppinen und Dalziel modellierten die Koaleszenz von Blasen bei der DAF mit der turbulenten Koagulationstheorie von Saffman und Turner (Saffman und Turner 1956), bei der eine Berechnung der sich durch Koaleszenzen verschiebenden Verteilungen mittels Populationsgleichungen erfolgte (Leppinen und Dalziel 2004). Die durch die Berechnungen resultierenden Verschiebungen entsprechen denen, die in Abbildung 4.11 A und B beobachtet wurden.

Bei einer  $v_{pr}$  von 0,2 m/s liegt mit 2030 eine vergleichsweise hohe Reynoldszahl vor und es erfolgt eine Stromlinienverengung am Probenrohreingang. Dies erhöht die Wahrscheinlichkeit von Koaleszenz, weshalb der Modalwert bei einer  $v_{pr}$  von 0,2 m/s in allen Medien bei höheren Blasendurchmessern liegt als bei einer  $v_{pr}$  von 0,15 m/s. Die Häufigkeit größerer Blasen nimmt dabei mit der Probenahmegeschwindigkeit zu. Auf Grund der Koaleszenzhemmung in YMB und NaCl, waren diese Effekte in APW am stärksten ausgeprägt.

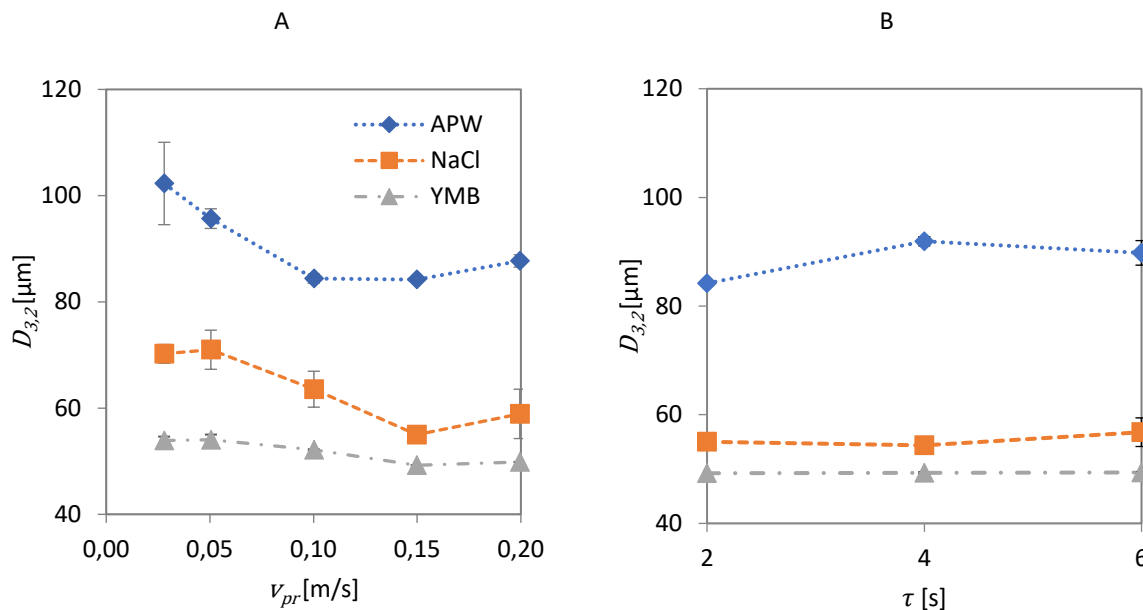


Abbildung 4.12: A) Einfluss der Probenentnahmegeschwindigkeit  $v_{pr}$  des BSA und B) Einfluss der Verweilzeit  $\tau$  im Probenentnahmerohr auf den Sauter-Durchmesser von Blasen, die in der Flotationszelle unter Standardbedingungen in Yeast-Malt-Broth (YMB), Saline (NaCl) und Wasser (APW) generiert wurden (Gulden et al. 2018c)

Aus eben diesen Gründen wurde auch in allen drei Medien der minimale Sauter-Durchmesser  $D_{3,2}$  bei einer isokinetischen  $v_{pr}$  von 0,15 m/s dokumentiert (Abbildung 4.12 A). Mit 84  $\mu\text{m}$  bis 102  $\mu\text{m}$  waren die  $D_{3,2}$  in APW deutlich höher als in NaCl, 55  $\mu\text{m}$  bis 70  $\mu\text{m}$ , und YMB, 49  $\mu\text{m}$  bis 54  $\mu\text{m}$ . Hohe  $D_{3,2}$  gingen einher mit größeren Abweichungen. Dies liegt daran, dass bereits wenige große Blasen den  $D_{3,2}$  variieren können und nicht in jeder Messung die gleiche Anzahl großer Blasen in der Verteilung berücksichtigt werden konnte. Bei isokinetischer Probenentnahme waren die Messungen gut reproduzierbar, in allen Medien wurden nur geringe mittlere Abweichungen vom Sauter-Durchmesser dokumentiert. Aus den Blasengrößenmessungen bei verschiedenen Probenentnahmegeschwindigkeiten wird die Bedeutung der isokinetischen Probenentnahme noch offensichtlicher, als allein aus den Partikelgrößenmessungen. Nicht nur Klassierung, sondern auch Koaleszenz können bei anisokinetischer Probenentnahme das Messergebnis verfälschen. Sollte die Strömungsgeschwindigkeit am Probenentnahmeort nicht bekannt sein, so könnten durch Vergleich der Anzahlhäufigkeitsverteilungen  $q_0$  und Sauter-Durchmesser  $D_{3,2}$  Rückschlüsse auf die isokinetische Geschwindigkeit gezogen werden.

Die Auswirkung variierender Verweilzeit im Probenentnahmerohr auf das BSA Messergebnis ist in den Abbildung 4.11 B und Abbildung 4.12 B gezeigt. Eine Klassierung wurde dabei durch isokinetische Probenentnahme verhindert. Die Ergebnisse zeigen in YMB keine und in NaCl einen im Fehlerbereich der Wiederholungen liegenden Einfluss auf die Blasengröße durch

höhere Verweilzeit. In APW wurde jedoch ein signifikanter Anstieg des Sauter-Durchmessers um 8  $\mu\text{m}$  und eine Verschiebung der Anzahlhäufigkeitsverteilung  $q_0$  beobachtet. Dies ist wie bereits oben geschildert, auf die starke Koaleszenzneigung der Blasen in Wasser (APW) zurück zu führen. Durch die längere Verweilzeit im Probenentnahmerohr kommt es zu mehr Blasenkollisionen. Diese führen in Wasser zu Koaleszenz, in NaCl und YMB jedoch, auf Grund der Koaleszenzhemmung der Medien, nicht.

Die Evaluation des „Bubble Size Analyzer“ für die Blasenanalyse ergab, dass es in Koaleszenz fördernden Medien empfehlenswert ist, die Verweilzeit im Probenentnahmesystem bis zum Messspalt so kurz wie möglich zu halten, um unnötige Abweichung der gemessenen gegenüber der realen Blasengröße in der Flotationszelle zu vermeiden. In Koaleszenz hemmenden Medien hat eine längere Verweilzeit wenig Auswirkung auf das Messergebnis, sodass ein längeres Probenentnahmerohr, sollte die Zugänglichkeit der Flotationszelle dies erfordern, akzeptabel ist. In den weiteren Messungen wurde eine Probenrohrlänge von 0,3 m genutzt.

#### 4.2.2 Charakterisierung des Drucksättigers der Flotationsanlage

Der Drucksättiger Aquatecor ist für den Betrieb mit wässrigen Koaleszenz fördernden Medien konzipiert, z.B. Wasser oder gering konzentrierter Saline. Im Betrieb mit Koaleszenz hemmenden Medien, z.B. Fermentationsmedium oder konzentrierte Saline, wurde ein abweichendes Verhalten von der klassischen Funktionsweise beobachtet. Deshalb werden im Folgenden die Fahrweisen anhand der Koaleszenzneigung des Flotationsmedium unterschieden.

In beiden Fällen galt, dass der Drucksättiger der Laborflotationsanlage von einer Pumpe mit einem Recyclevolumenstrom aus der Flotationszelle gespeist wurde. Da die Sättigung im Druckbehälter unter Standardbedingungen bei 2 bar(g) erfolgte und die Kegeldüse einen Druckverlust von 0,5 bar(g) verursachte, lag in der Leitung zwischen Pumpe und Drucksättiger ein Druck von 2,5 bar(g) an. Beim Durchtritt des Recyclevolumenstroms durch die Kegeldüse in den zylindrischen Schaft, wurde der Recyclevolumenstrom beschleunigt. Dabei erzeugt er einen Unterdruck an den sechs oberen Lochbohrungen des Schafts.

Im Betrieb mit wässrigen, Koaleszenz fördernden Medien (Abbildung 4.13 A) wurde durch diesen Unterdruck Luft aus dem Luftpilster im Drucksättiger angesogen, wobei Recycleflüssigkeit und Luft dispergiert wurden. Eine weitere Dispersion der zwei Phasen erfolgte beim Aufprall am Boden des Schafts und beim Austritt über die sechs unteren Lochbohrungen. Dabei wurde eine große Gas-Flüssigkeits-Grenzfläche geschaffen und über diese eine druckabhängige Gaseinsättigung in das Recyclevolumen ermöglicht. Die Grenzfläche blieb erhalten, bis die Flüssigkeitstropfen kollidierten und koaleszierten oder auf die Oberfläche am Füllpegel auftrafen und damit verschmolzen. Für eine effiziente Sättigung war es nötig, dass

der Füllpegel im Drucksättiger unterhalb des inneren Schafts lag, weil so die Dispersion und der Grenzflächeneintrag hoch war. Ein konstanter Füllpegel wurde dadurch realisiert, dass der kontinuierlich zugeführte Luftvolumenstrom genau dem entsprach, was in den Recyclevolumenstrom eingesättigt werden konnte. Dieses Luft-/Recyclevolumen-Verhältnis war, dem Henry Gesetz der Gaslöslichkeit in Wasser entsprechend, thermodynamisch limitiert. Die maximal mögliche Gaseinsättigung in Wasser, berechnet nach (Battino et al. 1984), lag bei 2,53 NL in 100 L bei einem Sättigungsdruck von 2 bar(g) (s. Kapitel 4.1.5). Somit entsprach der eingestellte Gasvolumenstrom von 2 NL/h, bei dem der Füllpegel im Sättiger konstant blieb, einer Sättigungseffizienz von 79 % im Recyclevolumenstrom von 100 L/h.

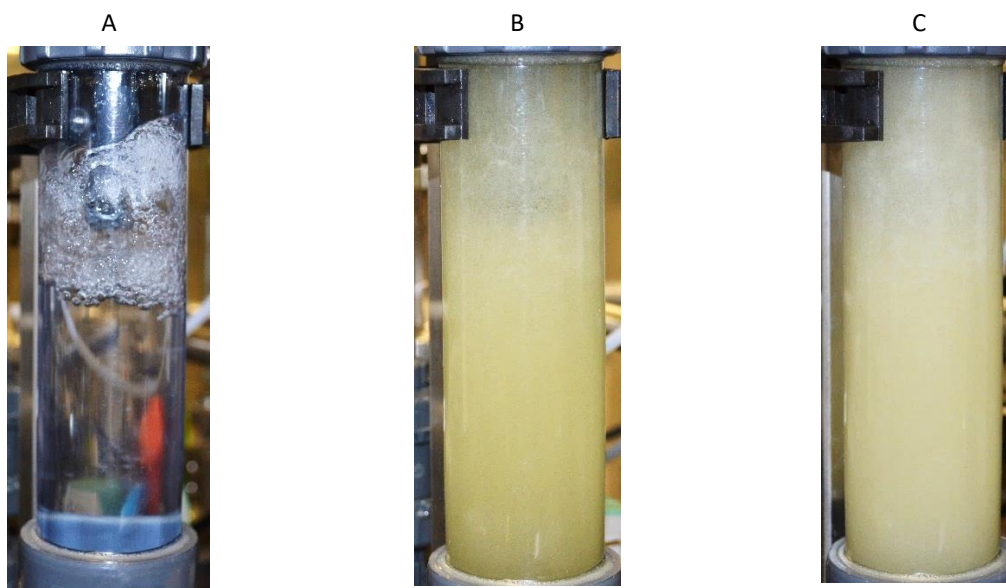


Abbildung 4.13: Aquatector<sup>®</sup> Drucksättiger im Betrieb bei Standardbedingungen A) mit Koaleszenz förderndem Wasser und 2 NI/h Gasvolumenstrom, B) mit Koaleszenz hemmendem YMB-Medium und 2 NI/h Gasvolumenstrom und C) mit Koaleszenz hemmendem YMB-Medium und 6 NI/h Gasvolumenstrom (Gulden et al. 2018c)

Wurde die Flotationsanlage mit Koaleszenz hemmendem Medium (Fermentationsmedium, hochkonzentrierte Saline) betrieben, wurde unter Standardbedingungen kein Luftpolster oben im Drucksättiger aufgebaut (Abbildung 4.13 B+C). Nur bei sehr geringem Recyclevolumenstrom von <50 L/h, also geringer Dispersionsenergie, und Begasung von >6 NL/h war ein Luftpolster sichtbar. Ansonsten lag im oberen Teil des Drucksättigers eine Dispersion vor, die nach unten hin immer kleinere und geringer konzentriertere Blasen und damit höhere Flüssigkeitsanteile aufwies. Bei geringen Gasvolumenströmen war der Behälter bis zum oberen Rand vollständig mit Recycleflüssigkeit gefüllt und die darin zirkulierenden und nach unten mitgerissenen Blasen waren gering konzentriert. Je höher die Blasenkonzentration im Drucksättiger war, desto weniger transparent und desto heller/weißer war die Blasen-Recycleflüssigkeit-Dispersion. Dadurch, dass kein Luftpolster vorlag, erfolgte am Kegelventil keine Zerstäubung des



Recyclevolumenstroms in Gas, sondern eine Durchmischung mit dem vorliegenden Gas-Flüssigkeits-Gemisch. Größere Grenzflächen wurden erzeugt und ermöglichten eine hohe Gaseinsättigung. Aber die entstandenen kleinen und hochkonzentrierten Luftblasen folgten nicht nur der zirkulierenden Strömung im oberen Druckbehälter, welche außerhalb des inneren Schafts nach oben und innerhalb nach unten verlief, sondern verließen den Druckbehälter auch, der Recycleströmung folgend, am Bodenauslass. Dabei folgten diese Primärblasen der Strömung bis zum Druckentspannungsventil. Dort wurden Blasen dann nicht nur durch ausgasende übersättigte Luft, nach dem DAF Prinzip, sondern auch durch erneute Dispersion der Primärblasen gebildet. Somit lag eine kombinierte IAF/DAF vor und das Luft-/Recyclevolumen-Verhältnis war nicht mehr durch die Gaslöslichkeit im Medium thermodynamisch limitiert. Zusätzlich war die Gaseinsättigung in das Recyclevolumen größer, da die für die Sättigung notwendige Grenzfläche größer war und über einen längeren Zeitraum bereitstand. Deswegen war die Sättigungseffizienz, die im Recyclemedium erreicht wurde, höher, was mittels Sauerstoffsättigungssonde nachgewiesen wurde (VisiFerm DO Arc 120, Hamilton). Diese war im Recyclerohr zwischen Sättiger und Druckentspannungsventil installiert. Die gemischte DAF/IAF war nur mit Koaleszenz hemmenden Medien möglich.

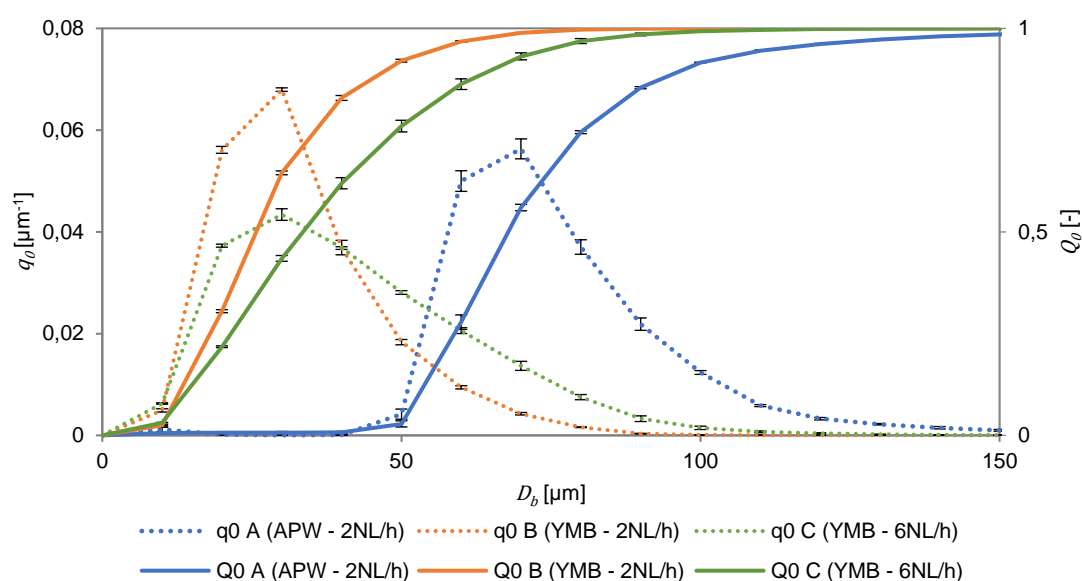


Abbildung 4.14: Anzahlhäufigkeitsverteilungen  $q_0$  in der Flotationszelle, im Betrieb mit Wasser (APW) und Fermentationsbrühe (YMB).

Der Einfluss des Mediums war nicht nur in der Art der Blasengeneration sichtbar, sondern auch in den resultierenden Blasengrößenverteilungen (Abbildung 4.14). In APW lagen die Anzahlhäufigkeitsverteilungen  $q_0$  bei deutlich höheren Durchmesser (zwischen  $40 \mu\text{m}$  und  $150 \mu\text{m}$ ), als in YMB bei gleichem Gasvolumenstrom von  $2 \text{ NL/h}$  (zwischen  $10 \mu\text{m}$  und  $90 \mu\text{m}$ ) und bei höherer Begasung von  $6 \text{ NL/h}$  (zwischen  $10 \mu\text{m}$  und  $110 \mu\text{m}$ ). Dies ist wohl primär auf die Oberflächenspannung der Medien zurück zu führen, welche in Wasser mit  $73 \text{ mN/m}$  deutlich

höher liegt als in YMB mit 56 mN/m. Somit wurde für die Bildung von spezifischer Grenzfläche in APW mehr Energie benötigt, als in YMB. Eine weitere Rolle könnte die höhere Übersättigung, die in YMB erreicht wurde, spielen. Die zwei Verteilungen in YMB unterscheiden sich dadurch, dass die Flotationsanlage mit 2 NL/h oder 6 NL/h Gasvolumenstrom gefahren wurde. Durch die Höhe des Gasvolumenstroms verschob sich das Verhältnis aus durch DAF oder IAF generierten Blasen. Je größer der Anteil an Gas war, der nicht eingesättigt wurde, sondern in Form mitgerissener Primärblasen am Entspannungsventil durch erneute Dispersion in die Flotationszelle (durch IAF) eingebracht wurde, desto weiter verschoben sich die Anzahlhäufigkeitsverteilungen  $q_0$  hin zu größeren Blasendurchmessern. Eine Verbreiterung und Abflachung des Peaks war eine weitere Folge. Dabei wurde deutlich, dass die durch IAF erzeugten Blasen größer waren, als die durch DAF. Dies entspricht auch der Literatur, die besagt, dass DAF die Generation kleinerer Blasen ermöglicht als IAF (Edzwald 2010).

### 4.3 Verfahrenstechnische Einflussparameter der Flotation von Mikroorganismen<sup>4</sup>

Im Rahmen dieses Kapitels wurde das Teilziel verfolgt, die Flotationsratenkonstante des Modellmikroorganismus Hefe und die Energieeffizienz des Flotationsprozesses durch Abstimmung der operativen Prozessparameter zu optimieren. Flotationsmodelle zeigen eine lineare Abhängigkeit der Flotationsratenkonstante zur eingetragenen spezifischen Gasgrenzfläche sowie zur Flotationswahrscheinlichkeit, welche direkt durch die Blasengröße bedingt wird (Kapitel 2.4.1). Aus diesem Grunde wurde zunächst der operative Einfluss des Luft- und Recyclevolumenstroms und des Sättigungsdrucks auf die Blasengeneration, genauer auf die Blasengröße und den spezifischen Grenzflächeneintrag, betrachtet. Wie in Kapitel 4.2.2 detailliert beschrieben, erfolgte die Blasengeneration in der Laborflotationsanlage im Betrieb mit Koaleszenz hemmenden Medien nicht ausschließlich durch Druckentspannungsflotation (DAF), sondern wurde durch Induced Air Flotation (IAF) ergänzt. Dadurch war der Gaseintrag nicht, wie bei der reinen DAF, thermodynamisch durch die druckabhängige Gaslöslichkeit limitiert. Der in Form von Mikroblasen einzutragende Gasvolumenstrom ließ sich somit stark erhöhen. Messergebnisse des „Bubble Size Analyzers“ ergaben mit zunehmendem Gas- und Recyclevolumenstrom wie auch mit zunehmendem Sättigungsdruck steigende spezifische Grenzflächeneinträge. Unter diesen Bedingungen wurden auch die Flotationsratenkonstante und Energieeffizienz der Flotation analysiert. Die Flotationsratenkonstante stieg immer proportional zum spezifischen Grenzflächeneintrag, also war die kombinierte DAF/IAF von

---

<sup>4</sup> Die in diesem Kapitel präsentierten Ergebnisse wurden im Rahmen von (Gulden et al. 2018b) veröffentlicht. Die Daten und Abbildungen wurden mit Genehmigung von Elsevier in dieser Dissertation verwendet.

Vorteil für den Prozess. Die Flotationsenergieeffizienz wurde nur durch den zunehmenden Gasvolumenstrom signifikant verbessert, während ein steigender Recyclevolumenstrom und ein höherer Sättigungsdruck nur einen geringen Effekt zeigten. Somit ist die Anhebung des Gasvolumenstroms der interessanteste Prozessparameter, um die Flotation zu verbessern.

### 4.3.1 Einfluss auf die Blasengeneration

In diesem Abschnitt wird gezeigt, wie die Blasengeneration durch die operativen Prozessparameter Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$ , Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$  und Sättigungsdruck  $p$  beeinflussbar ist. Hierfür wurden die Blasengrößenverteilungen gemessen und damit der Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  der Verteilungen und die generierte Blasenoberfläche in Form des spezifischen Grenzflächeneintrags  $S_b$  nach Gleichung 2.12 berechnet.

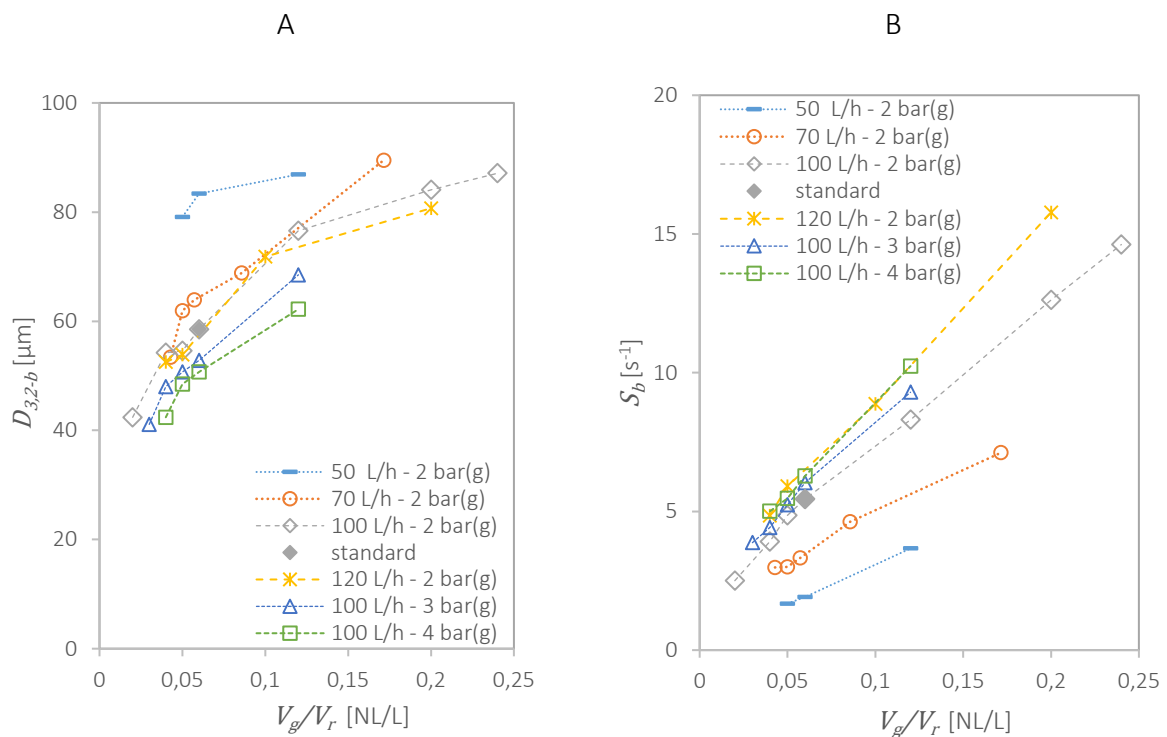


Abbildung 4.15: Einfluss des Gas-/Recyclevolumen-Verhältnisses  $V_g/V_r$  auf A) den Blasen-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  und B) den spezifischen Grenzflächeneintrag  $S_b$  der Flotation. Die operativen Einstellungen (s. Legende) lagen bei 50 – 120 L/h Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$  und bei 2 – 4 bar(g) Sättigungsdruck  $p$ .

Die Blasengrößenanalyse erfolgte im BSA. Um eine bessere Vergleichbarkeit der Daten mit den drei variierenden Prozessparametern zu erreichen, wurden die Ergebnisse über dem eingestellten Verhältnis aus Gas- und Recyclevolumen  $V_g/V_r$  aufgetragen.

In Abbildung 4.15 ist der Einfluss des Gas-/Recyclevolumen-Verhältnisses  $V_g/V_r$  auf den Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  (Abbildung A) und den spezifischen Grenzflächeneintrag  $S_b$  (Abbildung B) der Flotation ersichtlich.

Ein zunehmendes Gas-/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  verursachte steigende Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  für alle getesteten Recyclevolumenströme  $\dot{V}_r$ . Einen reduzierenden Effekt auf den Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  hatten hingegen sowohl die Zunahme des Recyclevolumenstroms  $\dot{V}_r$  als auch des Sättigungsdrucks  $p$ . Die geringsten Blasendurchmesser wurden dementsprechend bei den niedrigsten Gasvolumenströmen und höchstem Sättigungsdruck  $p$  gemessen.

Es ist bekannt, dass es die DAF erlaubt Blasengrößenverteilungen mit geringeren Sauter-Durchmessern  $D_{3,2-b}$  zu generieren, als die IAF (Edzwald 2010). Da das Gas-/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  in den meisten oben dargestellten Ergebnissen deutlich über der theoretischen Löslichkeit nach Henry (Henry 1803) lag (s. Kapitel 0), können nicht alle Blasen in der Flotationsanlage durch DAF generiert worden sein. Das überschüssige Gas lag im Drucksättiger bereits in Form kleiner Blasen vor. Diese wurden am Druckentspannungsventil erneut geschert und zerkleinert und somit durch IAF in die Flotationszelle eingetragen. Mit zunehmendem Gas-/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  nahm das Verhältnis der durch IAF erzeugten Blasen gegenüber den durch DAF erzeugten Blasen zu. Dieser mit steigendem Gaseintrag zunehmende Anteil an IAF Blasen und das Wissen, dass diese größere Durchmesser aufweisen als die DAF Blasen, erklären die Zunahme der Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  mit steigendem Gasanteil (Gulden et al. 2018c).

Nach den Gaslöslichkeitskonstanten von Henry (Henry 1803) ist das in einer Flüssigkeit lösliche Gasvolumen proportional abhängig vom bereitgestellten Flüssigvolumen und dem aufgegebenen Sättigungsdruck. Bei konstantem Gas/Recyclevolumen-Verhältnis stieg somit mit zunehmendem Druck  $p$  die Sättigung und damit der Anteil der durch DAF erzeugten Blasen, mit dem Resultat sinkender Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$ .

Ein größerer Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$  intensiviert die Gasdispersion im Drucksättiger und am Entspannungsventil. Dadurch konnte zunächst im Drucksättiger mehr Grenzfläche erzeugt werden und damit die Sättigung erhöht und der Anteil an DAF Blasen gegenüber dem der IAF Blasen gesteigert werden. Die intensivierte Dispersion am Entspannungsventil wird zudem dazu geführt haben, dass die durch IAF erzeugten Blasen stärkerer Scherung ausgesetzt wurden und somit verkleinert wurden. Beides führte zu sinkenden Sauter-Durchmessern  $D_{3,2-b}$ .

Eine Anhebung des Gas-/Recyclevolumen-Verhältnisses  $V_g/V_r$  sorgte wiederum bei konstantem Sättigungsdruck  $p$  und Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$  für einen gegenteiligen Effekt. Es verursachte

einen steigenden ungelösten Gasanteil im Sättiger und somit ein größeres IAF Volumen, was in steigenden Sauter-Durchmessern  $D_{3,2-b}$  resultierte.

Ein sinkender Sauterdurchmesser  $D_{3,2-b}$  verursachte bei konstantem Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$  einen steigenden spezifischen Grenzflächeneintrag  $S_b$ , da dieser nach Gleichung 2.12 reziprok zu  $D_{3,2-b}$  verläuft. Auf Grund der Proportionalität von  $S_b$  zu  $\dot{V}_g$  stieg der spezifische Grenzflächeneintrag ebenfalls mit zunehmendem Gasvolumenstrom an.

### 4.3.2 Einfluss auf die Flotationsratenkonstante

Im folgenden Kapitel wird der Einfluss der operativen Prozessparameter Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$ , Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$  und Sättigungsdruck  $p$  auf die Flotationskinetik gezeigt. Des Weiteren wird diskutiert, wie dieser Einfluss der operativen Prozessparameter mit den Schlüsselparametern Blasengröße und dem spezifischen Grenzflächeneintrag zusammenhängt. Die Flotationskinetik wurde in Form der leicht vergleichbaren Flotationsratenkonstante  $k$  dargestellt.

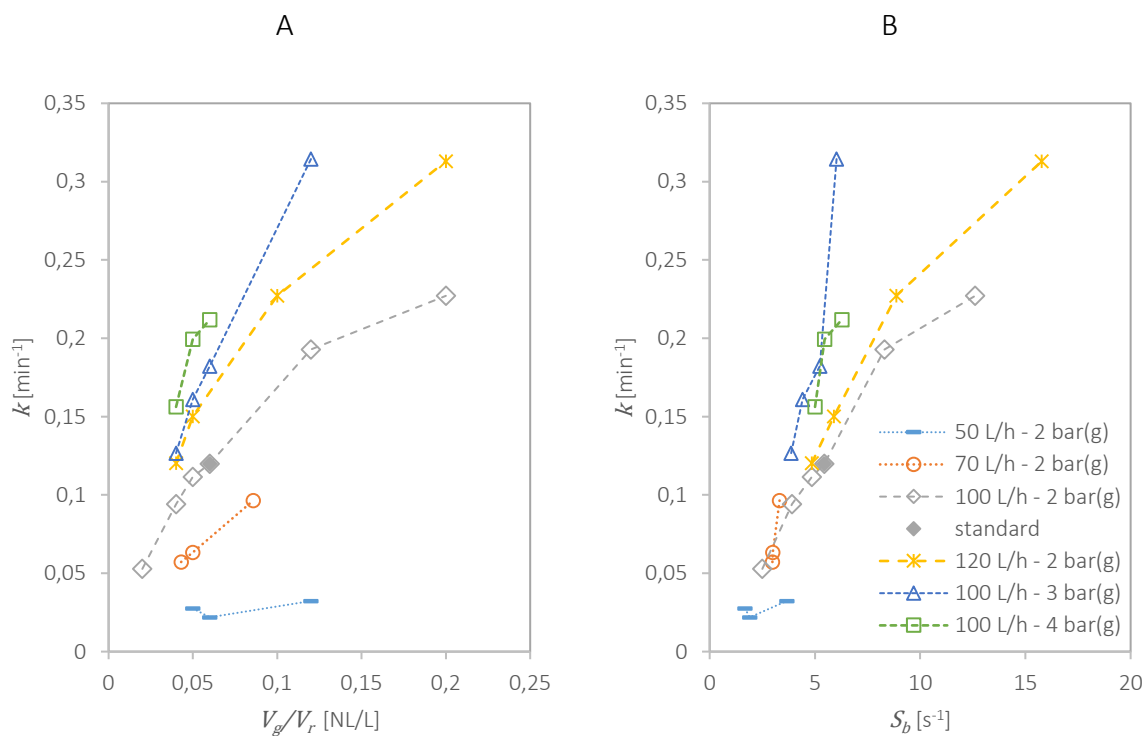


Abbildung 4.16: Variation der Flotationsratenkonstante  $k$  aufgetragen über A) dem Gas-/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  und B) dem generierten spezifischen Grenzflächeneintrag  $S_b$ . Die Legende gilt für beide Diagramme und beschreibt die operativen Einstellungen, welche bei einem Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$  von 50 – 120 L/h und bei einem Sättigungsdruck  $p$  von 2 – 4 bar(g) lagen.

In Abbildung 4.16 sind die Flotationsratenkonstanten  $k$  über dem Gas-/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  und dem generierten spezifischen Grenzflächeneintrag  $S_b$  aufgetragen. Bei

dem geringen Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$  von 50 L/h und dem Sättigungsdruck von 2 bar(g) wurden nur sehr geringe Flotationsratenkonstanten gemessen. Dies ist auf den geringen spezifischen Blasengrenzflächeneintrag  $S_b$  und die vergleichsweise großen Blasen-Sauter-Durchmesser von über 80  $\mu\text{m}$  zurück zu führen (s. Abbildung 4.15). Sie führten dazu, dass Flotation bei diesen Prozessparametern nur sehr langsam erfolgte. Aus diesem Grund wird die Einstellung eines Recyclevolumenstromes unterhalb von 70 NL/h und eines Sättigungsdrucks von unter 2 bar(g), als außerhalb des sinnvollen Arbeitsbereichs erachtet.

Direkte Flotationsmodelle (s. Gleichung 2.11) sprechen der Flotationsratenkonstante  $k$  eine direkte Proportionalität sowohl zur Flotationswahrscheinlichkeit, als auch zum spezifischen Grenzflächeneintrag  $S_b$  zu. Obwohl die gemessenen Flotationsratenkonstanten stetig mit zunehmendem spezifischem Grenzflächeneintrag  $S_b$  stiegen, so zeigen die Daten doch nur bei Grenzflächeneinträgen  $S_b$  bis  $6 \text{ s}^{-1}$  eine lineare Proportionalität. Für  $S_b$ -Werte von über  $6 \text{ s}^{-1}$  bzw. bei einem Gas-/Recyclevolumen-Verhältnis von über 0,12 NL/L stiegen die Flotationsratenkonstanten  $k$  weniger ausgeprägt. Ein ähnliches Verhalten wurde auch in Flotationsversuchen mit Kohle beobachtet. So konnte die Flotationsratenkonstante von Kohle durch zunehmendem Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$  zunächst gesteigert werden, erreichten dann aber ein Plateau und neigte bei weiter ansteigenden Begasungsraten dazu wieder abzufallen (Laplante et al., 1983; Qu et al., 2013). Der wahrscheinlichste Grund für diese Beobachtung sind der höhere Gasanteil und die zunehmenden Blasengrößen. Beide führen zu häufigeren Kollisionen zwischen Blasen und verursachen dadurch Koaleszenz. Die Koaleszenz von mit Partikeln beladenen Blasen kann zwar durch die an der Oberfläche sitzenden Partikeln verzögert werden. Kommt es jedoch zur Koaleszenz, werden die Blasen zunächst deformiert bevor sie eine Blase bilden und sich dadurch die Blasenoberfläche verkleinert. Dabei löst sich ein Teil der adsorbierten Partikeln (Ata et al. 2003). Dadurch kommt es zur Desorption und Resuspendierung bereits flotierter Partikeln aus dem Schaum.

Die Erkenntnisse zusammenfassend, konnte eine Steigerung der Flotationsratenkonstanten erreicht werden durch:

- ein zunehmendes Gas-/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$ ,
- einen zunehmenden Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$ ,
- einen zunehmenden Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$
- und einen zunehmenden Sättigungsdruck  $p$ .

Eine Zunahme des Recyclevolumenstroms  $\dot{V}_r$  erhöhte die Turbulenz im Kontaktbereich der Flotationszelle (s. Abbildung 2.2) und nahm damit positiven Einfluss auf die Kollisionswahrscheinlichkeit. In Kombination mit einem konstanten Gas-/Recyclevolumen-Verhältnis nahm zudem der Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  ab und der spezifische

Grenzflächeneintrag  $S_b$  zu. Beides hatte einen positiven Einfluss auf die Flotationsratenkonstanten.

Durch einen steigenden Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$  wurde bei konstantem Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$  zwar der Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  erhöht, eine Steigerung des spezifischen Grenzflächeneintrags  $S_b$  und der Flotationsratenkonstante  $k$  wurde jedoch dennoch erreicht. Daraus folgt, dass die Flotationswahrscheinlichkeit  $P$  in deutlich geringerem Maße negativ durch den steigenden Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  beeinflusst wurde, als der spezifischen Grenzflächeneintrag  $S_b$  positiv durch den höheren Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$ .

### 4.3.3 Einfluss auf die Energieeffizienz

Die Haupteinflussparameter des Energieverbrauchs der Druckentspannungsflotation sind die Bereitstellung der Druckluft und die Pumpleistung für den Recyclevolumenstrom. Die aufzubringende Energie kann als adiabate Gas-Kompression mit den Gleichungen 4.7 bis 4.9 berechnet werden (Stephan et al. 1986). Die für die adiabatische Kompression notwendige Kompressorleistung  $P^*_{K,12}$  von Umgebungsdruck  $p_1$  auf den geforderten Überdruck  $p_2$  basiert auf dem Stoffmengenstrom  $\dot{n}_g$ , der idealen Gaskonstante  $R = 8,314 \text{ J}/(\text{mol K})$ , der Umgebungstemperatur  $T$ , dem Isentropenkoeffizienten  $\kappa = 1,4$  und dem angenommenen elektrischen Wirkungsgrad des Kompressors  $\eta_{K,el} = 0,61$ , welcher das Ansaugen, Komprimieren, Kühlen, Trocknen und Filtern berücksichtigt (Krichel et al. 2012). Der Stoffmengenstrom  $\dot{n}_g$  wurde aus dem Luftvolumenstrom  $\dot{V}_g$ , seiner Dichte  $\rho_g = 1,293 \text{ kg}/\text{m}^3$  unter Normalbedingungen (1,013 bar Luftdruck und 273,5 K Temperatur) und der mittleren molaren Masse der Luft  $M_g = 28,949 \text{ g}/\text{mol}$  berechnet.

$$\dot{n}_g = \frac{\dot{V}_g \rho_g}{M_g} \quad 4.7$$

$$P^*_{K,12} = \frac{\dot{n}_g R T}{\kappa - 1} \left[ \left( \frac{p_u + p}{p_u} \right)^{\frac{\kappa-1}{\kappa}} - 1 \right] \quad 4.8$$

$$P^*_K = \frac{P^*_{K,12}}{\eta_{K,el}} \quad 4.9$$

Die notwendige Pumpleistung der Recyclepumpe wurde anhand von Gleichung 4.10 berechnet. In die Gleichung gehen der inkompressible Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$ , die Druckdifferenz  $\Delta p_l$  und der angenommene Pumpenenergiewirkungsgrad  $\eta_p = 0,7$  sowie der Pumpenmotorwirkungsgrad  $\eta_M = 0,9$  ein. Die Druckdifferenz  $\Delta p_l$  berücksichtigt neben dem Druckanstieg vom Umgebungsdruck auf den Sättigerdruck auch die Druckverluste am Dispersionsventil zwischen Pumpe und Sättiger.

$$P^*_P = \frac{\dot{V}_r \Delta p_l}{\eta_P \eta_M} \quad 4.10$$

Die gesamte aufzubringende Prozessleistung ist die Summe aus der Recyclepumpleistung  $P^*_P$  und der Kompressorleistung  $P^*_K$ . Damit lässt sich mit der Flotationsratenkonstante  $k$  eine Flotationsenergieeffizienz  $\eta_f$  in  $J^{-1}$  nach Gleichung 4.11 berechnen.

$$\eta_f = \frac{k}{(P_P + P_K)} \quad 4.11$$

Abbildung 4.17 zeigt die nach Gleichung 4.11 berechnete Flotationsenergieeffizienz  $\eta_f$  aufgetragen über dem Gas/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$ . Die Daten sind aufgezeichnet über den zugrundeliegenden operativen Flotationsparametern Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$ , variierend von 70-120 L/h, und Sättigungsdruck  $p$ , welcher zwischen 2 und 4 bar(g) lag.

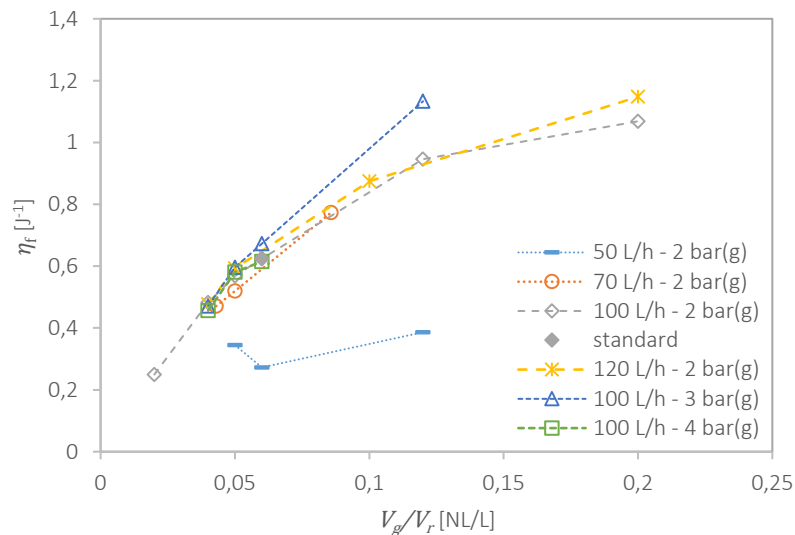


Abbildung 4.17: Einfluss des Gas/Recyclevolumen Verhältnisses  $V_g/V_r$  auf die Flotationsenergieeffizienz  $\eta_f$ . Die zugrundeliegenden Einstellungen der Flotationsanlage waren der Recyclevolumenstrom  $\dot{V}_r$  von 70 – 120 L/h und der Sättigungsdruck  $p$  von 2 – 4 bar(g).

Die Energieeffizienz nahm stetig mit zunehmendem Gas/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  zu. Die Korrelation der Energieeffizienz mit dem spezifischen Grenzflächeneintrag  $S_b$  verlief ähnlich (Daten nicht gezeigt). Bei konstantem Gas/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  war der Einfluss sowohl eines steigenden Recyclevolumenstroms  $\dot{V}_r$  als auch eines höheren Sättigungsdrucks  $p$  marginal. Sie ermöglichten zwar eine schnellere Flotation, also steigende Flotationsratenkonstanten  $k$ , dieser Vorteil wurde jedoch durch den dabei ebenfalls ansteigenden Energiebedarf kompensiert. Eine solche Kompensation fand bei steigendem Gas/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  nicht statt. Für die Beschleunigung der Flotation durch den zusätzlichen Gasvolumenstrom bedurfte es deutlich weniger zusätzlicher Energie. Somit



konnte mit zunehmendem Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$  die Flotationsratenkonstante  $k$  und die Flotationsenergieeffizienz  $\eta_f$  gesteigert werden. Bis zum Gas/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  von 0,12 NL/L nahm die Flotationsenergieeffizienz  $\eta_f$  proportional zum Gas/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  zu. Für Werte oberhalb eines Gas/Recyclevolumen-Verhältnisses  $V_g/V_r$  von 0,12 NL/L konnte die Flotationsenergieeffizienz  $\eta_f$  zwar weiter gesteigert werden, jedoch weniger ausgeprägt, wobei sich Ansätze eines Plateaus zeigten. Dies ist auf die geringere Steigerung der Flotationsratenkonstante  $k$  mit weiterem Gaseintrag zurück zu führen (s. Abbildung 4.16), da der notwendige Energieeintrag direkt proportional zum Gas/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  zunimmt. Wie bereits anhand der Flotationsratenkonstante  $k$  diskutiert, dürfte das beginnende Plateau auf eine Häufung von Partikeldesorption bei Blasenkoaleszenz zurückzuführen sein.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine relevante Steigerung der Flotationsenergieeffizienz  $\eta_f$  ausschließlich durch eine Steigerung des Gasvolumenstroms  $\dot{V}_g$  und somit des Gas/Recyclevolumen-Verhältnisses  $V_g/V_r$  möglich wurde. Deshalb ist der Gasvolumenstrom  $\dot{V}_g$  der relevanteste operative Prozessparameter, wenn eine Steigerung der Flotationsenergieeffizienz  $\eta_f$  angestrebt wird.

## 4.4 Untersuchung und Optimierung der Flotation mittels Schlüsselparameteranalysen<sup>5</sup>

Der Erfolg der Mikroorganismenflotation ist von wenigen Haupteinflussparametern abhängig und kann somit gezielt durch diese beeinflusst werden. Sie werden hier Schlüsselparameter genannt. Der Fokus dieses Kapitels liegt auf der Entwicklung und Kombination geeigneter Analysemethoden für die Schlüsselparameter Partikelgröße, Partikelhydrophobizität, Blasengröße und Partikel-Blase-Interaktionskraft. Die Flotationsratenkonstante des Mikroorganismus *S. cerevisiae* wurde in zwei Modellstoffsystemen, komplexer Fermentationsbrühe und isotonischer Saline, untersucht. Mit variierenden pH-Werten und Flockungsmittelkonzentrationen wurde gezielt Einfluss auf die Schlüsselparameter und somit auf das Flotationsergebnis genommen. Das Ziel war, den Effekt eines Additivs auf die Flotation durch Kombination der Schlüsselparameteranalysen begründen und vorhersagen zu können. Mit Hilfe der kombinierten Methoden war es möglich, die Flotierbarkeit von Mikroorganismen in Fermentationsbrühe in kleinstem Maßstab zu untersuchen und zu begründen. Zusätzlich konnten die Schlüsselparameteranalysen zur gezielten Prozessoptimierung mittels Additiven, wie Kollektoren, Schäumungsmitteln und Flockungsmitteln, genutzt werden.

### 4.4.1 Einfluss der Medienzusammensetzung und des pH-Wertes

Für diese Versuche wurde die Flotationsanlage unter Standardbedingungen betrieben. Als Flotationsmedien wurden sowohl Yeast-Malt-Broth (YMB) als auch isotonische Saline (NaCl) mit aktivierter Hefe genutzt. Um Einfluss auf die Schlüsselparameter der Flotation zu nehmen, wurde der pH-Wert der Medien variiert.

Die Ergebnisse sind gebündelt in Abbildung 4.18 dargestellt, um den direkten Vergleich der Ergebnisse der Flotation und der verschiedenen Analysemethoden zu erleichtern.

---

<sup>5</sup> Die in diesem Kapitel präsentierten Ergebnisse wurden im Rahmen von (Gulden et al. 2018a) veröffentlicht. Die Daten und Abbildungen wurden mit Genehmigung von Elsevier in dieser Dissertation verwendet.

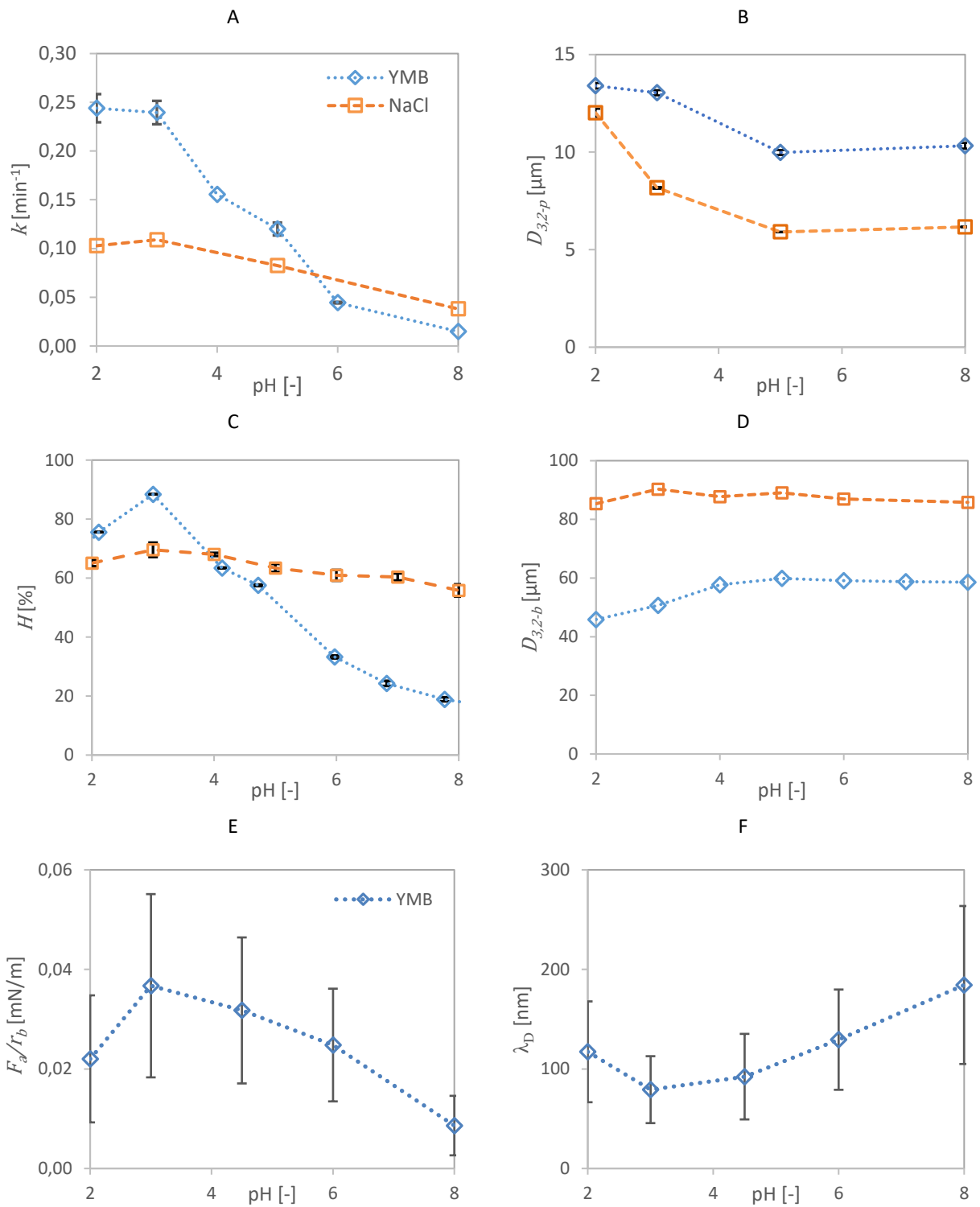


Abbildung 4.18: Einfluss des pH-Wertes der Medien Yeast-Malt-Broth (YMB) und isotonischer Saline (NaCl) auf A) die Flotationsratenkonstante von Hefe  $k$  B) den Partikel-Sauter-Durchmesser der Hefe  $D_{3,2-p}$  C) die Standard Hydrophobizität von Hefe  $H$  D) den Blasen-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  E) die Adhäsionskraft zwischen Hefe und Blase  $F_a/r_b$  F) die Debye-Länge  $\lambda_D$  zwischen Hefe und Blase.

Die Flotationsratenkonstante von Hefe  $k$ , s. Abbildung 4.19 A, war sowohl in YMB als auch in NaCl bei einem pH-Wert von 2 und 3 maximal und sank mit zunehmendem pH. Mit  $0,24 \text{ min}^{-1}$

in YMB bei einem pH-Wert von 2 lag die Flotationsratenkonstante in etwa doppelt so hoch wie in NaCl, wo sie nur  $0,11 \text{ min}^{-1}$  betrug. Bei einem pH-Wert von 8 lag  $k$  in YMB mit  $0,02 \text{ min}^{-1}$  nur halb so hoch wie in NaCl mit  $0,04 \text{ min}^{-1}$ . In den folgenden Abschnitten wird diskutiert, inwieweit sich diese Beobachtungen durch die Analyse der Flotationsschlüsselparameter begründen lassen.

Die Ergebnisse des pH-Wert Einflusses der Medien auf die Hefepartikelgröße, welche angegeben ist als Partikel-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-p}$ , sind in Abbildung 4.19 B gegeben. Bei dem natürlichen pH-Wert der Hefe von 5 lag ein Großteil der Hefezellen einzeln vor und nur wenige geflockte Hefezellen wurden detektiert. Der  $D_{3,2-p}$  lag bei einem pH-Wert von 5 in YMB bei  $10 \mu\text{m}$  und in NaCl bei  $5,9 \mu\text{m}$ . Mit sinkendem pH-Wert wurde eine Zunahme an Agglomeraten beobachtet, wodurch der  $D_{3,2-p}$  in YMB um ein Drittel auf  $13,5 \mu\text{m}$  und in NaCl um 100 % auf  $12 \mu\text{m}$  anstieg. Ein Anheben des pH-Wertes auf 8 zeigte in beiden Medien keinen signifikanten Einfluss auf die Partikelgröße.

Die Neigung der Hefezellen zur Agglomeration ist wahrscheinlich auf ihre Oberflächenladungen zurückzuführen. Durch die Zugabe von Salzsäure werden Wasserstoffionen frei, welche negativ geladene funktionelle Gruppen protonieren und somit die Nettoladung der Oberfläche und die Hydrophilität verringern, bzw. die Hydrophobizität steigern. Die Präsenz der Protonen kann außerdem zu Denaturierung von Proteinen führen. Dies betrifft sowohl die Membranproteine, als auch die suspendierten Proteine der YMB Lösung. Zwischen einem pH-Wert von 4 und 8 lag die YMB Lösung als klare gelbe Flüssigkeit vor, bei einem pH-Wert von 2 und 3 wurde sie jedoch trüb, was mit dem bloßen Auge sichtbar war (Bilder nicht gezeigt). Unter dem Lichtmikroskop wurde die Trübung als Denaturierung von Proteinen bestätigt (Daten nicht gezeigt).

Die native Struktur eines Proteins bildet sich durch energetische Vorteile bei dieser räumlichen Anordnung aus. In wässriger Umgebungen gebildete Proteine weisen aus diesem Grunde häufig an ihrer Oberfläche eher hydrophile funktionelle Gruppen auf, da diese in direktem Kontakt zum wässrigen Medium liegen. In ihrem Zentrum liegen dafür gehäuft hydrophobe Bereiche vor (Anfinsen 1973; Chothia 1974). Verliert ein Protein seine native Struktur durch Denaturierung, werden die hydrophoben inneren Bereiche nach außen verdreht und das Protein wird an seiner Oberfläche hydrophober. Diese Theorie wurde durch die Hydrophobizitätsanalyse der Hefepartikeln mit dem MATH Test (Geertsema-Doornbusch et al. 1993) bestätigt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.19 C zu sehen. In beiden Medien (YMB und NaCl) wurde ein Maximum der Hydrophobizität bei einem pH-Wert von 3 und ein Minimum bei einem pH-Wert von 8 gefunden. Der Einfluss des pH-Wertes auf die Hydrophobizität war in YMB deutlich ausgeprägter als in NaCl. In YMB lag die Hydrophobizität bei einem pH-Wert von 3 bei 88 % und bei einem pH-Wert von 8 bei 19 %. In NaCl war die Differenz zwischen der maximalen  $H$  von 70 % bei einem pH-Wert von 3 und dem Minimum bei einem pH-Wert von 8

von 56 % viel kleiner. Es ist durchaus möglich, dass die Hydrophobizität der Hefe nicht nur durch die Membranproteine, sondern auch durch die in der YMB suspendierten Proteine beeinflusst wurde. Wenn sich die suspendierten Proteine an die Hefeoberfläche angelagert haben, könnte dies sowohl hohe als auch niedrige Hydrophobizitätswerte verstärkt haben. Auch könnten suspendierte YMB Proteine empfindlicher auf Veränderungen des pH-Wertes reagiert haben und dadurch leichter denaturiert worden sein. Das wäre eine mögliche Erklärung, für die starken Differenzen zwischen YMB und NaCl. Dies dürfte auch der Grund dafür sein, dass die Flotationsratenkonstante in NaCl bei einem pH-Wert von 8 die in YMB bei einem pH-Wert von 6 überschritt. Denn nur bei einem pH-Wert von 8 lag die Hydrophobizität in NaCl mit 56 % höher als in YMB, wo sie bei 38 % bei einem pH-Wert von 6 und bei 19 % bei einem pH-Wert von 8 lag.

Der Einfluss des pH-Wertes auf die Adhäsionskraft und Debye-Länge, ist in Abbildung 4.19 E und F dargestellt, gemessen wurde mittels „Colloidal Probe“-Methode (Ditscherlein et al. 2018). Adhäsionskraft und Debye-Länge sind repräsentative Werte für die dominierenden Partikel-Blase Interaktionskräfte. Bei jedem pH-Wert wurden Messungen mit zwei Blasen durchgeführt. Nach der Anhaftung einer Blase am Cantilever waren bis zu 30 Messungen mit der „Colloidal Probe“ möglich, sodass die dargestellten Ergebnisse je pH-Wert die Mittelwerte aus 30 bis 60 Einzelmessungen sind. Der Mikroorganismen Monolayer weist eine raue, leicht ungleichmäßige Oberfläche auf, da sich zwischen den Organismen Täler befinden (Ditscherlein et al. 2018). Weil zudem die Kontaktfläche zwischen Hefe und Blase sehr gering ist, wurden hohe Standardabweichungen sowohl bei den Debye-Längen als auch bei den Adhäsionskräften dokumentiert.

Die Adhäsionskraft zeigte ein Maximum bei einem pH-Wert von 3 mit 0,037mN/m, wo sie 4,3-mal höher war, als das analysierte Minimum bei einem pH-Wert von 8 mit 0,009 mN/m. Die Größe der Debye-Länge verhielt sich genau andersherum. Sie wies bei einem pH-Wert von 3 ein Minimum mit 70 nm auf und lag bei einem pH-Wert von 8 mit 179 nm über 2,5-mal höher. Die Debye-Länge beschreibt den Einflussbereich des Oberflächenpotenzials und somit der elektrostatischen Interaktion (Butt 1991). Je größer die Debye-Länge, desto kleiner ist die Wahrscheinlichkeit der Anhaftung einer negativ geladenen Hefe an einer Blase mit einer negativ wirkenden Stern-Schicht (Gouy 1910; Chapman 1913; Stern 1924). Durch die kürzere Debye-Länge und damit kürzerer Reichweite der elektrostatischen Abstoßung, war die Flotationswahrscheinlichkeit bei einem pH-Wert von 3 höher. Die höhere Adhäsionskraft verstärkte den Effekt zusätzlich, da die Wahrscheinlichkeit des Aufbrechens des Hefe-Blase-Kontakts geringer war. Mit den Ergebnissen der Interaktionsmessungen von Mikroorganismus und Blase lässt sich somit das Flotationsverhalten gut begründen. Da die „Colloidal Probe“-Messwerte hohe Standardabweichungen aufweisen, sollten sie immer gemeinsam mit den

Hydrophobizitätsmessungen interpretiert werden. Die Resultate können sich gegenseitig bekräftigen.

Der einzige analysierte Schlüsselparameter, der bei pH-Wert Änderung keinen Einfluss auf die Flotation zu nehmen scheint, ist die Blasengröße. Wie in Abbildung 4.18 D dargestellt, zeigte die Blasengröße in NaCl im gesamten vermessenen pH-Spektrum von 2 bis 8 eine mittlere Blasengröße von  $87,5 \mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von  $1,5 \mu\text{m}$ . In YMB war die Blasengröße nur im Bereich eines pH-Wertes von 4 bis 10 konstant und lag bei  $58,8 \mu\text{m}$  mit einer Abweichung von nur  $0,5 \mu\text{m}$ . Bei einem pH-Wert von 2 und 3 ergab die BSA Analyse signifikant niedrigere Blasengrößen. Hier ist jedoch zu berücksichtigen, dass die YMB Lösung bei diesen pH-Werten von einer klaren in eine trübe Flüssigkeit umschlug, was die optische Auswertung erschwerte.

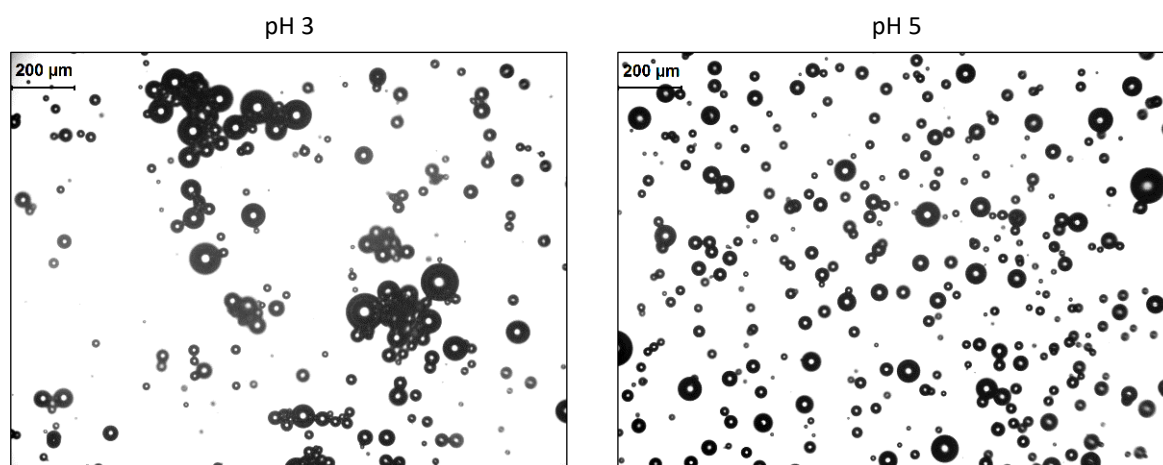


Abbildung 4.19: „Bubble Size Analyzer“-Bilder von Mikroblasen in Yeast-Malt-Broth (YMB) bei einem pH-Wert von 3 (links) und 5 (rechts).

Durch den niedrigen pH-Wert denaturierten, wie bereits oben geschildert, die sich in Suspension befindenden Proteine und fielen aus. Diese Proteine lagerten sich an der Blasenoberfläche an und provozierten die Bildung stabiler Protein-Blasen Cluster, die eine brombeerförmige Struktur aufwiesen (Abbildung 4.19, pH-Wert von 3). Die einzelnen Blasen im Cluster wurden durch die an der Blasenoberfläche befindlichen Proteine zusammengehalten. Die automatisierte Bildanalysesoftware ist in der Lage, sich überschneidende Blasen in Einzelblasen zu differenzieren (OpenCV 2016). Jedoch muss für die automatische Blasenerkennung durch die Software mindestens ein Drittel der Blasenrundung durchgehend sichtbar sein. Dies war in den Clustern oft nicht gegeben, sodass nur vereinzelt Blasen in den Clustern erkannt und der Blasengrößenverteilung zugerechnet wurden. Ebenfalls nicht berücksichtigt werden, konnten Blasen, die in der dreidimensionalen Struktur vollständig durch andere Blasen verdeckt wurden. Ein weiterer Software-Algorithmus verhinderte die Zählung unscharfer Blasen, die sich nicht in der Fokusebene befanden (National Instrument

2016). So mussten einige Blasen, die sich am Clusterrand befanden und durch die Hough Transformation erkannt wurden, vom Randfilter trotzdem verworfen werden. Auf Grund der Clusterbildung lagen einzelne Blasen nur noch vereinzelt vor und waren überdurchschnittlich oft klein. Somit ist das BSA Ergebnis bei niedrigen pH-Werten in YMB als nicht repräsentativ anzusehen. Die manuelle Analyse der Blasengröße ergab, dass die Blasen bei einem pH-Wert von 2 und leicht größer waren als bei höheren pH-Werten (Daten nicht gezeigt). Dies könnte teilweise auf statistische Ungenauigkeit zurück zu führen sein, da die analysierten Blasenanzahlen deutlich niedriger waren. Es ist denkbar, dass es trotz der Koaleszenz-Hemmung in YMB in den Clustern zu Koaleszenzen zwischen den dicht beieinanderliegenden Blasen kam und somit größere Blasen entstanden.

Da in NaCl bei allen und in YMB bei den meisten pH-Werten kein Einfluss auf die Blasengröße gemessen wurde, ist davon auszugehen, dass die Größen der Primärblasen, die am Entspannungsventil entstanden und somit im Kontaktbereich der Flotationszelle vorlagen, bei allen pH-Werten gleich waren. Somit sollte der spezifische Grenzflächeneintrag nicht unterschiedlich gewesen sein. Die Anlagerung der Proteine an den Blasengrenzflächen, die die stabile Bildung von Clustern ermöglichte, war vermutlich ein positiver Einfluss auf die Flotation. Die in der Grenzfläche angereicherten Proteine dienten wahrscheinlich als Kollektoren für die Mikroorganismen, was die hohen Flotationsratenkonstante bei einem pH-Wert von 2 und 3 begünstigt haben könnte. Außerdem wiesen die Cluster mit bis zu 50 Blasen deutlich höhere Auftriebsgeschwindigkeiten auf als kleinere Mikroorganismus-Blase Agglomerate. Dies könnten Gründe dafür sein, dass die Flotationsratenkonstante in YMB bei einem pH-Wert von 2 fast so hoch war, wie bei einem pH-Wert von 3, obwohl die Hydrophobizität bei einem pH-Wert von 2 niedriger war als bei einem pH-Wert von 3.

Dass die Flotationsratenkonstante in YMB fast immer höher war als in NaCl lässt sich aus dem Zusammenspiel der Schlüsselparameter begründen: In YMB waren die Partikel immer größer und die Blasen kleiner als in NaCl. Dies wurde zusätzlich durch die meistens höhere Hydrophobizität in YMB (außer bei einem pH-Wert von 6 und 8) begünstigt.

In YMB sank die Flotationsrate zwischen dem pH-Wert von 5 und 8 um den Faktor 8, von  $0,120 \text{ min}^{-1}$  auf  $0,015 \text{ min}^{-1}$ , was auf die Hydrophobizität zurückzuführen sein dürfte, welche um den Faktor 4 von 56,5 % auf 14,4 % sank, während Blasen- und Partikelgröße konstant blieben. In NaCl könnte die zwischen dem pH-Wert von 2 zu 3 signifikant gesunkene Partikelgröße und die nur geringfügig gestiegene Hydrophobizität die Ursache für eine ähnliche Flotationsratenkonstante bei einem pH-Wert von 2 und 3 sein. Ein Einfluss durch die Blasengröße ist auszuschließen, da diese im gesamten pH-Bereich in NaCl konstant war.

#### 4.4.2 Auswirkung des Flockungsmittels Chitosan

Im Folgenden werden die Einflüsse des Flockungsmittels Chitosan auf die Flotation von Hefe dargestellt und diskutiert. Dass Hefe und andere Mikroorganismen mit dem Biopolymer Chitosan geflockt werden können, ist in der Literatur beschrieben (Weir et al. 1993; Guibal et al. 2006; Mehdinejad et al. 2009). Obwohl Chitosan in dieser Arbeit in 0,1 M Salzsäure suspendiert eingesetzt wurde, hatte die Chitosan Zugabe zum Flotationsmedium keine signifikanten Auswirkungen auf dessen pH-Wert. Dies war wichtig, da ausgeschlossen werden sollte, dass der Chitosan Flockungseffekt durch pH-Wert Änderungen zusätzlich beeinflusst wird.

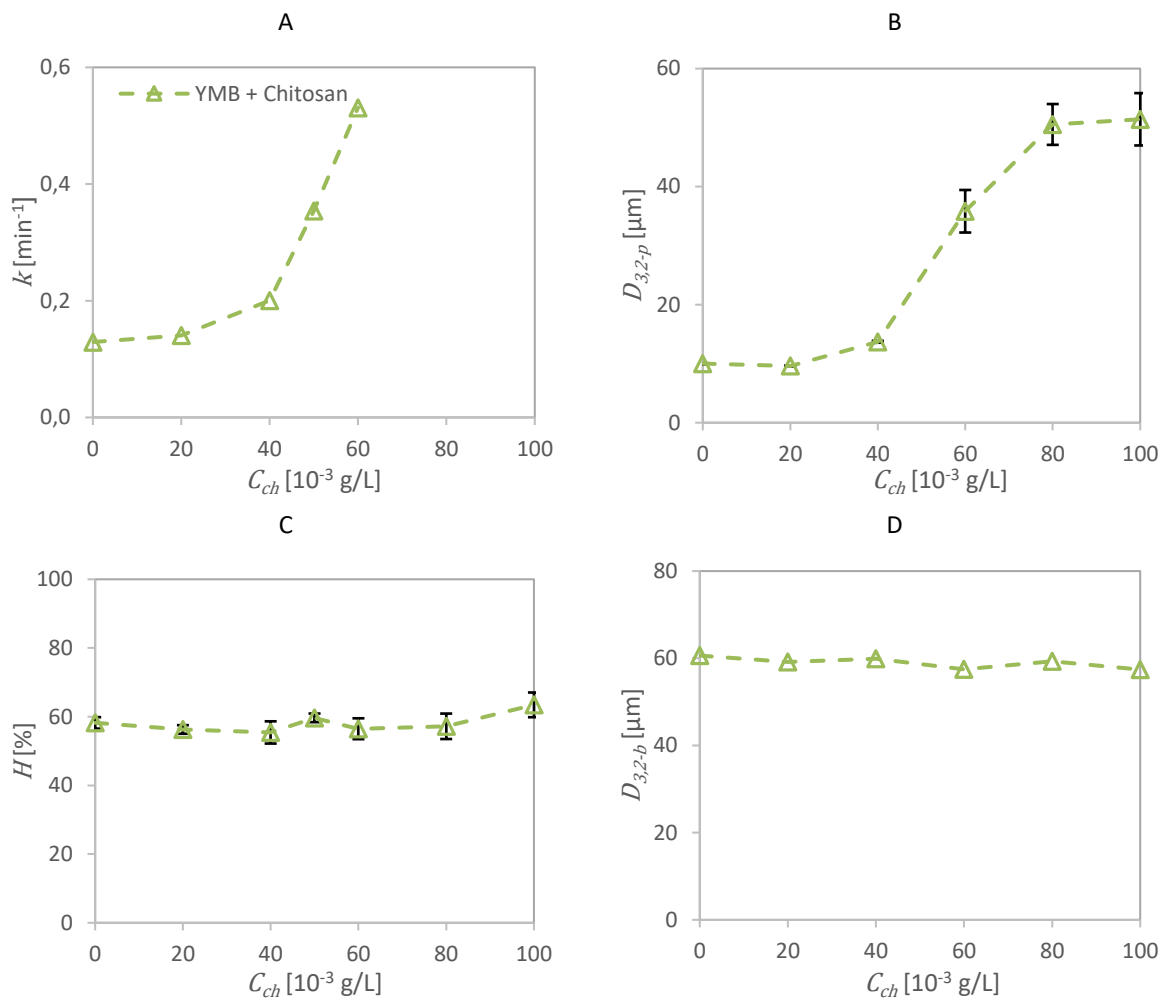


Abbildung 4.20: Einfluss der Flockungsmittelkonzentration des Biopolymers Chitosan  $C_{ch}$  auf A) die Flotationsratenkonstante von Hefe  $k$  B) den Partikel-Sauter-Durchmesser der Hefe  $D_{3,2-p}$  (C) die Standard Hydrophobizität von Hefe  $H$  und (D) den Blasen-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  in Yeast-Malt-Broth (YMB)

Die durch das Biopolymer verursachten Effekte weichen von denen im vorhergehenden Abschnitt 4.4.1 ab. Auch hier sind die Ergebnisse der Flotation, sowie der Analyse der Schlüsselparameter Partikel- und Blasengröße und Partikelhydrophobizität, der



Übersichtlichkeit halber, zusammengefasst (Abbildung 4.20). In Abbildung 4.20 A ist gezeigt, dass die Flotationsratenkonstante  $k$  von Hefe in YMB Medium mit zunehmender Konzentration des Biopolymers Chitosan  $C_{ch}$  im analysierten Bereich, exponentiell zunimmt. Flotationsversuche konnten bei höheren Chitosan Konzentrationen nicht mehr sinnvoll durchgeführt werden, da die Prozesszeiten sehr kurz und die Ergebnisse unzulänglich wurden.

Dies kann nicht auf die Partikelhydrophobizität (Abbildung 4.20 C) oder Blasengröße (Abbildung 4.20 D) zurück zu führen sein, da diese durch Chitosan nicht merklich beeinflusst wurden. Die mittlere Hydrophobizität der mit Chitosan geflockten Hefe lag bei 57 % mit einer Standardabweichung von 1,3 %. Die Blasengröße in der YMB Lösung hatte einen Mittelwert von  $59 \mu\text{m} \pm 1 \mu\text{m}$ .

Die Flotationsratenkonstante ist hier deshalb in direktem Zusammenhang mit der Partikelgröße  $D_{3,2-p}$  zu sehen, da beide bis  $60 \times 10^{-3} \text{ g/L}$  Chitosan exponentiell anstiegen. Ein weiteres Anheben der Polymerkonzentration auf  $80 \times 10^{-3} \text{ g/L}$  beziehungsweise auf  $100 \times 10^{-3} \text{ g/L}$  hatte einen abgeschwächten beziehungsweise kaum noch einen Effekt auf die Partikelgröße.

Das direkte Flotationsmodell nach Yoon beschreibt, dass die Flotationsratenkonstante proportional zu  $D_p^2$  (s. Gleichung 2.10) steigt. Die hier gezeigten Resultate lassen jedoch nicht auf einen quadratischen Zusammenhang schließen. Zwischen 0 und  $60 \times 10^{-3} \text{ g/L}$  Chitosan stieg die Flotationsratenkonstante linear zur Partikelgröße. Der Anstieg um den Faktor 3,6, von  $10 \mu\text{m}$  ohne Chitosan auf  $36 \mu\text{m}$  mit  $60 \times 10^{-3} \text{ g/L}$  Chitosan verursachte eine Zunahme der Flotationsratenkonstante um den Faktor 4,4, von  $0,12 \text{ min}^{-1}$  auf  $0,53 \text{ min}^{-1}$ . Die Sensitivität der mit Chitosan gebildeten Flocken gegenüber Scherung könnte ein Grund dafür sein. Die Flocken können reversibel auf Grund von Scherung und Turbulenzen zerfallen und anschließend bei Partikelkollision erneut entstehen. Für die offline Partikelgrößenmessungen im Mastersizer 2000 war eine Verdünnung auf 1:100 der Konzentration im Flotationsversuch notwendig. So ist es gut möglich, dass die analysierte Partikelgröße nicht ganz dem Wert in der Flotationszelle entsprach. Dennoch ist die durch die Messung gewonnene Information zur Partikelgröße wertvoll, da sie den richtigen Trend bestätigte.

Durch die Kombination der drei Messtechniken für die Analyse der Schlüsselparameter Partikel- und Blasengröße und Partikelhydrophobizität, konnten Rückschlüsse auf die Wirkungsweise von Chitosan gezogen werden. Es wurde weder ein Einfluss auf die Blasengröße noch auf die Hydrophobizität festgestellt. Die Hefeflockung durch Chitosan kann also nicht auf veränderte Hydrophobizität zurückgeführt werden. Die Steigerung der Flotationsratenkonstante ist ausschließlich auf die Anhebung der Partikelgröße durch Flockung und die damit einhergehende Reduktion der Partikelanzahlkonzentration zurück zu führen.

### 4.4.3 Kombination der Schlüsselparameteranalysen

Das Ziel, die Mikroorganismenflotation, durch geeignete Kombination von Schlüsselparameteranalysen, besser zu verstehen sowie deren Einflüsse erklären und gezielt variieren zu können, wurde erreicht. Messtechniken für die Schlüsselparameteranalyse Partikel-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-p}$ , Standard Hydrophobizität  $H$ , Blasen-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$ , Partikel-Blase Adhäsionskraft  $F_a/r_b$  und Debye-Länge  $\lambda_D$  wurden genutzt. Hierfür wurde der Einfluss verschiedener Flotationsmedien auf die Flotationsratenkonstante und die Schlüsselparameter untersucht. Experimente wurden mit dem Modell Mikroorganismus Hefe in zwei Flotationsmedien, in komplexer Yeast-Malt-Broth Fermentationsbrühe (YMB) und in isotonischer Natriumchlorid Saline (NaCl), durchgeführt. Wie aus der Literatur bekannt, wurde durch pH-Wert Variation und steigende Konzentration des Biopolymers Chitosan, Einfluss auf die Flotation genommen. Die gewonnenen Flotationsratenkonstanten wurden den Ergebnissen der Schlüsselparameteranalysen gegenübergestellt. Durch die Schlüsselparameteranalysen konnten die Wirkmechanismen erklärt und das Optimierungspotenzial der Additive auf die Flotation bewertet werden.

Die in YMB, verglichen mit NaCl, geringeren Blasengrößen hatten einen positiven Effekt auf die Flotationsratenkonstante. Insbesondere da sie einher gingen mit höheren Partikelgrößen und beide die Wahrscheinlichkeit der Kollision und Adsorption zwischen Partikel und Blase erhöhten. Zunehmende Partikelgröße, verursacht durch sinkende pH-Werte (in YMB und NaCl beobachtet) oder durch steigende Flockungsmittelkonzentration (nur in YMB dokumentiert) hatte einen starken positiven Einfluss auf die Flotationsratenkonstante. Die durch den pH-Wert ausgelöste Veränderung der Hydrophobizität fiel in YMB deutlich stärker aus, als in NaCl. Dies korrelierte gut, mit der Flotationsratenkonstante, welche ebenfalls in YMB eine ausgeprägtere Abhängigkeit vom pH-Wert zeigte, als in NaCl. Ein Grund dafür sind wahrscheinlich die in YMB suspendiert vorliegenden Proteine, die, ebenso wie die Membranproteine, durch den sauren pH-Wert hydrophober wurden und sich an der Hefeoberfläche anlagerten. Die Ergebnisse der direkten Hefe-Blase Wechselwirkungen: Adsorptionskraft und Debye-Länge, bestätigten die der Hydrophobizitätsmessungen und konnten die variierenden Flotationsratenkonstante ebenfalls begründen. In der Gesamtbewertung der Schlüsselparameterergebnisse zeigte sich, dass die Partikelhydrophobizität am stärksten durch den pH-Wert beeinflusst wurde. Dies führte zu Partikelagglomeration, höherer Adsorptionskraft und –wahrscheinlichkeit zwischen Hefe und Blase und dadurch auch zu einer höheren Flotationsratenkonstante. Eine Optimierung der Flotation konnte jedoch auch bei konstanter Hydrophobizität erreicht werden. Dies wurde durch die Zugabe von Flockungsmittel und die damit einhergehende Partikelgrößensteigerung gezeigt. Anhand der vorgestellten Laboranalysemethoden für die Schlüsselparameter konnten wertvolle Erkenntnisse über die Flotation gewonnen werden.

Außerdem ermöglichten sie die Untersuchung und Begründung des Prozessoptimierungspotenzials von Additiven.

Bei Kenntnis der Schlüsselparameter kann zukünftig die grundsätzliche Flotierbarkeit von Mikroorganismen in Fermentationsbrühen, selbst ohne Flotationsversuch, fundiert bewertet werden. Sie können zudem zum Screening interessanter Additive, wie Kollektoren, Schäumer und Flockungsmittel genutzt werden. Dabei wird deutlich weniger Material benötigt, als wenn direkt Flotationsversuche mit 6 L Batchvolumen durchgeführt werden müssten. Anhand der Ergebnisse der Schlüsselparameteranalysen kann durch Nutzung des Flotationsmodelles die Flotationskinetik direkt simuliert werden.

Die Kopplung einer CFD Modellierung der Flotationszelle mit der Flotationskinetik wäre ein interessanter nächster Schritt, der einen bestmögliche Abgleich zwischen Modell und Experiment ermöglichen würde.

## 4.5 Modellierung der Flotation<sup>6</sup>

In Rahmen dieses Kapitels wurde geprüft, ob es möglich ist, die Biomasse-Flotation durch ein Flotationsmodell anhand der Schlüsselparameter Partikelgröße  $D_p$ , Blasengröße  $D_b$  und Partikelhydrophobizität  $H$  zu beschreiben. Hierfür erfolgte eine Gegenüberstellung der experimentell und durch Modellierung ermittelten Flotationsratenkonstanten  $k$ .

Die experimentellen Flotationsratenkonstanten  $k$  wurde, wie in Abschnitt 4.1.1 geschildert, durch lineare Regression ermittelt. Zum Vergleich wurden zwei verschiedene Modellansätze genutzt um die Flotationsratenkonstanten  $k_m$  und  $k_{m\text{ Yoon}}$  anhand der Schlüsselparameter zu berechnen. Die beiden Flotationsmodelle wurden im Kapitel 2.4.1 detailliert beschrieben. Sie unterscheiden sich in der Berechnung der Adsorptionswahrscheinlichkeit  $P_a$ , welche ein Faktor der Flotationswahrscheinlichkeit  $P$  ist, zu der sich die Flotationsratenkonstante  $k_m$  proportional verhält.

Die Werte der Schlüsselparameter  $D_p$ ,  $D_b$  und  $H$ , sowie die experimentell ermittelten Vergleichswerte  $k$ , wurden im Kapitel 4.3 für variierende operative Einstellungen und im Kapitel 4.4 für variierende physico-chemische Einstellungen bereits gezeigt und diskutiert.

Die modellierten und experimentell ermittelten Flotationsratenkonstanten  $k_m$ ,  $k_{m\text{ Yoon}}$  und  $k$  sind einander in Abbildung 4.21 gegenübergestellt. In der Abbildung 4.21 A ist die Flotationsratenkonstante  $k_{m\text{ Yoon}}$ , nach Yoon et al., gegeben. Da die Induktionszeit basierend auf der Hydrophobizität, mit einer in dieser Arbeit entwickelten Gleichung 2.7 kalkuliert wurde,

---

<sup>6</sup> Die in diesem Kapitel präsentierten Ergebnisse wurden im Rahmen von (Gulden et al. 2018a) veröffentlicht. Die Daten und Abbildungen wurden mit Genehmigung von Elsevier in dieser Dissertation verwendet.

war zunächst zu prüfen, ob diese Abschätzung passend war. Für die Daten in YMB bei variierendem pH-Wert wurde der stärkste Einfluss auf die Hydrophobizität dokumentiert, dafür blieb die Blasengröße konstant und die Partikelgröße wurde nur in geringem Maße beeinflusst (s. Abbildung 4.18). Da die  $k_{m\ Yoon}$  Werte dieser Datenreihe wenig von den experimentell bestimmten Werten abweichen, konnte durch sie nachgewiesen werden, dass die Abschätzung der Induktionszeit anhand der Hydrophobizität zulässig ist. Für die weiteren Daten traten erhebliche Abweichungen zwischen  $k_{m\ Yoon}$  und  $k$  auf. Dies ist wohl auf eine Überschätzung des Einflusses sowohl der Partikel- als auch der Blasengröße auf die Adsorptionswahrscheinlichkeit zurück zu führen. Denn die größten Abweichungen sind bei den Daten zu finden, bei welchen die Partikelgröße oder die Blasengröße stark zunahm. Der Einfluss beider Größen wurden meistens überschätzt.

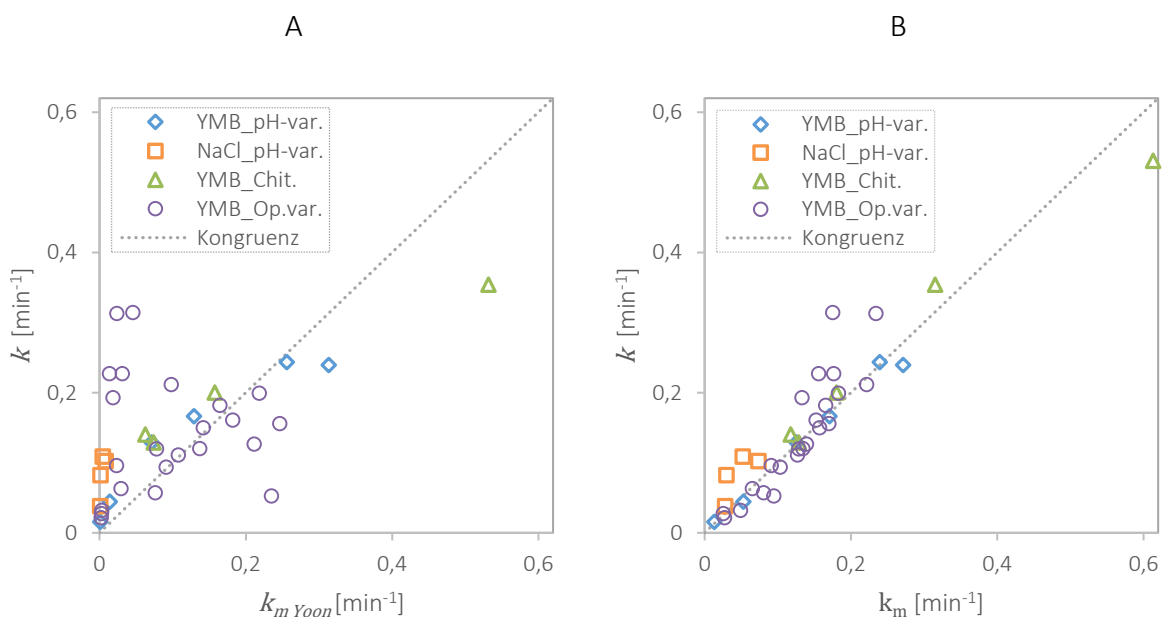


Abbildung 4.21: Gegenüberstellung der experimentell ermittelten Flotationsratenkonstanten  $k$  mit den modellierten Konstanten (A)  $k_{m\ Yoon}$  und (B)  $k_m$  für variierende physico-chemische Einstellungen, wie pH-Wert Variationen in YMB und NaCl oder zunehmende Chitosan Flockungsmittelkonzentrationen und verschiedene operative Einstellungen in YMB.

Nahm die Partikelgröße zu, z.B. durch Chitosan Flockungsmittel (YMB-Chit.), so lag  $k_{m\ Yoon}$  bei einer Konzentration von  $40 \cdot 10^{-3}$  g/L bei  $0,532 \text{ min}^{-1}$ , während  $k$  bei  $0,315 \text{ min}^{-1}$  lag und bei  $60 \cdot 10^{-3}$  g/L lag  $k_{m\ Yoon}$  bei  $2,89 \text{ min}^{-1}$ , während  $k$  bei  $0,53 \text{ min}^{-1}$  lag. (Wert auf dem Diagramm nicht dargestellt, da er ein Ausreißer ist.) Deutlich größere Blasen wurden sowohl in der isotonischen Saline (NaCl-pH var.), als auch in YMB bei variierenden operativen Einstellungen (YMB-Op. var.) gemessen. Je höher die Blasengröße war, desto stärker wich die simulierte Flotationsratenkonstante  $k_{m\ Yoon}$  von der experimentell bestimmten  $k$  ab.

Die Abweichungen zwischen  $k$  und  $k_{m\ Yoon}$  legten die Vermutung nahe, dass in der Berechnung der Flotationswahrscheinlichkeit (Gleichung 2.10) die Abhängigkeit von der Partikelgröße und von der Blasengröße überbewertet wird. Aus diesem Grunde wurde eine Formel für die Ermittlung der Flotationsratenkonstante  $k_m$  basierend auf den experimentellen Daten dieser Arbeit entwickelt. Die Kalkulation des spezifischen Grenzflächeneintrags erfolgte weiterhin nach Gleichung 2.12. Auch die Kollisionswahrscheinlichkeit wurde weiterhin mit Gleichung 2.3 berechnet, da diese für eine Stokes Strömung in der Flotationszelle gilt, welche hier auf Grund der geringen Blasengrößen vorliegt. Deshalb musste eine Anpassung der in die Flotationswahrscheinlichkeit eingehenden Adsorptionswahrscheinlichkeit erfolgen, um eine optimierte Abhängigkeit von den Schlüsselparametern Partikelgröße und Blasengröße wiederzugeben. In der entwickelten Adsorptionswahrscheinlichkeit  $P_a$  ist eine exponentielle Abhängigkeit von der Hydrophobizität berücksichtigt und die Partikelgröße  $D_p^{-0,75}$  und Blasengröße  $D_b^{0,55}$  gehen mit den Exponenten -0,75 und 0,55 ein. Somit nimmt die Adsorptionswahrscheinlichkeit weiterhin mit zunehmender Partikelgröße zu und mit zunehmender Blasengröße ab, jedoch in abgeschwächter Form. Wie in Abbildung 4.21 B dargestellt, ist es dadurch gelungen eine optimierte Abhängigkeit der Flotationsratenkonstante von den Schlüsselparametern Partikelgröße und Blasengröße herzustellen. Die nach dem neuen Modell berechnete Flotationsratenkonstante  $k_m$  wies deutlich bessere Übereinstimmungen mit der experimentell ermittelten Flotationsratenkonstante  $k$  auf als  $k_{m\ Yoon}$ . Die stärksten Abweichungen ergaben sich in NaCl mit variierendem pH-Wert und in YMB bei hohen Gasvolumenströmen. Dort wurde die Adsorptionswahrscheinlichkeit unterschätzt und die modellierte Flotationsratenkonstante  $k_m$  war niedriger als die experimentelle  $k$ . Der Grund dafür könnte sein, dass die gemessenen Blasengrößen die realen Blasengrößen im Kontaktbereich der Flotationszelle überschritten. Das Risiko von Blasenkoaleszenz ist in beiden Fällen erhöht. Denn bei isotonischer Saline handelt es sich auf Grund der hohen Oberflächenspannung und der geringen Ionenkonzentration um ein Koaleszenz förderndes Medium. Obwohl YMB ein Koaleszenz hemmendes Medium ist, kommt es darin, wegen des erhöhten Gasanteils und der dadurch höheren Blasen kollisionswahrscheinlichkeit, eher zu Koaleszenz. Bei den hohen Gasvolumenströmen könnte jedoch auch noch ein weiterer Aspekt bedeutend sein. Wie bereits bei der experimentellen Flotationsratenkonstante diskutiert, könnte das beginnende Plateau der experimentellen Flotationsratenkonstante  $k$  bei hohem Gas-/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  auf eine Häufung von Partikeldesorption bei Blasenkoaleszenz zurückzuführen sein. In diesem Falle müsste die Desorptionswahrscheinlichkeit an Bedeutung gewinnen, welche bisher als vernachlässigbar klein angenommen wurde.

Die Flotationsratenkonstante  $k_m$  zeigte für die meisten Einstellungen sehr gute Übereinstimmungen mit den experimentellen Werten. Somit könnte das Flotationsmodell

zukünftig genutzt werden, um die Flotierbarkeit von Mikroorganismen oder biologischem Material anhand der Analyseergebnisse der angeführten Schlüsselparameter vorherzusagen und zu optimieren. Interessant wäre eine Erweiterung des Modells um einen Term für die Desorptionswahrscheinlichkeit, damit auch besondere Fälle wie eine Flotation in Koaleszenz fördernden Medien oder unter sehr hohen Gasvolumenströmen besser abgebildet werden können. Auch wäre eine Kopplung des Flotationsmodells mit CFD Analysen spannend, da somit der Prozess nicht nur zeitlich, sondern auch örtlich aufgelöst betrachtet würde.

## 5 Schlussfolgerungen und weiteres Vorgehen

In dieser Arbeit wurde das Potenzial der Separationstechnik Flotation untersucht, für die Zellernte im biotechnologischen Downstream-Prozess für die Zellernte eingesetzt zu werden. Die Schlussfolgerungen aus den Ergebnissen und die sich daraus ergebenden Ansätze für ein weiteres Vorgehen wurden den Zielsetzungen entsprechend in drei Hauptaspekte gegliedert.

### A) Design, Konstruktion und Charakterisierung einer Laborflotationsanlage

Da die Druckentspannungsflotation dafür geeignet ist energieeffizient Blasen mit geringen Durchmessern innerhalb einer engen Blasengrößenverteilungen zu generieren, wurde sie in dieser Arbeit als Flotationstechnik für die Zellernte im biotechnologischen DSP gewählt. Dafür wurde eine Laboranlage entwickelt, deren Blasenerzeugung auf dem Prinzip der Druckentspannungsflotation beruht. Es wurde eine Wirtschaftlichkeitsbetrachtung durchgeführt, in der die Flotation mit den etablierten Zellernteverfahren der Zentrifugation und der Querstromfiltration verglichen wurde. Die sich pro Tonne aufbereitetes Produkt ergebenden Kosten der Zellernte setzen sich zusammen aus den Kosten für die Abschreibung der installierten Anlage, für die Instandhaltung, für den Energiebedarf und für den Additivaufwand. Die kalkulierten Kosten der Querstromfiltration beliefen sich auf knapp das Doppelte und die der Zentrifugation auf das Anderthalbfache der Kosten bei der Flotation. Der Energiebedarf der Flotation lag bei nur 63 % beziehungsweise 19 % des Bedarfs bei der Zentrifugation beziehungsweise der Querstromfiltration. Diese Ergebnisse belegen, dass die Flotation sowohl finanziell als auch energetisch nicht nur eine konkurrenzfähige, sondern die attraktivste Separationstechnik sein kann.

Für Flotationsexperimente wurde eine Fermentationsbrühe mit dem Modellmikroorganismus *S. cerevisiae* gewählt. Die Abnahme der Hefekonzentration wurde über der Zeit dokumentiert und aus den Konzentrationswerten mittels linearer Regression die Flotationsratenkonstante ermittelt. Die Daten wiesen eine hohe Reproduzierbarkeit auf. Bilder von mit Mikroorganismen überzogenen Gasblasen sprechen dafür, dass die Hydrophobizität und damit die Affinität der Hefe, sich an die Blasengrenzfläche anzulagern, ausreichend groß war und es sich bei der Flotation von Hefe um direkte Flotation handelte.

Theoretische Charakterisierungen ergaben, dass mit sinkender Blasengröße und bei gleichen Gasvolumenstrom der spezifische Grenzflächeneintrag zunimmt, was für den Flotationsprozess von Vorteil ist. Dafür sinkt jedoch die Auftriebsgeschwindigkeit der Blase mit der Blasengröße und je stärker die Blasenoberfläche mit Mikroorganismen belegt ist, desto niedriger wird die Auftriebsgeschwindigkeit des Mikroorganismus-Blase-Komplexes in der Flotationszelle. Die Berechnungen des theoretischen Gaseintrags durch Druckentspannungsflotation zeigte, wie

groß der Gasvolumenstrom bei gegebenem Recyclevolumenstrom maximal sein kann, wenn es sich um reine DAF handelt. Vergleiche zwischen Blasenschwarmbildung im Computational Fluid Dynamics (CFD) Modell und dem Experiment in der Laboranlage wiesen darauf hin, dass mit reiner DAF das einzubringende Gasvolumen in die Laborflotationszelle bei unter 90 % des thermodynamisch maximalen Gasvolumens lag, was auf die Sättigungseffizienz im Drucksättiger zurückzuführen war.

Strömungsprofile und Verweilzeiten für gewählte Anlageneinstellungen wurden mittels CFD abgeschätzt und mit Strömungsversuchen verglichen. Die Ergebnisse wiesen auf eine inhomogene Strömung und sowie auf relativ lange Verweilzeiten in der Flotationszelle hin. Dies kann einen negativen Effekt auf die im Batch- Verfahren ermittelte Flotationsratenkonstante haben, da Mikroorganismen im unteren Beckenvolumen erschwert und deshalb erst nach langer Versuchszeit in Kontakt mit den Blasen gebracht werden können. Aus diesem Grunde kann nicht direkt aus der Flotationsratenkonstante aus Batchversuchen auf ein im realen Prozess benötigtes Verhältnis von Recyclevolumen zu Zulaufvolumen in einem kontinuierlichen Verfahren geschlossen werden. Jedoch dürften die Trends, ob sich einzelne Prozessparameter beschleunigend oder hemmend auf den Batch-Prozess auswirken, gut übertragbar und somit wertvoll für die Prozessoptimierung des kontinuierlichen Verfahren sein.

Mit der Zielsetzung die Blasengröße und den spezifischen Grenzflächeneintrag als Schlüsselparameter der Flotation in der Laboranlage zu analysieren, wurde eine online-Blasengrößenanalysetechnik mit automatisierter Software für die Bildauswertung entwickelt, der „Bubble Size Analyzer“ (BSA). Die Evaluation des BSA erfolgte anhand von Größenmessungen mit Standardpartikeln und Blasen. Sie ergab, dass der BSA dazu geeignet ist Partikel- und Blasengrößen im Größenspektrum von 10 bis 100  $\mu\text{m}$  zu messen. Die Relevanz isokinetischer Probenahme und korrekt eingestellter Softwareparameter wurde experimentell bestätigt. Die Verweilzeit im Probenentnahmesystem des BSA sollte so kurz wie möglich gewählt werden. So können Abweichung der gemessenen gegenüber den realen Blasengrößen in der Flotationszelle, verursacht durch die Koaleszenz von Blasen, vermieden werden. Mit dem BSA wurde der Einfluss operativer Flotationsanlagenparameter und verschiedener Medien auf die Blasengeneration untersucht. Dabei wurde deutlich, dass es sich bei der Flotation in Fermentationsbrühe nicht um eine reine Druckentspannungsflotation, sondern um eine gemischte IAF und DAF handelte. Daher konnte der vorher theoretisch ermittelte, thermodynamisch limitierte Gasvolumenstrom der reinen DAF in der Praxis deutlich überschritten werden.

Der BSA ermöglicht durch die online-Installation eine Probenahme und lässt sich auch anderweitig einsetzen. Zum Beispiel in Prozessen, in denen Blasengrößen von Bedeutung für das Verfahren sind und in denen Ihre Analyse für die Prozessoptimierung hilfreich sein kann.



Durch angepasste Softwareeinstellungen kann der BSA außerdem für Partikelgrößenanalysen genutzt zu werden.

### **B) Untersuchung des Einflusses operativer Prozessparameter auf die Flotation**

Der Einfluss verfahrenstechnischer Prozessparameter auf den Schlüsselparameter Blasengröße wurde untersucht. Die Analysen zeigten eine Reduktion der Blasengröße sowohl durch einen steigenden Recyclevolumenstrom, wie auch durch einen steigenden Sättigungsdruck und durch ein abgesenktes Gas-/Recyclevolumen-Verhältnisses. Im Falle eines steigenden Recyclevolumenstroms und eines steigenden Sättigungsdrucks ist dies begründet durch eine erhöhte Sättigung, wodurch es zu einem Anstieg des Anteils an kleineren Druckentspannungsblasen gegenüber den größeren dispergierten Blasen kam. Auch führten diese beiden Prozessparameter zu einer schnelleren Druckentspannung bzw. einem höheren Druckabfall wodurch es zu höherer Übersättigung und intensiverer Dispersion am Entspannungsventil kam. Damit wurde auch der weitere Schlüsselparameter, der spezifische Blasengrenzflächeneintrag, gesteigert. Mit einem abgesenkten Gas-/Recyclevolumen-Verhältnisses verschob sich ebenfalls das Verhältnis zwischen Druckentspannungs- und dispergierten Blasen. Hier sorgte der insgesamt niedrigere Gaseintrag dafür, dass weniger ungesättigtes Gas vorlag. Das führte zu einer sinkenden Blasenanzahlkonzentration und einem sinkenden spezifischen Blasengrenzflächeneintrag.

Eine Steigerung der Flotationsratenkonstante wurde in der gemischten Induced/Dissolved Air Flotation bei konstantem Gas/Recyclevolumen Verhältnis durch eine Anhebung des Recyclevolumenstroms oder eine Erhöhung des Sättigungsdrucks erreicht. Eine weitere Möglichkeit zur Steigerung der Flotationsratenkonstante bestand in der Erhöhung des Gasvolumenstroms bei konstantem Recyclevolumenstrom und Sättigungsdruck. Wie Flotationsexperimente zeigten, war letzteres der energieeffizienteste Weg die Flotationsratenkonstante anzuheben. Ein positiver Einfluss auf den Flotationsprozess durch einen erhöhten Gasvolumenstrom konnte durch eine Anhebung des Recyclevolumenstroms, eine Absenkung der Temperatur des Flotationsmediums und eine Erhöhung des Sättigungsdrucks erreicht werden.

Die Erkenntnisse wurden genutzt um den Einfluss verfahrenstechnischer Einflussparameter auf die Flotationsratenkonstante mit Änderungen der Schlüsselparameter Blasengröße und spezifischer Blasengrenzflächeneintrag zu begründen. Verursachte die Reduktion der Blasengröße einen steigenden spezifischen Blasengrenzflächeneintrag, wie es für steigenden Recyclevolumenstrom oder Sättigungsdruck der Fall war, so ermöglichte dies eine Steigerung der Flotationsratenkonstante. Dies war jedoch nicht der Fall, wenn der spezifische Blasengrenzflächeneintrag trotz sinkender Blasengröße abnahm, wie es mit sinkendem Gas-/Recyclevolumen-Verhältnisses der Fall war. Dabei sank die Flotationsratenkonstante. Der

negative Einfluss des niedrigeren Gasvolumenstroms auf den spezifischen Blasengrenzflächeneintrag und die Flotationsratenkonstante war demnach ausschlaggebend gegenüber dem positiven Einfluss durch die sinkende Blasengröße.

In einem nächsten Schritt wurde die Energieeffizienz der Flotation betrachtet, indem die Flotationsratenkonstante mit der benötigten Prozessenergie korreliert wurde. Die Steigerung der Flotationsratenkonstante durch verfahrenstechnische Parameter ging immer einher mit einem höheren notwendigen Energieeintrag. Das Erreichen einer höheren Flotationsratenkonstante durch einen steigenden Recyclevolumenstrom oder Sättigungsdruck wurde kompensiert durch einen deutlich höheren Energieaufwand. Dadurch war der Einfluss auf die Energieeffizienz der Flotation vernachlässigbar. Eine relevante Steigerung der Flotationsenergieeffizienz war ausschließlich durch eine Steigerung des Gasvolumenstroms und somit des Gas/Recyclevolumen-Verhältnisses möglich. Deshalb ist der Gasvolumenstrom der relevanteste operative Prozessparameter, wenn eine Steigerung der Flotationsenergieeffizienz angestrebt wird.

Es kann nicht direkt aus der im Batch-Verfahren ermittelten Flotationsratenkonstante, auf das benötigte Verhältnis von Recyclevolumen zu Zulaufvolumen in einem kontinuierlichen Prozess geschlossen werden. Jedoch dürften Trends von Prozess beschleunigenden und hemmenden Prozessparametern übertragbar und somit wertvoll zur Prozessoptimierung sein. Diese Überführung der Erkenntnisse in die Anwendung bei kontinuierlicher Flotation und ein Scale-up des Anlagenmaßstabs sind wichtige nächste operative Schritte für die praktische Prozessoptimierung.

### **C) Beschreibung der Flotation durch das Zusammenspiel von Schlüsselparametern**

Neben den verfahrenstechnischen wurden auch physico-chemische Einflüsse auf die Flotation untersucht. Da die Flotation von Hefe durch Variation des Mediums, des pH-Wertes und durch Additive beeinflusst werden kann, wurde ihr Einfluss auf die Flotationsratenkonstante und die Schlüsselparameter Partikelgröße, Partikelhydrophobizität, Blasengröße und spezifischer Blasengrenzflächeneintrag betrachtet. Es wurden Methoden zur Analyse der Schlüsselparameter präsentiert und diskutiert, in wieweit aus den gewonnenen Informationen und ihrer Kombination Rückschlüsse auf die Flotation gezogen werden können. Als Flotationsmedien wurden sowohl Yeast-Malt-Broth (YMB) als auch isotonische Saline (NaCl) eingesetzt. Salzsäure und Natronlauge wurden als pH-Stellmittel und das Biopolymer Chitosan als Flockungsmittel eingesetzt. Das Resultat war, dass die Schlüsselparameterergebnisse geeignet sind, um Flotationsergebnisse zu begründen und Wirkmechanismen von Additiven aufzudecken. Dass YMB gegenüber NaCl als Flotationsmedium geeigneter war, zeigte sich an einer höheren Flotationsratenkonstante. Als Grund hierfür sind die positiven Einflüsse auf die Schlüsselparameter zu nennen. Von Vorteil war, dass in YMB geringere Blasengrößen vorlagen

und somit höhere spezifische Grenzflächeneinträge ermöglicht wurden. Ein weiterer Grund war, dass die Partikelgröße in YMB höher war und die Hydrophobizität bei den meisten Versuchen über der in NaCl lag. An dieser Stelle kann der Einfluss des pH-Wertes auf die Flotation genannt werden. Dieser war in YMB deutlicher als in NaCl. Gleiches galt für dessen Einfluss auf die Hydrophobizität, welcher in YMB stark und in NaCl nur schwach ausgeprägt war. Nur wenn die Hydrophobizität in YMB die in NaCl deutlich unterschritt, sorgte dies für eine stark reduzierte Flotationsratenkonstante in YMB, die niedriger als die in NaCl war. Der positive Einfluss von Partikelgröße und Blasengröße erschien durch die geringere Hydrophobizität überkompensiert. Dies erlaubte die Schlussfolgerung, dass bei unzureichender Hydrophobizität eine Optimierung der weiteren Schlüsselparameter wenig Erfolg verspricht. Ist jedoch eine ausreichende Hydrophobizität gegeben, so kann sowohl durch geringere Blasengrößen und größeren spezifischen Grenzflächeneintrag, als auch durch gesteigerte Partikelgrößen eine höhere Flotationsratenkonstante erreicht werden. Geringere Blasengrößen und größerer spezifischer Grenzflächeneintrag können durch Absenkung der Oberflächenspannung des Flotationsmediums und Senkung seiner Koaleszenzneigung erreicht werden.

Durch die Schlüsselparameteranalysen können einzelne Einflussfaktoren ausgeschlossen werden, wenn diese trotz Additivzugabe konstant bleiben. So kann mit der Kombination der Schlüsselparameteranalysen die Wirkungsweise eines Additivs genau beschrieben und erklärt werden. Somit konnte das Ziel, die Schlüsselparameteranalysen zu nutzen, um ein besseres Verständnis des Flotationsprozesses zu erlangen und das Optimierungspotenzial durch gerichtete Additivzugabe spezifisch ausnutzen zu können, erreicht werden.

Denkbar ist zudem, bessere Flotationsbedingungen durch Additivzugaben oder verfahrenstechnische Einstellungen zu schaffen und diese anhand der Schlüsselparameteranalysen zu bewerten. Durch Additive können die Partikel vergrößert und ihre Hydrophobizität gesteigert werden. Auch können die Adhäsionskräfte zwischen Partikel und Blase gesteigert und die Debye-Längen zwischen Partikel und Blase reduziert werden. Durch optimierte operative Prozessparameter und auch durch die Additivzugabe kann die Blasengröße minimiert und der spezifische Grenzflächeneintrag maximiert werden. So kann mit wenig Materialaufwand eine fundierte Entscheidung getroffen werden, ob die Flotation als energieeffiziente und kostengünstige Separationstechnik im biotechnologischen Downstream erfolgreich eingesetzt werden könnte.

Darüber hinaus wurde geprüft, ob es möglich ist die Biomasse-Flotation durch ein Flotationsmodell zu beschreiben, in welches die Werte der Schlüsselparameter Partikelgröße, Blasengröße und Partikelhydrophobizität einfließen. Hierfür erfolgte eine Gegenüberstellung der experimentell und durch Modellierung ermittelten Flotationsratenkonstanten. Geprüft wurde zunächst ein Modell für direkte Flotation von Yoon et al. (Yoon 1993). Die darin

berücksichtigte Induktionszeit wurde anhand des Wertes der Hydrophobizität berechnet, was sich als zulässig herausstellte. Jedoch zeigten die nach dem Modell von Yoon berechneten Flotationsratenkonstanten erhebliche Abweichungen von den experimentellen Flotationsratenkonstanten. Dies wurde auf eine Überschätzung des Einflusses sowohl der Partikel- als auch der Blasengröße auf die Adsorptionswahrscheinlichkeit zurückgeführt. Deshalb wurde ein optimiertes Modell entwickelt, in dem die Adsorptionswahrscheinlichkeit anhand der drei Schlüsselparameter Partikelhydrophobizität, Partikelgröße und Blasengröße bestimmt wurde. Die Berechnung der Kollisionswahrscheinlichkeit und des spezifischen Grenzflächeneintrags blieben unverändert. Die modellierte Flotationsratenkonstante zeigte für die meisten Einstellungen sehr gute Übereinstimmungen mit den experimentellen Werten. Stärkere Abweichungen zwischen Flotationsratenkonstante des optimierten Modells und des Experiments ergaben sich lediglich in isotonischer Saline bei variierendem pH-Wert und in Fermentationsmedium bei hohen Gasvolumenströmen. Dabei fiel die modellierte Flotationsratenkonstante niedriger aus als die experimentell bestimmte. Als Grund dafür wurde das erhöhte Risiko von Blasenkoaleszenz angeführt, welches dazu geführt haben könnte, dass der gemessene Wert der Blasengröße die reale Blasengröße im Kontaktbereich der Flotationszelle überschritt und die Adsorptionswahrscheinlichkeit unterschätzt wurde. Blasenkoaleszenz in der Flotationszelle kann außerdem zu Partikeldesorption geführt haben. In diesem Fall würde die Desorptionswahrscheinlichkeit an Bedeutung gewinnen, welche bisher als vernachlässigbar klein angenommen wurde. Interessant wäre deshalb eine Erweiterung des Modells um einen Term für die Desorptionswahrscheinlichkeit, damit auch besondere Fälle wie Flotation in Koaleszenz fördernden Medien oder unter sehr hohen Gasvolumenströmen besser abgebildet werden können. Als weitere Modell Erweiterung könnte es interessant sein, die Flotationskinetik mit einem CFD-Modell der Flotationsanlage zu koppeln. Damit wäre es möglich mit hoher räumlicher Auflösung die Strömungen in der Flotationszelle zu berechnen und diese in das Flotationsmodell einfließen zu lassen.

Auf der Grundlage sehr guter Übereinstimmungen der modellierten Flotationsratenkonstanten mit den experimentellen Werten kann festgehalten werden, dass das hier erarbeitete Flotationsmodell geeignet ist, den Flotationsprozess zu beschreiben. Zukünftig kann es genutzt werden, um die Flotierbarkeit von Mikroorganismen oder biologischem Material anhand der Analyseergebnisse von Schlüsselparametern vorherzusagen und zu optimieren. Ausblickend sei zu wünschen, dass dieses Modell zukünftig auch bei der Beschreibung von Flotationen in weiteren Fermentationsmedien oder von weiteren Mikroorganismen oder biologischen Molekülen Anwendung findet. Damit ist es denkbar die Flotation in realen Fermentationsbrühen und in einem größeren Maßstab durchzuführen und das Anwendungspotenzial der Flotation für den industriellen Einsatz zu ermitteln.

# A Anhang

## A.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Der Erfolg der Flotation wird sowohl durch verfahrenstechnische als auch physico-chemische Einflüsse bedingt. Diese lassen sich in apparative, operative sowie Stoffsystem oder Partikel beeinflussende Parameter unterteilen. 6

Abbildung 2.2: Schematische Aufteilung einer Flotationszelle in einen durchmischten, turbulenten Kontaktbereich und einen laminaren Separationsbereich. 10

Abbildung 3.1: Bild und Skizze der Laborflotationszelle mit (1) Flotationszelle, (2) Probenentnahmestutzen, (3) Schaumablauf, (4) seitlichem Klarlaufablass, (5) seitlichem Recyclevolumenabzug, (6) zentralem Zulauf, (7) manuellem Druckentspannungsventil, (8) Gaszufuhr und (9) Druckbehälter. In der Skizze angegeben sind die Standardprozessbedingungen: 6 L Batchvolumen, 100 L/h Recyclevolumenstrom, 6 NL/h Gasvolumenstrom, 2 bar(g) Sättigungsdruck. In der Flotationszelle lag Normaldruck vor. 23

Abbildung 3.2: Flotationszelle der DAF-Laborflotationsanlage 24

Abbildung 3.3: Exemplarisches „Bubble Size Analyzer“-Ergebnis mit Blasenanzahl  $N_b$ , Summenhäufigkeitsverteilung  $Q_0$ , den spezifischen Durchmesser Median  $D_{50,0}$ ,  $D_{10,0}$  and  $D_{90,0}$ , dem arithmetischen Mittelwert  $D_{av}$  und dem Sauter-Durchmesser  $D_{3,2}$ . 26

Abbildung 3.4: Skizze der Laborflotationsanlage mit Blasengrößenanalyse Aufbau „Bubble Size Analyzer“ (BSA) (Gulden et al. 2018c) 30

Abbildung 3.5: MATH Tests Versuchsskizze: Extraktion von Mikroorganismen aus 3 mL wässrigem Medium in 1 mL organischer Phase durch intensive Dispersion. 40

Abbildung 3.6: Kraft-Abstands-Kurven gemessen zwischen einem „Colloidal Probe“-Cantilever, mit anhaftender Luftblase des Radius  $r_b$ , und einem Mikroorganismen Monolayer. Die Kurven wurden in YMB-Medium bei pH-Werten von 3, 4,5, 6 und 8 aufgezeichnet und die resultierenden Kräfte mit dem Blasenradius  $r_b$  normiert. 43

Abbildung 4.5: A) Geometrie der Flotationszelle mit den definierten Randbedingungen: 1) zentraler, gastragender Recyclevolumenstrom Zulauf 2) seitlicher Recyclevolumenstrom Abzug und 3) für Gas, jedoch nicht für Flüssigkeiten passierbare Oberfläche. B) Zentraler Beckenschnitt des Flotationszellen CFD-Gitters aus 1,76 Mio.

- Zellen, mit detaillierterer Auflösung an den Grenzflächen, Zu- und Abläufen (Hofinger 2014) 44
- Abbildung 4.1: Prozesskosten der biotechnologischen Zellernte am Beispiel einer organischen Säure, wenn die Separation durch Zentrifugation (ZF), Querstromfiltration (QF) oder Flotation (F) erfolgt. Die jeweiligen Gesamtkosten der Separationstechnik ergeben sich aus der Summe der produktspezifischen Kosten für Anlage, Instandhaltung, Energie- und Additivbedarf. 50
- Abbildung 4.2: A) Lineare Regressionsgerade der Recovery Daten aus B, aus deren Steigung die Flotationsratenkonstanten folgen. B) Flotation Recovery Verläufe von Hefe in YMB bei dem pH-Wert von 5 unter Standardbedingungen der Flotationsanlage, drei Wiederholungsmessungen. Der modellierte Recovery Verlauf basiert auf dem Mittelwert der Flotationsratenkonstanten aus A, die Fehlerabweichung entspricht der Abweichung zwischen den drei Versuchen. 52
- Abbildung 4.3: Luftblasen mit direkt angelagerter Hefe in YMB bei einem pH-Wert von 2. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von 200  $\mu\text{m}$ . 53
- Abbildung 4.4: maximale Luftfreisetzung in NL Luft/ $\text{m}^3$  Wasser, bei Druckentspannung vom Sättigungsdruck  $p$  in bar(a) auf Normaldruck bei verschiedenen Temperaturen  $T$ . 56
- Abbildung 4.6: CFD Grafik des Strömungsprofils mit Richtungsvektoren in der Flotationszelle (Hofinger und Gulden 2017) 58
- Abbildung 4.7: A und B) CFD Simulationen der Zirkulationsprofile der wässrigen Phase im Flotationstank unter Standardbedingungen, die Farbskala zeigt die Verweilzeit in der Flotationszelle in Sekunden (Hofinger 2014) 59
- Abbildung 4.8: Experimentelle Verweilzeitanalyse in der Flotationszelle nach Impulsdosierung von 5 mL Lebensmittelfarbstoff Cochenillerot. Bildausschnitte aus Videoaufzeichnung 2, 5, 20, 40, 180 und 720 s nach der Farbdosierung. 60
- Abbildung 4.9: Abnahme des Farbstoffvolumenanteils in der Flotationszelle über die Zeit, nach Impulsdosierung von 5 mL Cochenillerot Lebensmittelfarbstoff im Zulauf. Proben wurde an den Stutzen S6 und S9 entnommen. Der Volumenanteil folgt aus dem linearen Zusammenhang zur photometrischen Absorption bei der Wellenlänge von 490 nm. 61
- Abbildung 4.10: Gasvolumenanteilverteilung unter Standardprozessbedingungen A) in der CFD Simulation und B) im Laborexperiment (Hofinger und Gulden 2017) 62

Abbildung 4.11: Gasvolumenanteilverteilung bei 40 L/h Recyclevolumenstrom A) in der CFD Simulation und B) im Laborexperiment (Hofinger und Gulden 2017) **Fehler!**  
**Textmarke nicht definiert.**

Abbildung 4.12: Gasvolumenanteilverteilung bei Standardbedingungen im B) Experiment unter der Annahme einer Gassättigungseffizienz im Aquatector für die CFD Simulationen von A) 80 % und C) 100 %, woraus sich ein erhöhter Gasvolumenanteil im Recyclevolumenstrom ergibt (Hofinger und Gulden 2017). **Fehler! Textmarke nicht definiert.**

Abbildung 4.13: A) Mit dem BSA gemessene Summenanzahlhäufigkeitsverteilung von monomodalen Referenzpartikeln der Durchmesser von 4,88  $\mu\text{m}$ , 9,7  $\mu\text{m}$ , 19,55  $\mu\text{m}$ , 40,3  $\mu\text{m}$  und 75,5  $\mu\text{m}$  sowie einer Mischung der fünf Partikelgrößen (mix – m) und im Vergleich dazu die theoretische Summenanzahlhäufigkeitsverteilung der Mischung (mix – t). B) der dazu gehörige Median  $D_{50,0-m}$ , wobei der Fehlerbalken die Monomodalität der Verteilungen durch Anzeige des  $D_{10,0-m}$  und  $D_{90,0-m}$  verdeutlicht (Gulden et al. 2018c). 64

Abbildung 4.14: A) Einfluss der Probenentnahmegeschwindigkeit  $v_{pr}$  des BSA und B) Einfluss der Verweilzeit  $\tau$  im Probenentnahmerohr auf die Anzahlhäufigkeitsverteilung  $q_0$  von Blasen, die in der Flotationszelle unter Standardbedingungen in Yeast-Malt-Broth (YMB), Saline (NaCl) und Wasser (APW) generiert wurden. (Gulden et al. 2018c) 68

Abbildung 4.15: A) Einfluss der Probenentnahmegeschwindigkeit  $v_{pr}$  des BSA und B) Einfluss der Verweilzeit  $\tau$  im Probenentnahmerohr auf den Sauter-Durchmesser von Blasen, die in der Flotationszelle unter Standardbedingungen in Yeast-Malt-Broth (YMB), Saline (NaCl) und Wasser (APW) generiert wurden (Gulden et al. 2018c) 70

Abbildung 4.16: Aquatector<sup>®</sup> Drucksättiger im Betrieb bei Standardbedingungen A) mit Koaleszenz förderndem Wasser und 2 NI/h Gasvolumenstrom, B) mit Koaleszenz hemmendem YMB-Medium und 2 NI/h Gasvolumenstrom und C) mit Koaleszenz hemmendem YMB-Medium und 6 NI/h Gasvolumenstrom (Gulden et al. 2018c) 72

Abbildung 4.17: Anzahlhäufigkeitsverteilungen  $q_0$  in der Flotationszelle, im Betrieb mit Wasser (APW) und Fermentationsbrühe (YMB). 73

Abbildung 4.18: Einfluss des Gas-/Recyclevolumen-Verhältnisses  $V_g/V_r$  auf A) den Blasen-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2-b}$  und B) den spezifischen Grenzflächeneintrag  $S_b$  der Flotation. Die operativen Einstellungen (s. Legende) lagen bei 50 – 120 L/h Recyclevolumenstrom  $V_r$  und bei 2 – 4 bar(g) Sättigungsdruck  $p$ . 75

Abbildung 4.19: Variation der Flotationsratenkonstante  $k$  aufgetragen über A) dem Gas-/Recyclevolumen-Verhältnis  $V_g/V_r$  und B) dem generierten spezifischen

Grenzflächeneintrag  $S_b$ . Die Legende gilt für beide Diagramme und beschreibt die operativen Einstellungen, welche bei einem Recyclevolumenstrom  $V_r$  von 50 – 120 L/h und bei einem Sättigungsdruck  $p$  von 2 – 4 bar(g) lagen. 77

Abbildung 4.20: Einfluss des Gas/Recyclevolumen Verhältnisses  $V_g/V_r$  auf die Flotationsenergieeffizienz  $\eta_f$ . Die zugrundeliegenden Einstellungen der Flotationsanlage waren der Recyclevolumenstrom  $V_r$  von 70 – 120 L/h und der Sättigungsdruck  $p$  von 2 – 4 bar(g). 80

Abbildung 4.21: Einfluss des pH-Wertes der Medien Yeast-Malt-Broth (YMB) und isotonischer Saline (NaCl) auf A) die Flotationsratenkonstante von Hefe  $k$  B) den Partikel-Sauter-Durchmesser der Hefe  $D_{3,2} - p$  (C) die Standard Hydrophobizität von Hefe  $H$  (D) den Blasen-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2} - b$  (E) die Adhäsionskraft zwischen Hefe und Blase (F) die Debye-Länge zwischen Hefe und Blase. 83

Abbildung 4.22: „Bubble Size Analyzer“-Bilder von Mikroblasen in Yeast-Malt-Broth (YMB) bei einem pH-Wert von 3 (links) und 5 (rechts). 86

Abbildung 4.23: Einfluss der Flockungsmittelkonzentration des Biopolymers Chitosan  $C_{ch}$  auf A) die Flotationsratenkonstante von Hefe  $k$  B) den Partikel-Sauter-Durchmesser der Hefe  $D_{3,2} - p$  (C) die Standard Hydrophobizität von Hefe  $H$  und (D) den Blasen-Sauter-Durchmesser  $D_{3,2} - b$  in Yeast-Malt-Broth (YMB) 88

Abbildung 4.24: Gegenüberstellung der experimentell ermittelten Flotationsratenkonstanten  $k$  mit den modellierten Konstanten (A)  $k_{m,Yoon}$  und (B)  $k_m$  für variierende physico-chemische Einstellungen, wie pH-Wert Variationen in YMB und NaCl oder zunehmende Chitosan Flockungsmittelkonzentrationen und verschiedene operative Einstellungen in YMB. 92

Abbildung Anhang: Verfahrensfliessbild der Laborflotationsanlage LabFloat 200 **Fehler!**  
Textmarke nicht definiert.

## A.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1: Unterschiede in der Flotation zwischen den Anwendungsbereichen Mineral- und Abwasseraufbereitung, wobei bei letzterer differenziert wird zwischen Blasenenerzeugung durch Dissolved Air Flotation (DAF) und Induced Air Flotation (IAF) mit Dispersion über Düse (-D) oder an einer Fritte in einer Blasenkolonne (-BC) nach Rubio et. al 2002. 8

Tabelle 3.1: Standardbedingungen und Variabilität der Prozessparameter der Laborflotation 25



Tabelle 3.2: Beispiele für Blasengrößenanalysemethoden basierend auf Bildanalyse (Fotografien, digitale Bilder & Videos). Die Methoden der Blasengeneration werden differenziert in Dissolved Air Flotation (DAF), Induced Air Flotation (IAF), Elektro Flotation (EF) und in Blasensäule (BC) (Gulden et al. 2018c).	28
Tabelle 3.3: „Bubble Size Analyzer“ Hardware Detailinformationen (Gulden et al. 2018c).	31
Tabelle 3.4: „Bubble Size Analyzer“ Software Detailinformationen und Beschreibungen (Gulden et al. 2018c).	33
Tabelle 3.5: Komponenten Zusammensetzung der Yeast-Malt-Broth (YMB) in Lösung (Sigma-Aldrich 2013)	35
Tabelle 3.6: Dichte und Oberflächenspannung der analysierten Flotationsmedien.	47
Tabelle 4.1: Spezifische Informationen zu den Prozesstechnologien für die Zellernte im DSP: Zentrifugation (ZF), Querstromfiltration (QF) und Flotation (F)	49
Tabelle 4.2: Maximale Mikroorganismenbelegung auf einer Gasblase mit der Annahme eines Mikroorganismus Monolayers und die resultierende Aufstiegsgeschwindigkeit des Komplexes.	54
Tabelle 4.3: Auftriebsgeschwindigkeit eines Mikroorganismus-Blase-Komplexes mit einer 40 µm Blase, in Abhängigkeit der Anzahl adsorbierter Mikroorganismen	55
Tabelle 4.4: Nach Battino (Battino et al. 1984) berechneter möglicher Gaseintrag $Vg$ für reine Druckentspannungsflotation. Getroffene Annahme: Prozesstemperatur T als 25°C. Der Sättigungsdruck ist sowohl als Absolutdruck in bar(a), als auch als Überdruck in bar(g) angezeigt. Variiert wurde die Sättigung (90 % und 100 %) und der eingestellte Recyclevolumenstrom $Vr$ (75 L/h und 100 L/h).	57
Tabelle 4.5: Partikelanzahl in diskreten Größenintervallen. Dafür wurden 5000 Blasenbilder bei drei verschiedenen Probenentnahmegeschwindigkeiten aufgezeichnet und mit zwei Software Edge-Gradienten ausgewertet (Gulden et al. 2018c).	65

## A.3 Abkürzungs- und Formelzeichenverzeichnis

### A.3.1 Abkürzungen

Abkürzung	Bedeutung
DAF	Dissolved Air Flotation, Druckentspannungsflotation
IAF	Induced Air Flotation, Dispersionsflotation
BSA	„Bubble Size Analyzer“, Blasengrößenmesstechnik
YMB	Yeast-Malt-Broth
YMBF	Yeast-Malt-Broth nach der Hefefermentation
LB	Lysogenic-Broth
DW	Deionisiertes Wasser
PBS	Phosphat gepufferte Saline
CNR	Cochenillerotlösung Lebensmittelfarbstoff
OD	Optische Dichte im Photometer
GGB	Grenzgrauwert der Binarisierung
GH	Grauwert Hintergrund
GP	Grauwert Pixel
Edge	Canny Edge-Gradient
HHT	Hough Kreistransformation
EA	Einzelblase Algorithmus
EF	Elektro Flotation
USF	Ultraschall Flotation
IAF-D	Induced Air Flotation mit Blasengeneration an Düse
BC	Blasenkolonne
IAF-F	Induced Air Flotation mit Blasengeneration an Fritte
IAF-RS	Induced Air Flotation mit Blasengeneration an Rotor-Stator
APW	Aqua Purificata, Reinstwasser
VEW	Vollentsalztes Wasser, deionisiert

## A.3.2 Formelzeichen

### Lateinische Buchstaben

Formelzeichen	Einheit	Definition
<b>A</b>	m <sup>2</sup>	Fläche, Klärfläche
<b>A<sub>FZ</sub></b>	m <sup>2</sup>	Flotationszellenquerschnitt
<b>A<sub>OF</sub></b>	m <sup>2</sup>	Oberfläche
<b>A<sub>PF</sub></b>	m <sup>2</sup>	Projektionsfläche
<b>C</b>	g/L	Massenkonzentration
<b>c</b>	€	Kosten
<b>D</b>	m	Durchmesser
<b>D<sub>3,2</sub></b>	m	Sauter-Durchmesser
<b>D<sub>x,y</sub></b>	m	Spezifischer Durchmesser bei x=10, 50 und 90 % der Summenverteilung $Q_y$
<b>e</b>	-	Eulersche Zahl ( $e = 2,718$ )
<b>E</b>	-	Experiment
<b>f<sub>L</sub></b>	-	Lang-Faktor
<b>FH</b>	m	Füllhöhe
<b>H</b>	%	Relative Hydrophobizität
<b>k</b>	min <sup>-1</sup>	Flotationsratenkonstante
<b>K</b>	€	Kosten
<b>J<sub>QF</sub></b>	m <sup>3</sup> /(m <sup>2</sup> h)	Flächenbezogener Volumenstrom
<b>L</b>	m	Länge
<b>m</b>	kg	Masse
<b><math>\dot{m}</math></b>	Kg/h	Massestrom
<b>M</b>	g/mol	Molare Masse
<b>n</b>	Mol	Stoffmenge
<b><math>\dot{n}</math></b>	Mol/L	Stoffmengenstrom
<b>N</b>	-	Anzahl
<b>N/V</b>	m <sup>-3</sup>	Anzahlkonzentration
<b>p</b>	bar(g)	Sättigungsdruck
<b>P</b>	%	Wahrscheinlichkeit
<b>P*</b>	J/s	Leistung
<b>q<sub>y</sub></b>	-	Häufigkeitsverteilung
<b>Q<sub>y</sub></b>	-	Summenverteilung
<b>R</b>	J/molK	Ideale Gaskonstante ( $R = 8,314$ )

## Formelzeichen

Formelzeichen	Einheit	Definition
$R_f$	-	Recovery, Flotationsausbeute
$Re$	-	Reynoldszahl
$S$	-	Stutzen
$S_b$	$s^{-1}$	Spezifischer (Blasen-)Grenzflächeneintrag (im Englischen: bubble surface area flow)
$T$	K	Temperatur
$t_f$	min	Dauer der Flotation
$t_i$	s	Induktionszeit
$t_{h/a}$	h/a	Jahresprozesszeit
$u_b$	m/s	relative Blasenauftiegs geschwindigkeit
$v$	m/s	Leerrohrgeschwindigkeit, Strömungsgeschwindigkeit
$V$	$m^3$	Volumen
$\dot{V}$	L/h, NL/h	Volumenstrom
$V_f$	L	Flotationsbatchvolumen

## Griechische Buchstaben

Formelzeichen	Einheit	Definition
$\alpha_{ISH}$	-	Anteil der Instandhaltungskosten an den Kosten der installierten Anlage
$\eta_{fe}$	$J^{-1}$	Flotationsenergieeffizienz
$\eta$	-	Wirkungsgrad (i: P, M, K)
$\kappa$	-	Isentropenkoeffizient ( $\kappa = 1,4$ )
$\lambda$	m	Länge
$\mu$	kg/ms	Kinematische Viskosität
$\nu$	$m^2/s$	Dynamische Viskosität
$\rho$	$kg/m^3$	Dichte
$\sigma$	N/m	Oberflächenspannung
$\tau$	s	Verweilzeit
$\varphi$	Vol.%	Volumenanteil
$\chi$	NL Gas/L Fl.	Gasfreisetzung
$\psi$	N	Oberflächenpotenzial
$\omega$	kg/kg	Massenanteil

## Indizes

Index	Definition
a	Adsorption
A	Anlage (zentrale Prozessbauteile)
ADD	Additiv
AS	Abschreibung
b	Blase
B	Batch
c	Kollision
CNR	Cochenillerot
D	Debye
d	Desorption
E	Energie
f, F	Flotation
fe	Flotationsenergie
fm	Flotationsmedium, Fermentationsbrühe
FZ	Flotationszelle
g	Gas
INV	Investition für installierte und betriebsfertige Anlage
i	variabler Index
i <sub>ges.</sub>	Gesamtheit der Variable
INV	Investition für die installierte Anlage
ISH	Instandhaltung
j	variabler Index
k	Flotationsratenkonstante
K	Kompressor
komplex	Blase-Partikel-Komplex
kWh	Energie
m	Mikroorganismus, Biomasse
-m	gemessen
M	Motor
MAIN	
mod	Modell
OF	Oberfläche
p	Partikel

## Formelzeichen

Index	Definition
P	Pumpe
PF	Projektionsfläche
pr	Probe
Prod	Produkt
r	Recycle, Umpumpflüssigkeit
QF	Querstromfiltration
UE	Untereinheit
x	Anteil in % der $Q_y$
y	0,2 oder 3, wobei 0 – Anzahl, 2 – Oberfläche und 3 – Volumen entspricht
-z	zertifiziert
ZF	Zentrifuge

## A.4 Publikationsliste

### A.4.1 Referierte Zeitschriftenartikel

Gulden SJ, Riedele C, Rollié S, Kopf M-H, Nirschl H (2018): Online bubble size analysis in micro flotation. Chemical Engineering Science

Ditscherlein L, Gulden SJ, Müller S, Baumann RP, Peuker U, Nirschl H (2018): Measuring interactions between living yeast cells (*S. bayanus* CH 158) and a micro-sized air bubble via atomic force microscopy, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces

Gulden SJ, Riedele C, Kopf MH, Nirschl H (2018): Energy efficiency of yeast separation by mixed induced/dissolved air flotation. Chemical Engineering Science, submitted

Gulden SJ, Riedele C, Kopf MH, Nirschl H (2018): Combining small-scale screening methods to predict microorganism floatability. Chemical Engineering Science, submitted

### A.4.2 Vorträge/Poster

Gulden SJ, Riedele C, Kopf M-H, Nirschl H (2015): Online size analysis of microbubbles, Flotation '15, Kapstadt, Südafrika

Gulden SJ, Riedele C, Kopf M-H, Nirschl H (2016): Einflüsse physico-chemischer Prozessparameter auf die Blasengrößen in der Flotation, Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Mechanische Flüssigkeitsabtrennung, Kassel, Deutschland

Gulden SJ, Riedele C, Kopf MH, Nirschl H (2018): Mikroflotation als biotechnologisches Aufbereitungsverfahren (Posterpreis), Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Mechanische Flüssigkeitsabtrennung, Merseburg, Deutschland

### A.4.3 Studentenarbeiten

Ungerer J (2015): Untersuchung Des Einflusses Physico-Chemischer Parameter Auf Die Blasengrößenverteilung Einer Druckentspannungsflotation, BASF SE, Ludwigshafen

Vogt F (2015): Adsorptive Bubble Separation - Increasing Floatability of Yeast by Flocculation, BASF SE, Ludwigshafen

Vogt F (2016): Characterization of a Lab Scale Dissolved Air Flotation Plant for Processing of Industrial Wastewater, BASF SE, Ludwigshafen

Fraiz TC (2016): Influence of Hydrophobicity, Bubble and Particle Size on the Flotation Efficiency of Yeast, BASF SE, Ludwigshafen

## A.5 Literaturverzeichnis

- Ahmed N, Jameson GJ (1985): The effect of bubble size on the rate of flotation of fine particles. *International Journal of Mineral Processing* 14, 195–215
- Anfinsen CB (1973): Principles that Govern the Folding of Protein Chains. *Science* 181, 223–230
- Ata S, Ahmed N, Jameson GJ (2003): A study of bubble coalescence in flotation froths. *International Journal of Mineral Processing* 72, 255–266
- Aulenbach D, Shammass N, Wang L, C. Marvin R: *Algae Removal by Flotation*; 2010, 363–399
- Axelsson H: Cell Separation, Centrifugation; in: *Encyclopedia of Bioprocess Technology*; American Cancer Society 2002
- Bahr KH, Schügerl K (1992): Recovery of yeast from cultivation medium by continuous flotation and its dependence on cultivation conditions. *Chemical Engineering Science* 47, 11–20
- Bahr KH, Weisser H, Schügerl K (1991): Investigations on proteins excreted by the yeast *Hansenula polymorpha* and their influence on broth foaming and cell recovery by flotation. *Enzyme and Microbial Technology* 13, 747–754
- Bare WFR, Jones NB, Middlebrooks EJ (1975): Algae Removal Using Dissolved Air Flotation. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 47, 153–169
- Battino R, Rettich TR, Tominaga T (1984): The Solubility of Nitrogen and Air in Liquids. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 13, 563–600
- Bessel A, Bessel A (1877): *Verfahren zur Reinigung von Graphit*.
- Bicalho IC, Mognon JL, Shimoyama J, Ataíde CH, Duarte CR (2012): Separation of yeast from alcoholic fermentation in small hydrocyclones. *Separation and Purification Technology* 87, 62–70
- Borchardt JK (1997): The use of surfactants in de-inking paper for paper recycling. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 2, 402–408
- Borchardt JK (1999): Mechanistic insights into deinking. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 88, 13–25
- Boyles WA, Lincoln RE (1958): Separation and Concentration of Bacterial Spores and Vegetative Cells by Foam Flotation. *Appl Microbiol* 6, 327–334
- Buchholz K, Kasche V: *Biokatalysatoren und Enzymtechnologie*. Band 70; Wiley-VCH, Weinheim 1997
- Bunyak D (2000): To Float or Sink: A Brief History of Flotation Milling. *Mining history journal*



- Burns SE, Yiacomou S, Tsouris C (1997): Microbubble generation for environmental and industrial separations. *Separation and Purification Technology* 11, 221–232
- Busscher HJ, van de Belt-Gritter B, van der Mei HC (1995): Implications of microbial adhesion to hydrocarbons for evaluating cell surface hydrophobicity 1. Zeta potentials of hydrocarbon droplets. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 5, 111–116
- Butt H-J (1991): Measuring electrostatic, van der Waals, and hydration forces in electrolyte solutions with an atomic force microscope. *Biophys J* 60, 1438–1444
- Butt HJ (1994): A Technique for Measuring the Force Between a Colloidal Particle in Water and a Bubble. *J Colloid Interface Sci* 166, 109–117
- Butt H-J, Cappella B, Kappl M (2005): Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications. *Surface Science Reports* 59, 1–152
- Chapman DL (1913): A contribution to the theory of electrocapillarity. *Philosophical Magazine* 6, 475
- Chen F, Gomez CO, Finch JA (2001): Technical note bubble size measurement in flotation machines. *Minerals Engineering* 14, 427–432
- Chen F, Fx P, Xq W, Zk L (2004): Bubble performance of a novel dissolved air flotation(DAF) unit. *J Environ Sci (China)* 16, 104–107
- Chen YM, Liu JC, Ju Y-H (1998): Flotation removal of algae from water. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 12, 49–55
- Chmiel H (Hrsg.): *Bioprozesstechnik*. 3. Auflage; Springer Spektrum 2011
- Chothia C (1974): Hydrophobic bonding and accessible surface area in proteins. *Nature* 248, 338–339
- Cooper RN, Denmead CF (1979): Chemical Treatment of Slaughterhouse Wastes with Protein Recovery. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 51, 1017–1023
- Coward T, Lee JGM, Caldwell GS (2013): Development of a foam flotation system for harvesting microalgae biomass. *Algal Research* 2, 135–144
- Cui X, Shi C, Zhang S, Xie L, Liu J, Jiang D, Zeng H (2017): Probing the Effect of Salinity and pH on Surface Interactions between Air Bubbles and Hydrophobic Solids: Implications for Colloidal Assembly at Air/Water Interfaces. *Chemistry - An Asian Journal* 12, 1568–1577
- Dai Z, Fornasiero D, Ralston J (2000): Particle–bubble collision models — a review. *Advances in Colloid and Interface Science* 85, 231–256

- De Rijk SE, Jaap H.J.M., Den Blanken JG, Graaf (1994): Bubble size in flotation thickening. *Water Research* 28, 465–473
- Dennis R, Samples WR, Anderson DM, Silverman L (1957): Isokinetic Sampling Probes. *Industrial & Engineering Chemistry* 49, 294–302
- Derjaguin B (1934): Untersuchungen über die Reibung und Adhäsion, IV. *Kolloid-Zeitschrift* 69, 155–164
- Derjaguin B, Landau L (1993): Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Progress in Surface Science* 43, 30–59
- Derjaguin BV, Dukhin SS (1961): Theory of flotation of small and medium size particles. *Trans Inst Min Metall* 70, 221–246
- Derjaguin BV, Dukhin SS: Kinetic theory of the flotation of fine particles; in: *Proc. 13th Int. Miner. Process. Congr., Band 2*; 1979
- deSousa SR, Oliveira KF, Souza CS, Kilikian BV, Laluce C (2003): Yeast flotation viewed as the result of the interplay of supernatant composition and cell-wall hydrophobicity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 29, 309–319
- Dey A, Kapur PC, Mehrotra SP (1989): A search strategy for optimization of flotation circuits. *International Journal of Mineral Processing* 26, 73–93
- Diaz-Penafiel P, Dobby GS (1994): Kinetic studies in flotation columns: Bubble size effect. *Minerals Engineering* 7, 465–478
- Ditscherlein L, Gulden SJ, Müller S, Baumann RP, Peuker U, Nirschl H (2018): Measuring interactions between living yeast cells (*S. bayanus* CH 158) and a micro-sized air bubble via atomic force microscopy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*
- Dobby GS, Finch JA (1986): Particle Collection in Columns—Gas Rate and Bubble Size Effects. *Canadian Metallurgical Quarterly* 25, 9–13
- Dognon A (1941a): Concentration et separation des molecules par la methode des mousses. *Rev Sci* 79, 613–619
- Dognon A (1941b): Concentration et separation par les mousses. *Bull Soc Chim* 249–262
- Ducker WA, Senden TJ, Pashley RM (1991): Direct measurement of colloidal forces using an atomic force microscope. *Nature* 353, 239–241
- Ducker WA, Xu Z, Israelachvili JN (1994): Measurements of Hydrophobic and DLVO Forces in Bubble-Surface Interactions in Aqueous Solutions. *Langmuir* 10, 3279–3289

- Eckenfelder WW: Industrial Water Pollution Control. McGraw-Hill, New York 1966
- Edzwald JK (1993): Algae, Bubbles, Coagulants, and Dissolved Air Flotation. *Water Science and Technology* 27, 67–81
- Edzwald JK (1995): Principles and applications of dissolved air flotation. *Water Science and Technology* 31, 1–23
- Edzwald JK (2007): Developments of high rate dissolved air flotation for drinking water treatment. *Journal of Water Supply: Research and Technology—AQUA* 56, 399
- Edzwald JK (2010): Dissolved air flotation and me. *Water Research* 44, 2077–2106
- Engelhardt H (Hrsg.): Practice of High Performance Liquid Chromatography. (Chemical Laboratory Practice); Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg 1986
- Everson CJ (1886): Process of concentrating ores.
- Fielden ML, Hayes RA, Ralston J (1996): Surface and Capillary Forces Affecting Air Bubble–Particle Interactions in Aqueous Electrolyte. *Langmuir* 12, 3721–3727
- Finch JA, Dobby GS (1991): Column flotation: A selected review. Part I. *International Journal of Mineral Processing* 33, 343–354
- Fisher DJ (1975): Flocculation—Some Observations on the Surface Charges of Yeast Cells. *Journal of the Institute of Brewing* 81, 107–110
- Flickinger MC: Downstream Industrial Biotechnology: Recovery and Purification. John Wiley & Sons, Incorporated, New York, UNITED STATES 2013
- Fuerstenau DW: Froth flotation 50th anniversary volume. American Institute of Mining, Metallurgical, and Petroleum Engineers 1962
- Fuerstenau MC, Jameson GJ, Yoon R-H: Froth Flotation: A Century of Innovation. SME 2007
- Gao S, Yang J, Tian J, Ma F, Tu G, Du M (2010): Electro-coagulation–flotation process for algae removal. *Journal of Hazardous Materials* 177, 336–343
- Gaudin AM: Flotation. McGraw-Hill 1957
- Gaudin AM, Mular AL, O’Connor RF (1960): Separation of Microorganisms by Flotation. *Appl Microbiol* 8, 91–97
- Geertsema-Doornbusch GI, van der Mei HC, Busscher HJ (1993): Microbial cell surface hydrophobicity The involvement of electrostatic interactions in microbial adhesion to hydrocarbons (MATH). *Journal of Microbiological Methods* 18, 61–68

- Gehle R, Sie T-L, Kramer T, Schügerl K (1991): Continuous cultivation and flotation of *Hansenula polymorpha* and *Saccharomyces cerevisiae* in an integrated pilot plant reactor-flotation column-system. *Journal of Biotechnology* 17, 147–154
- Goedecke R, Hofen W, Sass R, Wendeler H, Schembecker G, Wozny G, Hahn H, Albert W: Verfahrensentwicklung; in: *Fluidverfahrenstechnik*; Wiley-Blackwell 2008, 5–185
- Gorain BK, Harris MC, Franzidis J-P, Manlapig EV (1998): The effect of froth residence time on the kinetics of flotation. *Minerals Engineering* 11, 627–638
- Gouy M (1910): Sur la constitution de la charge électrique à la surface d'un électrolyte. *Journal de Physique Théorique et Appliquée* 457–468
- Grau RA, Heiskanen K (2002): Visual technique for measuring bubble size in flotation machines. *Minerals Engineering* 15, 507–513
- Guibal E, Vooren MV, Dempsey BA, Roussy J (2006): A Review of the Use of Chitosan for the Removal of Particulate and Dissolved Contaminants. *Separation Science and Technology* 41, 2487–2514
- Gulden SJ, Riedele C, Kopf MH, Nirschl H (2018a): Combining small-scale screening methods to predict microorganism floatability. *Chemical Engineering Science*, submitted
- Gulden SJ, Riedele C, Kopf MH, Nirschl H (2018b): Energy Efficiency of Yeast Separation By Mixed Induced/Dissolved Air Flotation. *Chemical Engineering Science*, submitted
- Gulden SJ, Riedele C, Rollié S, Kopf M-H, Nirschl H (2018c): Online bubble size analysis in micro flotation. *Chemical Engineering Science*
- Guria C, Verma M, Gupta SK, Mehrotra SP (2005): Simultaneous optimization of the performance of flotation circuits and their simplification using the jumping gene adaptations of genetic algorithm. *International Journal of Mineral Processing* 77, 165–185
- H. W. Emmons (1951): The Laminar-Turbulent Transition in a Boundary Layer-Part I. *Journal of the Aeronautical Sciences* 18, 490–498
- Habibian M, Pazouki M, Ghanaie H, Abbaspour-Sani K (2008): Application of hydrocyclone for removal of yeasts from alcohol fermentations broth. *Chemical Engineering Journal* 138, 30–34
- Han M, Park Y, Yu T (2002): Development of a new method of measuring bubble size.
- Hanisch B: Die wirtschaftliche Anwendung der Flotation mit sehr kleinen Luftblasen zur Reinigung von Abwasser. 1960

- Hanotu J, Karunakaran E, Bandulasena H, Biggs C, Zimmerman WB (2014): Harvesting and dewatering yeast by microflotation. *Biochemical Engineering Journal* 82, 174–182
- Hansen CA, Gotaas, H. B. (1943): Sewage treatment by flotation. *Sewage work journal* 15, 212–252
- Haynes W (1860): British Patent No. 488.
- Hebron CB, Everson CJ (1892): U.S. Patent 474,829.
- Heindel T (1999): The Fundamentals of Flotation Deinking. *TAPPI Journal* 82
- Henry W (1803): Experiments on the quantity of gases absorbed by water, at different temperatures, and under different pressures. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*
- Hess RW (1953): Sewage and industrial wastes. *Industrial Wastes Forum* 25, 706 ff.
- Hofinger JCFD Simulation of laboratory flotation device. BASF, Ludwigshafen 2014
- Hofinger J, Gulden SJCFD simulation of laboratory and pilot flotation device. BASF SE, Ludwigshafen 2017
- Hopper, S. H. (1945): Water purification by flotation. *Journal of american water works association* 37, 302
- Hopper, S. H., McCowen, M. C. (1952): A flotation process for water purification. *Journal of american water works association* 44, 719–726
- Hu W, Hadler K, Neethling SJ, Cilliers JJ (2013): Determining flotation circuit layout using genetic algorithms with pulp and froth models. *Chemical Engineering Science* 102, 32–41
- Hunt T: Filter Aids; in: *Encyclopedia of Industrial Biotechnology*; American Cancer Society 2010, 1–16
- Husband Devon L., Masliyah Jacob H., Gray Murray R. (2009): Cell and surfactant separation by column flotation. *The Canadian Journal of Chemical Engineering* 72, 840–847
- Israelachvili J, Pashley R (1982): The hydrophobic interaction is long range, decaying exponentially with distance. *Nature* 300, 341–342
- Jäger G (1891): *Das Gesetz der Oberflächenspannung von Lösungen*. Akademie der Wissenschaften, Wien 100, 493–514
- Jameson GJ (2010): New directions in flotation machine design. *Minerals Engineering* 23, 835–841
- Johnson DJ, Miles NJ, Hilal N (2006): Quantification of particle-bubble interactions using atomic force microscopy: A review. *Adv Colloid Interface Sci* 127, 67–81

- Jones G, Ray WA (1941): The surface tension of solutions of electrolytes as a function of the concentration. III. Sodium chloride. *Journal of the American Chemical Society* 63.12, 3262–3263
- Kapur PC, Dey A, Mehrotra SP (1991): Identification of feed and simulation of industrial flotation circuits. *International Journal of Mineral Processing* 31, 11–35
- Kinsella JE (1979): Functional properties of soy proteins. *J Am Oil Chem Soc* 56, 242–258
- Köhler A (1893): Ein neues Beleuchtungsverfahren für mikrophotographische Zwecke. *Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik* 433–440
- Krichel S, Hülsmann S, Kirzel S, Sawodny O (2012): Exergieflussdiagramme als neue Grundlage für Effizienzbetrachtungen bei Druckluftanlagen. *Industriepneumatik O+P* 1-2
- Krofta M, Miskovic D, Burgess D (1995): Primary-secondary flotation of three municipal wastewaters: Pilot-scale study. *Water Science and Technology* 31, 295–298
- Lage PLC, Espósito RO (1999): Experimental determination of bubble size distributions in bubble columns: prediction of mean bubble diameter and gas hold up. *Powder Technology* 101, 142–150
- Laplante AR, Toguri JM, Smith HW (1983): The effect of air flow rate on the kinetics of flotation. Part 1: The transfer of material from the slurry to the froth. *International Journal of Mineral Processing* 11, 203–219
- Leppinen DM, Dalziel SB (2004): Bubble size distribution in dissolved air flotation tanks. *Journal of Water Supply: Research and Technology - Aqua* 53, 531–543
- Levin GV, Clendenning JR, Gibor A, Bogar FD (1962): Harvesting of Algae by Froth Flotation. *Appl Microbiol* 10, 169–175
- Li D (1996): Coalescence between small bubbles: Effects of bulk and surface diffusion. *Chemical Engineering Science* 51, 3623–3630
- Ma J, Liu W (2002): Effectiveness and mechanism of potassium ferrate(VI) preoxidation for algae removal by coagulation. *Water Research* 36, 871–878
- Majumder SK, Kundu G, Mukherjee D (2006): Bubble size distribution and gas–liquid interfacial area in a modified downflow bubble column. *Chemical Engineering Journal* 122, 1–10
- Martienssen M: Leistungen immobilisierter Mikroorganismen bei der Eliminierung von Umweltschadstoffen. Habilitationsschrift. Halle (Saale) 2001
- Mehdinejad M hadi, Bina B, Nikaeen M, Attar H (2009): Effectiveness of chitosan as natural coagulant aid in removal of turbidity and bacteria from turbid waters. 7

- Mehrotra SP, Kapur PC (1974): Optimal-Suboptimal Synthesis and Design of Flotation Circuits. *Separation Science* 9, 167–184
- van der Mei HC, Bos R, Busscher HJ (1998): A reference guide to microbial cell surface hydrophobicity based on contact angles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 11, 213–221
- Meyer H-P, Minas W, Schmidhalter D: Industrial-Scale Fermentation. (Industrial Biotechnology: Products and Processes), Band 1, 1. Auflage; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 2017
- Moruzzi RB, Reali MAP (2010): Characterization of micro-bubble size distribution and flow configuration in DAF contact zone by a non-intrusive image analysis system and tracer tests. *Water Science & Technology* 61, 253
- Nasr-El-Din HA, Mac Taggart RS, Masliyah JH (1996): Local solids concentration measurement in a slurry mixing tank. *Chemical Engineering Science* 51, 1209–1220
- Nayyar A, Walker GM, Canetta E, Wardrop F, Adya AK (2014): Cell surface properties and flocculation behaviour of industrial strains of *Saccharomyces cerevisiae*.
- Ndikubwimana T, Jingyu C, Xiao Z, Shao W, Zeng X, Ng I, Lu Y (2016): Flotation: A promising microalgae harvesting and dewatering technology for biofuels production. *Biotechnology Journal* 11, 315–326
- Neethling SJ, Cilliers JJ (2003): Modelling flotation froths. *International Journal of Mineral Processing* 72, 267–287
- Neufeld RJ, Zajic JE, Gerson DF (1980): Cell Surface Measurements in Hydrocarbon and Carbohydrate Fermentations. *Appl Environ Microbiol* 39, 511–517
- Nguyen AV: Froth Flotation; in: Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering; Elsevier 2013
- Nguyen AV, Ralston J, Schulze HJ (1998): On modelling of bubble–particle attachment probability in flotation. *International Journal of Mineral Processing* 53, 225–249
- Oliveira C, Rodrigues RT, Rubio J (2014): Nucleation, growth and coalescence phenomena of air bubbles on quartz particles in different aqueous solutions. *Bubble Science, Engineering & Technology* 5, 15–24
- Ometto F, Pozza C, Whitton R, Smyth B, Torres AG, Henderson RK, Jarvis P, Jefferson B, Villa R (2014): The impacts of replacing air bubbles with microspheres for the clarification of algae from low cell-density culture. *Water Research* 53, 168–179
- Overbeek JTG (1984): Interparticle forces in colloid science. *Powder Technology* 37, 195–208

- Palmieri MC, Greenhalf W, Laluce C (1996): Efficient flotation of yeast cells grown in batch culture. *Biotechnol Bioeng* 50, 248–256
- Phoochinda W, White DA (2003): Removal of algae using froth flotation. *Environmental Technology* 24, 87–96
- Prince MJ, Blanch HW (1990): Bubble coalescence and break-up in air-sparged bubble columns. *AIChE Journal* 36, 1485–1499
- Qu X, Wang L, Nguyen AV (2013): Correlation of air recovery with froth stability and separation efficiency in coal flotation. *Minerals Engineering* 41, 25–30
- Reay D, Ratcliff G (1973): Removal of Fine Particles from Water by Dispersed Air Flotation - Effects of Bubble Size and Particle-Size on Collection Efficiency. *Can J Chem Eng* 51, 178–185
- Rodrigues RT, Rubio J (2003): New basis for measuring the size distribution of bubbles. *Minerals Engineering* 16, 757–765
- Rodrigues RT, Rubio J (2007): DAF–dissolved air flotation: Potential applications in the mining and mineral processing industry. *International Journal of Mineral Processing* 82, 1–13
- Rubin AJ, Cassel EA, Henderson O, Johnson JD, Lamb JC (1966): Microflotation: New low gas-flow rate foam separation technique for bacteria and algae. *Biotechnology and Bioengineering* 8, 135–151
- Rubio J, Souza M., Smith R. (2002): Overview of flotation as a wastewater treatment technique. *Minerals Engineering* 15, 139–155
- Rykaart E (1995): Behaviour of air injection nozzles in dissolved air flotation. *Water Science and Technology* 31, 25–35
- Saffman PG, Turner JS (1956): On the collision of drops in turbulent clouds. *Journal of Fluid Mechanics* 1, 16
- Savassi ON, Alexander DJ, Franzidis JP, Manlapig EV (1998): An empirical model for entrainment in industrial flotation plants. *Minerals Engineering* 11, 243–256
- Schiller L, Naumann A (1935): A drag coefficient correlation. *Z Ver Deutsch Ing* 77, 318–320
- Schmid RD: Taschenatlas der Biotechnologie und Gentechnik. John Wiley & Sons 2016
- Schubert H, Bischofberger C (1978): On the hydrodynamics of flotation machines. *International Journal of Mineral Processing* 5, 131–142



- Schügerl K: Recovery of Proteins and Microorganisms from Cultivation Media by Foam Flotation; in: New Products and New Areas of Bioprocess Engineering, Band 68; Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg 2000, 191–233
- Schulz KD (1979): Entspannungsflotation - Charakterisierung der Luftblasen, die bei der Entspannung luftgesättigten Wassers entstehen.
- Schulze HJ: Flotation as heterocoagulation process: possibilities of calculating the probability of flotation; in: Coagulation and flocculation; hrsg. v. Dobias B; Dekker, New York 1993, 321–353
- Shammas NK: Coagulation and Flocculation; in: Physicochemical Treatment Processes; Humana Press 2005, 103–139
- Sigma-Aldrich (2013): Yeast-Malt-Broth.
- Smith PG, Warren LJ (1989): Entrainment of Particles into Flotation Froths. Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review 5, 123–145
- Smith RW (1989): Flotation of Algae, Bacteria and Other Microorganisms. Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review 4, 277–299
- Smith RW (1996): Liquid and solid wastes from mineral processing plants. Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review 16, 1–22
- Stauffer CE (1965): The Measurement of Surface Tension by the Pendant Drop Technique. The Journal of Physical Chemistry 69, 1933–1938
- Stephan K, Mayinger F, Schaber K: Thermodynamik, Grundlagen und technische Anwendungen. (Springer-Lehrbuch), 1. Auflage; Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg 1986
- Stern O (1924): Zur Theorie Der Elektrolytischen Doppelschicht. Zeitschrift für Elektrochemie und angewandte physikalische Chemie 30, 508–516
- Storhas W: Bioverfahrensentwicklung. 2. Auflage; Wiley-VCH 2013
- Stumm W, Sigg, Laura, Sulzberger, Barbara: Chemistry of the solid-water interface : processes at the mineral-water and particle-water interface in natural systems /. Wiley, C., New York : 1992
- Sutherland KL (1948): Physical Chemistry of Flotation. XI. Kinetics of the Flotation Process. J Phys Chem 52, 394–425
- Szepessy S, Thorsson C (2016): Cell Removal from Fermentation Broth Using Centrifugal Separation. Chemie Ingenieur Technik 88, 1401–1402

- Tabor RF, Grieser F, Dagastine RR, Chan DYC (2012): Measurement and analysis of forces in bubble and droplet systems using AFM. *Journal of Colloid and Interface Science* 371, 1–14
- Tomiyama A, Kataoka I, Zun I, Sakaguchi T (1998): Drag coefficients of single bubbles under normal and micro gravity conditions. *JSME International Journal* 41
- Tybussek R, Linz F, Schügerl K, Moses N, Leonard AJ, Rouxhet PG (1994): Comparison of the continuous flotation performances of *Saccharomyces cerevisiae* LBG H620 and DSM 2155 strains. *Applied Microbiology and Biotechnology* 41, 13–22
- Vakarelski IU, Lee J, Dagastine RR, Chan DYC, Stevens GW, Grieser F (2008): Bubble Colloidal AFM Probes Formed from Ultrasonically Generated Bubbles. *Langmuir* 24, 603–605
- Vega-Garcia D, Brito-Parada PR, Cilliers JJ (2018): Optimising small hydrocyclone design using 3D printing and CFD simulations. *Chemical Engineering Journal* 350, 653–659
- Verwey EJW, Overbeek JTG, Nes K van: Theory of the stability of lyophobic colloids; the interaction of sol particles having an electric double layer,. Elsevier Pub. Co., New York 1948
- Viehweg H, Schügerl K (1983): Cell recovery by continuous flotation. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* 17, 96–102
- Wang LK, Hung Y-T, Shammass NK: *Advanced Physicochemical Treatment Technologies*. Springer Science & Business Media 2007a
- Wang LK, Shammass NK, Hung Y-T: *Biosolids Treatment Processes*. Springer Science & Business Media 2007b
- Wang LK, Hung Y-T, Shammass NK: *Handbook of Advanced Industrial and Hazardous Wastes Treatment*. CRC Press 2009
- Wang LK, Shammass NK, Selke WA, Aulenbach DB (Hrsg.): *Flotation Technology*. Humana Press, Totowa, NJ 2010
- Wang W, Li K, Ma M, Jin H, Angeli P, Gong J (2015): Review and perspectives of AFM application on the study of deformable drop/bubble interactions. *Advances in Colloid and Interface Science* 225, 88–97
- Weir S, Ramsden DK, Hughes J, Le Thomas F (1993): The flocculation of yeast with chitosan in complex fermentation media: The effect of biomass concentration and mode of flocculant addition. *Biotechnology Techniques* 7, 199–204

- Xing Y, Gui X, Pan L, Pinchasik B-E, Cao Y, Liu J, Kappl M, Butt H-J (2017): Recent experimental advances for understanding bubble-particle attachment in flotation. *Advances in Colloid and Interface Science* 246, 105–132
- Yoon R-H (1993): Microbubble flotation. *Minerals Engineering* 6, 619–630
- Yoon R-H (2000): The role of hydrodynamic and surface forces in bubble–particle interaction. *International Journal of Mineral Processing* 58, 129–143
- Yoon RH, Luttrell GH (1989): The Effect of Bubble Size on Fine Particle Flotation. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review* 5, 101–122
- Yoon R-H, Yordan JL (1991): Induction time measurements for the quartz—amine flotation system. *Journal of Colloid and Interface Science* 141, 374–383
- Zhao Y, Deng Y, Zhu JY (2004): Roles of surfactants in flotation deinking. *Progress in Paper Recycling* 14, 41
- National Instrument. [http://zone.ni.com/reference/en-XX/help/370281AC-01/imaqvision-/imaq\\_find\\_edge/](http://zone.ni.com/reference/en-XX/help/370281AC-01/imaqvision-/imaq_find_edge/)
- OpenCV. [http://opencv-python-tutroals.readthedocs.io/en/latest/py\\_tutorials/py\\_imgproc/py\\_houghcircles/py\\_houghcircles.html](http://opencv-python-tutroals.readthedocs.io/en/latest/py_tutorials/py_imgproc/py_houghcircles/py_houghcircles.html); Zugriff am 01.06.2016

## A.6 Verfahrensfließbild der Laborflotationsanlage LabFloat 200

