

BBSR-
Online-Publikation
23/2024

Biobeton

Grundlagen und Verfahrensprinzipien für die Herstellung CO₂-neutraler und ressourceneffizienter Bauteile

von

Maiia Smirnova
Christoph Nething
Mykola Tsyharin
Erik Eppinger
Daniele P. Funaro
Janosch A. D. Gröning
Maximilian Nistler
Prof. Dr.-Ing. Alexander Verl
Prof. Dr. Andreas Stolz
Prof. Dr.-Ing. Lucio Blandini

Biobeton

Grundlagen und Verfahrensprinzipien für die Herstellung CO₂-neutraler und ressourceneffizienter Bauteile

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Wohnen, Stadtentwicklung
und Bauwesen

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

ZUKUNFT BAU
FORSCHUNGSFÖRDERUNG

Dieses Projekt wurde gefördert vom Bundesinstitut für Bau-, Stadt- und Raumforschung (BBSR) im Auftrag des Bundesministeriums für Wohnen, Stadtentwicklung und Bauwesen (BMWSB) aus Mitteln des Innovationsprogramms Zukunft Bau.

Aktenzeichen: 10.08.18.7-20.41

Projektlaufzeit: 01.2021 bis 02.2023

IMPRESSUM

Herausgeber

Bundesinstitut für Bau-, Stadt- und Raumforschung (BBSR)
im Bundesamt für Bauwesen und Raumordnung (BBR)
Deichmanns Aue 31–37
53179 Bonn

Fachbetreuer

Dr. Michael Brüggemann, Brüggemann Kisseler Ingenieure
im Auftrag des BBSR, Referat WB 3 „Forschung und Innovation im Bauwesen“
zb@bbr.bund.de

Autorinnen und Autoren

Universität Stuttgart
Institut für Leichtbau Entwerfen und Konstruieren (ILEK)
Prof. Dr.-Ing. Lucio Blandini
lucio.blandini@ilek.uni-stuttgart.de

Christoph Nething
christoph.nething@ilek.uni-stuttgart.de

Maiia Smirnova
maiia.smirnova@ilek.uni-stuttgart.de

Mykola Tsyharin
st163238@stud.uni-stuttgart.de

Universität Stuttgart
Institut für Mikrobiologie (IMB)
apl. Prof. Dr. Andreas Stolz
andreas.stolz@imb.uni-stuttgart.de

Erik Eppinger
erik.eppinger@imb.uni-stuttgart.de

Janosch A. D. Gröning
janosch.groening@imb.uni-stuttgart.de

Daniele P. Funaro
daniele.funaro@imb.uni-stuttgart.de

Universität Stuttgart
Institut für Steuerungstechnik der Werkzeugmaschinen und Fertigungseinrichtungen (ISW)
Prof. Dr.-Ing. Alexander Verl
alexander.verl@isw.uni-stuttgart.de

Maximilian Nistler
maximilian.nistler@isw.uni-stuttgart.de

Redaktion

Universität Stuttgart

Stand

Februar 2023

Gestaltung

Universität Stuttgart

Bildnachweis

Titelbild: Maiia Smirnova, ILEK
Maiia Smirnova, ILEK: S. 9, 17, 31, 34, 38, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 47, 53, 54, 55, 56, 57, 65, 66, 69, 70, 70, 82, 83, 85, 87, 90;
Erik Eppinger, IMB: S. 24; Christoph Nething, ILEK: S. 71

Vervielfältigung

Alle Rechte vorbehalten

Der Herausgeber übernimmt keine Gewähr für die Richtigkeit, die Genauigkeit und Vollständigkeit der Angaben sowie für die Beachtung privater Rechte Dritter. Die geäußerten Ansichten und Meinungen müssen nicht mit denen des Herausgebers übereinstimmen.

Zitierweise

Smirnova, Maiia; Nething, Christoph; Tsyharin, Mykola; Eppinger, Erik; Funaro, Daniele P.; Gröning, Janosch A. D.; Nistler, Maximilian; Verl, Alexander; Stolz, Andreas; Blandini, Lucio, 2024: Biobeton: Grundlagen und Verfahrensprinzipien für die Herstellung CO₂-neutraler und ressourceneffizienter Bauteile. BBSR-Online-Publikation 23/2024, Bonn.

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	6
Abstract	7
Einführung	8
Problemstellung	9
Stand der Forschung/Baupraxis	9
Forschungslücke/Entwicklungsbedarf	12
Zielstellung	13
Konkrete Projektziele	13
Übergeordnete Ziele und der Beitrag des Projekts dazu	13
Forschungsdesign	14
Arbeitshypothesen	14
Methodischer Ansatz	14
Projektteam und Organisation, Kooperationspartner	15
Arbeitspakete und Meilensteine	15
Projektverlauf	17
Darstellung der durchgeführten Arbeiten und der Erkenntnisse daraus (inkl. Zwischenergebnisse und Meilensteine)	17
Beschreibung und Begründung von möglichen Änderungen gegenüber dem ursprünglichen Antrag	20
Ergebnisse	21
1. Analyse unterschiedlicher Enzymquellen und der verwendete Bakterienstamm	21
2. Herstellung und Charakterisierung des Urease-aktiven Calciumcarbonat-Pulvers (UACP)	23
2.1. Herstellung des UACP	23
2.2. Messung der Urease-Aktivität in UACP	23
2.3. Einfluss der Herstellungsparameter auf die Urease-Aktivität von UACP	23
2.4. Morphologie und (Mikro)Struktur des UACP	27
2.5. Röntgenphasenanalyse und Rasterelektronenmikroskopie des UACP	29
3. Entwicklung von Mischungen mit optimierter Packungsdichte	31
4. Herstellung von Probekörpern mit UACP	37
4.1. Perkolation: Variation physikalischer und chemischer Parameter	37
4.2. Druckbasierte Herstellungsverfahren	49
5. Bewehrung von Biobeton	67
6. Langfristige Aufbewahrung des UACP	72
7. Optimierung der Bakterienanzucht	75
8. Additive Fertigung mittels Biomineralisierung	80
9. Biobetonherstellung ohne externe Zufuhr einer Zementierungslösung	86
Bewertung/Diskussion/Zielerreichung	88
Fazit	92
Mitwirkende	94
Kurzbiographien	95

Literaturverzeichnis	97
Abbildungsverzeichnis	103
Tabellenverzeichnis	106
Anlage - Symbole	107

Kurzfassung

Der Biobetonherstellung liegt der Prozess der mikrobiell induzierten Calcitausfällung (eng. kurz MICP) zugrunde, in dem Calciumcarbonat (CaCO_3) als Bindemittel infolge einer von Mikroorganismen initiierten Kettenreaktion gebildet wird. Biobeton stellt eine potenziell CO_2 -neutrale Alternative zu zementgebundenem Beton dar, da bei der Biomineralisierung keine prozessbedingten CO_2 -Emissionen anfallen und CO_2 in Form von CaCO_3 gebunden wird.

Für die Biomineralisierung muss den Mikroorganismen eine Zementierungslösung mit Harnstoff- und Calcium-Ionen zugeführt werden. Die meisten Studien zu MICP befassen sich mit der Anwendung für die Bodenbefestigung, bei der die Zufuhr der Zementierungslösung mittels Perkolatation unter Schwerkraft von oben erfolgt. In einzelnen Studien zur Herstellung von Steinen aus Biobeton im Ziegelformat wurden weitere Methoden, wie das Einlegen in ein Bad der Zementierungslösung, eingeführt. In diesen Studien konnten allerdings keine mit Beton oder Ziegelsteinen vergleichbaren Druckfestigkeitswerte in Kombination mit einer ausreichenden Bauteiltiefe erreicht werden.

Die Ergebnisse aus dem vorliegenden Forschungsprojekt sowie Studien anderer Autoren zeigen, dass insbesondere für das Erreichen hoher Festigkeiten die Schwerkraft und die Diffusionskräfte nicht ausreichend sind, um die notwendige Menge gelöster Ionen in die Tiefe eines Bauteils zu transportieren. Nach dem aktuellen Stand der Forschung ist eine mehrfache oder kontinuierliche Zufuhr der Zementierungslösung für mindestens drei Tage notwendig, um die maximale Festigkeit eines Bauteils zu erreichen.

Der Schwerpunkt des Forschungsprojekts lag daher auf der Entwicklung einer Methodenkombination, welche die Herstellung größerer Bauteile mit hoher Druckfestigkeit ermöglicht. Die Untersuchungen wurden größtenteils mit einem gefriergetrockneten Urease-aktivem Calciumcarbonat-Pulver (UACP) durchgeführt, in dem das Urease-bildende Bakterium *Sporosarcina pasteurii* eingeschlossen war. Im Rahmen der Untersuchungen wurden die Anzucht des Bakteriums verbessert und die Lagerfähigkeit vom UACP geprüft. Ein wesentlicher Bestandteil des Projektes lag in der Optimierung der Mischungszusammensetzungen und der Anpassung von chemischen Faktoren bei verschiedenen Herstellungsmethoden, wie der Perkolatation mittels Schwerkraft, dem Durchströmen unter Druck und der additiven Fertigung. Die maximal erreichte Druckfestigkeit bei einer Zementierungstiefe von 135 mm betrug 46 MPa und übertrifft in dieser Kombination bisher aus der Literatur bekannte Werte.

Um die Herstellung von Bauteilen aus Biobeton möglichst in bestehende industrielle Fertigungsprozesse integrieren zu können, wurde in diesem Projekt auch die Zementierung ohne externe Zufuhr der Zementierungslösung betrachtet. Allerdings konnte auf diese Weise bisher nur eine minimale Festigkeitsentwicklung erreicht werden.

Da sich die verwendete Zementierungslösung korrosiv auf Stahlbewehrung auswirkt, wurde im Zusammenhang mit dem Herstellungsprinzip Durchströmen unter Druck die Anwendung einer vorgespannten Basaltfaserbewehrung untersucht.

Zur Senkung der Herstellungskosten von Biobeton wurden zudem Anzuchtmedien auf der Basis von Hefeextrakt aus Gelägern (Reststoffe der Bierproduktion) untersucht, die einen deutlichen Kostenvorteil gegenüber teuren Komplexmedien darstellen.

Abstract

The production of bio-concrete is based on the process of microbially induced calcite precipitation (MICP), in which calcium carbonate (CaCO_3) is formed as a binder as a result of a chemical chain reaction initiated by microorganisms. Bio-concrete is a potentially CO_2 -neutral alternative to concrete produced by hydration of Portland cement, since no process-related CO_2 emissions are generated during biomineralization and CO_2 is bound in the form of CaCO_3 .

For biomineralization, a cementation solution containing urea and calcium ions must be supplied to the microorganisms. Most studies on MICP deal with the application for soil stabilization, where the supply of the cementation solution is done by percolation under gravity from above. In some studies on the production of bricks out of bio-concrete, other methods, such as placing in a bath with the cementation solution, have been introduced. So far, however, it has not been possible to achieve compressive strength values comparable with concrete or bricks in combination with sufficient component depth.

The results from the present research project as well as studies by other authors show that, especially for achieving high strengths, gravity and diffusion forces are not sufficient to transport the necessary amount of dissolved ions into the depth of a component. According to the current state of research, a multiple or continuous supply of the cementation solution for at least three days is necessary to achieve the maximum strength of a component.

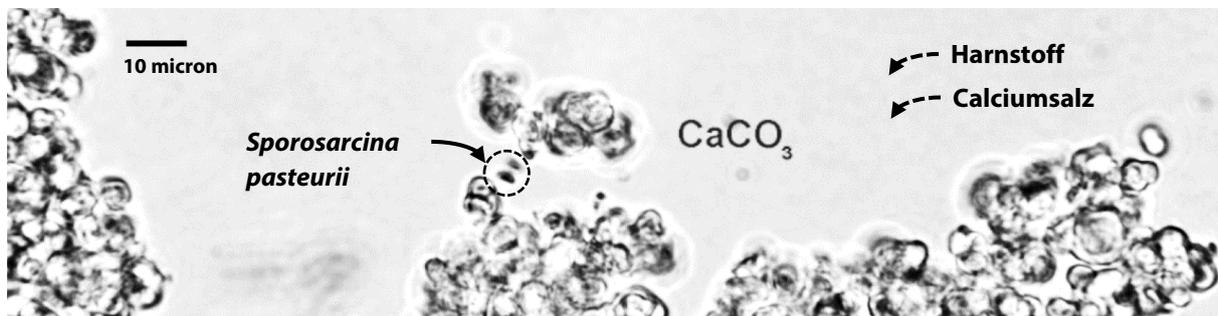
The focus of the research project was therefore the developing of the combination of methods that would enable the production of larger components with high compressive strength. Most of the research was conducted using a freeze-dried urease-active calcium carbonate powder (UACP) in which the urease-forming bacterium *Sporosarcina pasteurii* was enclosed. As part of the research, the cultivation of the bacterium was improved and the shelf life of the UACP was tested. A major part of the project was the optimization of mix compositions and the adjustment of chemical factors in different manufacturing methods, such as percolation by gravity, flow under pressure and additive manufacturing. The maximum compressive strength achieved at a cementation depth of 135 mm was 46 MPa, exceeding values previously known from the literature in this combination.

In order to be able to integrate the production of components out of bio-concrete into existing industrial manufacturing processes to the highest extent, cementation without external supply of the cementation solution was also considered in this project. However, only minimal strength development could be achieved in this way so far.

Since the cementation solution has a corrosive effect on steel reinforcement, the use of a prestressed basalt fiber reinforcement was investigated in combination with the pressure-based manufacturing principle.

To reduce the manufacturing costs of bio-concrete, growing media based on yeast extract from breweries were also investigated, which represent a significant cost advantage over expensive complex media.

Einführung



Calciumcarbonatbildung durch *Sporosarcina pasteurii* unter dem Lichtmikroskop, ILEK

Beton ist einer der wichtigsten Baustoffe der Gegenwart. Jedoch verursacht das Brennen des benötigten Zements ca. 8 % der globalen klimaschädlichen CO₂-Emissionen [1]. Die CO₂-Emissionen bei der Zementherstellung können zwar durch den Einsatz von erneuerbaren Energien und die Verringerung des Zementklinkeranteils im Beton reduziert, jedoch nicht komplett vermieden werden. Die Nutzung natürlicher mikrobiologischer Prozesse zur Verfestigung von Gesteinskörnung zu sogenanntem Biobeton stellt eine vielversprechende und potenziell CO₂-neutrale Alternative zu zementgebundenem Beton dar.

Gewisse Bakterien, die ein Urease-Enzym besitzen, sind in der Lage nach Zugabe von Calcium-Salzen und Harnstoff die Bildung von Calciumcarbonat-Kristallen zu initiieren. Der Prozess ist als mikrobiologisch induzierte Calcit ausfällung, kurz MICP, bekannt [2]. Als Biobeton wird dabei ein Baustoff bezeichnet, bei dem Zuschläge durch die gebildeten Calciumcarbonat-Kristalle gebunden und verfestigt werden. Der Biomineralisierungsprozess an sich ist CO₂-negativ, da Kohlendioxid in Carbonat-Verbindungen gespeichert wird.

Im Gegensatz zu chemischen Reaktionen, die zu einem (häufig sehr schnellen) spontanen Ausfällen von Calciumcarbonat führen, wird der MICP-Prozess von den Urease-Enzymen gesteuert und ist durch die lokalen sukzessiven Erhöhungen und Senkungen des pH-Wertes geprägt [3]. Dies führt zum Wachstum stabiler Calciumcarbonat-Kristalle. Zusätzlich dienen die bakteriellen Zellen vielfach als Kristallisationskeime [4].

Biobeton wird bereits in einigen Bereichen des Bauwesens angewandt, wie z.B. beim Verschließen von Rissen in Beton, bei der Befestigung sandiger Böden und bei der Herstellung von Ziegelsteinen und Fliesen.

Der MICP-Prozess findet in einer wässrigen Umgebung statt - die bakteriellen Zellen befinden sich während der Mineralisierung in einer Calcium- und Harnstoff-haltigen Zementierungslösung. Dabei besteht ein positiver Zusammenhang zwischen der Druckfestigkeit der biomineralisierten Probekörper und dem Calciumcarbonat-Gehalt [8]. Um eine hohe Festigkeit zu erreichen, soll nach aktuellem Forschungsstand die Zementierungslösung in den Zwischenräumen der Gesteinskörnung mehrfach ausgetauscht werden. Dies führt meistens zu einer inhomogenen Zementierung bei der Herstellung größerer Bauteile.

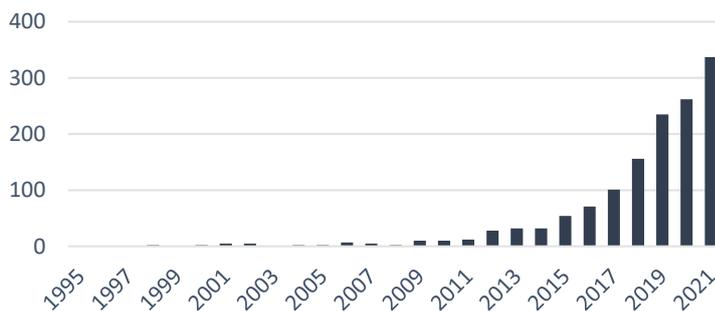
Bislang existieren keine Verfahren, bei denen Biobeton zur Herstellung großformatiger Bauteile eingesetzt werden kann. Das aktuelle Projekt befasst sich mit der Entwicklung von Konzepten zur Herstellung tragender Bauteile aus Biobeton, womit ein großes Potenzial zur CO₂-Einsparung besteht.

Problemstellung

Stand der Forschung/Baupraxis

Es besteht derzeit ein großes wissenschaftliches und kommerzielles Interesse an MICP-Prozessen und die Anzahl an Forschungsarbeiten zu diesem Thema ist in den letzten 10 bis 20 Jahren annähernd exponentiell gestiegen (Abbildung 1).

Abbildung 1
Anzahl der Forschungsarbeiten mit dem Schlüsselwort „MICP“

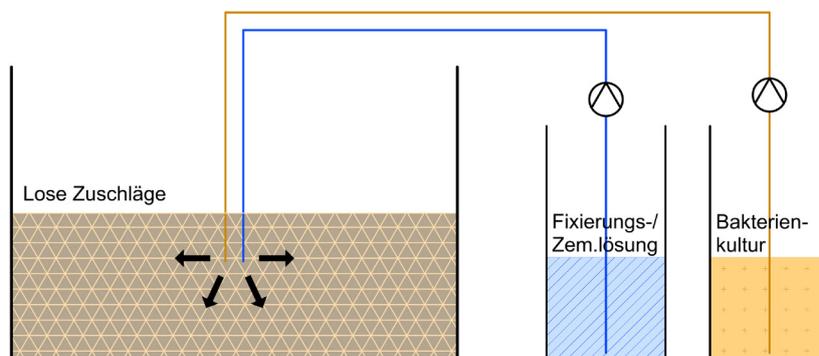


Quelle: Web of Science, www.webofscience.com, 2022

Dabei wurden zahlreiche Zementierungsversuche durchgeführt und verschiedene Ansätze für die Anwendung von MICP im Bauwesen entwickelt. In diesem Teil wird die Entwicklung und der Stand der Forschung/Baupraxis zur Herstellung von biomineralisiertem Gestein beschrieben, bei dem als Bindemittel ausschließlich Calciumcarbonat agiert und kein Portlandzement verwendet wird. Diese Forschungsrichtung unterscheidet sich von solchen Anwendungen wie z.B. dem sogenannten selbstheilendem Beton, bei dem entkapsulierte Bakterienzellen dem zementbasierten Beton beigemischt werden, um auftretende Risse zu verschließen.

Die ersten wissenschaftlichen Arbeiten zu Verwendung von MICP als Bindemittel befassen sich mit der Anwendung für die Bodenbefestigung [5] (2007). In Feldversuchen wurde ein Prozess entwickelt, in dem der Gesteinskörnung zuerst eine Bakterienkultur und anschließend mehrfach eine Zementierungslösung zugeführt wurde (Abbildung 2).

Abbildung 2
Anwendung von MICP für die Bodenbefestigung, schematische Darstellung

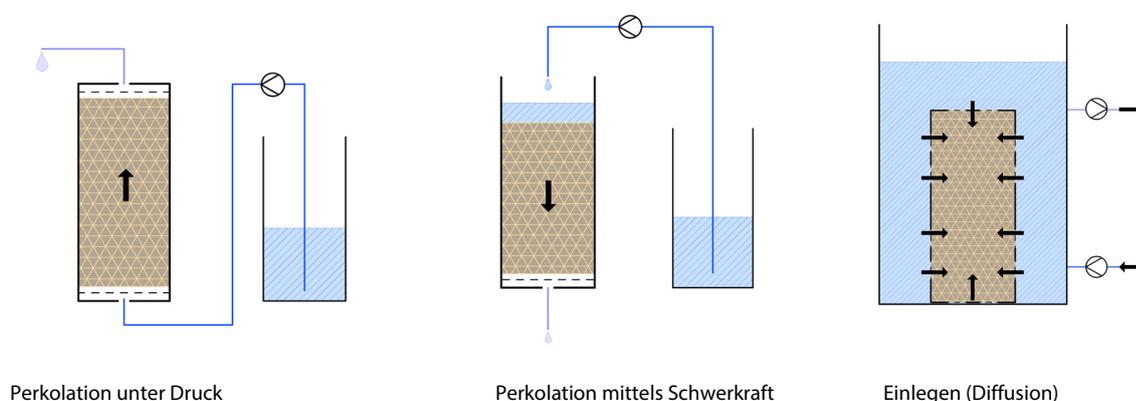


Quelle: ILEK

In diesem Zusammenhang wurden Techniken zur Fixierung der Bakterien in der Gesteinskörnung durch die Zugabe von gering konzentrierten Fixierungslösungen entwickelt [6] und großformatige Zementierungsversuche ($> 100 \text{ m}^3$) durchgeführt [7].

Die meisten Labor-Versuche zur Verfestigung loser Gesteinskörnung mittels MICP wurden in einem begrenzten durch eine Schalung definierten Volumen durchgeführt und zielen neben der Bodenbefestigung vermehrt auf die Herstellung von Bauteilen ab. Nach aktuellem Forschungsstand muss dem Baukörper mehrfach oder kontinuierlich über mehrere Tage eine Zementierungslösung mit Calcium-Ionen und Harnstoff zugeführt werden, damit sich die Menge der gebildeten Calciumcarbonat-Kristalle und somit die Festigkeit erhöht [8]. Im Laufe der Zeit wurden verschiedene Zufuhr-Systeme entwickelt: die Injektion durch Druck, die Perkolation durch Schwerkraft und das Einlegen in Zementierungslösung (Abbildung 3). Die Einbringung der Bakterien kann sowohl analog zur Zementierungslösung erfolgen als auch durch das direkte Beimischen vor der Platzierung loser Gesteinskörnung in die Schalung.

Abbildung 3
Verschiedene Verfahrenskonzepte bei der Biozementierung



Quelle: ILEK

Das Durchströmen unter Druck (z.B. durch eine Pumpe) ist neben der Perkolation mittels Schwerkraft die am häufigsten verwendete Zufuhr-Methoden bei Zementierungsversuchen zu MICP, da sie Untersuchungen unter kontrollierten Bedingungen, wie z.B. einer konstanten Durchflussrate, ermöglicht.

Bereits 2004 hat Whiffin [9] Versuche mit einem Druckluft-basierten Zufuhr-System durchgeführt. Durch die Erhöhung des angelegten Druckes von ca. 0,7 auf 1 bar wurde eine Verbesserung in der Zementierungstiefe von 136 mm bis auf 170 mm erreicht. Die geringe Reduktion des Porenvolumens während der Zementierung deutet allerdings darauf hin, dass in dieser Studie keine hohen Druckfestigkeitswerte erreicht wurden. Da die meisten Studien bisher mit sehr durchlässigen Gesteinskörnungen mit geringer Endfestigkeit durchgeführt wurden, bedarf es bisher keines speziellen Zufuhr-Systems.

Cheng und Cord-Ruwisch (2012) [10] haben die Methoden Perkolation mittels Druck und Perkolation mittels Schwerkraft in einem Versuch mit einer 1 m hohen Sandsäule verglichen. Mittels Perkolation mittels Schwerkraft konnte lokal eine 3-fach höhere Festigkeit erreicht werden, was die Autoren auf die zyklische Veränderung des Feuchtigkeitsgehaltes und die darausfolgende Kristallbildung an den Kontaktstellen zwischen den Sandkörnern zurückführten. Bei Betrachtung der gesamten Säule wurde bei den beiden Methoden kein großer Unterschied in der Druckfestigkeit festgestellt (3,4 und 3,9 MPa).

In weiteren Perkulationsversuchen mit 2 m-Säulen beschrieben Cheng und Cord-Ruwisch (2014) [11] die frühzeitige Schließung der Sandzwischenräume an der Zufuhr-Seite und eine daraus resultierende Inhomogenität der Zementierung. Außerdem wurde ein mathematisches Modell aufgestellt, das die

inhomogene Verteilung der Calciumcarbonat-Kristalle mit der Urease-Aktivität, der Durchflussrate und der Anzahl der Zufuhrzyklen verknüpfte.

Entwicklungen, die spezifisch auf die Bauteilherstellung zielen, umfassen die Herstellung von Probekörpern im Ziegelstein-Format durch Perkolation mittels Schwerkraft (Bernardi et al. (2014) [12], Druckfestigkeit bis zu 2 MPa) oder durch das Einlegen der Probekörper in flüssigkeitsdurchlässigen Schalungen in ein Bad mit der Zementierungslösung. Hierbei wurden Druckfestigkeiten von 1,3 MPa (Bu et al. (2018) [13]) bis 9,7 MPa (Cheng et al. (2020) [14]) erreicht.

Cheng und Shahin (2016) [15] haben eine Methode entwickelt, bei der Bakterien vor der Einbringung in die Gesteinskörnung in Calciumcarbonat-Kristalle eingebettet werden. Das resultierende „Bioslurry“ wird mit dem Sand vermischt und verbesserte die Haftung der Bakterien. In eigenen Arbeiten wurde das Bioslurry durch Gefrier Trocknung in ein Urease-aktives Calciumcarbonat-Pulver (UACP) umgewandelt, das eine längere Aufbewahrung ermöglicht. Mit UACP wurden kleinmaßstäbliche Probekörper (D = 20 mm) mit Druckfestigkeiten von bis zu 23 MPa erreicht [16]. Außerdem wurde eine 3D-Druck Methode mit UACP entwickelt (2020) [16], die die Herstellung poröser biomineralisierter Strukturen mit klar definierten Grenzen ermöglicht.

In der Baupraxis ist die Fa. Biomason bekannt, die bereits industriell Fliesen aus Biobeton herstellt, deren Druckfestigkeit nach Firmenangaben im Bereich von 27 bis 41 MPa liegt [17]. Die Höhe der Fliesen ist jedoch durch die eingeschränkte Zementierungstiefe auf 19 mm begrenzt.

Die Anzucht des Bakteriums *Sporosarcina pasteurii*, das vielfach für MICP-Prozesse eingesetzt wird, erfolgt im allgemeinen auf komplexen Medien wie z.B. enzymatisch verdautem Casein oder Hefeextrakt. Dies hängt damit zusammen, dass noch nicht vollständig geklärt ist, welche genauen Nährstoffanforderungen *S. pasteurii* an sein Medium hat. Lapierre et al. (2020) [18] konnten einige benötigte Nährstoffe identifizieren, jedoch wurden auch in diesen Versuchen wieder die höchste Zellausbeute und Urease-Bildung bei der Verwendung von Hefeextrakt als zusätzlichem Medienbestandteil erreicht. Eine Alternative zum Ersatz der meist teuren, komplexen Bestandteile durch chemisch definierte Medienzusätze ist die Verwendung von Reststoffen. Hierbei wurde bereits die Verwendung von Reststoffen aus Molkereien, Brauereien oder Zuckerraffinerien untersucht [19,20].

Forschungslücke/Entwicklungsbedarf

Für das ursprüngliche Anwendungsziel der MICP zur Bodenbefestigung sind Druckfestigkeiten von mehreren hundert Kilopascal bis zu wenigen Megapascal ausreichend. Erst in jüngerer Zeit wird der Fokus vermehrt auf die Herstellung von Bauteilen aus Biobeton und hiermit verbunden auf der Steigerung der Druckfestigkeit gelegt. Jedoch liegen die bislang erreichten Werte zumeist noch weit unter dem Bereich, der für eine Anwendung von Biobeton in Bauteilen mit großer Baumasse, wie z.B. Wänden und Decken, erforderlich wäre. Hierfür ist eine Steigerung der Druckfestigkeit in den Bereich von 20 bis 30 MPa notwendig.

Wie bereits zuvor ausgeführt, geht bei der MICP mit einer zunehmenden Druckfestigkeit jedoch auch eine Reduzierung der Zementierungstiefe einher, da das Gesteinsgefüge durch die Kristallbildung zunehmend dichter wird und die Zementierungslösung nur noch langsam hindurchdringen kann. Dies führt zu der Bildung einer sehr stark zementierten Schicht am Eintrittspunkt der Zementierungslösung in die Gesteinskörnung, wohingegen tiefere Schichten nur unzureichend zementiert werden. Für die Herstellung von Bauteilen wie Wänden oder Decken wird sowohl eine tiefe Zementierung als auch eine hohe Druckfestigkeit benötigt.

Durch den hohen Salzgehalt der Zementierungslösung und das Entstehen von Ammonium während der Biomineralisierung kann in Bauteilen aus Biobeton kein Bewehrungsstahl verwendet werden, da dieser stark korrodieren würde. Bislang wurde in der Forschung nur die Zugabe von Kurzfasern aus korrosionsbeständigem Basalt untersucht, die aber kein Ersatz für eine durchgehende Stabbewehrung sind. Mit der Entwicklung von Methoden zur Einbringung von korrosionsbeständiger Stabbewehrung kann das Anwendungsgebiet von Biobeton erheblich erweitert werden.

Ein großer Vorteil von herkömmlichem Beton ist die einfache Aufbewahrung und Verarbeitung. Die Herstellung von Biobeton ist dagegen weitaus aufwändiger, da eine frische Bakterienkultur angesetzt und die Zementierungslösung in mehreren Zyklen wiederholt hinzugegeben werden muss. Durch die Entwicklung von Methoden zur Aufbewahrung der Bakterien und durch die Reduzierung der Anzahl der Zementierungszyklen kann die Herstellung von Biobeton erheblich vereinfacht werden.

Ein großer Kostenfaktor bei der Herstellung von Biobeton ist die Anzucht der Bakterien. Hierfür werden sogenannte Komplexmedien verwendet, die zwar einer großen Vielfalt von Bakterien ein gutes Wachstum ermöglichen, aber auch sehr teuer sind. Um die Verwendung von Biobeton wirtschaftlich zu machen, besteht der Bedarf ein günstiges, für das verwendete Bakterium optimiertes Medium, zu entwickeln.

Zielstellung

Biobeton ist ein relativ neues Material. Es besteht daher ein hoher Entwicklungsbedarf auf mehreren Ebenen. Der Fokus des Projekts lag primär auf der Untersuchung und Verbesserung der mechanischen Eigenschaften von Biobeton und seiner Verarbeitung, um seine Eignung als Baumaterial im Bauwesen zu prüfen.

Konkrete Projektziele

1. Untersuchung und Verbesserung der mechanischen Eigenschaften durch Entwicklung von Verfahrensprinzipien und Bewehrungsintegration

Ein Ziel des Forschungsprojektes war die Entwicklung von mindestens einem Verfahrensprinzip für die Herstellung von Bauteilen aus Biobeton mit einer – verglichen mit dem Stand der Forschung - höheren Zementierungstiefe, Homogenität und einer Druckfestigkeit von mindestens 20 MPa. Desweiteren sollte die Integration von korrosionsbeständigen Stabbewehrungen aus Basaltfasern untersucht werden.

2. Vereinfachung des Biobeton-Herstellungsprozesses

Zum einen sollte die Reduktion der benötigten Zementierungszyklen, bestenfalls auf eine einmalige Zugabe der Zementierungslösung erzielt werden, zum anderen wurde die langfristige Aufbewahrung von UACP untersucht.

3. Kostenreduktion

Im aktuellem Projekt wurde eine Kostenreduktion der Bakterienanzucht angestrebt. Hierfür sollten die benötigten Nährstoffe identifiziert und ein günstiges Anzuchtmedium unter Verwendung alternativer Rohstoffquellen entwickelt werden.

4. Ganzheitliche Bilanzierung zur CO₂-neutralen Herstellung von Biobeton

Angestrebt war eine ganzheitliche Bilanzierung zur CO₂-neutralen Herstellung von Biobeton durch eine Abschlussarbeit.

Übergeordnete Ziele und der Beitrag des Projekts dazu

Der Dekarbonisierung der Bauindustrie wird im Hinblick auf die globale Klimaerwärmung allgemein eine hohe Bedeutung beigemessen. In der Beton- und Zementindustrie wird daher nach Wegen gesucht, CO₂-Emissionen zu reduzieren oder nutzbar zu machen. Die Verwendung von Biobeton als Alternative zu zementgebundenem Beton besitzt in dieser Hinsicht ein großes Potential. Das Ziel des Forschungsvorhabens war die Weiterentwicklung der Biobeton-Technologie für eine zeitnahe Anwendung in der Baupraxis. Dabei sollte die grundlegende Nutzbarkeit als ökologisches Baumaterial untersucht sowie mögliche Anwendungsfelder identifiziert werden. In Folgeprojekten wird angestrebt, vertieft auf die Verwendung von Rohstoffen aus erneuerbaren Quellen (z.B. Urin statt synthetischem Harnstoff) und auf die Materialkreisläufe bei der Biobetonherstellung einzugehen.

Forschungsdesign

Arbeitshypothesen

- Zementierungstiefe und Festigkeit des Biobetons kann durch die Konzentration der Zementierungslösung und die Menge und Urease-Aktivität der Bakterien beeinflusst werden.
- Die Festigkeit des Biobetons kann durch die Erhöhung der Packungsdichte der Zuschläge beeinflusst werden.
- Die erreichbare Zementierungstiefe, Homogenität und Festigkeit von Biobeton ist stark verfahrensabhängig. Bei der mehrfachen Zufuhr der Zementierungslösung (Durchpumpen, Perkolation, Einlegen), nimmt die Zementierungstiefe mit zunehmender Festigkeit ab. Durch gezielte Anpassung der Herstellungsparameter, wie z.B. der Geschwindigkeit, mit der die Zementierungslösung zugeführt wird, könnten diese Einschränkungen überwunden werden.
- Eine weitere Möglichkeit, um die herstellbaren Dimensionen von Bauteilen aus Biobeton zu erhöhen, könnte auch in der Ausbildung durchlässiger Kanäle in der Gesteinskörnung bestehen, damit die Zementierungslösung in tiefere Schichten vordringen kann.
- Im Gegensatz zu zementbasiertem Beton kann Biobeton seine Festigkeit nach dem Einbringen in die Schalung nicht direkt erreichen. Bei Verfahrensprinzipien aus der Literatur ist bislang eine mehrfache Zuführung der Zementierungslösung notwendig, um die benötigte Menge an Ionen für die Calciumcarbonatbildung in die Gesteinskörnung zu transportieren. Durch die Erhöhung der Packungsdichte und der anfänglichen Ionenkonzentration, sowie durch die Zugabe von ionenspeichernden Tonen könnte aber eine Zementierung „in einem Gang“ ohne weitere Zugabe der Zementierungslösung erreicht werden.
- Da eine Stahlbewehrung für den Einsatz in Biobeton ungeeignet ist, müssen Alternativen geprüft werden. Eine Stabbewehrung aus Basaltfasern könnte eine passende Alternative sein, da sie Alkali resistent ist und nicht korrodiert. Mit Basaltfasern bewehrter Biobeton wäre zudem ein rein mineralischer Baustoff, der das Recycling erleichtern könnte.
- Es konnte in Vorarbeiten bereits gezeigt werden, dass UACP über mehrere Wochen gelagert werden kann. Unter den richtigen Aufbewahrungsbedingungen könnte UACP ohne Aktivitätsverlust über eine noch längere Zeit haltbar sein und wäre damit ähnlich lagerfähig, transportabel und verarbeitbar wie Zement.
- Die Verwendung von definierten Medien reduziert die Anzuchtkosten der verwendeten Bakterien gegenüber Komplexmedien bereits stark, jedoch könnten die Kosten durch die Verwendung von Reststoffen aus anderen industriellen Prozessen, z.B. Heferesten aus der Bierherstellung, noch weiter gesenkt werden.

Methodischer Ansatz

Der generelle Projektansatz umfasste theoretische Überlegungen und praktische Zementierungsversuche mit verschiedenen Verfahrensprinzipien. Ein wichtiger Bestandteil war die Entwicklung von Versuchsaufbauten, mit denen Parameter variiert und Zementierungsdaten gesammelt werden können.

Die Kultivierung von Mikroorganismen und die Herstellung des UACP wurde im 100 ml bis 8 l Maßstab durchgeführt.

Im Projekt wurden qualitative und quantitative Analysen von Biomineralisierungsprozessen durch die Anwendung folgender Methoden vorgenommen:

- in-vivo und in-vitro Bestimmung von Enzym-Aktivitäten
- Bestimmung von Ionenkonzentration in Kultur-Flüssigkeiten
- Bestimmung der Menge des gebildeten Calciumcarbonates
- Druck- und Biegefestigkeits-Messungen an den hergestellten Probekörpern

Projektteam und Organisation, Kooperationspartner

Das Projekt wurde von dem Institut für Leichtbau Entwerfen und Konstruieren (ILEK) koordiniert und in Kooperation mit dem Institut für Mikrobiologie (IMB) und dem Institut für Steuerungstechnik der Werkzeugmaschinen und Fertigungseinrichtungen (ISW) der Universität Stuttgart bearbeitet. Die BearbeiterInnen wurden von einem Industriebeirat bestehend aus der Firma Gebrüder Ott Betonwerke, dem Fachverband Beton- und Fertigteilwerke Baden-Württemberg e.V. und dem Industrieverband Steine und Erden Baden-Württemberg e.V. fachlich unterstützt.

Arbeitspakete und Meilensteine

Entsprechend dem Forschungsantrag wurde das Projekt in sechs Arbeitspakete unterteilt:

AP 1 - Identifizierung der Randbedingungen und Konzeption von Verfahrensprinzipien

- Definition der Anforderungen an Biobeton, Konzeption geeigneter Verfahrensprinzipien und Definition ihrer Umsetzungskriterien für die Bauteilproduktion
- Analyse unterschiedlicher Enzymquellen und Untersuchung des Einflusses mikrobiologischer Parameter auf die Ureaseaktivität und die Kristallbildung

AP2 - Materialuntersuchungen mit konzeptierten Verfahrensprinzipien

- Bakterien und Enzyme: Anzucht der Bakterien / Herstellung der Enzyme, Optimierung der Bereitstellungsform und der Aufbewahrung
- Zementierungsprozess: Untersuchung des Einflusses von Chemikalienkonzentration, Enzymmenge, Ureaseaktivität, Zementierungsprogramm und Zusatzstoffen auf die Fixierung von Enzymen, Zementierungstiefe, Homogenität und Druckfestigkeit des Biobetons

AP 3 - Technische Umsetzbarkeit konzipierter Verfahrensprinzipien

- Theoretische Ausarbeitung und Bewertung von Konzepten zum Mischen, Ausbringen und Zementieren von Biobeton
- Konzeption von Versuchsaufbauten für kleinmaßstäbliche verfahrenstechnische Untersuchungen

AP 4 - Verfahrenstechnische Untersuchungen und Skalierbarkeit der ausgewählten Verfahrensprinzipien

- Auslegung der Produktion von Bakterien / Enzymen für große Volumen unter Betrachtung ökonomischer Anforderungen durch Verwendung alternativer Anzuchtmedien und Chemikalienquellen
- Kleinmaßstäbliche verfahrenstechnische Untersuchungen

- Systemtechnische Modellierung des Misch- und Ausbringverfahrens, modellbasierte Regelung
- Zuschläge
- Bewehrung
- Auswahl einer Methodenkombination anhand bauteil- und verfahrensbezogener sowie mikrobiologischer Kriterien

AP 5 - Herstellung und Prüfung von kleinmaßstäblichen Probekörpern mit einem ausgewählten Verfahrensprinzip

AP 6 - Projekttreffen und Dokumentation

- Organisation von Projekttreffen
- Dokumentation und Veröffentlichung der Ergebnisse

Über den Projektverlauf hinweg wurden folgende vier Meilensteine gesetzt:

MEILENSTEIN I (Monat 6)

- Tabellarische Aufstellung mit prozess- und bauteilbeschreibenden Systemgrößen für mehrere Verfahrensprinzipien

MEILENSTEIN II (Monat 8)

- Kriterien zur technischen Umsetzbarkeit der ausgewählten Verfahrensprinzipien wurden ergänzt

MEILENSTEIN III (Monat 12)

- 1 - 3 Verfahrensprinzipien sind für weitere Untersuchungen ausgewählt
- Tabelle mit prozess- und bauteilbeschreibenden Systemgrößen ist für 1 - 3 ausgewählte Verfahrensprinzipien vervollständigt. Umsetzungskriterien für das jeweilige Verfahrensprinzip sind untersucht
- Für 1 - 3 Verfahrensprinzipien wurden Versuchsaufbauten konzipiert

MEILENSTEIN IV (Monat 21)

- Tabelle mit prozess- und bauteilbeschreibenden Systemgrößen für 1 - 3 Verfahrensprinzipien wurde mit den Ergebnissen der Versuche vervollständigt
- Mindestens ein Verfahrensprinzip ist für die Herstellung von Probekörpern geeignet
- Materialkosten für die Biobetonherstellung sind reduziert

Projektverlauf

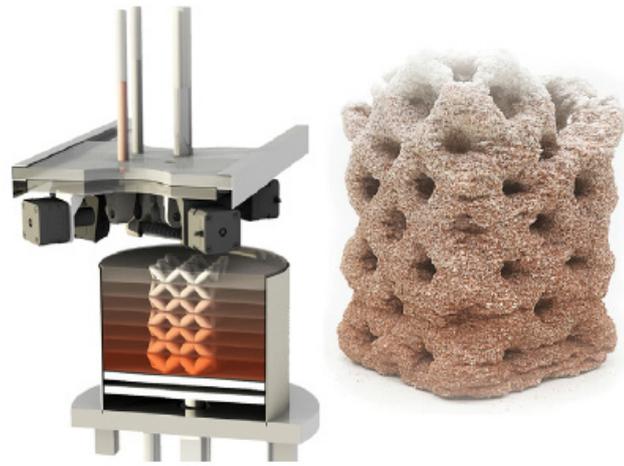
Darstellung der durchgeführten Arbeiten und der Erkenntnisse daraus (inkl. Zwischenergebnisse und Meilensteine)

Die initialen Untersuchungen im Projekt beruhten auf eigenen Vorarbeiten, in denen Probekörper (\varnothing 20 mm) mittels Perkolation und poröse Strukturen mittels 3D-Druck [16] (Abbildung 4) hergestellt worden waren. Die maximale Zementierungstiefe, die in den Vorarbeiten erreicht wurde, betrug 30 mm.

Abbildung 4
Eigene Vorarbeiten zum Projektbeginn, ILEK



Perkolation im kleinen Maßstab



3D-Druck (Nething et al., 2020)

Bild-Quelle: ILEK

AP 1 - Identifizierung der Randbedingungen und Konzeption von Verfahrensprinzipien

Zu Beginn des Projekts wurden die Anforderungen an Prozesse zur Herstellung von Bauteilen aus Biobeton festgelegt. Folgende Anforderungen wurden aus bautechnischer, verfahrenstechnischer und mikrobiologischer Sicht für die weitere Entwicklung als maßgeblich betrachtet:

- Hohe Festigkeit bei ausreichender Zementierungstiefe
- Möglichkeiten der Bewehrungseinbringung
- Einfache Verarbeitbarkeit
- Kosteneffizienz
- geringer CO₂-Fußabdruck, Recycling-Fähigkeit

Da die Packungsdichte der Mischung allgemein entscheidend für das Erreichen hoher Festigkeitswerte ist, wurden zu Beginn des Projekts optimierte Sieblinien erstellt und Verdichtungsversuche durchgeführt (Kapitel Ergebnisse, Teil 3). Bei den entwickelten Mischungen wurde eine Reduktion der Porosität von 10 % bis 20 % erreicht. Diese Mischungen wurden für den gesamten weiteren Projektverlauf verwendet.

Zur Bewertung verschiedener Verfahrensprinzipien für die Herstellung von Bauteilen aus Biobeton wurden die Eigenschaften und spezifische Vorteile der einzelnen Verfahren tabellarisch aufgelistet und bewertet (Meilenstein I).

Folgende Verfahrensprinzipien wurden für die weitere Bearbeitung im Projekt betrachtet:

- Perkolation

Da die Zufuhr der Zementierungslösung durch Schwerkraft technisch sehr einfach zu realisieren ist, sollte zunächst untersucht werden, ob die Zementierungstiefe durch die Veränderung von räumlichen, mikrobiologischen und chemischen Parametern auf ein für die Bauteilherstellung relevantes Niveau erhöht werden kann.

- Druckbasierte Herstellungsverfahren

Als weitere Möglichkeit die Zementierungstiefe zu erhöhen, wurde die forcierte Zufuhr der Zementierungslösung durch eine Pumpe oder Druckluft betrachtet.

- Additive Fertigung

Die Erhöhung der Bauteilgröße könnte auch durch die Gestaltung der Bauteilstruktur erreicht werden. Mittels additiver Fertigung sollten durchlässige Kanäle im Bauteil ausgebildet werden, die eine Zufuhr der Zementierungslösung in das Bauteilinnere ermöglichen.

- Zementierung ohne externe Zufuhr

Parallel zu den Konzepten zur Bauteilherstellung durch mehrfache Zufuhr der Zementierungslösung sollte untersucht werden, ob ausreichend stabiler Biobeton auch durch einen einzigen Zementierungsvorgang erhalten werden kann. Dieses Verfahren würde analog zu zementbasiertem Beton, ohne zusätzliche Zufuhr der Zementierungslösung nach dem Einbringen in die Schalung, erfolgen.

Neben der mikrobiell induzierten Calcitausfällung (MICP) wird in der Literatur auch die enzymatisch induzierte Calcitausfällung (EICP) für die Anwendung in der Biomineralisierung beschrieben. Die beiden Arten der Calcitausfällung wurden miteinander verglichen (Ergebnisse, Teil 1), um ihre Eignung für die Verwendung im weiteren Projektverlauf zu bewerten. Auf dieser Basis wurde MICP für die Verwendung im Projekt ausgewählt, insbesondere in der Form von UACP.

Abschließend wurde in diesem Arbeitspaket der Einfluss von mikrobiologischen Parametern auf die Urease-Aktivität und die Kristallbildung untersucht sowie die bei der UACP-Herstellung gebildeten Polymorphe des Calciumcarbonats charakterisiert (Ergebnisse, Teil 2.2 – 2.5).

AP2 - Materialuntersuchungen mit konzipierten Herstellungsverfahren

Im zweiten Arbeitspaket wurden Zementierungsversuche mittels Perkolation durchgeführt, um den Einfluss von räumlichen, mikrobiologischen und chemischen Parametern auf die Zementierungstiefe und die Festigkeit der Probekörper zu untersuchen (Ergebnisse, Teil 4 und 8). Zwar konnte auf diese Weise der Einfluss vieler Parameter analysiert und Probekörper mit hoher Festigkeit hergestellt werden, die Zementierungstiefen lagen jedoch nur im Bereich von 20 bis 40 mm.

In einer Versuchsreihe wurde UACP mit verschiedenen Parametern (variierte Konzentration, Zelldichte, etc.) hergestellt und der Effekt auf die Urease-Aktivität analysiert. Um eine gute Reproduzierbarkeit bei der Herstellung von UACP zu erreichen, wurde ein Arbeitsprotokoll für die Herstellung (Ergebnisse, Teil 2.1) von UACP und die Messung der Urease-Aktivität (Ergebnisse, Teil 2.2) etabliert. In einer Versuchsreihe wurde der Einfluss verschiedener Herstellungsparameter auf die Eigenschaften von UACP untersucht. Zudem wurde in einem Langzeitversuch über 7,5 Monate hinweg die Haltbarkeit des UACP unter verschiedenen Lagerbedingungen beobachtet.

AP 3 - Technische Umsetzbarkeit konzipierter Verfahrensprinzipien

In diesem Arbeitspaket wurden Konzepte zum Mischen, Ausbringen und Zementieren von Biobeton für die druckbasierten Herstellungsverfahren (Ergebnisse, Teil 4) und das additive Herstellungsverfahren (Ergebnisse, Teil 8) ausgearbeitet. In den folgenden Arbeitspaketen wurden diese Konzepte in Versuchsaufbauten realisiert und validiert (Meilenstein II).

AP 4 - Verfahrenstechnische Untersuchungen und Skalierbarkeit der ausgewählten Verfahrensprinzipien

Um größere Mengen UACP herstellen zu können, wurde die Produktion in dem größten im Labor verfügbaren Reaktor im 8 L Maßstab durchgeführt. Zur Kostenreduktion der Bakterianzucht wurde die Verwendung alternativer Rohstoffquellen untersucht und es konnte ein günstigeres Anzuchtmedium auf der Basis von Hefeextrakt aus Abfallstoffen der Brauerei entwickelt werden (Ergebnisse, Teil 7).

Zu den druckbasierten Herstellungsverfahren (Zufuhr durch externe Druckkräfte) und zu der additiven Fertigung wurden kleinmaßstäbliche automatisierte Versuchsanlagen für die Herstellung von Probekörpern realisiert und in Betrieb genommen (Ergebnisse, Teil 4.2 und 8, Meilenstein III). Zum Abschluss des Arbeitspakets wurden die druckbasierten Herstellungsverfahren aufgrund der erreichten Festigkeit und Zementierungstiefe sowie der einfacheren technischen Umsetzung für die Herstellung von Probekörpern im weiteren Projektverlauf ausgewählt (Meilenstein IV). Die additive Fertigung wurde wegen ihrer Flexibilität hinsichtlich der Bauteilgeometrie jedoch ebenfalls weiter untersucht.

Zudem wurden Konzepte zur Einbringung von Basaltfaserbewehrung entwickelt und in Zementierungsversuchen überprüft (Ergebnisse, Teil 5).

AP 5 - Herstellung und Prüfung von kleinmaßstäblichen Probekörpern mit einem ausgewählten Verfahrensprinzip

Probekörper mit einem Durchmesser von 50 mm und einer Höhe von 135 mm wurden mit den druckbasierten Verfahren hergestellt und auf Druckfestigkeit geprüft (Ergebnisse, Teil 4.2).

AP 6 – Projekttreffen und Dokumentation

Im Laufe des Projektes fanden vier Treffen mit dem Industriebeirat statt. Bei den Treffen wurden die aktuellen Forschungsergebnisse präsentiert und die weitere Forschungsrichtung diskutiert.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zu druckbasierten Herstellungsverfahren, additiver Fertigung und Lagerung von UACP werden detailliert in Fachzeitschriften veröffentlicht. Weitere Erkenntnisse aus dem Projekt sollen in Nachfolgeprojekten vertieft werden.

Beschreibung und Begründung von möglichen Änderungen gegenüber dem ursprünglichen Antrag

Die Entwicklung der Verfahrensprinzipien erfolgte nicht streng nach dem ursprünglichen Zeitplan: bei den Arbeitspaketen 2 bis 5 bestand bei verschiedenen Verfahrensprinzipien eine zeitliche Überlappung (Abbildung 5).

Alle Meilensteine wurden im Projekt erreicht, jedoch wurde auf eine tabellarische Aufstellung infolge einer schwierigen Vergleichbarkeit verschiedener Verfahrensprinzipien untereinander verzichtet. Die Entscheidungen zur Weiterentwicklung der jeweiligen Prinzipien wurde stattdessen auf der Basis von Präsentationen und Diskussionen mit dem Projektbeirat getroffen.

Ursprünglich wurde eine ganzheitliche Bilanzierung der Biobetonherstellung angestrebt. Im Projektverlauf wurde allerdings festgestellt, dass die CO₂-Bilanz sehr stark von den verwendeten Rohstoffen und Herstellungsprozessen abhängig ist. In diesem Punkt besteht noch großer Entwicklungsbedarf, der den Umfang dieses Projekts überstieg. Da der Fokus des Projekts auf der Entwicklung von Verfahrensprinzipien und der Erhöhung der Druckfestigkeit lag, wurden für die Versuche synthetischer Harnstoff und Calciumchlorid in Laborqualität verwendet. Diese Stoffe können potenziell durch Abfallstoffe (z.B. Urin) und alternative Calciumquellen (z.B. Abfallstoffe der Soda-Herstellung) ersetzt werden, was die Gesamt-CO₂-Emissionen und die Umweltbilanz des Biobetons deutlich verbessern sollte. Daher kann zum jetzigen Zeitpunkt noch kein belastbarer Wert für die gesamt-CO₂ – Emissionen von Biobeton angegeben werden.

Abbildung 5
Projektverlauf

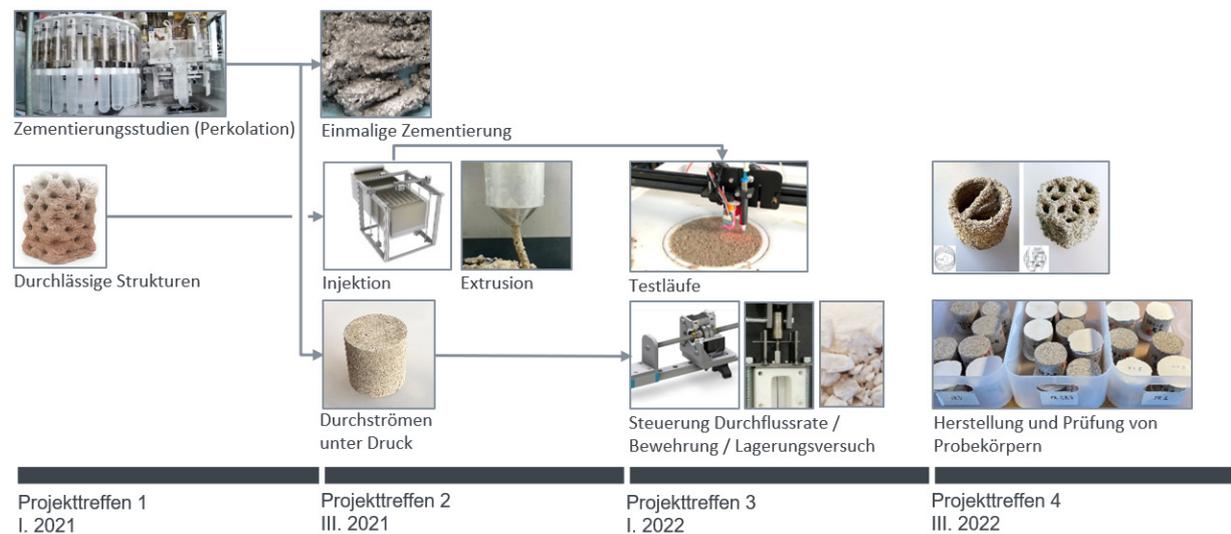


Bild-Quelle: ILEK

Ergebnisse

1. Analyse unterschiedlicher Enzymquellen und der verwendete Bakterienstamm

Die für die Untersuchungen benötigten Urease-Aktivitäten können prinzipiell entweder in Form von zellulären Systemen (i. A. Bakterienzellen) oder zellfreien Systemen (Enzymextrakte oder gereinigte Urease-Präparationen) bereitgestellt werden. Die überwiegende Mehrzahl der in der Literatur beschriebenen Untersuchungen befassen sich mit Ganzzellsystemen (MICP „Microbially Induced Calcite Precipitation“, z.B. [2,5,21–23]). Dagegen wurden nur in wenigen Fällen zellfreie Systeme untersucht (EICP „Enzyme Induced Calcite Precipitation“, [24–26]).

Die Vorteile bei der Verwendung von intakten Bakterienzellen mit Urease-Aktivität liegen insbesondere in der Möglichkeit, große Mengen an Urease-aktivem Material zu vergleichsweise geringen Kosten produzieren zu können. Ein weiterer wichtiger Vorteil von Ganzzellsystemen besteht in der intrazellulären Lokalisation der Ureasen. Dies führt dazu, dass die Enzyme innerhalb der Bakterienzellen gegenüber den in der extrazellulären Umgebung bei der Calcit-Präzipitation herrschenden Bedingungen weitgehend geschützt sind. Hierbei ist insbesondere die Stabilisierung der Urease-Aktivitäten gegenüber den bei der Calciumcarbonat-Präzipitation notwendigen alkalischen pH-Werten von Bedeutung.

Ein möglicher Vorteil bei der Verwendung von zellfreien Systemen (bzw. aufgereinigten Enzymen) liegt in der Möglichkeit auch pflanzliche Ureasen einzusetzen [24]. So stammt die biochemisch am intensivsten untersuchte Urease aus der Jackbohne (*Canavalia ensiformis*) [27]. Dieses Enzym ist auch kommerziell mit hohen spezifischen Aktivitäten und (im Vergleich mit anderen Enzymen) niedrigen Preisen verfügbar.

Bei den vorangegangenen Untersuchungen zur MICP durch andere Arbeitsgruppen wurden praktisch ausschließlich Gram-positive sporenbildende Bakterien („*Bacillus*-Stämme“) eingesetzt. Diese Stämme zeichnen sich gegenüber anderen Urease-bildenden Bakterien durch ihre Alkalitoleranz und die im Allgemeinen beobachteten hohen Urease-Aktivitäten aus. Außerdem besitzen viele Vertreter dieser Organismengruppe die Fähigkeit zur Bildung extrem robuster Dauerformen (Sporen), die ein Überleben für lange Zeiträume unter lebensfeindlichen Bedingungen ermöglichen [28]. In den meisten in der Literatur beschriebenen Untersuchungen zur MICP wird die Art *Sporosarcina* (in älteren Arbeiten *Bacillus*) *pasteurii* verwendet, da diese Art eine hohe Alkalitoleranz und sehr hohe Urease-Aktivitäten zeigt. Außerdem bildet *S. pasteurii* die Urease-Aktivität weitgehend unabhängig vom Wachstumsmedium (auch in Abwesenheit von Harnstoff im Anzuchtmedium) [5,6,9,29].

Für die Gewinnung von Urease-aktiven Bakterienzellen müssen die Mikroorganismen zunächst in möglichst großen Dichten in Flüssigkulturen angezogen werden. Im Falle der zuvor beschriebenen *Bacillus*- (und *Sporosarcina*-) Stämme werden hierfür im Allgemeinen Komplexmedien (z.B. aus Hefeextrakt) mit Harnstoff-Zusatz verwendet. Hierbei kommt es dann im Verlauf des Bakterienwachstums durch die Harnstoff-Hydrolyse zu einer Alkalisierung des Mediums [19,20,30].

Für den eigentlichen MICP-Prozess müssen dann die Urease-aktiven Zellen mit Harnstoff- und einem Calciumsalz (hierbei wird vielfach CaCl_2 verwendet) inkubiert werden. Hierfür können die Mikroorganismen nicht direkt aus dem Anzuchtmedium verwendet werden, da es bei einer CaCl_2 -Zugabe beim Vorhandensein von Carbonat-Ionen aufgrund der alkalischen pH-Werte in dem Anzuchtmedium zum Kulturrende zu einem sofortigen Ausfällen von CaCO_3 kommen würde und hierdurch nur eine unzureichende Verfestigung der Sand-Matrix erreicht würde. Daher müssen die pH-Werte in den Kulturmedien nach der Anzucht vor der CaCl_2 -Zugabe zumindest neutralisiert werden. Eine weitere Möglichkeit besteht in einer Abtrennung der Zellen von ihrem Anzuchtmedium vor dem eigentlichen MICP-Prozess. Hierfür können einerseits etablierte technische Verfahren (z.B. Filtration, Zentrifugation) eingesetzt werden, es besteht hier aber auch die Möglichkeit, die Zellen in CaCO_3 -Partikel einzuschließen und in dieser Form auszufällen. Ein auf diese Art und Weise erhaltenes Produkt wurde von Cheng und Shahin 2016 beschrieben und als „Bioslurry“ bezeichnet [15]. Der Vorteil dieser Prozessführung besteht einerseits darin, dass sich der „Bioslurry“ durch Sedimentation von dem

Kulturüberstand abtrennen lässt. Des Weiteren wurde im Rahmen unserer experimentellen Arbeiten gezeigt, dass ein durch Sedimentation und anschließende Filtration erzeugter „Bioslurry“ auch nach Gefrierdrying seine Aktivität behält und in dieser Form für einen längeren Zeitraum gelagert werden kann. Die gefriergetrocknete Form des „Bioslurry“ wird im Folgenden als „Urease-aktives Calciumcarbonat-Pulver“ (UACP) bezeichnet (s. Kapitel 2).

Für die biologischen Prozesse im Verlauf der MICP spielen einerseits die Urease-Aktivitäten und ihre Stabilität unter Prozess-Bedingungen eine wichtige Rolle. Andererseits sind auch die zellulären Strukturen als Kristallisationskeime von Bedeutung (Abbildung 6).

Abbildung 6

Schematische Darstellung der MICP durch *Sporosarcina pasteurii*

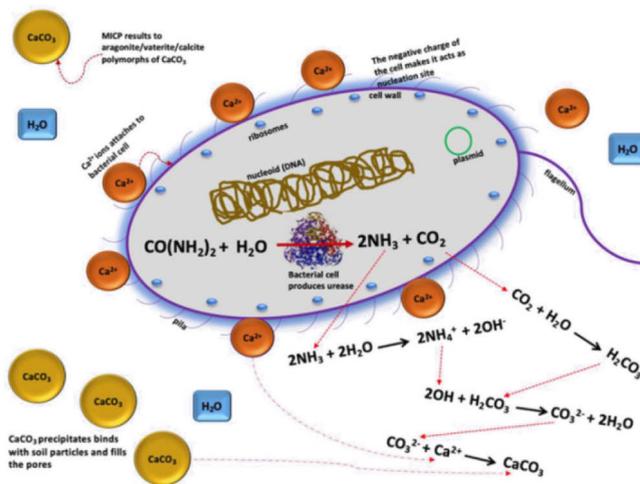


Bild-Quelle: [31]

Für die Reproduzierbarkeit der MICP-Prozesse spielt daher höchstwahrscheinlich das Verhältnis von Urease-Aktivität und Zellzahl eine wichtige Rolle. Hierbei kann die Anzahl der verwendeten Zellen relativ einfach über die Biomasse reguliert werden, die für die Versuche eingesetzt wird. Dagegen hängt die Urease-Aktivität der Zellen von vielen größtenteils noch nicht vollständig verstandenen bzw. untersuchten Faktoren ab. So haben frühere Arbeiten anderer Arbeitsgruppen und eigene Versuche gezeigt, dass sich die Urease-Aktivitäten in *S. pasteurii* in Abhängigkeit vom Wachstumsmedium, den Kulturbedingungen und der Wachstumsphase deutlich unterscheiden.

2. Herstellung und Charakterisierung des Urease-aktiven Calciumcarbonat-Pulvers (UACP)

In den hier vorgestellten Arbeiten wurde ein Urease-aktives Calciumcarbonat-Pulver (UACP) für die Zementierungsversuche eingesetzt. Hierbei handelt es sich um in Calciumcarbonat eingeschlossene Urease-aktive Bakterienzellen der Art *Sporosarcina pasteurii* DSM33.

2.1. Herstellung des UACP

Die Herstellung von UACP wurde nach einer modifizierten Methode von Cheng & Shahin durchgeführt [15]. Die Einbettung der Bakterien in Calciumcarbonat (Abbildung 7) erfolgt durch die Vermischung einer Bakteriensuspension mit Calciumchlorid und Harnstoff, wodurch ein Urease-vermittelter MICP-Prozess induziert wird. Die im Verlauf des MICP-Prozesses gebildeten Kristalle aus Calciumcarbonat „umhüllen“ dabei nach und nach die Bakterienzellen [4]. Anschließend wird die feuchte Bakterien-Calciumcarbonat-Suspension abfiltriert und gefriergetrocknet. Der Prozess wurde von Nething et al. ausführlich beschrieben [16].

Aus einem Liter Bakteriensuspension konnte nach dieser Vorgehensweise etwa 50 g des UACP gewonnen werden. Für die Aufbewahrung wurde das UACP vakuumverpackt und bei -20 °C gelagert.

Aufgrund der Einbettung der Bakterienzellen in Calciumcarbonat werden etwa 95 % der in der UACP-Präparation vorhandenen Urease-Aktivität bei der Perkolation der Probenkörper in diesem zurückgehalten [15]. Die Verwendung von Bakteriensuspensionen für die Zementierung bedingt hingegen, dass bei der Perkolation von Probekörper mit einer Zementierungslösung bis zu 75% der Bakterienzellen ausgespült werden [32].

2.2. Messung der Urease-Aktivität in UACP

Die Urease-Aktivität in UACP-Proben wurde durch die Bestimmung der Ammoniumionen-Freisetzung bei der Hydrolyse von Harnstoff nach der Methode von Black et al. bestimmt [33]. Etwa 10 mg UACP wurden in einem 2 ml Reagiergefäß abgewogen und das Pulver 3-mal mit jeweils 2 ml 20 mM Tris/HCl-Puffer (pH = 7,5) gewaschen und abzentrifugiert (2 min, 2000 g bei 4 °C). Nach dem letzten Waschschrift wurde das UACP in 1 ml 20 mM Tris/HCl-Puffer (pH = 7,5) aufgenommen und für 10 min in einem Ultraschallbad resuspendiert. Die resultierende UACP-Suspension wurde daraufhin für die Hydrolyse einer Harnstoff-Lösung verwendet. Hierfür wurden 12,5 µl der UACP-Suspension mit 887,5 µl 20 mM Tris/HCl-Puffer (pH = 7,5) in einem 2 ml Reagiergefäß vermischt und die Urease-Reaktion durch Zugabe von 100 µl einer 100 mM Harnstoff-Lösung (in 20 mM Tris/HCl-Puffer, pH = 7,5) initiiert. Die Proben wurden dabei mit Hilfe eines Rührfisches und eines Magnetrührers bei etwa 1000 rpm gemischt. Zu den Zeitpunkten 0, 10, 20 und 30 min wurden Proben (120 µl) entnommen und bei 20000 g für 2 min zentrifugiert. Die erhaltenen Überstände wurden anschließend für die Bestimmung der Ammoniumionen-Konzentration verwendet.

2.3. Einfluss der Herstellungsparameter auf die Urease-Aktivität von UACP

Bei der Zementierung der Probekörper mit Hilfe des MICP-Prozesses ist es notwendig, mehrere Einflussfaktoren zu berücksichtigen, unter anderem die Urease-Aktivität in dem eingesetzten UACP. Eine gezielte Beeinflussung der Urease-Aktivität während der Kultivierung von *S. pasteurii* ist derzeit nicht möglich. Es besteht dagegen die Möglichkeit bei der Herstellung von UACP die Urease-Aktivität durch Herstellungsparameter zu steuern. Cheng & Shahin [15] konnten zeigen, dass durch die Variation der eingesetzten Mengen von Harnstoff und Calciumchlorid UACP mit unterschiedlichen Urease-Aktivitäten erhalten werden können. Im Rahmen der im Folgenden beschriebenen von uns durchgeführten Experimente wurden daher einige Parameter bei der Herstellung von UACP variiert und untersucht, wie sich diese auf die Urease-Aktivitäten auswirken.

Abbildung 7

Herstellung des UACP

Bakteriensuspension (a), feuchte Bakterien-Calciumcarbonat-Suspension (b) und abfiltrierte Bakterien-Calciumcarbonat-Kristalle (c), Schockfrieren mit flüssigem Stickstoff (d), Gefriertrocknung (e), fertiges UACP (f), vakuumverpacktes UACP (g)



Bild-Quelle: IMB

Das angewandte Verfahren zur Herstellung von UACP wurde in Teil 2.1 beschrieben. Hierbei wurden der Bakteriensuspension von *S. pasteurii* Harnstoff und Calciumchlorid (Endkonzentration jeweils 0,4 M) unter ständigem Rühren zugegeben. Um den Einfluss der Herstellungsbedingungen auf die Urease-Aktivität des UACP zu untersuchen, wurden folgenden Parameter verändert:

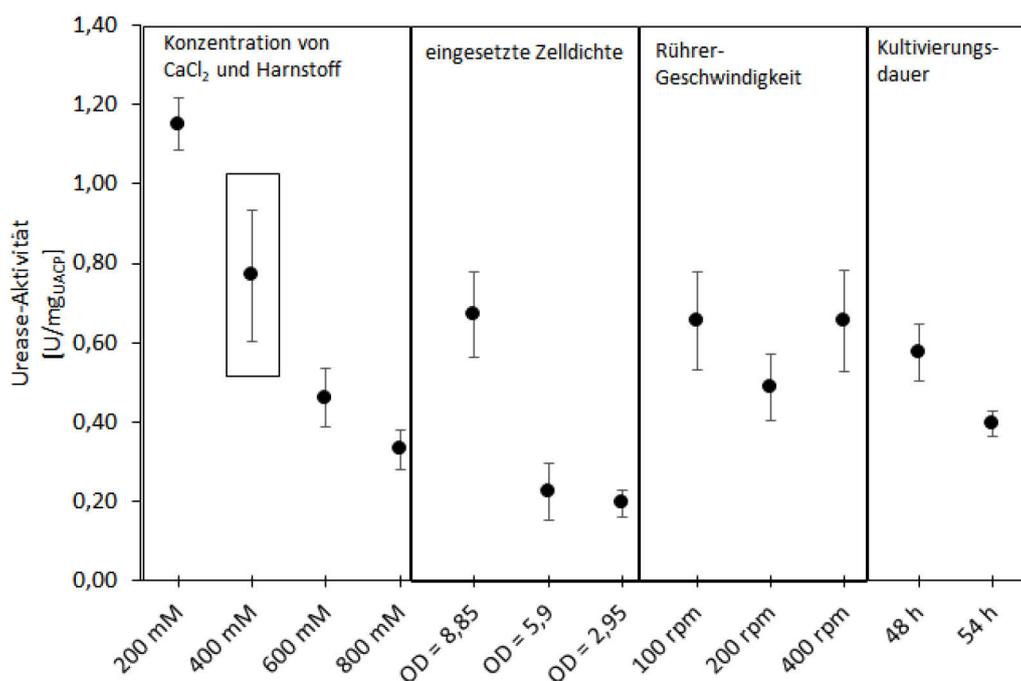
- die zugegebenen Mengen von Harnstoff und Calciumchlorid (0,2 M, 0,6 M oder 0,8 M)
- die Konzentration der Bakterienzellen (25, 50 bzw. 75% der optischen Dichte der Ausgangsbakterienkultur)
- die Rührfrequenz (100, 200 und 400 rpm)
- die Kultivierungsdauer der Bakterienzellen (48 h oder 54 h)

Zusätzlich wurde als Kontrolle UACP nach dem bisherigen Herstellungsverfahren bereitgestellt. Nach der Beendigung der Calciumcarbonat-Präzipitation wurden die Suspensionen wie zuvor filtriert und gefriergetrocknet (s. Kapitel 2.1). Die Urease-Aktivität der unterschiedlichen UACP wurde anschließend bestimmt. Die Veränderung der Konzentrationen von Harnstoff und Calciumchlorid, der eingesetzten Zelldichte sowie die unterschiedlichen Kultivierungsdauer der Bakterienkulturen führten zu signifikanten Unterschieden in den Urease-Aktivitäten der UACP. Die Erhöhung der zugegebenen Mengen von Harnstoff und Calciumchlorid führte zu einer Erniedrigung der spezifischen Aktivität der UACP, was mit den Daten von Cheng & Shahin [1] übereinstimmt. Der Einsatz von geringeren Zelldichten in dem Herstellungsprozess resultierte in geringeren Urease-Aktivitäten der Pulver im Vergleich zu den Kontrollversuchen. Unterschiedliche Urease-Aktivitäten konnten auch durch den Einsatz von Bakterienkulturen mit unterschiedlicher Kultivierungsdauer erzielt werden, wobei längere Kultivierungszeiten zu UACP mit niedrigeren spezifischen Urease-Aktivitäten führten. Die Variation der Rührfrequenz hingegen zeigte keinen Einfluss auf die resultierenden Urease-Aktivitäten (Abbildung 8).

Abbildung 8

Urease-Aktivitäten in UACP (Herstellung unter verschiedenen Bedingungen)

Der Kontroll-Versuch (Zugabe von je 0,4 M CaCl_2 und Harnstoff bei der Herstellung und Durchmischung mit 600 rpm) ist durch ein Rechteck abgesetzt. Es wurde jeweils nur der angegebene Faktor variiert

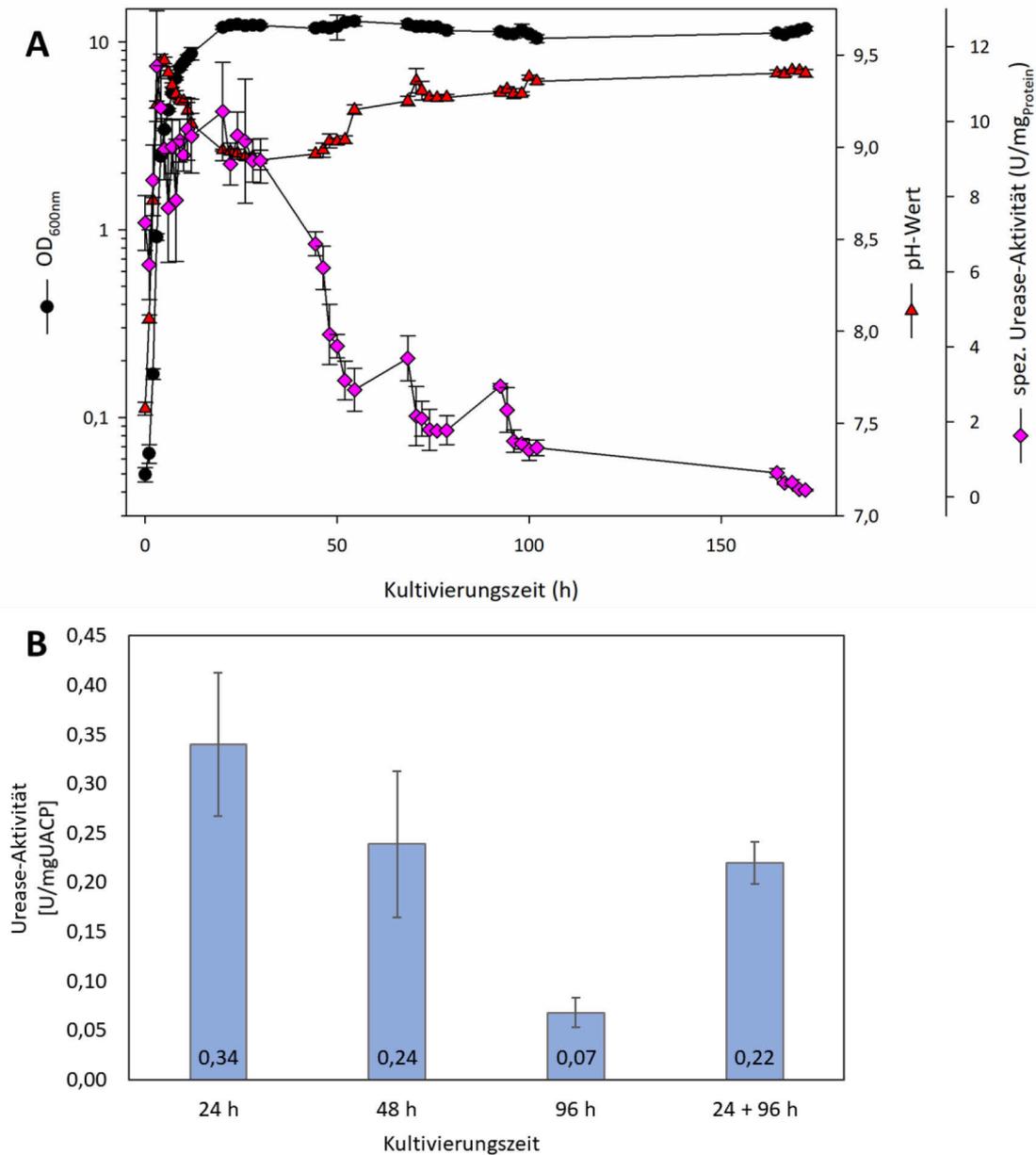


Quelle: IMB

Abbildung 9

Herstellung von UACP mit unterschiedlichen Urease-Aktivitäten

(A) Entwicklung der Zelldichte und der spezifischen Urease-Aktivität von *S. pasteurii* (B) Resultierende Urease-Aktivitäten von UACP, welche mit Bakterienzellen hergestellt wurden, die zu unterschiedlichen Kultivierungszeitpunkten genommen wurden oder durch Mischung einzelner UACP hergestellt wurden



Quelle: IMB

Um die Entwicklung der Urease-Aktivität über einen längeren Zeitraum zu verfolgen, wurde in einem Folgeexperiment *S. pasteurii* für 172 h kultiviert. Die spezifische Urease-Aktivität stieg zunächst stetig an und erreichte ihr Maximum nach etwa 12 h und verblieb auf diesem Level bis zu einer Kultivierungsdauer von 24 h. Daraufhin nahm die Urease-Aktivität stetig ab und betrug nach 172 h nur noch etwa 2% des maximalen Wertes. Die optische Dichte der Zellen erreichte ihren Höchstwert nach 22 h und blieb über die restliche Kultivierungsdauer annähernd konstant (Abbildung 9). Aufbauend auf diesen Beobachtungen wurden in darauffolgenden Versuchen *S. pasteurii* Zellen für 24, 48 und 96 h kultiviert und für die Herstellung von UACP

verwendet. Zusätzlich wurden Kulturen von *S. pasteurii*, welche für 24 h (hohe Urease-Aktivität) und für 96 h (niedrige Urease-Aktivität) kultiviert worden waren, vermischt und ebenfalls für die Herstellung von UACP verwendet. Der Einsatz von Bakterienkulturen, die für 48 h bzw. 96 h angezogen worden waren, resultierte in UACP mit niedrigeren Urease-Aktivitäten im Vergleich zu dem UACP, für welches *S. pasteurii* Zellen nach 24 h Kultivierung verwendet wurden. Nach der Vermischung von zwei Bakterienkulturen mit unterschiedlichen Urease-Aktivitäten entsprach die resultierende Aktivität des Pulvers erwartungsgemäß dem Mittelwert der Aktivitäten der beiden UACP, die für die Herstellung des Gemisches verwendet worden waren (Abbildung 9).

Mit den durchgeführten Versuchen konnte gezeigt werden, dass durch die Veränderung der Herstellungsparameter UACP mit unterschiedlichen Urease-Aktivitäten hergestellt werden können. Unterschiede in den Aktivitäten konnten insbesondere durch die Verwendung unterschiedlicher Harnstoff- und Calciumchlorid-Konzentrationen (Abbildung 8) sowie durch den Einsatz von Zellen von *S. pasteurii* mit verschiedenen Kultivierungsdauern erzielt werden (Abbildung 9).

2.4. Morphologie und (Mikro)Struktur des UACP

Calciumcarbonat ist eine der am weitesten verbreiteten Verbindungen auf der Erde und kommt in der Natur in Form von Kalkstein, Marmor, Kreide, Dolomit und durch Prozesse der Biomineralisation z.B. in Korallen, Perlen oder in Muschelschalen vor. Calciumcarbonat kristallisiert in einer Vielzahl von Polymorphen. [Bei den Polymorphen handelt es sich um unterschiedliche Kristallformen einer chemischen Substanz. Am Beispiel von Calciumcarbonat bedeutet dies, dass sich lediglich die Calcium- und Carbonat-Ionen räumlich unterschiedlich in den jeweiligen Polymorphen anordnen (IUPAC, Compendium of Chemical Technology).] Zu den wichtigsten Formen von Calciumcarbonat zählen Calcit, Aragonit und Vaterit, dabei erhöht sich die (thermodynamische) Stabilität und erniedrigt sich die Löslichkeit der Polymorphen in folgender Reihenfolge: Vaterit -> Aragonit -> Calcit [34].

Die Bildung von Calciumcarbonat kann durch rein chemische Prozesse erfolgen oder durch biologische Aktivitäten induziert werden. Im Rahmen der hier beschriebenen Arbeiten wurde die Verfestigung der Probekörper durch eine *in-situ* Bildung von Calciumcarbonat durch einen Urease-vermittelten MICP-Prozess erreicht. Um ein besseres Verständnis für die dabei ablaufenden Prozesse der Calciumcarbonat-Präzipitation und der resultierenden Morphologie des Calciumcarbonats zu erlangen, wurde eine Literaturrecherche hinsichtlich dieser Punkte durchgeführt.

Für die Ausbildung der Calciumcarbonat-Kristalle ist, wie bei allen Kristallisationsvorgängen, das Vorhandensein von Kristallisationskeimen notwendig. Bei der mikrobiell induzierten Calciumcarbonat-Präzipitation dienen, nach Beurteilung einiger Autoren, die Bakterienzellen als solche [35–37]. Die Untersuchungen der gebildeten Calciumcarbonat-Kristalle mittels Rasterelektronenmikroskopie zeigten, dass die Bakterien während der MICP in die Calciumcarbonat-Kristalle eingebettet bzw. eingeschlossen wurden oder sich an der Oberfläche dieser Kristalle befanden [19,35,38–43]. Am Beispiel von *S. pasteurii* wiesen Ghosh et al. [4] die Bildung einer Calciumcarbonat-Schicht direkt an der Oberfläche der Bakterienzellen nach, wobei die Calciumcarbonat-Schicht die Bakterienzellen dabei „umhüllte“.

Die Morphologie und die Kristallgröße des im Verlauf von MICP-Prozessen gebildeten Calciumcarbonats kann von verschiedenen Kenngrößen beeinflusst werden. Die Urease-Aktivität der Bakterienzellen und die eingesetzten Mengen an Calciumchlorid und Harnstoff korrelierten in einigen Fällen mit der Morphologie und der Kristallgröße. So wurde berichtet, dass niedrige Urease-Aktivitäten in einigen Experimenten zu kleineren Kristallen führten [42,44]. Wohingegen bei Heveran et al. [45] die gegenteilige Beobachtung beschrieben wurde. Bei der Verwendung von geringen Calciumchlorid- und Harnstoffkonzentrationen (jeweils 0,25 bis 1 M) wurde hauptsächlich Calcit gebildet, dagegen dominierte bei höheren Konzentrationen (2 M) Vaterit [46]. Auch Saracho et al. [47] berichteten, dass hauptsächlich Calcit bei Konzentrationen an Calciumchlorid und Harnstoff von 0,3 bis 1 M vorgefunden wurde, wohingegen amorphes Calciumcarbonat und Vaterit bei niedrigeren Konzentrationen von Calciumchlorid und Harnstoff dominierten.

Die Zusammensetzung der Polymorphe von Calciumcarbonat kann bei dem MICP-Prozess zusätzlich von gelösten Stoffen in den Kultivierungsmedien beeinflusst werden. Zum Beispiel kann durch die Variation des Anteils von Molkeproteinen im Kultivierungsmedium das resultierende Verhältnis von Calcit zu Vaterit signifikant beeinflusst werden [36]. Das Vorhandensein von Aminosäuren (z.B. Asparaginsäure, Glutaminsäure, Tyrosin, Lysin und Glutamin), von extrazellulären polymeren Substanzen oder von Lipopolysacchariden, die von den Bakterien produziert und zum Teil in die Medien abgegeben werden, zeigten Auswirkungen auf die gebildeten Polymorphe. In manchen Arbeiten wurden diese Verbindungen als stabilisierend auf die Bildung von Vaterit beschrieben [39,48–53].

Der Einfluss der verwendeten Bakterienstämme auf die gebildeten Polymorphe von Calciumcarbonat ist anhand der Beschreibungen in der Literatur nicht einfach einzuschätzen. So wird die bakterielle Präzipitation von Vaterit als nicht stammabhängig und häufiger als bisher angenommen beschrieben, wohingegen aus anderen Publikationen auch gegenläufige Schlussfolgerungen abgeleitet werden können [39,41,47,49–52]. Selbst bei der Verwendung der gleichen Bakterienart (*S. pasteurii*) wurden unterschiedliche Anteile von Calcit und Vaterit bei den MICP-Versuchen beobachtet [19,37,47,54–57]. Die beobachteten Diskrepanzen in der Morphologie sind wahrscheinlich mit Variationen in den experimentellen Ansätzen der Autoren zu erklären: unterschiedliche Kultivierungsmedien, Unterschiede in der Bereitstellung der Bakterien für die MICP-Versuche (z.B. Waschen der Zellen oder Verwendung von Komplexmedien bei den Versuchen), unterschiedliche pH-Werte zu Beginn der Experimente und insbesondere sehr unterschiedliche Versuchsdauern der MICP-Prozesse.

Bei der Beschreibung der Morphologie der gebildeten Calciumcarbonat-Polymorphe und ihrer zeitlichen Veränderung im Verlauf der MICP-Prozesse (in An- oder Abwesenheit von Sandproben) finden sich deutliche Übereinstimmungen in der Fachliteratur. Calcit wurde in Form von rhomboedrischen Kristallen in unterschiedlichen Größen (25 – 600 µm) beschrieben. Vaterit kommt hingegen meist in Form von sphärischen Kristallen, Aggregaten oder als Sphärolithe vor, wobei die Kristalle bis zu 200 µm groß werden [36,42,46,49,54,58–60]. Aminosäuren, organische Bestandteile der Medien sowie Nebenprodukte der bakteriellen Aktivitäten werden zum Teil bei den MICP-Prozessen in das Calciumcarbonat eingeschlossen [41].

Die zeitliche Änderung der Zusammensetzung der Calciumcarbonat-Polymorphe im Verlauf des MICP-Prozesses kann wie folgt zusammengefasst werden: Nach dem Einsetzen der MICP-Reaktion erfolgt zunächst die Bildung von Vaterit, welcher sich mit der Zeit in Calcit umwandelt [37,42,45,56,57]. Mittels zeitaufgelöster Lichtmikroskopie wurden von Al-Thawadi [42] die dabei ablaufenden Prozesse (auch mit *S. pasteurii*) visualisiert: nach der Zugabe einer Lösung mit Calciumchlorid und Harnstoff zu den Bakterienzellen bildeten sich zunächst (in den ersten Minuten bis etwa 9 h nach der Zugabe) sphärische Kristalle, bei welchen es sich um Vaterit handelte. Nach etwa 9 h begann das Wachstum von rhomboedrischen Kristallen (Calcit) auf den sphärischen Kristallen. Die Beobachtungen zu der zeitlichen Zusammensetzung der Polymorphe während des MICP-Prozesses sind in Übereinstimmung mit den Beobachtungen bei enzymatisch (Urease) induzierten Calciumcarbonat-Präzipitation und bei „rein“ chemischen Experimenten zur Calciumcarbonat-Präzipitation [3,58–61]. Die gebildeten Vaterit-Kristalle wandeln sich bei Vorhandensein von Wasser in Calcit um und verändern bei einer trockeneren Lagerung (bis zu 2 Jahre) ihre Morphologie nicht [37,41].

Mit den beschriebenen Beobachtungen aus der Fachliteratur erscheint es möglich, die Bildung einzelner Formen von Calciumcarbonat bei der Herstellung von UACP und der Zementierung der Proben mit UACP oder freien Bakterienzellen zu interpretieren. Demnach sollte das UACP nach der Herstellung überwiegend aus Vaterit-Sphärolithen bestehen und bei einer trockenen Lagerung dürfte sich die Zusammensetzung der Polymorphe nicht verändern. Da die UACP-Herstellung etwa 20 h dauerte, dürften sich neben Vaterit-Sphärolithen auch Calcit-Kristalle bilden. Das dabei gebildete Calciumcarbonat (in Form von Vaterit oder Calcit) ist dabei höchstwahrscheinlich nicht von einer hochkristallinen Natur. Dies ist auf die verbleibenden organischen Bestandteile aus den Kultivierungsmedien zurückzuführen, da für die Herstellung des UACP diese nicht von den Bakterienzellen getrennt werden.

Bei der Zementierung von Gesteinskörnung mit Hilfe von UACP werden sich an den UACP-Partikeln höchstwahrscheinlich Calcit-Kristalle bilden. Dabei ist es vorstellbar, dass in der ersten Phase der Zementierung (in den ersten Stunden) sich zunächst Vaterit an den UACP-Partikeln bildet und dass sich das

Vaterit mit dem Voranschreiten des MICP-Prozesses zu Calcit umwandelt. Das gebildete Calcit dürfte, aufgrund der fehlenden organischen Bestandteile in der Zementierungslösung, dabei deutlich kristalliner sein, als dies der Fall bei der Herstellung von UACP ist, da diese nur Calciumchlorid und Harnstoff beinhaltet.

Bei der Verwendung von Bakteriensuspensionen für die Zementierung von Gesteinskörnung erscheinen folgende Abläufe plausibel: in der Anfangsphase (in den ersten Stunden) der Zementierung würde zunächst eine Bildung von Vaterit an den Bakterienzellen stattfinden. Mit dem Fortschritt der Zementierung würde sich Calcit an den Vaterit-Kristallen bilden und als die dominierende polymorphe Phase in den verfestigten Proben vorzufinden sein.

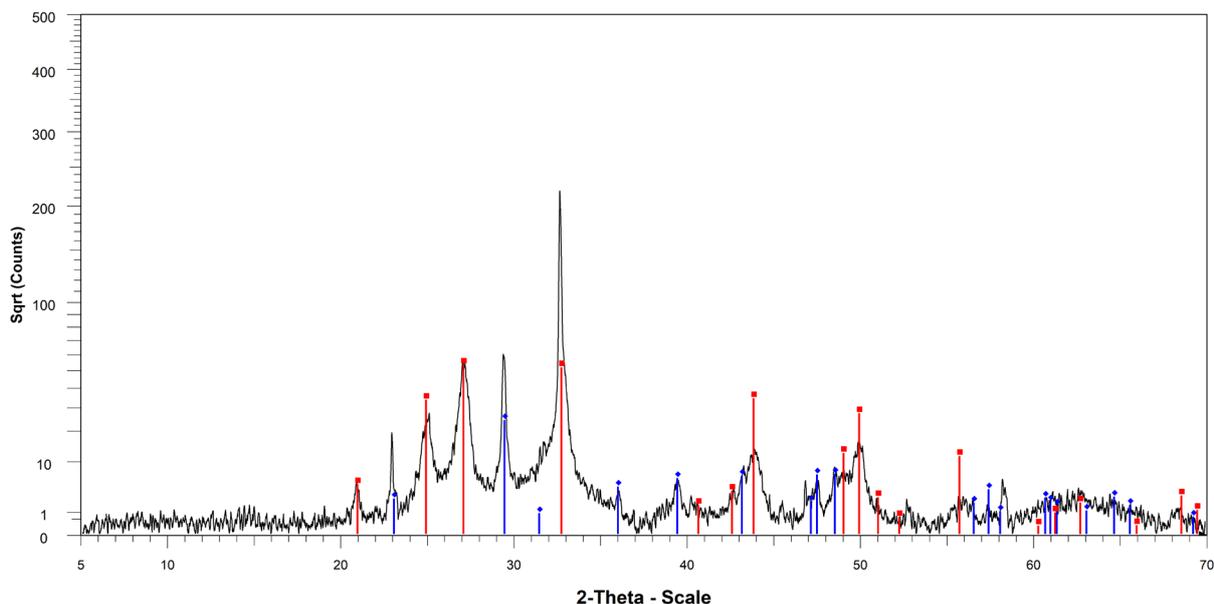
2.5. Röntgenphasenanalyse und Rasterelektronenmikroskopie des UACP

Die Röntgendiffraktometrie ermöglicht es, die kristallinen Phasen eines Werkstoffes oder eines Probekörpers zu untersuchen. Zur Analyse der vorhandenen polymorphen Phasen des Calciumcarbonats in UACP wurde an der Materialprüfanstalt der Universität Stuttgart (MPA) (s. „Mitwirkende“) eine qualitative Analyse einer neu präparierten UACP-Probe mittels Röntgendiffraktometrie vorgenommen. Diese Untersuchung zeigte, dass hohe Anteile an Vaterit und Calcit vorhanden waren (Abbildung 10). Das beobachtete Vorhandensein sowohl von Vaterit als auch von Calcit steht in guter Übereinstimmung mit der aus der Literatur vorhergesagten Zusammensetzung des UACP (Kap. 2.4).

Abbildung 10

Röntgenbeugungsdiagramm einer UACP-Probe

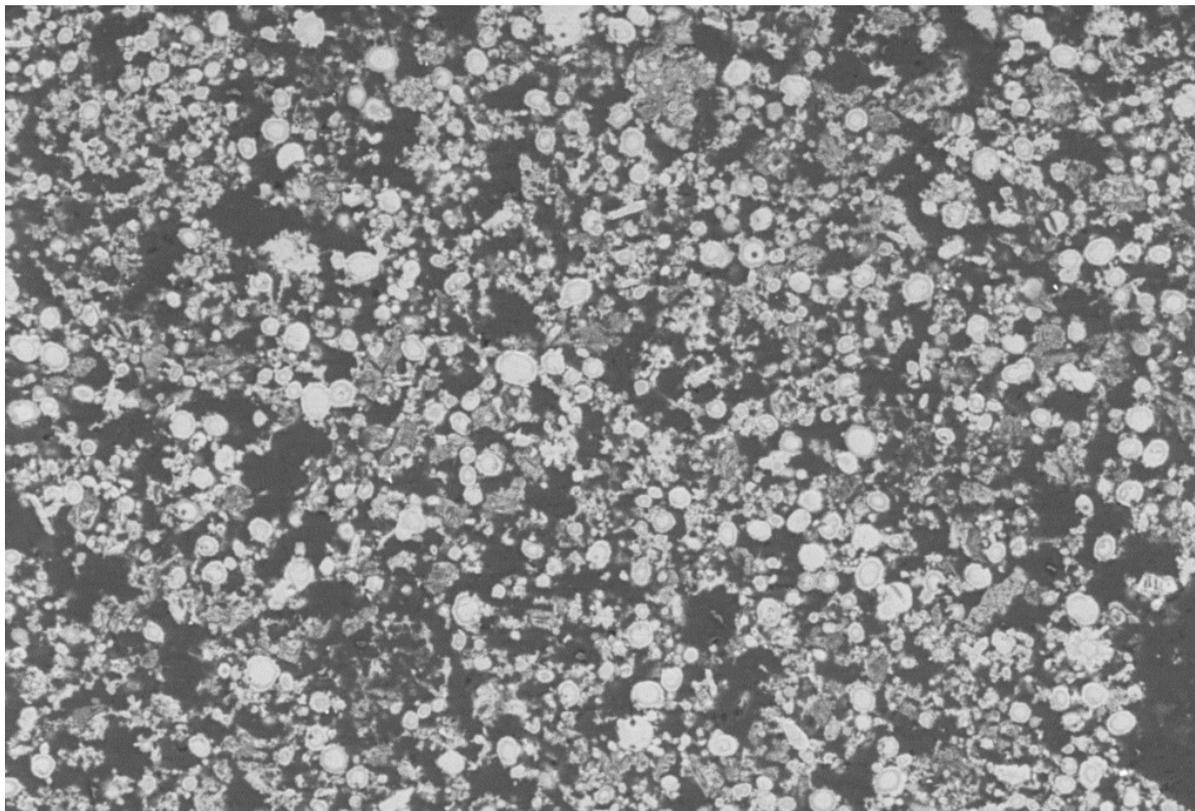
Die Probe wurde direkt nach der Beendigung der Gefriertrocknung für die Untersuchung entnommen wurde. Die Peaks für Vaterit sind rot markiert und die Peaks für Calcit blau. Die Röntgenphasenanalyse wurde an der Materialprüfanstalt der Universität Stuttgart durchgeführt (Bruker AXS D8 mit Cu-K α -Strahlung)



Quelle: MPA

UACP wurde außerdem an der MPA im Rasterelektronenmikroskop untersucht (Abbildung 11). Die REM-Bilder zeigen, dass UACP u.a. durch Klumpenbildung eine heterogene Größe von ca. 1-10 μm aufweist. Auf einigen Bildern lassen sich die umschlossenen Bakterienzellen erkennen.

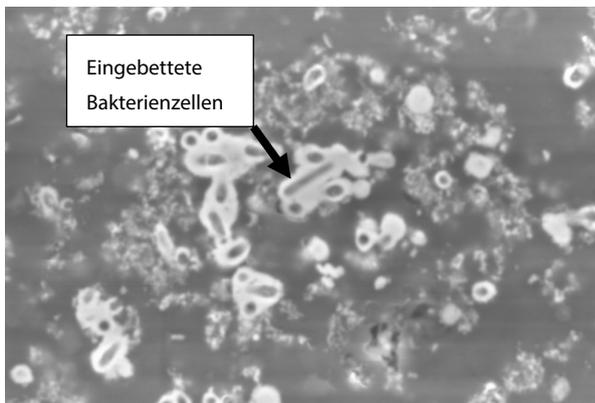
Abbildung 11
 Rasterelektronenmikroskopie des UACP



10 µm

EHT = 7.50 kV Signal A = CZ BSD
 WD = 8.0 mm 55 Pa 70 pA

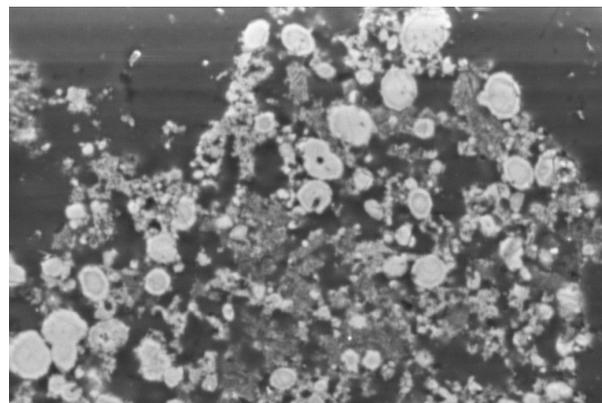
MPA Materialprüfungsanstalt
 STUTTGART Universität Stuttgart



2 µm

EHT = 10.00 kV Signal A = CZ BSD
 WD = 9.0 mm 55 Pa 70 pA

MPA Materialprüfungsanstalt
 STUTTGART Universität Stuttgart



2 µm

EHT = 7.50 kV Signal A = CZ BSD
 WD = 8.0 mm 55 Pa 70 pA

MPA Materialprüfungsanstalt
 STUTTGART Universität Stuttgart

Quelle: MPA

3. Entwicklung von Mischungen mit optimierter Packungsdichte

Biobeton besteht aus Zuschlägen und Bindemittel in Form von Calciumcarbonat. Das Material der Zuschläge, wie Quarz im Fall von Sand, hat in der Regel eine höhere Dichte als Calciumcarbonat. In Druckfestigkeitsversuchen brechen auf der Mikro-Ebene in der Regel zunächst die Verbindungen zwischen dem Calciumcarbonat und den Zuschlägen, danach erfolgt die Zerstörung des Calciumcarbonats und zuletzt die Zerstörung der Zuschläge, z.B. Sand und Kies [62]. Für eine hohe Druckfestigkeit ist es deswegen entscheidend das Volumenverhältnis von Zuschlägen zu Calciumcarbonat zu erhöhen. Dies erfolgt durch die Optimierung der Packungsdichte der Zuschläge bei der Entwicklung der Biobetonmischung.

Im vorliegenden Projekt wurden als Zuschläge Quarzsande mit Korngrößen 0,063 bis 2 mm von der Fa. *Holcim Kies und Beton GmbH* verwendet. Die Sande haben eine kantengerundete Kornform.

Um die Entmischung verschiedener Korngrößen zu vermeiden, wurden feuchte Mischungen verwendet (Abbildung 12). Dabei wurde der Mischung Zementierungslösung zugegeben (7-12 % (w/w) der trockenen Mischung), die gleichzeitig als Fixierungslösung agiert [6] und somit die Haftung zwischen dem UACP und den Zuschlägen vor dem ersten Durchspülen mit der Zementierungslösung verbessert.

Abbildung 12
Bestandteile eine Biobeton-Mischung - UACP und Sand



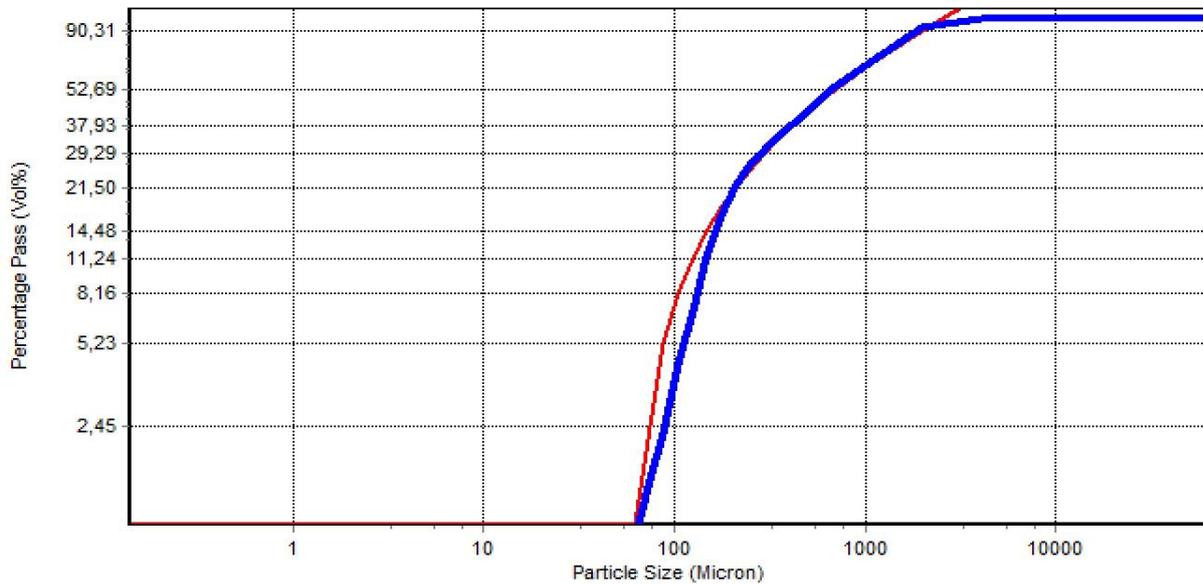
Bild-Quelle: ILEK

Für die Erstellung der Sieblinien mit optimierten Packungsdichten wurde im aktuellen Projekt die Software „Emma mix analyzer“ der Fa. Elkem verwendet. Die Sieblinien wurden nur hinsichtlich des Zuschlag-Anteils optimiert. Hierbei wird die Annahme getroffen, dass sehr feine UACP mit Partikelgrößen von 3 bis max. 15 μm sowie die während der Biomineralisierung entstehenden Calciumcarbonat-Kristalle den Platz in den Zwischenräumen der Zuschläge einnehmen („Mischung 1“, Abbildung 13 und Tabelle 1). Der Maximalanteil der UACP in der Mischung wurde deswegen experimentell in Verdichtungstests und Zementierungsversuchen bestimmt.

Nach aktuellem Forschungsstand muss die Zementierungslösung während der Biomineralisierung mehrfach durch den Probekörper geleitet werden. Um eine frühzeitige Verstopfung der Zwischenräume während der Zementierung zu vermeiden, wurden Mischungen verwendet, bei denen die Zwischenräume nicht komplett mit den Feinanteilen gefüllt sind.

Parallel wurden die Möglichkeiten untersucht, die Biomineralisierung in einem einzigen Zementierungsgang zu realisieren, sodass keine zusätzliche Durchspülung mit Zementierungslösung benötigt wird. Dieser Prozess ähnelt mit den Schritten Mischen, Platzieren in der Schalung und Abbinden verfahrenstechnisch der bestehenden Portlandzement-basierten Betonherstellung. Da bei diesem Prozess keine Zementierungslösung durch das Bauteil geleitet werden muss, besteht auch das Risiko der Verstopfung der Zwischenräume nicht. Deshalb wurden für diesen Prozess auch Feinpartikel wie Gesteinsmehle und Tone für den Mischungsentwurf verwendet (Abbildung 14 und Tabelle 2).

Abbildung 13
 Sieblinie für die „Mischung 1“ (blau) und die optimale Sieblinie nach Andreasen (rot)
 Korngrößen von 63 bis 2000 µm Screenshot aus der Software „Emma mix analyzer“ der Fa. Elkem

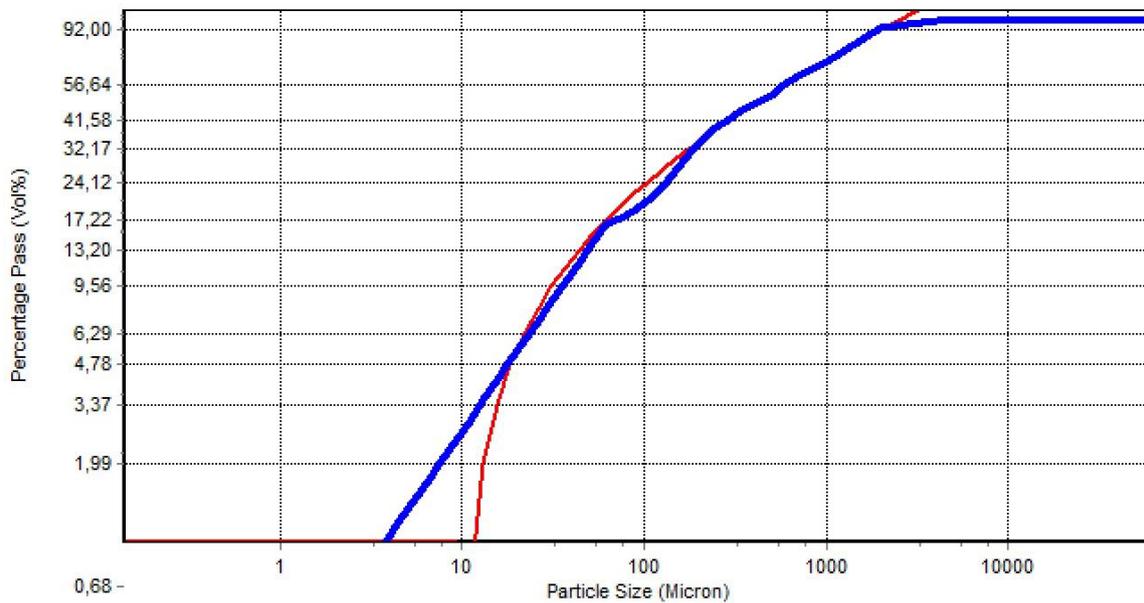


Quelle: ILEK

Tabelle 1
 Zusammensetzung der „Mischung 1“

Zuschlagtyp	Korngröße [mm]	mittlere Korngröße [mm]	Kornroh-dichte [kg/dm ³]	Schüttdichte (DIN EN 1097-3) [kg/dm ³]	Theoretische spezifische Oberfläche [cm ² /g]	Volumenanteil in der Mischung [%]
Quarzsand	0,063-0,25	0,15	2,65	1,17 ± 0,05	162,0	19,5
Quarzsand	0,1-0,4	0,24	2,65	1,31 ± 0,05	102,0	14,1
Quarzsand	0,2-0,6	0,44	2,65	1,36 ± 0,05	53,0	10,9
Quarzsand	0,3-0,8	0,64	2,65	1,36 ± 0,05	37,0	13,3
Quarzsand	0,7-1,25	1,02	2,65	1,33 ± 0,05	23,0	17,2
Quarzsand	1,0-2,0	1,83	2,65	1,38 ± 0,05	12,0	25,0

Abbildung 14
 Sieblinie für die „Mischung 2“ (blau) und die optimale Sieblinie nach Andreasen (rot)
 Korngrößen von 3 bis 2000 µm Screenshot aus der Software „Emma mix analyzer“ der Fa. Elkem



Quelle: ILEK

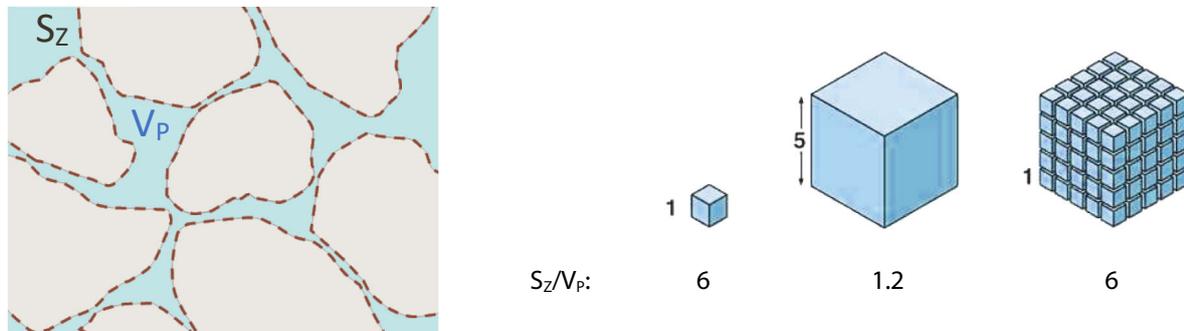
Tabelle 2
 Zusammensetzung der „Mischung 2“

Zuschlagtyp	Korngröße [mm]	mittlere Korngröße [mm]	Kornroh-dichte [kg/dm ³]	Schüttdichte (DIN EN 1097-3) [kg/dm ³]	Theoretische spezifische Oberfläche [cm ² /g]	Volumenanteil in der Mischung [%]
Kalkmehl	<0,063	n.b.	2,75	n.b.	n.b.	17,7
Quarzsand	0,063-0,25	0,15	2,65	1,17 ± 0,05	162,0	15,9
Quarzsand	0,1-0,4	0,24	2,65	1,31 ± 0,05	102,0	11,2
Quarzsand	0,2-0,6	0,44	2,65	1,36 ± 0,05	53,0	8,7
Quarzsand	0,3-0,8	0,64	2,65	1,36 ± 0,05	37,0	10,6
Quarzsand	0,7-1,25	1,02	2,65	1,33 ± 0,05	23,0	11,9
Quarzsand	1,0-2,0	1,83	2,65	1,38 ± 0,05	12,0	23,9

n.b.: nicht bestimmt

Die Porenstruktur des Zuschlaggefüges kann durch die Parameter Porosität Φ_z und das Verhältnis der Oberfläche zum Volumen der Poren S_z/V_p charakterisiert werden. Das Verhältnis S_z/V_p gibt Auskunft über die Porengröße - je größer der Wert, desto kleiner sind die Poren im Durchschnitt. Dies wird am Beispiel einer einfachen Würfelform in der Abbildung 15 deutlich.

Abbildung 15
Skizze zur Erklärung des S_z/V_p Verhältnisses (Surface to Volume Ratio)



Quelle: ILEK

Die tatsächlichen Anteile der einzelnen Phasen (Feststoffe, Zementierlösung, Luft) wurden im verdichteten Zustand in Testreihen bestimmt. Dafür wurden die entwickelten Mischungen mithilfe eines speziell konstruierten pneumatischen Verdichters in 20 ml- Spritzenhülsen mit 20 mm Durchmesser gefüllt (Abbildung 16). Der Verdichtungsdruck entsprach bei 5 bar Luftdruck $1,28 \text{ N/mm}^2$ und bei 6 bar Luftdruck $1,54 \text{ N/mm}^2$.

Abbildung 16
Verdichtungstest mittels pneumatischen Luftkolbenverdichters



Bild-Quelle: ILEK

Durch die Optimierung der Sieblinie konnte bei Mischung 1 eine Reduktion der Porosität von ca. 10 % und bei Mischung 2 von ca. 20 %, verglichen mit Sand-UACP Mischungen mit homogener Sandgröße, erreicht werden (Tabelle 3 und Tabelle 4). Die für den weiteren Projektverlauf gewählten Mischungen mit den höchsten Dichten sind in Tabelle 4 und in der Abbildung 17 dargestellt. Der Anteil von UACP wurde im Laufe der Zementierungsversuche angepasst.

Tabelle 3
Verdichtungstest - homogene Sandgrößen und „Mischung 1“, 5 bar

Zuschläge [mm]	Massenanteil UACP in trockener Mischung w/w	Massenanteile in der Gesamtmischung			Verdichtung: Volumen und Masse		Porenziffer		Porosität		S (theor. spezif.) [cm ³ /g]	S/V _p * ohne UACP [1/cm]
		Zem.-lösung w/w	UACP w/w	Zuschläge w/w	V [cm ³]	M [g]	e (Z) [-]	e (Z+U) [-]	Φ(Z)	Φ(Z+U)		
0,063-0,25	0,50%	12%	0,44%	87,56%	29,217	46,224	0,913	0,903	0,477	0,475	162	470
	1,00%	12%	0,88%	87,12%	29,217	45,698	0,945	0,925	0,486	0,480	162	454
	1,50%	12%	1,32%	86,68%	29,217	46,791	0,909	0,879	0,476	0,468	162	472
	2,25%	12%	1,98%	86,02%	29,217	46,595	0,932	0,887	0,482	0,470	162	461
	3,00%	12%	2,64%	85,36%	29,217	46,826	0,937	0,877	0,484	0,467	162	458
0,100-0,400	2,00%	10%	1,80%	88,20%	29,217	46,089	0,905	0,865	0,475	0,464	102	299
0,200-0,600	1,50%	12%	1,32%	86,68%	29,217	47,397	0,885	0,855	0,469	0,461	53	159
0,400-1,000	1,50%	12%	1,32%	86,68%	29,217	49,000	0,823	0,795	0,451	0,443	33	106
0,700-1,250	1,50%	12%	1,32%	86,68%	29,217	47,376	0,885	0,856	0,470	0,461	23	69
Mischung 1	0,50%	10%	0,45%	89,55%	29,217	52,881	0,635	0,627	0,388	0,385	63,6	265
	1,00%	8%	0,92%	91,08%	29,217	52,806	0,610	0,593	0,379	0,372	63,6	276
	1,00%	10%	0,90%	89,10%	29,217	53,250	0,632	0,615	0,387	0,381	63,6	267
	2,00%	10%	1,80%	88,20%	29,217	54,938	0,598	0,565	0,374	0,361	63,6	282

Tabelle 4
Ausgewählte Mischungen (Sandanteile Mischung 2), Verdichtung mit 6 bar

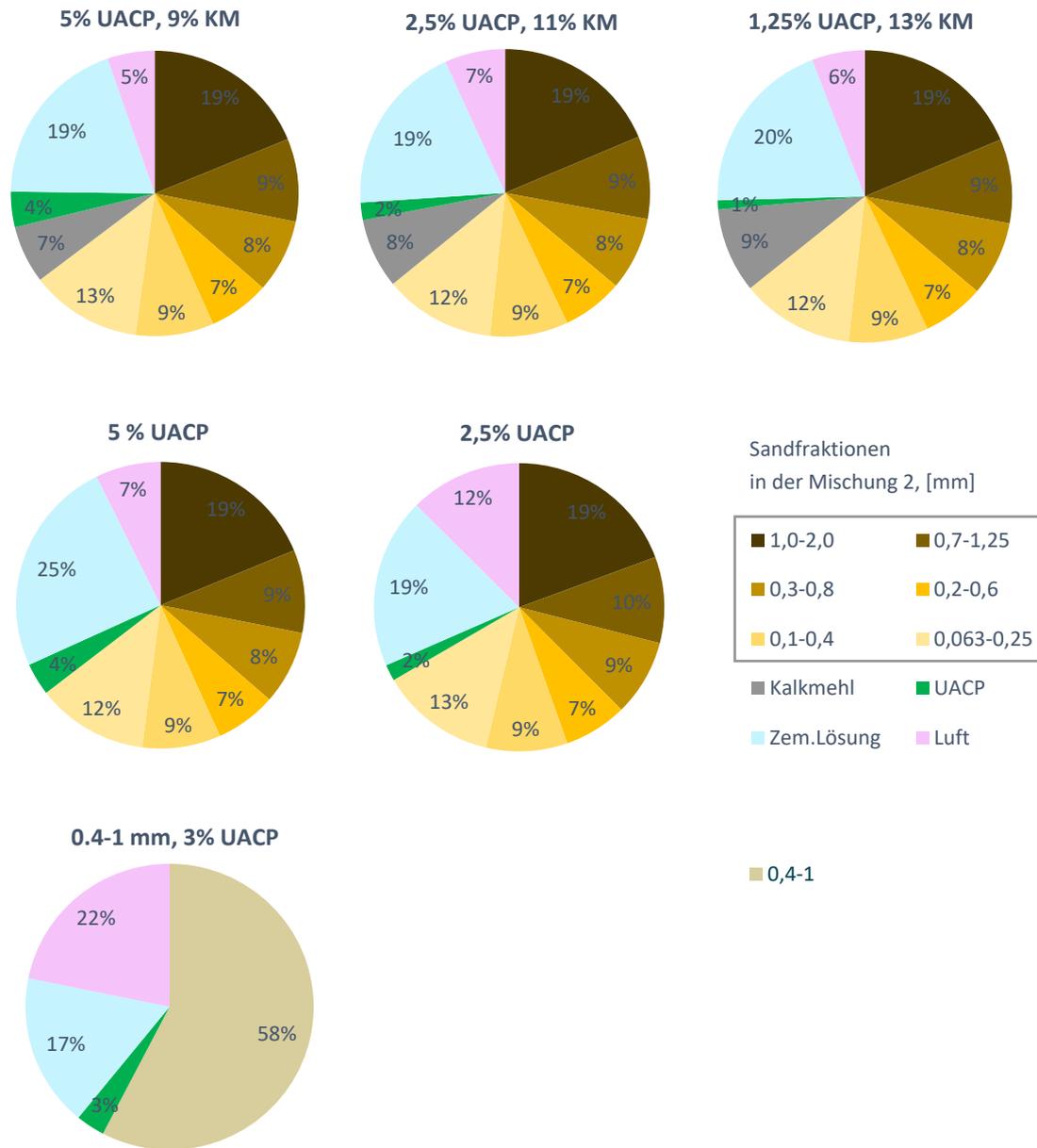
Bezeichnung	Volumenanteil in der Mischung												Φ		
	S	1,0 - 2,0	0,7 - 1,25	0,3 - 0,8	0,2 - 0,6	0,1 - 0,4	0,063 - 0,25	KM	UACP	ZL	Luft	S	S, KM	S, KM, UACP	
5U-9KM-11f	0,65	0,19	0,09	0,08	0,07	0,09	0,13	0,07	0,04	0,19	0,05	0,35	0,29	0,25	
5U-12KM-11f	0,64	0,19	0,09	0,08	0,07	0,09	0,12	0,08	0,02	0,19	0,07	0,36	0,28	0,26	
1.25U-13KM-11f	0,64	0,19	0,09	0,08	0,07	0,09	0,12	0,09	0,01	0,20	0,06	0,36	0,26	0,25	
5U-0KM-14f	0,65	0,19	0,09	0,08	0,07	0,09	0,12	0,00	0,04	0,25	0,07	0,35	0,35	0,32	
5U-0KM-10.5f	0,67	0,19	0,10	0,09	0,07	0,09	0,13	0,00	0,02	0,19	0,12	0,33	0,33	0,32	

S-Sand, KM-Kalkmehl, ZM-Zementierungslösung

Bezeichnung:

(Massenanteil UACP in trockener Mischung in %) **U**- (Massenanteil KM in trockener Mischung in %) **KM**- (Massenanteil ZL vom S in %) **f**

Abbildung 17
 Volumenanteile einzelner Komponenten in den ausgewählten Mischungen
 im Vergleich zu einer homogenen Mischung Sandanteile - Mischung 2



Quelle: ILEK

4. Herstellung von Probekörpern mit UACP

Für die Herstellung der Probekörper aus Biobeton wurden lose Zuschläge mit UACP vermischt. Die resultierende Mischung wurde in eine Schalung platziert. Die untersuchten Verfahrensprinzipien für die Herstellung von biozementierten Probekörpern unterscheiden sich in der Art und Weise der Zufuhr der Zementierungslösung. In diesem Forschungsprojekt wurden die Perkolation (Zufuhr durch Schwerkraft) und druckbasierte Herstellungsverfahren (Zufuhr durch externe Druckkräfte) betrachtet. Im Gegensatz zum Einlegen in ein Bad mit Zementierungslösung, bei dem der Probekörper von allen Seiten der Zementierungslösung ausgesetzt ist, gibt es bei den betrachteten Methoden eine definierte Zufuhrrichtung. So lässt sich die Zementierungstiefe über eine Dimension genau bestimmen.

4.1. Perkolation: Variation physikalischer und chemischer Parameter

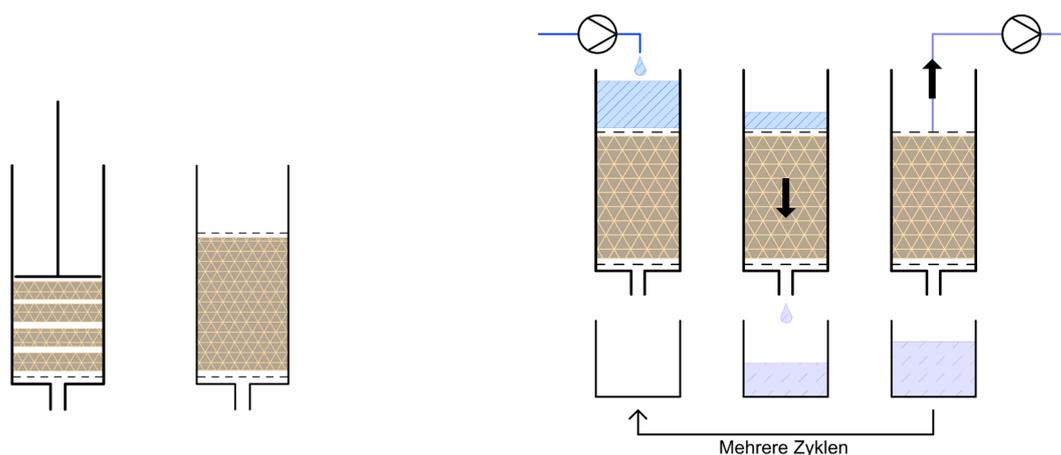
In diesem Projekt wurde der Einfluss verschiedener chemischer, mikrobiologischer und räumlicher (Mischungsgefüge) Parameter auf die mit der Perkolation erreichte Zementierungstiefe und Druckfestigkeit untersucht. Folgende Parameter wurden betrachtet:

- Konzentration der Zementierungslösung
- Menge und Urease-Aktivität des UACP
- pH-Wert der Zementierungslösung
- Sandkorngröße und Packungsdichte
- Mechanische Einflüsse (sog. Starthilfe)

Herstellungsmethode

Der Herstellungsprozess umfasste zwei Schritte: Verdichtung der Probekörper und Zufuhr der Zementierungslösung (Abbildung 18).

Abbildung 18
Herstellung von Probekörpern aus Biobeton mittels Perkolation
Initiale Verdichtung der Proben und Zufuhr der Zementierungslösung



Quelle: ILEK

Verdichtung

Die Mischung aus Zuschlägen und UACP wurde schichtweise in 20 ml - Spritzenhülsen gefüllt. Um eine Entmischung der Zuschläge und des UACP zu vermeiden wurden die Komponenten feucht vermischt, indem etwas Zementierungslösung (10 % des Gewichtes der trockenen Mischung) hinzugegeben wurde. Die Konzentration der Zementierungslösung in der Mischung entsprach der Konzentration, mit der der jeweilige

Probekörper im Anschluss zementiert wurde. Bei der Befüllung wurde jede neu zugegebene Schicht von ca. 5 mm Dicke mit dem pneumatischen Verdichter (Abbildung 16 und Abbildung 18) mit $1,28 \text{ N/mm}^2$ verdichtet. Die Spritzenhülsen wurden oben und unten mit Filtermaterial (Filterpapier oder Filz) versehen.

Zementierung

Die Zufuhr der Zementierungslösung erfolgte in mehreren Zyklen. Zu Beginn jedes Zyklus wurde den Spritzenhülsen von oben mit einer Peristaltikpumpe Zementierungslösung zugeführt. Die zugeführte Menge entsprach ca. einem Porenvolumen der in den Spritzenhülsen befindlichen Mischung. Die über die Zyklusdauer hinweg durch die Probe sickernde Lösung wurde in einem Behälter aufgefangen. Am Ende des Zyklus wurde die oberhalb der Probe verbleibende Lösung mit einer Membranpumpe abgeführt. Die Zyklusdauer wurde auf 4 Stunden festgelegt.

Um die Zufuhr der Zementierungslösung für eine große Menge an Proben in regelmäßigen Zeitabschnitten zu ermöglichen, wurde eine automatisierte Zementierungseinrichtung verwendet (Abbildung 19). Die Spritzenhülsen mit den Proben wurden in einem Förderrad platziert und zur Beginn jedes Zyklus nacheinander zu einer Zufuhr- und Abfuhr-Stelle transportiert. Die durchlaufende Flüssigkeit wurde in Abfuhrrohrchen aufgefangen. Die Zufuhr- und Abfuhrrohrchen wurden nach jeder Probe mit vollentsalztem Wasser (VE-Wasser) abgespült.

Abbildung 19
Aufbau und Funktionsprinzip der automatisierten Zementierungseinrichtung für Perkolationsversuche



Bild-Quelle: ILEK

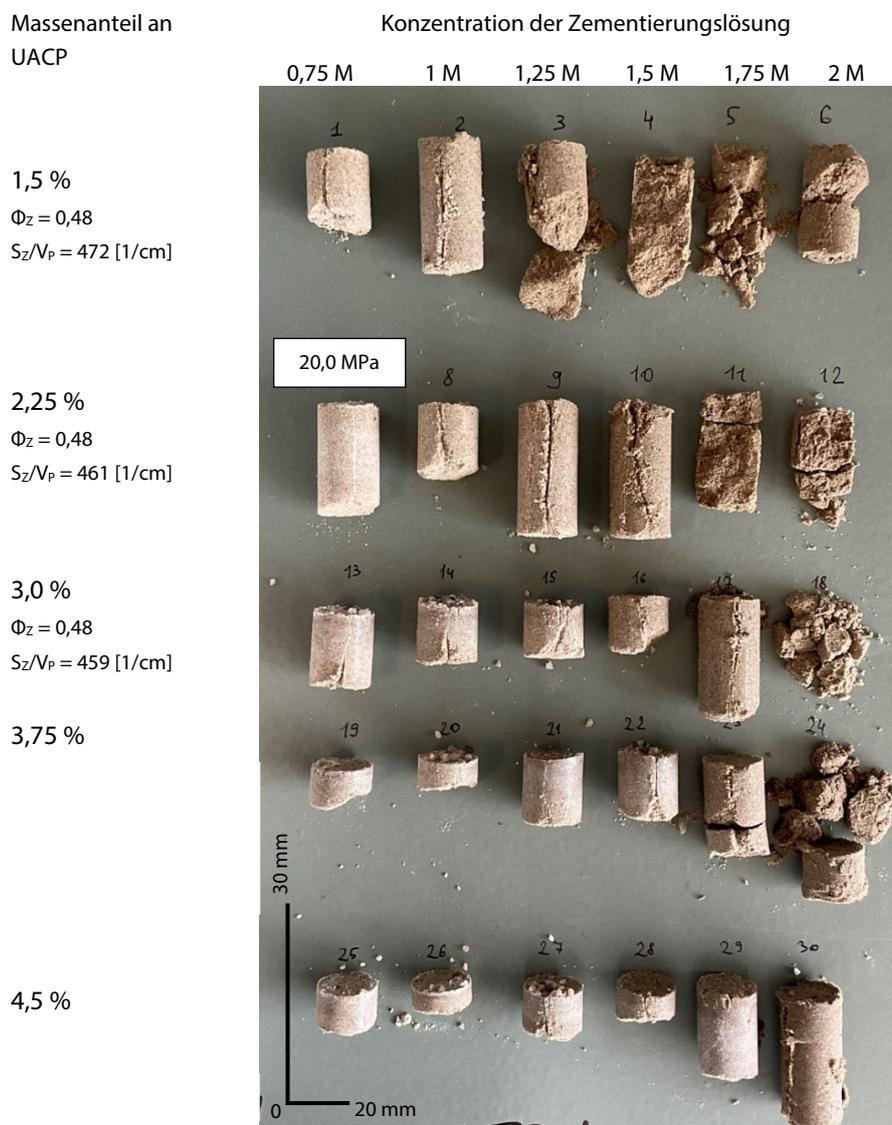
Bei den meisten Versuchen mit Perkolations mittels Schwerkraft wurde beobachtet, dass Proben gleicher Zusammensetzung unter gleichen Zementierungsbedingungen große Unterschiede in der Zementierungstiefe aufwiesen. Die Druckfestigkeit konnte nur für Proben bestimmt werden, bei denen der

volle Querschnitt über eine Höhe von mindestens 20 mm zementiert war. Für die Druckfestigkeitsprüfung wurde immer der obere Teil der biozementierten Probekörper zugeschnitten ($D=20\text{ mm}$, $H=20\text{ mm}$). Die gemessenen Druckfestigkeitswerte sind auf den Bildern zu den jeweiligen Versuchen notiert.

Einfluss der Konzentration der Zementierungslösung und UACP-Menge auf die Verfestigung der Probekörper

Zur Reduktion der Anzahl der benötigten Zementierungszyklen wäre eine möglichst hohe Konzentration von Harnstoff- und Calcium-Ionen in der Zementierungslösung von Vorteil. Allerdings kann sich die Verwendung von hochkonzentrierten Zementierungslösungen negativ auf die Kristallbildung auswirken (s. Kapitel 2.4).

Abbildung 20
Hergestellte Probekörper
(Variationen des UACP-Gehaltes und der Konzentrationen der Zementierungslösung)



Zuschläge: Quarzsand 63 - 250 μm
Urease-Aktivität: 0,270 $[\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{mg})]$
Zufuhrzyklen: 13 (52 h)

Bild-Quelle: ILEK

In Perkolationsversuchen wurde der Massenanteil des UACP und die Konzentration der Zementierungslösung variiert. Für alle UACP-Anteile konnte eine sichtbare Abnahme der Festigkeit mit steigender Konzentration festgestellt werden (Abbildung 20). Alle mit einer Konzentration von 2 M hergestellten Proben zerfielen bei der Entnahme aus der Spritzenhülse. Die einzige Probe, die aufgrund ihrer ausreichenden Zementierungstiefe auf Druckfestigkeit getestet werden konnte (Massenanteil des UACP 2,25%, Konzentration 0,75 M) wies eine Druckfestigkeit von 20 MPa auf.

Für jede Biobetonmischung muss ein optimaler Anteil an UACP bestimmt werden, der von den räumlichen Parametern (Φ_z , S_z/V_p , Permeabilität), der Anzahl vitaler Bakterien und der Urease-Aktivität abhängig ist. Die minimale Menge des UACP sollte so gewählt werden, dass an allen Kontaktstellen zwischen den Zuschlägen Bakterien für die Biomineralisierung vorhanden sind. Je höher der S_z/V_p -Wert ist, desto mehr Kontaktstellen müssen im Zuschlaggefüge überbrückt werden. Gleichzeitig führt eine zu hohe Menge an UACP jedoch zur vorzeitigen Schließung der Zwischenräume im Zuschlaggefüge und damit zu geringen Zementierungstiefen. Es wurde daher die unter den gewählten Versuchsbedingungen optimal benötigte Menge an UACP bestimmt, indem zu den Zementierungsversuchen unterschiedliche Mengen an UACP zugefügt wurden (Abbildung 21). Hierbei zeigte sich ein deutliches Optimum bei der Zugabe von 2,25 % UACP, wenn die Zementierungslösung 0,75 M Harnstoff und CaCl_2 enthielt.

Die Abbildung 21 zeigt die Probekörper aus dem oben beschriebenen Versuch, die mit der Konzentration 0,75 M hergestellt wurden, und veranschaulicht die beschriebenen Effekte.

Abbildung 21
Zementierte Probekörper mit unterschiedlichen Massenanteilen an UACP

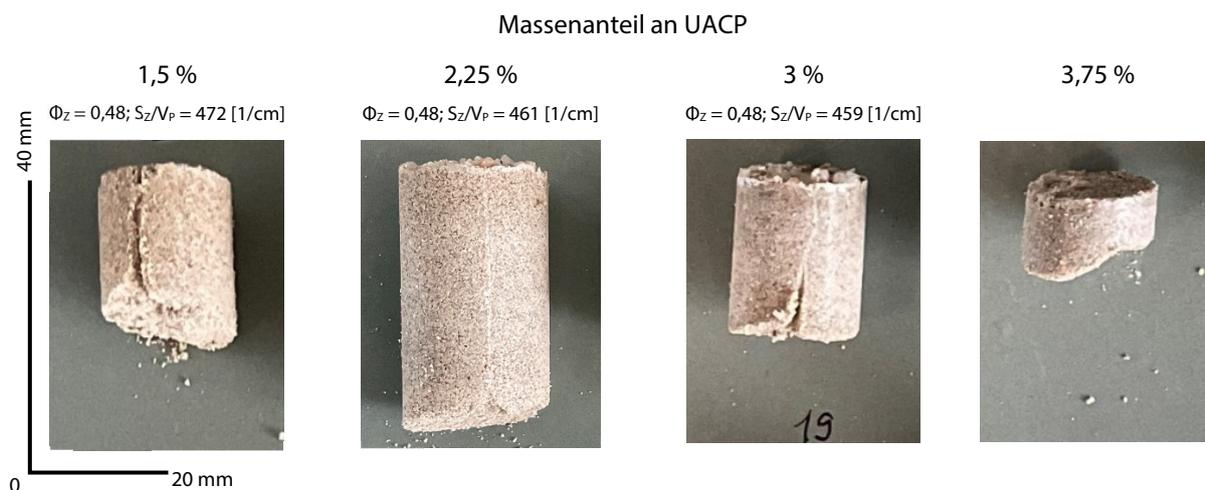


Bild-Quelle: ILEK

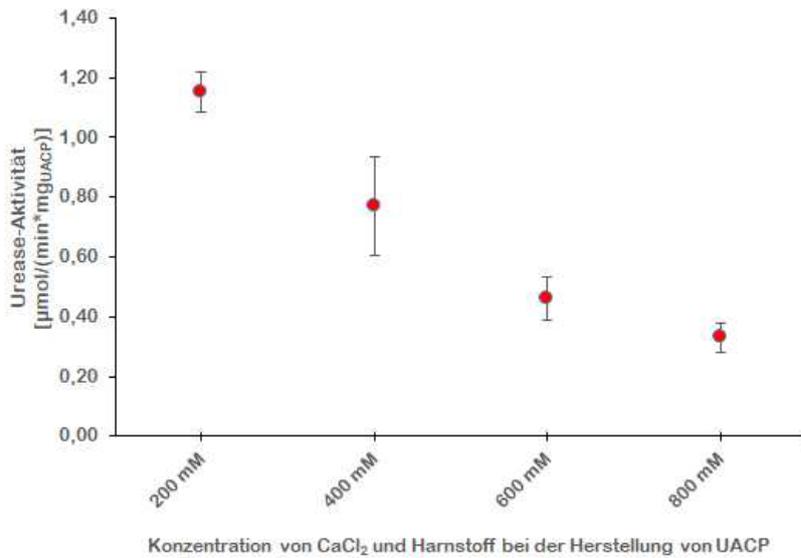
Einfluss der Urease-Aktivität auf die Verfestigung der Probekörper

Die Urease-Aktivität hat einen Einfluss auf die Homogenität der Zementierung. Ist die Urease-Aktivität zu hoch, so führt dies dazu, dass nur die Bereiche der Probekörper zementiert werden, die als erste in Kontakt mit der Zementierungslösung kommen. Dadurch kann die Zementierungslösung nicht die restlichen Bereiche erreichen und werden nicht verfestigt [32]. Bei niedrigen Urease-Aktivitäten kann dagegen eine gleichmäßige Zementierung der Probekörper erreicht werden [32,63].

Im aktuellen Projekt wurde der Einfluss der Urease-Aktivität auf die Zementierungstiefe bei der Perkolationsanhand einer optimierten und einer homogenen Zuschlagmischung untersucht. Beide Mischungen haben im verdichteten Zustand einen ähnlichen S_z/V_p -Wert aber eine unterschiedliche Porosität Φ_z . Im Versuch wurde UACP mit verschiedenen Urease-Aktivitäten durch die Veränderung der CaCl_2 - und

Harnstoffkonzentrationen im Präparationsprozess hergestellt (Abbildung 22; s. auch 2.1 und Nething et al. [16]).

Abbildung 22
Herstellung von UACP mit unterschiedlichen Urease-Aktivitäten
Verwendung verschiedener Konzentrationen von CaCl_2 und Harnstoff bei der Präzipitation des UACP



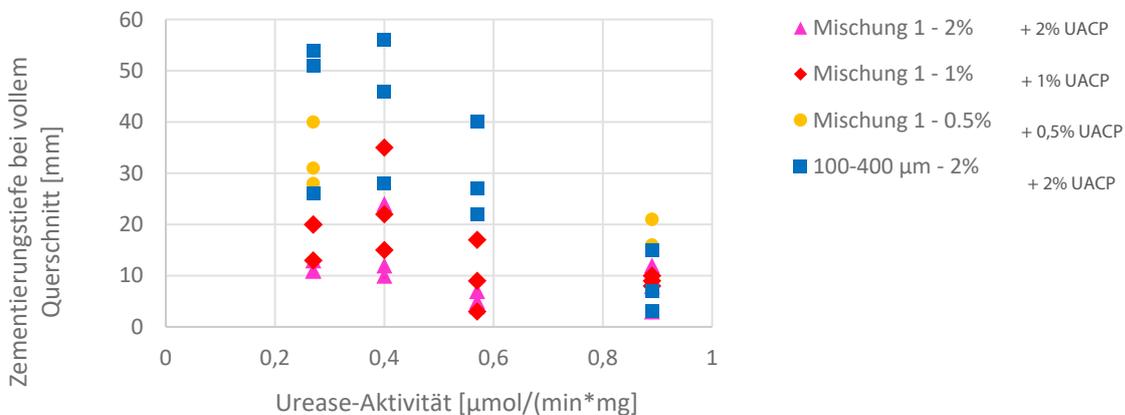
Quelle: IMB

Anschließend wurde der Effekt unterschiedlicher UACP-Mengen sowohl auf homogene als auch auf die optimierte Sandmischung untersucht. Die zementierten Probekörper sind in der Abbildung 24 dargestellt.

Besonders deutlich war der Effekt der Verringerung der Urease-Aktivität auf die Zementierungstiefe bei einer homogenen Mischung mit der Sandkorngröße 100 - 400 μm (Abbildung 24, obere Reihe).

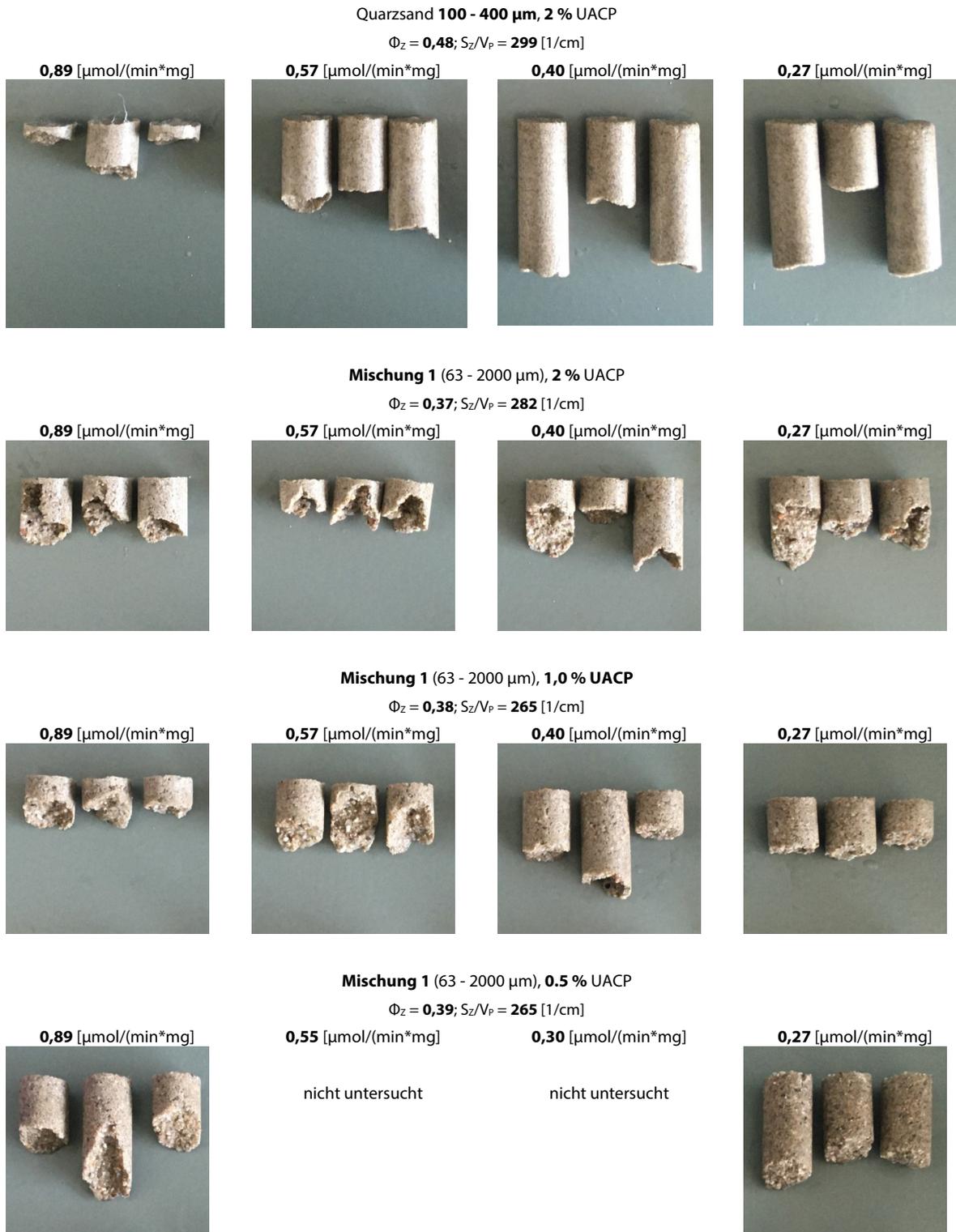
Bei der dichteren heterogenen Mischung 1 haben die Eigenschaften des Gesteinsgefüge bei der Perkolation einen größeren Einfluss auf die Zementierungstiefe als die Urease-Aktivität. Auch die Menge des UACP hat bei der dichteren Mischung einen deutlich geringeren Einfluss auf die Zementierungstiefe als bei der homogenen weniger dichten Mischung (Abbildung 23).

Abbildung 23
Einfluss der Urease-Aktivität auf die Zementierungstiefe



Quelle: ILEK

Abbildung 24
Einfluss unterschiedlicher Urease-Aktivitäten auf die Verfestigung von Probekörpern aus verschiedenen Sand-Mischungen



Konzentration der Zementierungslösung: 0,75 M Harnstoff + 0,75 M CaCl_2
Zufuhrzyklen: 22 (88 h)

Bild-Quelle: ILEK

pH-Wert

Der pH-Wert der in diesem Projekt häufig verwendeten Zementierungslösung mit einer Konzentration von 0,75 M Harnstoff und 0,75 M CaCl₂ beträgt ca. 6,9. Da die Ausfällung von Calcit im leicht alkalischen pH-Bereich stattfindet, wurde der Ansatz geprüft, den pH-Wert der Zementierungslösung vorab zu senken, um die Ausfällung des Calciumcarbonats zu verzögern. Hierdurch sollte erreicht werden, dass die Zementierungslösung tiefer in die Probekörper vordringt und dadurch die Zementierungstiefe erhöht wird. Daher wurde in einer weiteren Versuchsreihe den Probekörpern verschiedene Zementierungslösungen mit zuvor eingestellten pH-Werten zugegeben. In dem Versuch konnte kein Einfluss des initialen pH-Werts auf die Zementierungstiefe festgestellt werden (Abbildung 25).

Abbildung 25
Zementierungsversuch mit verschiedenen pH-Werten der Zementierungslösungen



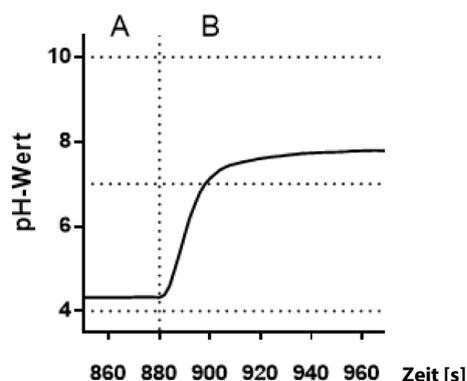
Zuschläge: Quarzsand 63 - 250 µm
 Konzentration der Zementierungslösung: 0,75 M Harnstoff + 0,75 M CaCl₂
 Massenanteil an UACP: 3,0 % (w/w)
 Urease-Aktivität: 0,270 [µmol/(min*mg)]
 Zufuhrzyklen: 13 (52 h)

Bild-Quelle: ILEK

Dies liegt vermutlich an der geringen Pufferwirkung der Zementierungslösung auf den pH-Wert, also der Eigenschaft einen bestimmten pH-Wert bei Zugabe von Säuren oder Basen beibehalten zu können.

In einem weiteren Versuch wurden 50 ml der „Standard-Zementierungslösung“ (0,75 M Harnstoff plus 0,75 M Calcium-Chlorid) mit 1M HCl auf einen pH-Wert von 4 eingestellt (Abbildung 26, Zone A) Nach 880 Sekunden wurden der Lösung 0,75 g UACP zugegeben (Abbildung 26, Zone B). Unmittelbar nach der Zugabe des UACP stieg der pH-Wert innerhalb von ca. 50 Sekunden von 4,1 auf 7,8. Dies stützt die Ergebnisse des vorhergehenden Versuchs, da die Durchflussrate bei der Perkolations mittels Schwerkraft nur sehr gering ist und die Verzögerung des pH-Anstiegs von 50 Sekunden nicht ausreicht, um die Zementierungstiefe zu beeinflussen. Offenbar kommt es in dem System durch die mikrobielle Hydrolyse des Harnstoffs zu einem sehr schnellen Anstieg des pH-Werts.

Abbildung 26
Veränderung des pH-Wertes der Zementierungslösung nach der Zugabe von UACP



Quelle: IMB

Einfluss von Zuschlaggröße und Packungsdichte auf die Biozementierung

Im Folgenden sollte der Einfluss der Zusammensetzung des Zuschlaggefüges auf die Festigkeit und auf den Zementierungsablauf untersucht werden. Dafür wurden Zementierungsversuche durch Perkolation mit unterschiedlichen Zuschlaggrößen durchgeführt. Alle Mischungen hatten einen UACP-Anteil von 1,5 % (w/w). Die zementierten Probekörper sind in der Abbildung 27 zu sehen.

Die Mischung mit der Korngröße 700 – 1250 µm hat den geringsten S_z/V_p -Wert und damit von allen betrachteten Mischungen die größten Poren (Tabelle 5). Die mit dieser Mischung zementierten Probekörper weisen einen sichtbar erhöhten Calciumcarbonat-Gehalt in Flussrichtung auf (ersichtlich in an der

Abbildung 27 ausgeprägten hellen Färbung des Probekörpers). Dies deutet auf den Transport des UACP mit der Strömung der Zementierungslösung hin. Bei den Mischungen mit Wert S_z/V_p - Werten > 106 ist dieser Transporteffekt weniger sichtbar.

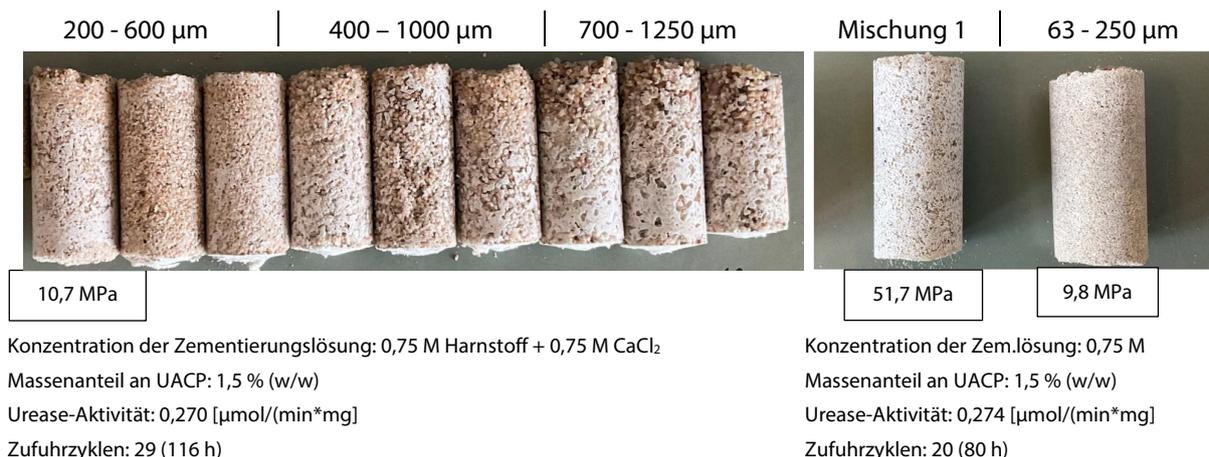
Tabelle 5

Porosität Φ_z und Verhältnis S_z/V_p für Sand-Mischungen mit verschiedenen Korngrößen

Sandkorngröße, µm	Φ_z	S_z/V_p
63 - 250	0,48	472
200 - 600	0,47	159
400 - 1000	0,45	106
700 - 1250	0,47	69
Optimierte Mischung 1 (63 – 2000)	0,37	ca. 270

Abbildung 27

Zementierte Probekörper mit verschiedenen Sandkorngrößen



Quelle: ILEK

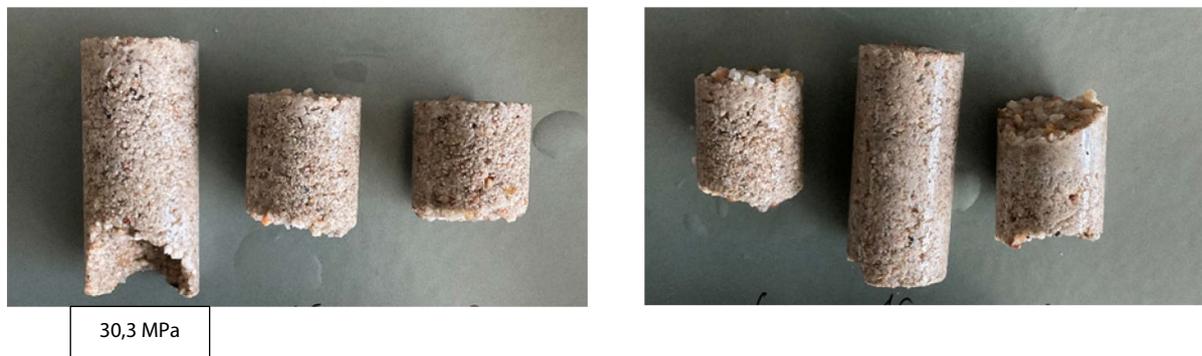
Da die Perkulationsmethode eine eingeschränkte Reproduzierbarkeit aufweist, konnte nur die Druckfestigkeit einzelner Proben geprüft werden (s. Punkt „Einschränkungen der Perkulationsmethode“). Die geprüften Proben, die mit der optimierten Mischung 1 hergestellt wurden, wiesen mit 30-51,7 MPa die höchsten Druckfestigkeitswerten von allen zementierten Probekörpern in diesem Kapitel.

Die Porosität der Mischungen darf bei der Perkolation jedoch auch nicht zu gering sein, da sonst der Durchfluss der Zementierungslösung durch den Probekörper komplett verhindert wird. Bei Versuchen mit der Mischung 2 ($\Phi_z = 27$), konnte kein Durchfluss der Zementierungslösung und keine Zementierung festgestellt werden. Daraus lässt sich schließen, dass bei der Entwicklung von Biobetonmischungen, die durch Perkolation zementiert werden, sowohl die Maximierung der Packungsdichte, zu Gunsten einer hohen Druckfestigkeit, als auch der Erhalt einer gewissen Porosität, zur Sicherstellung einer tiefen Zementierung, berücksichtigt werden müssen.

Einschränkungen der Perkulationsmethode

Bei den meisten Versuchen unter Verwendung der Perkolation mittels Schwerkraft wurde beobachtet, dass Proben mit gleicher Zusammensetzung und unter gleichen Zementierungsbedingungen große Unterschiede in der Zementierungstiefe aufwiesen (Abbildung 28).

Abbildung 28
Aussehen zementierter Proben identischer Zusammensetzung, die unter den gleichen Zementierungsbedingungen mit Hilfe einer automatisierten Zementierungsmaschine hergestellt wurden



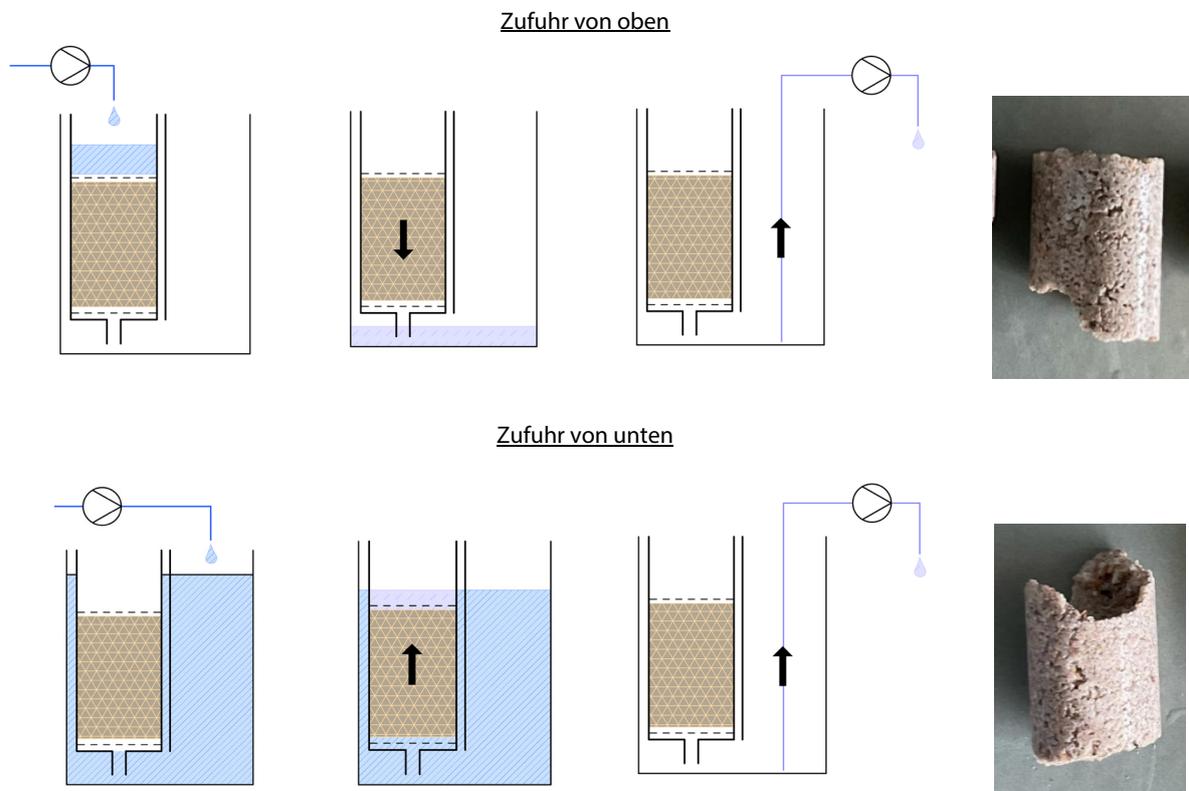
Zuschläge: Mischung 1 (63 - 2000 μm)
Konzentration der Zementierungslösung: 0,75 M Harnstoff + 0,75 M CaCl_2
Massenanteil an UACP: links 1,5 %; rechts 2,0 %
Zufuhrzyklen: 29 (116 h)

Quelle: ILEK

Eine mögliche Erklärung ist die Entstehung unterschiedlicher Strömungspfade im Zuschlagsgefüge. Zum einen als Resultat der individuellen Anordnung der Gesteinskörnung und zum anderen durch Lufteinschlüsse zwischen den Aggregaten. Um den Effekt möglicher Lufteinschlüsse auf die Zementierung zu untersuchen, wurden zwei verschiedene Versuche durchgeführt.

Im ersten Versuch wurde einer Probe die Zementierungslösung in einem speziellen Behälter von unten zugeführt, um eine Verdrängung der Luft durch die aufsteigende Zementierungslösung nach oben zu ermöglichen. Als Kontrolle wurde eine weitere Probe in einem identischen Behälter von oben befüllt (Abbildung 29). Es konnte aber kein Unterschied in der Zementierungstiefe der entnommenen Probekörper festgestellt werden.

Abbildung 29
 Unterschiedliche Konzepte zur Zufuhr von Zementierungslösungen
 zu Probekörpern von oben oder unten



Zuschläge: Mischung 1 (63 - 2000 μm)
 Konzentration der Zementierungslösung: 0,75 M Harnstoff + 0,75 M CaCl_2
 Massenanteil an UACP: 1,5 %
 Zufuhrzyklen: 25 (96 h)

Quelle: ILEK

Im zweiten Versuch wurde die Zementierungslösung nach dem ersten Zufuhrzyklus am Auslass der Spritzenhülse angesaugt, bis sich in der angesaugten Zementierungslösung keine Luftblasen mehr befanden (Abbildung 30). Probekörper, die mit dieser „Starthilfe“ zementiert wurden, erreichten die bei diesem Versuchsaufbau maximal mögliche Zementierungstiefe von ca. 35 mm, während die Kontrollproben nur 10 bis 15 mm tief zementiert waren.

In einer Versuchsreihe mit „Starthilfe“, bei der der erste und der zweite Zementierungszyklus 24 Stunden auseinander lagen, konnte die gleiche Erhöhung der Zementierungstiefe beobachtet werden. Dies ist bemerkenswert, da anzunehmen wäre, dass die Zementierungslösung in diesem Zeitraum weitgehend komplett durch die Probe sickert und das Porenvolumen wieder mit Luft gefüllt wird. Dadurch würden bei der zweiten Befüllung neue Luftporen entstehen. Wahrscheinlich reicht jedoch die durch Kapillarkräfte im Sand gehaltene Flüssigkeit aus, um eine erneute Blockage durch Luftporen zu verhindern.

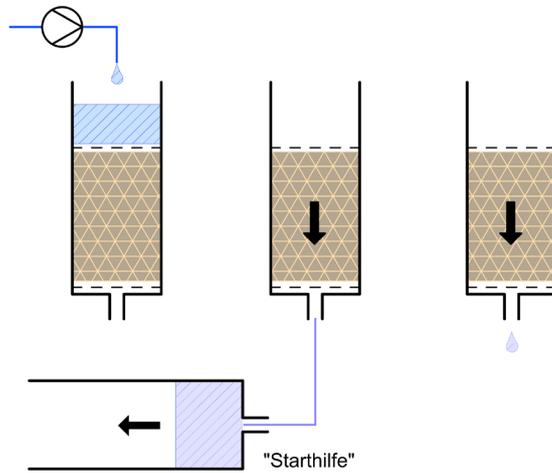
Dieses Ergebnis zeigt, dass die aktive Zuführung der Zementierungslösung für die Zementierungstiefe und Reproduzierbarkeit der Biozementierung eine entscheidende Rolle spielt. Aus diesem Grund wurden im weiteren Projektverlauf Zementierungsmethoden entwickelt, die eine kontrollierte Zufuhr der Zementierungslösung mit einem einstellbaren Druck oder einer einstellbaren Durchflussrate ermöglichen.

Abbildung 30

Nutzung einer „Starthilfe“ bei der Perkolat von oben

A) Konzept der „Starthilfe“; B) Praktische Durchführung der Starthilfe unter Verwendung der automatisierten Zementierungsmaschine; C) Vergleich der Probenkörper, die mit oder ohne „Starthilfe“ erhalten wurden

A



B



C



Zuschläge: Mischung 1 (63 - 2000 µm)

Konzentration der Zementierungslösung: 0,75 M Harnstoff + 0,75 M CaCl₂

Massenanteil an UACP: 1,5 %

Zufuhrzyklen: 25 (120 h / 100 h)

Quelle: ILEK

Zusammenfassung – identifizierte Einflussparameter bei der Perkolation

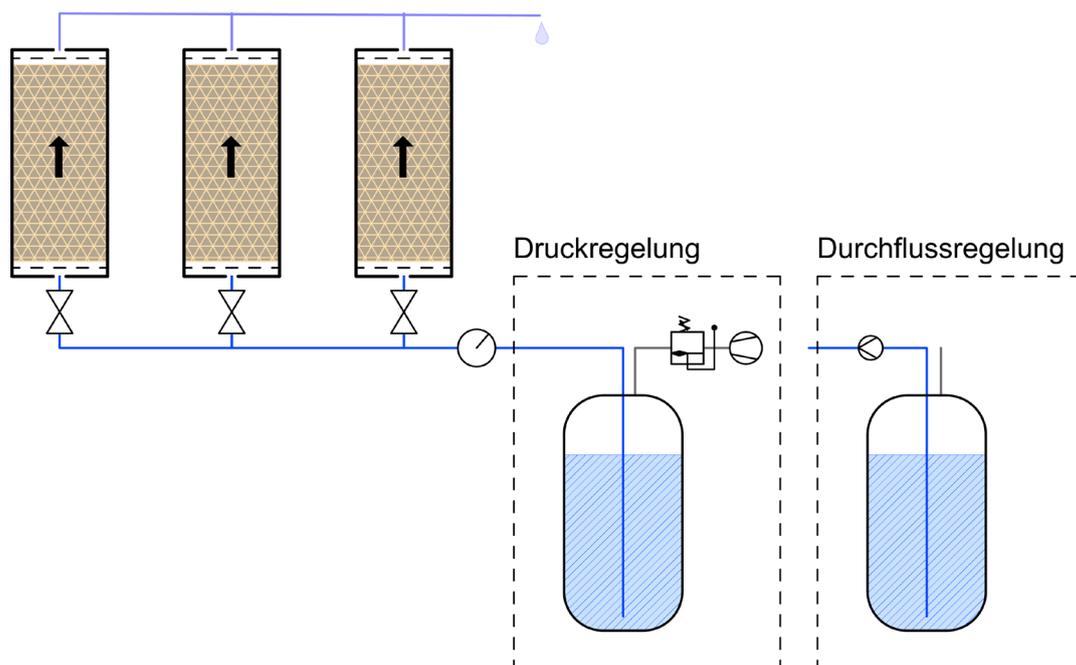
Tabelle 6
Identifizierte Einflussparameter bei der Perkolation

Parameter	Einfluss auf die Festigkeit	Einfluss auf die Zementierungstiefe
Konzentration der Zementierungslösung	Hohe Konzentrationen beeinträchtigen die Festigkeit	Kein Zusammenhang identifiziert
Menge des UACP	Wegen geringer Zementierungstiefe nicht untersucht	Optimum je nach Mischung
Urease-Aktivität des UACP	Nicht untersucht	Sichtbarer Effekt bei homogenen Mischungen. Bei optimierten Mischungen mit hoher Packungsdichte weniger relevant
pH-Wert der Zementierungslösung (Zufuhr)	Nicht untersucht	Kein Einfluss wegen geringer Pufferwirkung der Zementierungslösung
Räumliche Aspekte des Zuschlaggefüges	Die Zusammensetzung des Zuschlaggefüges hat einen entscheidenden Einfluss auf die Festigkeit	Die Zusammensetzung des Zuschlaggefüges beeinflusst die Permeabilität
Aktives Ansaugen der Zementierungslösung bei der ersten Zufuhr	Keine reine Perkolation mehr, daher in folgenden Projektteilen untersucht	Deutlich größere Wirkung als chemische und mikrobiologische Parameter

4.2. Druckbasierte Herstellungsverfahren

Die druckbasierten Herstellungsverfahren zeichnen sich durch die aktive Einleitung der Zementierungslösung in die Biobetonmischung aus. Die Einleitung kann durch eine Pumpe, das Beaufschlagen der Zementierungslösung auf der Zufuhrseite mit Druck oder das Anlegen eines Unterdrucks auf der Auslassseite erfolgen. Aufgrund der einfacheren Druck- bzw. Durchflussregelung und des höheren Maximaldrucks wurden in diesem Projekt die Pumpe- und Überdruck-basierten Methoden untersucht (Abbildung 31).

Abbildung 31
Funktionschema der untersuchten Druck-basierten Herstellungsverfahren



Quelle: ILEK

Die Wechselwirkung von Druck und Durchflussrate ist in den beiden untersuchten Systemen nicht linear und schwer modellierbar. Daher wurde für jedes System nur einer der beiden Parametern gesteuert, der andere wurde durch Sensoren erfasst. Im Falle des Druckluftsystems wurde der aufgebrachte Luftdruck gesteuert und die Durchflussrate erfasst, im Falle des Pumpensystems wurde die Förderrate der Pumpe gesteuert und der Druck auf der Zufuhrleitung gemessen.

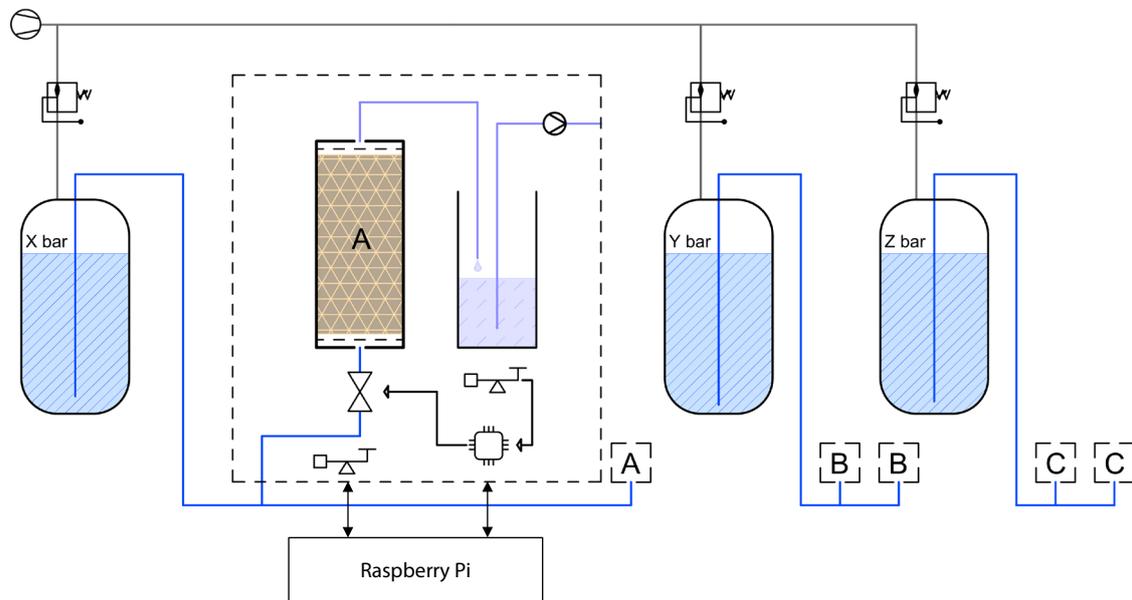
Da im Projekt für die Auslegung eines Pumpensystems zunächst die notwendigen Erfahrungswerte fehlten, wurden Versuche mit dem Druckluftsystem durchgeführt. Danach wurde ein prototypisches Kolbenpumpensystem entwickelt und getestet.

Aufbau und Steuerung eines Luftdruck-basierten Systems

Die automatisierte Zementierungseinrichtung für die Herstellung von Probekörpern aus Biobeton wurde im Laufe des Projektes ständig weiterentwickelt und verbessert. Der finale Aufbau ist auf der Abbildung 32 dargestellt.

Die automatisierte Zementierungseinrichtung bestand aus einem Zufuhrsystem und einem Wägemodul, die an einen Einplatinencomputer (Raspberry Pi 4) zur Steuerung und Erfassung der Daten angeschlossen wurden.

Abbildung 32
Automatisierte Zementierungseinrichtung für druckregulierte Biozementierung
Schematische Darstellung



Quelle: ILEK

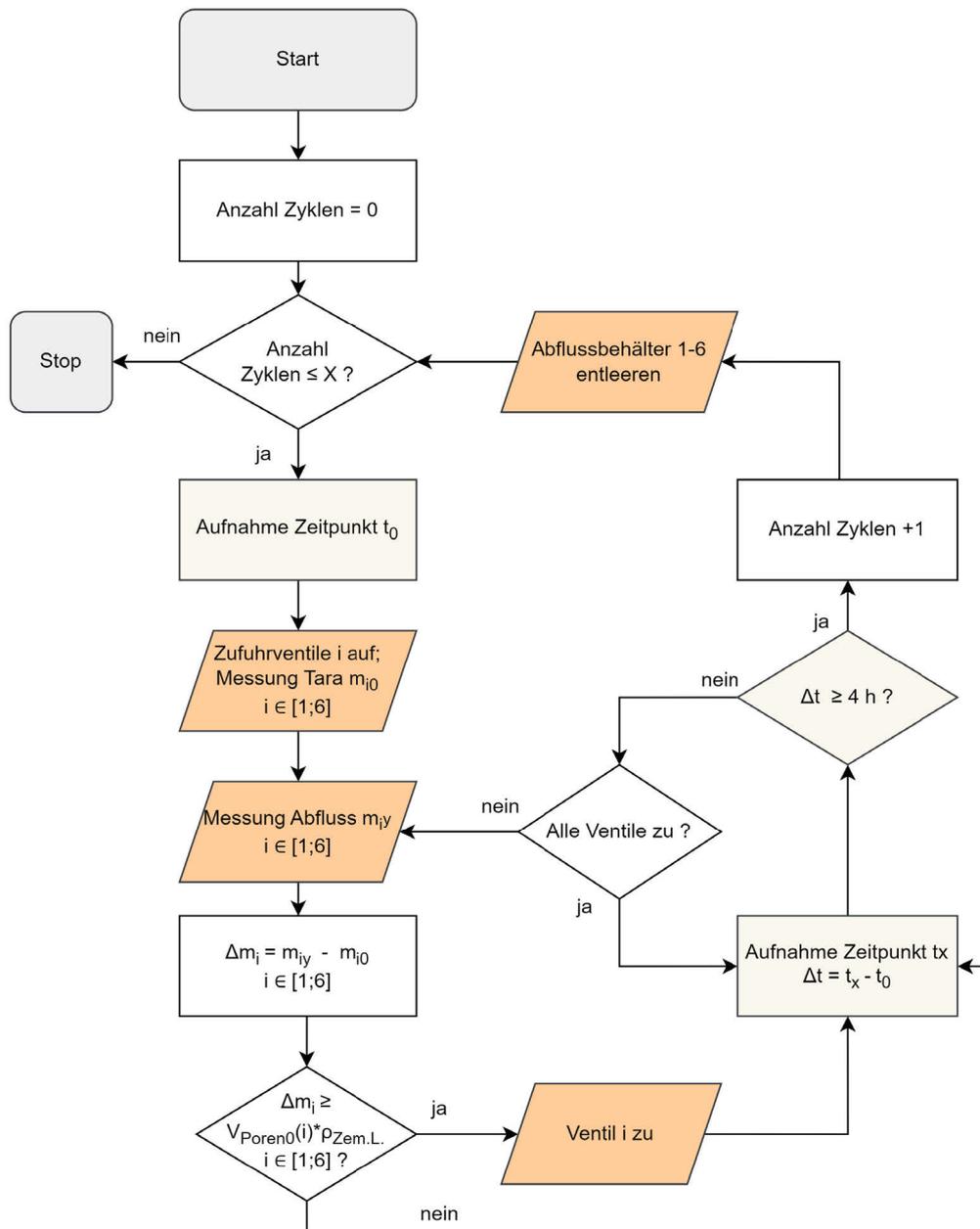
Das Zufuhrsystem setzte sich aus folgenden Komponenten zusammen:

- einer oder mehrere Druckbehälter, gefüllt mit Zementierungslösung
- Druckregler (vor die Druckbehälter geschaltet)
- Ventile (vor die Schalungen geschaltet)
- Waagen mit Abflussbehältern und Abflusspumpen
- Steuerungsmodul mit Mikrocontroller (Arduino Mega), Relais, Treiber, usw.

Der Ablauf der Biozementierung ist auf Abbildung 33 dargestellt. Alle vier Stunden wurde die Zementierungslösung im Probekörper ausgetauscht, indem ein konstanter Druck an den Druckbehältern angelegt und gleichzeitig die Ventile geöffnet wurden. Dadurch wurde jede Schalung von unten nach oben mit der Zementierungslösung durchströmt. Die oben aus den Schalungen austretende Zementierungslösung wurde in Abflussbehältern aufgefangen und die Menge durch Wägen kontinuierlich erfasst. Sobald das Gewicht der gesammelten Zementierungslösung auf der Waage dem Gewicht eines komplett gefüllten Porenvolumens der Mischung in der Schalung entsprach, wurde das Ventil auf der Zufuhrseite der entsprechenden Schalung geschlossen. Am Ende des Zementierungszyklus wurde die Lösung aus den Abflussbehältern abgepumpt.

Zur Erfassung des Schalungsgewichts während der Zementierung wurde ein automatisiertes Wägemodul konstruiert. Mit dem Wägemodul konnten die Schalungen in definierten Zeitabständen auf die Wägezellen heruntergelassen und nach dem Wägen wieder angehoben werden. Dadurch konnte das Auftreten von Kriecheffekten durch eine mehrtägige Dauerbelastung der Wägezellen vermieden werden.

Abbildung 33
Algorithmischer Ablauf der Biozementierung



Quelle: ILEK

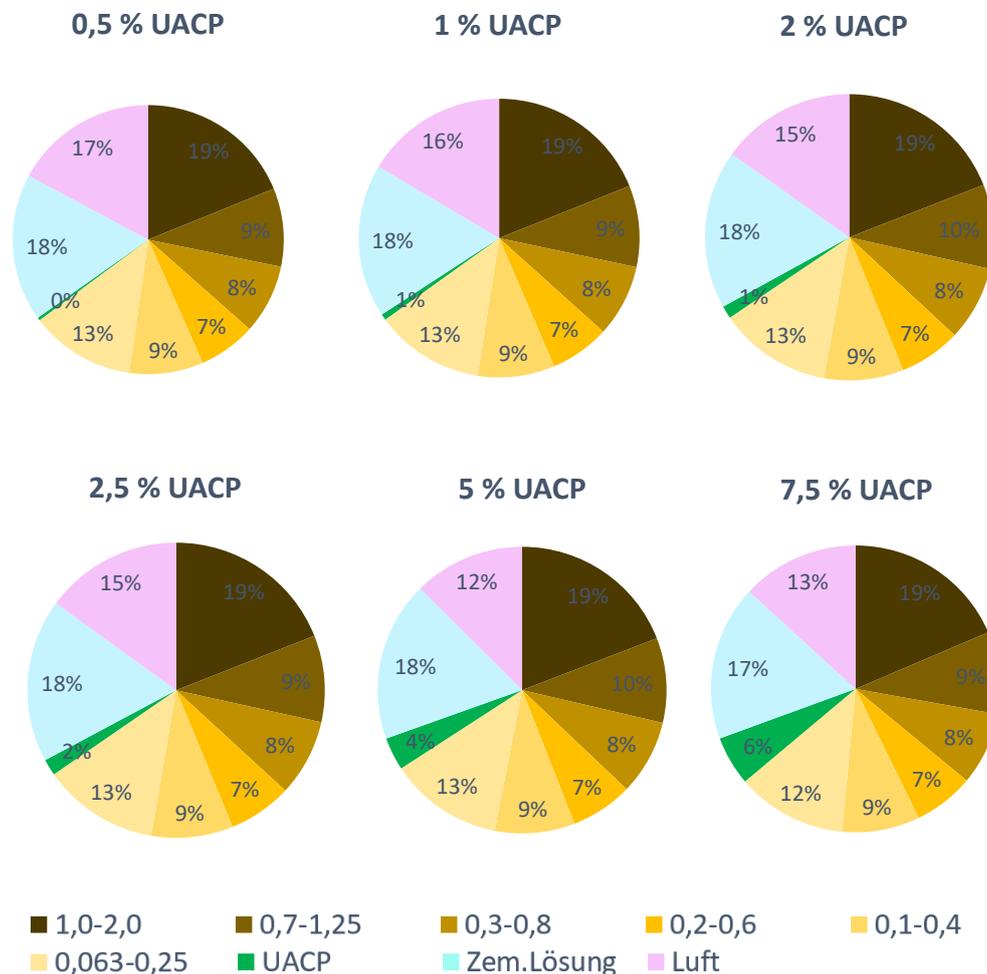
Zementierungsversuche mit einem Luftdruck-basierten System

Verwendete Mischungen

Für die Zementierungsversuche wurde Mischung 1 (s. Kapitel 3) mit verschiedenen UACP-Anteilen verwendet. In Verdichtungsversuchen wurden die genauen Volumenverhältnisse der Mischungen ermittelt (Abbildung 34).

Allen Mischungen wurde Zementierungslösung mit einer Konzentration von 0,1 M Harnstoff und CaCl_2 hinzugegeben. Die hinzugegebene Menge entsprach 10 % (w/w) der Feststoffe.

Abbildung 34
 Volumenanteile der einzelnen Phasen in den Mischungen
 mit unterschiedlichen Massenanteilen von UACP
 (Die Prozentangaben über den Diagrammen beziehen sich auf den Massenanteil in der trockenen, unverdichteten Mischung vor der
 Zugabe der Zementierungslösung)



Quelle: ILEK

Herstellung von Probekörpern - Mischen

Die Mischungen (Abbildung 35 a) wurden in einer Rührmaschine (Modell: RMS7, Hersteller: GGM Gastro International GmbH) mit 125 rpm für 2 Minuten gerührt (Abbildung 35 b). Danach wurden die Mischungen per Hand durchmischt, um am Boden der Rührschüssel abgesetztes Mischgut nach oben zu befördern, danach wurde weitere 2 Minuten in der Rührmaschine gerührt.

Herstellung von Probekörpern – Verdichten

Nach dem Durchmischen in der Rührmaschine wurden die Mischungen schichtweise in zylindrische Schalungen aus Kunststoff (Abbildung 35 c) gegeben und mit einem Druck von 5 N/mm² verdichtet. Zur Verdichtung der einzelnen ca. 10 bis 20 mm - hohen Schichten wurde eine hydraulische Presse verwendet (Abbildung 35 d). Die Oberfläche der Schichten wurde nach dem Verdichten aufgeraut, um den Verbund mit der jeweiligen Folgeschicht zu gewährleisten.

Abbildung 35

Herstellung von Probekörpern

Mischung 1 mit verschiedenen UACP Anteilen für jeden Probekörper (a), Mischen (b), Schalung aus Polyoxymethylen (POM) für die Herstellung von zylindrischen Probekörpern (c), Verdichtung der Mischung mittels einer hydraulischen Presse (d)

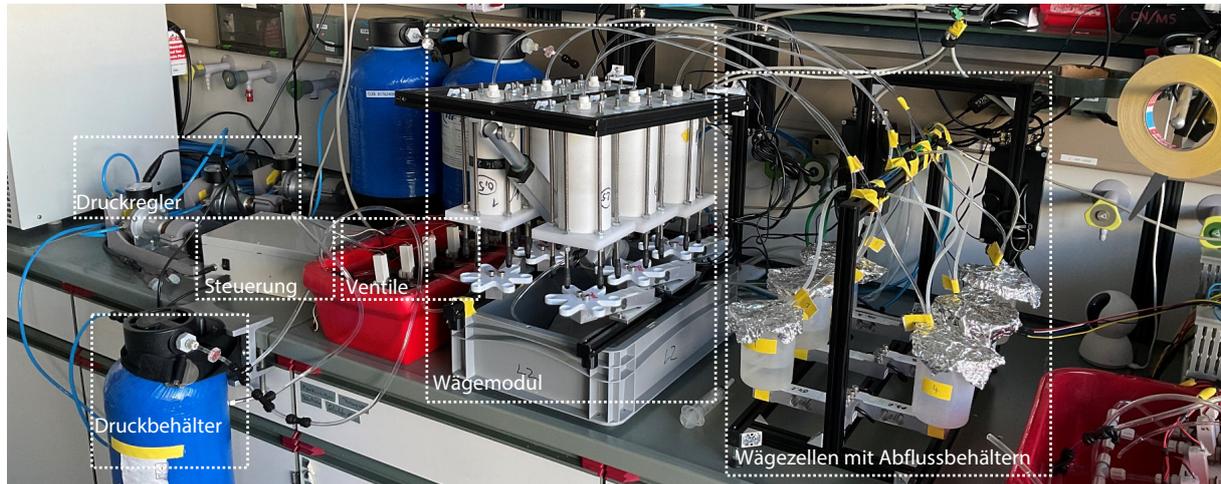


Quelle: ILEK

Herstellung von Probekörpern – Zementierung

Nach der Verdichtung wurden die Schalungen wasserdicht verschlossen und an die Zementierungseinrichtung angeschlossen (Abbildung 36). Pro Testreihe konnten 6 Probekörper parallel zementiert werden.

Abbildung 36
Automatisierte Zementierungseinrichtung für druckregulierte Biozementierung



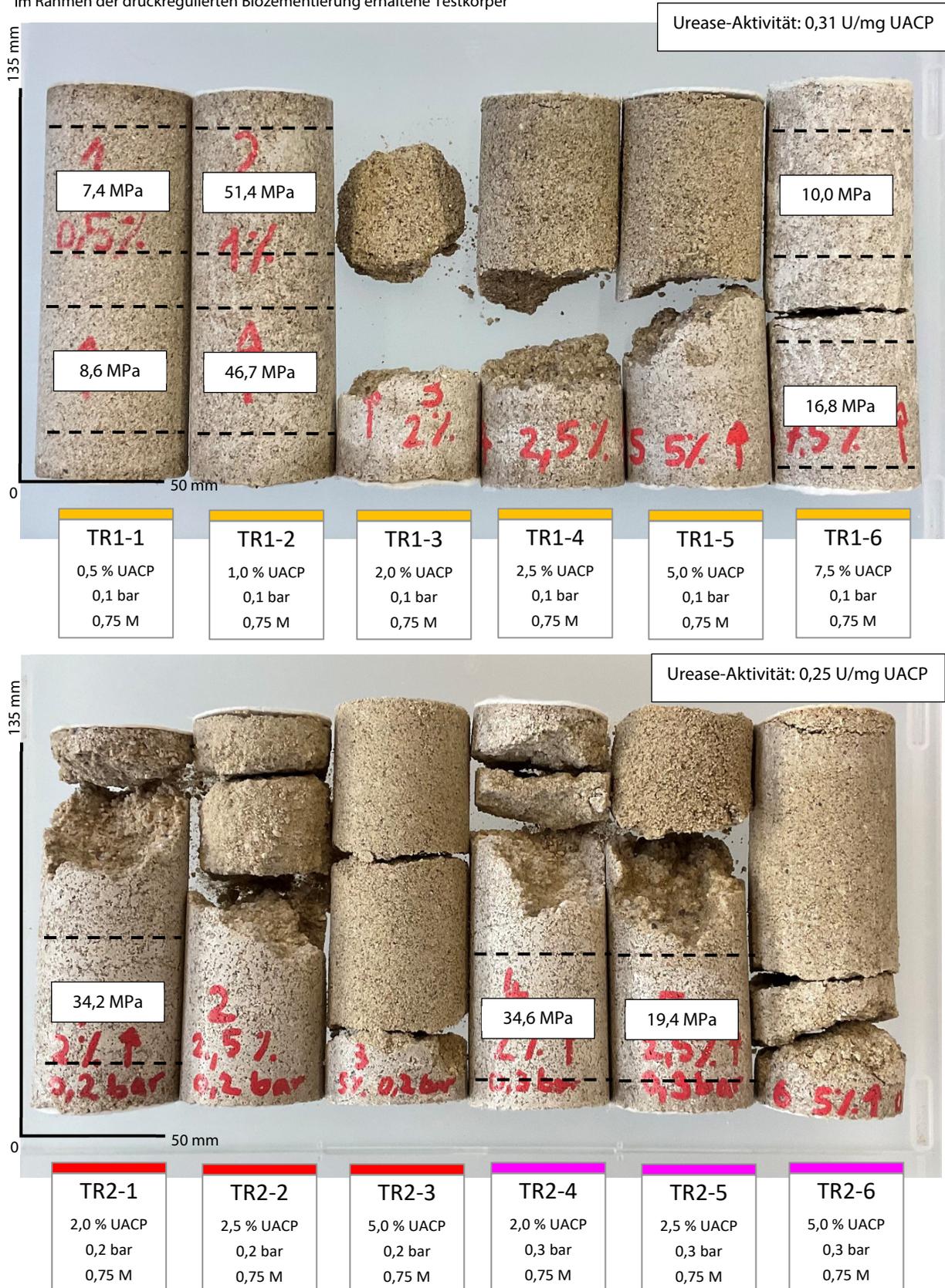
Quelle: ILEK

Die zementierten Probekörper sind in der Abbildung 37, Abbildung 38 und Abbildung 39 dargestellt.

Die Abfluss- und Schalungsgewichte wurden über die gesamte Zementierungsdauer gespeichert. Das Abflussgewicht wurde ca. alle 5 Sekunden erfasst, das Schalungsgewicht alle 4 Stunden zu Beginn jedes Zyklus. Über die Zunahme des Schalungsgewichts ließ sich die Menge des gebildeten Calciumcarbonats über den Zementierungsverlauf hinweg bestimmen (Abbildung 42). Über das Abflussgewicht konnte die Durchflussrate berechnet werden, die im Lauf der Zementierung stark abnahm (Abbildung 43).

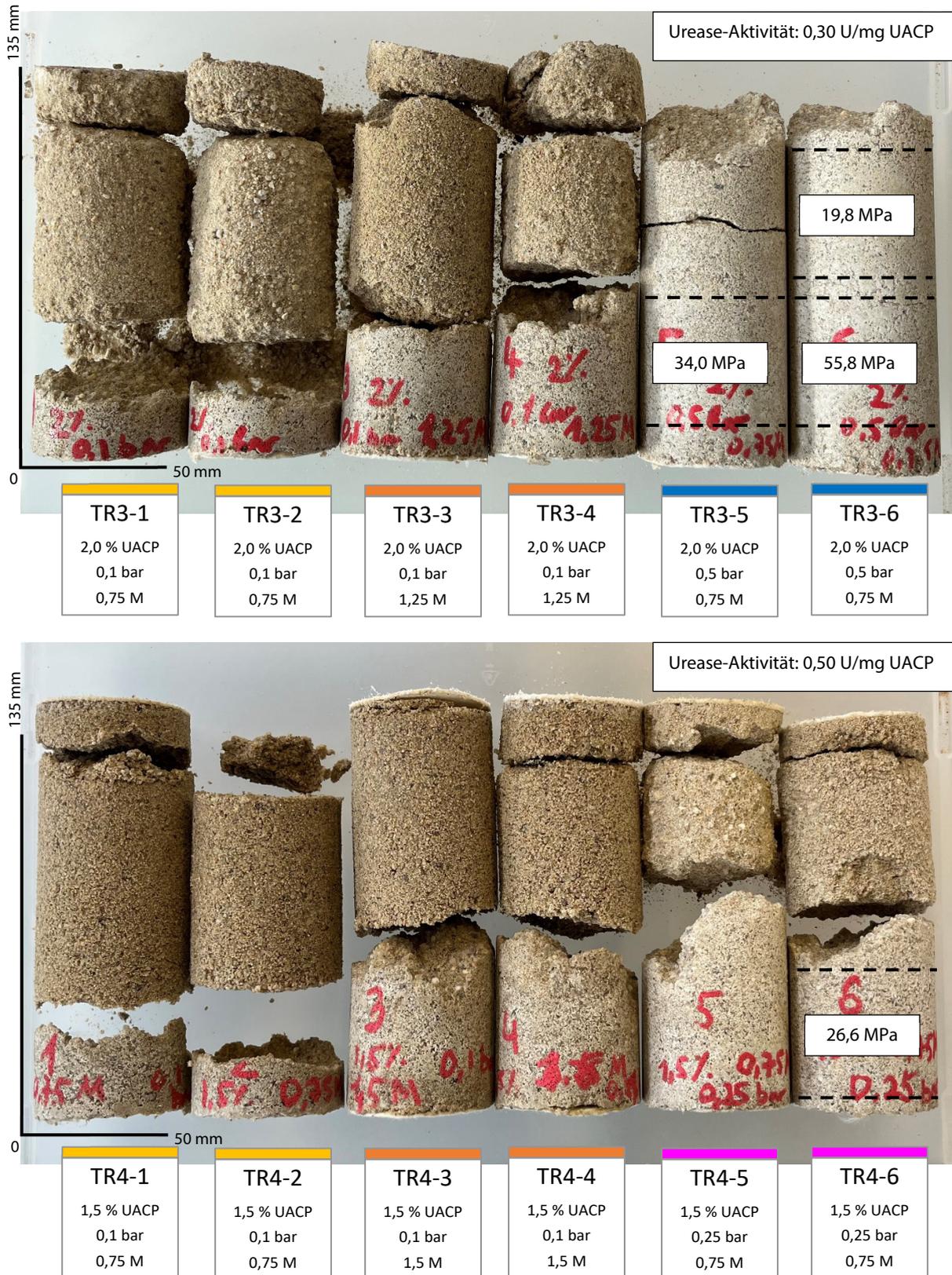
Während der Laborarbeitszeiten wurden zudem am Ende jedes Zyklus Proben aus den Abflussbehältern zur Messung der Ionenkonzentration entnommen (Abbildung 44, Abbildung 45 und Abbildung 46).

Abbildung 37
Im Rahmen der druckregulierten Biozementierung erhaltene Testkörper



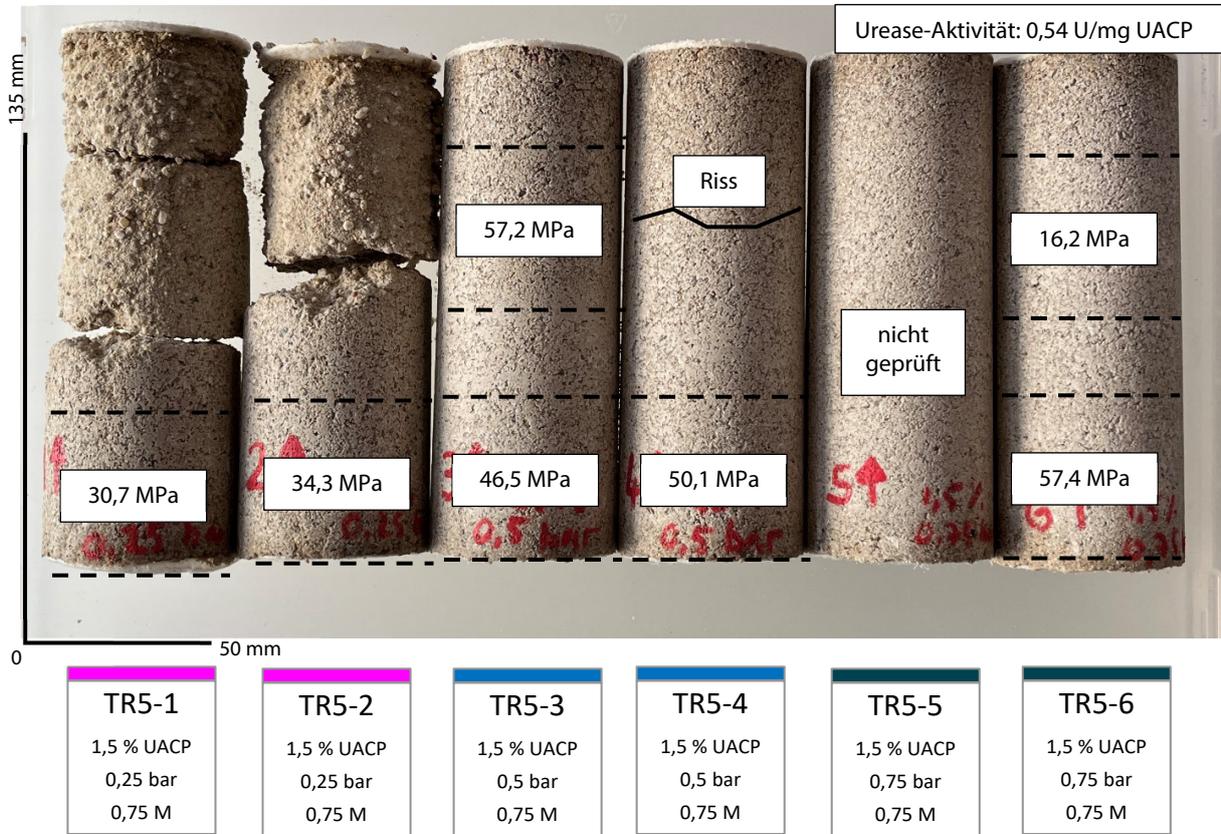
Quelle: ILEK

Abbildung 38
Im Rahmen der druckregulierten Biozementierung erhaltene Testkörper



Quelle: ILEK

Abbildung 39
Im Rahmen der druckregulierten Biozementierung erhaltene Testkörper



Quelle: ILEK

Bei einigen Proben wurde nach der Zementierung die Rissbildung an den Stellen beobachtet, die die Grenzen einzelner Schichten bei der Verdichtung ausbilden (Abbildung 37 TR1-6, TR3-5 und Abbildung 39 TR5-4). Dieser Effekt wurde bereits aus den früheren Testreihen bekannt (Abbildung 40 links). Eine Verbesserung der Schichtenbindung brachte das Anreizen der verdichteten Sandoberfläche nach jeder Schicht mit einem zugespitzten Kunststoffstäbchen (Abbildung 40 rechts). Die Ergebnisse der vorgestellten Testreihe zeigen allerdings noch den weiteren Verbesserungsbedarf.

Abbildung 40
Verbesserung der Schichtenbindung
links: Effekt der Schichtentrennung bei den zementierten Proben
rechts: das Anreizen der verdichteten Sandoberfläche nach jeder Schicht mit einem zugespitzten Kunststoffstäbchen



Quelle: ILEK

Abbildung 41
 Zementierungstiefe der erhaltenen Testkörper
 (Die Harnstoff- und CaCl₂-Konzentration in den Zementierungslösungen betrug, falls nicht anders angegeben, jeweils 0,75 M)

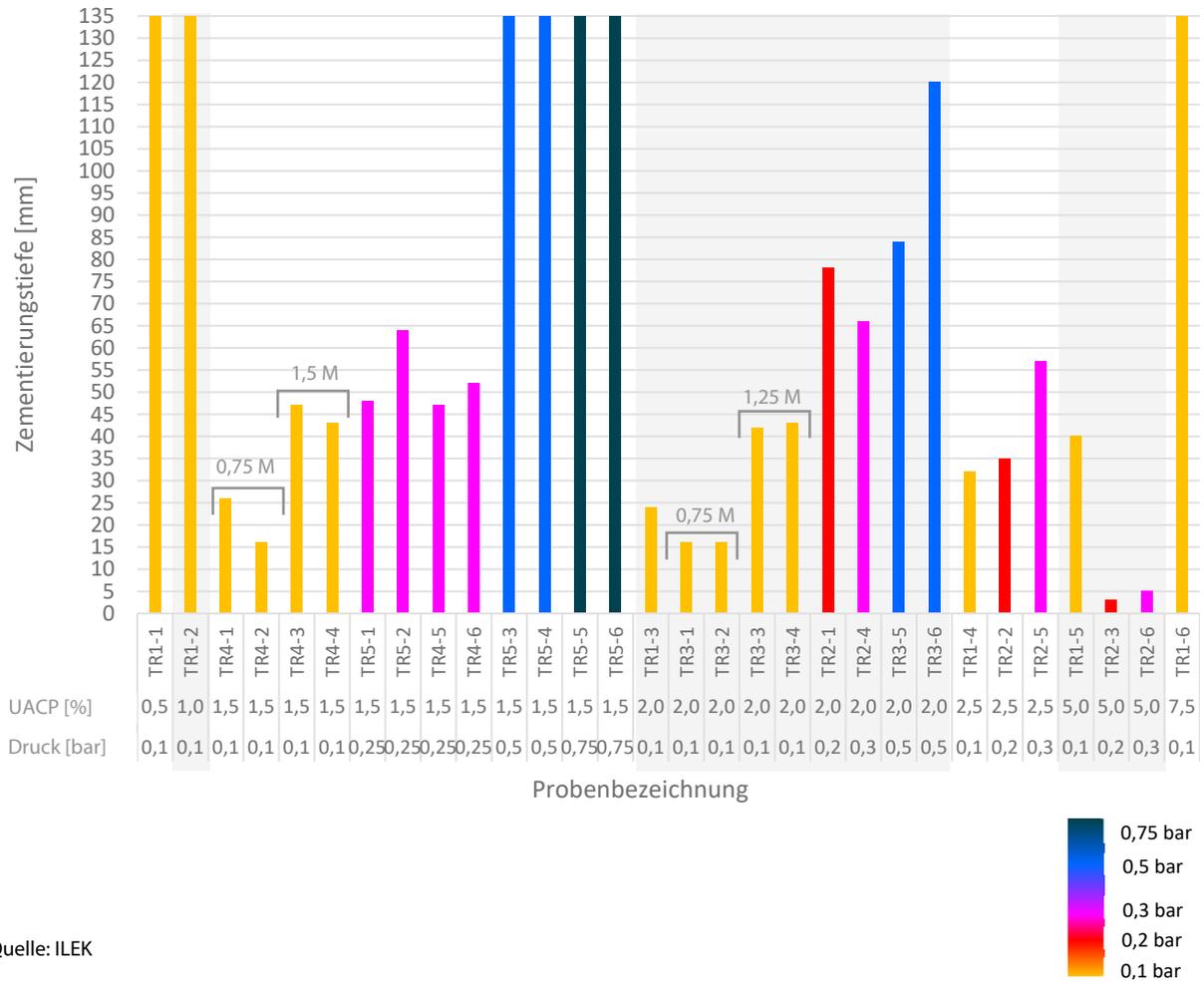
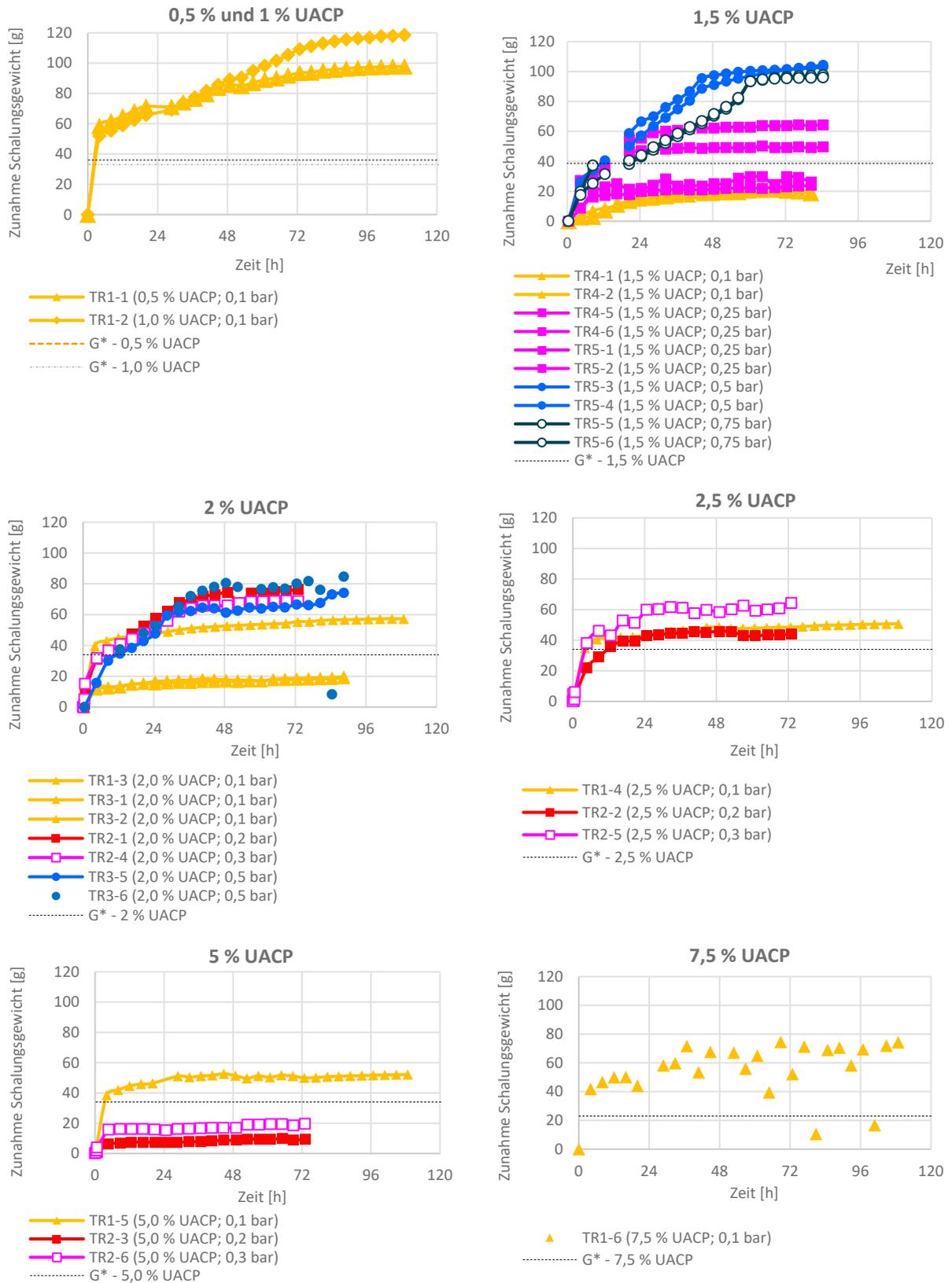


Abbildung 42
Zunahme der Schalungsgewichte während der Zementierung, Quelle: ILEK



G* - die maximale Gewichtszunahme durch die Zementierungslösung bei dem ersten Zyklus
(= Äquivalent des Luftvolumens nach der Verdichtung)

Abbildung 43
Veränderung der Durchflussraten während der Zementierung, Quelle: ILEK

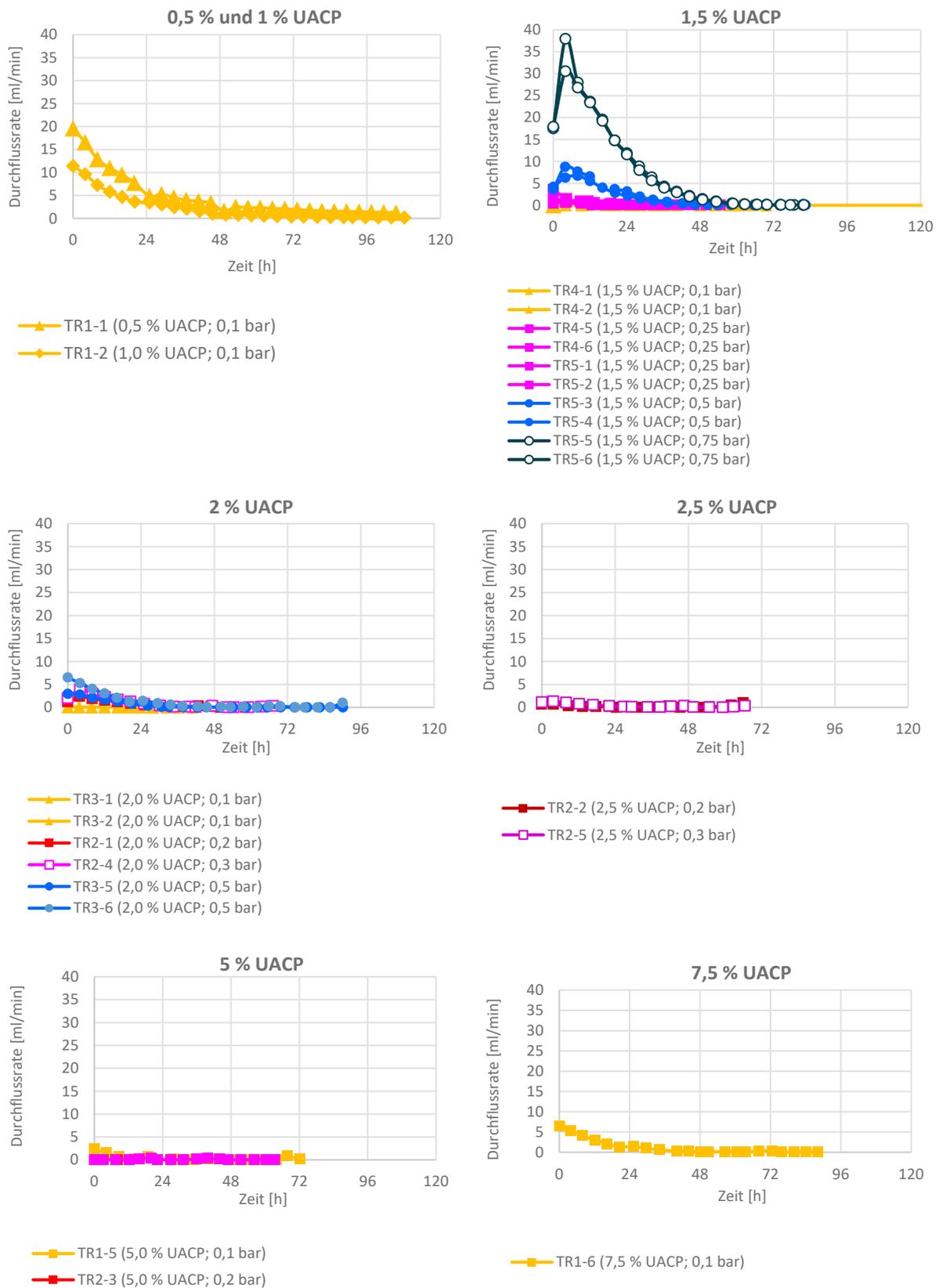


Abbildung 44
Veränderung der Ammonium-Konzentrationen in der Abflusslösung während der Zementierung, Quelle: IMB

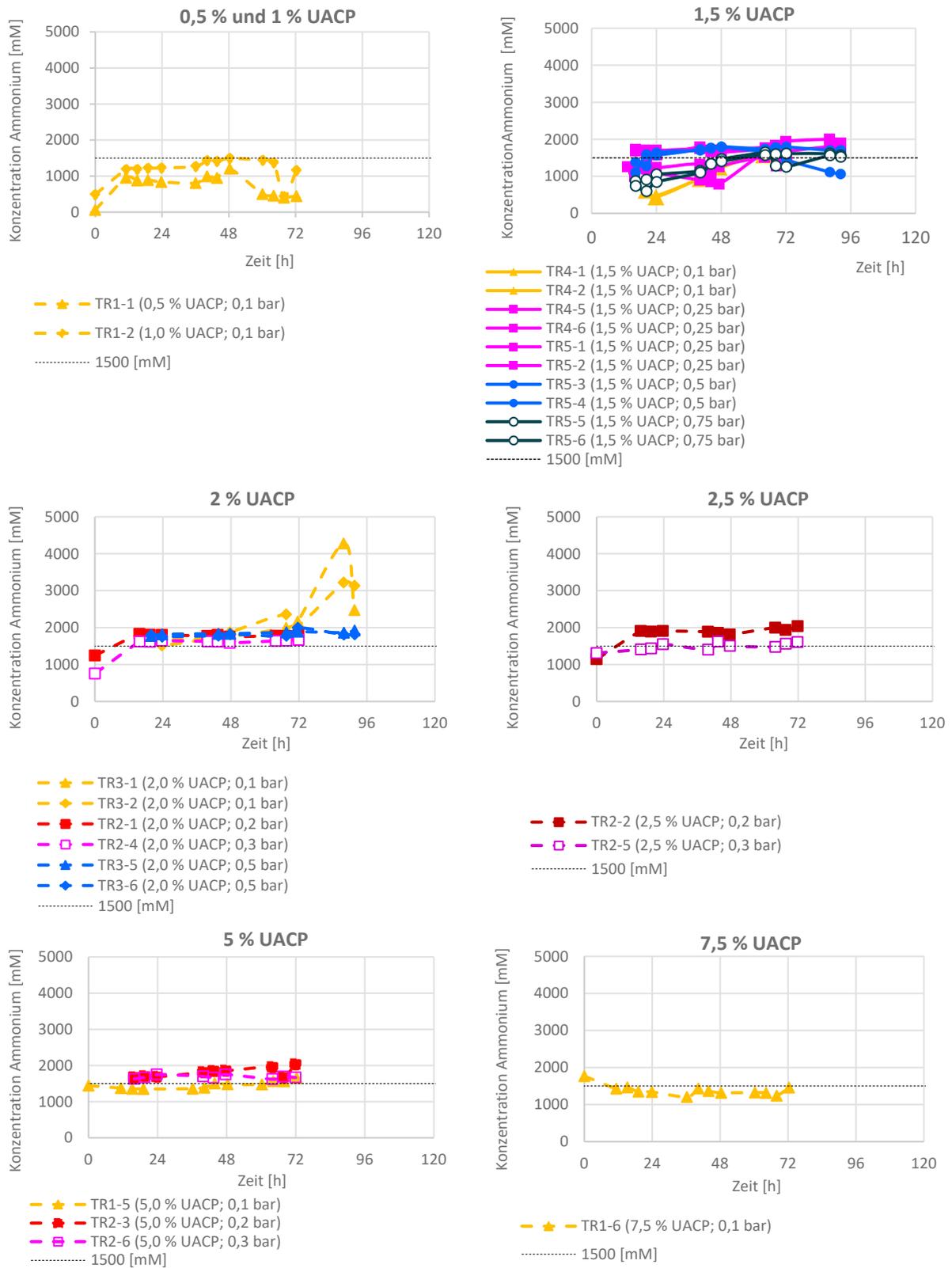


Abbildung 45

Veränderung der Harnstoff-Konzentrationen in der Abflusslösung während der Zementierung, Quelle: IMB

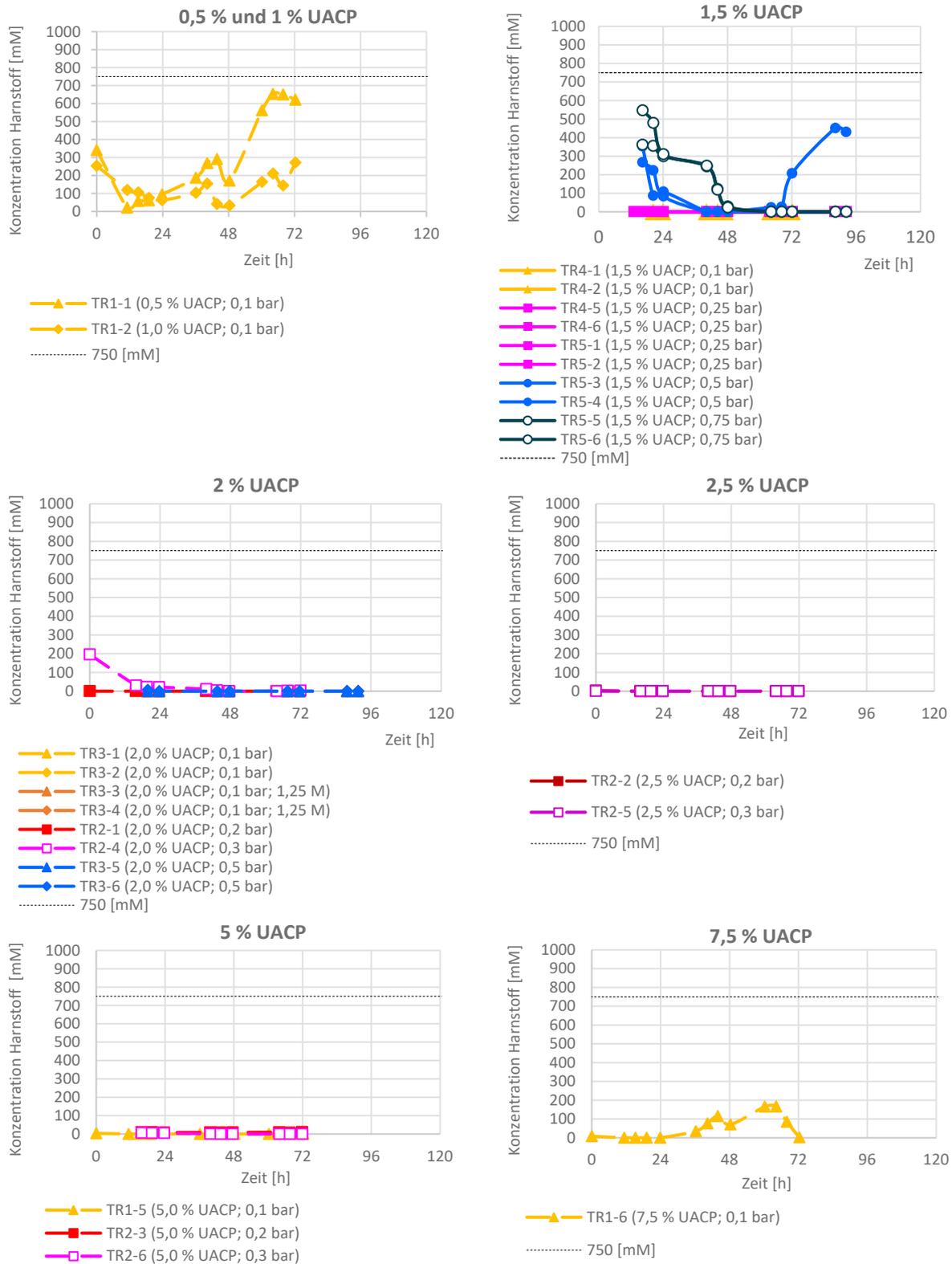
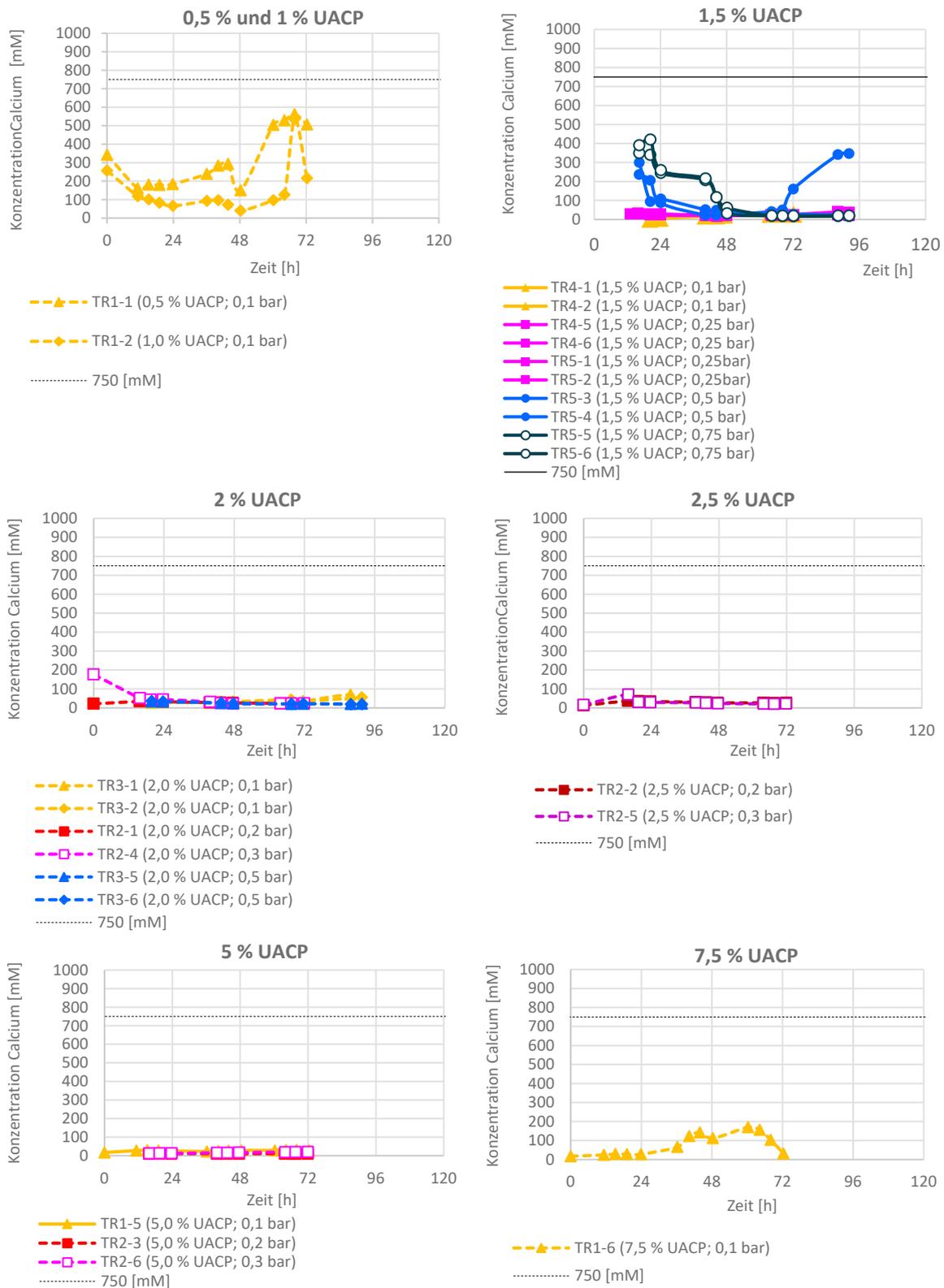


Abbildung 46
Veränderung der Calcium-Konzentrationen in der Abflusslösung während der Zementierung, Quelle: IMB



Aus den durchgeführten Testreihen konnten die folgenden Erkenntnisse gewonnen werden:

- eine Druckerhöhung führte zu einer tieferen Zementierung von Proben mit ansonsten gleicher Zusammensetzung (s. Abbildung 41)
- ein zu hoher Druck beeinträchtigte den Zementierungsverlauf (Abbildung 42, 1,5 % UACP; schnellere Gewichtszunahme bei 0,5 bar gegenüber 0,75 bar) und führte zu einer inhomogenen Zementierung (Abbildung 38, TR5-3 und TR5-6)
- ein zu hoher Massenanteil des UACP (7,5 %) beeinträchtigte die Festigkeit der biomineralisierten Proben (Abbildung 37)
- eine Erhöhung des Massenanteils des UACP von 1 % auf 1,5 % führte zu einer Reduktion der Zementierungstiefe von 135 mm (volle Schalungshöhe) auf ca. 20 mm. Um die volle Schalungshöhe mit einem Massenanteil des UACP von 1,5 % zu zementieren, war eine Druckerhöhung von 0,1 auf 0,5 bar erforderlich
- bei allen Zylindern, die nicht auf der vollen Höhe zementiert waren, wurden Harnstoff und Ca-Ionen nahezu komplett verbraucht (Abbildung 45, und Abbildung 46)
- eine Konzentrationserhöhung der Zementierungslösung resultierte in einer leichten Erhöhung der Zementierungstiefe (Abbildung 41)
- mit den Parametern in Tabelle 7 konnten Probekörper mit Druckfestigkeiten über 46,5 MPa und der maximal mögliche Tiefe von 135 mm homogen zementiert werden

Tabelle 7
Identifizierte Einflussparameter bei der Perkolatation

	TR1-2	TR5-3
Massenanteil des UACP	1 %	1,5 %
Urease-Aktivität des UACP	0,31 U/mg UACP	0,54 U/mg UACP
Konzentration der Zementierungslösung	0,75 M Harnstoff 0,75 M CaCl ₂	0,75 M Harnstoff 0,75 M CaCl ₂
Zufuhr-Druck	0,1 bar	0,5 bar
Druckfestigkeit im unteren Teil	46,7 MPa	46,5 MPa
Druckfestigkeit im oberen Teil	51,4 MPa	57,2 MPa

Weiterentwicklung des Zufuhr-Systems

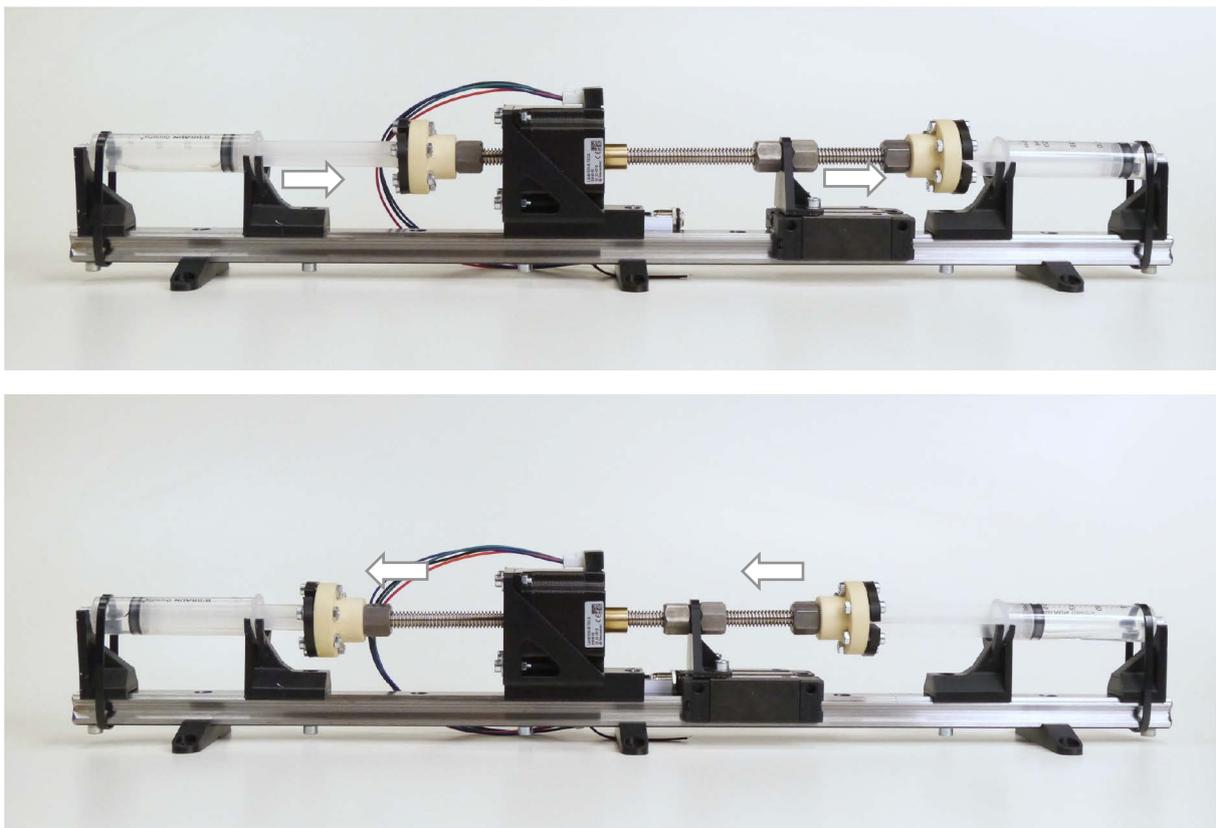
Der Vorteil des Druckluftsystems ist seine Flexibilität, da die Anzahl der gleichzeitig angeschlossenen Schalungen sowie deren durchströmte Querschnittsfläche variiert werden können, solange alle Schalungen die gleiche Füllhöhe haben. Dabei wird in allen Querschnitten die gleiche Strömungsgeschwindigkeit generiert. Bei einem Pumpensystem bedarf es dafür hingegen für jede unterschiedlich große Schalung abgetrennte Kreisläufe mit verschiedenen Durchflussraten.

Die Steuerung eines Druckluftsystems ist sehr komplex, da der Druck schwankt und immer wieder angepasst werden muss. Bei größeren Anlagen kann wegen der zeitlichen Verzögerung solcher Anpassungen eine präzise Regelung erschwert werden. Außerdem ist es notwendig, die maximale Durchflussrate während der Zementierung durch die Druckregelung zu begrenzen, da es ansonsten zu einem unerwünschten Transport von Bakterien und von frisch gebildetem, amorphem Calciumcarbonat kommen kann und negative Auswirkungen auf die Zementierung haben kann (TR5 Proben 3 - 4 vs. Proben 5 - 6).

Da ein Pumpensystem eine präzise Regelung der Durchflussraten erlaubt, erscheint es besser für die industrielle Bauteilfertigung geeignet zu sein. Am effektivsten kann das Pumpensystem bei der Herstellung großer Mengen identischer Bauteile eingesetzt werden.

Basierend auf den aus dem Druckluftsystem gewonnenen Erkenntnissen wurde daher ein Kolbenpumpensystem entwickelt und prototypisch aufgebaut (Abbildung 47).

Abbildung 47
Prototypisches Kolbenpumpensystem



Quelle: ILEK

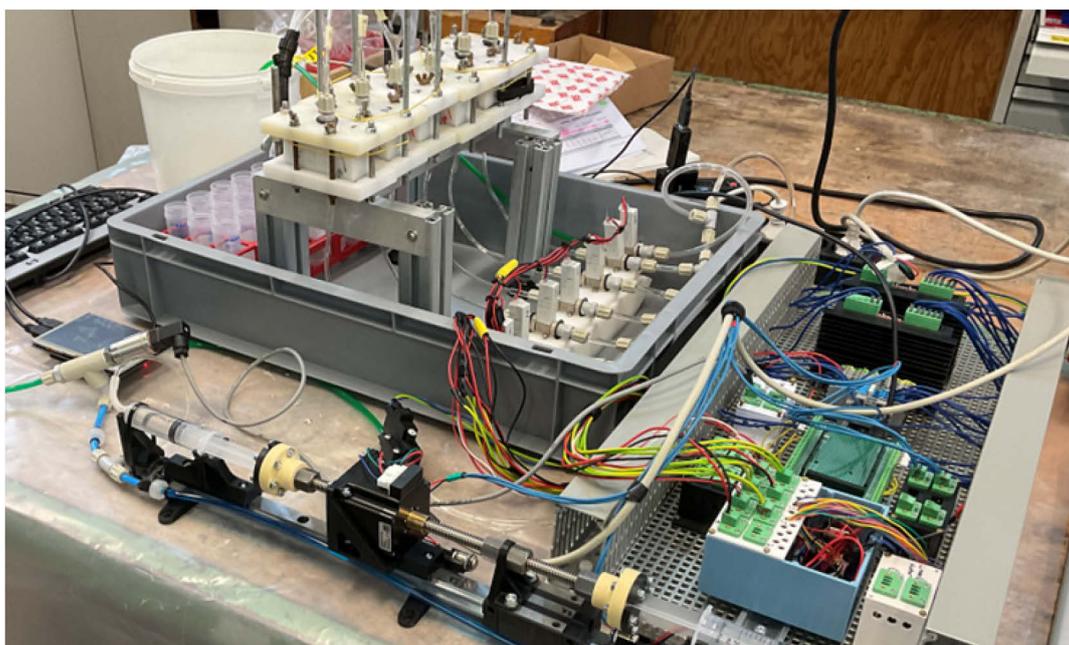
Das Konzept des Pumpensystems besteht aus einem Schrittmotor mit Hohlwellenrotor, in welchem eine Gewindespindel läuft. Die Spindel ist über Führungswagen an einer Linearführung befestigt und gegen Verdrehen gesichert. Somit wird die rotatorische Bewegung des Schrittmotors in eine Linearbewegung der Spindel überführt. Am Ende der Spindel ist ein Stempel angebracht, welcher in einem abgedichteten Hohlzylinder läuft, in welchem sich die zu fördernde Zementierungslösung befindet. Durch die positionsgenaue Ansteuerung des Schrittmotors und einer Umrechnung mit der Zylinderquerschnittsfläche kann ein zu förderndes Volumen eingestellt werden, welches über die Auslassstutzen am Ende des Zylinders in das System gegeben wird. Entsprechend der eingestellten Geschwindigkeit des Motors ergibt sich das Zeitintervall, in welchem das Volumen gefördert wird und somit ein dedizierter Volumenstrom.

Ähnlich erfolgt anschließend eine Neubefüllung des Zylinders mit Zementierungslösung, indem dieser wie eine Spritze aufgezogen und aus einem Speicher gespeist wird. Basierend auf dieser Analogie und aus Gründen der Modularität wurde für den finalen Aufbau das Konzept angepasst und der Hohlzylinder direkt durch zwei gegenläufig arbeitende Spritzen ersetzt. Somit kann die Produktivität gesteigert werden, da während dem Leeren einer Spritze die Andere erneut befüllt wird. Dies ermöglicht die unterbrechungsfreie Förderung eines beliebigen Volumens unabhängig vom Fassungsvermögen der Spritzen.

Zur Zementierung einer Probe wird Zementierungslösung durch das System gepumpt, wobei die zu fördernde Menge vom Porenvolumen der Probe abhängt. Das Porenvolumen der Probe reduziert sich mit fortschreitendem Zementierungsprozess, wodurch das Durchpumpen der Lösung erschwert wird und stetig höhere Drücke notwendig werden. Da das Pumpensystem bzw. der Schrittmotor jedoch positionsgenau angesteuert wird, resultiert dies ausschließlich in einem höheren aufzubringenden Drehmoment und verändert nicht den ausgebrachten Volumenstrom, welcher entscheidend für die erfolgreiche Zementierung der Probe ist. Somit ergibt sich ein deutlicher Vorteil gegenüber dem druckbasierten Herstellungssystem.

Mit dem entwickelten Pumpensystem wurden bereits die ersten Zementierungsversuche durchgeführt (Abbildung 48). Die Festigkeit der hergestellten Probekörper war allerdings sehr gering, wobei es vermutlich nicht an dem Zufuhrsystem, sondern an der Qualität des dabei verwendeten UACP lag. Aus zeitlichen Gründen konnten keine weiteren Versuche mit dem Pumpensystem in diesem Projekt durchgeführt werden.

Abbildung 48
Zementierungsvorrichtung mit einer Kolbenpumpe

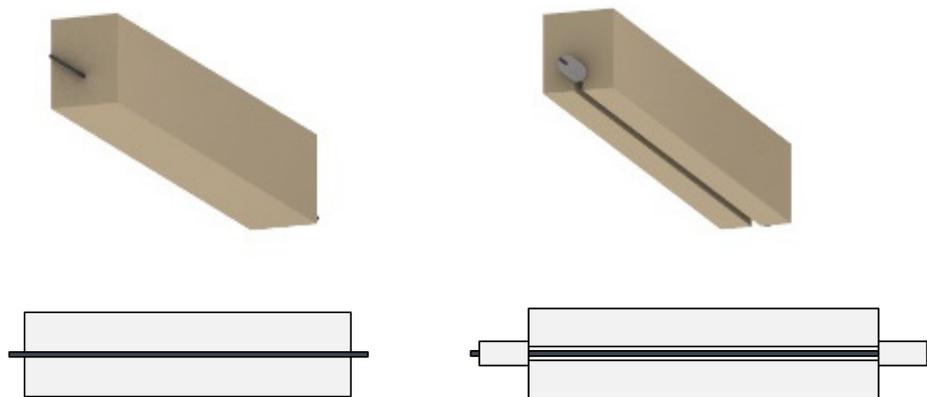


Quelle: ILEK

5. Bewehrung von Biobeton

Die gegenwärtige Nutzung von Calciumchlorid als Calcium-Quelle und die Bildung von Ammonium als Reaktionsnebenprodukt erschweren den Einsatz von Stahlbewehrungen im Biobeton wegen der zu erwartenden Korrosionsschäden. Als Alternative zum Stahl werden korrosionsbeständige mineralische Basaltfaserbewehrungen betrachtet [64]. Basaltfaserbewehrungen weisen außerdem eine höhere Zugfestigkeit als Stahlbewehrungen auf [65], welche die Verwendung dünnerer Querschnitte ermöglicht. Um die Steifigkeit der Basaltfaserstäbe zu gewährleisten, werden sie bei der Einbringung ins Bauteil vorgespannt. Die vorgespannten Stäbe können sowohl mit als auch ohne Verbund eingebaut werden (Abbildung 49). Im zweiten Fall sind zusätzliche Baumaßnahmen wie Vandalismus- und Brandschutz notwendig. Die Variante ohne Verbund ermöglicht die vollständige Trennung des Biobetons und der Bewehrung nach dem Rückbau, was einen erhöhten planerischen und bautechnischen Aufwand rechtfertigen könnte.

Abbildung 49
Einbringung von Basaltfaserstäben mit und ohne Verbund

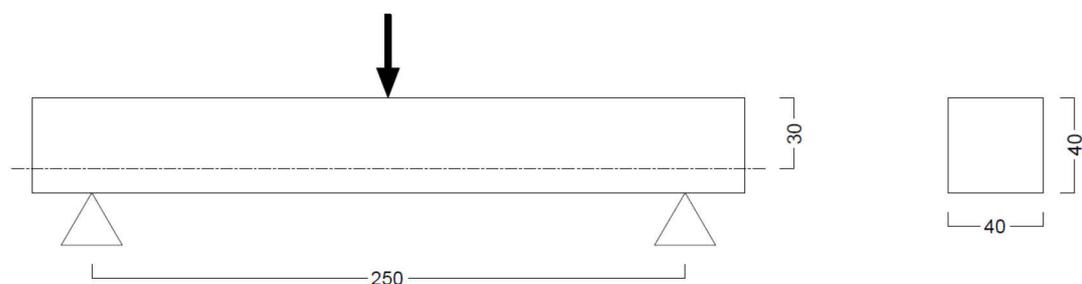


Quelle: ILEK

Biozementierungsversuche mit Stabbewehrung aus Basaltfasern

Da die Variante mit Verbund dem konventionellen Bewehrungseinbau näher steht und keine speziell entwickelte, dauerhaft eingebaute Spanntechnik benötigt, wurde sie im aktuellen Projekt als erster Schritt beim Thema Bewehrung im Biobeton untersucht. Es war geplant einen 3-Punkt Biegeversuch an bewehrten Balken mit 40 mm Höhe, 40 mm Breite und 280 mm Länge durchzuführen (Abbildung 50). Als Bewehrung wurden Basaltfaserstäbe der Firma C-CON mit einem Durchmesser von 2 mm und einer Feinheit von 1.800 tex verwendet. Die Vorspannung wurde aufgebracht, um eine maximale Auslastung von Biobeton und Bewehrung zu erreichen und um Verformungen zu minimieren.

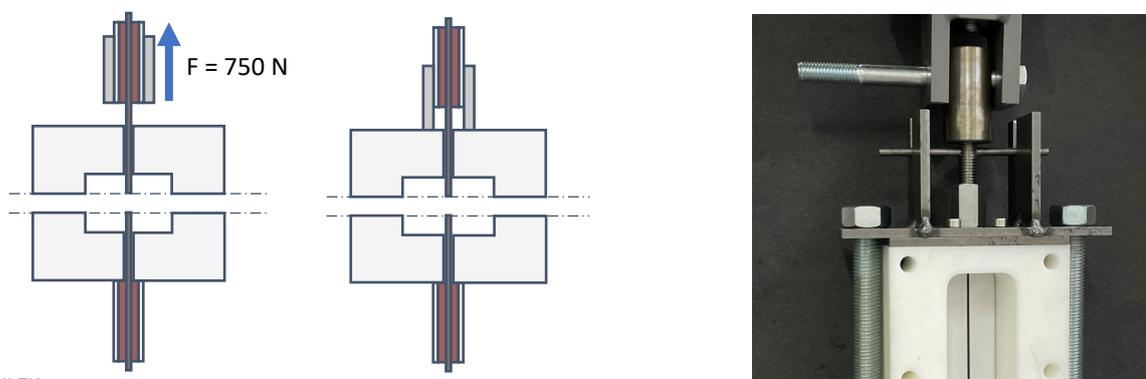
Abbildung 50
Geplanter 3-Punkt-Biegeversuch, schematische Darstellung



Quelle: ILEK

Für die Herstellung der Balken wurde eine Schalung mit Durchführungsöffnungen für die Basaltfaserstäbe gefertigt. Diese Schalung ermöglicht sowohl die Vorspannung der Basaltfaserstäbe über deren Enden, die über die Schalung hinausstehen, als auch ein Abdichten der Schalung für die Zementierung. Die Oberfläche der Stäbe wurde mit Schleifpapier (Körnung 240) aufgeraut und die Stäbe wurden anschließend über die Durchführungsöffnungen in die Schalung eingelegt. Die überstehenden Stabenden wurden in Gewindehülsen eingeklebt. Nach dem vollständigen Aushärten der Klebung wurde die Schalung stehend auf dem Prüftisch einer Universalprüfmaschine (Zwick 1474) befestigt und die nach oben weisende Gewindehülse wurde mit der Zugvorrichtung der Prüfmaschine verbunden. Die Stabbewehrung wurde in der Schalung mit 750 N vorgespannt, dies entspricht ungefähr 60 % der maximalen Bruchspannung von 1.300 N. Abschließend wurde die Vorspannung über eine Kontermutter auf die Schalung übertragen und die Schalung mit der vorgespannten Stabbewehrung wurde aus der Prüfmaschine entnommen (Abbildung 51).

Abbildung 51
Vorspannung von Basaltfaserbewehrung



Quelle: ILEK

Die Abbildung 52 zeigt die Herstellung von Balken aus Biobeton mit vorgespannter Basaltfaserbewehrung.

Die Schalungen mit vorgespannter Bewehrung wurden mit der Mischung 1 (s. Kapitel 3) mit einem UACP-Anteil von 1,5 % (w/w) befüllt. Die Befüllung erfolgte schichtweise mit einer Verdichtung der Sandmischung nach jeder Schicht von ca. 10 mm, wobei die Schichten erst von Hand verdichtet wurden und anschließend auf einem Rütteltisch mit einem 10 kg Gewicht beschwert und durch Vibration verdichtet wurden.

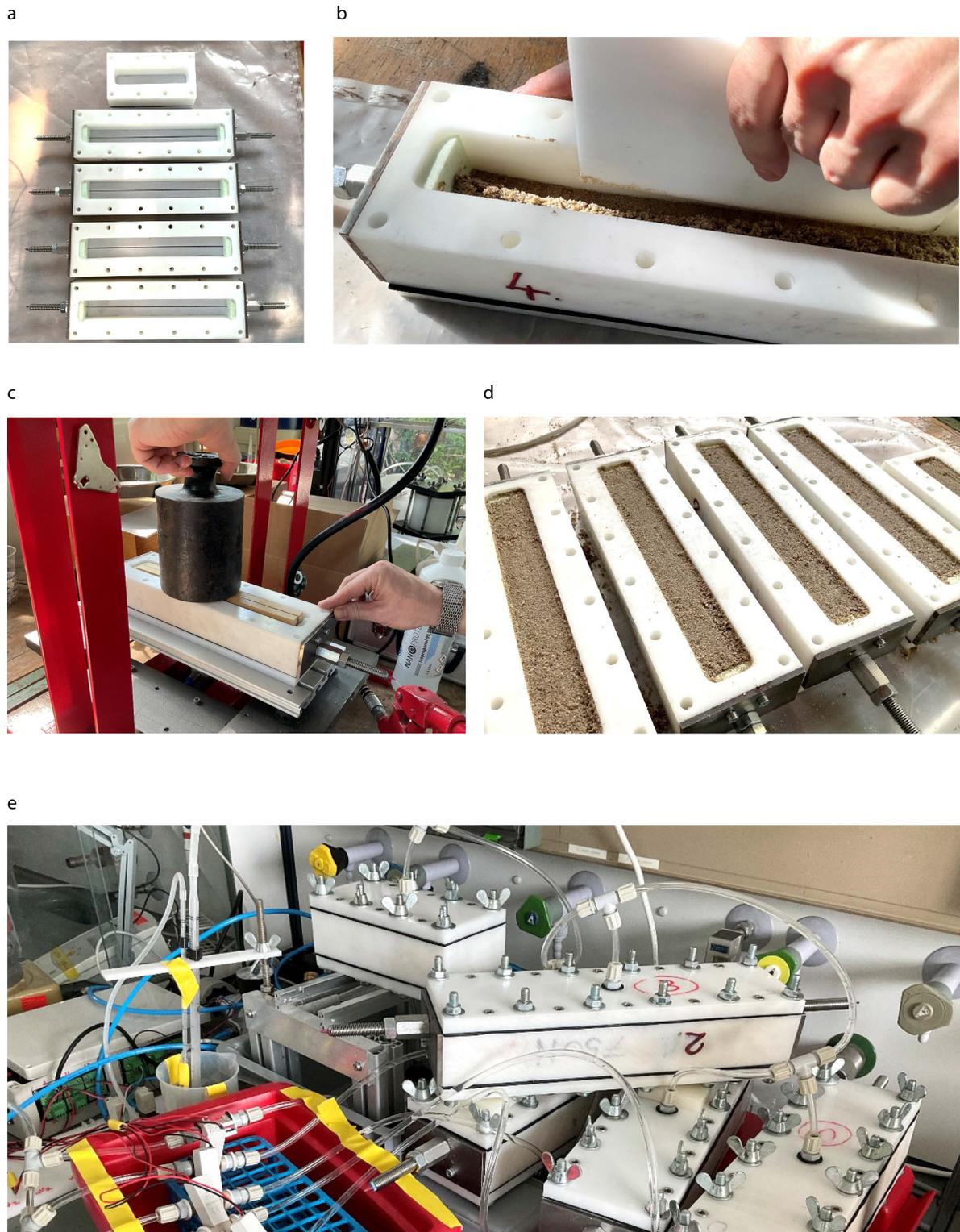
Die befüllten Schalungen wurden durch Perkolation unter Druck (s. Kapitel 4.2) bei 0,1 bar Überdruck und einer Konzentration von Harnstoff und CaCl_2 von jeweils 0,75 M in 22 vierstündigen Zyklen zementiert. Im Anschluss wurden die zementierten Balken in der Schalung bei 60 °C getrocknet.

Um die bewehrten Balken aus der Schalung entnehmen zu können, wurde die Bewehrung in einem freigelegten Bereich zwischen Schalung und Balken durchtrennt. Unmittelbar nach dem Durchtrennen zog sich der Bewehrungsstab jedoch mehrere Millimeter in den Biobeton zurück, wodurch die Vorspannung verloren wurde (Abbildung 53). Dieses Verhalten konnte bei allen vier hergestellten Balken beobachtet werden. Ein für den Anschluss geplanter Dreipunktbiegeversuch konnte daher nicht mehr durchgeführt werden.

Die Verkürzung der vorgespannten Faser zeigte, dass der Verbund zwischen der verwendeten Basaltfaserbewehrung und dem Biobeton, trotz Aufrauens des Stabes, nicht stark genug war, um die Vorspannung aufzunehmen. Dementsprechend konnten keine 3-Punktbiegeversuche mit kleinmaßstäblichen bewehrten Balken durchgeführt werden. Bei größeren Balken und Bewehrungsstäben mit größerem Durchmesser könnte dieses Problem, wie bei Basaltfaser- und Stahlbewehrung bereits üblich, durch die Ausformung einer Rippung zur besseren Kräfteinleitung entlang des Bewehrungsstabes gelöst werden. Hierzu wäre ein weitere Versuche mit größer dimensionierten Biobetonbalken in den Folgeprojekten notwendig.

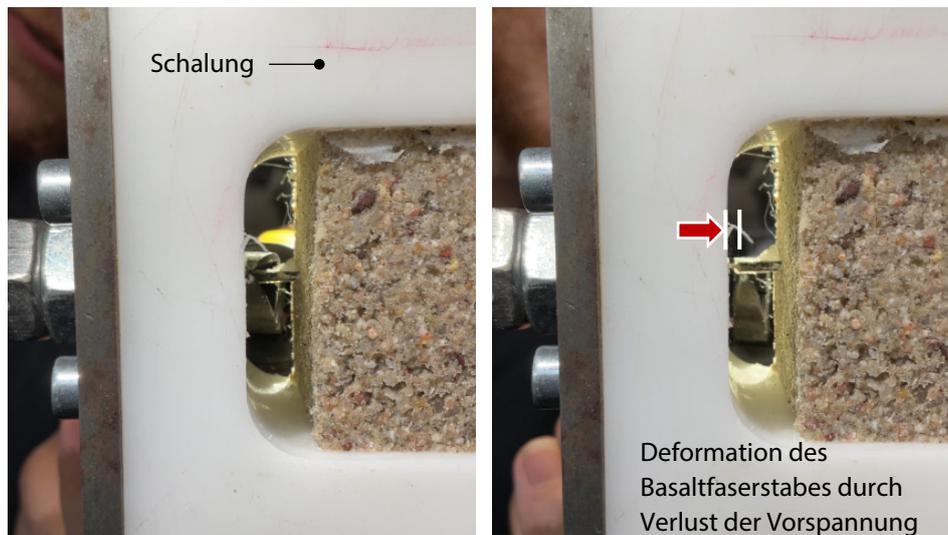
Abbildung 52

Herstellung von Balken aus Biobeton mit vorgespannter Basaltfaserbewehrung
Schalungen mit vorgespannter Bewehrung (a), Befüllen der Schalungen mit UACP-Sand-Mischung (Mischung 1) (b), Verdichtung (c),
befüllte Schalungen (d), Zementierung (e)



Quelle: ILEK

Abbildung 53
Lösen der Vorspannung des Basaltfaserstabes



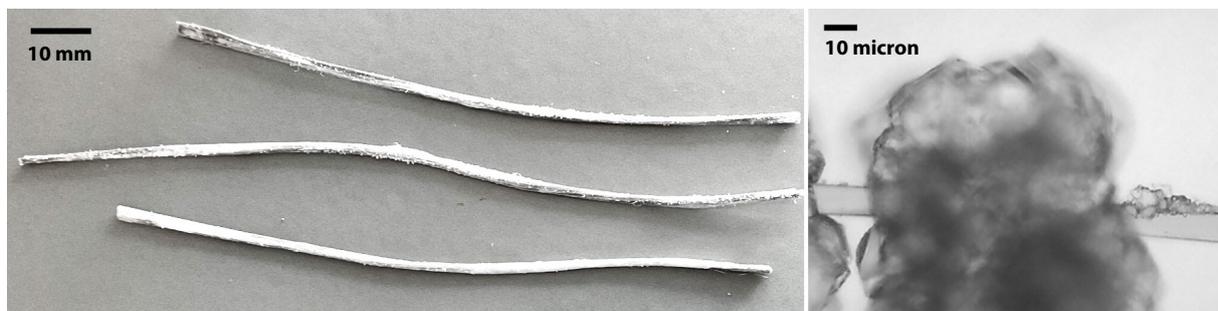
Quelle: ILEK

Herstellung von Stabbewehrung aus losen Basaltfaserrovings durch Biomineralisierung

Stabbewehrung aus Basaltfasern besteht zu einem großen Teil aus mineralischem Basalt, jedoch wird auch stets ein Matrixmaterial benötigt, das die Einzelfasern verbindet. Dieses Matrixmaterial besteht bei Basaltfaserbewehrung aus Kunstharz, einem organischen Bestandteil, der das Recycling der Bewehrung erschwert. In diesem Projekt wurde daher auch untersucht, ob Biomineralisierung durch MICP zur Bildung einer verbindenden Matrix für die Einzelfasern genutzt werden kann (Abbildung 54).

Für die durchgeführten Versuche wurde wiederum ein Faserstrang der Firma C-CON mit einer Feinheit von 1.800 tex verwendet. In ersten Vorversuchen wurden der Faserstrang mit einer Bakteriensuspension getränkt und anschließend in ein Bad aus Zementierungslösung gelegt. Die derart zementierten Faserstränge waren zwar sichtbar mit einer Kristallschicht überzogen, konnten aber sehr leicht geknickt werden. Zur Stabilisierung der Kristalle und zur besseren Fixierung der Bakterien wurde die Bakteriensuspension mit dem Biopolymer Alginate versetzt und die Fasern wurden vor der Beschichtung aufgefächert und anschließend wieder zu einem Strang zusammengeführt. Die zementierten Faserstäbe, die sowohl aufgefächert als auch die mit der Bakterien-Alginat-Suspension beschichtet wurden, wiesen eine merklich erhöhte Stabilität auf.

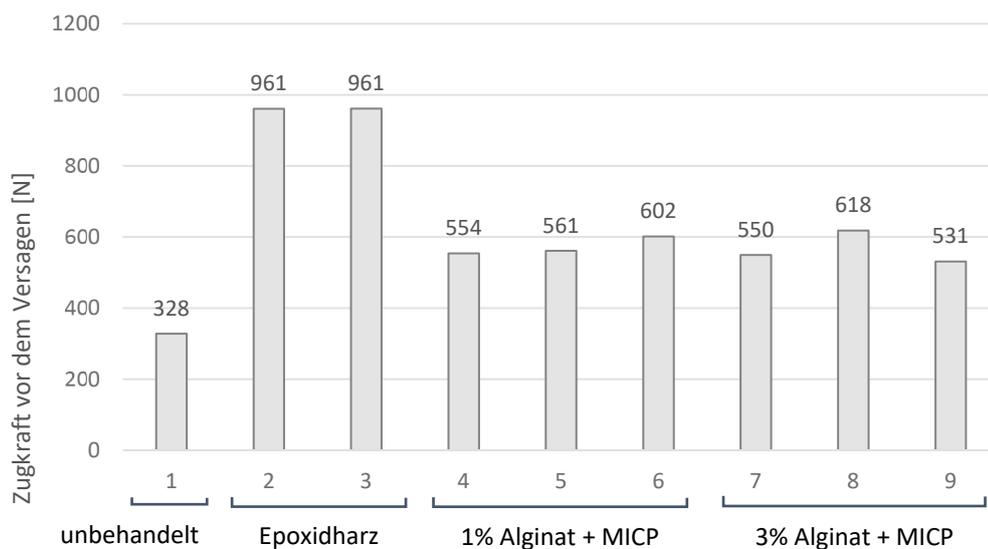
Abbildung 54
Biomineralisierte Basaltfaserstäbe
links: ganze Stäbe, rechts: Einzelfaser im Lichtmikroskop



Quelle: ILEK

Die auf diese Weise hergestellten Stäbe wurden in einem Auszugversuch mit Stäben mit Kunstharzmatrix und einem Faserstrang ohne Matrix verglichen (Abbildung 55). Hierzu wurden die Stäbe und der Faserstrang an beiden Enden in Betonzylinder eingegossen. Anschließend wurde mit einer Universalprüfmaschine (Alluris FMT-220 mit FMI-550) die benötigte Kraft bestimmt, um die Stäbe bzw. den Faserstrang aus der Betonverankerung zu ziehen oder einen Bruch auf der freien Stablänge herbeizuführen. Der Faserstrang ohne Matrix versagte bei einer Kraft von 328 N, die biozementierten Stäbe bei durchschnittlich 569 N und die Stäbe mit Kunstharzmatrix bei durchschnittlich 961 N. Dieser grundlegende Versuch zeigt, dass die Biozementierung den Verbund der Einzelfasern positiv beeinflusst, aber noch nicht die Verbundstärke einer Kunstharzmatrix erreicht.

Abbildung 55
 Auszugversuch mit Basaltfaserstäben
 (ohne Matrix (1), Kunstharzmatrix (2, 3) biomineralisiert (4-9))



Quelle: ILEK

6. Langfristige Aufbewahrung des UACP

Die enzymatischen Aktivitäten von Bakterien-Proteinen oder -Zellpräparationen verändern sich (in der Regel nehmen diese ab) in Abhängigkeit der Lagerungstemperatur und Lagerungsdauer. Bei dem UACP handelt es sich um eine gefriergetrocknete Präparation der *S. pasteurii* Zellen. Eine gängige Methode in der biologischen Forschung, um solchen Aktivitätsverluste zu minimieren, stellt die Lagerung der Proben bei -20 °C dar. In manchen Fällen (insbesondere im zellbiologischen Umfeld) ist es erforderlich die biologischen Proben sogar bei ≤ -70 °C aufzubewahren.

In der bisherigen Praxis wurde das UACP nach der Herstellung portioniert, luftdicht verpackt und bei -20 °C aufbewahrt. Die Lagerung bei niedrigen Temperaturen stellt für kleinere Mengen von UACP kein Problem dar, kann aber die Handhabung von großen Mengen, wie sie für praxisnahe Probekörper, für Produktionsverfahren im Demonstrationsmaßstab oder für den Einsatz in additiven Zementierungsverfahren gebraucht werden, deutlich erschweren. Daher wurden im Rahmen der durchgeführten Arbeiten die Einflüsse unterschiedlicher Lagerungstemperaturen und Lagerungsarten auf die Urease-Aktivität und die Morphologie des UACP über einen Zeitraum von mehreren Monaten untersucht. Hierbei wurden die gelagerten UACP-Proben wiederholt für Zementierungsversuche eingesetzt, um zu untersuchen, wie sich die Veränderungen der Urease-Aktivität im Verlauf der Lagerung auf die resultierende Druckfestigkeit der Probekörper auswirkt.

Für die Untersuchungen, wie die Aufbewahrungstemperatur und die Aufbewahrungsart die Urease-Aktivität von UACP beeinflussen, wurde das UACP wie in Teil 2.1 beschrieben hergestellt. Nach der Gefriertrocknung wurden ein Teil des Pulvers portioniert, vakuumverpackt und bei Raumtemperatur, bei 4 °C oder bei -20 °C aufbewahrt. Diese Proben wurden zusätzlich in zwei Kategorien unterteilt. Hierbei wurde ein Teil der eingeschweißten Proben nur einmal an dem jeweiligen Untersuchungszeitpunkt geöffnet und untersucht. Ein anderer Teil wurde zu jedem einzelnen Messzeitpunkt des Untersuchungszeitraumes geöffnet, beprobt, erneut verschlossen und für die nächste Messung wiederverwendet. Das mehrfache Öffnen der UACP-Proben sollte hierbei die typischen Lagerbedingungen von Bulkchemikalien simulieren.

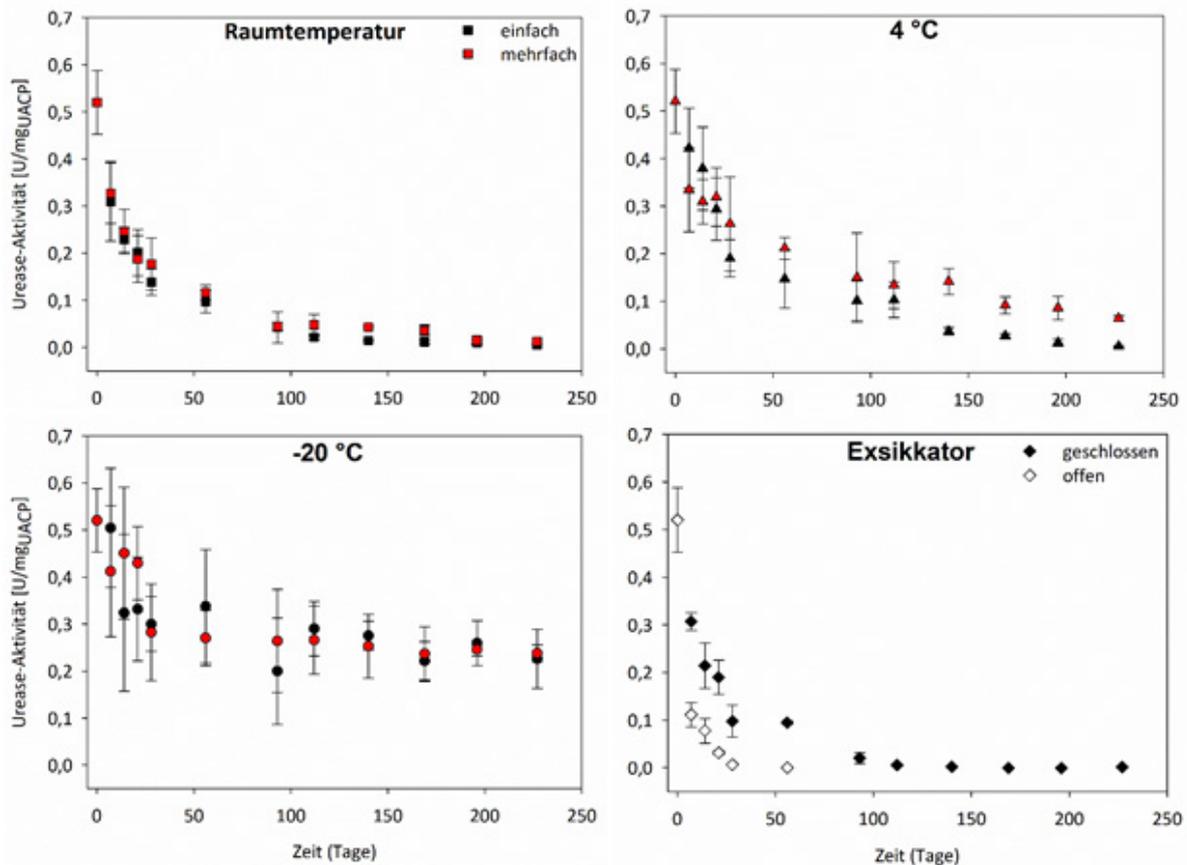
Ein weiterer Teil des Pulvers wurde verwendet, um die Auswirkung der Luftfeuchtigkeit auf die Urease-Aktivität von UACP zu untersuchen. Hierfür wurde das Pulvers in zwei Aufbewahrungsgefäße für Laborchemikalien überführt. Ein Gefäß mit UACP wurde verschlossen (Kontrolle) und das zweite unverschlossen stehen gelassen. Beide Gefäße wurden in einen geschlossenen Exsikkator platziert, in welchem die Luftfeuchtigkeit mit Hilfe einer gesättigten NaCl-Lösung bei 75 % eingestellt wurde [66]. Die Aufbewahrung in dem Exsikkator erfolgte bei Raumtemperatur.

Nach unterschiedlichen Lagerungszeiten wurden die Urease-Aktivitäten aller Proben untersucht. Die Aufbewahrung der Proben bei Raumtemperatur und 4 °C zeigte einen starken Einfluss auf die Aktivität des UACP. Bei der Lagerung der Proben bei Raumtemperatur für 28 Tage sank diese auf unter 30 % der Ausgangsaktivität und auf etwa 40 % bei Aufbewahrung bei 4 °C. Nach 93 Tagen konnten in beiden Fällen nur noch geringe Restaktivitäten nachgewiesen werden. Bei der Lagerung der UACP-Proben bei -20 °C nahm die Urease-Aktivität innerhalb von 21 Tagen zunächst ab und blieb über die restliche Versuchsdauer annähernd konstant bei etwa der Hälfte der anfänglichen Urease-Aktivität. Die Aufbewahrung von UACP in dem offenen Gefäß in dem Exsikkator führte zu einer rapiden Abnahme der Urease-Aktivität innerhalb von 21 Tagen. Die Veränderung der Aktivität des UACP in dem geschlossenen Gefäß im Exsikkator zeigte einen ähnlichen Verlauf zu der Probe, welche luftdicht bei Raumtemperatur gelagert wurde (Abbildung 56).

Auf Grundlage der Ergebnisse können Empfehlung für die Aufbewahrung von UACP abgeleitet werden. Eine Lagerung von UACP bei Raumtemperatur und 4 °C erscheint nur für kurze Zeiträume von bis zu 14 Tagen sinnvoll. Dabei sollten die Proben allerdings luftdicht verpackt sein. Wie die Versuche zur offenen Lagerung im Exsikkator zeigen, bewirkt die ständige Exposition von UACP in einer feuchten Atmosphäre eine rapide Abnahme der Urease-Aktivität. Eine Aufbewahrung von länger als 28 Tagen ohne starke Aktivitäts-Verluste kann nach dem derzeitigen Kenntnisstand nur bei einer luftdichten Aufbewahrung bei Temperaturen unter -20 °C gewährleistet werden.

Die mehrfach geöffneten und die im Exsikkator offen gelagerten UACP-Proben wurden für die Herstellung von zylindrischen Probekörpern (20 mm x 20 mm) verwendet. Die Zementierung erfolgte durch Perkolat unter Druck (s. Kapitel 4.2) bei 0,1 bar Überdruck und einem Massenanteil von UACP von 1 %. Nach der Zementierung und dem Aushärten der Probekörper wurden diese zunächst einer Druckfestigkeitsprüfung gemäß der Norm DIN EN 1926:2006 unterzogen [41] und anschließend der Carbonatgehalt der Probekörper bestimmt.

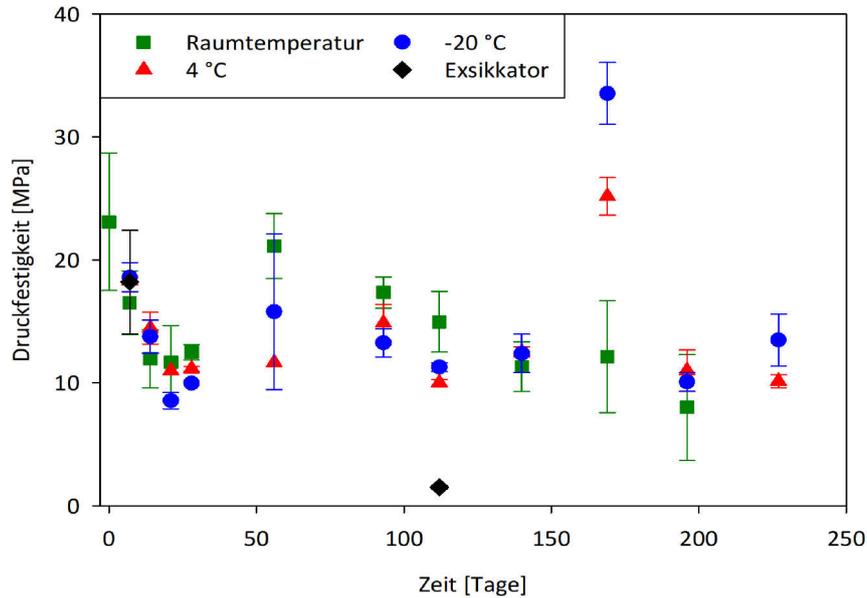
Abbildung 56
Veränderung der Urease-Aktivität von UACP in Abhängigkeit von der Lagerungstemperatur und der Aufbewahrungsart



Quelle: IMB

Abbildung 57

Veränderung der Druckfestigkeit der zementierten Probekörper in Abhängigkeit von der Lagerungstemperatur und der Aufbewahrungsart des UACP



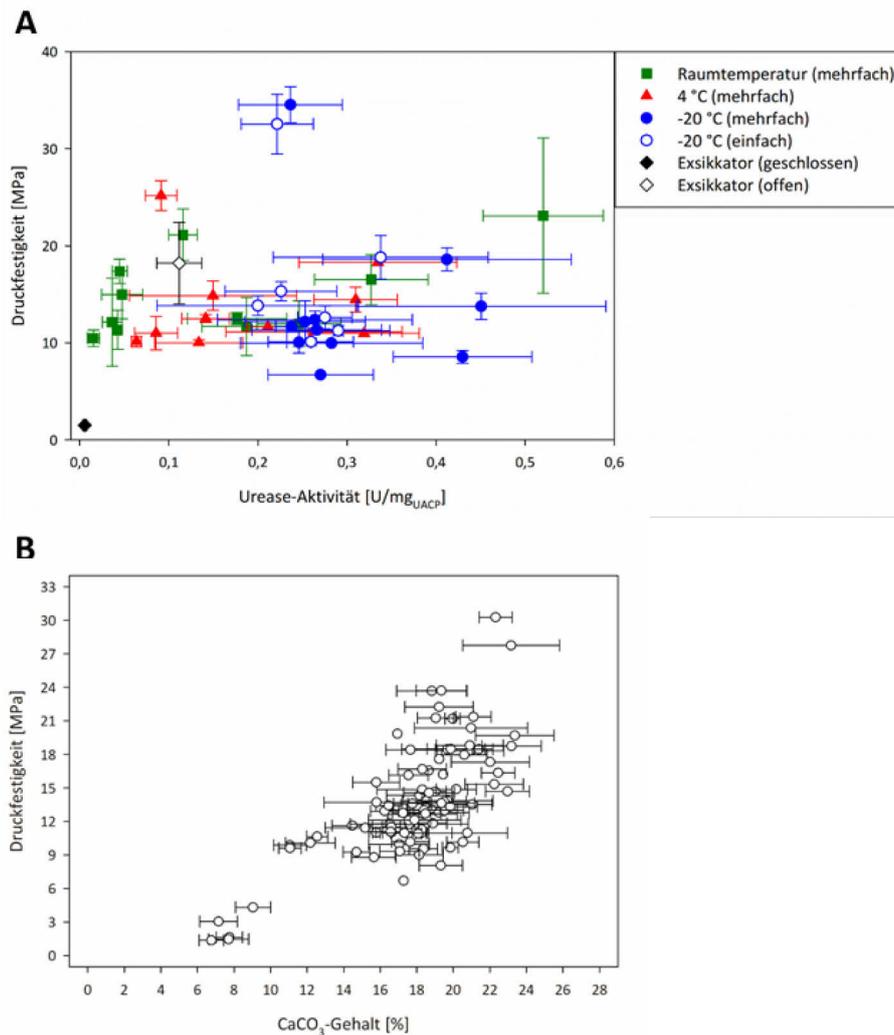
Quelle: IMB

Eine Korrelation zwischen der Urease-Aktivität der UACP-Proben und der resultierenden Druckfestigkeit der Probekörper kann mit den derzeit vorliegenden Daten nicht eindeutig abgeleitet werden. Hierbei fiel auf, dass ähnliche Druckfestigkeitswerte mit UACP-Proben erzielt wurden, welche deutlich unterschiedliche Urease-Aktivitäten aufwiesen (Abbildung 58 A). Der Zusammenhang zwischen dem Calciumcarbonat-Gehalt und der Druckfestigkeit der Probekörper ist von positiver Natur: Höhere Carbonatanteile führten zu höheren Druckfestigkeiten (Abbildung 58 B). Ähnliche Beobachtungen wurden bereits in der Literatur beschrieben [63,67,68].

Abbildung 58

Vergleich der Druckfestigkeit der zementierten Probekörper

Die Probekörper wurden auf die Druckfestigkeit gemäß Norm DIN EN 1926:2006 [41] (A) und den Carbonatanteil (B) untersucht. Die Bestimmung des Carbonatgehaltes erfolgte durch die Quantifizierung von säurevermittelter Freisetzung von Kohlendioxid aus den Probekörper



Quelle: IMB

Die Analyse der gelagerten UACP-Proben mittels qualitativer Röntgendiffraktometrie ergab, dass über den Versuchszeitraum keine signifikanten Veränderungen in der Zusammensetzung der Proben stattfanden. Sowohl luftdicht verpackte als auch im Exsikkator offen (s. oben) gelagerte Proben wiesen zum Ende des Versuches hohe Anteile an Vaterit und Calcit auf, wie dies bereits zu Beginn des Lagerungsversuches der Fall war. Bei der Aufbewahrung von durch bakterielle Aktivitäten präzipitierten Calciumcarbonat-Kristallen (für bis zu zwei Jahre) wurden bereits früher ähnliche Beobachtungen gemacht [37,41].

7. Optimierung der Bakterienanzucht

Es wurde bereits in Teil 2 berichtet, dass praktisch in der gesamten verfügbaren wissenschaftlichen Literatur zur MICP die Urease-aktiven Mikroorganismen in Komplexmedien unter Zugabe von Harnstoff kultiviert wurden. Die verwendeten Komplexmedien bestanden hierbei im Allgemeinen aus Hefeextrakten, Caseinen und/oder Fleischextrakten bzw. partiell verdauten Fleischextrakten (Peptonen, Tryptonen). Dieser Typ von Komplexmedien wird in der Bakteriologie i.A. eingesetzt, wenn die Nährstoffansprüche der kultivierten Mikroorganismen nicht bekannt sind. Mit Hilfe von Komplexmedien können zwar eine Vielzahl an

Mikroorganismen kultiviert werden, die genaue Zusammensetzung dieser Medien ist allerdings nicht definiert (da sie letztlich aus biologischem Material gewonnen werden). Außerdem sind Komplexmedien im Einkauf meist relativ teuer. Bei dem standardmäßig verwendeten Kultivierungsmedium (DSM220x2, Kap. 1.1.1) mit einem Preis von 5,13 €/L (Stand: Oktober 2022) machen die komplexen Bestandteile mehr als 95% der Materialkosten aus.

In der naturwissenschaftlichen Mikrobiologie wird daher vielfach angestrebt, die exakten Nährstoff-Ansprüche der untersuchten Mikroorganismen aufzuklären, um diese anschließend in definierten Minimalmedien zu kultivieren. Diese Vorgehensweise hat einerseits den Vorteil, dass wirklich reproduzierbar mit Medien der exakt gleichen Zusammensetzung gearbeitet werden kann und bietet außerdem die Möglichkeit, die Kosten für die Anzucht der Bakterien zu senken.

Im Rahmen einer Literatur-Recherche wurde nur eine einzige Veröffentlichung gefunden, in der über eine Kultivierung von *S. pasteurii* in einem definierten Minimalmedium berichtet worden war [69]. In dieser Arbeit wurde erwähnt, dass *S. pasteurii* in einem sogenannten Spizizen-Medium kultiviert werden konnte. Dieses Medium enthält neben Glucose als Kohlenstoffquelle praktisch alle bekannten Vitamine und proteinogenen Aminosäuren.

In eigenen experimentellen Untersuchungen konnte zunächst der Befund von Kuhlmann & Bremer [69] bestätigt werden. Anschließend wurde durch systematische Reduktion einzelner Vitamine und Aminosäuren die von *S. pasteurii* benötigten Aminosäuren und Vitamine identifiziert. Hierdurch konnte ein Minimalmedium definiert werden, welches bei Zugabe der Aminosäuren Cystein, Methionin und Leucin sowie der Vitamine Cobalamin, Nicotinsäure, Pantothen säure, Pyridoxin und Thiamin ein Wachstum von *S. pasteurii* mit Glucose und Harnstoff erlaubt. Die gleichen Nährstoff-Ansprüche (allerdings unter Verwendung abweichender Konzentrationen) wurden kürzlich auch von einer anderen Arbeitsgruppe beschrieben (Lapierre et al., 2020 [18]).

In der zuvor aufgeführten Veröffentlichung von Lapierre et al. (2020) wurde die höchste Zellausbeute von *S. pasteurii* erreicht, wenn ein Komplexmedium verwendet wurde, das zusätzlich mit den limitierenden Aminosäuren und Vitaminen supplementiert wurde. Im Rahmen unserer Arbeiten haben wir daher das Wachstum von *S. pasteurii* und die Urease-Bildung beim Wachstum mit einem „konventionellen“ Komplexmedium mit Harnstoff, dem „supplementierten“ Komplexmedium gemäß Lapierre et al. (2020), sowie dem von uns entwickelten definierten Minimalmedium verglichen. Hierbei zeigte sich, dass der Stamm tatsächlich auf dem supplementierten Komplexmedium die höchsten optischen Dichten erreichte und dass (erwartungsgemäß) das Wachstum auf dem definierten Minimalmedium deutlich langsamer verlief. Nach Wachstum auf dem supplementierten Komplexmedium wurden auch die höchsten Urease-Aktivitäten (bezogen auf die Biomasse) erreicht. Es zeigte sich hierbei allerdings, dass die Enzymaktivitäten nach dem Erreichen der stationären Wachstumsphase wieder schnell abnahmen.

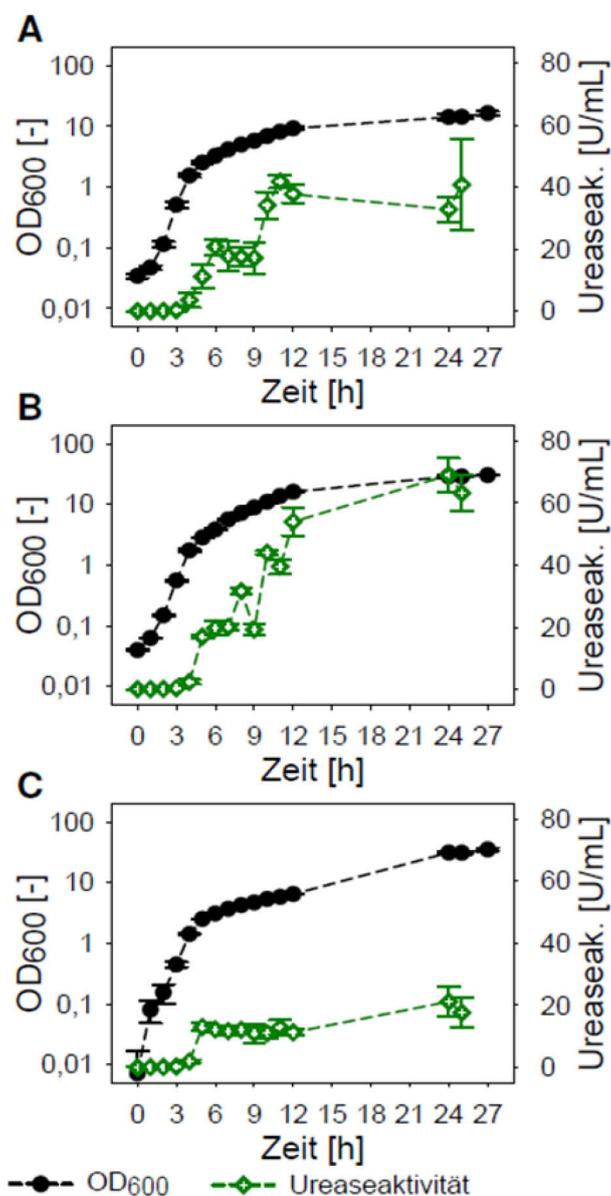
Der Preis des Lapierre-Mediums betrug etwa 2,8 €/L und war somit um ca. 45% geringer als der Preis des standardmäßig verwendeten Mediums (Stand: Oktober 2022). Jedoch verursacht der Hefeextrakt als komplexer Bestandteil weiterhin den größten Anteil an den Materialkosten (ca. 60%). Aus diesem Grund wurden Versuche durchgeführt, um den Hefeextrakt durch eine günstigere Alternative zu ersetzen. Hierzu wurde Geläger herangezogen. Hierbei handelt es sich um einen Reststoff aus der Bierherstellung, welcher einen hohen Anteil an Hefezellen besitzt.

Von der Wichtel Hausbrauerei (Böblingen) wurden 2,5 L Geläger zur Verfügung gestellt. Basierend auf der Arbeit von Tanguler & Erten (2008; [70]) wurde mittels Autolyse aus dem Geläger eine Hefeextraktlösung hergestellt. Bei der selbst hergestellten Hefeextraktlösung als auch bei einer Lösung mit 20 g/L käuflich erworbenem Hefeextrakt (Konzentration im „Lapierre-Medium“) wurde die Konzentration an primären α -Aminosäuren und gelöstem Ammonium gemessen. Hierdurch wurde versucht, eine gleiche Menge an Aminosäuren in den Kultivierungsmedien zu erzielen und somit eine Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Medien zu gewährleisten. Mit dem standardmäßig verwendeten Medium, dem „Lapierre-Medium“ und dem „Lapierre-Medium“, dessen 20 g/L Hefeextrakt durch die selbst hergestellte Hefeextraktlösung ersetzt wurde, wurden dann Wachstumsversuche durchgeführt (Abbildung 59).

Das anfangs geringere Wachstum von *S. pasteurii* im Lapierre-Medium mit selbst hergestellter Hefeextraktlösung hängt vermutlich mit antimikrobiellen Verbindungen aus dem Hopfen zusammen. Von diesen Verbindungen wie Phenole und Phenone ist eine wachstumshemmende Wirkung auf grampositive Bakterien wie *Bacillus subtilis* oder *Bacillus cereus* bekannt (Schmalreck et al. 1975 [71], Gutiérrez-Larraínzar et al. 2012 [72], Cetin-Karaca et al. 2015 [73], Pérez-Bibbins et al. 2015 [74]). Diese sind wahrscheinlich über den Brauprozess in das Geläger gelangt und konnten nicht ausreichend durch die durchgeführten Waschschriffe entfernt werden. Jedoch wurden im Lapierre-Medium und dem modifizierten Lapierre-Medium zum Ende der Kultivierung ähnliche Zelldichten gemessen, die ungefähr doppelt so hoch wie im standardmäßig verwendeten Medium waren. Ein Grund hierfür könnte eine Nährstofflimitation in dem Standardmedium sein. Die höhere Ureaseaktivität im Lapierre-Medium könnte mit dem besseren Wachstum der Bakterien in diesem Medium zusammenhängen. Jedoch wäre dann bei der Verwendung des modifizierten Lapierre-Mediums zum Ende der Kultivierung eine ähnliche Ureaseaktivität zu erwarten gewesen, da hier eine ähnliche Zelldichte erreicht wurde. Eine Möglichkeit für die Aktivitäts-Abnahme wäre der durch den Harnstoffabbau angestiegene pH-Wert während der Kultivierung. Es wurde bereits beobachtet, dass es bei einer künstlichen, abrupten Erhöhung des pH-Werts während der Kultivierung von *S. pasteurii* zu einer Stagnation der Ureaseaktivität kam (Whiffin, 2004 [9]). Da das Wachstum im modifizierten Lapierre-Medium verzögert und damit bei höheren pH-Werten stattfand, könnte dies zu einer Inhibierung der Ureasesynthese geführt haben.

Abbildung 59

Untersuchung des Wachstums (OD600) und der Urease-Bildung von *S. pasteurii* auf verschiedenen Medien (A: standardmäßig verwendetes Medium; B: Lapierre-Medium; C: Lapierre-Medium mit selbst hergestellter Hefeextraktlösung)



Quelle: IMB

Hierdurch wurde gezeigt, dass durch den Ersatz des Hefeextrakts im „Lapierre-Medium“ durch eine aus Geläfer hergestellte Hefeextraktlösung ähnliche Zellausbeuten erreicht werden können. Diese sind sowohl beim Lapierre-Medium als auch beim modifizierten „Lapierre-Medium“ ungefähr doppelt so hoch als beim standardmäßig verwendeten Medium. Jedoch war die Urease-Bildung in dem modifizierten „Lapierre-Medium“ gegenüber dem „Lapierre-Medium“ verringert. Im standardmäßig verwendeten Medium als auch im „Lapierre-Medium“ war die Ureaseaktivität nach 25 h Kultivierung doppelt bzw. dreifach höher als im modifizierten „Lapierre-Medium“.

Somit ist es prinzipiell möglich, den kommerziell erhältlichen Hefeextrakt durch eine Präparation aus einem Reststoff zu ersetzen. Falls eine höhere Ureaseaktivität benötigt wird, müsste ausgehend von diesem Punkt die Aufarbeitung des Geläfers genauer untersucht und optimiert werden, um den Grund für die geringere Urease-Bildung zu identifizieren. Eine etwas geringere Urease-Bildung könnte jedoch von Vorteil sein, da dies

zu einem langsameren Kristallwachstum und zur Bildung stabilerer Kristalle führen könnte. Hierzu sind jedoch noch weitere Untersuchungen notwendig. Sollte eine hohe Zellausbeute mit einer etwas geringeren Urease-Bildung genügen, könnte diese Strategie ausreichen, um den teuersten Bestandteil des Kultivierungsmediums durch einen Reststoff aus einem anderen Bereich zu ersetzen. Die Verwendung von Molkeproteinen (als Reststoff aus der Käseproduktion) für die Kultivierung von *S. pasteurii* ist ebenfalls möglich. Jedoch müsste für einen abschließenden ökonomischen Vergleich insbesondere die zu erwartenden Personalkosten bei der Herstellung der Hefeextraktlösung aus dem Geläger mitbetrachtet werden.

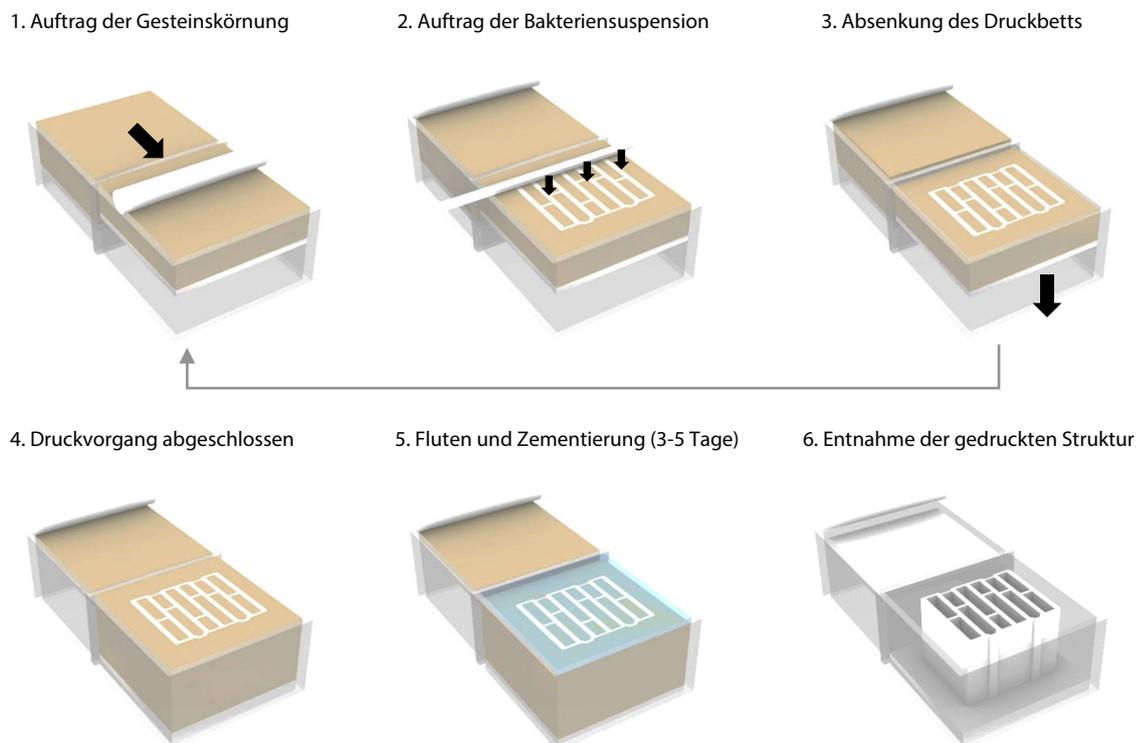
Durch den Ersatz des Hefeextrakts würden die Materialkosten des Lapierre-Mediums mehr als halbiert werden (Bestandteile des Lapierre-Mediums ohne Hefeextrakt ca. 1,10 €/L; Stand: Oktober 2022). Dies ist deutlich geringer als die Kosten des Komplexmediums (5,13 €/L), das von DSMZ zur Anzucht von *S. pasteurii* empfohlen wird. Zu den Personalkosten kann zu derzeitigem Stand keine Aussage getroffen werden.

8. Additive Fertigung mittels Biomineralisierung

Druckbasierte Herstellungsverfahren sind insbesondere für massive Bauteile mit hohen Festigkeitsanforderungen und Stückzahlen geeignet. Für die Produktion individueller Bauteilgeometrien sind sie jedoch nur begrenzt anwendbar. Wie in Teil 4.2 beschrieben, ist die Zementierungstiefe und damit die Bauteilgröße von dem Druck abhängig, mit dem die Zementierungslösung durch das Bauteil geleitet wird. Ein anderer Ansatz besteht in der Ausbildung von nicht-zementierbaren Kanälen, die für den Transport der Zementierungslösung ins Bauteilinnere dienen. In Arbeiten von Wei et al. [75] wurden für die Ausbildung solcher Kanäle durchlässige Einlegeteile verwendet. Um eine höhere Flexibilität der möglichen Bauteilgeometrien zu erreichen, wurde im aktuellen Forschungsprojekt die additive Fertigung von Biobeton untersucht, in der lose Gesteinskörnung die Rolle der Kanäle übernimmt und gleichzeitig als Stützstruktur dient. Zwar ist die Eindringtiefe der Ionen durch Diffusion und somit die Stärke der zementierten Bauteilbereiche gering (1-3 cm), jedoch kann die notwendige Tragfähigkeit durch eine gezielte Materialverteilung infolge einer topologischen Bauteiloptimierung gewährleistet werden [76].

Im Gegensatz zur Perkolation und den druckbasierten Herstellungsverfahren wird beim 3D-Druck statt UACP eine flüssige Bakteriensuspension verwendet. Der Herstellungsablauf (Abbildung 60) folgt dem Prinzip des Pulverbettdrucks. Ein Gemisch aus Gesteinskörnung wird schichtweise auf das Druckbett aufgetragen und die Bakteriensuspension wird entsprechend der zukünftigen Bauteilgeometrie aufgetropft. Nachdem eine Schicht vollständig mit der Bakteriensuspension behandelt wurde, wird das Druckbett um eine Schichthöhe abgesenkt und der gesamte Vorgang wird wiederholt. Nachdem alle Schichten auf diese Weise gedruckt wurden, wird das ganze Bauteilvolumen über 3 bis 5 Tage mit der Zementierungslösung geflutet.

Abbildung 60
Prozessablauf, 3D-Druck mittels Biomineralisierung - Schematische Darstellung

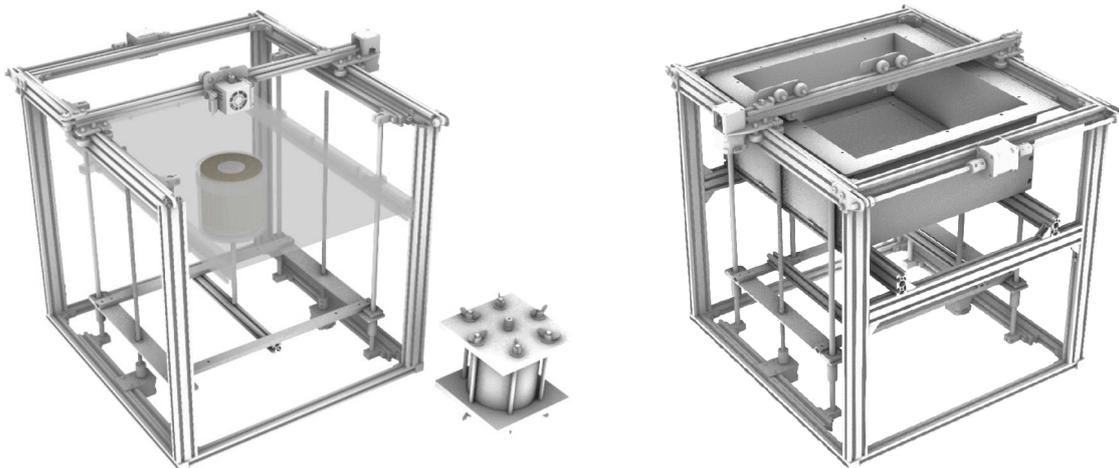


Quelle: ILEK

Im Projekt wurde eine prototypische 3D-Druck-Anlage aufgebaut. Als Basis wurde ein kommerziell erhältlicher FFF (Fused Filament Fabrication) 3D-Drucker (Ender 5 Plus) mit modifiziertem Druckkopf und Druckbett verwendet. Als Druckkopf wurde eine, an eine Peristaltikpumpe angeschlossene, Pipettenspitze verwendet,

als Druckbett wurde eine wasserdichte Kammer mit ablenkbarem Boden konstruiert. Erste Parameterstudien wurden in einer zylindrischen Kammer mit einem von Druckvolumen von $D= 110 \text{ mm}$ und $H = 100 \text{ mm}$ durchgeführt (Abbildung 61, links), anschließend wurde die Anlage auf ein Volumen von $360 \times 370 \times 330 \text{ mm}^3$ vergrößert (Abbildung 61, rechts).

Abbildung 61
Prototypische 3D-Druck-Anlage

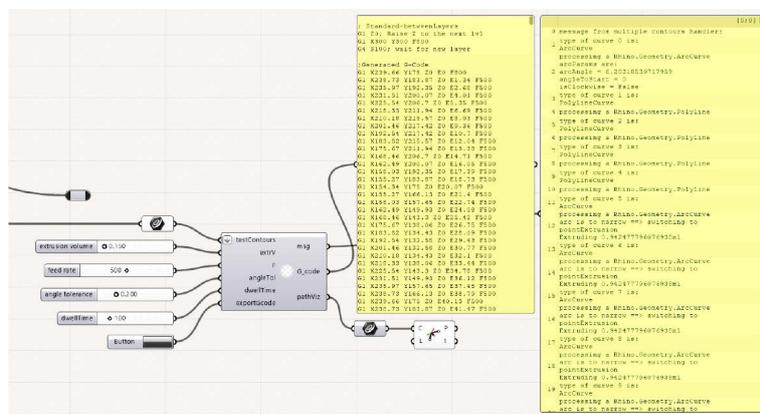


Quelle: ILEK

Steuerung

Der 3D-Drucker wurde über die Open-Source-Firmware Marlin gesteuert. Die zu druckenden Pfade wurden in der 3D-Modellierungssoftware Rhinoceros 3D erstellt. Über ein eigens erstelltes C#-Skript für das Grasshopper-Plugin in Rhino wurden aus den Pfaden eine G-Code-Datei generiert (Abbildung 62). In dieser Datei wird neben den Koordinaten der Pfade auch die Fahrgeschwindigkeit des Druckkopfs und der Volumenstrom der Peristaltikpumpe hinterlegt. Da die Verdichtung der Schichten während des Druckvorgangs mit der prototypischen Druckanlage manuell erfolgte, wurde außerdem die Pausenzeit zwischen den Schichten als Parameter definiert.

Abbildung 62
Parametrisierung und Pfaderzeugung im Rhinoceros 3D-Plugin Grasshopper



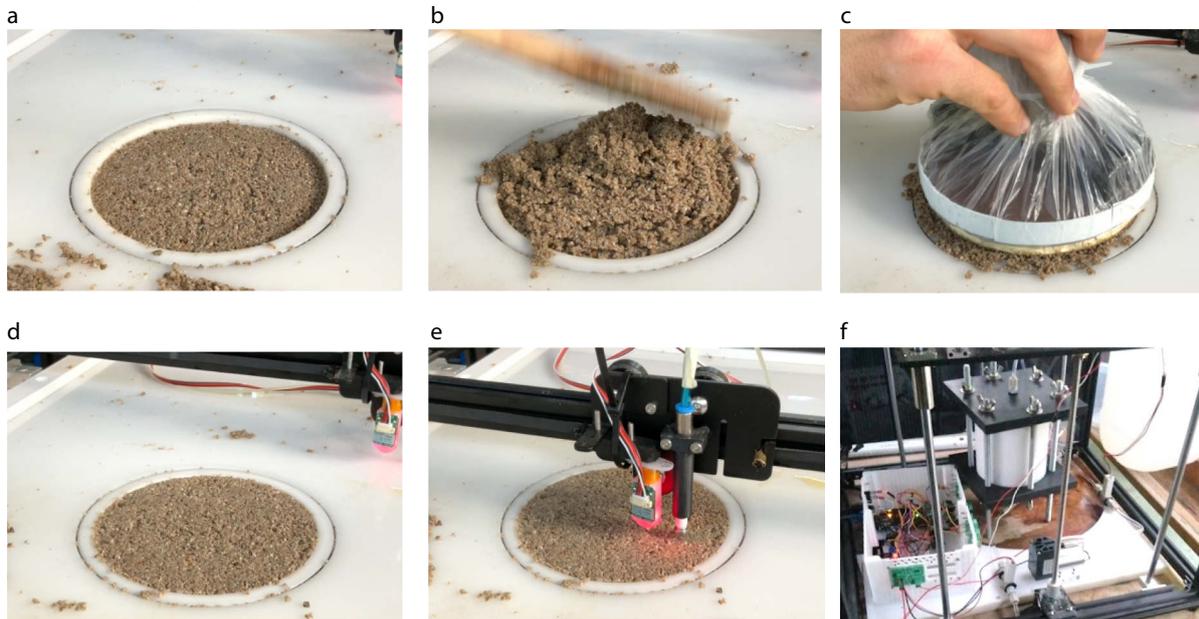
Quelle: ILEK

Druck- und Zementierungsvorgang

Der Herstellungsprozess mit dem prototypischen Biobeton-3D-Drucker ist in der Abbildung 63 dargestellt. Für den Druck wurde Gesteinskörnung der Mischung 1 (s. Kapitel 2.1) verwendet, die zusätzlich mit Zementierungslösung befeuchtet wurde, um die Fixierung der Bakterien nach dem Auftrag zu gewährleisten. Der Auftrag erfolgte in separaten Schichten, die mit einem Kolbenvibrator (Frequenz = 98 Hz) verdichtet wurden. Die verwendete Bakteriensuspension hatte eine optische Dichte (OD_{600}) zwischen 12 und 15, welche nach aktuellem Kenntnisstand keine relevanten Auswirkungen auf das Druckergebnis hatte. Jedoch könnte eine gezielte Steuerung der optischen Dichte und deren Auswirkungen in Zukunft erneut im Detail untersucht werden. Nachdem alle Schichten aufgetragen wurden, wurde die Sandmischung vier Tage lang mit der Zementierungslösung (0,75 M Harnstoff und Calciumchlorid) alle vier Stunden geflutet (Abbildung 64). Danach wurde der nicht zementierte Sand entfernt und die zementierten Strukturen entnommen.

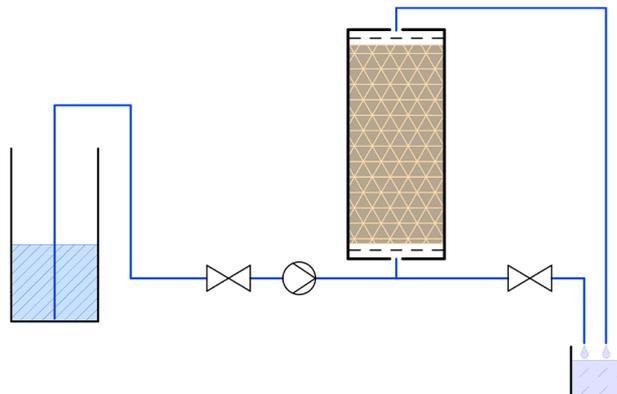
Die Verdichtung der Schichten erfolgt im aktuellen Prozess noch durch manuelle Schritte (Abbildung 63 c) mit Hilfe eines vorhandenen Kolbenvibrators. Hierbei werden insbesondere Automatisierungspotentiale für weitere Forschungsvorhaben deutlich. Eine Prozessregelung auf eine vordefinierte, reproduzierbare Verdichtungskraft würde einen Mehrwert zur Prozessstabilität beitragen und die Integrität der gedruckten Bauteile garantieren. Zusätzlich müssen weitere Untersuchungen zum Einfluss der Verdichtungsfrequenz auf die erreichte Festigkeit durchgeführt werden. Die anschließende mehrtägige Zementierung läuft bereits vollautomatisch ab und kann parallel zu weiteren Drucken erfolgen, sodass die Produktivität des 3D-Druckers nicht beeinträchtigt wird.

Abbildung 63
Druckvorgang mit prototypischer 3D-Druck-Anlage
Absenkung der Druckplattform (a), Sandauftrag (b), Verdichten (c,d), Auftrag einer Bakteriensuspension mit der Düse (e), Fluten mit der Zementierungslösung (d)



Quelle: ILEK

Abbildung 64
Fluten der gedruckten Struktur mit Zementierungslösung



Quelle: ILEK

Parameterstudien

Die Herstellung von biozementierten Strukturen mit klar definierten Grenzen erfordert eine präzise Einstellung der folgenden Parameter:

- Konzentration der Zementierungslösung, die zur Befeuchtung der Gesteinsmischung verwendet wird
- Höhe der aufzutragenden Sandschichten
- Volumenstrom der Bakterienlösung
- Durchmesser und Form der Extruder-Düse
- Fahrgeschwindigkeit des Druckkopfs

Aus der Literatur ist bekannt, dass die Bakterien durch eine nachträgliche Zugabe einer gering konzentrierten Salzlösung in der Gesteinskörnung fixiert werden können [6]. Dabei liegt der Fokus jedoch auf der möglichst großflächigen Ausbreitung der Bakterien und ihrer anschließenden Fixierung. Beim 3D-Druck in diesem Projekt wurde dagegen der Ansatz verfolgt, die Bakterien direkt nach dem Druckvorgang zu fixieren und eine Ausbreitung zu verhindern, um präzise zementierte Geometrien zu erzeugen. Hierfür wurde das Sandgemisch bereits vor dem Schichtauftrag und dem Aufbringen der Bakteriensuspension mit einer Salzlösung (später mit einer verdünnten Zementierungslösung) befeuchtet. Es wurden eine Parameterstudie mit drei verschiedenen Konzentrationen durchgeführt (Leitungswasser, 0,2 M- und 0,75 M – Calciumchloridlösung, Abbildung 65).

Abbildung 65
Parameterstudien, Variieren der Ionenkonzentration im Gesteinsgemisch



Leitungswasser

0,2 M CaCl_2 -Lösung

0,75 M CaCl_2 -Lösung

Quelle: ILEK

Die Ergebnisse der Parameterstudie zeigten, dass eine Erhöhung der Konzentration an CaCl_2 zu einer geringeren Ausbreitung und damit zu stärkerer Ausprägung der Schichten führt. Waren bei einer Konzentration von 0 M CaCl_2 keine Schichten zu unterscheiden, so war bei einer Konzentration von 0,75 M kaum mehr eine Verbindung zwischen den 4,5 mm hohen Schichten festzustellen. Des Weiteren konnte beobachtet werden, dass die Ausbreitung in horizontaler Richtung deutlich stärker ausgeprägt war als in vertikaler Richtung. In weiteren Versuchen wurde eine Konzentration von 0,2 M CaCl_2 gewählt, da diese eine klare Abbildung der gewünschten Geometrie und einen guten Schichtverbund zuließ.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Schichthöhe ermittelt, die einen Verbund zweier Sandschichten bei möglichst geringer Überlappung der mit Bakteriensuspension behandelten Bereiche ermöglichte. Hierfür wurde auf eine Sandschicht eine gefärbte Lösung aufgetragen und durch einen Querschnitt die Eindringtiefe bestimmt. Aus diesen Untersuchungen wurde eine optimale Schichthöhe von 3,75 mm ermittelt. Außerdem wurde festgestellt, dass die Schichthöhe und der Abstand zwischen den zementierten Elementen innerhalb einer geometrischen Struktur mindestens das 1,5-fache der Größtkorndurchmessers betragen sollte.

Der Volumenstrom der Bakterienlösung beeinflusste ebenfalls deren Ausbreitung in der Sandmischung, vor allem in der horizontalen Ebene. In Parameterstudien wurde der Volumenstrom pro Millimeter Fahrweg von 1 bis 5 ml/mm variiert. Für einen Düsendurchmesser von 0,2 mm lag der optimale Volumenstrom bei 0,2 - 0,25 ml/mm, da bei diesem Wert sowohl der Verbund der Schichten als auch die Präzision der gedruckten Geometrie gewährleistet wurde.

Ein weiterer Faktor, der die Präzision der zementierten Geometrie beeinflusst, war der zeitliche Abstand zwischen der Beendigung des Druckvorgangs und der ersten Flutung des Druckvolumens. Bei 30 Minuten Abstand war die Geometrie weitaus weniger präzise als bei 4 Stunden Abstand, was auf eine bessere Fixierung der Bakterien über den längeren Zeitraum zurückzuführen ist.

Abbildung 66 zeigt zwei weitere Testdrucke komplexerer Geometrie. Für beide Drucke wurde eine Ionenkonzentration von 0,2 M verwendet, welche sich als guter Kompromiss zwischen Schichtverbund und Konturtreue im Vergleich zur Sollgeometrie (CAD-Modell) herausgestellt hat (Abbildung 65). Als weiterer Druckparameter wurde eine gewünschte Auflösung von ca. 1 cm in der Bahnplanung gewählt. Dadurch ergibt sich eine Schichthöhe bzw. Eindringtiefe der Bakterienlösung in das Pulverbett von 3,75 mm. Zusätzlich zur Eindringtiefe ergibt sich auch eine Ausbreitung der Lösung in der Ebene. Hierbei hat sich herausgestellt, dass ein Düsendurchmesser von 0,2 mm eine ausreichende Präzision bietet. Analog ergibt sich aus der Bahnplanung bei der gewählten Spurbreite und resultierenden Schichthöhe ein entsprechend notwendiges auszutragendes Bakterienlösungsvolumen. Mit der gewählten Druckgeschwindigkeit wird daraus anschließend ein anzusteuender Volumenstrom bzw. eine Feedrate. Nach dem Druck beginnt die Zementierungsphase durch Flutung des Pulverbettes mit der Zementierungslösung. Hierbei ist eine Mindestwartezeit nach dem Druck von 4 Stunden und eine Maximalzeit von 24 Stunden einzuhalten. Wartezeiten innerhalb dieses Fensters liefen ähnlich gute Resultate, wie im Vergleich zwischen den Strukturen in der Abbildung 66 a und b zu erkennen ist. Für eine optimale Zeitnutzung wird zukünftig 4 Stunden vor dem 1. Zyklus gewartet. Die Anzahl der Flutungszyklen ergibt sich durch die Gesamtzementierungszeit von 3 Tagen und die Zykluszeit von 4 Stunden. Entsprechend den üblichen Arbeitszeiten und dem Druckstart resultiert eine Varianz der Zyklusanzahl zwischen 17-20, welche jedoch keinen nennenswerten Unterschied auf das Endresultat hat.

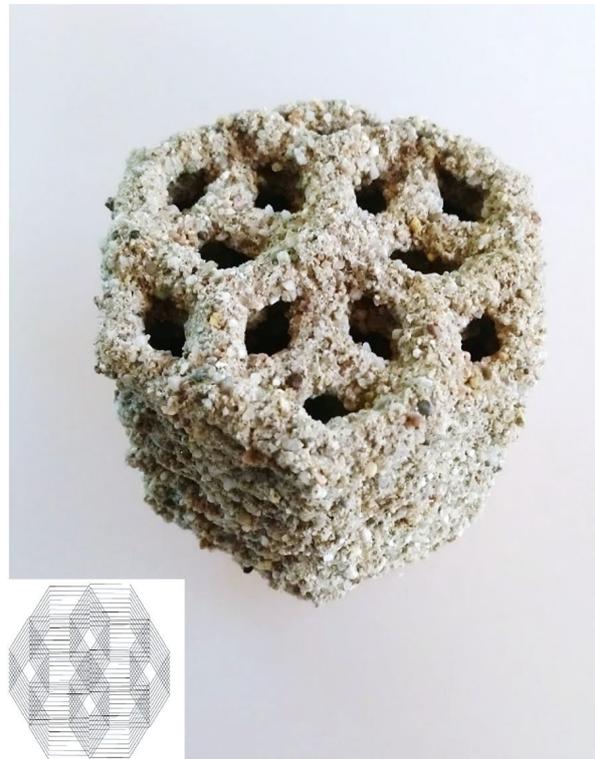
Abbildung 66
Parameterstudien, gedruckte Geometrien

a



Innenkonzentration in Gesteinskörnung: 0,2 M
Schichthöhe: 3,75 mm
Volumenstrom: 0,25 ml/mm
Düsendurchmesser: 0,2 mm
Feedrate: 500 mm³/mm
Wartezeit vor dem 1 Zyklus: 4 Stunden
Anzahl der Flutungszyklen: 20

b



Ionenkonzentration in Gesteinskörnung: 0,2 M
Schichthöhe: 3,75 mm
Volumenstrom: 0,25 ml/mm
Düsendurchmesser: 0,1 mm
Feedrate: 500 mm³/m
Wartezeit vor dem 1 Zyklus: 15 Stunden
Anzahl der Flutungszyklen: 17

Quelle: ILEK

9. Biobetonherstellung ohne externe Zufuhr einer Zementierungslösung

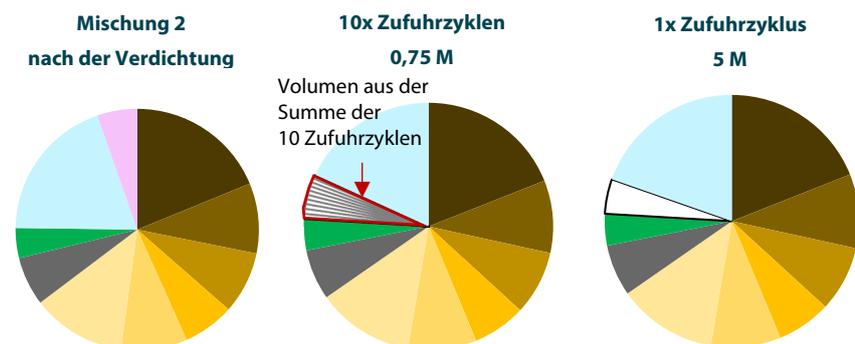
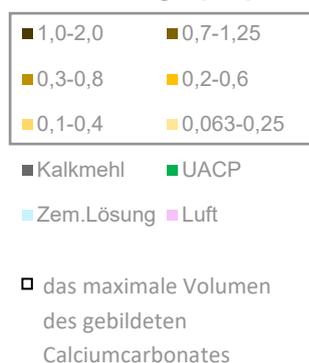
Bei der Herstellung von Biobeton wird bereits beim Mischen Zementierungslösung hinzugegeben. In diesem Teil des Projekts wurde untersucht, ob die Mischung so optimiert werden kann, dass diese anfängliche Menge an Zementierungslösung für das Erreichen hoher Festigkeiten ausreicht, damit keine externe Zufuhr mehr benötigt wird.

Die maximale Menge an potentiell ausfällbarem CaCO_3 ist abhängig von der Konzentration und der Menge der Zementierungslösung in der Biobetonmischung. Bei Raumtemperatur beträgt die Löslichkeit von Harnstoff 1.200 g/L und von CaCl_2 in Form von $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 1.300 g/L (entsprechend ca. 20 M und 8,8 M). Die Löslichkeitsgrenze einer äquimolaren Harnstoff-Calciumchlorid-Lösung liegt schätzungsweise bei ca. 5 M.

Bei der Herstellung ohne externe Zufuhr einer Zementierungslösung sollte eine möglichst dichte Gesteinsmischung verwendet werden (im aktuellen Projekt Mischung 2 (s. Kapitel 3)). Die Abbildung 67 dient zur Veranschaulichung des Konzeptes der Konzentrationserhöhung der Zementierungslösung im Porenvolumen der Mischung 2. Bei mehreren Zufuhrzyklen verkleinert sich das Porenvolumen und somit die Menge der Zementierungslösung für die Kristallbildung mit jedem Zyklus. So wird das maximal mögliche Volumen des gebildeten Calciumcarbonates bei gleichbleibender Konzentration der Zementierungslösung mit jedem Zyklus geringer.

Abbildung 67
Konzentrationserhöhung in der Zufuhrlösung bei der Mischung 2

Sandfraktionen
in der Mischung 2, [mm]



Quelle: ILEK

Wie in Teil 4.1 gezeigt, wird die Festigkeit des Biobetons durch eine zu hohe Konzentration der Zementierungslösung beeinträchtigt. Mögliche Gründe für die geringe Zementierungsqualität sind die Verringerung der Bakterienaktivität und die Veränderung der Kinetik der Kristallbildung. Betrachtenswert wäre in diesem Zusammenhang die Verwendung von Bakterienstämmen, die eine höhere Effizienz der Kristallbildung bei hohen Konzentrationen gelöster Stoffe aufweisen [46].

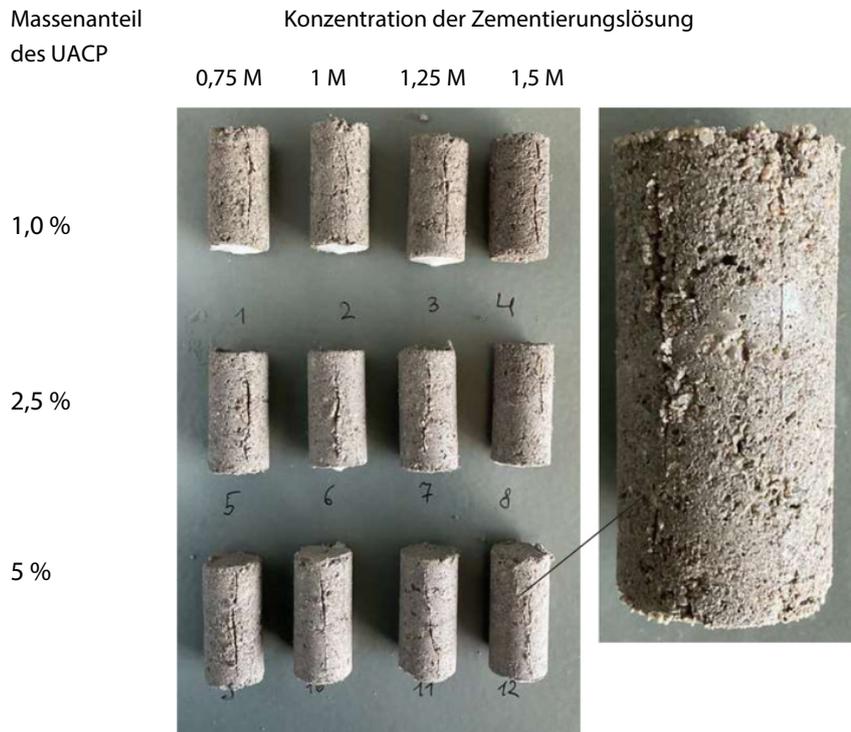
Ein Zementierungsversuch mit der Variation an UACP und der Konzentration der Zementierungslösung ist auf der Abbildung 68 dargestellt.

Ein möglicher Ansatz für die Biomineralisierung ohne externe Zufuhr von Zementierungslösung ist die Verwendung von Zusatzstoffen, die als Ionenträger agieren können. Sie sollen große Ionenmenge speichern und langsam an die Zementierungslösung abgeben können, so dass die Ionenkonzentration der Lösung zu jedem Zeitpunkt einen bestimmten Grenzwert nicht übersteigt. Im Projekt wurde bereits die Substitution des Kalkmehls in der Mischung 2 mit calciumhaltigen, bzw. mit Calcium-Ionen geladenen Tonen mit hoher Kationenaustauschkapazität (KAK) untersucht (Abbildung 69). Die auf dieser Weise hergestellten Proben wiesen eine verbesserte Formstabilität auf. Untersuchenswert sind in diesem Zusammenhang auch die

Superabsorber (engl. superabsorbent Polymers, SAP), die den gelösten Harnstoff aufnehmen und abgeben können.

Bisher konnte das Konzept der Zementierung ohne externe Zufuhr nicht realisiert werden, da die Festigkeit aller dargestellten Proben sehr gering war (alle Proben konnten per Hand zerkleinert werden).

Abbildung 68
Mischung 2, Biomineralisierung ohne externe Zufuhr



Quelle: ILEK

Abbildung 69
Mischung 2, Biomineralisierung ohne externe Zufuhr
Substitution von Kalkmehl mit calciumhaltigen / Calcium-Ionen geladenen Tonen



Quelle: ILEK

Bewertung/Diskussion/Zielerreichung

Im Projekt wurden vielfältige Aspekte der Biobetonherstellung betrachtet. Die gewonnenen Erkenntnisse sind entsprechend den Projektzielen folgend beschrieben.

1. Mechanische Eigenschaften, Verfahrensprinzipien, Bewehrungsintegration

Im Projekt wurden mehrere Verfahrensprinzipien der Biobetonherstellung betrachtet (Teil 4 und 8). Nach aktuellem Forschungsstand kann zur Erreichung hoher Festigkeitswerte nicht auf eine mehrfache Zufuhr der Zementierungslösung verzichtet werden. Die Zementierungstiefe der herstellbaren Bauteile ist prozessbedingt begrenzt. Im Projekt wurden homogen zementiert Probekörper mit einer Zementierungstiefe von 135 mm und einer Druckfestigkeit von über 46,5 MPa hergestellt (Teil 4.2). Die in diesem Projekt erreichten hohen Druckfestigkeitswerte in Kombination mit einer tiefen Zementierung sind das Ergebnis der entwickelten Methodenkombination mit folgenden Bestandteilen:

- Verwendung von UACP anstatt reinen Zellen zur besseren Fixierung der Bakterien im Gesteinsgefüge (Teil 2)
- Optimierung der Packungsdichte der Gesteinsmischung (Teil 2.1)
- Zufuhr durch externe Druckkräfte in einem automatisierten Verfahren (Teil 4.2)
- präzise Einstellung der Zementierungsparameter (Teil 4.2)

Außerdem wurden Bewehrungskonzepte für Bauteile aus Biobeton vorgestellt und erste Versuche durchgeführt (Teil 5). Die Anwendung von vorgespannter Basaltfaserbewehrung ist ein vielversprechender Ansatz für die Herstellung von Bauteilen aus Biobeton.

Im Projekt wurde exemplarisch gezeigt, dass der MICP-Prozess in einem 3D-Druck-Verfahren zur Fertigung von Strukturen mit komplexer Bauteilgeometrie verwendet werden kann. Diese Methode könnte zur Herstellung individualisierter Bauteilgeometrien weiterentwickelt werden. Ein ähnliches Verfahren wurde zur gleichen Zeit in einer anderen Studie veröffentlicht [77], in der eine biomineralisierte Spur mittels additiver Fertigung gedruckt wurde. Im aktuellen Projekt wurden umfassende Parameterstudien durchgeführt, auf deren Basis dreidimensionale biomineralisierte Strukturen mit präzisen Geometrien hergestellt wurden (Teil 8). Im Vergleich zu der in den Vorarbeiten vorgestellten Materialextrusion [16] weist das Pulverbettdruckverfahren eine deutlich geringere Komplexität für die Herstellung poröser Leichtbaustrukturen auf.

2. Vereinfachung des Biobeton-Herstellungsprozesses

Die Biobetonherstellung durch die Zufuhr der Zementierungslösung unter Druck ist im Vergleich zur herkömmlichen Betonverarbeitung deutlich aufwändiger, da eine automatisierte Zufuhranlage benötigt wird. Die Steuerung einer solchen Anlage muss vielseitige Funktionen beinhalten (Zufuhr in regelmäßigen Abschnitten, Druckregelung, Begrenzung der Durchflussrate, etc.). Andererseits ist die Herstellungszeit von Bauteilen aus Biobeton deutlich kürzer (3 – 4 Tage bis zur Erreichung der Endfestigkeit).

Im aktuellen Projekt wurde die Verringerung des Porenvolumens im Laufe der Zementierung in der Steuerung der prototypischen Anlage nicht berücksichtigt. Die Entwicklung einer Feedback-basierten Regelung, bei der z.B. die Zufuhrmenge oder Ionenkonzentration der Zementierungslösung anhand aktueller Sensordaten mit fortschreitender Zementierung angepasst werden, könnte zu einer deutlichen Verkürzung der Herstellungszeiten und einer Kostenreduktion führen.

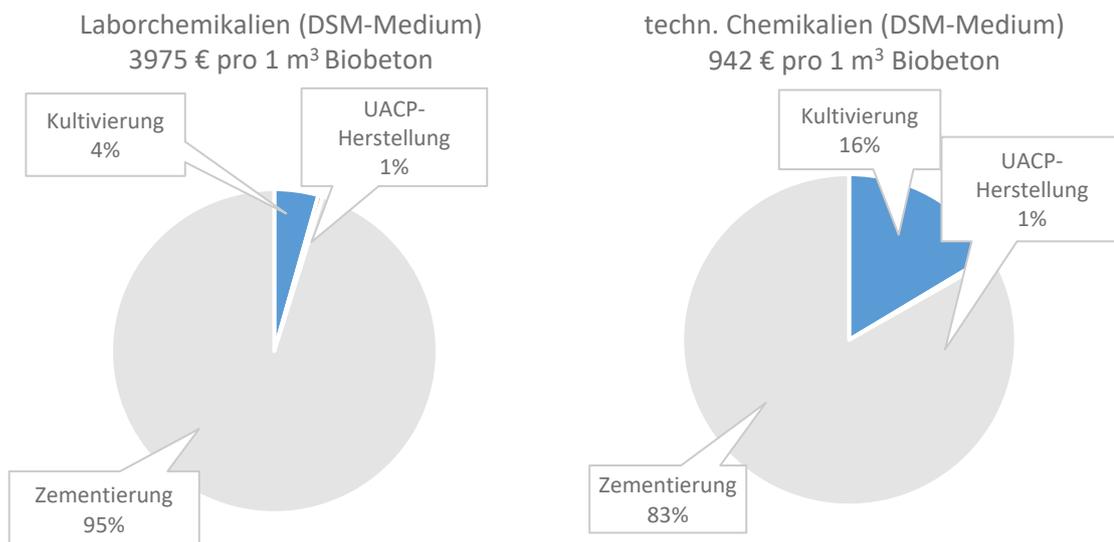
Neben der Optimierung und Vereinfachung der bereits funktionierenden Herstellungsmethoden liegt jedoch auch großes Potential in der Weiterentwicklung des Verfahrensprinzips „Herstellung ohne externe Zufuhr“ (Teil 9). Durch einen Verzicht auf das mehrfache Durchspülen mit Zementierungslösung könnte die Herstellung von Biobeton ähnlich der Herstellung von zementgebundenem Beton gestaltet werden. Eine Herstellung ohne externe Zufuhr würde außerdem die Verwendung von Mischungen mit höherer Packungsdichte durch die Zugabe von Feinanteilen ermöglichen. Der Industriebeirat sieht dabei die Möglichkeit, bisher ungenutzten Feinsande zu verwenden. Im aktuellen Projekt wurden erste Untersuchungen durchgeführt und Ansätze dargelegt.

Das im Projekt verwendete UACP trägt wesentlich zu der einfachen Verarbeitung des Biobetons bei, da es langfristig aufbewahrt und nach Bedarf portioniert entnommen werden kann. In der vorliegenden Arbeit wurde die Haltbarkeit des UACP bei verschiedenen Lagerungsbedingungen über 7,5 Monate untersucht. Erstaunlicherweise bestand kein deutlicher Zusammenhang zwischen der mit der Zeit sinkenden Urease-Aktivität und der Druckfestigkeit. Die niedrige Urease-Aktivität des bei Raumtemperatur gelagerten UACP gegen Ende des Experiments hatte keinen deutlichen Einfluss auf die Druckfestigkeit der biomineralisierten Proben. Sollte sich diese Beobachtung in weiteren Untersuchungen bestätigen, könnte dies die Lagerung von UACP deutlich erleichtern.

3. Kostenreduktion

Die Materialkosten der Biobetonherstellung (abgesehen von den Zuschlägen) setzen sich aus Kultivierung der Bakterien, UACP-Herstellung und Zementierung zusammen. Dabei macht es einen großen Unterschied, ob bei der Zementierung hochreine und teure Laborchemikalien oder weniger reine und günstigere technische Chemikalien verwendet werden. Die aktuelle Kostenschätzung für 1 m³ Biobeton ist auf der Abbildung 70 dargestellt. Da es noch viele Faktoren für die zukünftige Kostenreduktion gibt (s. Punkt 5), ist diese Kalkulation nicht final zu bewerten.

Abbildung 70
Zusammensetzung der Chemikalienkosten der Biobetonherstellung



Quelle: IMB

Der Zementierungsschritt ist aktuell mit Abstand der größte Kostenfaktor bei der Biozementierung. Zugleich gibt es verschiedene zukünftige Szenarien zur Kosteneinsparung, die noch untersucht und verglichen werden sollen.

Im aktuellen Projekt wurde die Kultivierung der Bakterien betrachtet, da das Anzuchtmedium einen festen Bestandteil der Kostenbilanz der Biobetonherstellung darstellt, dessen Größe unabhängig vom Verfahrensprinzip für die Zementierung ist. Für die Kultivierung wird eine deutlich geringere Chemikalienmenge benötigt als für die Zementierung. Allerdings sind die verwendeten Anzuchtmedien, sogenannte Komplexmedien, sehr teuer, da sie universell für eine Vielzahl an Mikroorganismen eingesetzt werden können.

Die Kosten des im Projekt optimierten Anzuchtmediums auf der Basis von selbst produziertem Hefeextrakt sind ca. 5-mal geringer als die Kosten des Komplexmediums DMZ M220.

4. Ganzheitliche Bilanzierung zur CO₂-neutralen Herstellung von Biobeton

Im eingereichten Projektantrag wurde eine ganzheitliche Bilanzierung der Herstellung von Biobeton in Form einer Abschlussarbeit in Kooperation mit dem Fraunhofer-Institut angestrebt.

Zur Ökobilanz des bakteriellen Betons kann allerdings mit Abschluss des Projekts noch keine endgültige Aussage getroffen werden, da der Energiebedarf und die CO₂-Emissionen von der Rohstoffversorgung und der Wiederverwertung der Reaktionsnebenprodukte abhängig sind.

In der Studie von Iezzi et al. [78] wurde eine dreifache Reduktion des CO₂-Äquivalentes von Ziegelsteinen aus Biobeton im Vergleich zum zementgebundenen Beton geschätzt. Bei Myhr et al. [79] ist die erwartete Reduktion noch höher (70 - 83 %). Deng et al. konnten hingegen keine Einsparung in der CO₂-Emissionen oder Energieaufwand feststellen [8]. Gleichzeitig wurde angegeben, dass ca. 80,4% der CO₂-Emissionen und ca. 96 % des Energieaufwandes von der Rohstoffversorgung stammen.

Für die Herstellung des Biobetons können verschiedene Rohstoffe gewählt werden.

Als Calciumquelle wird meistens CaCl₂ verwendet, das in großen Mengen bei der Soda-Herstellung im Solvayverfahren anfällt [80]. Allerdings werden in der Reaktion Chlorid-Ionen gebildet, die in Verbindung mit Ammonium als Abfallprodukt anfallen. Die geringe Verfügbarkeit alternativer Calciumquellen, wie z.B. Calciumlactat oder Calciumacetat, limitiert deren Einsatz. Eine Möglichkeit zur Gewinnung von Calcium-Ionen aus Abfallprodukten für die Biomineralisierung in großen Mengen ist die Auflösung von Kalkstein oder anderen Calcium-haltigen Materialien [81] u.a. aus Steinbrüchen [82]. Dafür können auch mikrobielle Prozesse eingesetzt werden [83].

Obgleich Harnstoff zu den günstigsten Bulkchemikalien gehört, so ist die Produktion von Harnstoff jedoch mit einem verhältnismäßig hohen Energieaufwand verbunden. Die großtechnische Synthese von Harnstoff beruht auf der Verwendung von Erdgas, Luft und Wasser. Hierbei wird zunächst Ammoniak mit Hilfe des energieintensiven Haber-Bosch-Verfahrens hergestellt und dieser dann ebenfalls bei hohen Temperaturen und hohen Drücken mit CO₂ zu Harnstoff umgesetzt.

Alternativ zum industriellen Harnstoff kann Urin aus Abwässern [84] verwendet werden.

Für eine energie- und ressourcenschonende Nutzung der Biozementierung erscheint das Recycling des freigesetzten Ammoniums, vor allem bei der mehrfachen Zufuhr der Zementierungslösung, essentiell zu sein. Im Rahmen von industriellen Verfahren (z.B. Verbrennungsprozessen, Zement-Herstellung) könnte das anfallende CO₂ mit dem durch die Biozementierung gebildeten Ammonium erneut zu Harnstoff umgewandelt und für die Biozementierung genutzt werden. Alternativ wäre es auch denkbar, Ammonium mit CO₂ zu Ammoniumcarbonat umzusetzen, um den energieintensiveren Harnstoff bei der Biozementierung teilweise zu substituieren.

Laut der Fa. Biomason ist die industrielle Herstellung von Biobeton in einem komplett geschlossenem Kreislauf theoretisch möglich [85]. Dabei muss allerdings der „versteckte“ Chemikalien- und Energiebedarf z.B. für die Auflösung von Calciumcarbonat oder Harnstoff-Synthese genauer untersucht werden.

5. Übersicht zum Potential der CO₂- und Kosten-Einsparung

Hinsichtlich der CO₂-Bilanz und Kosten gibt es verschiedene Entwicklungsszenarien, die im Einzelfall untersucht und bewertet werden müssen. Der an sich CO₂-negative Biomineralisierungsprozess bietet hierfür zahlreiche Chancen.

Tabelle 8

Entwicklungsszenarien der Biobetonherstellung und deren CO₂-und Kosteneinsparpotentiale

Entwicklungsrichtung		CO ₂ - Einsparpotential	Kosten und Kosteneinsparpotential
Ausgangssituation	Verwendung von Labor- und technischen Chemikalien für die Anzucht der Bakterien und den Zementierungsprozess	Variiert stark je nach Herstellungsort der Rohstoffe, Stromquelle, etc.	geschätzt 3975 € / 942 € pro 1 m ³ Biobeton bei Verwendung von Labor / technischen Chemikalien
Aktuelles Projekt	Verwendung von Abfallstoffen für die Anzucht der Bakterien (Hefeextrakt aus Gelägern)	Starkes CO ₂ -Einsparpotential, da der Anteil der CO ₂ -Emissionen zu dem Vorgänger-Produkt aus der Herstellungskette gezählt werden.	5-fache Reduktion der Kosten des Anzuchtmediums (fester Kostenanteil, unabhängig vom Verfahrensprinzip)
Zukünftige Szenarien	Verwendung von Abfallstoffen für die Zementierung (Harnstoff aus Abwasser, Calciumchlorid als Abfallprodukt der Sodaherstellung)	Sehr starker CO ₂ -Einsparfaktor, da die CO ₂ -Emissionen zu der Herstellung des Vorgänger-Produkts aus der Herstellungskette gezählt werden. Die verbleibenden CO ₂ -Quellen für die Biobetonherstellung sind die Energie für die Aufbereitung der Abfallstoffe und den Transport. In diesem Szenario wird CO ₂ dauerhaft im Biobeton gebunden.	Sehr starker Kostensenkungsfaktor, da die Ausgangsstoffe nur aufbereitet und nicht neu hergestellt werden müssen
	Biobetonherstellung im komplett geschlossenem Kreislauf – Verarbeitung der Abflusslösung und alten Biobeton-Bauteilen zu neuem Biobeton	Sehr starker CO ₂ -Einsparungsfaktor. Es wird Energie für die chemische Umwandlung der Stoffe benötigt, jedoch bleibt CO ₂ im Kreislaufsystem und wird nicht ausgestoßen. Vorteil: Wiederverwendung der endlichen Ressource Sand/Zuschläge	Sehr starker Kostensenkungsfaktor, da die Materialkosten entfallen (nur Verarbeitungskosten)

Fazit



Im aktuellen Projekt hergestellte Probekörper aus Biobeton, Bild-Quelle: ILEK

Durch die in diesem Projekt entwickelte Methodenkombination konnte eine für das Material Biobeton außerordentliche Druckfestigkeit von über 46 MPa bei einer Zementierungstiefe von 135 mm erreicht werden. Mit diesen Eigenschaften wird der Einsatz von Biobeton in tragenden Bauteilen denkbar. Der Biobeton kann zudem potenziell in Kombination mit vorgespannter (biomineralisierter) Basaltfaserbewehrung eingesetzt werden. Ein erstrebenswerter Einsatzbereich wäre z.B. die Herstellung von vorgefertigten Wandelemente und Deckenplatten für den Hochbau, da hier bislang große Mengen an zementgebundenem Beton verwendet werden und damit ein hohes CO₂-Einsparpotential besteht. Weiteren Forschungsbedarf gibt es dabei einerseits bei der Anpassung bestehender Herstellungsanlagen und Infrastruktur, um eine schnelle und wirtschaftliche Herstellung von Biobeton-Fertigteilen zu ermöglichen, andererseits sind weitere Untersuchungen zur Einbringung und Verankerung von Bewehrung notwendig.

Durch das haltbare, gefriergetrocknete UACP muss nicht vor jedem Zementierungsvorgang eine neue Kultivierung der Bakterien durchgeführt werden. UACP kann mehrere Monate gelagert und nach Bedarf portioniert entnommen werden. Da erstaunlicherweise die mit der Zeit sinkende Urease-Aktivität keine deutliche Auswirkung auf die Festigkeit hat, ist möglicherweise auch die Aufbewahrung bei Raumtemperatur möglich.

Im Projekt wurde außerdem die additive Fertigung mittels Biomineralisierung untersucht, die zur Herstellung poröser Leichtbaustrukturen eingesetzt werden kann. Das Druckverfahren konnte gegenüber den ersten Ansätzen deutlich vereinfacht werden.

Hinsichtlich der Materialkosten des Biobetons wurde am Beispiel von Hefeextrakt aus Gelägern gezeigt, dass Anzuchtmedien aus Abfällen anderer Industrien als Alternative zu teuren Komplexmedien verwendet werden können.

Hinsichtlich der CO₂-Bilanz und Kosten gibt es verschiedene Entwicklungsszenarien, die im Einzelfall untersucht und bewertet werden müssen. Der an sich CO₂-negative Biomineralisierungsprozess bietet hierfür jedoch zahlreiche Chancen. Im Gegensatz zum Portland-Zement, besteht die Möglichkeit den „Zement“ im Biobeton aus Abfallprodukten anderer Industrien herzustellen oder die Biobetonherstellung im komplett geschlossenen Kreislauf durchzuführen.

Das aktuelle Projekt zeigt die prinzipielle Machbarkeit des Einsatzes von Biobeton für die Herstellung tragender Bauteile und eröffnet Perspektiven für eine sehr starke Emissionssenkung in der Bauindustrie. Zukünftige Entwicklungsschritte für das Upscaling dieser Technologie umfassen seitens der Bautechnik die Integration größerer Gesteinskörnungen, die Entwicklung von Schalungen für höhere Verdichtungsbelastungen und die Weiterentwicklung von Konzepten zur Bewehrungsintegration. Auf der Rohstoffebene muss die Reduzierung des Wasser- und Chemikalienverbrauchs durch die Optimierung von Zementierungsprogrammen untersucht werden, sowie die Entwicklung von Recyclingkonzepten für die Abflusslösung und die Verbesserung des CO₂-Fußabdruckes durch die Erschließung CO₂-neutraler Rohstoffquellen oder durch die Entwicklung geschlossener Materialkreisläufe.

Mitwirkende

Mitwirkende

David Nigl (ILEK, Universität Stuttgart)

Julius Lotz (ISW, Universität Stuttgart)

Martin Menke (MPA, Universität Stuttgart)

Dr. rer. nat. Matea Urbanek (MPA, Universität Stuttgart)

Dr. rer. nat. Jürgen Frick (MPA, Universität Stuttgart)

Industriebeirat

Dr. Ulrich Lotz, Betonverbände und Serviceorganisationen aus Baden-Württemberg

Thomas Beißwenger, Industrieverband Steine und Erden Baden-Württemberg e.V.

Jürgen Baumgärtner, Gebrüder Ott Betonwerke GmbH & Co. KG

Fachliche Betreuung

Dr.-Ing. Michael Brüggemann

BRÜGGEMANN KISSELER INGENIEURE

i. A. des Bundesinstituts für Bau-, Stadt- und Raumforschung (BBSR)

im Bundesamt für Bauwesen und Raumordnung (BBR)

Kurzbiographien



Prof. Dr.-Ing. M.Arch. Lucio Blandini (ILEK)

Leiter des Instituts für Leichtbau Entwerfen und Konstruieren mit den Forschungsschwerpunkten adaptive Strukturen und Fassaden, Leichtbau mit Beton sowie Textil- und Glasbau.



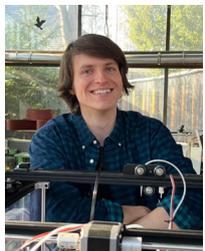
Christoph Nething (ILEK)

Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Leichtbau Entwerfen und Konstruieren. Forschungstätigkeit im Bereich Leichtbau mit Beton.



Maiia Smirnova (ILEK)

Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Leichtbau Entwerfen und Konstruieren. Forschungstätigkeit im Bereich Leichtbau mit Beton.



Mykola Tsyharin (ILEK)

Masterand und wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Leichtbau Entwerfen und Konstruieren der Universität Stuttgart. Unterstützung im Bereich additive Fertigung mittels Biomineralisierung.



apl. Prof. Dr. Andreas Stolz (IMB)

Dozent am Institut für Mikrobiologie der Universität Stuttgart. Lehr- und Forschungstätigkeit im Bereich der Allgemeinen Mikrobiologie, Enzymbiochemie und Biokatalyse.



Erik Eppinger, M. Sc. (IMB)

Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Mikrobiologie der Universität Stuttgart. Forschungstätigkeit im Bereich mikrobiell induzierter Calcitausfällung. Davor mehrjährige Forschungsarbeiten in Bereichen der Biokatalyse und Biotransformation.

**Daniele Pasquale Funaro (IMB)**

Masterand und wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Mikrobiologie der Universität Stuttgart. Forschungstätigkeit im Bereich mikrobiell induzierter Calcitausfällung.

**Janosch A. D. Gröning (IMB)**

Technischer Assistent am Institut für Mikrobiologie der Universität Stuttgart. Unterstützung bei den Forschungstätigkeiten im Bereich mikrobiell induzierter Calcitausfällung.

**Prof. Dr.-Ing. Alexander Verl (ISW)**

Leiter des Instituts für Steuerungstechnik der Werkzeugmaschinen und Fertigungseinrichtungen an der Universität Stuttgart mit den fachlichen Schwerpunkten industrielle Steuerungstechnik, Mechatronik, Robotik und Produktions-IT.

**Maximilian Nistler (ISW)**

Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Steuerungstechnik der Werkzeugmaschinen und Fertigungseinrichtungen der Universität Stuttgart. Forschungstätigkeit auf dem Gebiet der Additiven Fertigung im Kontext der Bauindustrie, Nachhaltigkeit und Kreislaufwirtschaft.

Literaturverzeichnis

- [1] Making Concrete Change: Innovation in Low-carbon Cement and Concrete, Chatham House – International Affairs Think Tank (2018). <https://www.chathamhouse.org/2018/06/making-concrete-change-innovation-low-carbon-cement-and-concrete> (accessed March 29, 2022).
- [2] M.J. Castro-Alonso, L.E. Montañez-Hernandez, M.A. Sanchez-Muñoz, M.R. Macias Franco, R. Narayanasamy, N. Balagurusamy, Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP) and Its Potential in Bioconcrete: Microbiological and Molecular Concepts, *Frontiers in Materials* 6 (2019). <https://doi.org/10.3389/fmats.2019.00126>.
- [3] J. Zehner, A. Røyne, A. Wentzel, P. Sikorski, Microbial-induced calcium carbonate precipitation: an experimental toolbox for in situ and real time investigation of micro-scale pH evolution, *RSC Adv.* 10 (2020) 20485–20493. <https://doi.org/10.1039/D0RA03897K>.
- [4] T. Ghosh, S. Bhaduri, C. Montemagno, A. Kumar, *Sporosarcina pasteurii* can form nanoscale calcium carbonate crystals on cell surface, *PLoS ONE* 14 (2019) 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210339>.
- [5] V.S. Whiffin, L.A. van Paassen, M.P. Harkes, Microbial Carbonate Precipitation as a Soil Improvement Technique, *Geomicrobiology Journal* 24 (2007) 417–423. <https://doi.org/10.1080/01490450701436505>.
- [6] M.P. Harkes, L.A. van Paassen, J.L. Booster, V.S. Whiffin, M.C.M. van Loosdrecht, Fixation and distribution of bacterial activity in sand to induce carbonate precipitation for ground reinforcement, *Ecological Engineering* 36 (2010) 112–117. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2009.01.004>.
- [7] L.A. van Paassen, R. Ghose, T.J.M. van der Linden, W.R.L. van der Star, M.C.M. van Loosdrecht, Quantifying Biomediated Ground Improvement by Ureolysis: Large-Scale BiogROUT Experiment, *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 136 (2010) 1721–1728. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0000382](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000382).
- [8] X. Deng, Y. Li, H. Liu, Y. Zhao, Y. Yang, X. Xu, X. Cheng, B. de Wit, Examining Energy Consumption and Carbon Emissions of Microbial Induced Carbonate Precipitation Using the Life Cycle Assessment Method, *Sustainability* 13 (2021) 4856. <https://doi.org/10.3390/su13094856>.
- [9] V.S. Whiffin, Microbial CaCO₃ Precipitation for the production of Biocement, (2004). <https://researchrepository.murdoch.edu.au/id/eprint/399/2/02Whole.pdf>.
- [10] L. Cheng, R. Cord-Ruwisch, In situ soil cementation with ureolytic bacteria by surface percolation, *Ecological Engineering* 42 (2012) 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.01.013>.
- [11] L. Cheng, R. Cord-Ruwisch, Upscaling Effects of Soil Improvement by Microbially Induced Calcite Precipitation by Surface Percolation, *Geomicrobiology Journal* 31 (2014) 396–406. <https://doi.org/10.1080/01490451.2013.836579>.
- [12] D. Bernardi, J.T. DeJong, B.M. Montoya, B.C. Martinez, Bio-bricks: Biologically cemented sandstone bricks, *Construction and Building Materials* 55 (2014) 462–469. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2014.01.019>.
- [13] C. Bu, K. Wen, S. Liu, U. Ogbonnaya, L. Li, Development of bio-cemented constructional materials through microbial induced calcite precipitation, *Mater Struct* 51 (2018) 30. <https://doi.org/10.1617/s11527-018-1157-4>.
- [14] L. Cheng, T. Kobayashi, M.A. Shahin, Microbially induced calcite precipitation for production of “bio-bricks” treated at partial saturation condition, *Construction and Building Materials* 231 (2020) 117095. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2019.117095>.
- [15] L. Cheng, M.A. Shahin, Urease active bioslurry: a novel soil improvement approach based on microbially induced carbonate precipitation, *Can. Geotech. J. Editors’ Choice* 01 (2016) 1376–1385. <https://doi.org/10.1139/cgj-2015-0635@cgj-ec.2015.01.issue-5>.

- [16] C. Nething, M. Smirnova, J.A.D. Gröning, W. Haase, A. Stolz, W. Sobek, A method for 3D printing bio-cemented spatial structures using sand and urease active calcium carbonate powder, *Materials & Design* 195 (2020) 109032. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2020.109032>.
- [17] Biolith® from Biomason | Build with Biolith, (2022). <https://biomason.com/biolith> (accessed May 30, 2022).
- [18] F.M. Lapierre, J. Schmid, B. Ederer, N. Ihling, J. Büchs, R. Huber, Revealing nutritional requirements of MICP-relevant *Sporosarcina pasteurii* DSM33 for growth improvement in chemically defined and complex media, *Sci Rep* 10 (2020) 22448. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79904-9>.
- [19] V. Achal, A. Mukherjee, P.C. Basu, M.S. Reddy, Lactose mother liquor as an alternative nutrient source for microbial concrete production by *Sporosarcina pasteurii*, *J Ind Microbiol Biotechnol* 36 (2009) 433–438. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0514-7>.
- [20] O.A. Cuzman, K. Richter, L. Wittig, P. Tiano, Alternative nutrient sources for biotechnological use of *Sporosarcina pasteurii*, *World J Microbiol Biotechnol* 31 (2015) 897–906. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1844-z>.
- [21] L. Cheng, M.A. Shahin, Microbially Induced Calcite Precipitation (MICP) for Soil Stabilization, in: V. Achal, A. Mukherjee (Eds.), *Ecological Wisdom Inspired Restoration Engineering*, Springer, Singapore, 2019: pp. 47–68. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0149-0_3.
- [22] K.A. Gebru, T.G. Kidanemariam, H.K. Gebretinsae, Bio-cement production using microbially induced calcite precipitation (MICP) method: A review, *Chemical Engineering Science* 238 (2021) 116610. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2021.116610>.
- [23] L. Chen, Y. Song, J. Huang, C. Lai, H. Jiao, H. Fang, J. Zhu, X. Song, Critical review of solidification of sandy soil by microbially induced carbonate precipitation (Micp), *Crystals* 11 (2021) 1–32. <https://doi.org/10.3390/cryst11121439>.
- [24] K.K. Martin, H. Khodadadi Tirkolaei, E. Kavazanjian, Mid-scale biocemented soil columns via enzyme-induced carbonate precipitation (EICP), *Soils and Foundations* 61 (2021) 1529–1542. <https://doi.org/10.1016/j.sandf.2021.09.001>.
- [25] M.-J. Cui, H.-J. Lai, T. Hoang, J. Chu, One-phase-low-pH enzyme induced carbonate precipitation (EICP) method for soil improvement, *Acta Geotech.* (2020). <https://doi.org/10.1007/s11440-020-01043-2>.
- [26] M.G. Arab, M. Omar, A. Almajed, Y. Elbaz, A.H. Ahmed, Hybrid technique to produce bio-bricks using enzyme-induced carbonate precipitation (EICP) and sodium alginate biopolymer, *Construction and Building Materials* 284 (2021) 122846. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.122846>.
- [27] A. Balasubramanian, K. Ponnuraj, Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of urease from jack bean (*Canavalia ensiformis*), *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications* 65 (2009) 949–951. <https://doi.org/10.1107/S1744309109031662>.
- [28] K.-H. Schleifer, Phylum XIII. Firmicutes Gibbons and Murray 1978, 5 (Firmacutes [sic] Gibbons and Murray 1978, 5), in: W.B. Whitman (Ed.), *Systematic Bacteriology*, Springer New York, New York, NY, 2009: pp. 19–1317. https://doi.org/10.1007/978-0-387-68489-5_3.
- [29] D. Claus, R.C.W. Berkeley, Genus *Bacillus* Cohn 1872, 174AL, in: P.H.A. Sneath, J.G. Holt (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams & Wilkins, Baltimore, Md., 1986.
- [30] A.I. Omoregie, L.H. Ngu, D.E.L. Ong, P.M. Nissom, Low-cost cultivation of *Sporosarcina pasteurii* strain in food-grade yeast extract medium for microbially induced carbonate precipitation (MICP) application, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 17 (2019) 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.030>.
- [31] A.I. Omoregie, E.A. Palombo, P.M. Nissom, Bioprecipitation of calcium carbonate mediated by ureolysis: A review, *Environmental Engineering Research* 26 (2020) 200379–0. <https://doi.org/10.4491/eer.2020.379>.

- [32] C. Konstantinou, Y. Wang, G. Biscontin, K. Soga, The role of bacterial urease activity on the uniformity of carbonate precipitation profiles of bio-treated coarse sand specimens, *Sci Rep* 11 (2021) 6161. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85712-6>.
- [33] G.W. Black, N.L. Brown, J.J.B. Perry, P.D. Randall, G. Turnbull, M. Zhang, A high-throughput screening method for determining the substrate scope of nitrilases, *Chemical Communications* 51 (2015) 2660–62. <https://doi.org/10.1039/c4cc06021k>.
- [34] P.W. Atkins, Shriver & Atkins' inorganic chemistry / Peter Atkins ... [et al.], 5th ed., Oxford University Press, Oxford ; New York, 2010.
- [35] S. Stocks-Fischer, J.K. Galinat, S.S. Bang, Microbiological precipitation of CaCO₃, *Soil Biology and Biochemistry* 31 (1999) 1563–1571. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00082-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00082-6).
- [36] S. Chaparro, H.A. Rojas, G. Caicedo, G. Romanelli, A. Pineda, R. Luque, J.J. Martínez, Whey as an Alternative Nutrient Medium for Growth of *Sporosarcina pasteurii* and Its Effect on CaCO₃ Polymorphism and Fly Ash Bioconsolidation, *Materials* 14 (2021) 2470. <https://doi.org/10.3390/ma14102470>.
- [37] M. Khanjani, D.J. Westenberg, A. Kumar, H. Ma, Tuning Polymorphs and Morphology of Microbially Induced Calcium Carbonate: Controlling Factors and Underlying Mechanisms, *ACS Omega* 6 (2021) 11988–12003. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00559>.
- [38] S.S. Bang, J.K. Galinat, V. Ramakrishnan, Calcite precipitation induced by polyurethane-immobilized *Bacillus pasteurii*, *Enzyme Microb Technol* 28 (2001) 404–409. [https://doi.org/10.1016/s0141-0229\(00\)00348-3](https://doi.org/10.1016/s0141-0229(00)00348-3).
- [39] B. Lian, Q. Hu, J. Chen, J. Ji, H.H. Teng, Carbonate biomineralization induced by soil bacterium *Bacillus megaterium*, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 22 (2006) 5522–5535. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2006.08.044>.
- [40] A.C. Mitchell, F.G. Ferris, The Influence of *Bacillus pasteurii* on the Nucleation and Growth of Calcium Carbonate, *Geomicrobiology Journal* 23 (2006) 213–226. <https://doi.org/10.1080/01490450600724233>.
- [41] C. Rodriguez-Navarro, C. Jimenez-Lopez, A. Rodriguez-Navarro, M.T. Gonzalez-Muñoz, M. Rodriguez-Gallego, Bacterially mediated mineralization of vaterite, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 71 (2007) 1197–1213. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2006.11.031>.
- [42] S. Al-Thawadi, High strength in-situ biocementation of soil by calcite precipitating locally isolated ureolytic bacteria, phd, Murdoch University, 2008. <https://researchrepository.murdoch.edu.au/id/eprint/721/> (accessed October 6, 2019).
- [43] H. Yi, T. Zheng, Z. Jia, T. Su, C. Wang, Study on the influencing factors and mechanism of calcium carbonate precipitation induced by urease bacteria, *Journal of Crystal Growth* 564 (2021) 126113. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2021.126113>.
- [44] M.O. Cuthbert, M.S. Riley, S. Handley-Sidhu, J.C. Renshaw, D.J. Tobler, V.R. Phoenix, R. Mackay, Controls on the rate of ureolysis and the morphology of carbonate precipitated by *S. Pasteurii* biofilms and limits due to bacterial encapsulation, *Ecological Engineering* 41 (2012) 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.01.008>.
- [45] C.M. Heveran, L. Liang, A. Nagarajan, M.H. Hubler, R. Gill, J.C. Cameron, S.M. Cook, W.V. Srubar, Engineered Ureolytic Microorganisms Can Tailor the Morphology and Nanomechanical Properties of Microbial-Precipitated Calcium Carbonate, *Sci Rep* 9 (2019) 14721. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51133-9>.
- [46] A.A. Dubey, R. Murugan, K. Ravi, A. Mukherjee, N.K. Dhama, Investigation on the Impact of Cementation Media Concentration on Properties of Biocement under Stimulation and Augmentation Approaches, *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste* 26 (2022) 04021050. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)HZ.2153-5515.0000662](https://doi.org/10.1061/(ASCE)HZ.2153-5515.0000662).
- [47] A.C. Saracho, L. Lucherini, M. Hirsch, H.M. Peter, D. Terzis, E. Amstad, L. Laloui, Controlling the calcium carbonate microstructure of engineered living building materials, *J. Mater. Chem. A* 9 (2021) 24438–24451. <https://doi.org/10.1039/D1TA03990C>.

- [48] S. Mann, B.R. Heywood, S. Rajam, J.D. Birchall, Controlled crystallization of CaCO₃ under stearic acid monolayers, *Nature* 334 (1988) 692–695. <https://doi.org/10.1038/334692a0>.
- [49] O. Braissant, G. Cailleau, C. Dupraz, E.P. Verrecchia, Bacterially Induced Mineralization of Calcium Carbonate in Terrestrial Environments: The Role of Exopolysaccharides and Amino Acids, *Journal of Sedimentary Research* 73 (2003) 485–490. <https://doi.org/10.1306/111302730485>.
- [50] K.B. Chekroun, C. Rodríguez-Navarro, M.T. González-Muñoz, J.M. Arias, G. Cultrone, M. Rodríguez-Gallego, Precipitation and Growth Morphology of Calcium Carbonate Induced by *Myxococcus Xanthus*: Implications for Recognition of Bacterial Carbonates, *Journal of Sedimentary Research* 74 (2004) 868–876. <https://doi.org/10.1306/050504740868>.
- [51] T. Bosak, D.K. Newman, Microbial Kinetic Controls on Calcite Morphology in Supersaturated Solutions, *Journal of Sedimentary Research* 75 (2005) 190–199. <https://doi.org/10.2110/jsr.2005.015>.
- [52] A.-J. Xie, Y.-H. Shen, C.-Y. Zhang, Z.-W. Yuan, X.-M. Zhu, Y.-M. Yang, Crystal growth of calcium carbonate with various morphologies in different amino acid systems, *Journal of Crystal Growth* 285 (2005) 436–443. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2005.08.039>.
- [53] C. Rodríguez-Navarro, F. Jroundi, M. Schiro, E. Ruiz-Agudo, M.T. González-Muñoz, Influence of substrate mineralogy on bacterial mineralization of calcium carbonate: Implications for stone conservation, *Applied and Environmental Microbiology* 78 (2012) 4017–4029. <https://doi.org/10.1128/AEM.07044-11>.
- [54] X. Wang, J. Tao, R. Bao, T. Tran, S. Tucker-Kulesza, Surficial Soil Stabilization against Water-Induced Erosion Using Polymer-Modified Microbially Induced Carbonate Precipitation, *Journal of Materials in Civil Engineering* 30 (2018) 04018267. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)MT.1943-5533.0002490](https://doi.org/10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0002490).
- [55] Y. Li, K. Wen, L. Li, W. Huang, C. Bu, F. Amini, Experimental investigation on compression resistance of bio-bricks, *Construction and Building Materials* 265 (2020) 120751. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2020.120751>.
- [56] B.J. Reeksting, T.D. Hoffmann, L. Tan, K. Paine, S. Gebhard, In-Depth Profiling of Calcite Precipitation by Environmental Bacteria Reveals Fundamental Mechanistic Differences with Relevance to Application, *Appl. Environ. Microbiol.* 86 (2020). <https://doi.org/10.1128/AEM.02739-19>.
- [57] M. Huang, K. Xu, C. Xu, G. Jin, S. Guo, Micromechanical Properties of Biocemented Shale Soils Analyzed Using Nanoindentation Test, *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 147 (2021) 04021157. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0002653](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0002653).
- [58] O. Grassmann, P. Löbmann, Biomimetic nucleation and growth of CaCO₃ in hydrogels incorporating carboxylate groups, *Biomaterials* 25 (2004) 277–282. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00526-x](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00526-x).
- [59] J.D. Rodriguez-Blanco, S. Shaw, L.G. Benning, The kinetics and mechanisms of amorphous calcium carbonate (ACC) crystallization to calcite, vivavaterite., *Nanoscale* 3 (2011) 265–271. <https://doi.org/10.1039/C0NR00589D>.
- [60] J.D. Rodriguez-Blanco, S. Shaw, P. Bots, T. Roncal-Herrero, L.G. Benning, The role of pH and Mg on the stability and crystallization of amorphous calcium carbonate, *Journal of Alloys and Compounds* 536 (2012) S477–S479. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2011.11.057>.
- [61] M. Kitamura, Crystallization and transformation mechanism of calcium carbonate polymorphs and the effect of magnesium ion, *Journal of Colloid and Interface Science* 236 (2001) 318–327. <https://doi.org/10.1006/jcis.2000.7398>.
- [62] Y. Xiao, C. Zhao, Y. Sun, S. Wang, H. Wu, H. Chen, H. Liu, Compression behavior of MICP-treated sand with various gradations, *Acta Geotech.* 16 (2021) 1391–1400. <https://doi.org/10.1007/s11440-020-01116-2>.
- [63] L. Cheng, M.A. Shahin, D. Mujah, Influence of Key Environmental Conditions on Microbially Induced Cementation for Soil Stabilization, *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* 143 (2017) 04016083. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0001586](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0001586).
- [64] H. Jamshaid, R. Mishra, A green material from rock: basalt fiber – a review, *The Journal of The Textile Institute* 107 (2016) 923–937. <https://doi.org/10.1080/00405000.2015.1071940>.

- [65] B. Kromoser, Ressourceneffizientes Bauen mit Betonfertigteilen Material – Struktur – Herstellung, in: Beton Kalender 2021, John Wiley & Sons, Ltd, 2021: pp. 305–356. <https://doi.org/10.1002/9783433610206.ch3>.
- [66] A. Wexler, S. Hasegawa, Relative humidity-temperature relationships of some saturated salt solutions in the temperature range 0 degree to 50 degrees C, Journal of Research of the National Bureau of Standards 53 (1954) 19. <https://doi.org/10.6028/jres.053.003>.
- [67] A. Al Qabany, K. Soga, C. Santamarina, Factors Affecting Efficiency of Microbially Induced Calcite Precipitation, Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering 138 (2012) 992–1001. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)GT.1943-5606.0000666](https://doi.org/10.1061/(ASCE)GT.1943-5606.0000666).
- [68] M.G. Gomez, J.T. DeJong, Engineering Properties of Bio-Cementation Improved Sandy Soils, in: Grouting 2017, American Society of Civil Engineers, Honolulu, Hawaii, 2017: pp. 23–33. <https://doi.org/10.1061/9780784480793.003>.
- [69] A.U. Kuhlmann, E. Bremer, Osmotically regulated synthesis of the compatible solute ectoine in *Bacillus pasteurii* and related *Bacillus* spp, Appl Environ Microbiol 68 (2002) 772–783. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.2.772-783.2002>.
- [70] H. Tanguler, H. Erten, Utilisation of spent brewer's yeast for yeast extract production by autolysis: The effect of temperature, Food and Bioproducts Processing 86 (2008) 317–321. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2007.10.015>.
- [71] A.F. Schmalreck, M. Teuber, W. Reininger, A. Hartl, Structural features determining the antibiotic potencies of natural and synthetic hop bitter resins, their precursors and derivatives, Can. J. Microbiol. 21 (1975) 205–212. <https://doi.org/10.1139/m75-029>.
- [72] M. Gutiérrez-Larraínzar, J. Rúa, I. Caro, C. de Castro, D. de Arriaga, M.R. García-Armesto, P. del Valle, Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of natural phenolic compounds against foodborne pathogens and spoilage bacteria, Food Control 26 (2012) 555–563. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.025>.
- [73] H. Cetin-Karaca, M.C. Newman, Antimicrobial efficacy of plant phenolic compounds against *Salmonella* and *Escherichia Coli*, Food Bioscience 11 (2015) 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.03.002>.
- [74] B. Pérez-Bibbins, A. Torrado-Agrasar, N. Pérez-Rodríguez, M.G. Aguilar-Uscanga, J.M. Domínguez, Evaluation of the liquid, solid and total fractions of beer, cider and wine lees as economic nutrient for xylitol production, Journal of Chemical Technology & Biotechnology 90 (2015) 1027–1039. <https://doi.org/10.1002/jctb.4405>.
- [75] H. Wei, K. Wen, S. Liu, L. Li, F. Amini, Development of light-weight hollow constructional materials through microbial-induced calcium carbonate precipitation, Arab J Geosci 14 (2021) 2066. <https://doi.org/10.1007/s12517-021-08478-1>.
- [76] D. Kovaleva, O. Gericke, J. Kappes, W. Sobek, Rosenstein Pavilion Design and fabrication of a functionally graded concrete shell, (2018). <https://www.ingentaconnect.com/content/iass/piass/2018/00002018/00000005/art00016> (accessed October 6, 2019).
- [77] N. Erdmann, F. Kästner, K. de Payrebrune, D. Strieth, *Sporosarcina pasteurii* can be used to print a layer of calcium carbonate, Engineering in Life Sciences 22 (2022) 760–768. <https://doi.org/10.1002/elsc.202100074>.
- [78] B. Iezzi, R. Brady, S. Sardag, B. Eu, S. Skerlos, Growing bricks: Assessing biocement for lower embodied carbon structures, Procedia CIRP 80 (2019) 470–475. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2019.01.061>.
- [79] A. Myhr, F. Røyne, A.S. Brandtsegg, C. Bjerkseter, H. Throne-Holst, A. Borch, A. Wentzel, A. Røyne, Towards a low CO2 emission building material employing bacterial metabolism (2/2): Prospects for global warming potential reduction in the concrete industry, PLOS ONE 14 (2019) e0208643. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208643>.

-
- [80] V. Achal, A. Mukherjee, A review of microbial precipitation for sustainable construction, *Construction and Building Materials* 93 (2015) 1224–1235. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2015.04.051>.
- [81] S. Liang, J. Chen, J. Niu, X. Gong, D. Feng, Using recycled calcium sources to solidify sandy soil through microbial induced carbonate precipitation, *Marine Georesources & Geotechnology* 38 (2020) 393–399. <https://doi.org/10.1080/1064119X.2019.1575939>.
- [82] C.C. Casas, C.J. Schaschke, J.C. Akunna, M.E. Jorat, Dissolution experiments on dolerite quarry fines at low liquid-to-solid ratio: a source of calcium for MICP, *Environmental Geotechnics* (2019) 1–9. <https://doi.org/10.1680/jenge.19.00067>.
- [83] A. Røyne, Y.J. Phua, S.B. Le, I.G. Eikjeland, K.D. Josefsen, S. Markussen, A. Myhr, H. Throne-Holst, P. Sikorski, A. Wentzel, Towards a low CO₂ emission building material employing bacterial metabolism (1/2): The bacterial system and prototype production, *PLOS ONE* 14 (2019) e0212990. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212990>.
- [84] S.E. Lambert, D.G. Randall, Manufacturing bio-bricks using microbial induced calcium carbonate precipitation and human urine, *Water Research* 160 (2019) 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.069>.
- [85] G.K. Dosier, J.M. Dosier, K.J. Smith, Biocementation Methods and Systems, US20190106716A1, 2019. <https://patents.google.com/patent/US20190106716A1/en> (accessed February 21, 2021).

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Anzahl der Forschungsarbeiten mit dem Schlüsselwort „MICP“	9
Abbildung 2	Anwendung von MICP für die Bodenbefestigung, schematische Darstellung	9
Abbildung 3	Verschiedene Verfahrenskonzepte bei der Biozementierung	10
Abbildung 4	Eigene Vorarbeiten zum Projektbeginn, ILEK	17
Abbildung 5	Projektverlauf	20
Abbildung 6	Schematische Darstellung der MICP durch <i>Sporosarcina pasteurii</i>	22
Abbildung 7	Herstellung des UACP	24
Abbildung 8	Urease-Aktivitäten in UACP (Herstellung unter verschiedenen Bedingungen)	25
Abbildung 9	Herstellung von UACP mit unterschiedlichen Urease-Aktivitäten	26
Abbildung 10	Röntgenbeugungsdiagramm einer UACP-Probe	29
Abbildung 11	Rasterelektronenmikroskopie des UACP	30
Abbildung 12	Bestandteile eine Biobeton-Mischung - UACP und Sand	31
Abbildung 13	Sieblinie für die „Mischung 1“ (blau) und die optimale Sieblinie nach Andreassen (rot)	32
Abbildung 14	Sieblinie für die „Mischung 2“ (blau) und die optimale Sieblinie nach Andreassen (rot)	33
Abbildung 15	Skizze zur Erklärung des S/V_p Verhältnisses (Surface to Volume Ratio)	34
Abbildung 16	Verdichtungstest mittels pneumatischen Luftkolbenverdichters	34
Abbildung 17	Volumenanteile einzelner Komponenten in den ausgewählten Mischungen	36
Abbildung 18	Herstellung von Probekörpern aus Biobeton mittels Perkolation	37
Abbildung 19	Aufbau und Funktionsprinzip der automatisierten Zementierungseinrichtung	38
Abbildung 20	Hergestellte Probenkörper	39
Abbildung 21	Zementierte Probekörper mit unterschiedlichen Massenanteilen an UACP	40
Abbildung 22	Herstellung von UACP mit unterschiedlichen Urease-Aktivitäten	41
Abbildung 23	Einfluss der Urease-Aktivität auf die Zementierungstiefe	41
Abbildung 24	Einfluss unterschiedlicher Urease-Aktivitäten auf die Verfestigung von Probekörpern	42
Abbildung 25	Zementierungsversuch mit verschiedenen pH-Werten der Zementierungslösungen	43
Abbildung 26	Veränderung des pH-Wertes der Zementierungslösung nach der Zugabe von UACP	43
Abbildung 27	Zementierte Probekörper mit verschiedenen Sandkorngrößen	44
Abbildung 28	Aussehen zementierter Proben identischer Zusammensetzung,	45
Abbildung 29	Unterschiedliche Konzepte zur Zufuhr von Zementierungslösungen	46
Abbildung 30	Nutzung einer „Starthilfe“ bei der Perkolation von oben	47
Abbildung 31	Funktionsschema der untersuchten Druck-basierten Herstellungsverfahren	49
Abbildung 32	Automatisierte Zementierungseinrichtung für druckregulierte Biozementierung	50
Abbildung 33	Algorithmischer Ablauf der Biozementierung	51

Abbildung 34	Volumenanteile der einzelnen Phasen in den Mischungen	52
Abbildung 35	Herstellung von Probekörpern	53
Abbildung 36	Automatisierte Zementierungseinrichtung für druckregulierte Biozementierung	54
Abbildung 37	Im Rahmen der druckregulierten Biozementierung erhaltene Testkörper	55
Abbildung 38	Im Rahmen der druckregulierten Biozementierung erhaltene Testkörper	56
Abbildung 39	Im Rahmen der druckregulierten Biozementierung erhaltene Testkörper	57
Abbildung 40	Verbesserung der Schichtenbindung	57
Abbildung 41	Zementierungstiefe der erhaltenen Testkörper	58
Abbildung 42	Zunahme der Schalungsgewichte	59
Abbildung 43	Veränderung der Durchflussraten	60
Abbildung 44	Veränderung der Ammonium-Konzentrationen in der Abflusslösung	61
Abbildung 45	Veränderung der Harnstoff-Konzentrationen in der Abflusslösung	62
Abbildung 46	Veränderung der Calcium-Konzentrationen in der Abflusslösung	63
Abbildung 47	Prototypisches Kolbenpumpensystem	65
Abbildung 48	Zementierungsvorrichtung mit einer Kolbenpumpe	66
Abbildung 49	Einbringung von Basaltfaserstäben mit oder ohne Verbund	67
Abbildung 50	Geplanter 3-Punkt-Biegeversuch, schematische Darstellung	67
Abbildung 51	Vorspannung von Basaltfaserbewehrung	68
Abbildung 52	Herstellung von Balken aus Biobeton mit vorgespannter Basaltfaserbewehrung	69
Abbildung 53	Lösen der Vorspannung des Basaltfaserstabes	70
Abbildung 54	Biomineralisierte Basaltfaserstäbe	70
Abbildung 55	Auszugversuch mit Basaltfaserstäben	71
Abbildung 56	Veränderung der Urease-Aktivität von UACP	73
Abbildung 57	Veränderung der Druckfestigkeit der zementierten Probekörper	74
Abbildung 58	Vergleich der Druckfestigkeit der zementierten Probekörper	75
Abbildung 59	Untersuchung des Wachstums (OD600) und der Urease-Bildung von <i>S. pasteurii</i>	78
Abbildung 60	Prozessablauf, 3D-Druck mittels Biominalisierung - Schematische Darstellung	80
Abbildung 61	Prototypische 3D-Druck-Anlage	81
Abbildung 62	Parametrisierung und Pfaderzeugung im Rhinoceros 3D-Plugin Grasshopper	81
Abbildung 63	Druckvorgang mit prototypischer 3D-Druck-Anlage	82
Abbildung 64	Fluten der gedruckten Struktur mit Zementierungslösung	83
Abbildung 65	Parameterstudien, Variieren der Ionenkonzentration im Gesteinsgemisch	83
Abbildung 66	Parameterstudien, gedruckte Geometrien	85
Abbildung 67	Konzentrationserhöhung in der Zufuhrlösung bei der Mischung 2	86
Abbildung 68	Mischung 2, Biominalisierung ohne externe Zufuhr	87

Abbildung 69 Mischung 2, Biomineralisierung ohne externe Zufuhr	87
Abbildung 70 Zusammensetzung der Chemikalienkosten der Biobetonherstellung	89

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Zusammensetzung der „Mischung 1“	32
Tabelle 2	Zusammensetzung der „Mischung 2“	33
Tabelle 3	Verdichtungstest - homogene Sandgrößen und „Mischung 1“, 5 bar	35
Tabelle 4	Ausgewählte Mischungen (Sandanteile Mischung 2), Verdichtung mit 6 bar	35
Tabelle 5	Porosität Φ_z und Verhältnis S_z/V_p für Sand-Mischungen mit verschiedenen Korngrößen	44
Tabelle 6	Identifizierte Einflussparameter bei der Perkolation	48
Tabelle 7	Identifizierte Einflussparameter bei der Perkolation	64

Anlage - Symbole

	Pumpe
	Kompressor
	Druckregler
	Magnetventil
	Drucksensor
	Waage
	Mikrocontroller
	Offener Behälter
	Druckbehälter