



Zwischenbericht

Geobiotechnologie: Innovative Verfahren zur Gewinnung Seltener Erden und anderer Wertmetalle aus hochverdünnten Lösungen durch mikroalgenbasierte Bioadsorption

Prof. Dr. Rainer Buchholz*, Prof. Dr. Thomas Brück,
Dr. Anna Becker*, Marcus Heilmann, M. Sc.*, Dipl.-Ing. Wojciech Jurkowski**,**

*Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Paul-
Gordan Straße 3, 91052 Erlangen

und

**Fachgebiet Industrielle Biokatalyse, Technische Universität München, Fakultät der Chemie,
Lichtenbergstraße 4, 85748 Garching



Gliederung

- 1 Abstrakt
- 2 Aufgabenstellung
- 3 Umfassende Dokumentation und wissenschaftliche Auswertung der verwendeten Literatur
- 4 Voraussetzungen, unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden
- 5 Planung und Ablauf der Arbeiten
- 6 Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung
- 7 Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden
- 8 Während der Durchführung des Projekts der Universität bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen
- 9 Darstellung und Bewertung der erzielten Ergebnisse und ihrer praktischen Anwendbarkeit und Nennung der Unternehmenskooperationen (aktueller Stand)
- 10 Veröffentlichungen der Ergebnisse
- 11 Zusammenfassung
- 12 Ausblick
- 13 Veröffentlichungsliste
- 14 Literatur



1. Abstract

Mikroalgen und andere photoautotrophe Mikroorganismen sind auf dem Gebiet der Bindung von Metallionen aus wässrigen Lösungen seit vielen Jahren Gegenstand der Forschung. In diesem Projekt sollen diese Erkenntnisse auf Seltene Erden adaptiert werden. Ein breitangelegtes Screening diverser Spezies (33) zeigt die grundsätzliche Eignung der Bioorganismen und gleichzeitig konnten die besten Vertreter identifiziert werden: *Physcomitrella patens*, *Chlorella kessleri*, *Calothrix brevissima* und mit Abstrichen *Monoraphidium braunii* und *Scenedesmus obtusiusculus*. Mittels Adsorptionsisothermen konnte für diese Vertreter die Eignung auch bei sehr kleinen Konzentrationen der Zielmetalle gezeigt und durch pH-Variation konnte die Sorptionskapazität zum Teil mehr als verdoppelt werden. Selektivitätsuntersuchungen brachten zutage, dass Nd und auch Eu in Gegenwart auch größerer Konzentrationen von Ni und, mit Abstrichen, Fe und Cu selektiv gebunden werden können. Lediglich die Affinität gegenüber Pb ist erhöht, verglichen zu Nd und Eu, sodass dieses Metall in Mischwässern gemieden werden sollte. Erste dynamische Versuche zeigten zwar eine leicht erniedrigte Sorptionskapazität verglichen zum statischen Fall, nichtsdestotrotz mildert diese Tatsache die Leistungsfähigkeit des Verfahrens nur geringfügig. Eine Desorption nach vollständiger Beladung mit Nd konnte durch geeigneten Einsatz von EDTA und Citrat erreicht werden. Dies ermöglicht nicht nur die Regeneration des Adsorbers, sondern auch eine Aufkonzentrierung der zuvor hochverdünnten Lösungen. Um die Beladung der eingesetzten Bioorganismen besser zu verstehen und diese zu optimieren, wurden diverse Untersuchungen bezüglich der Sorptionsmechanismen angestellt.



2 Aufgabenstellung

Im Rahmen des vorliegenden Projektes sollen neue mikroalgenbasierte Verfahren zur ökonomischen und ökologischen Wertmetall- und Seltenerdgewinnung entwickelt werden, um die nachhaltige Rohstoffversorgung für die bayerische Hochtechnologie durch Nutzung unkonventioneller Quellen (z.B. Bergbauabraumhalden, Sickerwässer, Wässer aus der Hydrothermalen Geothermie, Elektroschrott nach Aufschluss etc.) zu sichern. Dabei ist das Hauptziel des Projektes, einen Prototyp einer Festbett-Kartusche zur Anreicherung der Metallionen aus hochverdünnten Lösungen mit immobilisierter Algenbiomasse auszulegen und dessen Potenzial zu charakterisieren.

Um das Hauptziel zu erreichen, mussten zuerst die Algenspezies mit sehr guter Sorptionskapazität und selektiver Metallanreicherung identifiziert werden. Dazu wurde ein breit angelegtes Algenscreening durchgeführt. Gleichzeitig wurden geeignete Methoden zum Nachweis der Seltenen Erden (engl. *rare earth elements*, REEs) in der Algenbiomasse und in Lösung etabliert, die beim Algenscreening Anwendung fanden. Parallel dazu wurden Versuche durchgeführt, um den Sorptionsmechanismus für ausgesuchte Organismen aufzuklären, wobei zunächst Titrations-, FTIR-Spektroskopische und fluorimetrische Methoden eingesetzt wurden. Darüber hinaus wurde die Sorption (Bestimmung der Bindungskapazitäten, Adsorptionsisothermen, kinetische Untersuchungen, Selektivitätsuntersuchungen, etc.) und Bioakkumulation im Detail charakterisiert. Des Weiteren werden bislang durchgeführte Experimente auf reale Wässer adaptiert und Möglichkeiten der Desorption der REEs aus der Algenbiomasse untersucht werden. Schließlich wird die Biomasseherstellung der ausgewählten Algenspezies optimiert und eine kleine Kartusche zur Metallanreicherung konstruiert und charakterisiert. Für die Verwendung der Algenbiomasse in kontinuierlichen Festbettreaktoren muss diese so immobilisiert werden, dass sie im Reaktor verbleibt und nicht später abfiltriert werden muss. Es muss außerdem gewährleistet sein, dass sie schüttfähig ist und eine durchströmbare Packung ergibt. Schlussendlich wird in der letzten Projektphase die erste Abschätzung des Potenzials des entwickelten Verfahrens aus technischen und ökonomischen Gesichtspunkten durchgeführt.

3 Umfassende Dokumentation und wissenschaftliche Auswertung der verwendeten Literatur

Um den steigenden Bedarf auch in Zukunft nachhaltig decken zu können, müssen sowohl neue Abbau- und Recyclingstrategien als auch Technologien, die die Gewinnung der REEs aus alternativen Quellen ermöglichen, entwickelt werden. Das hier dargestellte Projekt wird vor Allem dem letzten Aspekt gewidmet.

Die in diesem Projekt beabsichtigte Gewinnung der REEs und anderer Wertmetalle mittels Mikroalgenbiomasse basiert auf den Erkenntnissen, die aus der Dekontamination von Abwasser von Schwermetallionen gesammelt wurden^[1]. Diese Ideen sind nicht neu, bereits 1988 stellten Kuyacak und Volesky ^[2] die Möglichkeiten einer Behandlung von wässrigen industriellen Abwässern zum Zweck der Schwermetallentfernung zusammen. In anderen Arbeiten von Wilke ^[3,4] und Klimmek ^[5] konnte gezeigt werden, dass Mikroalgen Schwermetalle spezifisch aus wässrigen Lösungen binden können.

Diese Erkenntnis soll in dem Projekt auf die Elemente der Seltenen Erden und anderer Wertmetalle adaptiert werden, um diese schlussendlich aus hochverdünnten Abwässern aufzukonzentrieren. Da reale Wässer durchaus ein weites pH-Spektrum haben können, sollen



hier Spezies identifiziert werden, die eine pH-unabhängige, möglichst hohe Sorptionskapazität der Seltenen Erden aufweisen.

Mikroalgen und andere phototrophe Mikroorganismen haben gegenüber der Verwendung bakterieller und mykotischer Biomasse den Vorteil, dass sie CO₂ als alleinige Kohlenstoffquelle nutzen können um es mit Hilfe des Sonnenlichtes in Biomasse umzuwandeln. Dabei haben sie im Vergleich zu Landpflanzen deutlich höhere Produktivitäten (Faktor 5 bis 10) [6]. Zusätzlich finden Mikroalgen immer mehr industrielle Anwendungen, z.B. in der Lebensmittelindustrie als Quelle vieler bioaktiver Produkte oder in der Produktion von Pharmazeutika. Weiterhin liegen die neuere Anwendungen von Mikroalgenbiomasse in der adsorptiven Entfernung von Farbstoffen wie Malachitgrün oder Methylenblau aus wässrigen Lösungen, da diese sonst nur sehr aufwändig wiedergewonnen werden können^[7-10].

Mikroalgen lassen sich in offenen und geschlossenen Systemen und auch unter Verwertung von Abfallströmen (z.B. CO₂ aus Kraftwerken, Abwasser aus Aquakulturen) kultivieren [11]. Die zum Teil sehr hohen Kultivierungs- und Aufbereitungskosten der Biomasse können durch Nutzung dieser Restströme, auch jener Restbiomasse nach der Extraktion anderer Wertstoffe, kompensiert werden.

Die wichtigsten, grundlegenden physikalischen Prozesse der Metallionenbindung wie Ionenaustausch, Komplexierung und Präzipitation sind bekannt [1,5,12]. Reale Bedingungen können jedoch nicht immer in diskreten Mechanismen dargestellt werden, es liegen mitunter Kombinationen mehrerer potenzieller Erklärungsansätze vor. Verschiedene terminale funktionelle Gruppen auf der Oberfläche der Biomasse vermögen Ionen unterschiedlich stark zu binden. Weiterhin nimmt auch die chemische Umgebung dieser funktionellen Gruppen Einfluss auf die Bindungsstärke von Metallionen, diese wiederum wird durch den pH-Wert der sie umgebenden Lösung bedingt. Deshalb stellt sich die komplette Aufklärung aller zugrundeliegenden Mechanismen als sehr komplex, sogar unlösbar dar. Anknüpfungspunkte in Form von Adsorptionsisothermen, infrarotspektroskopischen Untersuchungen und Säure-Base-Titrationen der Biomasse werden in der Literatur beschrieben^[13-18].

Der Mechanismus bzw. die Kombination vieler Mechanismen der Sorption in solch komplexen, biologischen Systemen wie der Oberfläche einer Mikroalge ist bzw. sind nicht immer genau charakterisiert und Gegenstand aktueller Forschung. Dieses Wissen wiederum ist entscheidend für eine sich anschließende Bewertung selektiver Bindungen von Metallen und einer potentiellen Desorption dieser von der Biomatrix.

4 Voraussetzungen, unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden

Um die für die Biosorption geeigneten Spezies zu identifizieren, wurde am Anfang des Projektes ein breitgefächertes Screening durchgeführt. Dabei wurden 33 Organismen auf deren maximale Sorptionskapazität für Neodym und Europium untersucht. Die beiden Metalle wurden als besonders interessante Vertreter der REEs eingestuft und daher beispielhaft für die ersten Versuche eingesetzt. Aufgrund der chemischen Ähnlichkeit ist ein vergleichbares Verhalten auch gegenüber anderen Metallen der REEs zu erwarten. Da die Projektpartner, bedingt durch deren Vorarbeiten mit Algen, über eigene Stammsammlungen verfügen, wurden als erstes die in den Zellbanken enthaltene Spezies für das Screening herangezogen. Des Weiteren wurden auch neue Stämme zugekauft, die nach Auswertung einschlägiger Literatur besonders interessant für die beabsichtigte Anwendung schienen. Nach den ersten positiven Ergebnissen mit dem Moos *Physcomitrella patens* wurden auch andere Moosstämme der Untersuchung unterzogen.



Ziel des Screenings war, diejenigen Spezies zu identifizieren die besonders hohe Affinität gegenüber den Zielmetallen aufweisen, um sie später für deren Eignung für die Biosorption in dem geplanten Verfahren eingehender zu untersuchen. Dabei müssen nicht nur Rohstoffe, die als Sorbenzmaterial dienen sollen, sondern auch jene, die als Quelle der REEs berücksichtigt werden. Als Anwendungsgebiet der Technologie kommen wässrige metallbelastete Lösungen wie Bergbau-, Sicker-, Geothermal- oder Industrieabwässer in Betracht. Solche Quellen müssen grundsätzlich einen sauren pH-Wert aufweisen, damit die gesuchten Metalle sich ausreichend gut darin lösen können. Darüber hinaus sind neben den REEs in solchen Wässern auch andere Schwermetallionen zu erwarten, somit muss die Technologie selektiv genug sein um eine bevorzugte Anreicherung der Zielstoffe zu gewährleisten.

In Rahmen der Arbeiten wurde es angestrebt Wasser mit REE-Konzentrationen im nM-Bereich zu erschließen. Damit ist das Verfahren nicht als Konkurrenz zu klassischen metallurgischen Methoden anzusehen, die bei so geringen Konzentrationen kaum wirtschaftlich wären. Viel mehr ist das Ziel eine Vorkonzentrierung der Metalle aus bisher nicht in Erwägung gezogenen Quellen zu schaffen.

Als potentielle Quelle der REEs wurden für die Arbeiten Sickerwasserproben aus Abraumhalden in Kasachstan beschafft und deren Zusammensetzung bestimmt. Ausgehend von den daraus gewonnenen Erkenntnissen soll dann die Optimierung der Biosorption mit Hilfe ausgewählter Spezies und Prozessparameter im Hinblick auf mögliche Störstoffe wie Eisen, Calcium oder Blei, aber auch Thorium und Uran, die unbedingt im Endprodukt vermieden werden sollten, durchgeführt werden.

Eine weitere wichtige Voraussetzung für die Machbarkeit des geplanten Verfahrens ist die Kultivierbarkeit der Spezies, die für die Biosorption eingesetzt werden sollen. Dabei werden auch Spezies, deren Produktion bereits für andere Zwecke im großen Maßstab erfolgt und dessen Restbiomasse (Nebenprodukt aus dem Prozess) weiter für unseren Prozess verwendet werden könnte.

Neben der Prototypentwicklung sollen die Sorptionsmechanismen aufgeklärt werden z.B. mit Hilfe von mehrfach beschriebenen Lumineszenz der REEs, um die optimale Steuerung des Verfahrens zu ermöglichen ^[19].

5 Planung und Ablauf der Arbeiten

Um die Ziele des Projektes zu erreichen wurden die einzelnen Aufgaben in sechs Arbeitspaketen untergliedert und zwischen den Projektpartnern aufgeteilt (siehe **Tabelle 1**).

Um eine engere Auswahl der geeigneten Organismen treffen zu können musste als erstes eine Screening-Methode etabliert werden. Als besonders geeignet erwies sich hierfür die auf der Komplexierung von Schwermetallen beruhende kolorimetrische Nachweismethode mittels Xylenorange (siehe **Punkt 7.1**). Diese Methode wurde zum größten Teil für die Screening verschiedenen photoautotrophen Organismen eingesetzt um deren maximale Sorptionskapazität aus einfachen Lösungen für Neodym und Europium zu ermitteln. Mit dieser wurde auch ein Großteil des Screenings in Bezug auf einfache Lösungen von Neodym und Europium durchgeführt. Komplementär dazu wurde auch eine direkte, lumineszenz-basierende Nachweismethode entwickelt, die besonders für komplexe Lösungen, wie sie etwa für die Bestimmung der Selektivität anwendbar sind, geeignet ist. Parallel dazu wurden auch im Rahmen einer Kooperation mit dem GeoZentrum Nordbayern in Erlangen Konzentrationsbestimmungen mittels induktiv gekoppeltem Plasma mit Massenspektrometrie (ICP-MS) durchgeführt.



Tabelle 1: Arbeitsprogramm des Projektes

Quartal	2015				2016				2017				2018
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1
AP 1: Algen-Screening auf REE-Adsorptionspotential (BVT)	X	X	X	X	X								
AP 2: Entwicklung v. Nachweismethoden für zellulare Anreicherung (IBK)		X	X	X	X	X							
AP 3: Untersuchung der Adsorption der REE an Algenbiomasse (BVT)		X	X	X	X	X	X	X	X	X			
AP 4: Untersuchungen und Optimierung der Biomasseproduktion (BVT)			X	X	X	X	X	X	X	X			
AP 5: Aufklärung der molekularen Mechanismen der Metallanreicherung (IBK)						X	X	X	X	X	X	X	
AP 6: Entwurf der Metallanreicherungsanlage (BVT)							X	X	X	X	X		
Endbericht (BVT Q4 2017 & IBK Q1 2018)												X	X

Das ursprünglich nur auf Mikroalgen konzentrierte Screening umfasste letztendlich 9 Cyanobakterien, 20 Grünalgen, 2 Rotalgen, 1 Braunalge, 1 Moos und 2 Makroalgen. Es wurde sowohl für Neodym als auch für Europium mittels Xylenolorange durchgeführt und mit beiden anderen Methoden für viele Spezies mit guter Übereinstimmung der Ergebnisse wiederholt. Mehrere Spezies wurden auch über die Lumineszenz-Methode auf deren Sorptionskapazität für Cer untersucht.

Fünf Spezies wurden im Screening als viel versprechende für die Biosorption von REEs identifiziert und für weitere Versuche ausgewählt. Anschließend wurde die Kinetik der Biosorption untersucht um festzustellen, nach welcher Zeit die maximale Beladung der Biomasse erreicht wird. Um die Sorption zu charakterisieren wurden Versuchen bei unterschiedlichen pH-Werten durchgeführt sowie konzentrationsabhängige Sorptionsisothermen aufgestellt. Auch wurde die Selektivität der ausgesuchten Organismen auf die Zielmetalle durch Einführung eines zweiten Metalls, wie Ni, Cu, Pb, Co, Ca und Fe, in die Lösung untersucht. Im nächsten Schritt wurden Sorptionsversuche mit Multikomponentenmischungen aus REEs und anderen Metallen durchgeführt.

Neben weiteren Versuchen zur Aufklärung des Sorptionsmechanismus werden im letzten Projektjahr die Kultivierung der Biomassen der ausgesuchten Spezies optimiert sowie weitergehende Untersuchungen mit einfachen Modell-/Realproben realisiert (z.B. Untersuchung der dynamischen Bindung, Immobilisierung der Biomasse, Desorption) die zur Entwicklung des Prototyps führen.



6 Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung

Seltene Erden werden vor Allem in neuartigen Anwendungen unserer heutigen Hochtechnologie wie zum Beispiel der Kommunikationstechnologie (Smartphones, GPS-Navigation etc.), der Automobilindustrie (Hybrid- und Elektrofahrzeuge etc.), der Glas- und Keramikverarbeitung und Energieerzeugung aus erneuerbaren Energieträgern (Solarzellen, Windkraftanlagen etc.) eingesetzt und ermöglichen so erst deren enorme Leistungsfähigkeit ^[20] ^[21]. Der globale Bedarf sollte in diesem Jahr 210.000 Tonnen erreicht haben^[22] und wird seit 1980 zu bis zu 97 % von China gedeckt ^[23-25].

Nach der Internationalen Union für reine und angewandte Chemie (englisch: *International Union of Pure and Applied Chemistry*, IUPAC) fasst man REEs als Gruppe bestehend aus den Lanthanoiden und Yttrium und Scandium zusammen. Grundlagen dieser Klassifizierung sind die sehr ähnlichen chemischen Eigenschaften der Lanthanoide, die sich lediglich in der Elektronenverteilung ihrer Valenzschalen, der f-Orbitale, unterscheiden.

Aufgrund dieser chemischen Ähnlichkeit dieser Elementgruppe treten alle Vertreter der REEs meist in Mischungen miteinander auf. Des Weiteren sind diese in unserer Erdkruste sehr gleichmäßig verteilt, es gibt nur vereinzelt Lagerstätten, die Konzentrationen von knapp 10 Gew. % an REE-oxiden enthalten ^[26].

Alternative Quellen wie REE-adsorbierende Tone, die als REE-reich gelten, erreichen lediglich bis zu 0,1 Gew.% REE ^[17]. Deshalb muss für einen Abbau von REEs sehr viel Erdreich bewegt werden, was auch immer mit der Förderung unerwünschter Nebenprodukte wie Schwermetalle, Säuren, Fluoride und radioaktiven Materials einhergeht ^[23,27]. Heutzutage sind zwar auch in China schonendere Methoden im Einsatz, (dritte Generation des „*in situ leaching*“ mit Ammonium-Sulfat), allerdings dringt bei dieser Methode die metall- und ammoniumhaltige Lauge in den Boden und das Grundwasser ein ^[28]. Außerdem erfordert eine adäquate Abtrennung der REEs von unerwünschten Nebenprodukten diverse Prozessschritte, die ihrerseits wieder neue problematische Restprodukte liefern ^[29]. Klassischer Bergbau ist wesentlich umweltverträglicher, kann aber mit den niedrigen Preisen des Leachings nicht konkurrieren, weswegen beispielsweise das Bergwerk in Mountain Pass in den USA geschlossen wurde. Nichts desto trotz entstehen auch hier kontaminierte, jedoch noch metallhaltige Abfälle: Wasser, Gestein und Staub ^[26].

Nach dem Abbau und Zerkleinerung erfolgt die Aufkonzentrierung der REEs aus dem Rohstoff. Dazu kommen je nach der Beschaffenheit unterschiedliche Verfahrensschritte hintereinander zum Einsatz, wie z.B. der Flotation der REEs mit Paraffinen oder Hydroxamsäuren bei gleichzeitiger Ausfällung des Nebengesteins mit Hexafluorsilikaten. Eine andere Methode beruht auf der Lösung des Gesteins mit Schwefelsäure gefolgt von der Fällung der REEs als Doppelsulfate. Häufig wird zuerst Ce(III) zu Ce(IV) oxidiert und abgetrennt, sowie Eu(III) zu Eu(II) reduziert, welches als Sulfat ausfällt. Danach werden die einzelnen Metalle aus dem Gemisch über hydrometallurgische Verfahren extrahiert. Ausgangspunkt dafür sind die unterschiedlichen Löslichkeiten der Metalle in den Lösungsmitteln. Eingesetzt werden dabei auch organische Extraktionsmittel wie Tributylphosphat oder Di-2-ethyl-hexylphosphorsäure ^[30]. Die Komplexität des Verfahrens ist beachtenswert, was sich auch bei den Preisen der reinen Metalle widerspiegelt.

Neben den herkömmlichen Quellen wurden auch Abfallströme zur nachhaltigen Gewinnung der REEs diskutiert. Zu nennen sind hier: Phosphorsäure und ihre Nebenprodukte, Rotschlamm (enthält bis zu 0,25 Gew.% REE), sog. „Tailings“ (Rückstände aus der Erzaufbereitung) aus dem



Bergbau, Asche aus Kohlekraftwerken (Werte bis 1 Gew.% REE wurden berichtet) und Müllverbrennungsanlagen, Metallurgische Schlacke und Abwasser ^[31].

Es gab bereits einige Versuche die REEs im industriellen Maßstab aus solchen wenig konzentrierten Quellen zu gewinnen z.B. die Politechnika Krakowska (PL), oder Uralchem (RU) halten Patente (Int. CI.5 COIF 11/46 bzw. CN105051224A) über die Auslaugung der Lanthanoiden aus Rückständen der Phosphorsäure-Herstellung. Leider hat keine der Anlagen jedoch eine Marktreife bzw. Realisierung erreicht. Allerdings wurde in keinem bekannten Verfahren eine Biosorptionsmethode patentiert.

Ein anderer biotechnologischer Ansatz ist die Auslaugung der REEs. Hier wurden bereits in den 1980er Jahren erfolgreiche Laborversuche zum sog. „Bioleaching“ mit *Aspergillus niger* und *Acetobacter ferrooxidans* durchgeführt ^[32].

Zusammenfassend kann man feststellen, dass obwohl bereits eine Vielzahl alternativer (Rück-) Gewinnungsmethoden für REEs entwickelt wurden, konnten sie auf Grund der heutigen Marktlage nicht zum Vorschein. Allerdings wurde dafür bis jetzt kein Verfahren wie das hier beabsichtigte in Erwägung gezogen.

7 Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden

7.1 Bestimmung der statischen Sorptionskapazität

Um das Screening möglichst vieler Spezies in kurzer Zeit zu gewährleisten, wurde eine schnelle und einfache Nachweismethode für Neodym in wässriger Lösung etabliert. Dazu wurde Xylenorange (XO), ein Triphenylmethylnfarbstoff herangezogen, der mit verschiedenen Metallionen in wässrigen Lösungen (Nd, Eu, Pb, Ni etc.) farbige Komplexe bildet, welche spektralphotometrisch quantifiziert werden können.

Für die Bestimmung der statischen Sorptionskapazität wurden die lyophilisierte und gemörserte Biomasse (10 – 100 mg) mit deionisiertem Wasser gewaschen (2 h, RT), abzentrifugiert (1000 *g, 10 min), der Überstand verworfen, die zurückbleibende nasse Biomasse gewogen und mit einer wässrigen Nd-Lösung versetzt (10 mM, 2 ml). Nach der Inkubation (RT, 5 - 24 h) und abermaligem Zentrifugieren wurde die im Überstand verbleibende Nd-Konzentration mittels des XO-Assays bestimmt. Dafür wurde der metallenthaltende Überstand mit einer XO-Lösung (2 mM) versetzt und deren Absorbanz unverzüglich spektralphotometrisch gemessen (572 nm, RT). Anhand der Konzentrationsverringerung und der Gewichte der trockenen und nassen Biomasse konnte die Sorptionskapazität berechnet werden. Durch ausreichende Inkubationszeit (24 h) wurde sichergestellt, dass die maximale Sorptionskapazität erreicht wird.

Im Falle der Adsorptionsisothermen, bei denen die Sorptionskapazität in Abhängigkeit der Nd-Konzentration für verschiedene Spezies ermittelt wurde, wurde das gleiche Vorgehen lediglich mit verschiedenen Konzentrationen der Nd-bzw. Eu-Lösungen (0,5 - 7 mM) benutzt.

7.2 Lumineszenz-spektroskopische Konzentrationsbestimmung von REEs

Neben der bereits etablierten indirekten Nachweismethode für REEs wurde auch mit der direkten Detektion ausgewählter Lanthanoide, über deren Lumineszenz, experimentiert. Aufgrund der unvollkommen durch Elektronen gefüllten inneren 4f-Orbitale und dem Abschirmungseffekt durch die energetisch höher liegenden 5p- und 6s-Elektronenschalen bieten Sie viele Möglichkeiten für Elektronenübergänge, die in Form von scharfen Banden im Emissionsspektrum sichtbar sind ^[33]. Eine quantitative Bestimmung über spezifische



Lumineszenz konnte für Ce, Eu, Tb und Dy etabliert werden. Die Bestimmungsgrenzen in dem verwendeten Multiplate-Reader liegen zwischen 4 μM (Ce) und 0,5-1 mM (Dy). Die Lumineszenz kann zusätzlich durch die Zugabe des Komplexbildners EDTA, welches als Antenne für einfallende Photonen agiert, verstärkt werden. Lediglich bei Cer kommt es durch die Zugabe von EDTA zur Auslöschung der Lumineszenz, was ebenso genutzt werden kann. Durch sehr hohe Quantenausbeute von Ce können auch niedrige Konzentrationen mit dieser Methode erfasst werden. Durch hohe Verdünnung der Proben: reduziert sich der Hintergrund und eine schnelle Punktmessung wird möglich.

Andere in der Messlösung vorhandene Metalle wie zum Beispiel Cu können die Lumineszenz durchaus beeinflussen – besonders bei niedrigen Lanthanoid-Konzentrationen (siehe **Diagramm 1**). Deswegen ist die Methode nur bedingt für die quantitative Bestimmung von Eu, Tb und Dy in komplexen Lösungen geeignet. Hierzu wurde als Repräsentant der Seltenen Erden Ce verwendet, weil durch die Verdünnung auch andere Komponenten verdünnt und so Verfälschungen verringert werden. Darüber hinaus wird die Messung im Acetat-Puffer (leichte Komplexbildung und pH-Stabilisierung) mit hoher Konzentration der in Probe vermuteten Metalle durchgeführt. Dadurch sind die Auswirkungen der in der Probe vorhandenen, gering konzentrierten Störkomponenten marginal im Vergleich zu der Signalauslöschung durch im Puffer befindliche und definierte Metalle.

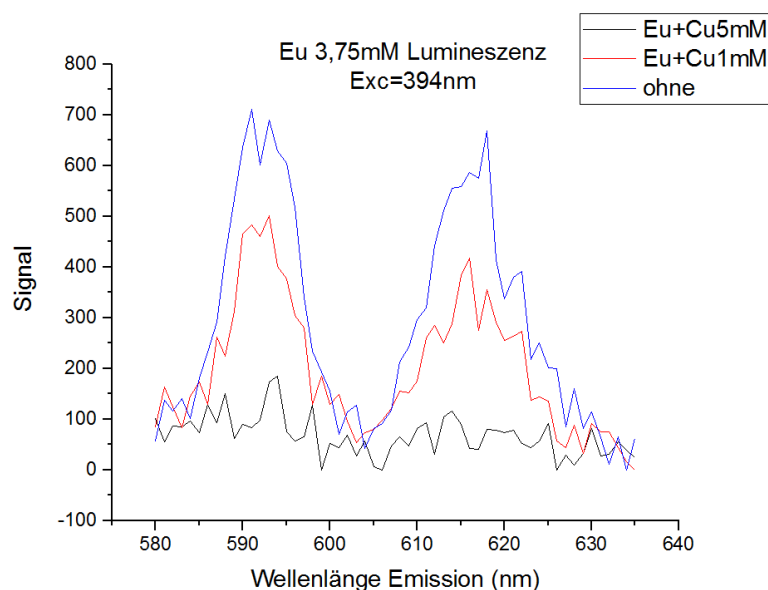


Diagramm 1. Einfluss gelöster Salze von Cu auf die Lumineszenz von Eu (ohne Zugabe von EDTA).

7.3 Kultivierungen

Für das Screening wurden die einzelnen Spezies in deren jeweiligen Standardmedien kultiviert. Viele Spezies waren bereits in der hauseigenen Stammsammlung vorhanden, andere wurden zusätzlich aus diversen Stammsammlungen angeschafft. Die Kultivierung und Vermehrung erfolgte in Erlenmeyerkolben (0,3 - 1,0 l) bei Raumtemperatur, kontinuierlicher Belichtung und zum Teil unter CO_2 -Begasung.

Da einige der Vertreter aus dem Screening weiteren Experimenten unterzogen wurden, wurde hier mehr Biomasse benötigt. Die Kultivierung im Erlenmeyerkolben ist hierfür schlecht geeignet, da hier das Wachstum nicht unter optimalen Bedingungen stattfinden kann aufgrund von Limitierungen im Licht- und Gaseintrag. Deshalb wurde das sogenannte PSM



(„Photobioreaktor-Screening-Modul“) herangezogen, welches am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik entwickelt wurde. Es handelt sich hierbei um eine 0,7 l fassende gläserne Blasensäule, die von außen beleuchtet wird und zur monoseptischen Kultivierung von phototrophen Organismen geeignet ist. Mit diesem Reaktor wurde zunächst die Kultivierung von *C. kessleri* und *C. brevisissima* hinsichtlich der Temperatur optimiert.

Zum Anderen bietet das PSM die Möglichkeit, mehr Biomasse in kürzerer Zeit zu produzieren, die für alle weiterführenden Experimente, die hier beschrieben werden, benötigt wurde.

7.4 Bestimmung von Seltenen Erden mittels ICP-AES/-MS

Die bereits beschriebenen Methoden zur Quantifizierung von REE in wässrigen Lösungen (**Punkte 7.1. und 7.2.**) lassen die Messung von nur einem oder wenigen Ionen in Lösung zu. In den Fällen der Selektivitätsuntersuchungen (**Punkt 9.3.**) und der Vermessung realer und artifizierlicher Proben (**Punkte 9.5. und 9.6.**) wurde deshalb auf die ICP-Technologie (*inductively coupled plasma*, induktiv gekoppeltes Plasma) in Kombination mit Atomemissionsspektroskopie (ICP-AES, *atomic emission spectroscopy*) oder Massenspektrometrie (ICP-MS) zurückgegriffen. Hierbei wird eine metallionenhaltige Lösung nach Verdampfung in ein Ar-Plasma geleitet. Durch die enorme Hitzeeinwirkung atomisieren die Elemente zum Teil und werden zur Emission von Ionen- und Atomemissionsquanten angeregt. Diese emittierten Lichtquanten werden im Falle der ICP-AES durch eine geeignete Optik detektiert und in Form eines Emissionsspektrums wiedergegeben. Im Falle der ICP-MS werden die sich in der Gasphase befindlichen Ionen aufgrund ihres Masse-zu-Ladungs-Verhältnisses getrennt und können so detektiert und quantifiziert werden. Da beide Techniken Vor- und Nachteile für verschiedene Probenarten aufweisen, wurde vor allem im Falle von Realproben auf beide Geräte zurückgegriffen.

7.5 Isolierung von Metallkomplexen über die Lumineszenz-Spektroskopie

Ausgehend von den Erfahrungen im Umgang mit der Lumineszenz-Spektroskopie der REE zu deren Bestimmung wurde eine Methode zur Isolierung bzw. Aufreinigung von löslichen Metallkomplexen entwickelt. Dabei wird die Tatsache genutzt, dass während die Emissionswellenlänge eines gegebenen Lanthanids im Komplex kaum verändert wird, die dafür notwendige Anregungswellenlänge von der molekularen Umgebung des Metalls beeinflusst wird. Die umliegenden Moleküle können dabei selber Energie absorbieren und an das Metallzentrum abgeben, wo sie in Form von Licht emittiert wird. Ähnliche Beobachtungen mit biologischen Komplexen haben auch viele Forschungsgruppen seit den 1970-er Jahren gemacht [34], [35]. Damit lässt sich eindeutig feststellen, ob das Metall in einem Komplex, oder frei vorliegt. Unter Nutzung einer Gelfiltrationssäule (PD10), wird also ein wässriger Extrakt aus der aufgeschlossenen Biomasse chromatographisch fraktioniert. Danach wird zu jeder Fraktion eine Metalllösung zugegeben, und nach einer kurzen Inkubationszeit werden die Anregungsspektren des Metalls aufgenommen. Sollte das Metall mit den Bestandteilen der gegebenen Fraktion interagieren bzw. Komplexe bilden, verändert sich das Anregungsspektrum für seine spezifische Emission. Obwohl diese Strategie für mehrere Metalle funktioniert, erwies sich experimentell Terbium als besonders sensitiv für diese Anwendung. Aufgrund der chemischen Ähnlichkeit der Lanthaniden kann dieses Metall durchaus als Modell für andere Lanthanide in diesen Versuchen dienen. Die so gewonnenen Fraktionen können noch weiter über andere Säule bis zur Isolierung aufgereinigt werden.



7.6 Säulenversuche

Auf dem Weg hin zu einer automatisierten Metallanreicherungssäule muss zunächst die grundsätzliche Anwendbarkeit von Biomasse als Metalladsorber in durchströmter Säule untersucht werden. Dazu wurde in grundlegenden Versuchen lyophilisierte und gemörserte Biomasse in einen Spritzenfilter (Roth, PA 0,2 μm , KC 64.1) gegeben und mit definierter Nd-Lösung (0,2 mM) durchströmt. Das Filtrat wurde dabei in mehreren Fraktionen aufgefangen und die Nd-Konzentration mittels des zuvor beschriebenen XO-Assays (**Punkt 7.1.**) bestimmt. Als Nachteile dieser Methode zeigten sich eine limitierte und nicht reproduzierbare Flussrate und ein ungünstiges Verhältnis zwischen Packungshöhe des Adsorbers und Durchmesser der Säule. Deshalb wurden für eine eingehendere Untersuchung der dynamischen Adsorptionseigenschaften kleine Kartuschen (Bond Elut, 12131008, Agilent Technologies, USA) mit einem Innenvolumen von 3 ml verwendet. Diese wurden mit der lyophilisierten Biomasse, die mit Seesand (Aldrich; 50 - 70 Mesh; 2,5 ml; 3,87 g) vermischt wurde (um zu hohen Rückdruck zu vermeiden) befüllt. Diese Säulenpackung gewährleistet eine nahezu rückdruckfreie Durchströmung einer wässrigen Lösung durch die Säule. Die Säule wurde an ein automatisiertes Chromatographiesystem (ÄKTApurifier, GE, USA) angeschlossen und alle weiteren Säulenexperimente hier durchgeführt.

8 Während der Durchführung des Projekts der Universität bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen

Die Nutzung von Mikroalgenbiomasse zur Rückgewinnung Seltener Erden wird bis zum heutigen Zeitpunkt nur an einigen wenigen Forschungseinrichtungen erforscht. Die dabei veröffentlichte wissenschaftliche Literatur kann grob in folgende Kategorien eingeteilt werden:

- a) Sorption von REEs an lebender und toter Mikroalgenbiomasse
- b) Solubilisierung von REE durch Bioleaching
- c) Sorption von REE an bakterieller Biomasse
- d) Rückgewinnung von Farbstoffen durch Biosorption.

Auf dem ersten Gebiet veröffentlichten Minoda *et al.* [36] von der Universität in Tsukuba, Japan im Jahre 2015 die Rückgewinnung der Seltenerdelemente Nd, Dy und La durch die Rotalge *Galdieria sulphuraria*. Die Verteilung des jeweiligen Metalls wurde hier in unterschiedlichen Zellfraktionen nach Zugabe in die Kulturbrühe vermessen. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Sorption der Vertreter der Seltenerdelemente im pH-Bereich zwischen 1,0 bis 1,5 deutlich besser war als zwischen pH 1,5 bis 2,5. Des Weiteren zeigte ein ebenfalls durchgeführter Sorptionsversuch mit Cu bei sonst gleichen Bedingungen eine deutlich reduzierte Sorption für dieses Metall bei solch niedrigem pH (1,0 bis 1,5), was als Möglichkeit einer Separation der hier untersuchten Seltenerdelemente von Cu gedeutet wurde.

Kücüker *et al.* [37] und Sadovsky *et al.* [38] beschrieben 2016 die Nd- bzw. Ce-Sorption an getrockneter Mikroalgenbiomasse von *Chlorella vulgaris* bzw. *Arthrospira sp.*. Die maximalen Sorptionskapazitäten, die in diesen Arbeiten erreicht wurden, betragen 157,21 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (1,09 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) bzw. 18,1 bis 38,2 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (0,13 bis 0,27 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$). Die eingesetzte Nd-enhaltende Lösung wurde direkt aus Permanentmagneten durch Auslaugung generiert. Hier zeigten sich pH-Optima von pH 5,0 bis 5,5. Kücüker *et al.* [37] verglichen zusätzlich einen kontinuierlichen Prozess mit einem stationären, welcher eine verbesserte Sorptionskapazität lieferte.



Im Bereich des Bioleaching der REEs muss eine Veröffentlichung von Haschke *et al.*^[39] hervorgehoben werden, da hier von gleich mehreren Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet berichtet wird. Zum Einen wird hier das Gebiet des biotechnologischen *in-situ* Bioleaching von REE aus REE-adsorbierenden Tonerden beschrieben, wobei eine nachhaltigere und umweltverträgliche Methode zur Gewinnung großer Mengen an REE dadurch erhofft wird. Zum Anderen wurden in den Rückständen aus der Phosphorsäureproduktion und zum Teil auch im Endprodukt selbst adäquate Mengen an REE gefunden. Diese versucht man in diesem Projekt mittels Algenbiomasse aus der Lösung via Biosorption mittels des Cyanobakteriums *Phormidium sp.* zu lösen.

Auf dem Gebiet der Sorption von REE an bakterieller Biomasse (Kategorie c) gingen in jüngster Zeit unter anderem Hosomomi *et al.* ^[40] dazu über, die Bakterienzellwand zu funktionalisieren, mit dem Ziel, deren Affinität gegenüber REE zu steigern. In diesem konkreten Fall benutzte man Diglycolamidsäure, eine für ihre hohe Affinität gegenüber REE bekannte organische Säure, die über Aminogruppen auf der Bakterienoberfläche verknüpft wurde. Dadurch konnte eine Verdoppelung der Sorptionskapazität für Nd erreicht werden und zeigte $81,3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ($0,56 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$). Dieses Konzept der Funktionalisierung wurde bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht auf andere biologische Organismen angewandt. Deshalb wäre dies potentieller Gegenstand von Folgeprojekten auf diesem Gebiet.

Schließlich spielt in jüngster Vergangenheit das Konzept der Sorption auf Algenbiomasse vermehrt eine Rolle in Verbindung mit der Rückgewinnung von Farbstoffen aus wässrigen Lösungen ^[41-44]. Dies sind vor Allem Abwässer aus Färbetrieben zur Einfärbung diverser industrieller Erzeugnisse wie Textilien, Technischen Bauteilen aber auch Lebensmitteln. Diese Farbstoffe sind giftig für aquatische Ökosysteme und müssen vor Freisetzung des Abwassers entfernt werden. Dies geschieht konventionell durch Adsorption an Aktivkohle, die man aufgrund der hohen Kosten, durch alternative Materialien zu ersetzen versucht.

9 Darstellung und Bewertung der erzielten Ergebnisse und ihrer praktischen Anwendbarkeit und Nennung der Unternehmenskooperationen

9.1 Screening

Um interessante Kandidaten zur Bindung von REEs aus hochverdünnten wässrigen Lösungen zu identifizieren, wurde zunächst ein breit angelegtes Screening mit diversen unterschiedlichen Spezies durchgeführt. Bei der Auswahl spielte eine Rolle, inwieweit diese Spezies bereits bekanntermaßen zur Sorption von Schwermetallen befähigt sind, wobei hier Spezies bevorzugt wurden, die Schwermetalle eher schlecht binden können. **Diagramm 2** zeigt die maximalen Sorptionskapazitäten in Bezug auf die trockene Biomasse, wobei vorwiegend Mikroalgen (Cyanobakterien, Grünalgen, Rotalgen), aber auch andere Mikroorganismen und ein Moos untersucht wurden.

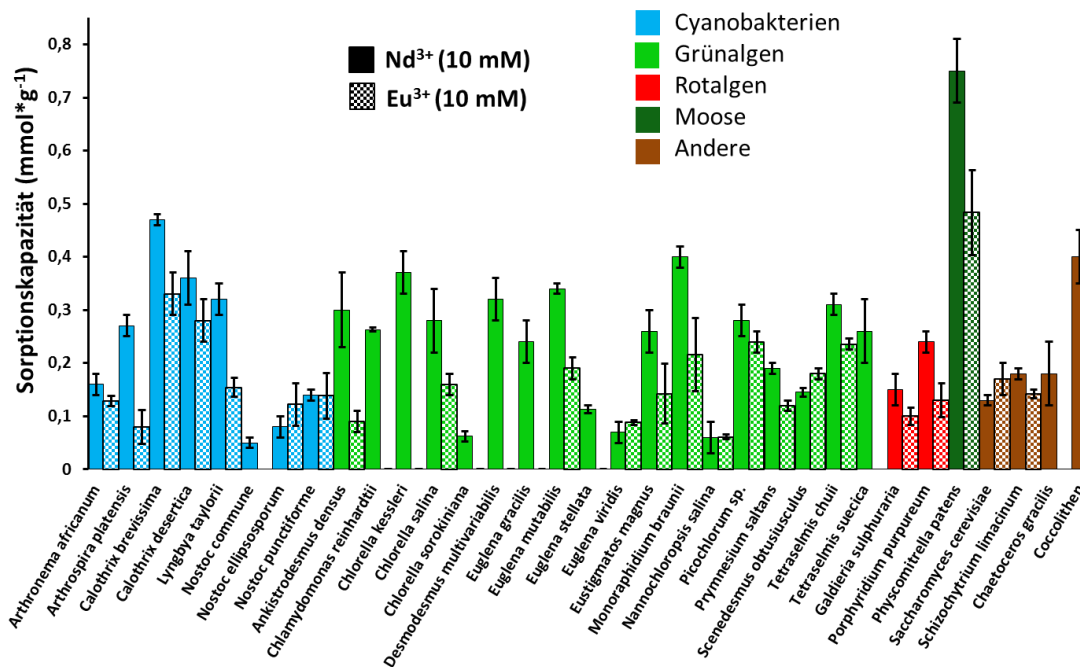


Diagramm 2. Screening diverser leicht kultivierbarer Mikroorganismen bezüglich deren Sorptionskapazitäten von Nd und Eu in wässriger Lösung. Bedingungen: Raumtemperatur, 5 - 24 h, 2 ml, Biomasse: 10 - 40 mg, n = 3.

Als Vertreter der REEs wurden Nd und Eu herangezogen, da diese zum Einen ein besonders breites Anwendungsfeld aufweisen oder besonders aufwändig zu gewinnen sind, zum Anderen auf Grund von Ähnlichkeiten mit weiteren REEs diese Gruppe repräsentieren können. Die erzielten Werte reichen von keiner bzw. nicht messbarer Sorptionskapazität bis hin zu einer maximalen Sorptionskapazität von 0,75 mmol*g⁻¹ (*P. patens* für Nd³⁺; einziger Vertreter der Moose) bei sonst gleichen Bedingungen. Auffällig ist, dass die hier erreichten Werte für alle Vertreter der Mikroalgen im Durchschnitt um einen Mittelwert von ca. 0,25 mmol*g⁻¹ schwanken, der Vertreter der Moose jedoch wesentlich höhere Sorptionskapazität von 0,75 mmol*g⁻¹ erreicht. Bei einer Molaren Masse von Nd von 144,24 g*mol⁻¹ ergibt dies 108,18 mg Nd*g⁻¹ Biomasse. Die biologische Matrix kann also bis zu 11 % des Eigengewichtes an Nd zusätzlich aufnehmen. Durch weitere, Im Folgenden beschriebene Experimente konnte die Sorptionskapazität nochmals enorm gesteigert werden.

Im Sorptionsdiagramm fällt weiterhin auf, dass die jeweiligen Werte der Sorptionskapazität für Eu³⁺ niedriger sind als die entsprechenden Nd³⁺-Werte. Dies kann mit der Lanthanoidenkontraktion erklärt werden, die besagt, dass der Ionenradius innerhalb der Gruppe der Lanthanoiden mit steigender Ordnungszahl abnimmt.

Abgeleitet aus dem Screening wurden für weiterführende Untersuchungen die besten Vertreter aus dem jeweiligen Speziesgruppen ausgesucht. Als Vertreter der Cyanobakterien wurde *Calothrix brevissima* gewählt. *Chlorella kessleri*, *Monoraphidium braunii* und *Scenedesmus obtusiusculus* wurden aus den Grünalgen für weitere Untersuchungen herangezogen. Ebenso, der einzige Vertreter der Moose, *Physcomitrella patens* wurde für die weitergehenden Studien eingesetzt. Diese Spezies wiesen jeweils die größte Sorptionskapazität auf.



9.2 Thermodynamische Untersuchungen

9.2.1 Adsorptionsisothermen

Für die Begutachtung der Sorptionseigenschaften von Adsorbenten spielt das Verhalten bei unterschiedlichen Konzentrationen des zu adsorbierenden Stoffes eine entscheidende Rolle. Deshalb wurden hier Adsorptionsisothermen aufgenommen indem die Sorptionskapazitäten verschiedener biologischer Spezies bei unterschiedlichen Nd-Konzentrationen gemessen wurden (**Diagramm 3**). Dazu wurden die beim Screening ermittelten besten Vertreter (*P. patens*, *C. brevisissima*, *C. kessleri*, *M. braunii* und *S. obtusiusculus*) ausgewählt.

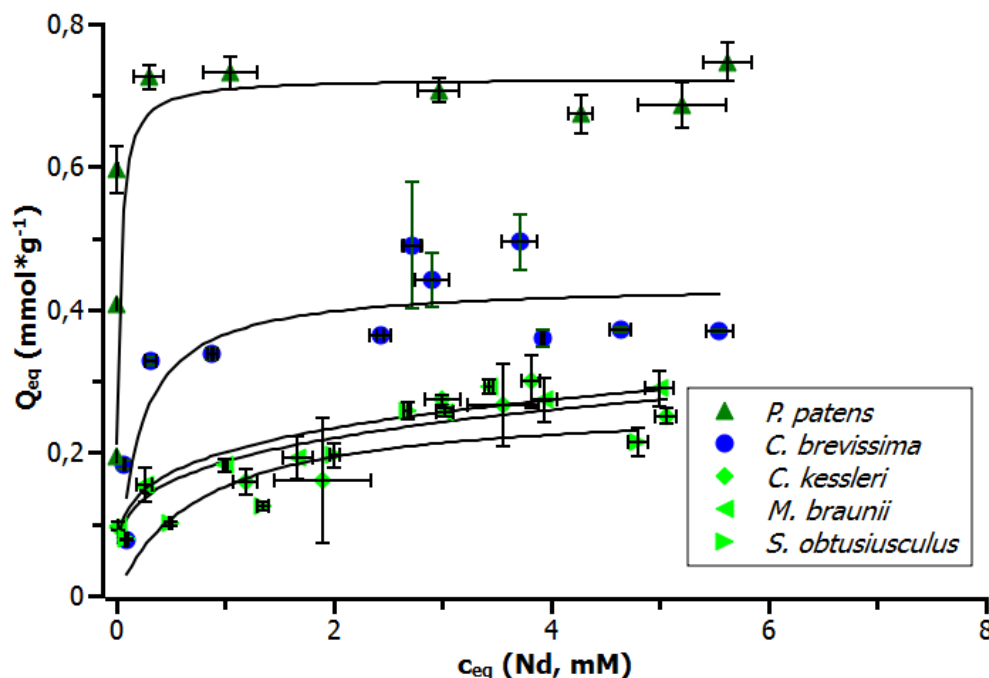


Diagramm 3. Adsorptionsisothermen verschiedener Spezies bzgl. Nd. Die Kurven wurden mit der Langmuir- (*P. patens* und *C. brevisissima*) oder der Freundlich-Isotherme (*C. kessleri*, *M. braunii* und *S. obtusiusculus*) gefittet. Bedingungen: pH 5, Raumtemperatur, 5 h, n = 3.

Für die beabsichtigte Anwendung der Sorption bei sehr geringen Konzentrationen sind die Adsorptionsisothermen besonders wichtig für die Begutachtung eines potenziellen und vielversprechenden Kandidaten. Es zeigt sich in **Diagramm 3**, dass die hier vermessenen Grünalgen sehr ähnliche Verläufe der Adsorptionsisothermen zeigen mit einer maximalen Sorptionskapazität Q_{\max} von $0,25 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$. Außerdem zeigt sich, dass die Steigungen dieser Kurven für kleine Nd-Konzentrationen relativ niedrig ausfallen. Im Gegensatz dazu zeigen der hier vermessene Vertreter der Cyanobakterien (*C. brevisissima*) und das Moos (*P. patens*) deutlich größere Sorptionsmaxima Q_{\max} von $0,44 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ bzw. $0,72 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ die darüber hinaus in einer guten Übereinstimmung zu denen im Screening gefundenen Werten ($0,47 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ bzw. $0,75 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$) sind. Des Weiteren sind bei diesen beiden Vertretern die anfängliche Steigung der Kurven für kleine Nd-Konzentrationen sehr viel höher als im Falle der zuvor beschriebenen Grünalgen. Dies bedeutet, dass bereits bei kleineren Nd-Konzentration die maximale Sorptionskapazität erreicht werden kann, was eine effektive Bindung der REE aus hochverdünnten Proben ermöglicht. Aus diesem Grund sind vor allem die beiden letztgenannten Vertreter vielversprechende Kandidaten für einen Einsatz als Bioadsorber in einer



Metallanreicherungskolonie und wurden weiteren Untersuchungen unterzogen, die im Folgenden näher beschrieben werden.

9.2.2 pH-Wert-abhängige Sorption

Da reale Ab-, aber auch Sicker- oder Drainagewässer aus Industriehalden durchaus sehr niedrige pH-Werte aufweisen können, wurde das Sorptionsverhalten bei verschiedenen, vor allem niedrigen pH-Werten wiederum der bereits erwähnten besten Vertreter aus dem Screening untersucht. Die Ergebnisse sind in **Diagramm 4** gezeigt. Als genereller Trend wurde für alle hier vermessenen Spezies ein lokales Minimum der Sorptionskapazität bei pH 3 - 4 gefunden, wobei für kleinere und größere pH-Werte diese jeweils wieder anstieg. Die maximale Sorptionskapazität wurde jeweils bei einem pH-Wert von 1 erreicht. Auch hier zeigt sich wieder, dass die hier untersuchte Grünalgen und *C. brevissima* deutlich niedrigere Werte als *P. patens* erreichten. Hier konnte die Sorptionskapazität bei pH 1 bezüglich Nd bis zu 2,0 mmol*g⁻¹ (im Vergleich zu 0,75 mmol*g⁻¹ bei pH 5) und bezüglich Eu bis 1,3 mmol*g⁻¹ (im Vergleich zu 0,48 mmol*g⁻¹) gesteigert werden. Mit diesen Experimenten konnte gezeigt werden, dass die hier verwendeten Spezies Seltene Erden nicht nur bei kleinen pH-Werten, die in den realen Proben zu erwarten sind, ebenso binden können wie unter neutralen Bedingungen, sondern dass deren Sorptionskapazitäten sogar noch gesteigert werden konnten. Die Tatsache, dass für *P. patens* bei pH 1 ein deutlicher Unterschied in der Sorptionskapazität zwischen Nd und Eu besteht, kann nachfolgend für Selektivitätsbeurteilungen dieser beiden Elemente herangezogen werden.

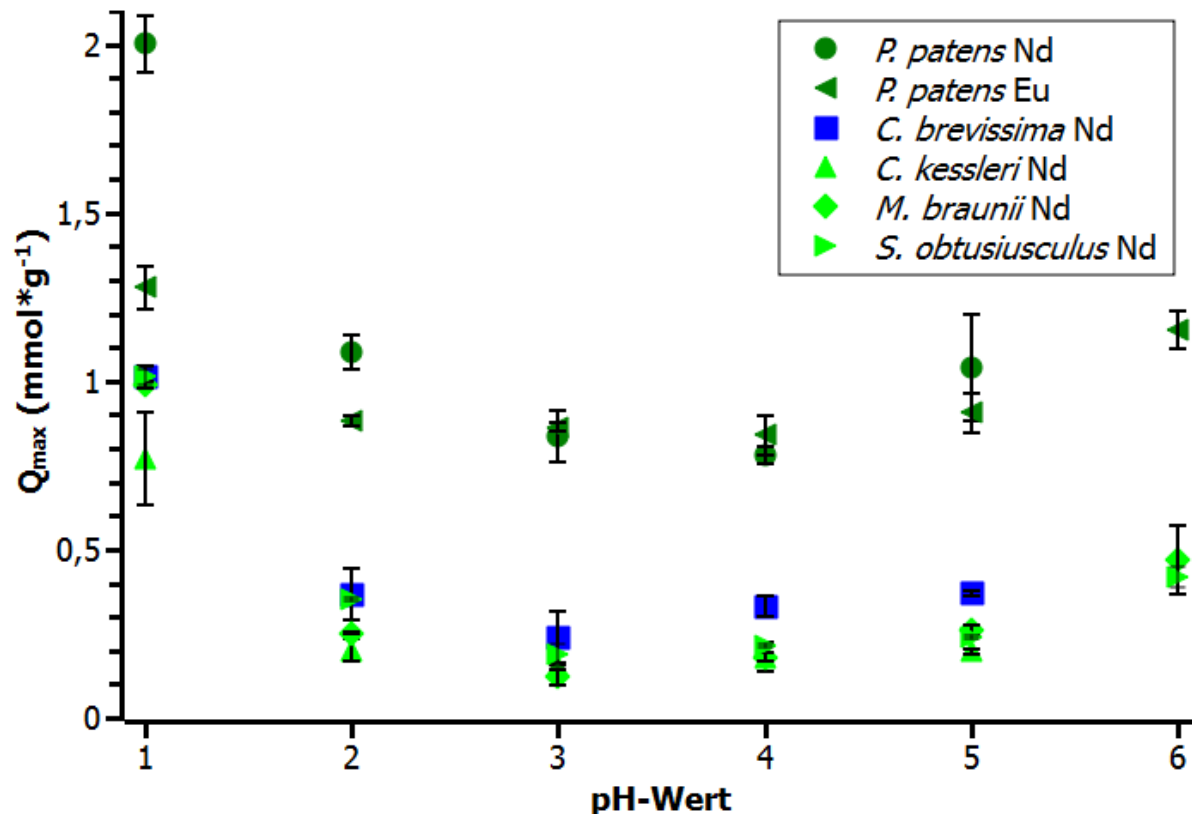


Diagramm 4. p-H-Wert-abhängige Sorption (Nd und Eu) diverser Spezies. Bedingungen: Raumtemperatur, 3 h, 2 ml, Nd: 10 mM, n = 3.



9.3 Selektivität der Biosorption

9.3.1 Selektivität innerhalb der REEs

Um die Unterschiede in der Biosorption zwischen den einzelnen Lanthanoiden zu untersuchen wurden zuerst Versuche in einfachen Lösungen von Ce, Eu und Dy durchgeführt. Dabei wurde die direkte lumineszenz-spektroskopische Methode zur Quantifizierung der REE verwendet. Die Beladungskapazitäten an der Biomasse von *P. patens* liegen dabei dicht nebeneinander (zwischen $0,87 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ und $0,97 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$), wie es anhand der chemischen Ähnlichkeit zu erwarten war. Untersucht man dagegen eine 3-Komponenten-Lösung mit gleichen Mengen an Ce, Eu und Dy so wird es ersichtlich, dass die schwereren Elemente, wahrscheinlich dank einer höheren Ladungsdichte, begünstigt sorbiert werden. Summarisch bleibt jedoch die Beladungskapazität bei etwas unter $1 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ gleich. Dies beweist, dass die drei Metalle um gleiche Bindungsplätze konkurrieren, und somit in weiteren Versuchen nur eines davon als Modell verwendet werden kann.

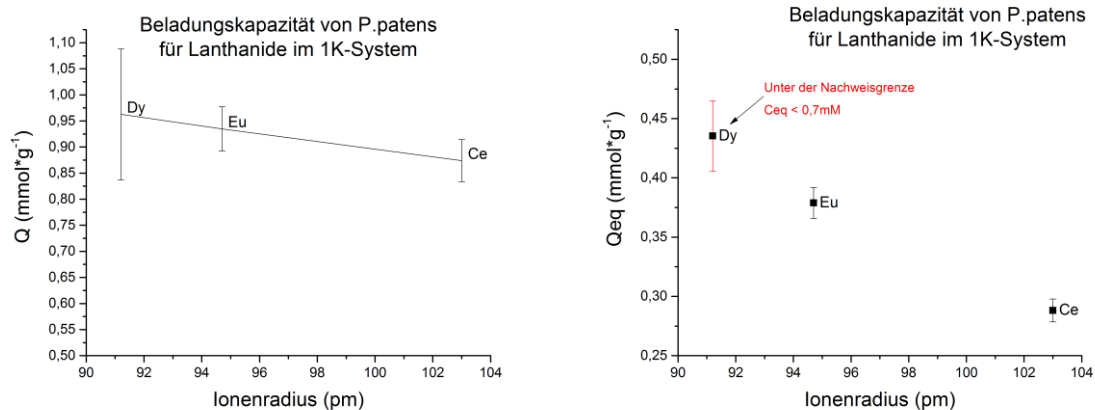


Diagramm 5: Beladungskapazität von *P. patens* für Ce, Eu und Dy in separaten Lösungen (Konzentration 10 mM) und in einer 3-Metall-Lösung (jeweils bei 3,3 mM); aufgetragen gegenüber dem Ionenradius. 20 mg Biomasse in 2 ml Lösung, Inkubation 3 h bei RT, n = 3, Messung über die jeweilige Ln-Lumineszenz.

9.3.2 Selektivität bezüglich anderer Störionen

Um unterschiedliche Beladungskapazitäten für andere Elemente neben den REEs zu ermitteln, wurden Sorptionsexperimente mit dem gleichen Vorgehen wie im Falle der REEs, aber mit anderen Metallionen wie Pb, Ni, Fe und Cu durchgeführt. Pb und Ni stellen die häufigen Vertreter der Schwermetalle und Fe und Cu jene der Buntmetalle dar. Als biologische Spezies wurden wiederum die im Screening besten Vertreter bzgl. Nd, nämlich *P. patens*, *C. brevisissima* und *C. kessleri* vermessen. Die Ergebnisse sind in **Diagramm 6** illustriert.

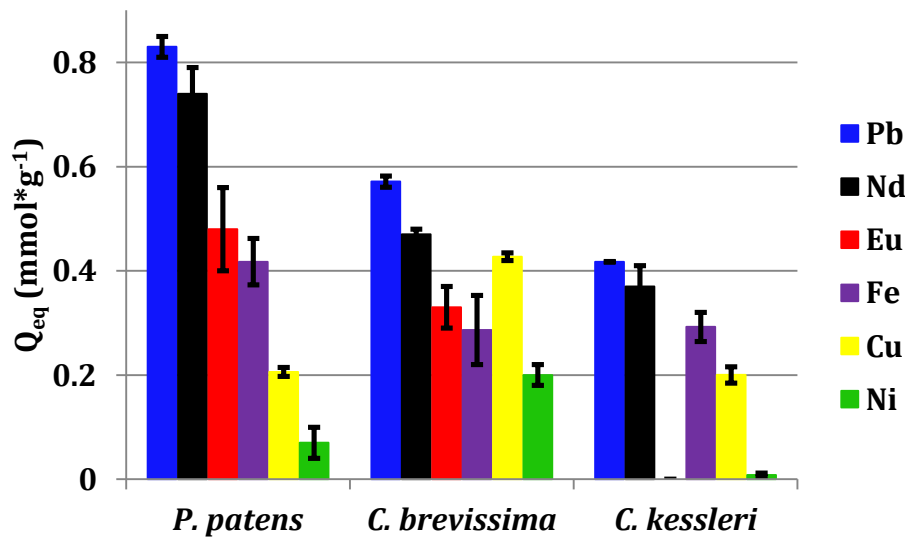


Diagramm 6. Sorptionskapazität bezüglich verschiedener Elemente, bei sonst gleichen Bedingungen wie im Screening (10 mM, 2 ml, 24 h, RT, XO-Assay (Nd, Eu, Ni, Pb) bzw. ICP-AES (Fe, Cu), n = 3).

Für alle drei vermessenen Vertreter wurde die beste Sorptionskapazität für Pb, gefolgt von Nd, erreicht. Alle anderen Elemente werden mit geringerer Affinität gebunden. Dies verdeutlicht, dass unterschiedliche Metalle durchaus in unterschiedlicher Anzahl am Adsorber gebunden werden können. Als Gründe sind hier zu nennen:

- Ionenradien,
- Erscheinungsformen der Ionen in wässrigen Lösungen (Aqua-Spezies),
- Elektropositivität der Metalle,
- Verteilung und Anzahl funktioneller Gruppen auf der Oberfläche der Biomatrix,
- Spezifische Oberfläche des Bioadsorbers,
- Porenverteilung und -größen,
- Anteile der Chemi- und der Physisorption an der Gesamtsorption.

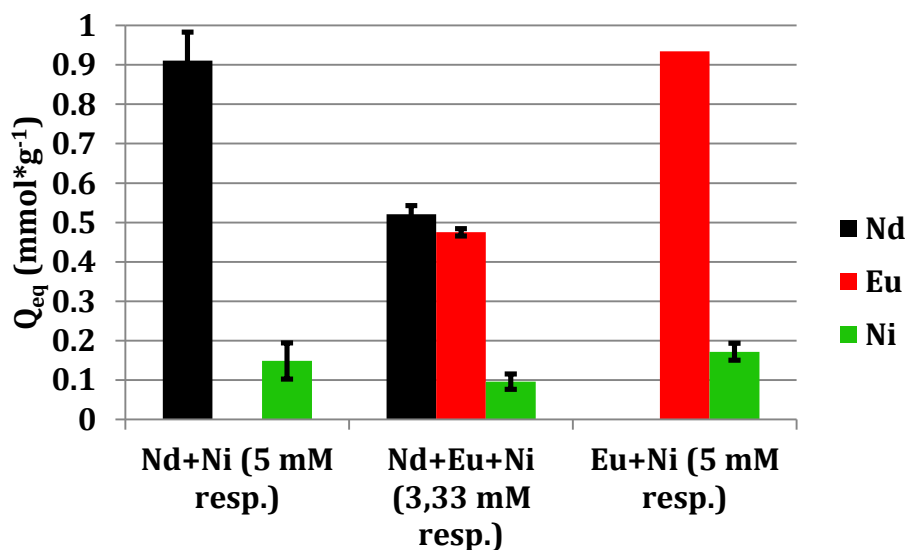


Diagramm 7. Sorptionsexperimente aus Mehrkomponentlösungen mit *P. patens* (jeweils 10 mg) in einem Volumen von 2 ml (24 h, RT, ICP-AES, n = 3).



Diese Experimente wurden alle mit Einzelkomponentenlösungen durchgeführt, in denen das jeweilige Element alleine vorherrschte. In realen Proben liegen jedoch immer Mischungen aus vielen Metallionen in unterschiedlichen Verhältnissen vor. Deshalb wurde in einer folgenden Experimentenreihe untersucht, inwieweit die Ergebnisse aus den Einzelkomponentenlösungen auch auf Lösungen anwendbar sind, die mehrere Elemente gleichzeitig enthalten. Deshalb wurden Sorptionsexperimente mit *P. patens* und Lösungen, die Nd, Eu und Ni in äquimolaren Verhältnissen enthielten, durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in **Diagramm 7** gezeigt.

Hier wurden Nd und Ni im molaren Verhältnis 1 : 1 (links), Nd, Eu und Ni im molaren Verhältnis 1 : 1 : 1 (Mitte) und Eu und Ni im molaren Verhältnis 1 : 1 (rechts) eingesetzt. Es zeigt sich, dass in den Mischungen von Nd/Eu mit Ni das jeweilige Seltenerdelement und Ni mit gleicher Kapazität ($0,9 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ bzw. $0,17 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) gebunden werden und im Falle der 3-Komponentenlösung Nd und Eu jeweils mit einer halbierten Sorptionskapazität von ca. $0,5 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ gebunden werden, bei gleichbleibender Ni-Sorption.

Es wurden auch Untersuchungen mit potenziellen Störionen aus 2-Komponenten-Lösungen und unterschiedlichen Konzentrationen durchgeführt. Ein besonderes Augenmerk wurde hier Blei geschenkt. Auf dem **Diagramm 8** ist die Abnahme der aufgenommenen Menge an Ce bei steigender Konzentration von Pb in der Lösung dargestellt. Es ist klar ersichtlich, dass bereits bei halb so hoher Pb-Konzentration wie die der REEs wird die Sorption der zweitgenannten stark beeinträchtigt.

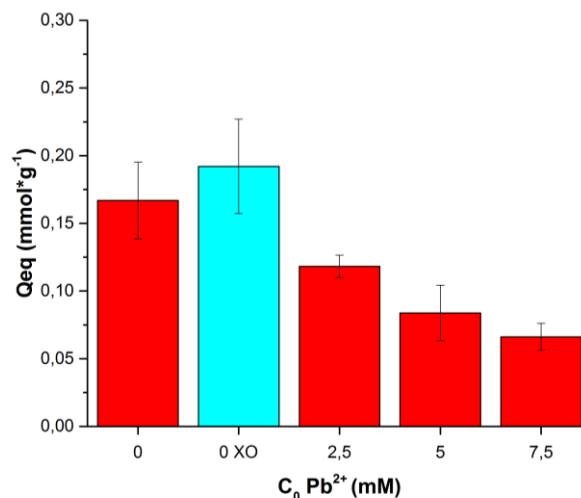


Diagramm 8: Beladungskapazität für Ce von *S. obtusiusculus* bei Anwesenheit unterschiedlicher Konzentrationen von Pb und einer gleichen Konzentration (10 mM) von Ce. Validiert mit der XO-Methode – Türkis. 20 mg Biomasse in 2 ml Lösung, Inkubation 3 h bei RT, n = 3, Messung über Ce-Lumineszenz.

Da in den Untersuchungen mit Realwässer potenzielle Störungen der Sorption durch hohe Konzentrationen von Fe und Cu vermutet wurden, wurden weitere Versuche mit diesen beiden Elementen und zwei Spezies - *P. patens* und *Picocystis* sp.- durchgeführt. Auf dem **Diagramm 9** wird die Abnahme der Sorptionskapazität für Ce bei steigenden Konzentrationen von Cu und Fe veranschaulicht. Der Effekt ist im Fall von Fe bei Konzentrationen ab 50 mM im Vergleich zu 10 mM Ce sehr deutlich bei den beiden getesteten Spezies. Die Steigerung der Konzentration der Ionen in der Lösung ist hier jedoch, im Gegensatz zu dem Vorversuch mit Blei, nicht proportional zu dem Rückgang an Sorptionskapazität – es wird viel mehr ein asymptotisch fallender Verlauf vermutet. Der Versuch mit Cu zeigte keinen nennenswerten Einfluss des Metalls auf die Sorption von REEs bei *P. patens* und einen Rückgang bei *Picocystis* sp., welcher allerdings nicht so stark



ausgeprägt wie bei Fe ist. Dennoch wird hier bei 5-fachem Überschuss an Cu die Sorptionskapazität der Alge halbiert. Eine höhere Affinität der Algenbiomasse gegenüber der Biomasse von *P. patens* zeigte sich allerdings bereits in den Vorversuchen mit einfachen Lösungen.

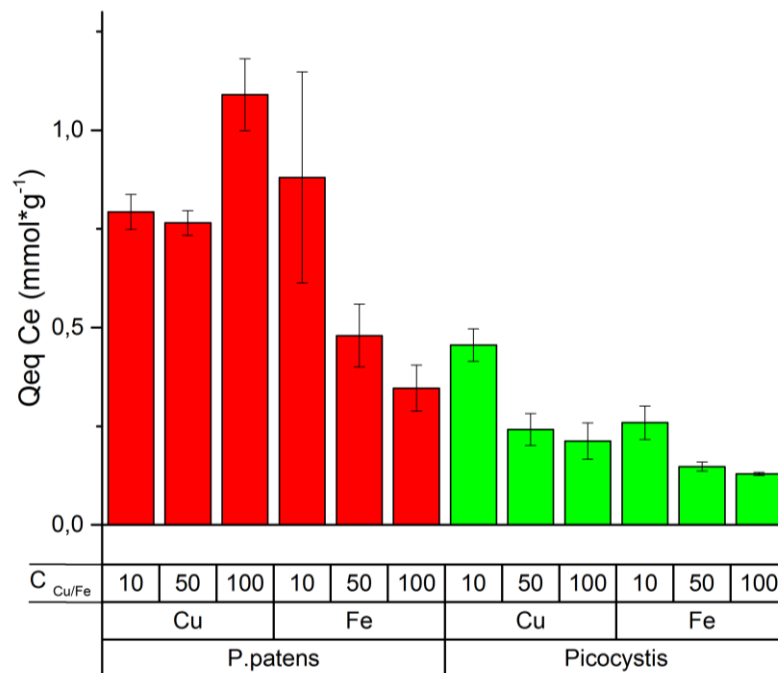


Diagramm 9: Beladungskapazität von *P. patens* (Pflänzchen) sowie *Picocystis* sp. bei unterschiedlichen Konzentrationen von Cu und Fe in der Lösung und immer gleicher Konzentration von Ce (10 mM), 20 mg Biomasse in 2 ml Lösung, Inkubation 3 h bei RT, n = 3, Messung über Ce-Lumineszenz.

Um den biomasse-spezifischen Einfluss möglicher anderer Ionen zu prüfen wurden versuche mit 2-Komponenten-Lösungen und vier Organismen - *P. patens*, *Picocystis* sp., *S. obtusiusculus* und *C. kessleri* - durchgeführt. Die Lösungen enthielten neben Ce, Ca, Co, Cu und Pb. Dabei wurde die Protonema, also nicht ausdifferenzierte Kultur von *P. patens* verwendet. Es hat sich gezeigt, dass in dieser Form, trotz der höheren Beladungskapazität die Selektivität gegenüber REEs sinkt. Hier wirkt Cu in einer äquimolaren Konzentration hemmend auf die Sorption von Ce, auch wenn dieser Effekt bei weitem nicht so stark wie bei Blei ist. Sowohl Ca als auch Co haben keine nennenswerten Auswirkungen auf die Biosorption von REEs – zumindest nicht wenn sie in äquimolaren Konzentrationen zu den REEs vorliegen.

Aufgrund der Tatsache, dass es sich bei Metalladsorptionsreaktionen meist um reversible Vorgänge handelt, kann die unterschiedliche Sorptionskapazität dazu verwendet werden, um die bestimmten Metallionen am Adsorber selektiv anzureichern, aufgrund von Verdrängungsreaktionen. Dazu muss die das zu bindende Metall enthaltende Flüssigkeit mehrfach über den Adsorber geleitet werden.

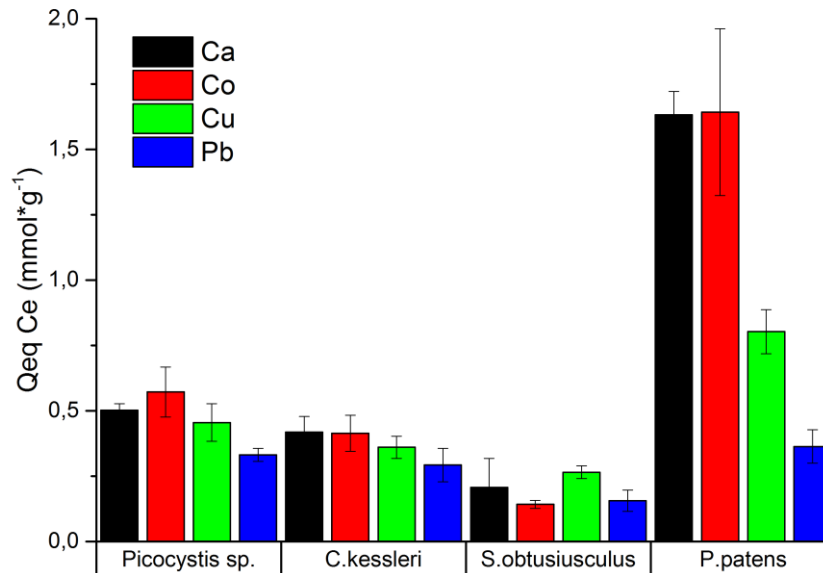


Diagramm 10: Beladungskapazität unterschiedlicher Spezies bei äquimolaren Konzentrationen (10 mM) anderer Metalle in der Lösung. *P. patens* aus Protonema-Kultur. 20 mg Biomasse in 2 ml Lösung, Inkubation 3 h bei RT, n = 3, Messung über Ce-Lumineszenz.

9.4 Aufklärung der molekularen Mechanismen der Metallanreicherung

Nach der in **Punkt 7.5.** beschriebenen Methode wurden wässrige Extrakte der Biomasse ausgewählter Spezies fraktioniert und nach der Zugabe von Tb vermessen. In den **Diagrammen 11** und **12**, sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Die hier gezeigten Versuche haben einen qualitativen Charakter.

Die Anregungsspektren von Tb in allen im ersten Lauf (PD-10 Gelfiltrationssäule) gesammelten Fraktionen wurden in **Diagramm 11 rechts** dargestellt. Hier ist es ersichtlich, dass die Spektren stark vom getesteten Mikroorganismus abhängen. Zwei Fraktionen mit Molekülen unterschiedlicher Größe haben im Fall von *C. brevissima* und *Picocystis* sp. einen sehr ähnlichen Aufbau. Dieser Sachverhalt weckt die Vermutung, dass es sich bei den Metallchelatoren um Polymere handelt, welche auf Monomere bzw. Oligomere zerfallen können. Der Bindungscharakter bleibt in dem Fall gleich, die Molekülgröße der Chelatoren jedoch nicht. Zusätzlich ist bei *C. brevissima* ein unspezifischer Peak im Anregungsspektrum, bei ca. 350 nm, zu sehen. Die Überprüfung des Emissionsspektrums zeigte, dass es sich hier um ein Pigment handelt.

Die weitere Aufreinigung der Fraktionen über eine weitere PGC-Säule (Porous Graphidised Carbon, von Thermo Scientific) lieferte noch weitere Fraktionen, insbesondere im Falle der Biomasse von *C. brevissima*. Aufgrund der Analyse von aufgenommenen Anregungsspektren kann man feststellen, dass alle Grünalgen ähnliche Fraktionen, während das Cyanobakterium (*C. brevissima*) etwas andere liefern.

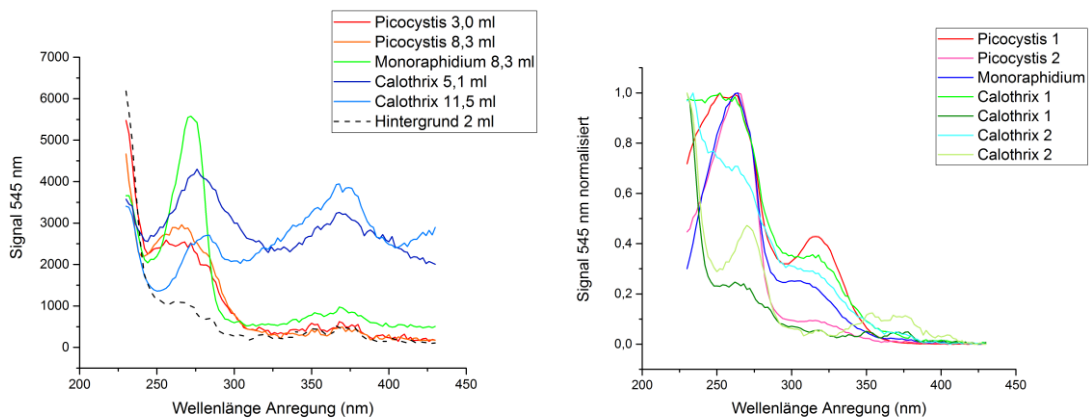


Diagramm 11: Zusammengefasste Anregungsspektren von Tb mit aktiven Fraktionen nach der Auftrennung über eine PG-10 Entsalzungssäule (links) und die gleichen Fraktionen nach der Aufreinigung mit einer PGC-Säule (Porous Graphitized Carbon) (rechts).

Erste Versuche mit *P. patens* zeigen, dass hier auch ein anderes Spektrum im Vergleich zu Grünalgen und Cyanobakterien beobachtet wird. Obwohl noch weitere Versuche geplant sind um die Komponenten zu identifizieren, kann man jetzt schon feststellen, dass die chemische Zusammensetzung der Metallkomplexe von der Biomasse abhängig ist.

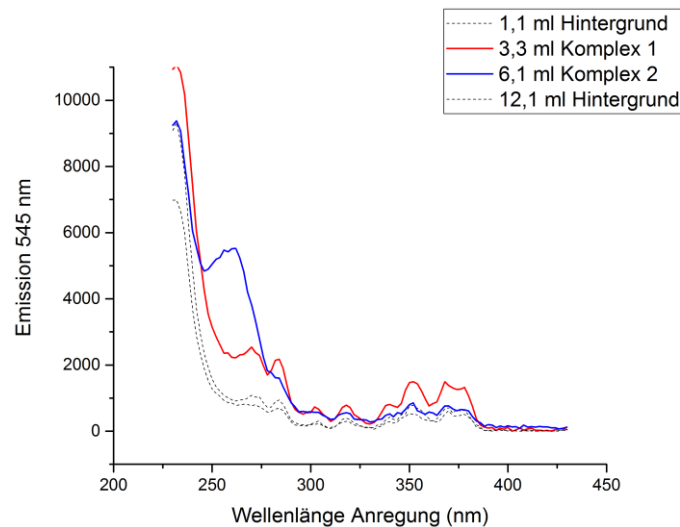


Diagramm 12: Anregungsspektren aktiver Fraktionen nach der Auftrennung eines Extraktes aus *P.patens* durch eine PD-10 Säule.

9.5 Analyse realer Proben

Im Zuge einer eingehenden Untersuchung potentieller realer Proben wurden Kontakte nach Kasachstan geknüpft (siehe auch **Kapitel 9.8.**). Nähere Angaben hierzu und weiterer Industriebeteiligungen sind am Ende dieses Kapitels zu finden.

Die aus Kasachstan bereitgestellten Proben aus einem Vanadium gewinnenden Werk wurden mittels ICP-MS sowohl in Deutschland als auch bei Kasachischen Partner vermessen. Zunächst fällt auf, dass die allermeisten in Kasachstan ermittelten Werte auch mit unseren Analysen bestätigt werden konnten. Lediglich bei den Seltenen Erden in Probe 1 treten größere



Abweichungen auf, somit werden hier nur die bei uns ermittelten Werte zur Interpretation herangezogen. Bei dieser Probe fällt auf, dass im Bereich der Seltenen Erden nur sehr geringe Gehalte vorhanden sind (häufigster Vertreter Sc: 0,32 mg/l) im Vergleich zu den anderen Proben. Probe 2 zeigt deutlich erhöhte Werte (8,1 mg/l) für Y, aber auch Gd und Sc als zweithäufigste Vertreter (0,7 bzw. 0,33 mg/l) erreichen adäquate Konzentrationen. Neben den REE weisen die Proben 1 und 2 Na und andere Alkali- und Erdalkalielemente auf (bis zu 2,8 g/l). Probe 2 enthält zudem sehr viel Al (1,6 g/l). Die Proben 3 und 4 zeigen ähnliche Verteilungen der REE mit den häufigsten Vertretern: Y (1,4 bzw. 1,6 mg/l), La (0,5 bzw. 0,7 mg/l), Ce (0,4 bzw. 0,5 mg/l) und Nd (0,4 bzw. 0,5 mg/l).

Diese realen Werte wurden in einem nächsten Versuch verwendet, um die Anwendbarkeit des Prozesses auf Realproben zu zeigen. Dazu wurden, basierend auf den erzielten Analysenergebnissen und einer Veröffentlichung von Merten *et al.* ^[45] Modellwässer hergestellt und auf deren dynamische und selektive Bindung hin untersucht. Dabei wurden in diesem ersten Schritt nur die Ionen von Pb, Ni, Fe, Cu, Eu und Nd gewählt, da diese Elemente bereits in Selektivitätsuntersuchungen zum Einsatz kamen (**Kapitel 9.3**). Grundsätzlich konnten diese Versuche die früher gewonnenen Erkenntnisse bestätigen. Cu, Pb, Nd und Eu werden nahezu vollständig aus der Probe an der Biomasse sorbiert, Ni und Fe dagegen nicht. Es konnte lediglich ein negativer Einfluss auf die Sorption von Nd und Eu bei Vorliegen größerer Konzentrationen von Cu (ab 360 mg·l⁻¹) ermittelt werden, wobei Cu selbst nicht sorbiert wurde.

Neben diesen Abwässern konnte eine Feststoffprobe aus einem Phosphorsäure produzierenden Werk in Polen akquiriert werden, die hier als nicht weiter verwendbares Nebenprodukt anfallen. Diese wurde mittels verschiedenen Aufschlussmethoden vorbereitet und mittels ICP-AES und ICP-MS vermessen.

Bezüglich der REE fällt auf, dass hier vor Allem Y, Ce, Sc, La und Nd (85; 75; 70; 55; 50 mg·kg⁻¹) in vergleichbar hohen Mengen vorhanden sind. Als nächstes soll geprüft werden, inwieweit diese Aufschlusslösungen (reale Konzentrationen und pH-Werte) direkt in der Sorption mittels Metallanreicherungsäulen eingesetzt werden können.

Schließlich wurde von einer Firma, in der auf biotechnologischem Wege Pharmazeutika aus Moosbioreaktoren gewonnen werden, Proben ihrer Restbiomasse nach Gewinnung der Wertstoffe angefordert. Die gelieferte Biomasse kam in gefrorenem autoklavierten Zustand bei uns an. Diese wurde dann bei uns lyophilisiert und gemörsert und einem Sorptionstest unterzogen. Dabei konnte die maximale Sorptionskapazität zu **0,37 ± 0,02 mmol·g⁻¹** berechnet werden. Dies liegt in etwa bei der Hälfte des mit unserer Biomasse erreichten Wertes. Die hier festgestellte niedrigere Sorptionskapazität kann an der Extraktion des Produktes liegen. Um mögliche Gründe zu beleuchten werden weitere Versuche mit der Biomasse durchgeführt. Ein Vergleich mit Biomasse aus unserer Kultivierung nach Autoklavierung steht noch aus. Trotz niedrigerem Ergebnis der Restbiomasse birgt das Einsetzen des Materials aus anderen Anwendungen die Möglichkeit, unser Verfahren wirtschaftlich zu betreiben, vor allen wenn man durch die Anpassung der Prozessparameter (z.B. pH) höhere Sorption erreichen kann.

9.6 Dynamische Sorptionsuntersuchungen

Alle bis jetzt beschriebenen Experimente bezogen sich auf eine statische Sorption im Reagenzglas. Um diese Ergebnisse auch auf dynamische Verhältnisse hin zu untersuchen, wurden Säulenversuche wie sie unter **Punkt 7.3** beschrieben sind, durchgeführt. Dies ist notwendig, da unser beabsichtigter Prozess einen Durchsatz von großen Flüssigkeitsmengen



ermöglichen soll. Diese Säulenversuche mit Sand als Trägermaterial wurden mit verschiedenen Einwaagen an Biomasse (**Diagramm 13**), Spezies (**Diagramm 14**) und Flussraten (**Diagramm 15**) durchgeführt, um diese zu optimieren. Als Vergleichsgröße der einzelnen Kurven wurde jene Sorptionskapazität bei beginnendem Durchbruch (Q_{Break}) herangezogen. Die maximal erzielbare Sorptionskapazität ist hier irrelevant, da man die einströmende Flüssigkeit möglichst vollständig von Nd befreien möchte. Bei dem Vergleich verschiedener Einwaagen an Biomasse stellte sich heraus, dass Q_{Break} mit steigender Einwaage ansteigt bis zu einem Plateau ($0,14 - 0,18 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) das bei 30 mg Biotrockenmasse eintritt. Damit konnte ein optimales Biomasse-zu-Sand-Verhältnis von 5,3 Gew.% ermittelt werden.

Der Vergleich verschiedener Spezies bestätigte, dass die Unterschiede aus statischen Versuchen für verschiedene Spezies auch für dynamische Sorption gelten.

Schließlich zeigt die Erhöhung der Flussraten eine erwartungsgemäße Verringerung von Q_{Break} (von $0,15$ nach $0,06 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$). Für einen realen Prozess mit großem Probenvolumen muss hier zwischen Zeitaufwand für eine geringe Flussrate und Verlusten in Q_{Break} abgewogen werden.

Darüber hinaus stellt sich die Frage nach einer Desorption der zuvor gebundenen Metallionen. Demzufolge wurde auch dieser Aspekt in die Versuche der dynamischen Adsorption mit integriert. Es konnten in einem ersten Schritt 2 potentielle Verbindungen (EDTA und Citrat) identifiziert werden, die eine Desorption von Nd von lyophilisierter Biomasse ermöglichen. In einigen Machbarkeitsexperimenten konnten 73 % (Citrat) bzw. 81 % (EDTA) des zuvor gebundenen Neodyms wieder solubilisiert werden.

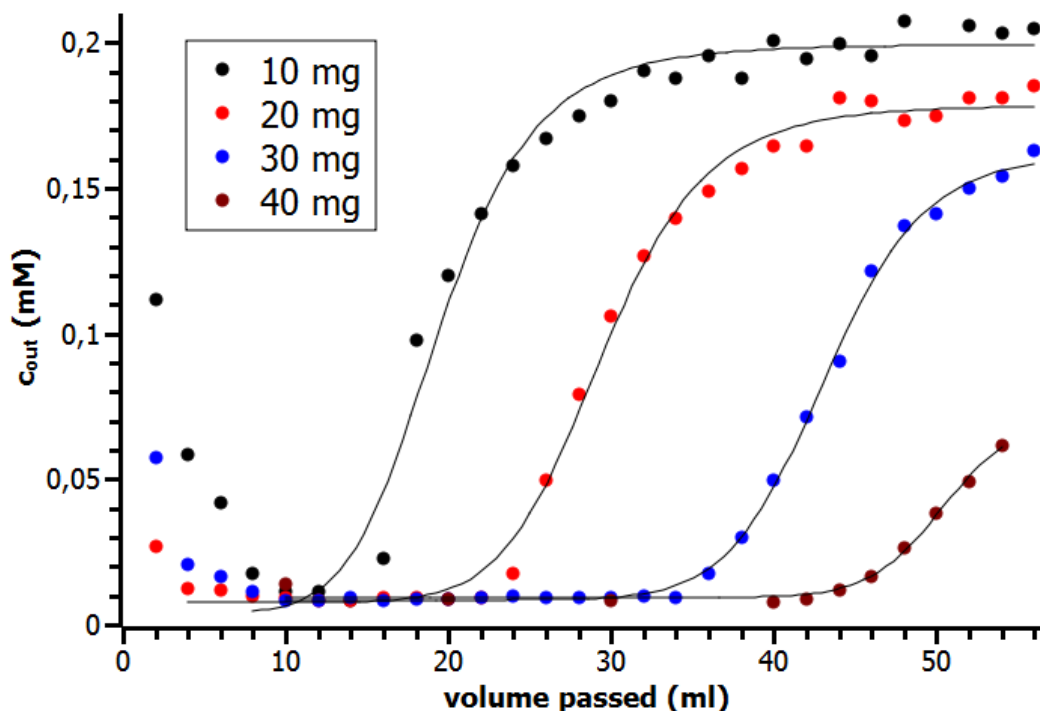


Diagramm 13. Durchbruchkurve unter Verwendung verschiedener Einwaagen an Biomasse. *P. patens*: 10 - 40 mg Trockenmasse, Nd: $0,2 \text{ mM}$, Flussrate: $1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, Totvolumen: 7 ml , $n = 1$.

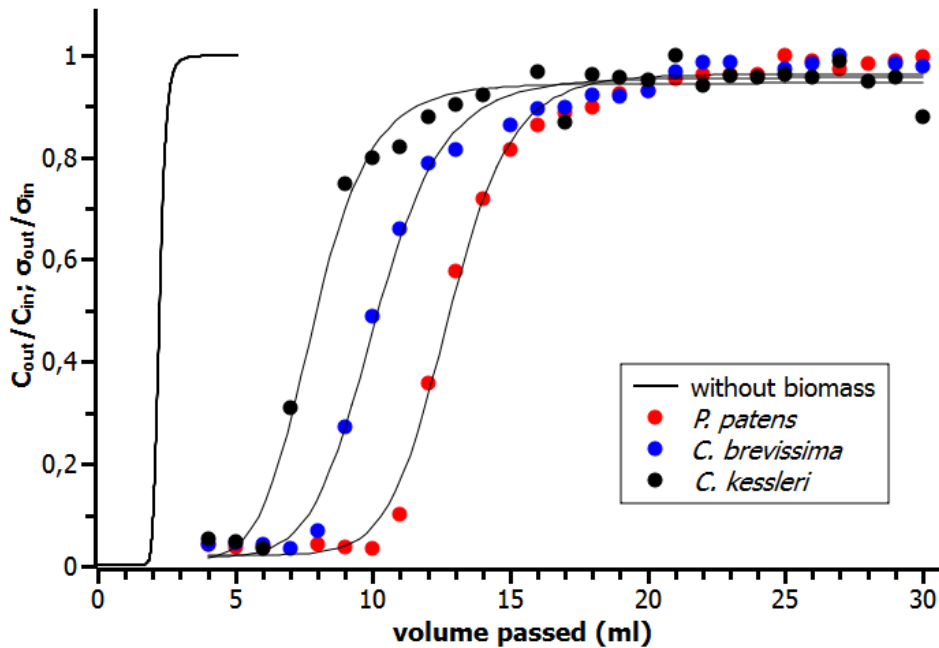


Diagramm 14. Durchbruchkurve unter Verwendung verschiedener Spezies an Biomasse. *P. patens*, *C. brevissima*, *C. kessleri*: je 10 mg Trockenmasse, Nd: 0,2 mM, Flussrate: 1 ml*min⁻¹, Totvolumen: 2,3 ml, n = 1.

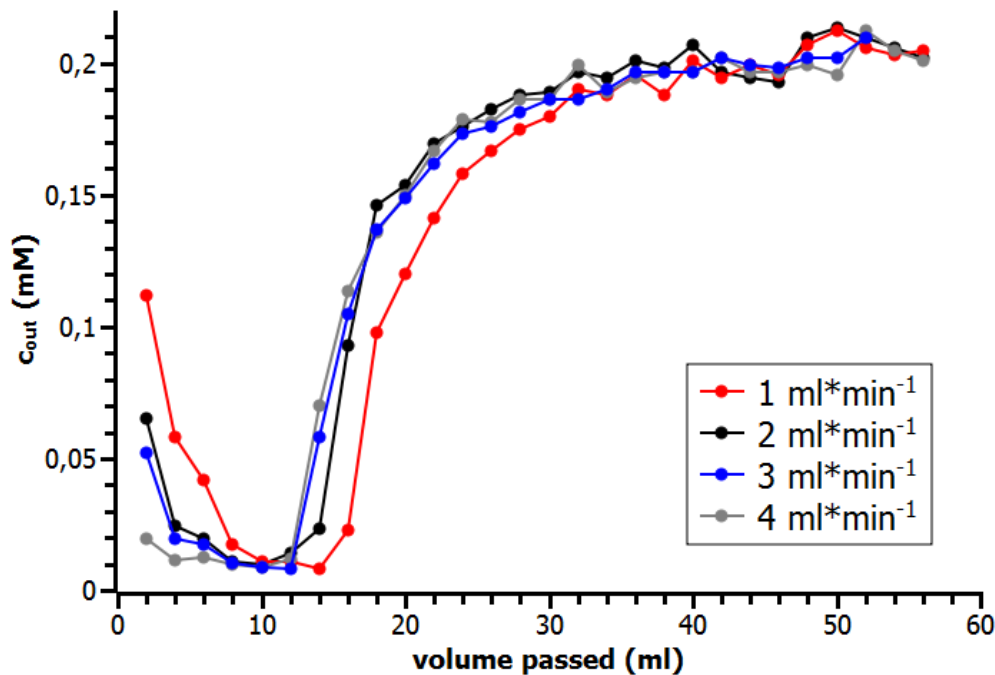


Diagramm 15. Durchbruchkurve unter Verwendung verschiedener Flussraten. *P. patens*: je 10 mg Trockenmasse, Nd: 0,2 mM, Flussrate: 1 - 4 ml*min⁻¹, Totvolumen: 7 ml, n = 1.

9.7 Kultivierungsoptimierung

Um den Aufwand der Herstellung der Biomasse abschätzen zu können, wurden verschiedene Spezies bei verschiedenen Bedingungen in unserem PSM kultiviert. Zunächst wurden *P. patens*, *C. kessleri* und *C. brevissima* auf das sogenannte BG 11 Medium adaptiert, das im Gegensatz zu



deren jeweiliger Standardmedien auf das Vorhandensein von Erdextrakt verzichtet, was das Medium zum einen vergleichbarer und es vor allem billiger macht.

Die Kultivierung bei verschiedenen Temperaturen (25 - 35 °C) erlaubten die Optima für *C. kessleri* bei 30 °C und bei 27,5 °C für *C. brevissima* zu identifizieren. Weitere Versuche werden mit einer weiteren Spezies - *P. patens* – sowie anderen Optimierungsparameter (pH-Wert, Licht- und CO₂-Eintrag) durchgeführt.

9.8 Unternehmenskooperationen

Bereits bei der Antragstellung wurden zwei Unternehmen für das Projekt als assoziierte Partner gewonnen, die uns auch weiterhin bei der Bearbeitung der Forschungsfragen zur Seite stehen. Das sind einerseits die G.E.O.S. Ingenieur-Gesellschaft und andererseits die SEC Schön Energie Consulting. Diese und im Laufe des Projektes neu geknüpften weitere Kontakte zu anderen Unternehmen werden im Folgenden kurz beschrieben.

9.8.1 G.E.O.S. Ingenieurgesellschaft mbH (Niederlassung Berlin)

Die G.E.O.S. Ingenieurgesellschaft mbH (G.E.O.S., Niederlassung Berlin) ist ein hochkompetenter Partner, der die Bereiche Bergbau, Altlastenbehandlung und Hydrothermie abdeckt. Der Partner ist deutschlandweit im Bergbau und in Projekten zur Erschließung von hydrothermalen Energiequellen aktiv. Dank dieser Aktivitäten konnten im Laufe des Projektes über Herrn Giese Daten und Proben beschafft werden, die zur Identifizierung möglicher alternativer Quellen für eine nicht-konventionelle, biotechnologische Gewinnung der REEs benutzt wurden.

Bereits am Anfang des Projektes wurde über die Firma G.E.O.S. ein Kontakt zur Firma BioGeoTec (Stepnogorsk, Kasachstan) und das „Center of Earth Sciences, Metallurgy and Ore Beneficiation“ (Almaty, Kasachstan) geknüpft, der nach dem Besuch dessen Vertreter in Deutschland am 17. - 18. November 2015 in einer Vereinbarung (*Memorandum of Understanding, MoU*; siehe unten und im Anhang) resultierte (im Folgenden näher beschrieben).

Weiterhin wurden den Projektbearbeitern Wasserproben von einem Energieerzeuger unter Nutzung der Tiefen Geothermie (EWG, Energie-Wende-Garching) zur Untersuchung bereitgestellt, um dessen Eignung als potenzielle Quelle der REE für den beabsichtigten Prozess zu überprüfen. Leider haben die Messungen keine messbaren Konzentrationen der Zielmetalle ergeben, die diese Wässer als geeignete Rohstoffquelle auszeichnen würden.

Darüber hinaus wurde das Bayerischen Landesamt für Umwelt („Grundwasserbewirtschaftung, Trinkwasserschutz“, Hof) kontaktiert, um die anderen potenziellen Quellen für REEs z.B. aus Altbergwerken zu identifizieren. Hier liegen jedoch noch keine Analysen von REEs.

Da das Projekt sich primär mit Machbarkeitsuntersuchungen („*proof of concept*“) beschäftigt, wo zuerst die grundlegenden Daten erhoben werden müssen, beschränkte sich bisweilen die Beteiligung der Firma zu der Beschaffung der Rohstoffquellen auf die genannten Aktivitäten. Nichtsdestotrotz stehen Firmenvertreter in regelmäßigem Kontakt mit den Projektbearbeitern und werden zu den Projekttreffen eingeladen. Hier werden in regelmäßigen Abständen die neuesten Erkenntnisse und Daten präsentiert, um einen Austausch über Prozesslösungen für spätere Anwendungen zu ermöglichen. Schließlich ist auch die Unterstützung der Firma bei der Implementierung, des in dem Projekt entwickelten Prozesses in einen technischen Maßstab zugesichert.

9.8.2 CO₂ biomass UG (München)

Herr Schön von der Firma CO₂ biomass UG hat mehr als 20 Jahre Erfahrung in der Projektierung und ökonomischen Analyse im Bereich der Erneuerbaren Energien und der Förderung



mineralischer Rohstoffe. Um in Zukunft ein zielgerichtetes Projekt mit ökonomischem Fokus und marktbezogenen Aspekten voranzutreiben, werden die in diesem Projekt gewonnenen wissenschaftlichen Daten bereits in diesem frühen Stadium durch eine ökonomische Effizienzanalyse des Partners unterstützt. Darüber hinaus sollen begleitend zu den Forschungsarbeiten auch die möglichen Endverbraucher identifiziert werden.

Herr Schön steht in regelmäßigem Kontakt mit dem Forscherteam, nimmt bei den Projekttreffen (auch ForCycle Zwischensymposium am 18. November 2015) teil und unterstützt die Arbeiten über den Aufbau weiterer Kontakte und eine rege Diskussion. So hatte Herr Schön beispielsweise bei der Akquise zu den kasachischen Firmen, die im Folgenden genannt sind, einen entscheidenden Anteil.

9.8.3 Kasachische Kontakte

Wie bereits eingangs erwähnt, konnte dank der Kontakte und Vermittlung von Herrn Giese und Frau Schuldt (beide G.E.O.S.) bereits im Vorfeld der Antragstellung ein Kontakt mit der kasachischen Firma „Biomedpreparat-Engineering Center“ (Stepnogorsk, Kasachstan) geknüpft werden. Über diese Firma sind in der Folgezeit weitere Kontakte zu der Firma „BioGeoTec LLT“ (Stepnogorsk, Kasachstan) und dem „Center of Earth Sciences, Metallurgy and Ore Benefication“ (Almaty, Kasachstan) entstanden. Nach einem Besuch von Herrn Balpanov (BioGeoTec LTT) bei dem ForCycle-Zwischensymposium im November 2015 wurde eine Vereinbarung auf gegenseitige Zusammenarbeit zwischen folgenden Projektpartnern schriftlich fixiert: Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik, BVT, FAU Erlangen, Professur für Industrielle Biokatalyse, IBK, TU München Firma BioGeoTec LTT, „Center of Earth Sciences, Metallurgy and Ore Benefication“ und Nationales Zentrum für Biotechnologie (Astana, Kasachstan; MoU siehe Anhang). Der Zweck dieser Vereinbarung ist eine einvernehmliche Zusammenarbeit zwischen den obengenannten Partnern in den Bereichen der Biomedizin, Biologie und Biotechnologie sowie der Durchführung von Kooperationsforschungsarbeiten im Feld der Grundlagen-, Anwendungs- und Innovationsforschung. Die Zusammenarbeit bezieht sich auf folgende Punkte: i) gemeinsame Forschungsprojekte, ii) Entwicklung, Implementierung und Unterstützung im Rahmen von gemeinsamen Forschungsarbeiten, iii) Veranstalten von gemeinsamen Konferenzen, Seminaren, Workshops etc., iv) gegenseitige Konsultationen im Rahmen der Forschungsarbeiten, v) Austausch von Informationen, Erfahrungen und Technologien, vi) Etablierung von Interaktionen zwischen den einzelnen Partnereinrichtungen. Dadurch konnten günstige Bedingungen für eine fruchtbare Zusammenarbeit geschaffen werden.

Kurz nach der Unterzeichnung des MoU wurden im Rahmen der beschlossenen Kooperationen ein gemeinsamer Plan für die Probenahme in Kasachstan erarbeitet, die Proben entnommen (Februar 2016), analysiert und den deutschen Partnern (BVT, IBK) zugeschickt. Dabei handelte es sich um Prozess- und Abwässer aus dem Erzverarbeitungswerk Balasauskandyk und dem Düngemittelwerk „Kazfosfat“ bei Taras, Kasachstan. Die Zusammensetzung der Proben wurde zusätzlich von den deutschen Partnern untersucht und mit denen auf kasachischer Seite ermittelten Werten verglichen (siehe **Kapitel 9.5.**). Aufgrund der Analysen und Konzentrationen der REEs wurden diese Wässer als mögliche Quellen für REEs für den beabsichtigten Prozess erkannt. Sie dienen als Grundlage für die Erstellung der Modellproben für weitere Untersuchungen und werden in weiteren Versuchen eingesetzt.

Darüber hinaus wurden eine Skizze zum Forschungsbegleitvorhaben mit dem Ziel der „Identifizierung weiterer Quellen“ und „Schließung weiterer Kooperationen in Kasachstan“ gemeinsam erarbeitet und im CLIENT II - Programm beim Projektträger Jülich eingereicht. Die Ergebnisse werden Anfang Dezember erwartet, und eine positive Entscheidung könnte noch



substanziell zu den bereits geschlossenen Kooperationen beitragen, weil die Maßnahme während der Laufzeit des Projektes geplant und durchaus realisierbar ist.

9.8.3 Biopharmazeutika Hersteller

Nachdem *P. patens* (Vertreter der Moose) in unserem Screening die höchste maximale Sorptionskapazität für die untersuchten REEs gezeigt hat, wurde eine biotechnologische Firma, die diese Spezies für die Herstellung eines ihrer Produkte einsetzt, kontaktiert. In dem von der Firma entwickelten Prozess wird mit Hilfe des Moooses ein Pharmazeutikum biotechnologisch hergestellt. Dabei verbleibt nach der Extraktion des Produktes die Restbiomasse, die entsorgt werden muss. Diese könnte in unserem Prozess als Adsorber eingesetzt werden, um einerseits die Kosten der Herstellung der Biomasse für uns und andererseits jene für die Entsorgung für die Firma zu reduzieren.

Die autoklavierte Restbiomasse aus dem Prozess wurde uns von der Firma zur Verfügung gestellt und von uns auf deren Eignung für die Sorption der REEs untersucht (siehe **Kapitel 9.5.**).

10 Veröffentlichungen der Ergebnisse

Die Ergebnisse unserer Arbeit werden kontinuierlich auf Fachtagungen, internationalen Konferenzen und in wissenschaftlichen Zeitschriften veröffentlicht. Eine detaillierte Liste mit allen Beiträgen befindet sich unter **Punkt 13**. Weiterhin ist die Teilnahme in Form eines Posters auf der AlgaEurope Konferenz, 13. - 16. Dezember 2016, Madrid geplant. Für das nächste Jahr ist außerdem eine Teilnahme an der „European Rare Earth Resources“ Konferenz geplant. Eine weitere wissenschaftliche Veröffentlichung befindet sich im Moment in Vorbereitung und soll Anfang des nächsten Jahres eingereicht werden.

11 Zusammenfassung

Im Rahmen des Projektes wurde zunächst eine Screening-Methode für die Bestimmung der maximalen Sorptionskapazität unterschiedlicher Mikroorganismen etabliert. Dabei wurde von der FAU ein Farbkomplex adaptiert, mit dem man Schwermetalle in sehr geringen Konzentrationen quantifizieren kann. Parallel dazu erarbeitete man an der TUM eine direkte spektroskopische Methode zur Quantifizierung der REEs in Mischungen. Als Ergebnis des mit diesen Methoden durchgeführten Screenings wurden die interessantesten Vertreter aus den jeweiligen Speziesgruppen für eine weitere Bearbeitung ausgesucht: *Calothrix brevissima*, *Chlorella kessleri*, *Monoraphidium braunii*, *Scenedesmus obtusiusculus* und der einzige Vertreter der Moose, *Physcomitrella patens*. Das Sorptionsverhalten der ausgewählten Organismen wurde ausgiebig untersucht: es wurden neue Erkenntnisse zur Kinetik, den Sorptionsisothermen, der pH-Abhängigkeit und der Selektivität der Biosorption gewonnen. Die Sorption der REEs erfolgt sehr gut auch bei geringen Konzentrationen (0,1 mM – 0,5 mM je nach Spezies) und ist unabhängig von vielen Störstoffen. Lediglich Pb wird bevorzugter aufgenommen. Störend in sehr hohen Konzentrationen sind ebenfalls Cu und Fe. Der optimale pH-Bereich für das Verfahren liegt stark im sauren Bereich (pH 1), wodurch eine Desorption der störenden Elemente ermöglicht wird. Die Affinität der Biomasse für unterschiedliche Lanthanoide ist dabei ähnlich auf hohem Niveau. In den meisten Fällen stellt sich das Sorptionsgleichgewicht nach wenigen Minuten ein, was für die zukünftige Anlage mit kontinuierlicher Fahrweise vielversprechend ist. Für das Projekt zeigten einige Unternehmen aus der Bergbauindustrie aus Deutschland und Kasachstan Interesse und es wurden mehrere Realproben vermessen. Auch ein



potenzieller Biomasselieferant wurde identifiziert. Des Weiteren wurde mit der Identifizierung der an der Metallbindung beteiligten Moleküle begonnen, dazu wurden unter anderem FT-IR-Messungen beladener und ungeladener Biomasse, sowie chronographische Auftrennung der Metallchelatoren durchgeführt. Angesichts der noch zur Verfügung stehenden Zeit wird das Projekt interessante neue Erkenntnisse sowohl für die Industrie als auch für die Grundlagenforschung liefern.

12 Ausblick

Für das letzte Projektjahr wird auf Seiten des BVT der Fokus auf eine eingehende Optimierung und Bewertung des Gesamtprozesses in Verbindung mit der Konstruktion und Charakterisierung eines Prototyps einer Metallanreicherungskolonne gelegt werden. Hier wird, aufbauend auf bereits beschriebenen Säulenversuchen, die Abschätzung der Machbarkeit hinsichtlich ökologischen und ökonomischen Gesichtspunkten durchgeführt. Dies setzt zum Einen eine sehr genaue Analyse zur Verfügung stehender Wässer voraus, die in diesem Projektabschnitt intensiviert werden soll. Zum Anderen soll gezeigt werden, dass der Aufwand für die Produktion von Biomasse mit konventionellen Materialien mithalten kann. Dabei muss der Prozess kritischen Vergleichen mit konventionellen Verfahren und anderen Materialien standhalten. Gelingt dies nicht, so muss nach alternativen Beschaffungswegen für die Biomasse gesucht werden, oder der Prozess muss auf wertvollere Metalle adaptiert werden.

Gemäß dem Arbeitsprogramm des Projektes wird IBK hauptsächlich an der Aufklärung der molekularen Mechanismen hinter der Biosorption arbeiten. In erster Linie werden die unter **Punkt 9.4** beschriebenen Untersuchungen zur Isolierung der metallbindenden Komponenten weiterverfolgt, indem die Chromatographie-Bedingungen angepasst werden. Nach der Isolierung ist eine Charakterisierung der Metallchelatoren über NMR und MS geplant. Weiterhin können die Komponenten der einzelnen Spezies miteinander verglichen und in einer Mischung die Affinitäten bezüglich der einzelnen Metalle bestimmt werden. Schließlich werden diese Erkenntnisse in die Kultivierung der Biomasse einfließen, wo die Erhöhung der Produktion von metallbindenden Komponenten durch Variierung der Kulturbedingungen beabsichtigt ist.

13 Veröffentlichungsliste

13.1 Vorträge

- Heilmann, M.; Glemser, M. (2015 a): Geobiotechnologie: Innovative Verfahren zur Gewinnung Seltener Erden und anderer Wertmetalle aus hochverdünnten Lösungen durch mikroalgenbasierte Bioadsorption - Vorläufige Ergebnisse, Cluster-Bilanz-Workshop, 24. März, Augsburg
- Heilmann, M.; Jurkowski, W. (2015 b): Geobiotechnologie: Gewinnung Seltener Erden aus hochverdünnten Lösungen. Doktorandenworkshop, 30. November - 01. Dezember, Augsburg
- Jurkowski, W; Heilmann, M. (2016 a): Gewinnung Seltener Erden aus hochverdünnten Lösungen durch mikroalgenbasierte Bioadsorption. Cluster-Bilanz-Workshop, 12. April, Augsburg
- Heilmann, M.; Jurkowski, W. (2016 b): Biosorption of Neodymium and Europium by Selected Photoautotrophic Species - Thermodynamics, Kinetics, Biosorption Mechanisms and Selectivity. Young Algaeneers Symposium, 23. - 25. April, Malta



- Buchholz, R.; Heilmann, M.; Brück, T.; Becker, A. (2016 c): Gewinnung Seltener Erden aus hochverdünnten Lösungen durch mikroalgenbasierte Bioadsorption. 1. Europäische Ressourcenkonferenz, 31. Mai - 02. Juni, München
- Jurkowski, W.; Heilmann, M. (2016 d): REE recovery from highly diluted solutions by microalgae based biosorption. Polish Geological Institute – National Research Institute, Szczecin, 05. Mai 2016.

13.2 Posterpräsentationen

- Heilmann, M.; Becker, A. M.; Buchholz, R.; Brück, T. (2015 a): Gewinnung Seltener Erden aus hochverdünnten Lösungen durch mikroalgenbasierte Bioadsorption. Poster zum Aushang im Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz, Februar/März, München
- Heilmann, M.; Jurkowski, W.; Becker, A. M.; Buchholz, R.; Brück, T. (2015 b): Gewinnung Seltener Erden aus hochverdünnten Lösungen durch mikroalgenbasierte Bioadsorption. Poster zum Aushang im Bayerischen Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz, Mai/Juni, München
- Heilmann, M.; Jurkowski, W.; Büttner, A.; Becker, A. M.; Brück, T.; Buchholz, R. (2015 c): Gewinnung Seltener Erden aus hochverdünnten Lösungen durch mikroalgenbasierte Bioadsorption. Zwischensymposium zum Projektverbund ForCYCLE: Rohstoffwende Bayern - Projektverbund ForCYCLE und Leitfaden Abfallvermeidung, 18. November, München
- Jurkowski, W.; Heilmann, M.; Becker, A. M.; Buchholz, R.; Brück, T. (2015 d): Mikroalgenbasierte Biosorption zur Gewinnung Seltener Erden aus hochverdünnten Lösungen. Bundesalgenstammtisch, DECHEMA, 07. - 08. September, Garching
- Heilmann, M.; Jurkowski, W.; Büttner, A.; Becker, A. M.; Brück, T.; Buchholz, R. (2016 a): Gewinnung Seltener Erden aus hochverdünnten Lösungen durch mikroalgenbasierte Bioadsorption. 4. Symposium Rohstoffeffizienz und Rohstoffinnovationen, 17. - 18. Februar, Tutzing
- Jurkowski, W.; Heilmann, M.; Becker, A. M.; Brück, T.; Buchholz, R. (2016 b): REE recovery from highly diluted solutions by microalgae based biosorption: Species dependent selectivity. European Networks Conference on Algal and Plant Photosynthesis, 26. - 29. April, Malta
- Jurkowski, W.; Heilmann, M.; Becker, A. M.; Brück, T.; Buchholz, R. (2016 c): REE recovery from highly diluted solutions by biosorption. AlgaEurope Conference, 13. - 15. Dezember, Madrid

13.3 Publikationen

- Heilmann, M.; Jurkowski, W.; Buchholz, R.; Brück, T.; Becker, A. M. (2015): Biosorption of Neodymium by Selected Photoautotrophic and Heterotrophic Species. Journal of Chemical Engineering and Process Technology, 6, 4
- Heilmann, M.; Jurkowski, W.; Buchholz, R.; Brück, T.; Becker, A. M. (2016): Recovery of rare earth elements from wastewaters by biosorption - a proof of principle and biosorption mechanisms. In Vorbereitung



15 Literatur

- [1] F. Veglio, F. Beolchini, *Hydrometallurgy*. Removal of metals by biosorption: a review **1997**, *44*, 301–316.
- [2] N. Kuyucak, B. Volesky, *Biotechnology Letters*. Biosorbents for Recovery of Metals from Industrial Solutions **1988**, *10*, 137–142.
- [3] Andreas Wilke. Optimierung der biosorptiven Schwermetallentfernung unter Verwendung von immobilisierter Algenbiomasse. Dissertation **2001**.
- [4] Wilke A, Buchholz R, Bunke G, *Environmental Biotechnology*. Selective biosorption of heavy metals by algae **2006**, *2*, 47–56.
- [5] Sven Klimmek. Charakterisierung der Biosorption von Schwermetallen an Algen. Dissertation **2003**.
- [6] Algen - Nachhaltige Rohstoffquelle für Wertstoffe und Energie.
- [7] A. R. Khataee, F. Vafaei, M. Jannatkah, *International Biodeterioration & Biodegradation*. Biosorption of three textile dyes from contaminated water by filamentous green algal *Spirogyra* sp.: Kinetik, isotherm and thermodynamic studies **2013**, 33–40.
- [8] J. Vijaraghavan, T. Bhagavathi Pushpa, S. J. Sardhar Basha, K. Vijaraghavan, J. Jegan, *Separation Science and Technology*. Evaluation of Red Marine Alga *Kappaphycus alvarezii* as Biosorbent for Methylene Blue: Isotherm, Kinetic, and Mechanism Studies **2015**, *50*, 1120–1126.
- [9] Suneerat Ruangsombon, Dusit Aue-Umneoy, Atiya Saparnklang (Eds.), **2013**.
- [10] B. Sen Gupta, M. Curran, S. Hasan, T. K. Ghosh, *Journal of environmental management*. Adsorption characteristics of Cu and Ni on Irish peat moss **2009**, *90*, 954–960.
- [11] B. Subhadra, *Journal of the science of food and agriculture*. Algal biorefinery-based industry: an approach to address fuel and food insecurity for a carbon-smart world **2011**, *91*, 2–13.
- [12] M. C. Palmieri, O. Garcia, P. Melnikov, *Process Biochemistry*. Neodymium biosorption from acidic solutions in batch system **2000**, *36*, 441–444.
- [13] K. Chojnacka, A. Chojnacki, H. Górecka, *Chemosphere*. Biosorption of Cr³⁺, Cd²⁺ and Cu²⁺ ions by blue-green algae *Spirulina* sp.: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process **2005**, *59*, 75–84.
- [14] E. Kiefer, L. Sigg, P. Schosseler, *Environmental science & technology*. Chemical and Spectroscopic Characterization of Algae Surfaces **1997**, *31*, 759–764.
- [15] E. Fourest, B. Volesky. Alginate Properties and Heavy Metal Biosorption by Marine Algae **1997**, *67*, 215–226.
- [16] K. Jaafari, S. Elmaleh, J. Coma, K. Benkhouja, *Water SA*. Equilibrium and kinetics of nitrate removal by protomated cross-linked chitosan **2001**, *1*, 9–13.
- [17] N. B. Wyatt, L. M. Gloe, P. V. Brady, J. C. Hewson, A. M. Grillet, M. G. Hankins, P. I. Pohl, *Biotechnology and bioengineering*. Critical conditions for ferric chloride-induced flocculation of freshwater algae **2012**, *109*, 493–501.
- [18] A. Sari, D. Mendil, M. Tuzen, M. Soylak, *Chemical Engineering Journal*. Biosorption of Cd(II) and Cr(III) from aqueous solution by moss (*Hylocomium splendens*) biomass: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies **2008**, *144*, 1–9.
- [19] J.-C. G. Bünzli, C. Piguet, *Chemical Society reviews*. Taking advantage of luminescent lanthanide ions **2005**, *34*, 1048–1077.
- [20] D. Guyonnet, M. Planchon, A. Rollat, V. Escalon, J. Tuduri, N. Charles, S. Vaxelaire, D. Dubois, H. Fargier, *Journal of Cleaner Production*. Material flow analysis applied to rare earth elements in Europe **2015**, *107*, 215–228.



- [21] E. Alonso, A. M. Sherman, T. J. Wallington, M. P. Everson, F. R. Field, R. Roth, R. E. Kirchain, *Environmental science & technology*. Evaluating rare earth element availability: a case with revolutionary demand from clean technologies **2012**, *46*, 3406–3414.
- [22] M. Humphries, *CRS Report for Congress*. Rare Earth Elements: The Global Supply Chain **2013**, *R41347*, 1–27.
- [23] M. Humphries, *CRS Report for Congress*. Rare Earth Elements: The Global Supply Chain **2013**, *R41347*, 1–27.
- [24] Deutscher Bundestag. Fairen Rohstoffhandel sichern - Handel mit Seltenen Erden offenhalten. Drucksache 17/4553 **2011**.
- [25] Jindrich Kynicky, Martin P. Smith, Cheng Xu, *Elements*. Diversity of Rare Earth Deposits: The Key Example of China **2012**, *8*, 361–367.
- [26] United States Environmental Protection Agency, *EPA 600/R-12/572*. Rare Earth Elements: A Review of Production, Processing, Recycling, and Associated Environmental Issues **2012**.
- [27] Öko-Institut e.V. Hintergrundpapier Seltene Erden **2011**.
- [28] X. J. Yang, A. Lin, X.-L. Li, Y. Wu, W. Zhou, Z. Chen, *Environmental Development*. China's ion-adsorption rare earth resources, mining consequences and preservation **2013**, *8*, 131–136.
- [29] Cindy Hurst, *Institute for the Analysis of Global Security*. China's Rare Earth Elements Industry: What Can the West Learn? **2010**, 1–43.
- [30] C. K. Gupta, N. Krishnamurthy. Extractive Metallurgy of Rare Earths, **2005**. 0-415-33340-7.
- [31] K. Binnemans, P. T. Jones, B. Blanpain, T. van Gerven, Y. Pontikes, *Journal of Cleaner Production*. Towards zero-waste valorisation of rare-earth-containing industrial process residues: a critical review **2015**, *99*, 17–38.
- [32] K. Pollmann, S. Kutschke, S. Matys, S. Kostudis, S. Hopfe, J. Raff, *Minerals*. Novel Biotechnological Approaches for the Recovery of Metals from Primary and Secondary Resources **2016**, *6*, 54.
- [33] Ana de Bettencourt-Dias. Luminescence of Lanthanide Ions in Coordination Compounds and Nanomaterials. 978-1-119-95083-7.
- [34] T. L. Miller, *The Ohio Journal of Science*. Terbium Luminescence from Complexes of Angiotensin II, Small Peptides, and Amino Acids **1986**, *v86, n4*, 140–143.
- [35] M. S. Kayne, M. Cohn, *Biochemistry*. Enhancement of terbium(III) and europium(III) fluorescence in complexes with Escherichia coli tRNA **1974**, *13*, 4159–4165.
- [36] A. Minoda, H. Sawada, S. Suzuki, S.-i. Miyashita, K. Inagaki, T. Yamamoto, M. Tsuzuki, *Applied microbiology and biotechnology*. Recovery of rare earth elements from the sulfothermophilic red alga *Galdieria sulphuraria* using aqueous acid **2015**, *99*, 1513–1519.
- [37] Mehmet Ali Kücükler, Jean-Baptiste Nadal, Kerstin Kuchta, *International journal of plant, animal and environment sciences*. Comparison between batch and continuous reactor systems for biosorption of neodymium (Nd) using microalgae **2016**, *3*, 197–203.
- [38] David Sadovsky, Asher Brenner, Boaz Astrachan, Boaz Asaf, Raphael Gonen, *Journal of Rare Earths*. Biosorption potential of cerium ions using *Spirulina* biomass **2016**, *6*, 644–652.
- [39] M. Haschke, J. Ahmadian, L. Zeidler, T. Hubrig, *Procedia Engineering*. In-Situ Recovery of Critical Technology Elements **2016**, *138*, 248–257.
- [40] Y. Hosomomi, R. Wakabayashi, F. Kubota, N. Kamiya, M. Goto, *Biochemical Engineering Journal*. Diglycolic amic acid-modified E. coli as a biosorbent for the recovery of rare earth elements **2016**, *113*, 102–106.
- [41] A. R. Khataee, F. Vafaei, M. Jannatkhah, *International Biodeterioration & Biodegradation*. Biosorption of three textile dyes from contaminated water by filamentous green algal *Spirogyra* sp.: Kinetic, isotherm and thermodynamic studies **2013**, 33–40.



- [42] J. Vijaraghavan, T. Bhagavathi Pushpa, S. J. Sardhar Basha, K. Vijaraghavan, J. Jegan, *Separation Science and Technology*. Evaluation of Red Marine Alga *Kappaphycus alvarezii* as Biosorbent for Methylene Blue: Isotherm, Kinetic, and Mechanism Studies **2015**, *50*, 1120–1126.
- [43] Suneerat Ruangsomboon, Dusit Aue-Umneoy, Atiya Saparnklang (Eds.), **2013**.
- [44] V. K. Gupta, Ravi Bhushan, Arunima Nayak, Prerna Singh, Brij Bhushan, *Bioremediation Journal*. Biosorption and Reuses Potential of a Blue Green Alga for the Removal of Hazardous Reactive Dyes from Aqueous Solutions **2014**, *18*, 179–191.
- [45] D. Merten, E. Kothe, G. Büchel, *Mine Water and the Environment*. Studies on Microbial Heavy Metal Retention from Uranium Mine Drainage Water with Special Emphasis on Rare Earth Elements **2004**, *23*, 34–43.