

Universität Hohenheim
Fakultät Agrarwissenschaften
Institut für Agrartechnik
Fachgebiet Verfahrenstechnik der Tierhaltungssysteme
Prof. Dr. T. Jungbluth
Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie
Dr. H. Oechsner



Entwicklung und Erprobung eines
Online-Messsystems für Biogasanlagen
auf Basis der Nah-Infrarot-Reflexionsspektroskopie (*NIRS*)

Dissertation zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Agrarwissenschaften
vorgelegt der Fakultät Agrarwissenschaften
der Universität Hohenheim

von
Dipl.-Ing. agr. Andrea Stockl
aus Erding

2013

| | | |
|-----------------------------|-----------|--------------------|
| Dekanin: | Prof. Dr. | Martina Brockmeier |
| Hauptberichter: | Prof. Dr. | Thomas Jungbluth |
| Mitberichter: | Prof. Dr. | Martin Kranert |
| | Prof. Dr. | Hans-Peter Piepho |
| Tag der mündlichen Prüfung: | | 31. Oktober 2013 |

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | ZUSAMMENFASSUNG..... | 3 |
| 2 | SUMMARY..... | 6 |
| | ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS..... | 8 |
| | ABBILDUNGSVERZEICHNIS..... | 11 |
| | TABELLENVERZEICHNIS..... | 12 |
| 3 | EINLEITUNG..... | 13 |
| 3.1 | Verwendete Substrate in Biogasanlagen..... | 13 |
| 3.2 | Funktion des Biogasprozesses..... | 15 |
| 3.2.1 | Biologische Prozessschritte..... | 15 |
| 3.2.2 | Stabilität des Biogasprozesses..... | 16 |
| 3.3 | Problemstellung..... | 17 |
| 3.4 | Methode zur Bestimmung wichtiger Prozessgrößen..... | 18 |
| 3.4.1 | Grundlage der NIR-Spektroskopie..... | 18 |
| 3.4.2 | NIR-Messsystem, im Speziellen für die Messung der flüchtigen Fettsäuren im Gärsubstrat von Biogasanlagen..... | 21 |
| 3.4.3 | NIR-Messprinzip..... | 22 |
| 3.4.4 | Auswertemethode mit „Support Vector Machine Regression“ (SVMR)..... | 24 |
| 3.4.5 | Forschungsverbundprojekt Bioenergie-Forschungsplattform..... | 25 |
| 3.5 | Zielsetzung der hier vorgestellten Untersuchungen..... | 27 |
| 3.6 | Eigene Untersuchungen und Ergebnisse..... | 28 |
| 4 | NEAR-INFRARED SPECTROSCOPIC ONLINE MONITORING OF PROCESS STABILITY IN BIOGAS PLANTS..... | 29 |
| 5 | NEAR-INFRARED-REFLECTION SPECTROSCOPY AS MEASURING METHOD TO DETERMINE THE PROCESS STABILITY OF ANAEROBIC DIGESTION..... | 41 |

| | | |
|---|--|----|
| 6 | NEAR-INFRARED-REFLECTION SPECTROSCOPY AS MEASURING METHOD TO DETERMINE THE STATE OF THE PROCESS FOR AUTOMATIC CONTROL OF ANAEROBIC DIGESTION | 58 |
| 7 | GESAMTDISKUSSION | 70 |
| | 7.1 Auswahl des Messsystems | 70 |
| | 7.2 Bestimmung der Sensorposition | 71 |
| | 7.3 Selektion der Substrate | 71 |
| | 7.4 Probenhandling | 72 |
| | 7.5 Prozessunterstützung im Arbeitsablauf | 73 |
| | 7.5.1 Interne Kalibrierung (Referenzierung) des Sensors | 73 |
| | 7.5.2 Softwaregestützte Datenaufnahme | 74 |
| | 7.5.3 Vergleich der mathematischen Verfahren zur Datenauswertung | 74 |
| | 7.6 Beurteilung des Messsystems im Allgemeinen | 75 |
| | 7.7 Vergleich eigener Ergebnisse zu Literaturangaben | 76 |
| | 7.8 Abschließende Beurteilung | 81 |
| 8 | LITERATURVERZEICHNIS | 82 |
| | DANKSAGUNG | 87 |

1 ZUSAMMENFASSUNG

Aufgrund der Anforderungen und Ziele der EU und Deutschlands am Ausbau regenerativer Energiequellen wird der Anteil der Energieerzeugung aus Biomasse in den nächsten Jahren deutlich zunehmen. Damit ist auch die Forderung nach einer kontinuierlichen Effizienzsteigerung der Biogasanlagen verbunden. Das entspricht einer verbesserten energetischen Ausnutzung der eingesetzten Substrate und der gezielten Ausschöpfung des technischen Potenzials von Biogasanlagen. Flüchtige Fettsäuren wie Essig- und Propionsäure sind Zwischenprodukte, die im Verlauf des vierstufigen anaeroben Abbauprozesses entstehen. Sie sind als Indikatoren für eine sichere Funktion der biologischen Prozessabläufe und für die Stabilität des Verfahrens nutzbar. Da die Bestimmung der Konzentrationen an Fettsäuren im Biogasfermenter bisher nur nach Probenahme und chemischer Analyse der Substrate mittels Gas-Chromatographie möglich war, könnte durch eine Online-Datenerfassung über die Nah-Infrarot-Reflexionsspektroskopie (NIRS) eine wesentliche Verbesserung des Betriebes von Biogasanlagen bis hin zu einer Regelung ermöglicht werden. Dies wurde im Rahmen der „**Zukunftsoffensive IV – Bioenergie-Forschungsplattform Baden-Württemberg**“ in einem durch das Ministerium für Ländlichen Raum und Verbraucherschutz Baden-Württemberg finanzierten Forschungsprojektes untersucht.

Die Kalibration eines NIR-Messsystems auf den Gehalt an flüchtigen Fettsäuren erfolgte im Rahmen dieser Arbeit an zwei semikontinuierlich betriebenen, halotechnischen Biogasfermentern (mesophile und thermophile Betriebsweise). Es wurde jeweils ein NIR-Sensor pro Fermenter auf Essig- und Propionsäure, sowie auf das Gesamtsäureäquivalent kalibriert. Über den gesamten Versuchszeitraum konnten drei größere Versuchsabschnitte realisiert werden, die in der vorliegenden Arbeit in Form von referierten Artikeln repräsentiert sind.

Die erste Publikation befasst sich mit der künstlichen Erhöhung der Säurekonzentration im Fermenter. Zur Gewährleistung einer größtmöglichen Flexibilität bei der Einstellung definierter Säurekonzentrationen wurde in beiden Fermentern, über mehrere Versuchszeiträume, die Säurekonzentration künstlich durch Zugabe von Na-Acetat und/ oder Na-Propionat erhöht. Nach einmaliger, sowie stufenweiser Zugabe der Salze der Säuren konnten große Konzentrationsspannen der Säuren im Gärsubstrat realisiert werden, um die Sensoren zu kalibrieren.

Die mit „Support Vector Machine Regression“ entwickelten Kalibrationsmodelle konnten in einer internen Validierung auf ihre Plausibilität hin geprüft werden.

Die zweite Publikation widmet sich einer natürlichen Erhöhung der Säurekonzentrationen im Fermenter über die Zugabe von Futterstoffen. Die relevanten, prozessbestimmenden Säuren in beiden Fermentern erhöhten sich dezidiert durch Steigerung der organischen Raumbelastung nach mehrmaliger Zugabe von Weizenschrot. Die Kalibration der NIR-Sensoren erfolgte für Essigsäure, Propionsäure, Gesamtsäure und den FOS/TAC-Wert, der das Verhältnis von Gesamtsäure zur Pufferkapazität des Systems widerspiegelt.

Die dritte Publikation beschäftigt sich mit der Prozesssimulation zur Anwendung einer Regelungsstrategie auf den Betrieb der Fermenter unter Einbindung der NIRS Daten in Kooperation mit der Universität Stuttgart (ISWA). Mit vorhandenen Kalibrationsmodellen wurde die Prozessstabilität im Fermenter erfasst und beurteilt, um die Fermenter anhand der NIR-Daten im Optimum zu betreiben. Hierbei hat Löffler (2012) ein Regelungskonzept auf Basis des ADM1 weiter entwickelt, um den Gärprozess durch Messung der Substratinput-Ströme und unter Nutzung der NIRS-Daten zur Überwachung der Prozessstabilität zu steuern und zu regeln. Die Validierung des Versuchszeitraumes erfolgte über entwickelte Kalibrationsmodelle aus Publikation zwei. Eine zusätzliche Prozesseinstufung über wöchentlich generierte Proben vervollständigte das Konzept.

Die erzielten guten Kalibrationsmodelle in allen Versuchsabschnitten sind ein sicheres Indiz dafür, dass es grundsätzlich möglich ist, die unterschiedlichen am fermentativen Abbauprozess beteiligten Parameter zu identifizieren und zu quantifizieren. Signifikante Unterschiede zwischen thermophiler und mesophiler Betriebsweise konnten nicht festgestellt werden. Im Unterschied zur künstlichen Säureerhöhung konnte während der intensiven Steigerung der organischen Raumbelastung wie erwartet ein gleichzeitiger, paralleler Anstieg mehrerer Säuren in den Fermentern verzeichnet werden. Ausgangsbasis für die Regelung und Steuerung des fermentativen Prozesses war die Adaption der Fütterung der Laborfermenter unter Einbeziehung des NIR-Messsystems zur begleitenden Prozessüberwachung. Die erhobenen Daten des NIR-Messsystems führten übereinstimmend mit wöchentlichen Laboranalysen zu kongruenten Aussagen bezüglich der Prozesseinstufung.

Eine verlässliche Beurteilung einer genauen Prozesseinstufung unterliegt der Notwendigkeit mehrere Kalibrationsmodelle gleichzeitig zur Validierung heran zu ziehen. Die Versuche bestätigen, dass das NIR-Messsystem hohes Potenzial besitzt den Biogasprozess online zu überwachen und Instabilitäten im fermentativen Prozess anzuzeigen. Bis zur zuverlässigen Nutzung des Systems an Praxisbiogasanlagen sind allerdings noch weitere Untersuchungen unter Einbeziehung verbesserter Auswertesoftware erforderlich.

2 SUMMARY

Due to the EU's and Germany's political goals of expanding the use of renewable energy sources, the utilization of biomass for energy supply is expected to continue growing in the coming years. Consequently, the efficiency of biogas plants will have to be improved further. This applies both to raising the energy yield from the input materials and exploiting the full potential of the technical installations.

During the four phases of the anaerobic digestion (AD) process, volatile fatty acids such as acetic and propionic acids are produced as intermediates. These compounds can be used as indicators of the function and stability of the digestion process. So far, volatile fatty acids have to be determined by sampling the digester content and analyzing the sample in the laboratory (*e.g.*, by gas chromatography). It is thought that by using near-infrared-reflection spectroscopy (NIRS) for online measuring, the management and control of biogas plants could be facilitated, considerably. This was to be investigated in a project funded by the Baden-Württemberg Ministry of Rural Areas and Consumer Protection within the "research platform on bioenergy" Baden-Württemberg".

In this study, a NIR-measurement system was calibrated for determining the concentration of volatile fatty acids in two semi-continuously operated, bench-scale digesters at mesophilic and thermophilic temperature level. For each of the two digesters, one NIR-sensor was calibrated for acetic and propionic acid, and a second one for total acid equivalents. The experimental studies were divided into three stages. The following chapters consist of three peer-reviewed papers that describe these experiments.

The first publication deals with artificially increasing the acid concentration in the digester. In both digesters the acid concentration was raised over an extended time period by spiking sodium acetate and/ or sodium propionate. This was done to achieve the highest possible flexibility in adjusting volatile acid concentrations. By adding the respective salts in a pulse or step-wise, high acid concentration ranges in the digester could be realized for calibrating the sensors. Using "support vector machine regression", calibration models could be developed and validated internally.

The second publication is dedicated to increasing the acid concentrations in the digesters by feeding. After raising the organic loading rate by repeated feeding of shredded wheat, the concentration of indicator acids rose significantly.

The NIR-sensors were calibrated for acetic acid, propionic acid, total acids and VOA/TAC. VOA/TAC is a measure of total acids in relation to the buffering capacity of the system.

The third publication describes the application of a simulation process to develop a control strategy for the digester using NIRS-data. This study was conducted in cooperation with the University of Stuttgart. Using the NIR-data together with existing calibration models, a control strategy for optimal process stability was developed. To achieve this, Löffler (2012) refined a concept for controlling the anaerobic digestion process based on the ADM1. The concept builds on measuring input flows and monitoring process stability by use of NIRS-data. The experimental period was validated with the calibration models developed in chapter II. In addition, the process was assessed on the basis of weekly sampling.

The fact that useable calibration models could be developed from all three experiments shows that it is possible to identify and quantify several important indicators for the anaerobic digestion process. No significant differences between mesophilic and thermophilic operation of the digesters could be found. As opposed to the spiking experiments, a simultaneous, parallel increase of various volatile fatty acids was observed in the digesters when the organic loading rate was strongly raised. Starting point for controlling the anaerobic digestion process was the adaptation of the feeding of the laboratory digesters using NIR-measurements for monitoring. Data on process stability from the NIR-system were consistent with the results from weekly laboratory analyses. For reliable assessment of the AD process, validation has to be based on several calibration models. The experiments show that the NIR-system has great potential for monitoring the biogas process online and for indicating disturbances. However, further investigations and the use of improved evaluation software are needed before the system can be applied in real-world biogas installations.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|--------------------|-------------------------------------|
| A | Absorption |
| Abb. | Abbildung |
| BGA | Biogasanlage |
| c | Konzentration |
| C2-C5 | Kohlenstoffverbindungen |
| CH | Kohlenwasserstoff-Gruppe |
| CO ₂ | Kohlendioxid |
| d | Day |
| EEG | Erneuerbare Energien Gesetz |
| E | Extinktionskoeffizient |
| Ferm | Fermenter |
| FFS | flüchtige Fettsäuren |
| fig. | Figure |
| FIR | Fernes Infrarot |
| FOS | Flüchtige Organische Säuren |
| FNR | Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe |
| g | Gramm |
| GC | Gaschromatographie |
| H ₂ | Wasserstoff |
| h | Stunde |
| HAC _{eq.} | Essigsäureäquivalent |
| I | Intensität |
| kg | Kilogramm |
| L | Liter |
| l | Schichtdicke |
| IR | Infrarot |
| LooV | Leave one out Validation |
| mg | Milligramm |
| MIR | Mittleres Infrarot |
| MLR | Multilineare Regression |
| mm | Millimeter |
| MSC | Multiplicative Scatter Correction |

| | |
|------------------------------------|--|
| MW | Megawatt |
| MW _{el.} | Megawatt elektrisch |
| N, n | Anzahl |
| NawaRo | Nachwachsende Rohstoffe |
| NH | Amino-Gruppe |
| NIR | Nahes Infrarot |
| NIRS | Nah-Infrarot-Reflexionsspektroskopie |
| N _L | Normliter |
| nm | Nanometer |
| O ₂ | Sauerstoff |
| Offl | Offline |
| OH | Hydroxid-Gruppe |
| oTS | Gehalt an organischer Trockensubstanz |
| ppm | parts per million |
| PCA | Principal Component Analysis |
| PCR | Principal Component Regression |
| PID-Regler | Regler mit proportionalem, integralem und differentialem Verhalten |
| PLS | Partial Least Squares |
| RER | Range Error Ratio |
| RMS | Root Mean Square |
| RMSEC | Root Mean Square Error of Calibration |
| RMSEP | Root Mean Square Error of Prediction |
| RMSECV | Root Mean Square Error of Cross Validation |
| RPD | Ratio of standard deviation and standard error of prediction |
| R ² oder r ² | Bestimmtheitsmaß |
| RBF | Radial Basis Function |
| SD | Standard Deviation |
| SEC | Standard Error of Calibration |
| SEP | Standard Error of Prediction |
| SNV | Standard Normal Variate |
| SVC | Support Vector Classification |
| SVM | Support Vector Machine |

| | |
|--------------------|--|
| SVMR | Support Vector Machine Regression |
| SVR | Support Vector Regression |
| Tab. | Tabelle/ Table |
| TAC | Total Anorganic Carbon |
| TENIRS | Transflexive Embedded Near Infrared Spectroscopy (zuerst Firmenname, später Produktname) |
| TWh | Terawattstunde |
| TS | Trockensubstanzgehalt |
| Upm | Umdrehungen pro Minute |
| VdLUFA | Verein deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten |
| FOS/ TAC | Verhältnis der flüchtigen organischen Säuren zur Pufferkapazität |
| °C | Grad Celsius |
| ϵ_λ | Absorptionskoeffizient |
| % | Prozent |
| λ | Wellenlänge |

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

| | |
|--|----|
| Abb. 1: Gesetz von Lambert-Beer | 18 |
| Abb. 2: Elektromagnetisches Spektrum (Frank, 2005) | 19 |
| Abb. 3: TENIRS Messkopf | 22 |
| Abb. 4: eingebauter Messkopf | 22 |
| Abb. 5: NIRS-Messprinzip | 23 |
| Abb. 6: NIRS-Kalibrierung | 24 |
| Abb. 7: Figure 1: Profile of a horizontal digester with hot-water heating system and horizontal agitator with a working volume of 400 L | 31 |
| Abb. 8: Figure 2 (A): Size of the sensor measuring range (sapphire window), Figure 2 (B): a built-in NIR sensor in a bypass | 32 |
| Abb. 9: Figure 3: Variation (reduction) of acid concentrations (reference values) in the biogas digester after addition of volatile fatty acids at thermophilic operational mode | 36 |
| Abb. 10: Figure 4: Variation (reduction) of acid concentrations (reference values) in the biogas digester after addition of volatile fatty acids at mesophilic operational mode | 37 |
| Abb. 11: Figure 1: Variation of acid concentrations (reference values) in the biogas digester after adding shredded wheat (thermophilic mode) | 50 |
| Abb. 12: Figure 2: Variation of acid concentrations (reference values) in the biogas digester after adding shredded wheat (mesophilic mode) | 51 |
| Abb. 13: Figure 1: Schematic set-up of the control strategy taken and adapted from the reference [6] | 63 |
| Abb. 14: Figure 2: Experimental operation of the control strategy on digester 2 (taken and adapted from the reference [6]) | 66 |
| Abb. 15: Figure 3: Experimental operation of the control strategy on digester 1 (taken and adapted from the reference [6]) | 66 |
| Abb. 16: Gehalt an flüchtigen Fettsäuren in frischen Substratproben im Vergleich zu Tiefkühlproben (TK) hier am Beispiel des thermophilen Fermenters | 73 |

TABELLENVERZEICHNIS

| | |
|---|----|
| Tab. 1: Verschiedene Grenzwerte wichtiger flüchtiger Fettsäuren (Lemmer, 2011; Gronauer & Effenberger 2007) | 17 |
| Tab. 2: Table 1: Addition of Na-acetate and Na-propionate at thermophilic operational mode to the digester | 34 |
| Tab. 3: Table 2: Addition of Na-acetate and Na-propionate at mesophilic operational mode to the digester | 34 |
| Tab. 4: Table 3: Statistical parameters to evaluate the quality of the different NIRS-calibration models in the thermophilic-operated digester..... | 35 |
| Tab. 5: Table 4: Statistical parameters to evaluate the quality of the different NIRS-calibration models in the mesophilic-operated digester | 36 |
| Tab. 6: Table 1: Statistical parameters to evaluate the quality of the different NIRS-calibration models in the thermophilic digester | 52 |
| Tab. 7: Table 2: Statistical parameters to evaluate the quality of the different NIRS-calibration models in the mesophilic digester | 52 |
| Tab. 8: Table 1: Values of the process parameters for the categorization of the state of the process for the digester operated with an input mixture of corn silage and cow manure (taken and adapted from the report [6])..... | 64 |
| Tab. 9: Table 2: Statistical parameters to evaluate the quality of the different NIRS-calibration models in the thermophilic operated digester (digester 1) | 65 |
| Tab. 10: Table 3: Characterization of the state of the process for digester 1 based on chemical analyses from the laboratory and data obtained by NIRS (adapted and extended from the reference [6]) | 67 |
| Tab. 11: RPD-Vorhersageleistung – Einordnung nach Qualität (Williams und Sobering, 1993)..... | 77 |
| Tab. 12: Statistische Parameter zum Vergleich der Güte unterschiedlicher Kalibrationsmodelle nach Literaturangaben (Jacobi 2009, ergänzt mit eigenen Daten)..... | 78 |

3 EINLEITUNG

Die Energie- und Klimapolitik der Europäischen Union sieht vor bis 2020 die Deckung unseres Energiebedarfs aus erneuerbaren Energien auf mindestens 20 % zu erhöhen. Gleichzeitig soll der Energieverbrauch durch energieeffizientere Nutzung um 20 % gesenkt werden, einhergehend mit einer Reduzierung der Treibhausgasemissionen um ebenfalls 20 % (FNR, 2012).

Die Energiebereitstellung aus erneuerbaren Quellen lag Ende 2011 bei insgesamt 294,6 TWh, davon wurden 67 % durch Bioenergie erzeugt. Bei einer Anlagendichte von 7.215 Biogasanlagen in Deutschland und einer installierten elektrischen Gesamtleistung von 2.904 MW (Fachverband Biogas, 2011) entfielen davon 12,5 % auf Strom aus Biomasse und 42,9 % auf Wärme aus Biomasse (FNR, 2012). Vergleicht man die Gesamtleistung aller Biogasanlagen mit der von Kohlekraftwerken, die bei ca. 600 MW elektrisch liegen und mit dem größten deutschen Atomkraftwerk Isar 2 mit 1.485 MW_{el}, wird deutlich, dass Strom aus erneuerbaren Energien, erzeugt in Biogasanlagen, bereits vier Kohlekraftwerke oder zwei Atomkraftwerke substituieren kann. Die Produktion erneuerbarer Energie an der Stromversorgung gemäß den Zielen der EU und Deutschlands zu erhöhen ist eines der Kernziele des Erneuerbaren Energien Gesetzes (EEG). Als zentrales Element des Klima- und Umweltschutzes sollen CO₂-Emissionen eingespart werden. Forderungen für eine nachhaltige Entwicklung liegen in der Schaffung von Arbeitsplätzen im ländlichen Raum und bei Unternehmen. Mit der Novellierung des EEG 2012 wurde die Vergütung von Strom aus Biogasanlagen angepasst. In Abhängigkeit der Leistung der Biogasanlage, der verwendeten Substrate und sonstiger Bedingungen ergibt sich ein festgelegter Einspeisepreis, der für eine Dauer von 20 Jahren ab Inbetriebnahme der Biogasanlage gewährt wird.

3.1 Verwendete Substrate in Biogasanlagen

Bis 2004 wurden in Biogasanlagen hauptsächlich Flüssigmist und organische Reststoffe fermentiert (Oechsner, 2003). Durch die unterschiedlichen Regelungen des EEG, wird der Einsatz nachwachsender Rohstoffe als Substrat in Biogasanlagen präferiert.

Das Central Agrar-Rohstoff-Marketing- und Entwicklungs-Netzwerk e.V. (C.A.R.M.E.N. e.V.) definiert „Nachwachsende Rohstoffe (im allgemeinen Sprachgebrauch auch Biomasse) als organische Stoffe pflanzlichen oder tierischen Ursprungs, die ganz oder in Teilen als Rohstoffe für die Industrie oder als Energieträger genutzt werden. Im Gegensatz zu fossilen Rohstoffen erneuern sie sich jährlich oder in überschaubaren Zeiträumen“ (vgl. C.A.R.M.E.N. e.V. 2004, vom 29.09.2004). Bis dato gibt es in Deutschland keine allgemein anerkannte Begriffsdefinition für Nachwachsende Rohstoffe. Nach Mann (1998) sind Nachwachsende Rohstoffe Stoffe, die aus lebender Materie stammen und vom Menschen zielgerichtet für Zwecke außerhalb des Nahrungs- und Futterbereiches verwendet werden. Diese Definition umfasst ebenso tierische Nebenprodukte, wie Rindertalg und Schafwolle, als auch mikrobiell erzeugte Produkte, wie den Kunststoffersatz „Biopol“ der Firma Zeneca, der durch bakterielle Fermentation einer Zuckerlösung gewonnen wird (Mann, 1998). Ausgeschlossen ist nach dieser Begriffsdefinition jegliches Pflanzenmaterial, das nicht explizit zur Verwendung als Nachwachsender Rohstoff angebaut wurde, wie beispielsweise verbleibende Strohreste nach der Ernte auf dem Feld, Zier- und Gewürzpflanzen. Tabak nimmt eine Sonderstellung ein, da er laut Definition von Mann als Nachwachsender Rohstoff eingesetzt werden könnte, dies jedoch momentan nicht erfolgt. Somit sind Pflanzen an sich keine Nachwachsenden Rohstoffe, sondern werden erst durch ihre zielgerichtete Nutzung dazu. Dies beinhaltet jedoch auch, dass sich das Repertoire an Substraten, die als Nachwachsende Rohstoffe angebaut werden, ändern kann.

Die Verwendung von Nachwachsenden Rohstoffen ist sehr vielseitig und wird je nach mechanischer Aufbereitung in feste, flüssige oder gasförmige Energieträger unterschieden. Die thermochemische Konversion der Nachwachsenden Rohstoffe beinhaltet die Verkohlung, Vergasung und Verflüssigung der Substrate, unter physikalisch-chemischer Konversion versteht man die Pressung und Extraktion der Rohstoffe und zuletzt spricht man beim biochemischen Weg der Umwandlung von aerobem und anaerobem Abbau, von Gärungsprozessen.

Die Erzeugung von Energie geschieht hauptsächlich über die Verbrennung der festen (z.B. Holz- und Strohpellets), der flüssigen (z.B. Rapsöl, Ethanol) und der gasförmigen (z.B. Synthesegase, Biogas) erzeugten Brennstoffe.

3.2 Funktion des Biogasprozesses

3.2.1 Biologische Prozessschritte

Biogas entsteht in einem vierstufigen Abbauprozess von Biomasse (Hydrolyse, Acidogenese, Acetogenese und Methanogenese) unter anaeroben Bedingungen in feuchtem Milieu. Unterschiedliche mikrobielle Organismen (Bakterien und Archaeen) sind an den voneinander abhängigen Stoffwechselschritten beteiligt. In der Hydrolyse (Verflüssigungsphase) werden große organische Moleküle (Kohlenhydrate, Proteine, Fette und Lignozellulose) enzymatisch in einfachere Verbindungen (Oligozucker, Oligopeptide, Triglyzeride oder Lignin und Zucker) gespalten. Es können auch kleinere Moleküle wie Monozucker, Aminosäuren, Fettsäuren und Glycerin entstehen.

In der zweiten Phase, der Acidogenese (Versauerungsphase) werden diese Spaltprodukte durch hydrolytisch-acidogene Bakterien weiter abgebaut und es entstehen leicht flüchtige Fettsäuren, wie Essigsäure (C₂), Propionsäure (C₃), Milchsäure (C₃), Buttersäure (C₄) und Valeriansäure (C₅), sowie Alkohole und Wasser.

In der anschließenden Acetogenese (Essigsäurebildung) werden die organischen Säuren der zweiten Phase in Essigsäure, Wasser und Kohlendioxid umgewandelt. Die syntrophe Fettsäureoxidation der Acidogenese und der Acetogenese bedingt schon in diesen beiden Phasen eine Anhäufung von Wasserstoff und Essigsäure. Ein zu hoher Wasserstoff- und Essigsäurepartialdruck kann zu einer Endprodukt-hemmung führen und das System erheblich stören oder stark hemmen.

In der letzten der vier Phasen, der Methanogenese (Methanbildung) verwerten hydrogenotrophe (wasserstoffzehrende) und acetoklastische (essigsäurespaltende), methanogene Archaeen die Endprodukte der zweiten und dritten Phase, um so ein Gleichgewicht im Prozess aufrecht zu erhalten. Die hydrogenotrophen Mikroorganismen verstoffwechseln den Wasserstoff und das Kohlendioxid zu Methan und Wasserdampf, wohingegen die acetoklastischen Mikroorganismen die Essigsäure und den Wasserstoff zu Methan und Kohlendioxid umwandeln.

Die fettsäureabbauenden Bakterien der ersten Phasen verhalten sich syntroph (gemeinsam ernährend) mit den Archaeen der Methanogenese und leben nahezu symbiotisch im gleichen System.

3.2.2 Stabilität des Biogasprozesses

Da die verschiedenen Mikroorganismen unterschiedliche Milieubedingungen präferieren, muss besonders auf eine geeignete Abstimmung der relevanten Parameter, wie Temperatur, pH-Wert und Nährstoffversorgung geachtet werden. Zumeist finden alle vier Phasen der Biogasbildung gleichzeitig, allerdings nicht mit derselben Geschwindigkeit in einem Fermenter statt. Stark verholzte Substrate mit einem hohen Anteil an Cellulose und Hemicellulose werden nur sehr langsam und schwer hydrolysiert, wohingegen leicht abbaubare Verbindungen, wie Fette und Proteine die Geschwindigkeit der Methanbildung limitieren. Somit ist die Auswahl der geeigneten Substrate ein entscheidender Faktor im Biogasbildungsprozess. Durch ein ungeeignetes und zu hohes Substratangebot können die hydrolytisch-acidogenen Bakterien in kurzer Zeit zuviel Säure produzieren und den pH-Wert absenken.

Die an der primären Gärung beteiligten Mikroorganismen der Hydrolyse und der Acidogenese bevorzugen ein leicht saures Milieu in einem pH-Bereich zwischen 4,5 und 6,3. Die Präferenz der sekundären Gärer liegt zum Einen bei einem pH-Wert zwischen 5,5 bis 6,7 (acetogenen Bakterienkulturen), wohingegen die methanbildenden Archaeen für eine störungsfreie und effiziente Methanbildung ein neutrales Milieu im Bereich zwischen 6,8 und 8,0 favorisieren. Abweichungen in den angegebenen pH-Bereichen führen zu einer Störung der entsprechenden Bakterienstämme, wobei die säurebildenden Bakterien dabei weitaus toleranter sind und sie auch bei geringfügig erhöhten pH-Werten nur marginal in ihrer Aktivität eingeschränkt sind. Aufgrund der deutlich höheren Empfindlichkeit der Methanbakterien in Kombination mit ihrer langen Generationszeit sollte sich der pH-Wert einer einphasig betriebenen Biogasanlage unbedingt im Optimalbereich der methanogenen Mikroorganismen befinden. Nach Erschöpfung des Puffersystems (vorwiegend Carbonat- und Ammoniakpuffer) hat eine Verringerung des pH-Wertes eine Anreicherung von flüchtigen Fettsäuren als Abbauprodukte der primären Gärer zur Folge, die von den gehemmten methanogenen Archaeen nur unzureichend zu Biogas metabolisiert werden können. Ein weiteres Absinken des pH-Wertes mit einer Hemmung der acetogenen Mikroorganismen ist für die Fermenterbiologie besonders kritisch.

Daraus resultierend akkumulieren sich länger-kettige Carbonsäuren, wie beispielsweise Propionsäure und Buttersäure, da diese nicht mehr zu Essigsäure abgebaut werden. Der Biogasprozess kann dadurch vollständig zum Erliegen kommen und man spricht davon, dass die Biologie im Fermenter „umgekippt“ ist. Unterschiedliche Grenzwerte für flüchtige Fettsäuren sind in Tabelle 1 aufgelistet, deren Überschreitung die Mikrobiologie des Gärsubstrates nachhaltig beeinträchtigt (FNR, 2011).

Tab. 1: Verschiedene Grenzwerte wichtiger flüchtiger Fettsäuren (Lemmer, 2011; Gronauer & Effenberger 2007)

| | mg/L | mg/L |
|--|----------------|--------------------------------|
| Essigsäuregehalt | < 3.000 | < 1.000 |
| Propionsäuregehalt | < 1.000 | < 250 |
| Buttersäuregehalt | < 500 | < 20 |
| Gesamtsäuregehalt in Essigsäureäquivalent | < 4.000 | < 2.000 |
| Quelle | (Lemmer, 2011) | (Gronauer & Effenberger, 2007) |

3.3 Problemstellung

Die Anreicherung von flüchtigen Fettsäuren im Gärsubstrat einer Biogasanlage ist ein sicherer Hinweis für eine Hemmung der methanogenen Bakterien, die möglicherweise zu einer irreversiblen Instabilität im Biogasprozess führen kann. Der Gehalt an flüchtigen Fettsäuren kann noch nicht online im Fermenter gemessen werden. Üblicherweise wird eine Substratprobe des Fermenter-inhalts zur Analyse in ein Labor geschickt und auf organische Säuren hin untersucht. Die Ergebnisse liegen mitunter erst einige Tage später vor und können ein rechtzeitiges Eingreifen im Fall von Prozessstörungen verhindern. Um einen permanenten Einblick in die prozessrelevanten Säuren zu generieren, bedarf es eines online-Messsystems, das zu jeder Zeit die Gehalte an Säuren im Fermenter anzeigt. Ein solches Messsystem auf Grundlage der Nah-Infrarot-Reflexionsspektroskopie könnte, ausgestattet mit einem Sensor, der direkt im Substrat des Fermenters einer Biogasanlage misst, die organischen Säuren permanent erfassen.

3.4 Methode zur Bestimmung wichtiger Prozessgrößen

3.4.1 Grundlage der NIR-Spektroskopie

Grundlage der NIR-Spektroskopie ist das Lambert-Beersche Gesetz, das die Abnahme der Strahlungsintensität von Licht (ϵ_λ) durch ein absorbierendes Medium in Abhängigkeit der Schichtdicke (l) und der Stoffmengenkonzentration (c) der absorbierenden Substanz beschreibt.

$$A_\lambda = \log \left(\frac{I_{\lambda 0}}{I_{\lambda 1}} \right) = \epsilon_\lambda * c * l$$

Die Absorption A des Lichts in einem Medium einer bestimmten Wellenlänge λ ist gegeben durch die Intensität des einfallenden Lichtes $I_{\lambda 0}$ im Verhältnis zum transmittierten Licht $I_{\lambda 1}$.

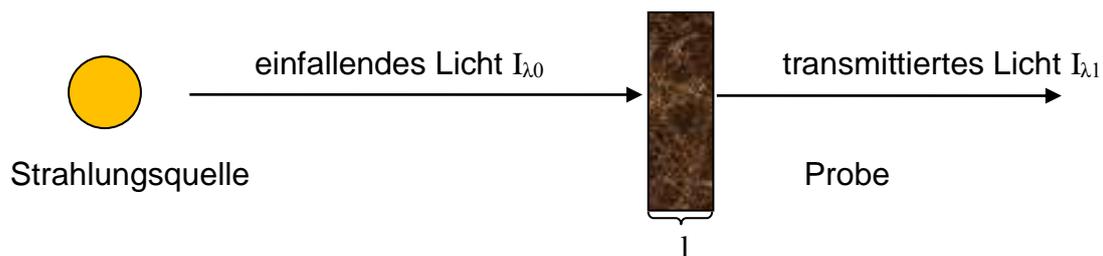


Abb. 1: Gesetz von Lambert-Beer

Der spektrale Absorptionskoeffizient ϵ_λ ist spezifisch für die absorbierende Substanz und gibt an, wie viel elektromagnetische Strahlung die Probe, gemessen in molarer Konzentration, bei einer definierten Schichtdicke (l) von 1 cm und bei einer bestimmten Wellenlänge absorbiert (Abb. 1). Durch Abwandlung des Lambert-Beer'schen Gesetzes, das in dieser Form nur für verdünnte Lösungen Gültigkeit hat, kann die Konzentration eines Stoffes auch anhand der Reflexion ermittelt werden. Bei Substanzen, die sehr Lichtundurchlässig sind, wie beispielsweise Substrate aus dem Fermenter einer Biogasanlage, können sowohl Transmissionsmessungen, besser jedoch Reflexionsmessungen mit geeigneter Messtechnik vorgenommen werden. Die Intensität des reflektierten, oder auch absorbierten Lichtes nach Bestrahlung einer Probe steht in direktem Zusammenhang mit spezifischen Konzentrationen chemischer Merkmale der Substanz. Dadurch können quantitative Abschätzungen von Stoffkonzentrationen getroffen werden.

Der Spektralbereich (Abb. 2, Frank, 2005) des infraroten Lichtes (IR) liegt zwischen dem sichtbaren Licht (780 nm) und der Tera-Hertz-Strahlung (30 μm). Eine Unterteilung des infraroten Lichtes nach DIN (1984) erfolgt in drei Bänder, IR-A (0,78-1,4 μm), IR-B (1,4-3,0 μm) und IR-C. Das nahinfrarote Licht (NIR) erstreckt sich von 780 nm bis 3 μm und wird unterteilt in IR-A (kurzwellige nahinfrarote Strahlung) und IR-B (langwellige nahinfrarote Strahlung), das durch die Absorptionsbande des Wassers bei 1400 nm begrenzt wird. IR-C beinhaltet das mittlere Infrarot (MIR, 3,0-50 μm) und das ferne Infrarot (FIR, 50-1000 μm).



Abb. 2: Elektromagnetisches Spektrum (Frank, 2005)

Die NIR Spektroskopie basiert auf der Anregung von Molekülschwingungen durch elektromagnetische Strahlung, wobei die Oberton- und Kombinationsschwingungen der Molekülgrundschiwingung des mittleren Infrarots im nahen Infrarot detektiert werden. Vorteilhaft am NIR sind der größere Energiegehalt der Strahlung gegenüber dem mittleren Infrarot und die geringeren Absorptionskoeffizienten, wodurch die Eindringtiefe in das Material vergrößert wird. Dadurch verringert sich die Notwendigkeit einer Probenvorbehandlung, was die Anwendung in der Praxis erheblich erleichtert. Nachteilig jedoch sind die größeren, sich überlappenden Absorptionsbanden und die geringere Extinktion bedingt niedrigere Banden, wodurch eine Charakterisierung erschwert wird. Die Extinktion ist abhängig von der Wellenlänge und beschreibt die Abschwächung der Strahlung nach Durchtritt eines Mediums.

Die unterschiedlichen Schwingungen und Schwingungsfrequenzen in Molekülen sind charakteristisch für Molekülgruppen und werden durch die Masse der Atome und deren Bindungen im Molekül bestimmt.

Nur Moleküle, die ein veränderbares oder induzierbares Dipolmoment aufweisen, also deren Atome asymmetrisch angeordnet sind, sind IR-aktiv und können in Wechselwirkung mit Infrarotstrahlung Oberton- und Kombinationsschwingungen erzeugen. Das Dipolmoment ist ein Maß für die Fähigkeit eines Atoms oder Moleküls elektromagnetische Strahlung zu absorbieren oder zu emittieren.

Die wichtigsten Molekülgruppen die im IR absorbieren, respektive dann auch Strahlung reflektieren und im NIR messbar sind, sind O-H Gruppen (z.B. Wasser), C-H Gruppen (z.B. Fette) und N-H Gruppen (z.B. Proteine). Schwingungen symmetrischer Moleküle, wie beispielsweise O_2 und H_2 , weisen keine Dipolmomentänderung auf, können also durch nahinfrarote Strahlung nicht angeregt werden und sind somit mittels NIR-Spektroskopie nicht nachweisbar. Edelgase, Metalle und Salze ohne kovalente Bindungen sind ebenfalls IR-inaktiv. Die Frequenzunterschiede, die durch die elektromagnetische Strahlung erzeugt werden und in Oberton- und Kombinationsschwingungen resultieren, ermöglichen die Zuordnung zu verschiedenen Molekülgruppen und somit über die erzeugten Spektren indirekt eine stoffliche Bestimmung der untersuchten Substanz. Die praktischen Einsatzgebiete der NIR-Spektroskopie sind sehr vielfältig. Sie findet beispielsweise Anwendung bei der qualitativen Untersuchung landwirtschaftlicher Produkte (z.B. Getreide, Milch und Ölf Früchte), sowie zur quantitativen Bestimmung in der Futtermittelanalyse (z.B. Wasser-, Protein-, Rohfaser- und Fettgehalt). Chemieunternehmen setzen das Verfahren häufig in der Wareneingangskontrolle von Rohstoffen ein und im medizinischen Sektor wird es unter anderem auch genutzt zur Bestimmung des Sauerstoffgehaltes (Jöbsis, 1977), des Blutflusses (Kouli, 2001) und des Blutvolumens im Gewebe (Jahn, 2003), oder zur Quantifizierung des Blutzuckergehaltes (Ogawa, 2007). Durch den nicht-invasiven Einsatz und die minimale Probenaufbereitung, teilweise Messungen am nativen Ausgangsmaterial, ist diese Messmethode sehr gefragt und die Verwendungsmöglichkeiten vermehren sich stetig. Weitere Vorteile der NIR-Spektroskopie sind die schnelle und berührungslose, quantitative Ableitung verschiedenartiger Parameter. Durch eine direkte Messung der Proben, oftmals ohne jegliche Probenvorbehandlung, sind die Messungen gut reproduzierbar und aus toxikologischer Sicht für den Benutzer unbedenklich.

3.4.2 NIR-Messsystem, im Speziellen für die Messung der flüchtigen Fettsäuren im Gärsubstrat von Biogasanlagen

Das verwendete NIR-Spektrometer wurde von der TENIRS GmbH (Transflesive Embedded Near Infrared Spectroscopy) entwickelt, wobei als Grundlage ein Spektrometer von ZEISS und ein Sensor von Polytec diente, die neu konzipiert und verändert wurden. TENIRS hatte nach ihrer Gründung 2006 den Firmensitz in Kiel und nach einer späteren Übernahme von TENIRS durch die Firma m-u-t AG (Wedel) wechselte der Firmensitz nach Wedel. m-u-t verwendete den Firmen- und Produktnamen TENIRS danach nur noch als Produktnamen weiter. Das TENIRS Messsystem besteht aus einem Diodenzeilen-Spektrometer, das mit bis zu vier unterschiedlich langen Lichtwellenleitern und Sensoren ausgestattet werden kann. Vorteilhaft daran ist zum Einen die räumliche Trennung des Spektrometers von den Sensoren, die dadurch an unterschiedlichen Stellen eingesetzt werden können, aber auch die gleichzeitige Verwendung mehrerer Sensoren mit nur einer zentralen spektrometrischen Einheit. Die Auswahl für die im Weiteren dargestellten Untersuchungen fiel zu Gunsten des TENIRS Spektrometers aus, da es verschiedenste zusätzliche Features im Vergleich zu Spektrometern anderer Hersteller beinhaltete. Besonders interessant war in diesem Zusammenhang auch die angebotene Software zur Auswertung der Daten, die ein absolutes Alleinstellungsmerkmal darstellte. Erstmals wurden die Daten nicht im herkömmlichen Sinne über Hauptkomponentenanalyse (PCA) und PLS (Partial Least Squares) ausgewertet, sondern über neueste chemometrische Methoden mit „Support Vector Machine Regression“. Detailliertere Beschreibungen dazu sind in einem eigenen Kapitel 3.4.4 zu finden. Im Speziellen ist seitens der technischen Ausstattung des Spektrometers hervorzuheben, dass jeder Sensor mit einem integrierten automatischen Weiß- (100 % Reflexion) und Schwarzabgleich (0 % Reflexion) versehen ist, der variabel einstellbar gewählt werden kann und in den vorliegenden Versuchen stündlich erfolgte. Dieser Abgleich wird jeweils als Referenz gespeichert, um bei möglichen Intensitätsverlusten der Wolfram-Halogen Lampe im Sensor die aufgenommenen Spektren auf eine immer gleiche Basis beziehen zu können, ähnlich wie beim Austarieren einer Waage mit Zurücksetzen auf Null vor jedem Wiegevorgang. Das Spektrometer und der Sensor sind mit keinerlei beweglichen Bauteilen ausgestattet und somit absolut robust gegenüber Vibrationen, die an den verwendeten Labor-Biogasfermentern durchaus auftreten können.

Der Sensor ist mit einem Saphirfenster versehen, durch den das Licht auf die Substratprobe strahlt (Abb. 3). Vorteile des Saphirfensters liegen sowohl in deren Kratz- und Abriebfestigkeit, als auch in der Korrosionsbeständigkeit gegenüber den zu messenden flüchtigen Fettsäuren. Ein weiterer entscheidender Faktor bei der Wahl des Messgerätes, der in dieser Form von anderen Geräteherstellern nicht angeboten wurde, lag in der Vergabe eines Zeitstempels, der bei Entnahme einer Substratprobe gesetzt wurde, um später Spektren direkt der entnommenen Probe zuordnen zu können. In den Abbildungen 3 und 4 ist der verwendete Sensor dargestellt, mit Visualisierung der Größe des Messbereichs (Abb. 3), sowie eines möglichen Einbaus des Sensors in einer Rohrleitung (Abb. 4).



Abb. 3: TENIRS Messkopf



Abb. 4: eingebauter Messkopf

3.4.3 NIR-Messprinzip

Zur Abschätzung der substratspezifischen Eigenschaften einer Probe macht man sich die physikalisch-optischen Merkmale des Substrates zu Nutze. Das Maß an Absorption und Reflexion der auf chemische Verbindungen im Gärsubstrat treffenden Strahlen lässt direkte Rückschlüsse auf die Konzentrationen an Fettsäuren und deren Zusammensetzung zu (VdLUFA, 2003).

Nach Bestrahlung des Untersuchungsmaterials mit einer Lichtquelle, durch ein 7 mm großes Saphirfenster (Abb. 3) wird das vom Substrat reflektierte Licht über einen Lichtwellenleiter in das Spektrometer (NIR-Detektor) geleitet (Abb. 5). Als Lichtquelle wird eine Wolfram-Halogen Lampe verwendet, die ein kontinuierliches Spektrum im Wellenlängenbereich von 400 nm bis über 2000 nm erzeugt.

Das ankommende Licht im Spektrometer wird dort in einer Diodenzeile vermessen und als Spektren ausgegeben. Im mittleren Infrarot erzeugte Molekülgrundschnvungen können anhand ihrer Oberton- und Kombinationsschwingungen im nahinfraroten Wellenlängenbereich detektiert werden. Die so erzeugten Spektren sind charakteristisch für spezifische Molekülgruppen und lassen sich qualitativen oder quantitativen Stoffeigenschaften der Probe zuordnen.

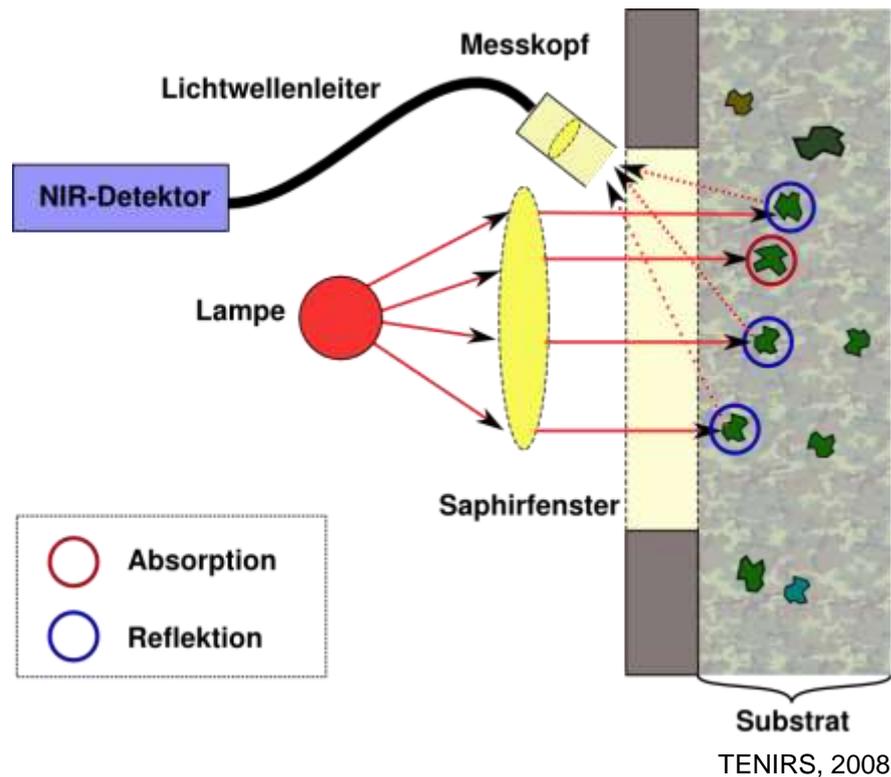


Abb. 5: NIRS-Messprinzip

Für die NIRS-Kalibrierung werden die vom Messkopf aufgezeichneten Spektren und die zeitgleich genommenen Proben benötigt, wie in Abb. 6 veranschaulicht wird. Diese Proben werden im Labor auf die zu kalibrierenden Parameter untersucht, wie alle flüchtigen Fettsäuren (nach Standardmethode mit Hilfe eines Gaschromatographen) (Kusch, 2006), sowie FOS, TAC, FOS/ TAC (Buschmann & Lemmer, 2010) und TS/ oTS-Gehalte (DIN 18414 S2, 1985; DIN 18414 S3, 1985). Die NIR-Spektren der Substanz, in Kombination mit einer chemischen Analyse der Inhaltsstoffe (Referenzdaten) ergeben mittels statistischer Auswertung (Multivariate Datenanalyse) mit „Support Vector Machine Regression“ ein NIRS-Schätzmodell. Dieses soll die unbekanntes Gehalte an Extrakten in bestimmten Substanzen klassifizieren und quantifizieren.

Eine Kalibrierung muss laufend mit neuen Daten erweitert und verbessert werden, um zuverlässige Schätzungen unbekannter Proben zu gewährleisten. Je mehr Parameter geschätzt werden sollen, umso größer ist die benötigte Datenmenge.

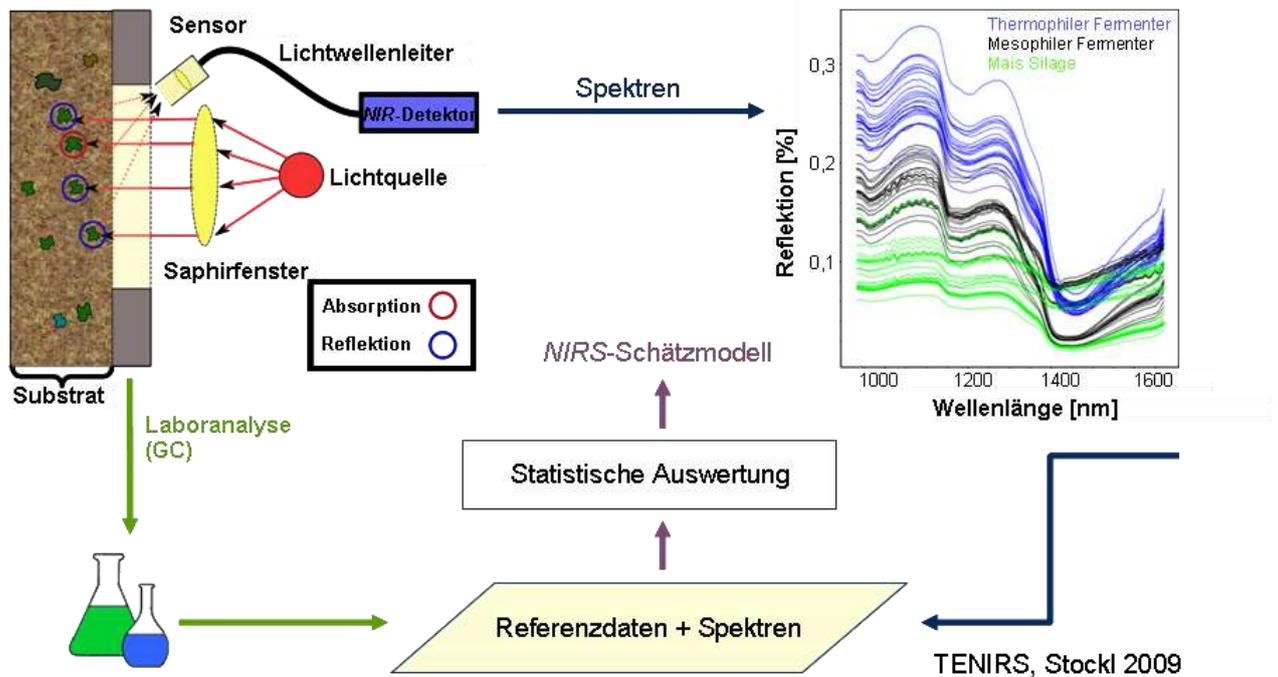


Abb. 6: NIRS-Kalibrierung

3.4.4 Auswertemethode mit „Support Vector Machine Regression“ (SVMR)

Jeder Hersteller eines Spektrometers liefert eine eigene gerätespezifische Software zur Auswertung der Daten mit. Die Firma Bruker nutzt beispielsweise OPUS zur Erstellung von Kalibrationsmodellen, NIR-Online verwendet SX-Center, ZEISS setzt auf Aspect Plus und m-u-t wendet mittlerweile Calibration Workshop der Firma SensoLogic GmbH an. Eine geräteunabhängige Software dagegen stellt „The Unscrambler“ der Firma Camo (Norwegen) dar. Mit dieser Software ist es möglich Kalibrationsmodelle unabhängig vom gewählten Spektrometer zu erstellen. TENIRS lieferte zum eigens konzipierten Messsystem eine neue und einzigartige Software zur Datenauswertung mit. Die chemometrische, multivariate Datenauswertung erfolgte im Bereich Prozessüberwachung von Biogasanlagen erstmalig mit „Support Vector Machine Regression“ (SVMR) (Borges, 1998; Christianini, 2000; Schölkopf, 2002; Vapnik, 1995).

„Support Vector Machine Regression“ bedeutet maschinelles Lernen und ist ein mathematisches Verfahren zur Mustererkennung (SVR) und Klassifizierung (SVC) (Gunn, 1997). Eine SVM („Support Vector Machine“) entwickelt eine Hyperebene mit maximaler Trennschere im Merkmalsraum. Die Hyperebene wird durch eine Kernel-Funktion (Christianini, 2000), die ein Maß für die Ähnlichkeit der Merkmale darstellt, konstruiert. Der Begriff Hyperebene ist die Verallgemeinerung einer normalen Ebene im dreidimensionalen Raum auf ein mathematisches Objekt im n-dimensionalen Raum. „Support Vektoren“ selbst sind tragende Vektoren, die der Hyperebene am nächsten liegen. Die Merkmale neuer Probenmaterials wird bei SVR nicht, wie bei anderen Regressionsmethoden mit allen bereits bekannten Merkmalen verglichen, sondern der Vergleich wird zu den „support Vektoren“ hergestellt, wodurch eine Vielzahl von Merkmalen miteinbezogen und indirekt miteinander verglichen werden können. Der entscheidende Vorteil von „Support Vector Machine Regression“ (SVMR) im Vergleich zur klassischen Datenauswertung über Hauptkomponentenanalyse (PCA) und PLS-Regression (Partial Least Squares) ist die Erfassung und Darstellung nicht-linearer Zusammenhänge in der Datenmatrix (Ogawa, 2007). SVR zur Mustererkennung und SVC zur Klassifizierung wird beispielsweise bei der Gesichtserkennung eingesetzt und ermöglicht den gleichzeitigen Vergleich unzähliger Parameter und Merkmale miteinander. Diese Überlegenheit im Vergleich zu den anderen Auswerteverfahren sollte in der vorliegenden Arbeit genutzt werden.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wird ausschließlich der Begriff „Support Vector Machine Regression“ (SVMR) für das gesamtmathematische Verfahren, Mustererkennung (SVR) und Klassifizierung (SVC), verwendet.

3.4.5 Forschungsverbundprojekt Bioenergie-Forschungsplattform

Die vorliegende Arbeit basiert auf dem Teilprojekt „**Unterer Lindenhof**“ der „**Zukunftsoffensive IV – Bioenergie-Forschungsplattform Baden-Württemberg**“ und wurde durch das Ministerium für Ländlichen Raum und Verbraucherschutz Baden-Württemberg mit Mitteln der Baden-Württemberg Stiftung gGmbH gefördert. Das Gesamtprojekt hatte zum Ziel, die Erzeugung und Nutzung von Gas aus Biomasse zu untersuchen und weiter zu entwickeln.

Die Laufzeit des Verbundprojektes erstreckte sich von 2008 bis Ende 2011 und war in drei Cluster untergliedert: Cluster I „Systemanalyse“, Cluster II „Unterer Lindenhof“ und Cluster III „Gasaufbereitung“. Die Systemanalyse ermittelte unter anderem die Potenziale der Erzeugung von Biogas und betrachtete die technischen, ökonomischen und ökologischen Aspekte der Bereitstellung von Biomasse.

Neben der Aufbereitung und Einspeisung des Biogases zählten auch Konversionstechnologien (Leible, 2011), Verfahrensketten zur Bereitstellung biogener Gase als Erdgas-Substitut (SNG – Substitute Natural Gas), sowie die Bewertung der verschiedenen Verfahren zu den Schwerpunkten. Die Forschungsbiogasanlage der Universität Hohenheim mit der Versuchsstation Agrarwissenschaften Standort Lindenhöfe war Kernstück des Clusters II. Im Intensivmessprogramm wurden an der Biogasanlage Daten zur Prozessstabilität, dem Eigenstrombedarf, dem Wirkungsgrad (Nägele, 2011) und zu den Emissionen am BHKW (Thomas, 2011) erhoben. Mit der Entwicklung pflanzenbaulicher Konzepte unter Einbindung einer optimalen energetischen und ressourcenschonenden Biomasseproduktion (Wünsch, 2011) und der Aufbereitung von Gärresten zu Handelsdünger (Maurer, 2011; Schloz, 2011) konnte der Nährstoffkreislauf geschlossen werden. Das dritte Cluster bearbeitete Fragestellungen zur Gaskonditionierung mit Membranverfahren, sowie zum CO₂-Wäscher mit reduziertem Energiebedarf.

Insgesamt bestand das Projekt aus 16 Arbeitspaketen mit 33 Teilprojekten und wurde von den Universitäten Hohenheim, Stuttgart und Karlsruhe, den Hochschulen Rottenburg und Reutlingen, dem Forschungszentrum Karlsruhe und dem Zentrum für Sonnenenergie und Wasserstoffforschung Stuttgart bearbeitet.

Im Cluster „Unterer Lindenhof“ war das Teilprojekt „Modellierung und Steuerung von Biogasanlagen, Onlinemesssysteme und Steuerungssysteme“ eingegliedert. In Kooperation der Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie der Universität Hohenheim mit der Universität Stuttgart (ISWA, Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte und Abfallwirtschaft) wurde ein Regelungs- und Steuerungssystem zur Online-Überwachung von NawaRo-Biogasanlagen konzipiert.

Ziel des Gesamtprojektes ist es, mit Hilfe der Nah-Infrarot-Reflexionspektroskopie die Prozessstabilität im Fermenter zu überwachen und zu steuern, sowie im Fall von Prozessschwankungen regelnd einzugreifen.

3.5 Zielsetzung der hier vorgestellten Untersuchungen

Da eine direkte Beobachtung der Mikroorganismen im Biogasfermenter bisher nicht möglich ist, bedient man sich der Beobachtung von Abbauprodukten der Mikroorganismen zur Bewertung des Stabilitätszustandes des Biogasprozesses.

Hierzu untersucht man die Gehalte an flüchtigen Fettsäuren wie Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure und Valeriansäure im Fermenter. Über den FOS/TAC-Wert (Maß für die Pufferkapazität des Substrates) wird zusätzlich die Prozessstabilität angezeigt. Die Entwicklung einer Optimierungsstrategie für den anaeroben Vergärungsprozess mit Maximierung der Biogasproduktion bei gleichzeitiger Sicherung eines stabilen Biogasprozesses und kosteneffektiver Substratausnutzung waren Ziele des Projektes. Die Stabilität des fermentativen Abbauprozesses sollte dabei kontinuierlich über ein NIR-Messsystem überwacht und sichergestellt werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Erprobung und Bewertung von Verfahren zur Erfassung, Beobachtung und Kontrolle der prozessrelevanten Parameter im Fermenter einer Biogasanlage mit Hilfe eines geeigneten Überwachungssystems. Das Messsystem auf Basis der Nah-Infrarot-Reflexionsspektroskopie soll zu jederzeit die Stabilität des Fermentationsprozesses im Biogasfermenter ermitteln und anzeigen, um so bei einer Anhäufung von Säuren im Fermentersubstrat rechtzeitig gezielte Gegenmaßnahmen einleiten zu können. Dazu wird das NIR-Messsystem auf die prozessrelevanten Säuren kalibriert. Über eine multivariate Datenanalyse mit „Support Vector Machine Regression“ wurden Kalibrationsmodelle für die verschiedenen Parameter entwickelt und getestet.

3.6 Eigene Untersuchungen und Ergebnisse

Die Ergebnisse des Forschungsvorhabens sind in drei referierten Publikationen dargelegt, die den folgenden Kapiteln zu entnehmen sind.

Die erste Publikation legt die Ergebnisse der Kalibration des NIR-Messsystems nach einer künstlichen Anreicherung der prozessrelevanten Parameter zur Überwachung der Prozessstabilität im Biogasfermenter dar. Die Versuchsplanung, das Konzept und die Vorgehensweise sind detailliert beschrieben und zeigen die Möglichkeiten des gewählten Messsystems, aber auch bereits gewisse Grenzen auf.

Die zweite Publikation befasst sich mit der natürlichen Erhöhung der flüchtigen Fettsäuren im fermentativen Substrat und soll den natürlichen biologischen Prozess so realitätsnah wie möglich, im Falle von Prozessstörungen, abbilden.

Die dritte Publikation beschäftigt sich mit der Frage, inwieweit die bereits entwickelten Kalibrationsmodelle aus der zweiten Publikation genutzt werden können, um zum einen die Prozessstabilität online zu überwachen und zum anderen den Prozess anhand der NIRS Daten steuern und regeln zu können. Dazu wurde ein Regelungskonzept von der als direkter Partner im Projekt beteiligten Universität Stuttgart (ISWA) entworfen, um nach Adaption an die bestehenden Biogassysteme der Universität Hohenheim, simulationsbasiert die Fütterung der Biogasfermenter zu regeln. Dies sind erste Schritte zur Übertragung der Regelungsstrategien in Kombination mit dem NIRS-Messsystem zur kontinuierlichen Überwachung der Prozessstabilität im Praxis-Biogasfermenter.

4 NEAR-INFRARED SPECTROSCOPIC ONLINE MONITORING OF PROCESS STABILITY IN BIOGAS PLANTS

Stockl, A. und Oechsner, H.

Universität Hohenheim, Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie (740),
Garbenstrasse 9, Stuttgart-Plieningen 70593, Deutschland.

Engineering in Life Sciences (Eng. Life. Sci.), 2012, Band 12, Ausgabe 3, 295-305

DOI: 10.1002/elsc.201100065

Da die organischen Fettsäuren bereits als Zwischenprodukte in der Reaktionskette des anaeroben Abbaus gebildet werden und damit frühzeitig Informationen über Prozessstörungen oder -veränderungen liefern, bestehen hohe Erwartungen bezüglich ihrer Eignung zur Überwachung des Gesamtprozesses. In der ersten Publikation wurden über künstliche Anreicherungen dieser Abbauprodukte, durch Zugabe von Acetat und Propionat zu zwei 400 Liter Labor-Biogasfermentern, sowohl Kalibrationsmodelle für Essig- und Propionsäure, als auch für das Essigsäureäquivalent mit dem NIR-Spektrometer in Kombination mit chemischer Referenzanalytik entwickelt. Zur Erstellung der Kalibrationsmodelle wurde erstmalig mit „Support Vector Machine Regression“ gearbeitet. Der angewendete Algorithmus dieser Software ermöglichte die Entwicklung guter Kalibrationsmodelle, trotz größter Datenmengen und nutzte die vollständige Kreuzvalidierung zur Überprüfung der Güte der Modelle. Die statistischen Kenngrößen weisen auf solide Kalibrationsmodelle zur Vorhersage der prozessbestimmenden Parameter hin.

Andrea Stockl
Hans Oechsner

State Institute of Agricultural
Engineering and Bioenergy,
University of Hohenheim,
Stuttgart, Germany

Research Article

Near-infrared spectroscopic online monitoring of process stability in biogas plants

The conditions laid down in the Renewable Energy Source Act for production of electricity from biogas have led to an enormous expansion of new biogas plants in the recent years in Germany. Through near-infrared reflection spectroscopy (NIRS) process stability of a biogas digester can be monitored online. This study presents the development of NIRS calibrations on acetic acid equivalents, acetic acid, and propionic acid concentrations in the digester substrate. Thereby, differences between thermophilic and mesophilic operations were measured and presented for the first time. Good calibration models were achieved by artificially increasing concentrations of the above-mentioned acids in two 400 L experimental biogas digesters with mesophilic and thermophilic operation and applying support vector regression. The presented values demonstrate that calibration with NIRS is possible. In the thermophilic digester, a calibration model with a ratio of standard deviation and standard error of prediction (RPD) value of 3.21 was achieved for the parameter acetic acid and in the mesophilic digester a RPD of 4.91 for the same acid. For the parameter propionic acid, calibration models with RPD values of 4.23 and 4.78 were achieved for the thermophilic- and mesophilic-operated digesters, respectively. The presented NIRS calibration can be used to develop an early warning system for process stability, which can be used for reliable optimization of biogas production to increase the methane yield.

Keywords: Biogas / NIRS / Online process monitoring / Support vector regression (SVR) / Volatile fatty acids

Received: August 4, 2011; revised: February 2, 2012; accepted: February 14, 2012

DOI: 10.1002/elsc.201100065

1 Introduction

The sequence of events during fermentation can generally be subdivided into a primary and a secondary fermentation process. The primary fermentation consists of a four-stage anaerobic degradation process, which involves hydrolysis and acidogenesis and results in the production of propionic acid and other short-chained fatty acids. In the subsequent secondary fermentation, involving acetogenesis and methanogenesis, these acids are converted over acetic acid to biogas [1]. However, an insufficient

supply of trace elements [2] or enzymes [3, 4] to the fermentation tank can lead to an increase of the acid concentration. After exhaustion of the substrates buffer capacity, the pH-value sinks, consequently slowing the metabolism of the methanogenic microorganisms until coming to a standstill. To avoid such a turn over, the volatile fatty acid (VFA) concentration is regularly monitored during the fermentation process. Keeping the concentrations of highly VFAs as low as possible is the characteristic of a well-functioning and stable degradation process.

Threshold values for concentrations of acids are around approximately 1000 mg/L digester substrate for acetic acid and a maximum 250 mg/L for propionic acid [5]. Exceeding a total acid concentration of 2000 mg/L [5] or 3000 mg/L [6] (http://www.lfl.bayern.de/publikationen/daten/informationen/p_27459.pdf), respectively, indicates a malfunctioning of the fermentation process. An important indicator for a healthy fermentation is the ratio of acetic acid to propionic acid, which ideally should be lower than 2:1. Another essential variable for the measurement of the acid content during fermentation is the acetic acid equivalent (HAceq.) [7]. It factors in the varying molar mass of the VFAs. For a timely

Correspondence: Andrea Stockl (andrea.stockl@uni-hohenheim.de), State Institute of Agricultural Engineering and Bioenergy, University of Hohenheim, Garbenstrasse 9, 70599 Stuttgart, Germany

Abbreviations: HAceq., acetic acid equivalent; LOO, leave one out; NIRS, near-infrared reflection spectroscopy; oDM, organic dry matter; R^2 , coefficient of determination; RER, ratio of data spread and standard error of prediction; RMSEC, root mean square error of calibration; RMSEP, root mean square error of prediction; RPD, ratio of standard deviation and standard error of prediction; SVM, support vector machine; SVMR, support vector machine regression; VFA, volatile fatty acids

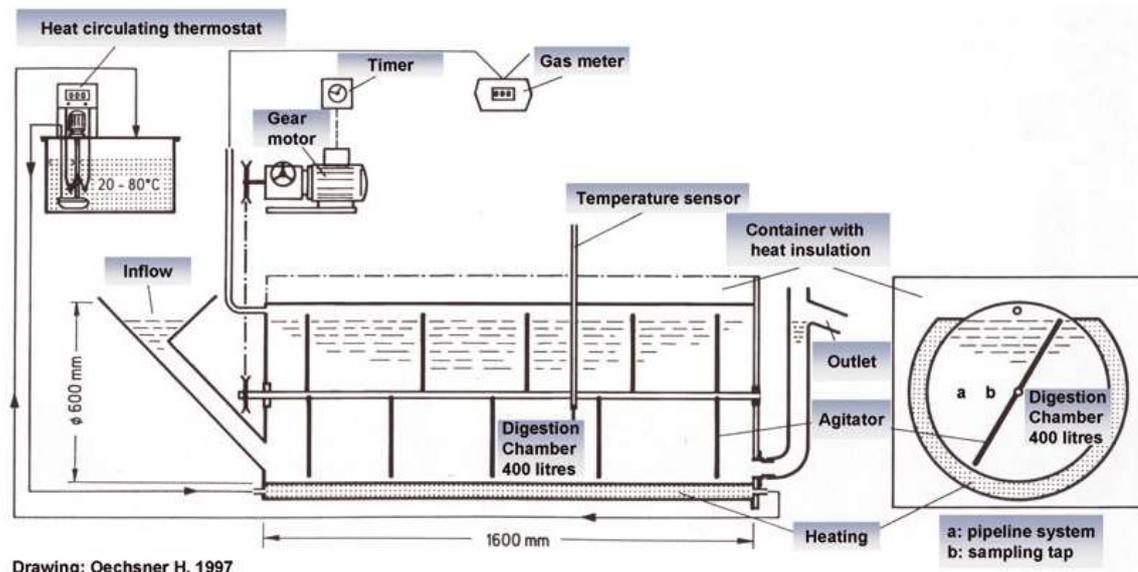


Figure 1. Profile of a horizontal digester with hot-water heating system and horizontal agitator with a working volume of 400 L.

recognition of a disruptive acid increase, control instruments must be applied to determine, classify, and precisely identify fluctuations during the fermentation process. A suitable method to recognize problems indirectly is the near-infrared reflection spectroscopy (NIRS). NIRS is a monitoring device, which measures the fermentation process online and is currently not an available standard technology in a full-scaled biogas plant. However, promising calibration results were achieved during a pilot project with NIRS in a full-scaled biogas plant [8]. A stable fermentation process depends strongly on the supply of the substrate. This process can quickly slip out of balance through overfeeding, resulting in higher concentrations of VFAs [9] (http://www.aelf-ph.bayern.de/pflanzenbau/38597/linkurl_0_21.pdf). In addition to determining the acids in the digester, NIRS can furthermore measure the dry matter content of the substrate input [8]. Further application possibilities for NIRS toward improving process stability would be possible with two-phase processes with a separation of hydrolysis and methanogenesis. During this procedure, the biomass is first converted into an acidulated percolate of low viscosity, which is then fed to a solid-bed methane reactor [10]. To avoid overfilling of such high-pressure reactors, continuous recording of fermentation acid concentrations in the percolate is necessary. Furthermore, it is conceivable to use NIR measurement system to monitor processed fluids exiting the digester during solid substrate fermentation [11]. The determination of forage residues during digestion through NIR spectroscopy is indispensable nowadays [12–14]. Further, NIRS measurement systems are applied at harvest for measuring dry matter, proteins, and crude fiber content in grain [15]. Studies indicate that monitoring the biological fermentative degradation process

of the microorganisms in the digester through NIRS has high potential [16–19].

The aim of this study was to calibrate the NIRS measurement system on propionic and acetic acid concentrations. Acids were artificially increased in the digester substrate in order to quickly and easily reach different concentrations of the acids.

2 Materials and methods

2.1 Trial design

2.1.1 Experimental plan

To determine substrate condition in biogas plants, NIR online measurement was conducted in the laboratory in two horizontal semicontinuously operated 400-L experimental biogas digesters of the same design. For stirring, a horizontal paddle stirrer (Fig. 1) was used for each 400-L fermentation chamber, respectively. Both motor-driven horizontal paddle stirrers were set at a speed of 30 rpm. A water-filled heating jacket, regulated by a recirculation thermostat ensured a constant working temperature within the digester. A sensor in the fermentation chamber recorded the substrates temperature and adjusted it when required. Studies [20,21] have shown that the intensity of the NIR reflection spectra can be varied via changes in substrate temperature. Accordingly, one 400-L digester was operated in mesophilic temperature range at 41°C and the second 400-L digester was operated in thermophilic temperature range at 52°C. The organic loading rate of 3 kg oDM/m³ (where oDM stands for organic dry matter) digester volume was carried out at a hydraulic retention time of 35 days. Both digesters were in each case fed daily

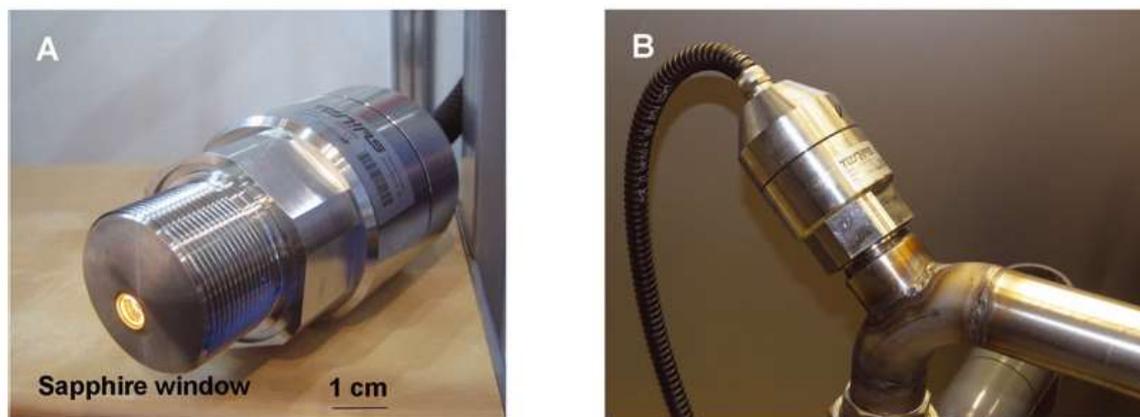


Figure 2. (A) Size of the sensor measuring range (sapphire window), (B) a built-in NIR sensor in a bypass.

with maize silage, manure, and water. Substrate was fed to the digesters through a hatch on one side and emitting the degraded fermentation residue through another opening (Fig. 1) on the opposite side, hereby maintaining a constant fermentation volume of 400 L.

On the front side, next to the inlet hatch, a sampling tap and a pipeline system with an integral pump (NEMO-type NM053 BY-NETZSCH Mohnopumpen from Waldkraiburg, respectively, an eccentric screw pump from Wangen), were attached for each digester, respectively. The pump was used for the transport of the substrate into the digester. A near-infrared sensor (Fig. 2A) is placed in upwardly flowing direction in an arc above the pipeline system (Fig. 2B) and pump.

A gas analyzer recorded the quantity and the quality of the produced biogas, containing approximately 60% methane, approximately 38% carbon dioxide, and a remainder of traces of hydrogen sulphide. However, output can vary depending on substrate, amount fed, or/and operation of digester. The recorded quantitative and qualitative data were then stored in a separate computer linked up to the system.

2.1.2 NIR measurement system

The near-infrared measuring system used in this work was designed by the company TENIRS (Transflexive Embedded Near Infra Red Spectrometer), with former headquarters in Kiel. The diode array spectrometer is composed of a central unit with three fiber optics and three sensor heads. One sensor per digester was in an online mode and a third sensor was used as an offline sensor for determining dry matter content of fed substrate. The three sensors were individually controlled by a multiplex. In each case, 60-s intervals were selected. The diode array spectrometer had the decisive advantage of having no moving components so that no measurement problems could be caused by possible vibrations. The diode array model performed best for mobile application because of its robustness in comparison with other spectrometers [22]. Moreover, the diode array was proved to be particularly suitable for analyzing natural products since it had the ideal wavelength range required here for [23] ([http://www.idrc-chambersburg.org/cnirs/pdfs/3rdQtr\(2003\).pdf](http://www.idrc-chambersburg.org/cnirs/pdfs/3rdQtr(2003).pdf)). In front of the sensor head, a wolfram halo-

gen light shines on the substrate through a 10 mm sapphire-glass window. The light reflected by the substrate is directed into the spectrometer through fiber optics where it is spectrally divided and directed onto a diode array, where it is electronically interpreted.

The diode array itself comprises of 256 photo diode elements ranging from 960 nm to 1700 nm with a theoretically achievable resolution of $(1700-960 \text{ nm})/256 = 2.9 \text{ nm/pixel}$. Photo diode arrays have their own electrical noise, the dark current, which is proportional to the exposure time and depends exponentially on the temperature [24]. To avoid dark current drift, the sensor head was fitted with an integrated automatic dark (0% reflection) and white alignment (100% reflection). Every reflection adjustment was carried out hourly and stored as a reference in the central unit. A dark current drift [25] mainly occurs in the first minutes after activating the sensor head. However, it cannot be ruled out that slight movements can occur later on [25]. The sensors used were operated in online modus granting stable working temperatures for the lamps, consequently avoiding a heating-up of the light sources. The hourly references were also necessary for counteracting and compensating possible variations in the NIR lamps, since the aging of the light sources, such as the test materials and the detectors can over time lead to signal instabilities or nonlinear results [26,27]. Absorption and reflection are strongly influenced by the moisture content in the substrate sample [28]. This can complicate the scanning of an unknown sample and has to be taken under consideration during the later evaluation of the spectra so that possible error sources can be reduced.

2.1.3 Spectral recording of data

All NIR spectra were stored in a local computer at Hohenheim University and transferred once per day to a Linux-based databank using the NIR measuring system online modus. In order to unmistakably identify the experiment phase-based reference samples on a time basis within the spectral data, a time stamp for selected spectra was set in the computer simultaneously with sampling.

After entering every sample number, the spectra recorded during a 3-min period were positively assigned to the reference

samples taken at that time. The integration time for a single spectrum was set to 10 s. The individual spectra were later evaluated visually on computer for plausibility. In case of uncertainty, it was decided for each particular case whether the spectrum represented an outlier. Now and again, the sensor vibrated in the beginning of a spectrum recording and shortly after switching on the pump. These individual spectra were noticeably unclear and either one or two spectra were then removed, or a slightly deferred spectrum was used. These were then assigned to the reference sample.

2.1.4 Generating the reference samples

A NIR calibration requires several hundred examined samples. The analysis of so many samples directly after sampling cannot be achieved due to time limitation. Therefore, a preliminary trial was conducted determining the fatty acid content of a fresh sample. This sample was then frozen for two weeks, then thawed and analyzed again in order to assess if the present measurement deviated from the one taken from the same sample before being conserved through freezing. For this purpose, 1.6 L of acetic acid essence (25%) and 0.4 L propionic acid (98%) were added to both digesters in order to achieve a concentration of 1000 mg/L acid in each digester, respectively. The degradation of the acid concentrations was documented during a sampling period of two days. A total of 15 samples were taken during the running trial and then separated. One half was immediately analyzed fresh in the laboratory and the rest frozen at -21°C for approximately two weeks and subsequently analyzed by the laboratory of the State Institute of Agricultural Engineering and Bioenergy. The frozen samples were thawed in a refrigerator at 4°C over night.

The results from the immediately analyzed samples and the samples that were frozen prior to analysis were absolutely identical. No loss of VFAs could be determined. Consequently, all digester samples in the subsequent trials were frozen immediately after they were taken. The volatile acid content of each sample was determined later by gas chromatograph, with two replications per sample. The respective mean values from analysis results contributed to the development of the calibration models. A capillary gas chromatograph from Varian (type CP-3800) with FID detector and Varian CP 7777 capillary pillar (50 m length, $0.32\ \mu\text{m}$ diameter, 0.25 mm configuration) was used for the determination of the highly VFAs. For analysis, approximately 1 g of the sample material was acidified with orthophosphoric acid to prevent further bacterial degradation of the fatty acids. The internal standard methyl-valeric acid was subsequently added. Methyl-valeric acid is a fatty acid that does not naturally occur in biogas digesters. Its aim was the detection of injection errors in the gas chromatographic analyses. All VFAs, including acetic acid, propionic acid, n-valeric acid, iso-valeric acid, n-butyric acid, iso-butyric acid, and caproic acid, were determined for every sample, respectively. All VFAs are summed up to the HAc_{eq} factoring in the difference in molecular weights.

2.1.5 Multivariate data analysis with support vector regression

The evaluation of the collected data was accomplished with multivariate evaluation methods, the chemometrics [29]. Hereby a statistical relation is established between the spectral data and the characteristics of the reference sample. The dissimilarity of the

spectra of different substances enables a precise identification of the analysis material. For analysis of the spectral data principal component analysis was used, followed by a regression analysis with support vector machine regression (SVMR).

The increasing capacities of computers enable the use of further developed methods, such as pattern identification (support vector machine, SVM), classification (support vector regression), and SVMR [30–33]. The beginnings of SVM can be traced back to Vapnik and Smola [34–36]. In comparison with the classical regression where only linear associativity of variables can be presented, SVMR can also provide nonlinear correlations. SVMR uses the kernel-trick [32] which offer the possibility of equating a linear classification of a higher feature space with the nonlinear classification in the origination space [37]. In his work, Thissen presented the superiority of SVMR compared to partial least square [38, 39]. However, a possible overfitting of the data and long training times [27] are clear disadvantages of SVMR. An overfitting of the calibration model through too many samples from a single concentration level lowers the universal validity of the model.

2.1.6 Statistical parameters for assessing model suitability

The precision of a method does not only depend on the investigated parameters but also on the investigated product itself. Consequently, the results of ring experiments on various products are only conditionally comparable, due to the different content concentrations as well as the product-specific characteristics [40]. However, in order to still be able to compare different experiments with one another, the statistical parameter of the RPD (SD/RMSEP ratio of standard deviation and standard error of prediction) is applied. Williams and Sobering [41] developed a suitable prediction performance for the RPD value. A RPD value from 2 to 3 is well suited for a rough screening whereas RPD values over 3 are indicative of a good calibration and for the prediction of particular samples. The cross-validation (Loo [leave one out] validation) is applied as a further statistical parameter of the correlation coefficient (R^2), evaluating the quality of a calibration.

In the case of the “leave one out” validation (Loo validation), a sample is left out of the calibration data set and a calibration model is developed with the remaining samples. The “one left out” sample is then estimated. This procedure is applied successively with all other samples. The following statistical parameters were applied in the evaluation of the trial results.

The root mean square error of prediction (RMSEP) is not comparable for various characteristics and is calculated in the units of the characteristic. The root mean square error of calibration (RMSEC) describes the standard deviation from the reference values of the calibration samples of all NIRS analysis values. A further criterion for assessing a model is the ratio of data spread and standard error of prediction (RER), which describes the prediction error based on the data range and is susceptible to outliers. RER should be as large as possible; a value over 10 represents a mass for a suitable calibration [42]. For all calibration models presented here, the multiplicative scatter correction approach was applied in order to suppress noise signals in the spectra. Every calibration model applied in this trial used the

Table 1. Addition of Na-acetate and Na-propionate at thermophilic operational mode to the digester

| | Feeding amount (intended concentration) | Addition mode | Sampling period | Sampling volume |
|----------------------------|---|---------------|-----------------|-----------------|
| Na-acetate (98%) | | | | |
| Experiment 1: | 4.8 kg (12 000 mg/L) | Singular | 3 days | 67 |
| Experiment 3: | 4.8 kg (12 000 mg/L) | Stepwise | 7 days | 90 |
| Na-propionate (99%) | | | | |
| Experiment 2: | 1.8 kg (4500 mg/L) | Singular | 10 days | 43 |
| Experiment 4: | 1.4 kg (3500 mg/L) | Stepwise | 3 days | 27 |
| | 1.84 kg (4600 mg/L) | Stepwise | 4 days | 63 |

Table 2. Addition of Na-acetate and Na-propionate at mesophilic operational mode to the digester

| | Feeding amount (intended concentration) | Addition mode | Sampling period | Sampling volume |
|----------------------------|---|---------------|-----------------|-----------------|
| Na-acetate (98%) | | | | |
| Experiment 5: | 4.8 kg (12 000 mg/L) | Singular | 3 days | 18 |
| Experiment 7: | 4.0 kg (10 000 mg/L) | Stepwise | 7 days | 92 |
| Na-propionate (99%) | | | | |
| Experiment 6: | 1.2 kg (3000 mg/L) | Singular | 10 days | 45 |
| Experiment 8: | 0.8 kg (2000 mg/L) | Stepwise | 3 days | 18 |
| | 1.0 kg (2500 mg/L) | Stepwise | 4 days | 52 |

Gaussian radial basis function as kernel function [31, 32, 43–45]. The C-value, the so-called penalty parameter, and the G-value, the so-called compensation parameter, are kernel parameters [43].

A higher C-value increases the training time for the data and reduces the prediction precision because the influence of the training errors is more strongly weighted. The G-value refers to the extent of the Gaussian function or bell curve in data distribution. There are no standard values for these two parameters. These are to be selected so that the general suitability of the calibration models is retained.

2.2 Trial procedure

Artificially increasing the contents of acetic acid and propionic acid in the 400 L experimental biogas digesters was the basis for the trial.

The advantage of artificially increasing acidity was to attain specific concentrations in the digesters. A direct addition of acid to the digester leads to foam creation and lowers local pH of the digester substrate, leading to an increased CO₂ production. To maintain a constant pH value in all trials presented here, the salts of the acids were applied. During the trial period, the feeding of the digester was stopped in order to avoid falsification of the degradation of the added salts (acids). With an organic loading rate of 3 kg oDM/digester volume and day there were, at the beginning of the trial, only limited concentrations of acetic acid and propionic acid were present. The amount of salts (Na-acetate and Na-propionate) added to both digesters are given in Tables 1 and 2. In trial 1, the addition of 4.8 kg Na-acetate to the thermophilic digester was applied only once in the beginning of the trial (Table 1). A target concentration of 12 000 mg/L acetic acid in the digester was the aim. At the beginning of the trial, 100 mL samples were taken every 30 min. As the trial continued, the sampling timing was lengthened until finally an hourly rhythm

was selected. During the three-day trial, 67 samples were taken in total.

The subsequent second trial featured a single addition of Na-propionate to the substrate at the beginning, with a target concentration of 4500 mg/L propionic acid in the digester. The propionic acid degradation took place over a period of 10 days with the same sampling timetable and a total of 43 samples. In the third trial, Na-acetate was gradually applied in small concentrations every 15 min until the target concentration of 12 000 mg/L was reached. During the period of acid degradation, samples were taken with simultaneous spectral scans on an hourly till three-hourly basis. A total of 90 samples were taken within a seven-day trial phase.

In the fourth trial, Na-propionate was applied stepwise twice. The concentration expectation for the first application was 3500 mg/L propionic acid and 4600 mg/L propionic acid for the second application, respectively.

In the first trial phase, which lasted three days, 27 samples were taken. During the second trial phase, 63 samples were taken during over a period of four days. A lower loading capacity of the mesophilic digester was expected and consequently the added amount of salts was reduced. Both trials (mesophilic and thermophilic) were carried out simultaneously. An overview of the amount of salts added, such as the sampling timetable and the sample numbers are given in Table 2.

For a reliable, robust, and sufficiently precise model, 60–120 representative samples must be available, meaning that these samples should cover the required concentration range and possible variations thereof [46]. The number of samples required for the determination of every individual calibration model was in each case higher than 100. A few samples should be added in regard to the amount of outliers, which should be lower than 10% if possible (personal communication with Dr. Andree, H., 2009, owner of the company TENIRS). For a fraction of these outliers, the acid content was zero or under 500 mg/L per sample. These samples were clearly overestimated and possibly other factors

Table 3. Statistical parameters to evaluate the quality of the calibration model in the thermophilic-operated digester

| | $n^a)$ | Outlier | $R^2_{Cal}{}^b)$ | $R^2_{Loov}{}^c)$ | Slope | Intercept | RMSEP ^{d)} | RMSEC ^{e)} | Range ^{f)} | RER ^{g)} | RPD ^{h)} | C ⁱ⁾ | G ^{j)} |
|--|--------|-------------------|------------------|-------------------|-------|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| Acetic acid amount; experiments 1 and 3 | 157 | 15 (8 < 0.5 g/kg) | 0.967 | 0.903 | 0.887 | 632 | 1.03 | 0.60 | 0.54–10.49 | 9.66 | 3.21 | 8.6 | 0.055 |
| Acetic acid equivalent, addition of Na-acetate; experiments 1 and 3 | 157 | 15 (8 < 0.5 g/kg) | 0.964 | 0.894 | 0.879 | 714 | 1.02 | 0.60 | 0.99–10.52 | 9.30 | 3.08 | 8.6 | 0.055 |
| Propionic acid amount; experiments 2 and 4 | 133 | 13 (8 < 0.4 g/kg) | 0.993 | 0.945 | 0.929 | 183 | 0.35 | 0.12 | 0.40–4.80 | 13.66 | 4.23 | 9.7 | 0.055 |
| Acetic acid equivalent, addition of Na-propionate; experiments 2 and 4 | 133 | 10 (4 < 0.5 g/kg) | 0.994 | 0.966 | 0.954 | 145 | 0.36 | 0.15 | 0.50–6.90 | 17.81 | 5.45 | 9.7 | 0.055 |

^{a)}Number of samples.

^{b)}Coefficient of determination of calibration.

^{c)}Coefficient of determination of leave one out validation.

^{d)}Root mean square error of prediction.

^{e)}Root mean square error of calibration.

^{f)}Data spread.

^{g)}Ratio of data spread and standard error of prediction.

^{h)}Ratio of standard deviation and standard error of prediction.

ⁱ⁾Penalty factor.

^{j)}Balancing factor.

in the matrix negatively influenced their assessment. Hansson [47] reported a detection limit of 300 mg/L for propionic acid. Consequently, all samples for propionic acid with a concentration lower than 300 mg/L and all samples for acetic acid with a concentration lower than 500 mg/L were removed from the data set in the calibration models. However, a few outliers remained, ones that possibly could have occurred through errors in sampling, spectra recording, or analysis, and were taken into account during the preparation of the calibration models.

Data covering all reference values and spectra were used for the development of the calibration models. The data of experiments 1 and 3, just as 2 and 4 of the thermophilic-operated digester were summarized to develop the calibration model (Table 3).

And the data of trials 5 and 7, as well as the data of trials 6 and 8 were each taken in sum for developing the calibration models of the mesophilic-operated digester (Table 4).

3 Results and discussion

3.1 Results of laboratory analyses

NIRS methods are always based on the development of calibration equations, such as the validation is based on a reference method. An evaluation of the NIRS method can therefore only be undertaken in comparison with these reference methods [48]. The accuracy of the reference sample analyses is of vital importance for the development of the calibration models. The results of the chemical analyses from the eight trials are presented below and in Figs. 3 and 4.

In trials 1, 3, 5, and 7 where Na-acetate was added to the digesters, a broad spectrum of concentrations was achieved. The data range stretched from 0 to 10 500 mg acetic acid per liter digester substrate. The missing data in trial 3 resulted only from

a longer sampling interval and in trial 5 the fermentation process broke down. The gradual increase of acids in the experiments 3, 4, 7, and 8 is highlighted with red points.

The slight irregularities during the degradation of the acids in the trials 3 and 7 (marked with green circles) are accounted for by the strong changes the bacteria cultures were subjected to during the respective trials. Such irregularities are not unusual. These samples were not treated as outliers and remained in the calibration data set. In all trials where Na-acetate was added to the digester the acetic acid target concentration of 12 000 mg/L should have been reached. The following analysis of the samples show that only a maximum concentration of approximately 10 000 mg/L acetic acid was attained (Figs. 3 and 4, left column). Sampling started 15 min after the single application of the Na-acetate to the digester.

A preliminary trial revealed that the added Na-acetate was evenly distributed in the 400-L digester after approximately 10 min. Possibly a part of the acid had already been degraded by the bacteria through the very rapid and homogeneous distribution of the Na-acetate in the digester, or a delay in the adjustment of the dissociation balance of the salt caused the reduced acid content. In the trial using the stepwise increase of the acid concentration, part of the acetic acid was probably degraded by the bacteria during the trial, resulting in lower concentrations than aimed for. During the degradation process of acetic acid, only limited concentrations of propionic acid could be detected. Thereby, the slightly higher propionic acid concentration from the single application of Na-acetate differed from the comparatively lower propionic acid concentration where Na-acetate addition was stepwise. In the trials 2, 4, 6, and 8, the Na-propionate was added either once or step by step to the digesters. The subsequent laboratory analyses of the substrate samples show propionic acid concentrations ranging from 0 to 4800 mg propionic acid per liter digester substrate. The data missing in trials 2 and 6 can be explained by an interruption of the sampling, since no

Table 4. Statistical parameters to evaluate the quality of the calibration model in the mesophilic-operated digester

| | $n^a)$ | Outlier | $R^2_{Cal}^b)$ | $R^2_{LooV}^c)$ | Slope | Intercept | RMSEP ^{d)} | RMSEC ^{e)} | Range ^{f)} | RER ^{g)} | RPD ^{h)} | C ⁱ⁾ | G ^{j)} |
|--|--------|--------------------|----------------|-----------------|-------|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| Acetic acid amount; experiments 5 and 7 | 110 | 7 | 0.993 | 0.960 | 0.917 | 488 | 0.61 | 0.26 | 0.87–10.49 | 15.83 | 4.91 | 5.4 | 0.055 |
| Acetic acid equivalent, addition of Na-acetate; experiments 5 and 7 | 110 | 7 | 0.993 | 0.960 | 0.916 | 495 | 0.61 | 0.26 | 0.87–10.54 | 15.89 | 4.90 | 5.4 | 0.055 |
| Propionic acid amount; experiments 6 and 8 | 115 | 23 (18 < 0.4 g/kg) | 0.994 | 0.963 | 0.886 | 197 | 0.22 | 0.09 | 0.26–3.32 | 14.00 | 4.78 | 3.8 | 0.020 |
| Acetic acid equivalent, addition of Na-propionate; experiments 6 and 8 | 115 | 18 (14 < 0.4 g/kg) | 0.995 | 0.976 | 0.900 | 245 | 0.38 | 0.18 | 0.34–7.28 | 18.49 | 5.76 | 3.8 | 0.020 |

a) Number of samples.

b) Coefficient of determination of calibration.

c) Coefficient of determination of leave one out validation.

d) Root mean square error of prediction.

e) Root mean square error of calibration.

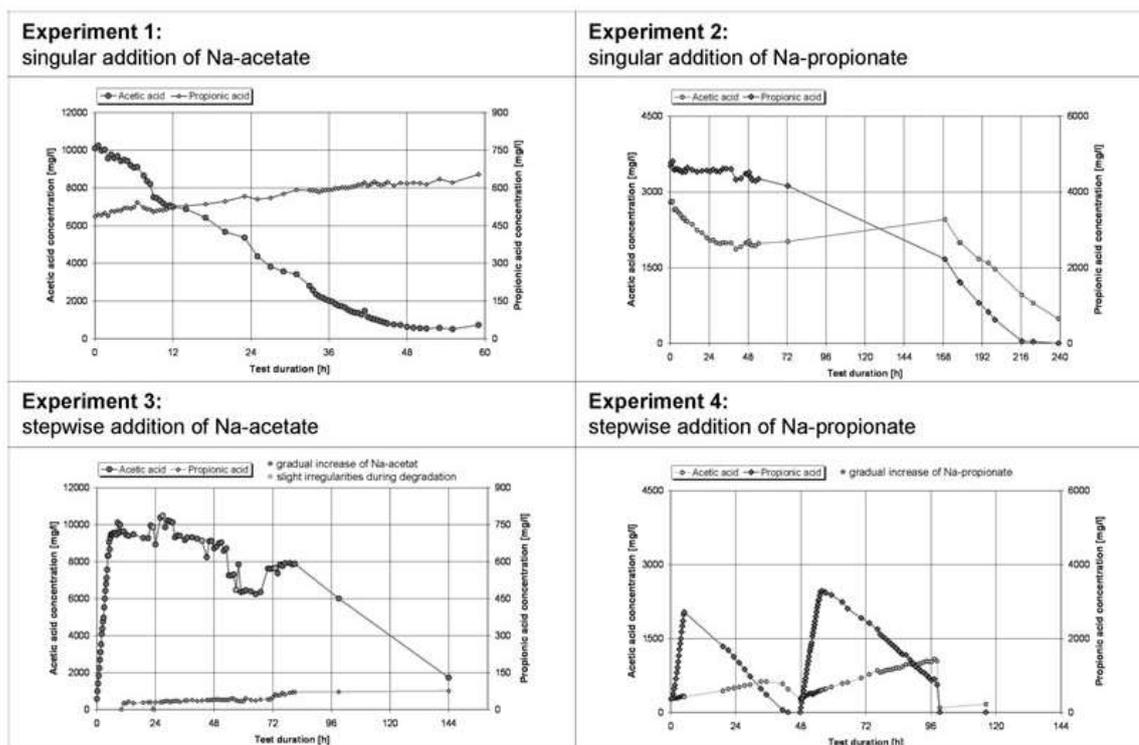
f) Data spread.

g) Ratio of data spread and standard error of prediction.

h) Ratio of standard deviation and standard error of prediction.

i) Penalty factor.

j) Balancing factor.

**Figure 3.** Variation (reduction) of acid concentrations (reference values) in the biogas digester after addition of volatile fatty acids at thermophilic operational mode.

significant degradation of the acids could be observed for two days, the sampling was omitted for some time. The desired concentrations were almost completely achieved in the trials using single addition of Na-propionate (Figs. 3 and 4, right column). To some extent, the initial phases lasted a long time. During these

phases only small amounts of the acid concentrations were converted by the bacteria cultures. Only after a delay of some days all Na-propionate was metabolized. This makes sense considering that the production of biogas from propionic acid needs a further degradation step, compared with from acetic acid.

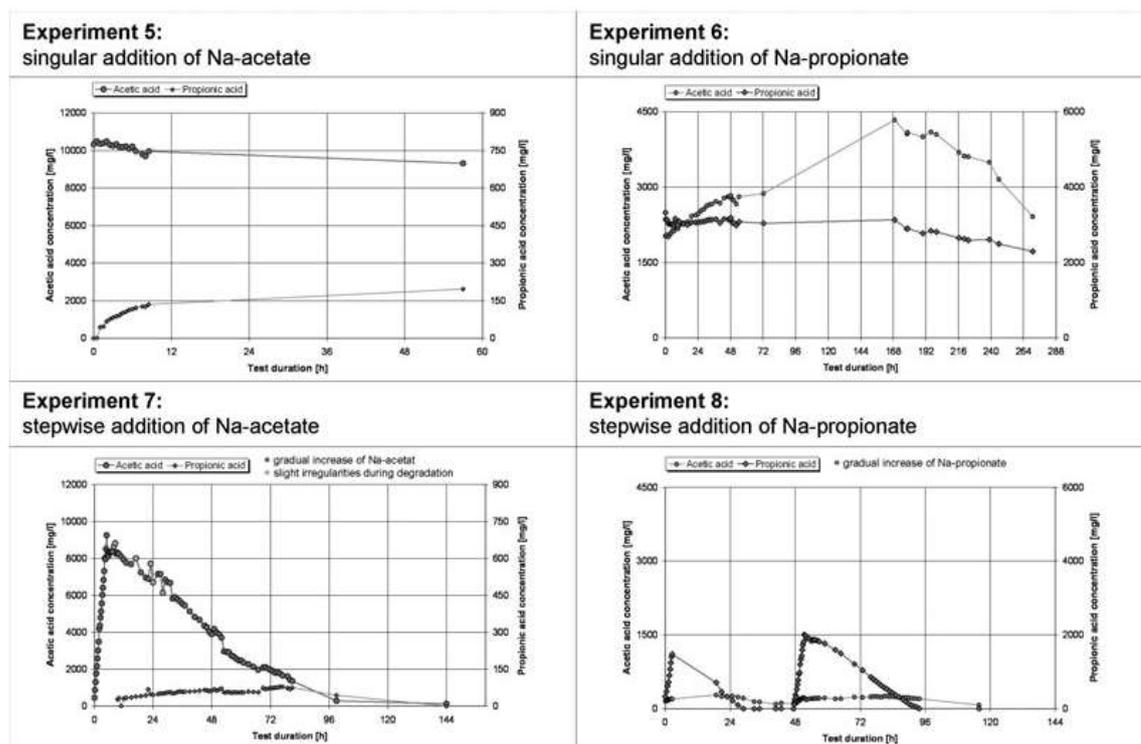


Figure 4. Variation (reduction) of acid concentrations (reference values) in the biogas digester after addition of volatile fatty acids at mesophilic operational mode.

Additionally, there is a high possibility that part of the Na-propionate may have already been converted by the bacteria during the time period of the stepwise addition of the Na-propionate.

The high concentrations of propionic acid added as single applications, in combination with the trials with the stepwise increase of Na-propionate concentrations, completed the required data range essentially needed for the creation of a robust calibration model. Noticeable were the high acetic acid concentrations of up to 4500 mg/L in both digesters where the Na-propionate was added once in the beginning. In regard to the fact that all acids were calculated to the respective HAc_{eq}, this situation must be given special consideration. The HAc_{eq} of the experiments 1, 3, 5, and 7 is nearly equal to the acetic acid values of the single trials (Figs. 3 and 4, left side). Opposed to the acid equivalent of the experiments 2, 4, 6, and 8, which are significantly higher than the acetic acid values of the single trials (Figs. 3 and 4, right side).

3.2 Results of the calibration development

Tables 3 and 4 present the statistical parameters for assessing the quality of the developed calibration models for both digesters. The trials 1 and 3, as well as 5 and 7 in which Na-acetate was added (stepwise and just once) are bound to the

calibration models acetic acid and HAc_{eq} (Na-acetate). The trials 2 and 4, respectively, 6 and 8 with Na-propionate addition were summed up to the models propionic acid and the HAc_{eq} (Na-propionate). In all trials, the coefficients for the determination of R^2 were a little higher for the calibration models than for the Loo validations. A coefficient of determination between 0.92 and 0.96 is suitable for most applications according to Williams [42] (<http://www.sik.se/traditionalgrains/review/Oral%20presentation%20PDF%20files/Williams.pdf>). A coefficient of determination higher than 0.98 constitutes as excellent and is usable in every application.

The results achieved in the thermophilic digester lay in the average validation range and indicated a good usability of the calibration models in most cases. The values for R^2 in the calibration lay between 0.96 and 0.99 and the R^2 values of the Loo validation were between 0.89 and 0.97.

The prediction errors (RMSEP) in trials 1 and 3 for acetic acid and HAc_{eq} were markedly higher with values above 1000 mg/L, compared to the ones in trials 5 and 7 with an acetic acid and HAc_{eq} value of 610 mg/L.

In contrast to the prediction errors in trials 2 and 4, as well as in trials 6 and 8 are all similarly low in a range from 220 to 380 mg/L. The calibration errors (RMSEC) in trials 1 and 3 were 600 mg/L for acetic acid and the HAc_{eq}, and 260 mg/L for acetic acid and the HAc_{eq} in trials 5 and 7. The RMSEC in trials 2 and

4, as well as in trials 6 and 8 are all similarly low, ranging from 90 to 180 mg/L.

The fluctuating levels of the error values in the calibration models can be due to a variety of reasons. Alterations of variables such as temperature or the physical characteristics of the samples could influence and alter prediction accuracy [49]. The different temperatures of the two digesters might influence the prediction accuracy and errors. However, it is noticeable that the errors are higher after the addition of acetate to both digesters, than after the adding propionic acid to the digesters. The reason for this may lie in a different degradation of the varying acids and possibly unknown substrate interactions. The measurement range for the calibration models of acetic acid exceeded concentration levels of 10 000 mg/L, compared with the data range for the propionic acid model, which almost reached 5000 mg/L with an associated HAceq. of nearly 7000 mg/L. The mesophilic-operated digester was less loaded by lower propionic acid additions as the other digester.

The prediction error based on the range of data (RER) was between 9.3 and 17.81 in the thermophilic digester. Whereas the RER for the mesophilic-operated digester was slightly higher ranging from 14.0 to 18.49. The difference between the lower RER in trials 1 and 3 and the higher RER in trials 5 and 7 is remarkable. The different substrates of the two digesters or a better degradation of acetic acid in a mesophilic temperature range may be reasons for this difference. The RER for all calibration models certainly represented a satisfying result.

The RPD values of the calibration models were representatively good at 3.08–5.45 in the thermophilic-operated digester, and at 4.90–5.76 in the mesophilic-operated digester. The C- and G-values, referred to in Tables 3 and 4, were similarly selected in calibration models for both digesters.

The trial results prove that very good calibration models for acetic acid, propionic acid, and HAceq. can be developed for both temperature ranges. This is substantiated by the equally good coefficient of determination for both digesters.

The coefficient of determination of the validation is a little lower in total, but nevertheless very satisfactory. The very high statistical errors (RMSEP and RMSEC) only occur for the calibrations for acetic acid in the thermophilic-operated digester. Whereby, in this case, unknown samples are possibly more difficult to assess. Furthermore, the low RER and RPD values for these models indicate that they are only applicable for a rough screening.

4 Concluding remarks

The results show that the acid concentrations in a digester can be recorded online; however, artificial increases of the acidity have to be taken into consideration for the calibration of NIRS.

Whether the developed model, which is based on an artificial increase in acidity, can be associated with a model based on a natural increase in acidity requires some additional clarification. In additional experiments, we increased the acidity in both digesters by raising the organic loading rate. So far, there are no available calibration model plurality from these trials comparable with the models of the artificial increasing of acidity. The Loo

validation was so far the only alternative to prove the validity of the calibration models. The next steps are to create test sets for a more reliable validation.

It is intended to develop calibration models in the range of 0 to approximately 4000 mg/L acid concentration, as it occurs in full-scaled biogas plants, so that the omitted reference data under 500 mg/L can be evaluated. Keeping values up to 10 500 mg/L acid in the calibration data set of our trials may possibly have prevented the development of a good calibration model. It is considered as absolutely necessary to include further parameters such as the consistency of the fermentation substrate into the calibration. A correct estimation of the acid content in the digesters of several biogas plants with a single calibration model has yet to be developed. Consequently, experiments with natural increases of the acids in the digester substrate are inevitable. With reliable calibration models process fluctuations could possibly be identified at once, resulting in rapid adjustments of instabilities in the digester biology through precise actions.

Practical Application

Estimations of process stability in biogas plants are mostly predicted intuitively via the daily amount of gas produced, which includes the methane yield. Digester-produced acids, which do not occur at higher concentrations in a stable process, could give a more precise picture. Currently, the presence of such acids can only be determined through time-consuming laboratory analyses. An online measurement system based on near-infrared reflection spectroscopy (NIRS) could give the concentration at any time of the biological process within the biogas digester. Using such an early warning system gives insights into the process stability and can be used for reliable optimization of biogas production to increase the methane yield.

The Bioenergy Research Platform Baden-Württemberg was founded within the framework of the project Future Offensive IV. Within a subproject the State Institute of Agricultural Engineering and Bioenergy, University of Hohenheim investigated an innovative online measurement system for renewable raw material biogas plants using near-infrared reflection spectroscopy (NIRS). The investigation is supported by the Ministry for Rural Areas and Consumer Protection with funds from the Landesstiftung Baden-Württemberg.

The authors have declared no conflict of interest.

5 References

- [1] Oechsner, H., Lemmer, A., Was kann die Hydrolyse bei der Biogasvergärung leisten? *VDI-Berichte* 2009, 2057, 37–46.
- [2] Preissler, D., Shah, A., Zielonka, S., Lemmer, A. et al., Investigating the hydrolysis of forage maize silage/Untersuchungen zur Hydrolyse von Maissilage. *Landtechnik* 2008, 63, 30–31.

- [3] Brulé, M., Oechsner, H., Fischer, L., Lemmer, A., Effect of enzymatic substrate preparation on the biogas yield of energy crops/Einfluss der enzymatischen Substrataufbereitung auf den Biogasertrag von Energiepflanzen. *Landtechnik* 2007, 62, 414–415.
- [4] Vintiloiu, A., Brulé, M., Lemmer, A., Oechsner, H. et al., Influence of temperature and pH value on enzyme activity in the biogas process/Einfluss der Temperatur und des pH-Wertes auf die Aktivität von Enzymen im Biogasprozess. *Landtechnik* 2009, 64, 1, 22–24.
- [5] Graf, F., Bajohr, S., Biogas-Erzeugung, Aufbereitung, Einspeisung. *Oldenbourg Industrieverlag GmbH* 2011, 1, 75–118.
- [6] Gronauer, A., Effenberger, M., Sicherung der Prozessstabilität in landwirtschaftlichen BGA. *LfL-Information* 2007, 1–14.
- [7] Lemmer, A., Preissler, D., Zielonka, S., Oechsner, H., Fermentation—alles ganz einfach? *Fachzeitschrift GWF – Gas/Erdgas* 2007, 148, 719–722.
- [8] Jacobi, H. F., Moschner, C. R., Hartung, E., Use of near infrared spectroscopy in online-monitoring of feeding substrate quality in anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 2011, 102, 7, 4688–4696.
- [9] Oechsner, H., Lemmer, A., Preißler, D., Zielonka, S., Die Hydrolysephase bei der Vergärung nachwachsender Rohstoffe – Führt sie zu Effizienzsteigerung? *Gütlower Fachgespräche* 2009, 32, 299–313.
- [10] Zielonka, S., Lemmer, A., Oechsner, H., Jungbluth, T., Energy balance of a two-phase anaerobic digestion process for energy crops. *Eng. Life Sci.* 2010, 10, 6, 515–519.
- [11] Kusch, S., Oechsner, H., Jungbluth, T., Biogas production with horse dung in solid-phase digestion systems. *Bioresour. Technol.* 2008, 99, 5, 1280–1292.
- [12] Berzaghi, P., Cozzi, G., Andrighetto, I., The use of near infrared analysis for in situ studies. *J. Dairy Sci.* 1997, 80, 3263–3270.
- [13] Jung, H. G., Mertens, D. R., Buxton, D. R., Forage quality variation among maize inbreds. In vitro fiber digestion kinetics and prediction with NIRS. *Crop Sci.* 1998, 38, 205–210.
- [14] Reeves, J. B., III, Blosser, T. H., Balde, A. T., Glenn, B. P., Near infrared spectroscopic analysis of forage samples digested in situ (Nylon Bag). *J. Dairy Sci.* 1991, 74, 2664–2673.
- [15] Williams, P. C., Norris, K., *Near-infrared technology in the agricultural and food industries*. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota 1987.
- [16] Holm-Nielsen, J. B., Andree, H., Lindorfer, H., Esbensen, K. H., Transflexive embedded near infrared monitoring for key process intermediates in anaerobic digestion/biogas production. *J. Near Infrared Spectrosc.* 2007, 15, 2, 123–135.
- [17] Jacobi, H. F., Moschner, C. R., Hartung, E., Use of near infrared spectroscopy in monitoring of volatile fatty acids in anaerobic digestion. *Water Sci. Technol.* 2009, 60, 2, 339–346.
- [18] Luck, S., Btge, G., Plettenberg, H., Hoffmann, M., Near-infrared spectroscopy for process control and optimization of biogas plants. *Eng. Life Sci.* 2010, 10, 6, 537–543.
- [19] Spanjers, H. H., Implementation of in-line infrared monitor in full-scale anaerobic digestion process. *Water Sci. Technol.* 2006, 53, 4–5, 55–61.
- [20] Wülfert, E., Kok, W. T., De Noord, O. E., Smilde, A. K., Linear techniques to correct for temperature-induced spectral variation in multivariate calibration. *Chemometrics Intellig. Lab. Syst.* 2000, 51, 2, 189–200.
- [21] Wülfert, E., Kok, W. T., De Noord, O. E., Smilde, A. K., Correction of temperature-induced spectral variation by continuous piecewise direct standardization. *Anal. Chem.* 2000, 72, 1639–1644.
- [22] Mouzen, A., Saeys, W., Xing, J., De Baerdemaeker et al. Kenntnisstand in Dissertation: *Entwicklung und Grundlagenuntersuchungen einer kontinuierlichen Messmethode zur nährstoffgesteuerten Ausbringung von Flüssigmist* Zimmermann, A. (Ed.), Kiel 2009, pp. 34.
- [23] Paul, C., NIR takes to the field—NIR climbs on the harvester and goes out to the field. *The NIR Spectrum* 2003, 1, 8–9.
- [24] Gerhard, M., Der Einfluß strobilurinhaltiger Fungizide auf physiologische Abläufe der Ertragsbildung an Winterweizensorten. Technische Universität München, Dissertation, TUM-Weihenstephan, Bayern 2001.
- [25] Reusch S., in Dissertation: *Entwicklung und Grundlagenuntersuchungen einer kontinuierlichen Messmethode zur nährstoffgesteuerten Ausbringung von Flüssigmist* Zimmermann, A. (Ed.), Kiel, 2009, pp. 60.
- [26] Lin, J., Lo, S., Brown, C. W., Calibration transfer from a scanning near-IR spectrophotometer to a FT-near-IR spectrophotometer. *Anal. Chim. Acta* 1997, 349, 263–269.
- [27] Swierenga, H., Wülfert, E., de Noord, O. E., De Weijer, A. P. et al., Development of robust calibration models in near infrared spectrometric applications. *Anal. Chim. Acta* 2000, 411, 121–135.
- [28] Hageman, J. A., Westerhuis, J. A., Smilde, A. K., Temperature robust multivariate calibration: an overview of methods for dealing with temperature influences on near infrared spectra. *J. Near Infrared Spectrosc.* 2005, 13, 2, 53–62.
- [29] Kessler, W., *Multivariate Datenanalyse für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik (Multivariate Data Analysis for Pharma-, Bio- and Process Analytics)*, Wiley-VCH, Weinheim 2007.
- [30] Gunn, S., Support vector machines for classification and regression. Technical report, *Image Speech and Intelligent Systems Research Group*, University of Southampton, Southampton, U.K. 1998.
- [31] Schölkopf, B., Smola, A. J., *Learning with Kernels*, MIT press, Cambridge 2002.
- [32] Cristianini, N., Shawe-Taylor, J., *An Introduction to Support Vector Machines and Other Kernel-based Learning Methods*, Cambridge University Press, UK 2000.
- [33] Burges, C. J. C., A tutorial on support vector machines for pattern recognition. *Data Min. Knowl. Discov.* 1998, 2, 121–167.
- [34] Vapnik, V., *The Nature of Statistical Learning Theory*, Springer-Verlag, New York 1995.
- [35] Vapnik, V., *Statistical Learning Theory*, John Wiley & Sons, New York 1998.
- [36] Smola, A. J., Schölkopf, B., *A Tutorial on Support Vector Regression*, University of London, UK 1998.
- [37] Chauchard, F., Cogdill, R., Roussel, S., Roger, J.M. et al., Application of LS-SVM to non-linear phenomena in NIR spectroscopy: development of a robust and portable sensor for acidity prediction in grapes. *Chemom. Intellig. Lab. Syst.* 2004, 71, 141–150.

- [38] Thissen, U., Pepers, M., Ustün, B., Melssen, W. J. et al., Comparing support vector machines to PLS for spectral regression applications. *Chemom. Intellig. Lab. Syst.* 2004, 73, 2, 169–179.
- [39] Thissen, U., Ustün, B., Melssen, W. J., Buydens, L. M. C., Multivariate calibration with least-squares support vector machines. *Anal. Chem.* 2004, 76, 3099–3105.
- [40] Williams, P.C., Variables affecting near-infrared spectroscopic analysis in: Williams, P., Norris, K. (Eds.), *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, American Association of Cereal Chemists, St. Paul 1987, pp. 143–167.
- [41] Williams, P. C., Sobering, D. C., Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. *J. Near Infrared Spectrosc.* 1993, 1, 25–32.
- [42] Williams, P., Application of simple statistics in grains research. Workshop on traditional grains. Retrieved from <http://www.sik.se/traditionalgrains/review/Oral%20presentation%20PDF%20files/Williams.pdf>
- [43] Zhao, C. Y., Zhang, H. X., Zhang, X. Y., Liu, M. C. et al., Application of support vector machine (SVM) for prediction toxic activity of different data sets. *Toxicology* 2006, 217, 105–119.
- [44] Ustün, B., Melssen, W.J., Buydens, L. M. C., Visualisation and interpretation of Support Vector Regression models. *Anal. Chim. Acta* 2007, 595, 299–309.
- [45] Ustün, B., Melssen, W.J., Buydens, L. M. C., Facilitating the application of Support Vector Regression by using a universal Pearson VII function based kernel. *Chemom. Intellig. Lab. Syst.* 2006, 81, 29–40.
- [46] Büning-Pfaue, H., Hartmann, R., Kehraus, S., Urban, C., NIR-Spektrometrische Untersuchungen an Lebensmitteln. *Analytiker Taschenbuch*, 18, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg 1998.
- [47] Hansson, M., Nordberg, Å., Sundh, I., Mathisen, B., Early warning of disturbances in a laboratory-scale MSW biogas process. *Water Sci. Technol.* 2002, 45, 255–260.
- [48] Williams, P.C., *Implementation of Near-Infrared Technology in Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries (2nd ed.)*, Williams, P., Norris, K. (Eds.), American Association of Cereal Chemists, St. Paul 2001, pp. 145–169.
- [49] De Noord, O. E., Multivariate calibration standardization. *Chemom. Intellig. Lab. Syst.* 1994, 25, 2, 85–97.

5 NEAR-INFRARED-REFLECTION SPECTROSCOPY AS MEASURING METHOD TO DETERMINE THE PROCESS STABILITY OF ANAEROBIC DIGESTION

^aStockl, A., ^aOechsner, H., ^bJungbluth, T.

^a Universität Hohenheim, Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie (740), Garbenstrasse 9, Stuttgart-Plieningen 70593, Deutschland.

^b Universität Hohenheim, Institut für Agrartechnik, Fachgebiet Verfahrenstechnik der Tierhaltungssysteme (440), Garbenstrasse 9, Stuttgart-Plieningen 70593, Deutschland.

(not published)

In der zweiten Publikation wurden prinzipiell ähnliche Versuche durchgeführt, wie bereits in der ersten Publikation dargelegt ist. Vornehmlich besteht der Unterschied darin, dass die Vielfalt der Säuremuster, die zur Kalibration des Spektrometers benötigt werden, einer natürlichen Säureakkumulation entstammte. Durch mehrmalige Zugabe von Weizenschrot, einem aufgrund seiner stofflichen Zusammensetzung in der Regel schnell fermentierbaren Futter, zu den Technikums-Fermentern, kam es zum gewünschten Anstieg der Konzentration an flüchtigen Fettsäuren. Essigsäure und Propionsäure reicherten sich durch eine gezielte und intensive Fütterung der Fermenter mit Weizenschrot bis zu einer von der Pufferkapazität des Gärsubstrates und den am anaeroben Abbauprozess beteiligten Mikroorganismen gerade noch tolerierbaren Konzentration an. Durch diese breite Spanne an Säurekonzentrationen konnten ähnlich robuste, aber für den Einsatz des Systems in der Praxis belastbarere Kalibrationsmodelle mit „Support Vector Machine Regression“ entwickelt werden, wie bereits in der ersten Publikation unter Verwendung von reinen Fettsäuren beschrieben ist.

Abstract

This study investigates the process stability of the anaerobic digestion process with near-infrared-reflection spectroscopy (NIRS). The main objective of the research project was the implementation of online monitoring in biogas plants, in order to determine the process relevant parameters. These involve acetic acid, propionic acid, acetic acid equivalent (HAc_{eq}), as well as the ratio of volatile organic acid and the buffer capacity (VOA/TAC).

Two 400 litre experimental digesters (in mesophilic and thermophilic operation mode) were used to naturally increase the concentrations of organic acids by adding shredded wheat to the digestate. During the experiment, NIR spectra were recorded and calibration models for the mentioned parameters could be obtained by using support vector regression (SVR). The accuracy of the generated calibration models showed RPD values ranging from 2.74 to 5.66 in both digesters, while proving to be mostly above three. Combined with relatively low prediction errors, this indicates sufficiently reliable calibration models.

The achieved statistical parameters which were used to evaluate the quality of the different NIRS-calibration models in both digesters indicate that NIRS is a feasible method to predict the process-relevant parameters in the digestate.

Unfortunately, the mutual exchange of the developed calibration models (between thermophilic and mesophilic operational mode) of the digesters did not provide satisfactory results. Different operating temperatures require new calibrations.

Keywords: NIRS, Near-infrared-reflection spectroscopy, biogas, anaerobic digestion, volatile fatty acids, support vector regression (SVR), computer aided process control

1 Introduction

The federal government of Germany aims to increase the production of renewable energy to reduce the consumption of fossil energy with their negative effect on global warming. Furthermore the German Government has decided to relinquish on the use of nuclear power. By 2020, 35 % of the energy supply and 14 % of heat supply are meant to originate from renewable energies (FNR, 2012). In 2011, 3.03 % of the entire produced electricity was generated in biogas plants. The percentage of renewable energy to heat supply accumulated to 11.9 % in 2011. According to the German Agency for Renewable Resources (FNR), a plant density of 7215 biogas plants in Germany could be recorded, with an increase of up to 7521 in 2012. Due to this expansion it is essential to comply with the requirements for a sustainable production of electricity, hereby using the best possible substrates.

An efficiency analysis and a balancing of the process are inevitable for the future. This would be possible by an assessment of measurable parameters. There are high potentials for a process improvement via both an exhaustive substrate utilization and an optimal utilization of the biogas crops.

The currently applied common measurement techniques for monitoring the anaerobic digestion process are unsatisfactory because they are mostly retained at a minimum level. In most cases the process is operated intuitively by using parameters like the methane content of the biogas or the pH value. However, such an operation mode does not permit a fast and targeted process intervention, due to improper process parameters. An evaluation of the state of the process via accurately selected parameters is mandatory to avoid any unnecessary loss of profits.

By using wet chemical analysis, the determination of the volatile fatty acids and the buffer capacity can provide important information about the current state of the fermentation process. However, this practice is extremely time-consuming, while in the case of critical process disturbances there may not be enough time for an adequate intervention. Therefore, online methods are required to determine the relevant process parameters.

Online measurement techniques for these parameters are not yet state of the art. Thus, the establishment of suitable detection systems like the near-infrared-reflection spectroscopy (NIRS) can contribute significantly to a stable process management, while critical imbalances are detected immediately.

The online monitoring of process relevant parameters in the digester, such as volatile fatty acids and the ratio of volatile organic acid (VOA) and buffer capacity (TAC), is the main objective of this research project.

2 Methods

2.1 Experimental setup

The experiment was carried out in two 400 litre semi continuously running experimental laboratory-scale biogas digesters at the biogas laboratory of the University of Hohenheim. The digesters were set up lying horizontally and were operated at a mesophilic temperature range of 41 °C in the one case and at a thermophilic temperature range of 52 °C in the other.

The heating system consists of a water-filled heating jacket, regulated by a recirculation thermostat, which ensures the required operation temperature within the digester.

A thermal insulation around the digester avoids heat losses and provides constant temperatures. A homogenous mixture of the digestate is generated by a horizontal, motor-driven paddle stirrer. In addition, pipeline systems with an integral pump were attached to each digester (one eccentric screw pump from Wangen and a NEMO - type NM053 BY - NETZSCH Mohnopumpen from Waldkraiburg). Each device pumped the entire digestate every two hours. A near-infrared sensor, designed by TENIRS Ltd. (Transflexive Embedded Near Infra Red Spectrometer; Kiel), was placed in the upwardly flowing direction in an arch above the pipeline system and the pump (see Stockl, 2012 for more details). Ahead of experimental phase the feeding of both digesters was conducted once every day by a hopper, using maize silage, manure and water. During the experiment the daily feeding was suspended, since according to the experimental design another substrate (shredded wheat) was used. At the opposite end of the feeding hopper, the degraded digestate was emitted through a submersible overflow, hereby maintaining a constant fermentation volume of 400 litres. The samples for the analysis of the process parameters (each containing 100 ml) were drawn through a sampling tap in close distance to the hopper.

The samples were analysed directly after the sampling or after a freezing storage at -21 °C, using gas chromatography for all volatile fatty acids. These include acetic, propionic, n-valeric, iso-valeric, n-butyric, iso-butyric and caproic acids.

The frozen samples were thawed in a refrigerator at 4 °C over night. From the drawn samples the value of the ratio of VFA to buffer capacity (TAC) was obtained by a titrator, supplied by the German Metrohm GmbH & Co. KG (two repetitions; for more details see Stockl, 2012 and Rieger and Weiland, 2006). The produced amounts of biogas were stored in gas bags, while consisting mainly of methane (CH₄) and carbon dioxide (CO₂), but also traces of hydrogen sulphide (H₂S). An automatic gas-collecting system examined the gas composition at given time intervals. The quality and quantity data of the produced biogas was saved on a separate computer, linked to the system.

2.2 Measurements with NIRS

The main advantage of the applied near-infrared measurement system is the possibility of measurements being performed on undestroyed raw material, without any pre-treatment of the samples. The online availability of the measured data and the general applicability of the system represent further advantages. A diode array spectrometer with 256 photo diode elements is based on the NIR measurement system. The light of a wolfram halogen lamp shines onto the digestate through a 10 mm sapphire-glass window in front of the sensor head. The reflected light is then directed into the spectrometer by an optical fibre, where it is evaluated and the data saved in an external Linux-based database. The measuring range of the diode array extends from 960 nm to 1700 nm. The NIR sensor is located in a bypass pipeline system with an integrated pump. During the substrate sampling, spectra are recorded simultaneously and saved in the database. A time-stamp assigns the taken samples accurately to the recorded spectra.

The sensor head is equipped with an integrated automatic dark (0 % reflection) and white alignment (100 % reflection) in order to recognize losses in the intensity of the light bulb. Each reflection adjustment was carried out every hour and saved in the database as a reference. NIR-calibration models have been developed for various parameters with multivariate data analysis (Kessler, 2007) and support vector machine regression (Gunn, 1998; Christianini, 2000).

2.3 Experimental operation

A natural increase of the VFAs in the digestate was achieved by adding shredded wheat to both digesters.

The organic loading rate rose during an experimental period of twelve days by feeding shredded wheat to the digesters three times (figures 1 and 2). Wheat (10 kg each time) was added to the thermophilic digester on the first, the third and the eighth day of the experiment. The mesophilic digester was fed with 10, 5, and 2.5 kg of shredded wheat on the same days, respectively. Before the start of the experiment, both digesters were operated at an organic loading rate of 3 kg oDM/m³ digester volume and day and at a hydraulic retention time of 35 days. During this time, acid concentrations were not detected in the thermophilic operated digester, whereas the initial acetic acid concentration in the mesophilic digester was nearly 3 g*L⁻¹. A value of 0.5 g*L⁻¹ could be detected for propionic acid, while the acetic acid equivalent showed a high value of 4 g*L⁻¹ (fig.2).

The digesters were fed with shredded wheat instead of maize silage because of the higher starch content and so far a quicker digestibility and faster increase of the acid concentrations had been expected. However, the acid increase took place almost too fast and appeared to be just as fast as the metabolism of the acid. Through this extremely rapid degradation of the added substrate not enough samples could be taken in the thermophilic operated digester for calibration development. This was confirmed in chemical analyses which showed that low acid concentrations were detectable in the digestate after only two days, respectively five days. As a result shredded wheat was added a third time, thereby a wide concentration range of acids was achieved. With the obtained data of this experiment, NIR-calibration models were developed for acetic acid, propionic acid, acetic acid equivalent (HAc_{eq}) and the ratio of volatile organic acid and buffer capacity (VOA/TAC). From a total amount of 160 samples drawn from of the thermophilic digester and 115 samples from the mesophilic digester, several calibration models could be performed.

2.4 Statistical parameters for assessing model suitability

The quality of a NIRS-calibration model is expressed by the following statistical parameters, saved in the applied software (with equations 1 to 4).

With low values the root mean square error of cross validation (RMSECV) indicates a high quality of a NIR-calibration model (equation 1). In all cases a leave one out full cross validation was applied. Outliers could have occurred through errors in sampling, spectra recording, or analysis.

$$\text{RMSECV} = \sqrt{\frac{\sum (\text{Value}_{\text{Loo}} - \text{Value}_{\text{Ref}})^2}{n_{\text{total}} - n_{\text{outlier}}}} \quad \text{equation 1}$$

Loo = leave one out; *Ref* = referenced; *n* = number of samples

The root mean square error of calibration (RMSEC) describes the standard deviation of the reference values for the calibration samples of all NIRS analysis values (equation 2).

$$\text{RMSEC} = \sqrt{\frac{\sum (\text{Value}_{\text{Pred}} - \text{Value}_{\text{Ref}})^2}{n_{\text{total}} - n_{\text{outlier}}}} \quad \text{equation 2}$$

Pred = predicted; *Ref* = referenced; *n* = number of samples

An additional criterion for assessing a model is the RER (equation 3), which describes the prediction error based on the data range. It is susceptible to outliers (Stockl, 2012). The RER should be as large as possible: a value above 10 represents a dimension for a suitable calibration (Williams and Sobering, 1993).

$$\text{RER} = \frac{\text{Value}_{\text{Refmax}} - \text{Value}_{\text{Refmin}}}{\text{RMSEP}} \quad \text{equation 3}$$

Refmax = referenced maximum value; *Refmin* = referenced minimum value

Williams and Sobering (1993) stated that an RPD value (equation 4) above 3 indicates a good NIR-calibration and can be used for a rough screening of particular samples.

$$\text{RPD} = \frac{\text{std}(\text{Value}_{\text{Ref}})}{\text{RMSEP}} \quad \text{equation 4}$$

std = standard deviation; *Ref* = referenced

The developed calibration models in this experiment used the Gaussian radial basis function (RBF) as kernel function (Christianini, 2000; Schölkopf, 2002; Üstün, 2006; Üstün, 2007).

The best three hyperparameters ϵ , C and G must be chosen and need to be optimized for the SVR. C and G are still determined by trial and error, while in the system only the value of the kernel parameter ϵ is fixed at 0.1 (by the software). ϵ determines the radius characteristic of the ϵ tube around the regression function, which is created by the support vectors.

The number of support vectors is defined by ϵ : a too high ϵ value leads to fewer support vectors (Üstün, 2003). The regression function becomes less complex because more data points fit in the ϵ tube, resulting in high prediction errors and worse applicable regression models.

The C-value is described by Zhao (2006) as a penalty parameter. It can be directly related to a regularisation parameter (Gunn, 1998). A high C-value increases the training time for the data, while simultaneously reducing the prediction precision. This is due to a stricter weighting of the influence caused by training errors.

The robustness of the regression model depends on a best choice of the C and G value. The G-value is a compensation parameter and relates to the adjustment to the regression function.

There exist no standard values for both the C and G value. Choosing the best combination of these two parameters in the graphical user interface, similar to two slide control, by trial and error comprises the risk of great errors. Witten (2005) describes software programs that calculate the best combination of these parameters - however, no automatic procedure has been implemented in the applied software so far.

3 Results and Discussion

3.1 Results of laboratory analysis

The recorded spectra of the spectrometer and the associated reference data of the chemical analysis are required to calibrate the near-infrared measurement system. The quality of the calibration model depends directly on a careful analysis of the substrate samples in the laboratory. A good calibration model should hereby be based on 60 to 120 representative samples which cover the intended concentration range (Büning-Pfaue, 1998). The testing period of twelve days included the adding of shredded wheat to both digesters at three points. The sampling was at first carried out every three hours, while no sampling was conducted at night. After the second and third adding of shredded wheat, samples were taken every 15 minutes from the thermophilic digester (at daytime).

However, the sampling from the mesophilic digester in this tight interval of 15 minutes was only performed after the third adding of shredded wheat. Figures 1 and 2 shows the results of the laboratory analysis of both digesters, where 166 samples were taken from the thermophilic digester and 115 samples from the mesophilic digester.

The imbalance between the number of samples from both digesters may be attributed to the steadily unstable phase of the mesophilic digester at the beginning of the experiment. In the thermophilic digester the acetic acid concentration reached a maximum of $8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ in the digestate, whereas the propionic acid concentration did not exceed a value of $2.7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. The high values of the acetic acid equivalent with its maximum of approximately $13 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (representing the sum of all acids, expressed in a proportional ratio to acetic acid), also include high concentrations of butyric acid and some valeric acid. For these parameters no calibration models were developed, whereby the curves are missing in Fig. 1 and 2, but should be considered.

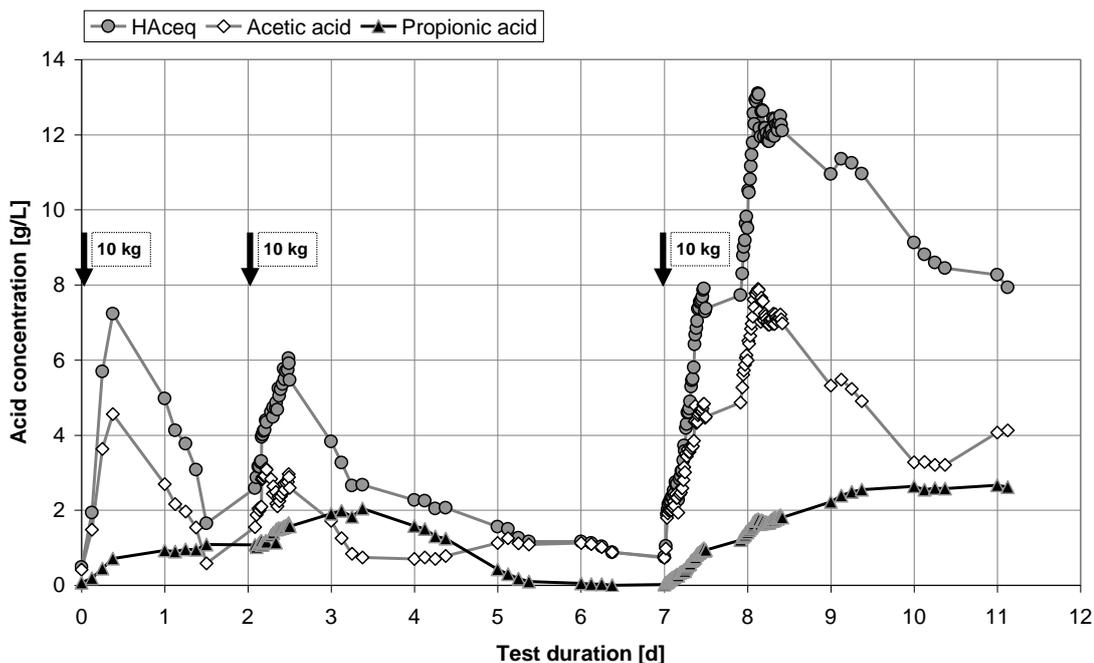


Abb. 11: Figure 1: Variation of acid concentrations (reference values) in the biogas digester after adding shredded wheat (thermophilic mode)

Because the initial acid concentrations in the mesophilic digester were high at the beginning of the experiment (Fig. 2), the second and third adding of shredded wheat was cut down drastically. Nevertheless, the fermentation process was clearly disrupted and it usually takes almost a week to regain the bacterial balance. The sum of acetic acid and propionic acid differs from the value of acetic acid equivalent, due to a significantly higher value of butyric acid and also small amounts of valeric acid. These high values indicated strong process instabilities and therefore endangered the entire fermentation process. After four days of the experiment, a maximum concentration of $13.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ acetic acid equivalent showed that the butyric acid concentration with approximately $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ was definitely too high. Despite this, the bacteria were able to metabolize the major part of the acids and relatively low acid concentration values could be observed on the seventh day of the experiment. The last adding of shredded wheat strained the fermentation process to the extent that the resulting intermediate products in the anaerobic reaction chain could not be metabolized completely. The level of the acetic acid concentration decreased to a value below $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, whereas the value of the propionic acid concentration rose drastically up to approximately $3.7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

The ratio of acetic acid to propionic acid is of high significance in this context because it is ideally meant to be lower than 2:1 (Lemmer, 2011). The significant discrepancy of the ratio of acetic acid to propionic acid or even a reverse of the relation makes it clear that the fermentation process is in imbalance and probably irreversibly disrupted.

However, the obtained chemical analysis data, combined with the simultaneously recorded spectra, is more than sufficient to develop reliable calibration models for the mentioned process parameters.

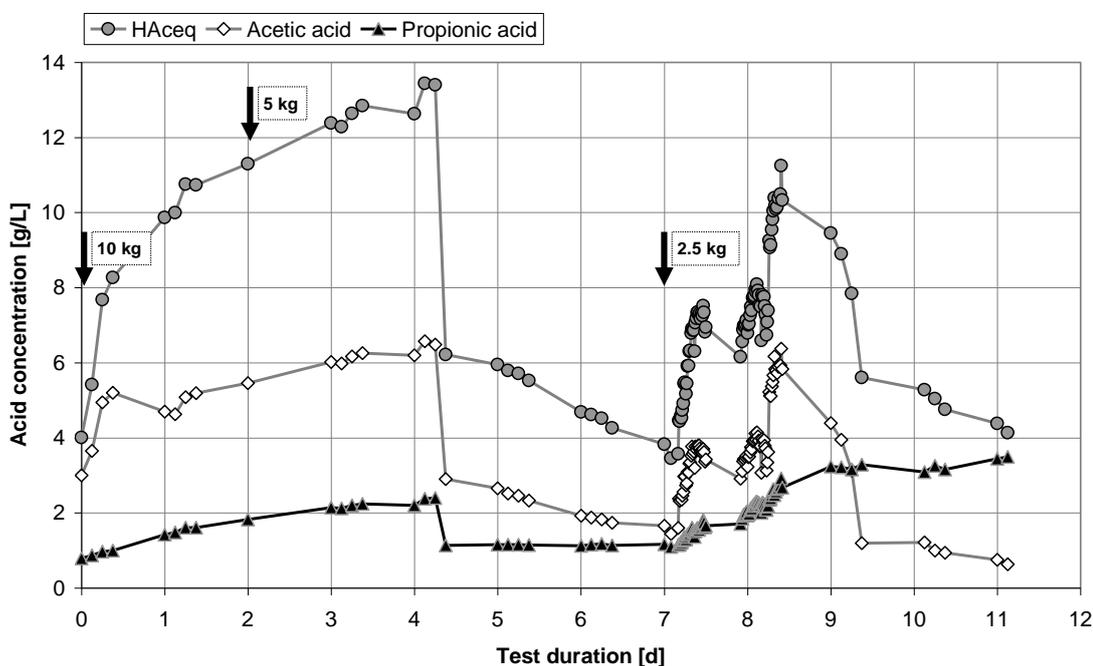


Abb. 12: Figure 2: Variation of acid concentrations (reference values) in the biogas digester after adding shredded wheat (mesophilic mode)

3.2 Results of the calibration development

Table 1 provides an overview over the quality of the NIR-calibration models for the thermophilic digester (in common parameters). Table 2 shows the data for the mesophilic digester, respectively.

Tab. 6: Table 1: Statistical parameters to evaluate the quality of the different NIRS-calibration models in the thermophilic digester

| | ¹ n | ² RMSECV | ³ RMSEC | ⁴ Range | ⁵ RER | ⁶ RPD | ⁷ C | ⁸ G |
|--------------------|----------------|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| HAc _{eq.} | 166 | 0.98 | 0.53 | 0.75-13.10 | 12.12 | 3.75 | 39.2 | 0.0055 |
| C _{Ac} | 166 | 0.62 | 0.32 | 0.41-7.61 | 11.56 | 3.45 | 39.2 | 0.0055 |
| C _{pro} | 166 | 0.21 | 0.12 | 0.02-2.67 | 12.67 | 2.97 | 39.2 | 0.0055 |
| VOATAC | 166 | 0.18 | 0.10 | 0.26-2.23 | 10.98 | 3.37 | 39.2 | 0.0055 |

¹n=number of samples, ²RMSECV [g*L⁻¹]=root mean square error of cross validation, ³RMSEC [g*L⁻¹]=root mean square error of calibration, ⁴Range [g*L⁻¹]=data spread, ⁵RER=ratio of data spread and standard error of prediction, ⁶RPD=ratio of standard deviation and standard error of prediction, ⁷C=penalty factor, ⁸G=balancing factor

Tab. 7: Table 2: Statistical parameters to evaluate the quality of the different NIRS-calibration models in the mesophilic digester

| | ¹ n | ² RMSECV | ³ RMSEC | ⁴ Range | ⁵ RER | ⁶ RPD | ⁷ C | ⁸ G |
|--------------------|----------------|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| HAc _{eq.} | 115 | 0.64 | 0.50 | 3.83-13.44 | 14.90 | 3.44 | 39.2 | 0.0055 |
| C _{Ac} | 115 | 0.43 | 0.36 | 1.65-6.57 | 11.40 | 2.74 | 39.2 | 0.0055 |
| C _{pro} | 115 | 0.17 | 0.13 | 0.79-2.87 | 16.60 | 2.96 | 39.2 | 0.0055 |
| VOATAC | 115 | 0.13 | 0.10 | 0.48-3.41 | 23.30 | 5.66 | 39.2 | 0.0055 |

¹n=number of samples, ²RMSECV [g*L⁻¹]=root mean square error of cross validation, ³RMSEC [g*L⁻¹]=root mean square error of calibration, ⁴Range [g*L⁻¹]=data spread, ⁵RER=ratio of data spread and standard error of prediction, ⁶RPD=ratio of standard deviation and standard error of prediction, ⁷C=penalty factor, ⁸G=balancing factor

All calibration models presented here were created without any spectral pre-processing. While developing the model almost 9 % of the samples were removed from the data set and treated as outliers, since they obviously did not belong to the data set - according to a visual verification of the spectra.

The concentration data range of the acetic acid equivalent in the thermophilic digester (table 1) reached from $0.75 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ to $13.10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, while an equal maximum concentration of $13.44 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ could be observed in the mesophilic mode (table 2). The height of the maximum concentrations is also due to concentrations of butyric acid and low amounts of valeric acid. Compared to the minimum value of $0.75 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ of acetic acid equivalent in the thermophilic digestate (at the beginning of the experiment) the minimum concentration of acetic acid equivalent in the mesophilic digestate is already at a remarkably high level of $3.83 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. As mentioned before, this concentration value is due to an imbalance in the biological fermentation process at the beginning of the experiment - with high acetic acid concentration of $1.65 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and a maximum at $6.57 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ in this digester. In the other digester (thermophilic mode) the maximum concentration value for acetic acid is $7.61 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, while the values for propionic acid and the ratio of volatile fatty acid to buffer capacity are comparably high with $2.67 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $2.23 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ in the same digestate. Almost the same values for these parameters could be observed in the mesophilic digester. The attained concentration ranges of all parameters, extend far beyond the critical limiting values for volatile fatty acids, are urgently required for robust calibration models.

The full cross-validation is especially suitable for reflecting possible prediction errors and is represented by the RMSECV.

The average error of applying the generated models to the left-out spectra gives an almost unbiased estimate of the true error of the classification model (West-Nielsen, 2005).

The prediction errors of cross validation in the thermophilic mode for acetic acid equivalent and acetic acid (with values of $980 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $620 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) were distinctly higher compared to the errors of propionic acid and the ratio of volatile fatty acid to buffer capacity (amounting to $210 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $180 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). The values for RMSECV in the mesophilic digester all prove to be almost 30 % lower than in the other digester and may indicate a better calibration model.

The calibration errors (RMSEC) of the models developed for the thermophilic digester are all approximately 50 percent lower than the prediction error of cross validation. Therefore, in this ratio they indicate a good quality of NIRS calibration models to predict unknown samples. The ratio of the two errors (RMSECV and RMSEC) in the other digester is of significantly inferior quality, suggesting a considerably weaker prediction model. In this case, unknown samples are possibly more difficult to assess.

The prediction error based on the range of data (RER) was between 10.98 and 12.67 in the thermophilic digester. However, the RER values for the mesophilic digester were significantly higher - ranging from 11.40 to 23.30. The RER for all calibration models indicated reliable results.

The RPD values of the calibration models prove to be high class at 2.97 to 3.75 in the thermophilic digester, and 2.74 to 5.66 in the mesophilic digester.

The C- and G- values were set at the same values in all calibration models for both digesters.

3.3 Comparison of different calibration models for validation

In a former experiment the acid concentrations in both digesters were artificially increased by adding sodium acetate and sodium propionate (detailed in Stockl, 2012). The resulting calibration models derived from this experiment were equally good as in the experiment described above. It was intended to validate the samples from the “shredded wheat experiment” with the calibration models developed in the “acetate/ propionate experiment” and vice versa. Although the calibration models were really good, only one single, constant value could be determined over the whole experimental period, e.g. by validation of the “shredded wheat experiment” with the calibration models of the “acetate/ propionate experiment”. That result appeared in all possible variations. This probably indicates that the calibration models in the shown experiments are not exchangeable in any way. All calibration models are reliable in internal full cross leave one out validations. However, this experiment proves the necessity to develop new calibration models for different digestates.

Conclusion

The results of this work demonstrate that reliable calibration models for acetic acid, propionic acid, acetic acid equivalent and the ratio of volatile organic acid and buffer capacity could be developed for both temperature ranges. However, the RER and RPD values for the models indicate that they are only applicable for a rough screening. The mutual exchange of the calibration models for validation in both digesters proved to be unsuccessful. This may certainly be explained by the different operating temperatures of the digesters. Another possible reason could be the fact that both sensors used in the experiment are equipped with different automatic internal references.

This problem could be avoided with an additional adjustment as a single reference for both measurement heads and saved in the databank. Nevertheless, the different temperatures may have a strong influence on succeeding in a mutual exchange of calibration models for validation. High accuracy and precision is difficult to achieve, as ambient influences, such as temperature, have a negative effect on spectral information.

Global models for different substrates should be developed, including varying temperatures and broader calibration parameters. Further experiments were carried out to derive a tendency of the process parameters indicating process stability, by using established NIRS calibrations (Stockl, 2013).

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the Ministry for Rural Areas and Consumer Protection of the federal state of Baden-Württemberg (Germany) and the Baden-Württemberg Foundation gGmbH for the financial support of the project within the 'research platform on bioenergy'.

Conflict of interest

The authors have declared no conflict of interest.

References

1. Agency of Renewable Resources (FNR), 2012. Biogas Basisdaten Deutschland (Basical data of biogas Germany). Gülzow, <http://www.bioenergie.de/biogas/biogasanlagen-in-deutschland/>.
2. Büning-Pfaue, H., Hartmann, R., Kehraus, S., Urban, C., NIR Spektrometrische Untersuchungen an Lebensmitteln. Analytiker Taschenbuch, 18, Springer Verlag Berlin/Heidelberg 1998.
3. Cristianini, N., Shawe-Taylor, J., 2000. An introduction to support vector machines and other kernel-based learning methods. Cambridge University Press, UK.
4. Gunn, S., 1998. Support vector machines for classification and regression. Technical report, Image Speech and Intelligent Systems Research Group, University of Southampton.
5. Kessler, W., 2007. Multivariate Datenanalyse für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik (Multivariate data analysis for pharma-, bio- and process analytics). Wiley-VCH, Weinheim.
6. Lemmer, A., 2011. Biogaserzeugung. In: Graf, F., Bajohr, S. (Eds), Biogas: Erzeugung, Aufbereitung, Einspeisung, Oldenbourg, Munich, pp. 75-118.
7. Rieger, C., Weiland, P. 2006. Prozessstörungen frühzeitig erkennen. BIOGAS Journal 4, pp. 18-20.
8. Schölkopf, B., Smola, A. J., 2002. Learning with kernels. MIT press, Cambridge.
9. Stockl, A., Oechsner, H., 2012. Near infrared spectroscopic online monitoring of process stability in biogas plants. Engineering in Life Sciences (ELS), 2012; (3), 295-305. DOI: 10.1002/elsc.201100065.

10. Stockl, A., Löffler, D., Oechsner, H., et al, 2013. Near-infrared-reflection spectroscopy as measuring method to determine the state of the process for automatic control of anaerobic digestion. *International Journal of Agriculture and Biological Engineering (IJABE)*, 2013; 6(2): 63-72.
DOI:10.3965/j.ijabe.20130602.008.
11. Üstün, B., 2003. Comparison of Support Vector Machines and Partial Least Squares regression on spectral data. Masterthesis. Department of Analytical Chemistry.
12. Üstün, B., Melssen, W.J., Buydens, L. M. C., 2006. Facilitating the application of Support Vector Regression by using a universal Pearson VII function based kernel. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 81, 1, 29–40.
13. Üstün, B., Melssen, W.J., Buydens, L. M. C., 2007. Visualisation and interpretation of Support Vector Regression models. *Anal. Chim. Acta*, 595, 1-2, 299–309.
14. West-Nielsen M., Høgdall E., Marchiori E., Høgdall C. K., Schou C., Heegaard N. H. H., 2005. Sample Handling for Mass Spectrometric Proteomic Investigations of Human Sera. *Anal. Chem.*, 77, 5114-5123.
15. Witten and E. Frank, 2005. *Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques*. Morgan Kaufmann Pub.
<http://mestrado.deinfo.uepg.br/mestrado/docs/WittenFrank.pdf>
16. Zhao, C.Y., Zhang, H.X., Zhang, X.Y., Liu, M.C., et al, 2006. Application of support vector machine (SVM) for prediction toxic activity of different data sets. *Toxicology*, 217, 2-3, 105-119.

6 NEAR-INFRARED-REFLECTION SPECTROSCOPY AS MEASURING METHOD TO DETERMINE THE STATE OF THE PROCESS FOR AUTOMATIC CONTROL OF ANAEROBIC DIGESTION

^aStockl, A., ^bLöffler, D., ^aOechsner, H., ^cJungbluth, T., ^bFischer K., ^bKranert M.

^a Universität Hohenheim, Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie (740), Garbenstrasse 9, Stuttgart-Plieningen 70593, Deutschland.

^b Universität Stuttgart, Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft, Bandtäle 2, 70569 Stuttgart, Deutschland.

^c Universität Hohenheim, Institut für Agrartechnik, Fachgebiet Verfahrenstechnik der Tierhaltungssysteme(440), Garbenstrasse 9, Stuttgart-Plieningen 70593, Deutschland.

International Journal of Agricultural and Biological Engineering (IJABE), 2013; 6(2): 63-72.

DOI: 10.3965/j.ijabe.20130602.008

*Nach einer künstlichen Anreicherung der flüchtigen Fettsäuren im Biogassubstrat der Labor-Biogasfermenter (**erste Publikation**) wurden im nächsten Schritt diese fermentativen Abbauprodukte der hydrolysierenden, acidogenen und acetogenen Bakterien über eine Erhöhung der organischen Raumbelastung (**zweite Publikation**) erzielt. Zur Abrundung der Arbeit wurden die Kalibrationsmodelle der zweiten Arbeit genutzt, um den biologischen Prozess in den Labor-Biogasfermentern zu regeln und zu steuern. Zugrunde gelegt wurde dabei die Entwicklung einer neuen und vor allem einfachen Regelungsstrategie für NawaRo-Biogasanlagen basierend auf den gewonnenen Daten der NIRS-Messungen. Grundvoraussetzung war hierbei die Sicherung eines stabilen Anlagenbetriebes. Mit einer einfachen sowie effizienten Regelung mit welcher besser im Betriebsoptimum gefahren werden kann, ließ sich zusätzlich zur Stabilität die Biogasproduktion maximieren und die Effizienz der Anlagen steigern. Im Rahmen des Projektes wurden zuerst verschiedene Regelungsstrategien entwickelt, deren Funktionsfähigkeit an den Labor-Biogasfermentern evaluiert und optimiert werden konnten. Ziel war es, damit insgesamt ein einfaches, kostengünstiges Mess- und Regelsystem zum Einsatz auf landwirtschaftlichen Biogasanlagen zur Verfügung zu stellen.*

Near-infrared-reflection spectroscopy as measuring method to determine the state of the process for automatic control of anaerobic digestion

Andrea Stockl^{1*}, Daniel Löffler², Hans Oechsner³, Thomas Jungbluth³,
Klaus Fischer², Martin Kranert²

(1. State Institute of Agricultural Engineering and Bioenergy, University of Hohenheim, 70593 Stuttgart-Plieningen, Germany;

2. Institute for Sanitary Engineering, Water Quality and Solid Waste Management, University of Stuttgart, Bandtåle 2, 70569 Stuttgart, Germany;

3. State Institute of Agricultural Engineering, Livestock System Engineering, University of Hohenheim, 70593 Stuttgart-Plieningen, Germany)

Abstract: A recently developed control strategy for the anaerobic digestion process requires secure knowledge about the state of the process. The near infrared reflection spectroscopy (NIRS), provides the possibility to determine process parameters of the anaerobic digestion process online and directly at the digester. To investigate if the NIRS measurements can successfully be used for the characterization of the state of the process within the control strategy the control was operated on two experimental digesters. The NIR spectra were recorded during the experiments. The values of the process parameters (mainly concentrations of organic acids) obtained by NIRS differ from the values of the chemical analyses during the experiment. Nevertheless the state of the process is categorized equally on the basis of both measurement methods. It can consequently be stated that NIRS is expected to meet the requirements of the control strategy.

Keywords: near-infrared-reflection spectroscopy (NIRS), state of the process, automatic process control, anaerobic digestion, biogas

DOI: 10.3965/ijabe.20130602.008

Citation: Stockl A, Löffler D, Oechsner H, Jungbluth T, Fischer K, Martin Kranert. Near-infrared-reflection spectroscopy as measuring method to determine the state of the process for automatic control of anaerobic digestion. Int J Agric & Biol Eng, 2013; 6(2): 63–72.

1 Introduction

The support for the expansion of renewable energies in Germany is regulated by the Renewable Energy Source Act^[1,2] which has the target of protecting limited fossil

fuel resources and reducing CO₂ emissions. Through a minimum price regulation for electricity supply networks paying for electricity produced by renewable energy, it increased the incentive for investment in new plants. Before the introduction of the legislation in March 2 000 there were less than 1 000 biogas plants connected to the electricity network in Germany. Until the first amendment of the legislation in 2004 the number of new biogas plants starting operation had doubled. The first amendment especially encouraged the use of energy crops which augmented the interest in biogas production and led to further increases in the building of biogas plants^[3,4]. With the second amendment in 2009 the number of biogas plants throughout Germany had already reached 4 670^[5]. According to the German Agency for

Received date: 2013-02-06 Accepted date: 2013-06-12

Biographies: Daniel Löffler, PhD, Email: daniel.loeffler@iswa.uni-stuttgart.de. Hans Oechsner, PhD, Agricultural Scientist, Email: hans.oechsner@uni-hohenheim.de. Thomas Jungbluth, PhD, Professor, Email: thomas.jungbluth@uni-hohenheim.de. Klaus Fischer, PhD, Email: klaus.fischer@iswa.uni-stuttgart.de. Prof. Dr.-Ing. Martin Kranert, Email: martin.kranert@iswa.uni-stuttgart.de.

*Corresponding author: Andrea Stockl, Ddipl.-Ing. Agriculture; Andrea Stockl is studying for her doctorate at the University of Hohenheim, Germany, Email: andrea.stockl@uni-hohenheim.de.

Renewable Resources (FNR) further 1 100 new plants were connected to the electricity supply network in 2010 while this number is expected to continue to increase^[5]. This boom of new biogas plants in the last 10 years is notably accompanied by questions about the optimal utilization of the regenerative substrates applied, as well as topics like the reliability and the efficacy of the plants become more important. Key aspects in this context are the precise monitoring and control of the anaerobic digestion process. Breakdowns in electricity production through process failures are both time and cost intensive. As a result a continuous monitoring of the biological process within the digester is required so that preventative action can be taken when necessary.

In particular online measurements of intermediate products in the anaerobic reaction chain can directly provide important information about the conditions of the process so that these parameters can consequently serve as early warning indicators. Besides better monitoring of the process these innovative measurement methods like the near infrared reflection spectroscopy (NIRS) additionally allow the development of automatic process control strategies which are based on the online availability of an increasing number of process parameters. Even though control strategies for the anaerobic digestion process on biogas plants are a tool to enable a more targeted and simplified utilization of the process while maintaining its stability no automatic process control has yet established as state of the art on biogas plants.

This article therefore aims to demonstrate that NIRS as innovative online-measuring method can be used for the monitoring of the state of the process, allowing to guide the process securely to a defined operation state by a recently developed automatic control strategy (presented in detail in the report^[6]).

2 Methodology

The near infrared reflection spectroscopy is investigated as an appropriate method to monitor the process stability in digesters. The NIRS measuring system has to be calibrated on the specific parameters that indicate the process conditions. NIR spectra determined

over reflected light that is irradiated on a substrate sample correlate directly to the concentrations of the specific parameters in the substrate sample.

A NIRS-calibration can be performed on all volatile fatty acids (VFA) like acetic acid, propionic acid, n-valeric acid, iso-valeric acid, n-butyric acid, iso-butyric acid and caproic acid, the sum of all mentioned VFA or the sum parameters of the volatile organic acids (VOA) and the buffer capacity (TAC) which were determined via titration. The developed NIRS-calibration model must be validated with leave one out validation or a test-set validation. After validation of the measurement system the desired concentrations of specific parameters in an unknown substrate sample can be determined online without chemical analysis of substrate samples.

Due to the development of online measurements methods like the NIRS, it is expected that the named process parameter can easily and economically be collected online. Assuming this online availability as a future state of the art, the mentioned parameters can be incorporated in the design of control strategies for the anaerobic digestion process. The Anaerobic Digestion Model No.1 (ADM1) first published by Batstone et al.^[7] was used for the development, adjustment and first evaluation of appropriate control strategies. Based on the results in this virtual laboratory, promising control strategies were then transferred to laboratory-scale digesters.

To investigate the capability of NIRS to meet the requirements of the developed control strategy operational experiments were conducted on two digesters. During the experiments chemical analyses were used for the operation of the control strategy while NIR spectra were recorded analogously. To especially include conditions at the limit of process stability the operation of one digester was intentionally set-up with higher risks. The final comparison of both measuring methods provides information about the applicability of NIRS for this purpose.

3 Materials and methods

3.1 Experimental setup

The experiments were carried out on two experimental

laboratory-scale biogas digesters of the biogas laboratory of the University Hohenheim. The digesters were operated at a thermophilic temperature of 52°C (digester 1) and at a mesophilic temperature of 41°C (digester 2). The feeding mixture consisted of 30 weight-% of cattle manure and 70 weight-% of maize silage referring on the fresh, undried material. The contents of dry matter (DM) and organic dry matter (ODM) were measured referring on the German industry standard DIN EN 12879 and DIN EN 12880^[8,9]. The horizontal lying digesters comprise a total volume of 452 L. Four hundred litres of this volume are the liquid working volume, while the rest of the volume remains for the gaseous phase. The heating of the digester by a surrounding external water circulation system ensures the required and constant operation temperature. Heat losses could be avoided through a thermal insulation around the digester. The feeding occurred through a hopper. The degraded digestate was emitted through a submersible overflow at the opposite end of the feeding hopper, thus maintaining a constant fermentation volume of 400 L.

Both digesters were stirred with a horizontal motor-driven paddle stirrer. The gas volume detection at digester 1 was performed with a bellows-type gas flow meter BK-G4 of the Elster GmbH (measurement range 40 – 6 000 L/h) with previous cooling of the biogas to 10°C. The gas volume at digester 2 was mainly recorded by a drum-type gas flow meter TG 1/5 of the Dr.-Ing. Ritter Apparatebau GmbH (measurement range 2-120 L/h) after water precipitation. Subsequent to the gas meters, the amount of gas was stored in gas bags. The gas was analysed in different time intervals from an automatic gas-collection system. From these records the gas composition could be derived. The gas amounts were converted to the standard reference conditions according to the German industry standard DIN 1343, with a standard temperature of 273.15 °K and a standard pressure of 1013.25 hPa^[10]. The gas composition was initially limited on CO₂ and methane (CH₄) summing up to 100%. During the further experiment the hydrogen concentration (H₂) was additionally included. The samples for the analysis of the process parameters were

drawn through a sampling tap before the feeding. The pH value was determined by a pH electrode SenTix 21 of the WTW Wissenschaftlich Technischen Werkstätten GmbH here. Either after a freezing storage at -21°C or directly after the sampling the samples were analysed via gas chromatography for all volatile fatty acids, including acetic acid, propionic acid, n- valeric acid, iso-valeric acid, n-butyric acid, iso-butyric acid and caproic acid. The frozen samples were defrosted in a refrigerator at 4°C overnight. For each sample the NIR spectra were recorded as well. From most of the samples the VFA, the TAC and the ratio of the VFA to the TAC value were determined via titration with the instrument “785 DMP Titrimo” of the German Metrohm GmbH & Co. KG (for more details please refer to the previous study^[11-13]).

3.2 Experimental operation

In preparation for the actual control experiments the digesters were run without the control mechanism to obtain operational data and to conduct the digesters to a defined steady operational state. During this period the model (NIRS) was calibrated and could consequently be used for the adjustment of the control strategy. After this adjustment, the operational experiment of the control strategy started. During the control operation of approximately one month the daily manual feeding was realized as exact as possible at the same time of day. The new daily amount of input was determined on the basis of the daily value of the CH₄ production.

3.3 Control strategy

As described by Löffler^[6], the developed control strategy consists of two hierarchical levels. The concept of different hierarchical levels is for example proposed and recommended in Expert systems in bioprocess control^[14]. A time discrete Proportional-Integral controller (PI controller) uses the daily CH₄ production to adjust the amount of a fix mixture of input material to the set-point of the CH₄ production (Figure 1). Derived from reports by Lunze and Ogunnaike^[15,16], the daily calculation of the amount of input (u(t)) is given in Equations (1) – (3).

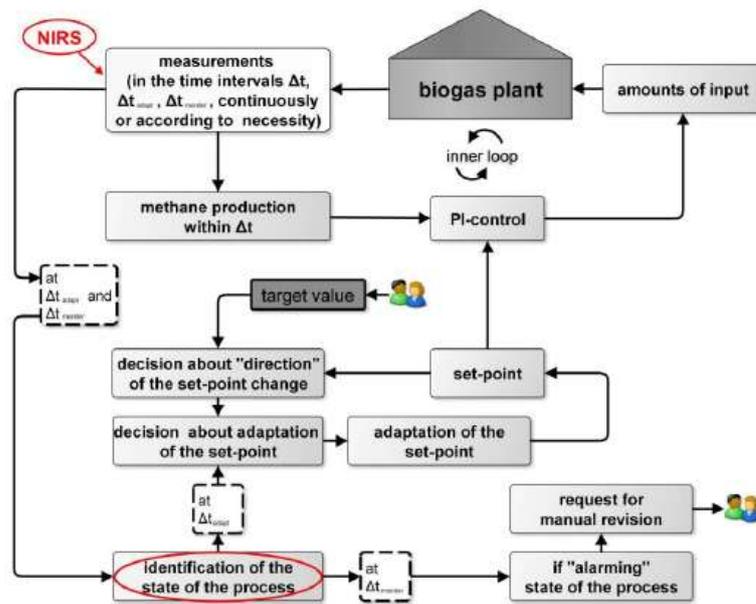


Figure 1 Schematic set-up of the control strategy taken and adapted from the reference^[6], reprinted with permission from DIV Deutscher Industrieverlag GmbH

While Equation (1) accounts for both digesters, Equation (2) represents the adjustment result of the PI-control for digester 1. Equation (3) respectively shows the daily calculation of $u(t)$ for digester 2.

$$\varepsilon(t) = \text{set-point}(t) - \text{CH}_4 \text{ production}(t) \quad (1)$$

$$u(t) = 2 \cdot 4.4/3 \cdot 10^{-6} \cdot \varepsilon(t) + 12 \cdot 4.4/3 \cdot 10^{-6} \cdot \Delta t \cdot \sum_{i=1}^t \varepsilon(t) \quad (2)$$

$$u(t) = 2 \cdot 6.9/3 \cdot 10^{-6} \cdot \varepsilon(t) + 12 \cdot 6.9/3 \cdot 10^{-6} \cdot \Delta t \cdot \sum_{i=1}^t \varepsilon(t) \quad (3)$$

As explained in the report^[6], the PI control as the inner loop working on a daily basis is guided and controlled by a superordinated knowledge-based part of the control system. Due to the complexity and nonlinearity of the anaerobic digestion process, the part of control strategy is needed to guarantee a secure operation of the inner loop. Within this part the identification of the state of the process constitutes the basis for the guidance of the inner loop and for subsequent reactions to states of the process which cannot be classified as “securely stable” anymore. NIRS measurements allow to online monitor process parameters indicating the state of the process.

This means the state of the process can also be identified at least daily. For the identification of the state of the process, a set of process parameters is used to

categorize the state of the process as “securely stable”, “acceptable”, “critical” or “alarming”. In case of an “alarming” state of the process, a request for manual revision by the operator is produced. The “adaptation matrix” as the decision-taking part of the control strategy is responsible to finally guide the process to the operator-defined target value of the CH₄ production. According to the state of the process and the target value, a decision about the adaptation of the set-point is taken here in fix time intervals (seven days here).

For the operation of the above mentioned digesters this part of the control strategy is executed every seven days while the step size for the set-point adaptation was adjusted to 50 L_N CH₄/d for digester 2 and with less focus on secure stability to 100 L_N CH₄/d for digester 1. The target values were set to 700 L_N CH₄/d for digester 2 and 900 L_N CH₄/d for digester 1. The organic loading rates at the beginning of the control operation were approximately 3.05 kg and 4.06 kg of organic dry matter per day and m³ of liquid-filled digester volume for digester 2 and digester 1, respectively, which means that the feeding to digester 2 comprised 1.8 L cow manure and 4.2 kg corn silage; while digester 1 was fed with 2.4 L cow manure and 5.6 kg corn silage (for further

details please refer to the previous study^[6]). As the secure identification of the state of the process and therefore as well sufficient online instrumentation are identified as key elements for successful automation of biogas plants the following demonstrations focus on these aspects. Hence, the background of the two main topics here (process control and NIRS measurements) is firstly commented more in detail. As proposed in the report^[6], the parameters included in the identification of the state of the process are the pH, concentrations of organic acids, their changing and their correlation among each other, the

concentration of long-chain fatty acids, the ratio of the VOA to the TAC, the concentration of free ammonia nitrogen, the dry solid content in the digester and the ratio of the control deviation $\varepsilon(t)$ to the set-point.

Table 1 gives the values of the process parameters for the categorization of the state of the process which are most relevant for the demonstrations here. All values refer to the above mentioned digesters operated with an input mixture of 70 weight-% of corn silage and 30 weight-% of cow manure. In case of different operational conditions the values may have to be adapted.

Table 1 Values of the process parameters for the categorization of the state of the process for the digester operated with an input mixture of corn silage and cow manure (taken and adapted from the report [6])

| Process parameter | "securely stable" | "acceptable" | "critical" | "alarming" |
|-------------------|--------------------------------------|--|--|--|
| VFA | < 1 500 mg HAC _{eq} /L | 1 500 – 2 500 mg HAC _{eq} /L | 2 500 – 4 500 mg HAC _{eq} /L | > 4 500 mg HAC _{eq} /L |
| ΔVFA | < 200 mg HAC _{eq} /(L*Week) | 200 – 1 000 mg HAC _{eq} /(L*Week) | 1 000 – 1 500 mg HAC _{eq} /(L*Week) | > 1 500 mg HAC _{eq} /(L*Week) |
| C _{ac} | < 1 500 mg _{ac} /L | 1 500 – 2 000 mg _{ac} /L | 2 000 – 3 000 mg _{ac} /L | > 3 000 mg _{ac} /L |
| ΔC _{ac} | < 150 mg _{ac} /(L*Week) | 150 – 400 mg _{ac} /(L*Week) | 400 – 1 000 mg _{ac} /(L*Week) | > 1 000 mg _{ac} /(L*Week) |
| C _{pro} | < 200 mg _{pro} /L | 200 – 400 mg _{pro} /L | 400 – 1 000 mg _{pro} /L | > 1 000 mg _{pro} /L |
| ΔC _{pro} | < 100 mg _{pro} /(L*Week) | 100 – 300 mg _{pro} /(L*Week) | 300 – 500 mg _{pro} /(L*Week) | > 500 mg _{pro} /(L*Week) |
| Ac./Prop. | > 2.5 | 2.5 – 2.0 | 2.0 – 1.5 | < 1.5 |
| VOA/TAC | < 0.4 | 0.4 – 0.5 | 0.5 – 0.6 | > 0.6 |

Note: VFA: sum of the concentrations of acetic, propionic, butyric and valeric acid in equivalents of acetic acid (HAC_{eq}); ΔVFA: change of the concentration of VFA within L week; C_{ac}: concentration of acetic acid; ΔC_{ac}: change of the concentration of acetic acid within L week; C_{pro}: concentration of propionic acid; ΔC_{pro}: change of the concentration of propionic acid within L week; Ac./Prop.: Ratio of acetic to propionic acid (mg HAC_{eq}/mg HAC_{eq}); VOA/TAC: ratio of the sum parameters VOA to TAC, which are both obtained by titration (see above).

Each measured parameter can consequently be assigned to a categorization of the state of the process. The worst categorization obtained, finally characterizes the overall state of the process.

3.4 Measurements with NIRS

The advantages of the NIR-measurement instrumentation in general are the online availability of the measured data and the general applicability of the measuring system. The measurements were performed on undestroyed raw material resulting in faster available results. Thereby the results can be used immediately after NIRS-calibration of the system without any pre-treatment of the samples.

The NIR measurement system comprises of a diode array spectrometer with 256 photo diode elements (for more details refer to Stockl (2012)^[11]). Through a 10 mm sapphire window in front of the sensor head the light of a wolfram halogen lamp shines on the digester

substrate. The reflected light is directed via an optical fiber into the spectrometer where it is evaluated. The data are stored in an external database. The measuring range extends from 960 nm to 1 700 nm.

The sensor is located in a by-pass pipeline system with an integrated pump. The total digester substrate is pumped twice per hour past the sensor. Simultaneously while recording the spectra substrate samples were drawn at a sampling tap located near the pipeline system. In order to avoid losses of the intensity of the lamp the sensor head was fitted with an integrated automatic dark (0% reflection) and white alignment (100% reflection). Each reflection adjustment was performed every hour and stored as reference in the database. NIRS-calibration models were developed on different parameters with multivariate data analysis^[17] and support vector machine

regression^[18,19].

In order to predict process parameters like the acid concentration or the VOA/TAC from the recorded NIR spectra a NIRS-calibration model is required. The NIRS-calibration model used here was developed based on a previous experimental operation of both digesters, which will briefly be described in the following. During this experimental operation shredded wheat was given to both digesters (digester 1 and digester 2) to increase the organic loading rate. In a period of twelve days both digesters were three times fed with shredded wheat. A wheat addition of each time 10 kg was realised at digester 1 (thermophilic) on the first the third and the eighth day of the experiment. Digester 2 (mesophilic) was fed on the same days but with 10, 5, and 2.5 kg of shredded wheat, respectively. Before the wheat addition both digesters were operated at an organic loading rate of 3 kg oDM/digester volume and day. During this time acid concentrations were hardly detectable.

The advantage of feeding the digesters with shredded wheat instead of maize silage is the faster increase of the

acid concentrations. However, the acids are reduced just as fast. Already after two days, respectively after five days, only low acid concentrations were detectable in the digester substrate by chemical analyses. With this experiment enough data could be obtained to develop the NIRS-calibration model.

With part of the data of this previous experiment NIRS-calibration models were developed for several process parameters. The different NIRS-calibration models for VFA, the ratio VOA/TAC, acetic acid and propionic acid were consequently performed with independent data. For the development of the NIRS-calibration models, some representative samples were selected from a total amount of 166 samples. To prevent overfitting the selection of the samples was first done by a limitation of the concentration span and then by choosing a few representative samples for each concentration level. Table 2 shows the quality of the NIRS-calibration models for digester 1 in common parameters. Due to the selection of the samples outliers are not listed in Table 2.

Table 2 Statistical parameters to evaluate the quality of the different NIRS-calibration models in the thermophilic operated digester (digester 1)

| | ¹ n | ² RMSECV | ³ RMSEC | ⁴ Range | ⁵ RER | ⁶ RPD | ⁷ C | ⁸ G |
|------------------|----------------|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| VFA | 59 | 0.40 | 0.26 | 0.75-5.49 | 11.92 | 3.27 | 14.1 | 0.0025 |
| C _{Ac} | 80 | 0.33 | 0.23 | 0.58-4.82 | 12.91 | 3.11 | 14.1 | 0.0025 |
| C _{pro} | 121 | 0.11 | 0.06 | 0.35-1.84 | 16.6 | 4.49 | 30.5 | 0.0055 |
| VOA/TAC | 67 | 0.06 | 0.05 | 0.26-0.96 | 11.61 | 3.17 | 14.1 | 0.0025 |

Note: ¹n=number of samples, ²RMSECV [g/kg]=root mean square error of prediction, ³RMSEC [g/kg]=root mean square error of calibration, ⁴Range [g/kg]=data spread, ⁵RER=ratio of data spread and standard error of prediction, ⁶RPD=ratio of standard deviation and standard error of prediction, ⁷C=penalty factor, ⁸G=balancing factor.

The quality of a NIRS-calibration model is expressed by the statistical parameters shown in Table 2. A low RMSECV value indicates a good quality of a NIRS-calibration model. A further criterion for assessing a model is the RER, which describes the prediction error based on the data range and is susceptible to outliers^[11]. RER should be as large as possible; a value over 10 represents a dimension for a suitable calibration^[20].

Williams and Sobering^[20] published that the RPD value over 3 is indicative of a good NIRS-calibration and for the prediction of particular samples. Every calibration model applied in this experiment used the

Gaussian radial basis function (RBF) as kernel function^[19,21-23]. An important aspect, which should not be neglected, is the right choice of the best three hyperparameters ϵ , C and G. The value of ϵ is fixed at 0.1 in the system by the software and both other parameters have to be found by trial and error. The C-value is described as a penalty parameter, and the G-value, as a compensation parameter^[24]. A higher C-value increases the training time for the data and reduces the prediction precision because the influence of the training errors is more strongly weighted. The G-value refers to the extent of the Gaussian function or bell curve in data distribution. There are no standard

values for these two parameters. Finding the best combination of these parameters constitutes a complex task, especially because it comprises the risk of large errors. Today there are software programs that calculate the best combination of these parameters^[25]. In the used software this automatic procedure was not yet implemented.

4 Results and discussion

The result of the experimental control operation on digester 2 is shown in Figure 2. As expected the CH₄ production always approaches the actual set-point within a range of fluctuation.

By the weekly adaptation of the set-point by the control strategy the process is step by step guided to the

final target value of 700 L_N CH₄/d, while the state of the process remains “securely stable” until the set-point reaches the target value. The control operation on digester 2 consequently represents a normal operation course without incidents.

To prove the appropriateness of the set values of the process categorization (Table 1) and to check the limits of this procedure, the information of the process categorization was ignored during the operation of digester 1. Besides the higher loading rate already at the beginning and the higher step size of Δ set-point of 100 L_N CH₄/d, this approach leads to increases of the organic loading even though it is not recommendable according to the state of the process. Analogically to Figure 2, the result of the operation of digester 1 is shown in Figure 3.

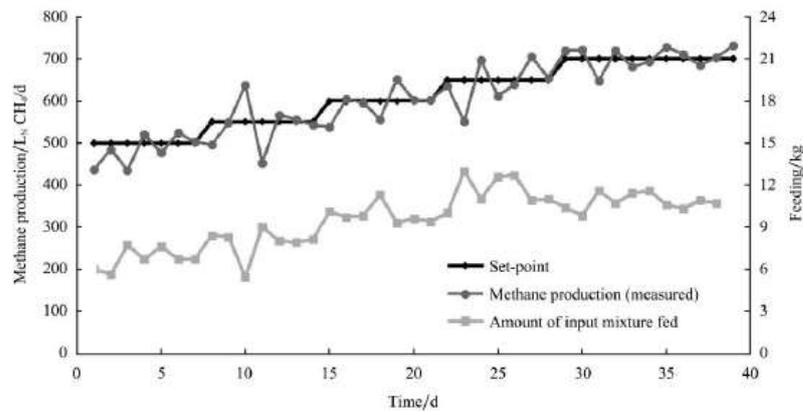


Figure 2 Experimental operation of the control strategy on digester 2 (taken and adapted from the reference [6], reprinted with permission from DIV Deutscher Industrieverlag GmbH)

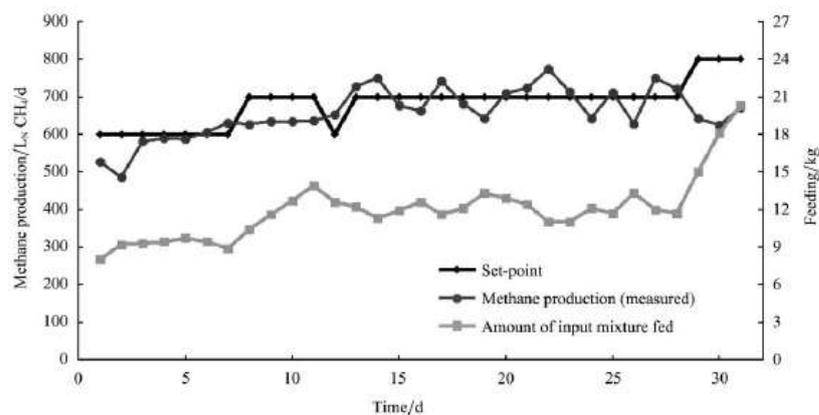


Figure 3 Experimental operation of the control strategy on digester 1 (taken and adapted from the reference [6], reprinted with permission from DIV Deutscher Industrieverlag GmbH)

As the actual set-point in the second week could not be reached even until the day 11 the set-point was reduced on the day 12 to prevent process failure. As the set-point was reached immediately after this intervention the set-point reduction was retracted on the following day. The following calculations change in comparison to an operation without this intervention but do not significantly influence statements about the identification of the state of the process.

In contrary to digester 2, the state of the process rapidly deteriorates from the initial category “acceptable”, especially due to disregarding the demands of the state of the process. This means ignoring the values given in Table 1 leads to instability of the process. Deeper

analyses as in [6] suggest that closer limits within the identification procedure of the state of the process are not required to prevent process failures in this case.

Table 3 shows the weekly characterization of the state of the process and the resulting suggestions for the adaptation of the set-point except for the day 28, where no relevant changes to the previous check on the day 21 occurred. During the operation the chemical analyses from the laboratory were used for the categorization procedure. To investigate if and how the NIRS measurements can be used for this purpose as well, the NIR spectra which were recorded during the experimental operation were afterwards analysed as well, leading to analogous results also presented in Table 3.

Table 3 Characterization of the state of the process for digester 1 based on chemical analyses from the laboratory and data obtained by NIRS (adapted and extended from the reference [6])

| process parameter | day 7 | | | | day 14 | | | | day 21 | | | |
|----------------------|------------|------------------|------------|--------------------|----------------|------------------|----------|--------------------|----------------|------------------|----------|--------------------|
| | LD | PS _{LD} | NIRS | PS _{NIRS} | LD | PS _{LD} | NIRS | PS _{NIRS} | LD | PS _{LD} | NIRS | PS _{NIRS} |
| VFA | 1589 | acc. | 1 892 | acc. | 2 595 | crit. | 2 081 | acc. | 2 664 | crit. | 2 488 | acc. |
| ΔVFA | -77 | stab. | - | - | 1 006 | crit. | 189 | stab. | 69 | stab. | 407 | acc. |
| C _{ac} | 1211 | stab. | 1 314 | stab. | 1 662 | acc. | 1560 | acc. | 1 688 | acc. | 1 686 | acc. |
| ΔC _{ac} | 25 | stab. | - | - | 451 | crit. | 246 | acc. | 26 | stab. | 126 | stab. |
| C _{pro} | 391 | acc. | - | - | 948 | crit. | 1 100 | al. | 1 005 | al. | 1 000 | al. |
| ΔC _{pro} | -152 | stab. | - | - | 557 | al. | - | - | 58 | stab. | -100 | stab. |
| Ac./prop. | 3.82 | stab. | - | - | 2.16 | acc. | 1.75 | crit. | 2.07 | acc. | 2.08 | acc. |
| VOA/TAC | 0.403 | acc. | 0.44 | acc. | 0.523 | crit. | 0.47 | acc. | 0.564 | crit. | 0.54 | crit. |
| overall PS | acceptable | | acceptable | | alarming | | alarming | | alarming | | alarming | |
| suggested Δset-point | ± 0 | | | | - 100 or f. s. | | | | - 100 or f. s. | | | |
| realized Δset-point | + 100 | | | | ± 0 | | | | ± 0 | | | |

Note: LD: laboratory data, chemical analyses; PS: state of the process; stab.: “securely stable”; acc.: “acceptable”; crit.: “critical”; al.: “alarming”; f. s.: further steps; grey: “decisive PS for the characterization of the overall PS”; Δset-points: given in L_N CH₄/d; Units of the parameters: As above in table 1.

The NIRS measurements were performed at the same three selected time points (see Table 3, day 7, day 14 and day 21) to verify the wet chemical analysis data. NIRS values over a period of 20 min at twelve o'clock noon were summarized to a mean value. To compare the NIRS mean values with the chemical analysed values the RMSECV (shown in Table 2, not equal for each parameter) has to be included.

The limits of the deviations of the estimated values to the values of the chemical analyses given as percentages change significantly when the RMSECV is included in the evaluation. The RMSECV is not further taken into consideration here, but should not be ignored. The NIRS determination of the concentration of the VFA in

comparison to the chemical analysis shows a discrepancy of 7% up to 37% in the worst case, while it ranges from 0.1% to 26% for the determination of the concentration of acetic acid. The determination of the concentration of propionic acid could not be achieved for the first date, because of missing data in the lower and the higher concentration range. However, the remaining two values show a good correlation with the chemical analysis with a discrepancy of 0.5% to 16%. The difference between the VOA/TAC values obtained with NIRS in comparison and the chemically analysed values vary between 4.3% and 29% in the worst case. Even though the differences given as percentages are high in some cases, the process categorization across all process

parameters results in the same categorization of the state of the process for the three days considered in Table 3.

Consequently the operational experiment of the control strategy would have resulted in the same results with NIRS measurements.

5 Conclusions

The operational control experiments showed that the control strategy itself can be used to securely guide the anaerobic digestion process to user-defined states of the process (digester 2). The categorization of the state of the process plays a key role within this control strategy to monitor, supervise and guide the process. NIRS allows to directly determining the concentrations of organic acids or the VOA/TAC online. Taking the whole process categorization into account the obtained accuracy (discrepancies of up to 37%) is regarded as sufficient for the process categorization. Moreover the results can be improved significantly with more appropriate NIRS-calibration models. This leads to the conclusion that the NIRS measurements can replace the cost- and time-intensive chemical analyses and provide online-measurements for the presented control strategy.

Acknowledgements

The authors thank the Ministry for Rural Areas and Consumer Protection of the federal state of Baden-Württemberg (Germany) and the Baden-Württemberg Foundation gGmbH for the financial support of the project within the "research platform on bioenergy".

Abbreviations

ADM1: Anaerobic Digestion Model No.1

DM: dry matter

NIRS: near-infrared-reflection spectroscopy

oDM: organic dry matter

PI controller: Proportional-Integral controller

RER: ratio of data spread and standard error of prediction

RMSEC: root mean square error of calibration

RMSECV: root mean square error of cross validation

RPD: ratio of standard deviation and standard error of prediction

TAC: buffer capacity determined by titration

VFA: volatile fatty acids, parameter representing the sum of the concentrations of single volatile fatty acids in equivalents of acetic acid (HAc_{eq})

VOA: sum parameter of the volatile organic acids determined by titration

[References]

- [1] Anonymous. Gesetz für den Vorrang Erneuerbarer Energien (Erneuerbare-Energien-Gesetz (EEG)) vom 25. Oktober 2008 (BGBl I S. 2074), das durch Artikel 2 Absatz 69 des Gesetzes vom 22. Dezember 2011 (BGBl I S. 3044) geändert worden ist.
- [2] Anonymous. Gesetz für den Vorrang Erneuerbarer Energien (Erneuerbare-Energien-Gesetz (EEG), konsolidierte (unverbindliche) Fassung des Gesetzestextes in der ab Januar 2012 geltenden Fassung), 2011 (Grundlage: des Deutschen Bundestages vom 30. Juni. BT-Drucksache 17/6071 und Beschluss des Deutschen Bundestages vom 30. Juni (BT-Drucksache 17/6363)).
- [3] Oechsner H, Lemmer A, Helffrich D. Use of verdure in agricultural biogas plants - a way to significant evaluation of turf growth. Einsatz von Grünut in landwirtschaftlichen Biogasanlagen - Ein Weg zur sinnvollen Verwertung von Rasenaufwuchs. *Rasen-Turf-Gazon*, 2003a; 34(2): 46-48.
- [4] Oechsner H, Lemmer A, Neuberg C. Energy crops as fermenting substrate in biogas plants. Feldfrüchte als Gärsubstrat in Biogasanlagen. *Landtechnik*, 2003b; 58(3): 146-147, 221.
- [5] Agency of Renewable Resources (FNR). Biogas Basisdaten Deutschland (Basical data of biogas Germany). 2010, Gülzow, available at: <http://www.bio-energie.de/biogas/biogasanlagen-in-deutschland/>.
- [6] Löffler D. Entwicklung einer Regelungsstrategie für den Anaerobprozess am Beispiel landwirtschaftlicher Biogasanlagen. Dissertation. ISBN: 978-3-8356-3352-0. In: *Stuttgarter Berichte zur Abfallwirtschaft*, 2012, Volume 105, Oldenbourg-Industrieverlag Munich. Dissertation, University of Stuttgart, Stuttgart.
- [7] Batstone D J, Keller J, Angelidaki I, Kalyuzhnyi S V, Pavlostathis S G, Rozzi A, et al. Anaerobic digestion model no.1 (ADM1), 2002, Scientific & technical report 13, IWA Publishing, London.
- [8] Charakterisierung von Schlämmen - Bestimmung des Glühverlustes der Trockenmasse, DIN EN 12879. Beuth Verlag GmbH, 2001a, (Deutsches Institut für Normung e.V. (DIN)).
- [9] Charakterisierung von Schlämmen - Bestimmung des

- Trockenrückstandes und des Wassergehalts, DIN EN 12880. Beuth Verlag GmbH, 2001b, (Deutsches Institut für Normung e.V. (DIN)).
- [10] (DIN) German Institute for Standardization. DIN 1343-Reference conditions, normal conditions, normal volume; concepts and values. 1990, German Standard.
- [11] Stockl A. Near infrared spectroscopic online monitoring of process stability in biogas plants. *Engineering in Life Sciences*, 2012; 12 (3): 295-305.
- [12] Rieger C, Weiland P. Prozessstörungen frühzeitig erkennen. *BIOGAS Journal*, 2006; (4): 18-20.
- [13] Lemmer A. Biogaserzeugung. In: Graf F, Bajohr S (Eds), *Biogas: Erzeugung, Aufbereitung, Einspeisung*, Oldenbourg, Munich, 2011, pp. 75-118.
- [14] Konstantinov K B, Aarts R, Yoshida T. Expert systems in bioprocess control: Requisite features, in: Fiechter, A., (Ed), *Bioprocess design and control, Advances in biochemical engineering, biotechnology*, Springer, Berlin, Heidelberg, 1993, volume 48, 169-191 p.
- [15] Lunze J. *Regelungstechnik 1: Systemtheoretische Grundlagen, Analyse und Entwurf einschleifiger Regelungen*, Springer-Lehrbuch, sixth rev. ed., Springer, Berlin, Heidelberg, 2007.
- [16] Ogunnaike B A, Ray W H. *Process dynamics, modeling, and control*, Oxford University Press, New York, 1994.
- [17] Kessler W. *Multivariate Datenanalyse für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik (Multivariate data analysis for pharma-, bio- and process analytics)*. Wiley-VCH, Weinheim, 2007.
- [18] Gunn S. Support vector machines for classification and regression. Technical report, Image Speech and Intelligent Systems Research Group, University of Southampton, 1998.
- [19] Cristianini N, Shawe-Taylor J. *An introduction to support vector machines and other kernel-based learning methods*. Cambridge University Press, UK, 2000.
- [20] Williams P C, Sobering D C. Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 1993; 1: 25-32.
- [21] Schölkopf B, Smola A J. *Learning with kernels*. MIT press, Cambridge, 2002.
- [22] Üstün B, Melssen W J, Buydens L M C. Facilitating the application of Support Vector Regression by using a universal Pearson VII function based kernel. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2006; 81(1): 29-40.
- [23] Üstün B, Melssen W J, Buydens L M C. Visualisation and interpretation of Support Vector Regression models. *Analytica Chimica Acta*, 2007; 595(1-2): 299-309.
- [24] Zhao C Y, Zhang H X, Zhang X Y, Liu M C, Hu Z D, Fan B T. Application of support vector machine (SVM) for prediction toxic activity of different data sets. *Toxicology*, 2006; 217(2-3): 105-119.
- [25] Witten F. *Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques*. Morgan Kaufmann Pub, 2005. Available at: <http://mestrado.deinfo.uepg.br/mestrado/docs/WittenFrank.pdf>.

7 GESAMTDISKUSSION

Die Gesamtdiskussion umfasst die Ergebnisse der Zielsetzung der vorliegenden Arbeit und greift Aspekte auf, die nicht in den drei Publikationen dargelegt wurden und diskutiert diese unter Einbeziehung weiterer Literaturstellen. Die Publikationen eins und zwei beschäftigen sich mit der Kalibration des NIR-Spektrometers, während Publikation drei das Gesamtprojekt mit der anschließenden Validierung und einer ersten Regelungsstrategie abrundet. Die einzelnen Publikationen sind unabhängig voneinander lesbar und beinhalten jeweils einen separaten Diskussionspart. Ziel der Gesamtdiskussion ist nicht die Rekapitulation der einzelnen Publikationen sondern die Darlegung der Grenzen und Möglichkeiten der Prozessüberwachung unter Berücksichtigung der erzielten Ergebnisse und die Herausarbeitung von kritischen Hintergrundbetrachtungen.

7.1 Auswahl des Messsystems

Grundlage des Projekts war die Weiterentwicklung und Erprobung eines Messsystems zur kontinuierlichen Überwachung des fermentativen Prozesses in NawaRo-Biogasanlagen, das im nahinfraroten Wellenlängenbereich Anwendung findet. Es gibt eine Vielzahl an unterschiedlichen NIR-Spektrometern auf dem Markt, die sich konzeptionell in der Anordnung der einzelnen Komponenten, im Aufbau und in der Messanordnung unterscheiden, sich jedoch im Messprinzip gleichen. In der vorliegenden Arbeit wurde ein Diodenzeilen-Spektrometer verwendet, welches mit drei Sensoren ausgestattet wurde, so dass die jeweiligen Messdaten über Lichtwellenleiter in das Spektrometer übertragen wurden. Die Verwendung von drei Sensoren an einem Spektrometer erforderte eine zyklische Umschaltung der Lichtwellenleiter, so dass die spektralen Daten jedes einzelnen Messkopfes in kurzen Zeitintervallen von 60 Sekunden nacheinander erfasst werden konnten. Der Einsatz von maximal bis zu vier Sensoren an dem genutzten Spektrometer wurde mittels eines Multiplexers sichergestellt. Ein Multiplexer ist ein hochsensibles Bauteil auf Basis eines Piezoelements. Während der Durchführung der Untersuchungen war die Funktionsfähigkeit des Multiplexers oft eingeschränkt. Durch zahlreiche Anregungen und Verbesserungsvorschläge während seiner Erprobung an der Universität Höhenheim konnte das Schaltsystem des Multiplexers seitens der Herstellerfirma überarbeitet und weiterentwickelt werden.

Die Handhabung des Messsystems stellte sich einfach und prägnant dar, da die unterschiedlich langen Lichtwellenleiter ein gutes Maß an Flexibilität gewährleisteten, so dass Messfehler ausgeschlossen werden konnten.

Der Sensor selbst ist gegenüber dem verwendeten säuregeprägten Medium sehr robust. Durch den steten Substratfluss vor dem Messfenster konnten auch bleibende Verschmutzungen am Saphirglas verhindert werden. Das Messsystem mit allen dargestellten Komponenten hat sich als praxistauglich und sehr empfehlenswert erwiesen, insbesondere bei der zeitgleichen Erfassung mehrerer Stoffströme.

7.2 Bestimmung der Sensorposition

Zu Beginn der experimentellen Phase war an jedem 400 Liter Fermenter jeweils ein Sensor direkt in der Fermenterwand installiert. Der Substrataustausch vor dem Sensor erfolgte über die Durchmischung des Substrates anhand eines Paddelrührwerkes, wobei das Rührpaddel direkt vor dem Sensor arbeitete und auf diese Weise für einen Stoffaustausch im Bereich des Sensors sorgte und somit eine gute Durchmischung des Substrates gewährleistete. Die Drehzahl des Rührwerks konnte variiert werden. Eine hohe Drehzahl bewirkte eine Erhöhung des Substratwechsels vor dem Sensor, wodurch eine Verbesserung der Kalibrationsergebnisse verzeichnet werden konnte. Als unvorteilhaft erwies sich, dass durch die hohe Drehzahl auch eine signifikant höhere Schaumbildung innerhalb des Fermenters verzeichnet werden musste. Mit dem Ziel den Substratwechsel vor dem Sensor dennoch zu erhöhen und somit die Messgenauigkeit weiter zu verbessern, wurden in einer Weiterentwicklung die Sensoren bei jedem Fermenter in einem Rohrleitungssystem mit Exzentrerschneckenpumpe platziert. Durch den Kreislauf einer Pumpe wurde das Substrat nun aus dem Fermenter gepumpt um dann am Sensor vorbeiführend wieder zurück in den Fermenter gepumpt zu werden. Die Kalibrationsergebnisse verbesserten sich in Folge der veränderten Sensorpositionierung signifikant, wie in Stockl (2012) detailliert dargestellt ist.

7.3 Selektion der Substrate

Die biozönotische Startkultur in den 400 Liter Fermentern bestanden zum einen aus Fermentersubstrat aus einer thermophil gefahrenen Biogasanlage (Vees, Eutingen/Weitingen), sowie aus Substrat aus der mesophil betriebenen Forschungsbiogasanlage der Universität Hohenheim (Versuchsstation Agrarwissenschaften Standort Lindenhöfe).

Die Fermenter wurden während der Erhaltungsphasen und während der Versuche der Publikationen eins und drei ausschließlich mit Maissilage und Flüssigmist bei einer Raumbelastung von 3 kg oTS pro m³ Fermentervolumen und Tag betrieben. Lediglich während der Versuche der dritten Publikation wurden die Fermenter mit schnell mikrobiell verfügbarem Weizenschrot versetzt.

Hintergrund der Monosubstratfütterung war ein Ansatz, bei welchem in den ersten Untersuchungen nur eine Variation möglichst weniger Parameter vorgenommen wurde, um das Messsystem optimal auf die primär im Fokus stehenden Konzentrationen an flüchtigen Fettsäuren kalibrieren zu können. Zur Erarbeitung eines globalen Kalibrationsmodells über mehrere Biogasanlagen hinweg stehen noch weitere Versuche aus, bei denen die Fermenter mit unterschiedlichen Energiepflanzen und Wirtschaftsdüngern gefüttert werden.

7.4 Probenhandling

Zur Erstellung verschiedener NIRS-Kalibrationen muss die Untersuchung einiger Hundert Proben durch ein Labor erfolgen. Meistens sind solche Untersuchungen unmittelbar nach der Probennahme nur schwer zu realisieren. Daher sollte in einem Vorversuch ermittelt werden, inwieweit der Fettsäuregehalt einer frischen Probe vom Fettsäuregehalt der gleichen Probe differiert, welche zunächst über eine Gefrierphase konserviert wurde. Dazu wurde beiden Fermentern 1,6 Liter Essigsäureessenz (25%ig) und 0,4 Liter Propionsäure (98%ig) zugegeben, um jeweils eine Zielkonzentration von 1000 mg/L Säurekonzentration im Fermenter zu erzielen. Nach erfolgter Durchmischung der Säuren mit dem Fermentersubstrat wurden in konstanten Zeitintervallen Proben (von jeweils ca. 500 ml) entnommen. Der Konzentrationsabbau der Säuren wurde über einen zweitägigen Versuchszeitraum dokumentiert. Die entnommenen 15 Proben des laufenden Versuchs wurden geteilt. Die eine Hälfte wurde sofort frisch im Labor analysiert, die andere Hälfte für ca. zwei Wochen bei -21 C tiefgefroren und erst danach in das Labor der Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie zur Analyse gebracht.

Das Ergebnis, das exemplarisch für den thermophilen Fermenter in Abbildung 15 dargestellt ist, zeigte eine nahezu vollständige Übereinstimmung des Fettsäurehalts, unabhängig von der Lagerungsvariante.

Beim Vergleich des Propionsäuregehaltes wurden geringe aber unbedeutende Konzentrationsabweichungen der beiden Probenbehandlungen gefunden. Da die Abweichungen weder besonders hoch, noch systematisch nachvollziehbar waren, wurden alle Fermenterproben folgender Versuche sofort nach der Entnahme bis zur Analyse hin eingefroren. Die Proben wurden später im Labor mittels Zweifachwiederholung gaschromatographisch auf alle flüchtigen Fettsäuren hin untersucht. Die jeweiligen Mittelwerte der Analysen gehen in die Modellentwicklung der Kalibration ein.

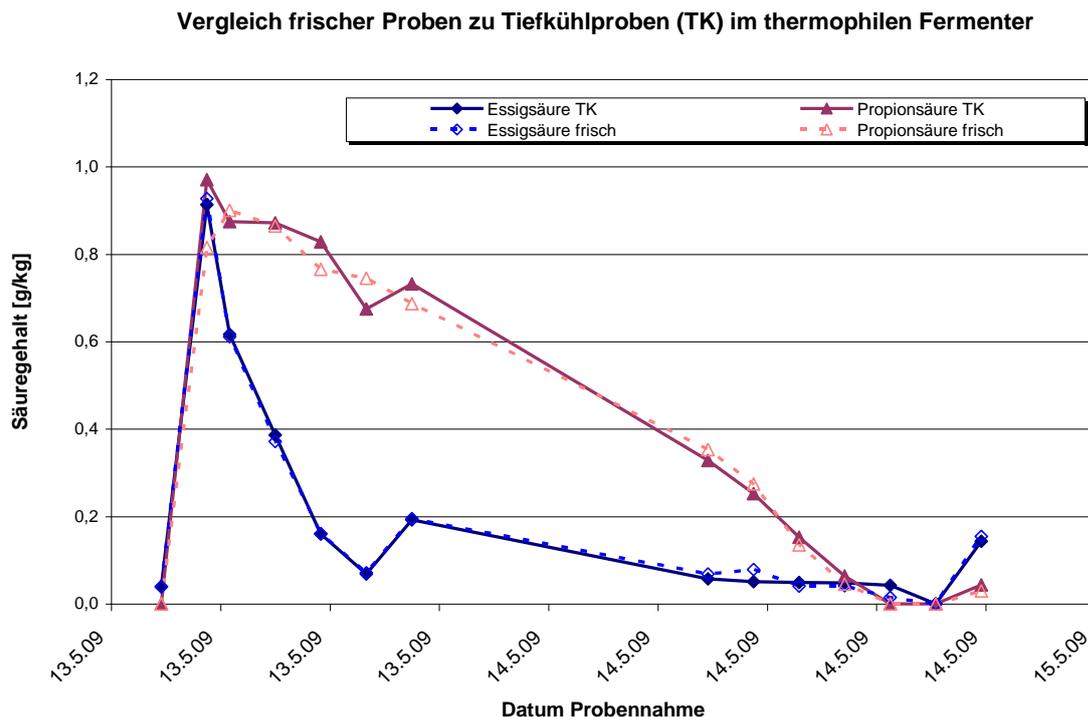


Abb. 16: Gehalt an flüchtigen Fettsäuren in frischen Substratproben im Vergleich zu Tiefkühlproben (TK) hier am Beispiel des thermophilen Fermenters

7.5 Prozessunterstützung im Arbeitsablauf

7.5.1 Interne Kalibrierung (Referenzierung) des Sensors

Die interne Kalibrierung im Messkopf erfolgte mit einem stündlichen, automatischen Weiß- und Schwarzabgleich, um so mögliche Signalverluste durch nachlassende Intensität der Leuchtmittel auszugleichen. Eine derartige Form der Referenzierung war im Vorfeld weder bekannt noch angewendet worden. Ohne integrierte Automation im Sensor hätte eine Referenzierung in kurzen Zeitabständen, bevorzugt einmal wöchentlich, manuell erfolgen müssen.

Dies hätte einen Ausbau des Sensors erfordert, so dass eine weiße und schwarze Referenzscheibe in konstant definiertem Abstand vom Sensor vermessen werden konnte. Der Arbeitsaufwand für den Ausbau wäre vergleichsweise gering gewesen, jedoch ist das regelmäßige Entfernen des Sensors in Kombination mit dem Hantieren am sensiblen Lichtwellenleiter nicht empfehlenswert.

7.5.2 Softwaregestützte Datenaufnahme

Nach Inbetriebnahme des Spektrometers wurden permanent Spektren (24 Stunden pro Tag, alle 200 ms ein Spektrum) aufgezeichnet und in eine externe Datenbank exportiert.

Diese automatisch gespeicherten Spektren können in einer späteren Validierung genutzt werden. Eine klare Unterscheidung der Validierspektren zu den spezifischen Kalibrierspektren ist unerlässlich. Kalibrierspektren sind Spektren, denen eine chemische Referenzanalyse zugeordnet wird. Diese Zuordnung kann manuell durch händisches Heraussuchen eines Spektrendatensatzes anhand des Datums und der fortlaufenden Zeit erfolgen, oder aber auf Knopfdruck durch Vergabe einer Identifizierungsnummer. Die Zuweisung der aufgezeichneten Spektren zu dem jeweils entnommenen Probenmaterial erfolgte in unseren Versuchen über die Vergabe eines Zeitstempels mit Eingabe einer fortlaufenden Probennummer im Messsystem. Die softwaregestützte vollautomatische Datenaufnahme mit Datenbankarchivierung war zu Beginn unserer Arbeiten einmalig und vereinfachte deutlich die spätere Selektion geeigneter Proben, bzw. Spektrendatensätze für einen Kalibrationsdatensatz.

7.5.3 Vergleich der mathematischen Verfahren zur Datenauswertung

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Auswertungssoftware sollte erstmals „Support Vector Machine Regression (SVMR)“ im Sektor Prozessdarstellung im Biogasbereich etablieren. Die Software beinhaltet eine Benutzeroberfläche, auch „Graphical User Interface“ (GUI) genannt und verschiedene Algorithmen, die verborgen im Hintergrund laufen. Abhängig von der Art der verwendeten Algorithmen können unterschiedlich viele Parameter über die GUI eingestellt werden. Vorteilhaft an SVMR ist, dass die hohe Komplexität ihrer Algorithmen in einer Blackbox untergebracht ist und vom Anwender nur wenige Einstellungen in der GUI gefordert werden.

Wahlmöglichkeiten bestanden in der Festlegung verschiedener Spektrenvorbehandlungen, Auswahl zweier Kernel-Parameter zur Festlegung der Trennschärfe der Hyperebene und die Bestimmung einzelner Wellenlängenbereiche. Die verwendeten mathematischen Verfahren (die Algorithmen) legen die Kriterien der Parameter fest. In der Benutzeroberfläche selbst werden lediglich die qualitativen Zuordnungen der Parameter eingestellt. Die GUI der SVMR erfordert im Vergleich zur Software anderer Gerätehersteller vom Benutzer nur minimale Parametrisierung zur Erstellung der Kalibrationsmodelle. Andere Benutzeroberflächen erfordern vom Anwender detaillierte Kenntnisse bezüglich einzelner manueller Schritte und zusätzliche Einstellungen, welche unzählige Kombinationsmöglichkeiten zulassen und die Bedienung dadurch erheblich erschweren. Das hohe Potenzial von SVMR liegt in der Lösung komplexer Problemstellungen im Vergleich zur üblichen Datenauswertung mit Hauptkomponentenanalyse und Partial Least Squares Regression (PLS-Regression), (Thissen, 2004 a und b), welche starken Limitierungen unterworfen ist.

Als Nachteil von SVMR ist jedoch die Möglichkeit des overfittings der Daten und die lange Laufzeit für das Training zu erwähnen (Swierenga, 2000). Eine Überanpassung des Kalibrationsmodells durch zu viele Proben an einzelnen Konzentrationsniveaus macht sich zudem in einer geringeren Allgemeingültigkeit des Modells bemerkbar.

7.6 Beurteilung des Messsystems im Allgemeinen

Eine explizite Bewertung der Datenauswertung mit der eingesetzten Software auf Basis von „Support Vector Machine Regression“ kann lediglich in Bezug auf die extrem gute Handhabung der Benutzeroberfläche (GUI) getroffen werden. Da die Implementierung der verwendeten Software hardwarespezifisch an das Spektrometer und die eigene Datenbankarchivierung geknüpft ist, können Vergleiche mit anderen Datenauswertungen nicht ohne größeren Programmieraufwand angestellt werden. Die Ergebnisse der verwendeten TENIRS Software könnten mit einer geräteunabhängigen Software beispielsweise mit „The Unscrambler“ verifiziert werden. Dazu müssten allerdings komplett neue Kalibrationsmodelle mit den bereits vorliegenden spektral vermessenen Datensätzen und den Referenzanalysen entwickelt und validiert werden. Erst danach wäre eine Beurteilung der hier verwendeten Methode aussagekräftig. Die von uns erbrachten Ergebnisse und Erfahrungen weisen auf deutliche Schwachstellen der Software der Firma TENIRS hin.

Aufgrund der Firmeninsolvenz von TENIRS im Jahr 2010 und der Übernahme durch die Firma m-u-t konnte die Software keine Weiterentwicklung durchlaufen. Die Ausarbeitung qualitativ hochwertiger Kalibrationsmodelle war problemlos möglich und spiegelt das hohe Potenzial von SVMR wider. Diverse Diskrepanzen zwischen Ergebnissen der Kalibrierung und der Validierung konnten eruiert und behoben werden. Dennoch waren teilweise nicht nachvollziehbare Resultate in der Validierung der Kalibrationsmodelle zu verzeichnen, welche auf Schwachstellen in der Software hinweisen. Einfache Tests zur Beurteilung der Plausibilität des angewendeten Verfahrens führten in einigen Fällen keineswegs zu verwertbaren Ergebnissen. Zwar konnte in Einzelfällen eine zufriedenstellende Validierung erbracht werden (siehe Publikation drei), jedoch sind verlässliche und konsistente Validierungen ohne Überarbeitung der Software nur schwer zu gewährleisten. Bei einer Weiterverwendung des Messsystems empfiehlt es sich, auf „The Unscrambler“ umzustellen.

7.7 Vergleich eigener Ergebnisse zu Literaturangaben

Die unterschiedliche Wiedergabe der Güte eines Kalibrationsmodells verschiedenartiger Regressionsanalysen erschwert den Vergleich literaturbezogener Arbeiten. Jacobi et al. (2009), Holm-Nielsen et al. (2007), und Lomborg et al. (2009) verwendeten in ihren thematisch ähnlichen Untersuchungen zur Prozessdarstellung in Biogasanlagen differierende Messanordnungen, Gärsubstrate und Validierungsmethoden. Allen gemeinsam jedoch ist die chemometrische Datenauswertung mit Hauptkomponentenanalyse (PCA) und PLS-Regression (Partial Least Squares), im Unterschied zur eigenen Datenauswertung mit SVMR. Dennoch können die Arbeiten unter Einbeziehung des RPD-Wertes zur Einschätzung der eigenen Ergebnisse herangezogen werden. Der RPD beschreibt die Leistungsfähigkeit unterschiedlicher Schätzfunktionen unabhängig von den zugrundeliegenden Messgrößen. Er ist einheitenlos wie das Bestimmtheitsmaß R^2 und daher über mehrere Merkmale vergleichbar. Je größer der RPD-Wert ist, desto geeigneter ist eine Kalibration für die Vorhersage der entsprechenden Proben. Williams und Sobering (1993) haben eine entsprechende Vorhersageleistung für den RPD-Wert erarbeitet. Ein RPD-Wert von 2 bis 3 ist für ein grobes Screening gut geeignet, wohingegen RPD-Werte deutlich über 3 bezeichnend für eine gute Kalibration sind (Tab. 11).

Tab. 11: RPD-Vorhersageleistung – Einordnung nach Qualität (Williams und Sobering, 1993)

| | |
|---------|--|
| 0 – 2 | Nicht ausreichend |
| 2 – 3 | Für eine Orientierung (Screening) teilweise geeignet |
| 3 – 5 | Zufriedenstellend |
| 5 – 10 | Gut bis sehr gut |
| Über 10 | Exzellent |

In Tabelle 12 sind die Kalibrationsmodelle aus den drei Publikationen im Vergleich zu den Modellen von Jacobi, Holm-Nielsen und Lomborg aufgelistet. Es ist ersichtlich, dass die RPD-Werte konsistent über die drei Publikationen nahe dem Wert „drei“ liegen, in den meisten Fällen sogar deutlich höher sind.

Die RPD-Werte des Parameters Essigsäureäquivalent, nach Zugabe von Propionat, spiegeln für beide Temperaturbereiche der Fermenter (mesophil und thermophil betrieben) sehr gute Kalibrationsmodelle mit Werten über „fünf“ wider. Die statistischen Parameter zur Beurteilung der Güte der Kalibrationsmodelle liegen im Vergleich zu den anderen Arbeiten deutlich über dem Schnitt und sind ausreichend für eine robuste und valide Bestimmung neuen Probenmaterials.

Tab. 12: Statistische Parameter zum Vergleich der Güte unterschiedlicher Kalibrationsmodelle nach Literaturangaben (Jacobi 2009, ergänzt mit eigenen Daten)

| Parameter | Quelle | | n | Ausreißer | RMSEP ^{a,*} RMSECV ^{b,*} | Datenbereich* | RPD |
|---------------------------|---|-----------------|------------------------|------------------|---|---------------|------------------|
| Essigsäure- äquivalent | eigene Ergebnisse thermophil Acetat (2012) | Publ. 1 (ELS) | 157 | 15 | ^b 1,02 | 0,99-10,52 | 3,08 |
| | eigene Ergebnisse mesophil Acetat (2012) | Publ. 1 (ELS) | 110 | 7 | ^b 0,61 | 0,87-10,54 | 4,90 |
| | eigene Ergebnisse thermophil Propionat (2012) | Publ. 1 (ELS) | 133 | 10 | ^b 0,36 | 0,50-6,90 | 5,45 |
| | eigene Ergebnisse mesophil Propionat (2012) | Publ. 1 (ELS) | 115 | 18 | ^b 0,38 | 0,34-7,28 | 5,76 |
| | eigene Ergebnisse thermophil Weizenschrot (2013) | Publ. 2 (n.v.) | 166 | \$k.A. | ^b 0,98 | 0,75-13,10 | 3,75 |
| | eigene Ergebnisse mesophil Weizenschrot (2013) | Publ. 2 (n.v.) | 115 | \$k.A. | ^b 0,64 | 3,83-13,44 | 3,44 |
| | eigene Ergebnisse thermophil Validierung (2013) | Publ. 3 (IJABE) | 59 | k.A. | ^b 0,40 | 0,75-5,49 | 3,27 |
| | Jacobi (2009) | | 131 [†] | 12 | ^a 0,82 | 0,31-10,20 | 4,11 |
| | Holm-Nielsen <i>et al.</i> (2007) | | 45 [†] | 14 | ^a 0,20 | 0,05-3,78 | 4,3 [‡] |
| | Lomborg <i>et al.</i> (2009) | | 40/40 ^{§,¶,†} | 2/3 [§] | ^a 1,59 | 1,30-22,30 | 3,1 |

| Parameter | Quelle | | n | Ausreißer | RMSEP ^{a,*} RMSECV ^{b,*} | Datenbereich* | RPD |
|-----------------------|---|-----------------|----------------------|------------------|---|-------------------|------|
| Essigsäure- gehalt | eigene Ergebnisse thermophil (2012) | Publ. 1 (ELS) | 157 | 15 | ^b 1,03 | 0,54-10,49 | 3,21 |
| | eigene Ergebnisse mesophil (2012) | Publ. 1 (ELS) | 110 | 7 | ^b 0,61 | 0,87-10,49 | 4,91 |
| | eigene Ergebnisse thermophil Weizenschrot (2013) | Publ. 2 (n.v.) | 166 | \$k.A. | ^b 0,62 | 0,41-7,61 | 3,45 |
| | eigene Ergebnisse mesophil Weizenschrot (2013) | Publ. 2 (n.v.) | 115 | \$k.A. | ^b 0,43 | 1,65-6,57 | 2,74 |
| | eigene Ergebnisse thermophil Validierung (2013) | Publ. 3 (IJABE) | 59 | k.A. | ^b 0,33 | 0,75-5,49 | 3,27 |
| | Jacobi (2009) | | 130 [†] | 13 | ^a 0,27 | 0,07-3,08 | 1,81 |
| | Holm-Nielsen <i>et al.</i> (2007) | | 42 [†] | 14 | ^a 0,23 | 0,04-2,91 | 3,1 |
| | Lomborg <i>et al.</i> (2009) | | 40/40 ^{§.†} | 2/5 [§] | ^a 0,91 | 1-13 [†] | 3,1 |

| Parameter | Quelle | | n | Ausreißer | RMSEP ^{a,*} RMSECV ^{b,*} | Datenbereich* | RPD |
|-------------------------|---|-----------------|------------------------|------------------|---|--------------------|------|
| Propion- säuregehalt | eigene Ergebnisse thermophil (2012) | Publ. 1 (ELS) | 133 | 13 | ^b 0,35 | 0,40-4,80 | 4,23 |
| | eigene Ergebnisse mesophil (2012) | Publ. 1 (ELS) | 115 | 23 | ^b 0,22 | 0,26-3,32 | 4,78 |
| | eigene Ergebnisse thermophil Weizenschrot (2013) | Publ. 2 (n.v.) | 166 | \$k.A. | ^b 0,21 | 0,02-2,67 | 2,97 |
| | eigene Ergebnisse mesophil Weizenschrot (2013) | Publ. 2 (n.v.) | 115 | \$k.A. | ^b 0,17 | 0,79-2,87 | 2,96 |
| | eigene Ergebnisse thermophil Validierung (2013) | Publ. 3 (IJABE) | 121 | k.A. | ^b 0,11 | 0,35-1,84 | 4,49 |
| | Jacobi (2009) | | 99 [†] | 2 | ^a 0,87 | 0,01-7,47 | 2,89 |
| | Holm-Nielsen <i>et al.</i> (2007) | | 43 [†] | 20 | k.A. | 0,00-0,55 | k.A. |
| | Lomborg <i>et al.</i> (2009) | | 40/40 ^{§,¶,†} | 1/3 [§] | ^a 0,21 | 0-6,2 [¶] | 3,4 |

n=Probenanzahl, * Einheit: g/kg Frischmasse, † in der Kalibration enthalten, ‡ Berechnet nach Angaben in der Publikation, § Kalibrierung/Validierung, ¶ nicht präzise angegeben, k.A. keine Angabe, \$k.A. keine Angabe, Teilung des Datensatzes, RMSEP=root mean square error of prediction, RMSECV= root mean square error of (full) cross validation, Publ.=Publikation, n.v.=nicht veröffentlicht, ELS=Engineering in Life Sciences, IJABE=International Journal of Agricultural and Biological Engineering

7.8 Abschließende Beurteilung

Die NIR-Spektroskopie stützt sich einerseits auf die Entwicklung guter Kalibrationsmodelle und andererseits auf eine profunde Validierung dieser Modelle an externen Proben. Insgesamt konnten mit dem verwendeten NIR-Messsystem hervorragende Ergebnisse bis zur Kalibrationsentwicklung hin erzielt werden. Die ungeklärten Diskrepanzen in den Validierungen sind ein hinreichendes Indiz für eine unausgereifte und möglicherweise fehlerbehaftete Software. Trotz der geschilderten Schwierigkeiten ist es gelungen, das Gesamtprojekt zu einem zufriedenstellenden Abschluss zu bringen. Mit der erfolgreichen Prozesseinstufung über die NIR Messdaten (dritte Publikation) konnte im Ansatz gezeigt werden, dass sich die NIR-Spektroskopie durchaus für die Überwachung des Vergärungsprozesses in einer Biogasanlage eignet. Abschließend muss jedoch angemerkt werden, dass noch weitere Untersuchungen erforderlich sind, bevor das System ohne Forschungsbegleitung in der Praxis zur Anwendung kommen kann.

8 LITERATURVERZEICHNIS

- Bayern Biogas Forum (2010): Prozessmodell Biogas. http://www.biogas-forum-bayern.de/publikationen/Prozessmodell_Biogas.pdf
- Burges, C.J.C. (1998): A Tutorial on Support Vector Machines for Pattern Recognition, Data Mining and Knowledge Discovery, 2 (2), 121-167.
- Buschmann A; Lemmer A (2010): Biogas-Analytik: Prozessbiologische Überwachung in Fermentern. (Accessed: 20.06. 2012), http://www.metrohm.de/export/Homepages/metrohm.de/Branchen/_Downloads/SD_221_Biogasanalytik_web.pdf.
- C.A.R.M.E.N. e.V. Definition Nachwachsende Rohstoffe, <http://www.carmen-ev.de/dt/hintergrund/nawaros.html>
- Cristianini, N., Shawe-Taylor, J. (2000): An Introduction to Support Vector Machines and other kernel-based learning methods, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Deutsches Institut für Normung (Hrsg.): Strahlungsphysik im optischen Bereich und Lichttechnik; Benennung der Wellenlängenbereiche. In: DIN. 5031 Teil 7, 1984-01
- DIN 38414 S2 (1985): Bestimmung des Wassergehaltes und des Trockenrückstandes bzw. der Trockensubstanz (S2). Deutsches Institut für Normung e.V. (Hrsg.), Beuth Verlag, Berlin.
- DIN 38414 S3 (1985): Bestimmung des Glührückstandes und des Glühverlustes der Trockenmasse eines Schlammes. Deutsches Institut für Normung e.V. (Hrsg.), Beuth Verlag, Berlin.
- EEG (2012): Gesetz für den Vorrang Erneuerbarer Energien http://www.clearingstelle-eeg.de/files/EEG2012_juris_120817.pdf
- FNR (2011): Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.: Einsatz von Hilfsmitteln zur Steigerung der Effizienz und Stabilität des Biogasprozesses. Gölzower Fachgespräche, Band 35, (Accessed: 19.05. 2012), http://mediathek.fnr.de/downloadable/download/sample/sample_id/388/.

- Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR) (2012): Biogas Basisdaten Deutschland. Gülzow, <http://www.bio-energie.de/biogas/biogasanlagen-in-deutschland/>.
http://mediathek.fnr.de/media/downloadable/files/samples/b/i/biogas_2012_c_web_1.pdf
- Fachverband-Biogas (2011): Biogas Branchenzahlen 2011 und Branchenentwicklung 2012/2013.
[http://www.biogas.org/edcom/webfvb.nsf/id/DE_Branchenzahlen/\\$file/12-06-01_Biogas%20Branchenzahlen%202011-2012-2013.pdf](http://www.biogas.org/edcom/webfvb.nsf/id/DE_Branchenzahlen/$file/12-06-01_Biogas%20Branchenzahlen%202011-2012-2013.pdf)
- Frank, H. (2005): Wikimedia Commons, lizenziert unter GNU-Lizenz für freie Dokumentation.
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Electromagnetic_spectrum_sRGB.svg?uselang=de
- Gronauer, A., Effenberger, M. (2007): Sicherung der Prozessstabilität in landwirtschaftlichen Biogasanlagen. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), (Accessed: 23.05. 2012),
http://www.lfl.bayern.de/publikationen/daten/informationen/p_27459.pdf.
- Gunn, S.R. (1997): Support Vector Machines for Classification and Regression, Technical report, Image Speech and Intelligent Systems Research Group, University of Southampton.
- Holm-Nielsen, J.B., Andree, H., Lindorfer, H., Esbensen, K.H. (2007): Transflexive embedded near infrared monitoring for key process intermediates in anaerobic digestion/biogas production. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 15, 123-135.
- Jahn, A. (2003): Zerebrale Nahinfrarotspektroskopie bei Neugeborenen: Eine Untersuchung mit dem „CRITIKONTM 2020 Cerebral RedOx Monitor“, Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg (Kinderklinik und Poliklinik), Inaugural-Dissertation Universität Würzburg.
- Jöbsis, F.F. (1977): Noninvasive, Infrared Monitoring of Cerebral and Myocardial Oxygen Sufficiency and Circulatory Parameters. In: *Science*. 198, Nr. 4323, S. 1264–1267, doi:10.1126/science.929199.
- Kouli, M. (2001): Experimentelle Untersuchungen zur nicht invasiven Bestimmung des zerebralen Blutflusses beim erwachsenen Menschen mit Hilfe der Nahinfrarot-Spektroskopie, Dissertation, Technische Universität München.

- Lansche, J., Müller, J. (2012): Life cycle assessment of energy generation of biogas fed combined heat and power plants: Environmental impact of different agricultural substrates. *Eng. Life Sci.*, 12, 313–320.
- Jacobi, H.F., Moschner, C.R., Hartung, E. (2009): Use of near infrared spectroscopy in monitoring of volatile fatty acids in anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, 60, 339-346.
- Kusch, S. (2006): Methanisierung stapelbarer Biomassen in diskontinuierlich betriebenen Feststofffermentationsanlagen. Diss, Landesanstalt für Landwirtschaftliches Maschinen- und Bauwesen, Universität Hohenheim, 214 pp.
- Leible, L., Kälber, S., Kappler, G., Hurtig, O., Fürniß, B. (2010): Bereitstellung von Biogas und thermochemisch erzeugtem Rohgas zur Produktion von Erdgas-Substitut (SNG). *Chemie Ingenieur Technik* 82, 9, S. 1596-1597
- Lemmer, A. (2011): Biogaserzeugung. In: *Biogas-Erzeugung-Aufbereitung-Einspeisung* (S. Bajohr, F. Graf eds), pp 75-118. Oldenbourg Industrieverlag, Munich.
- Lomborg, C.J., Holm-Nielsen, J.B., Oleskowicz-Popiel, P., Esbensen, K.H. (2009): Near infrared and acoustic chemometrics monitoring of volatile fatty acids and dry matter during co-digestion of manure and maize silage. *Bioresource Technology*, 100, 1711-1719.
- Mann, S. (1998): *Nachwachsende Rohstoffe*, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
- Maurer, C., Müller, J. (2012): Ammonia (NH₃) emissions during drying of untreated and dewatered biogas digestate in a hybrid waste-heat/solar dryer. *Eng. Life Sci.*, 12, 321–326.
- Nägele, H.-J., Lemmer, A. (2012): Assessing the Electric Power requirement of a Biogas CHP unit and thermal energy demand of digesters – conducting intensive measurements. *Proceedings of the Congress: “Progress in Biogas II” 2011, IBBK*, 262–267.
- Oechsner, H., Lemmer, A., Preissler, D., Zielonka, S. (2011): Die Hydrolysephase bei der Vergärung nachwachsender Rohstoffe - Führt sie zur Effizienzsteigerung? In: *Gülzower Fachgespräche*, pp 299-313.
- Oechsner, H., Lemmer, A., Neuberg, C. (2003): Feldfrüchte als Gärsubstrat in Biogasanlagen. *Landtechnik* 58; 3; S. 146-147.

- Ogawa, M., Yamakoshi, Y., Satho, M., Nogawa, M. et al. (2007): Support Vector Machines as Multivariate Calibration Model for Prediction of Blood Glucose Concentration Using New-invasive Optical Method Named Pulse Glucometry, 29th Annual International Conference of IEEE-EMBS, Engineering in Medicine and Biology Society, 4561-4563.
- Schloz, D.; Schroeder Caldas, U., Pelz, S. (2012): Innovative Process of gaining efficient fertilizers from digestates. Intern. Congress Progress in Biogas II, University of Hohenheim, 30th of March – 1st of April 2011, Congress Proceedings, ISBN 9783940706027.
- Schölkopf, Smola, A.J. (2002): Learning with Kernels, MIT press, Cambridge.
- Stockl, A., (2012): Near infrared spectroscopic online monitoring of process stability in biogas plants. Engineering in Life Sciences 12 (3), 295-305.
- Swierenga, H., Wülfert, F., de Noord, O.E., de Weijer, A.P., Smilde, A.K., Buydens, L.M.C. (2000): Development of Robust Calibration Models in Near Infra-Red Spectrometric Applications, Anal. Chim. Acta, 411 (1-2), 121-135 DOI: 10.1016/S0003-2670(00)00718-2.
- Thissen, U., Pepers, M., Üstün, B., Melssen, W.J., Buydens, L.M.C. (2004 a): Comparing Support Vector Machines to PLS for Spectral Regression Applications, Chemometrics Intellig. Lab. Syst. 2004, 73 (2), 169-179 DOI: 10.1016/j.chemolab.2004.01.002.
- Thissen, U., Üstün, B., Melsseit, W.J., Buydens, L.M.C. (2004 b): Multivariate Calibration with Least-Squares Support Vector Machines, Anal. Chem., 76 (11), 3099-3105.
- Thomas, B., Wyndorps, A. (2012): Efficiencies and emissions of a 192kWel Otto engine CHP-unit running on biogas at the research station “Unterer Lindenhof”. Eng. Life Sci., 12, 306–312.
- Vapnik, V. (1995): The Nature of Statistical Learning Theory, Springer-Verlag, New York, USA.
- VDLUFA (2003): Die Anwendung der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) bei der Untersuchung von Futtermitteln und pflanzlichen Produkten. Fachgruppe VI Futtermittel. <http://www.vdlufa.de/joomla/Dokumente/Standpunkte/07-nirs.pdf>.
- Williams, P. C., Sobering, D. C. (1993): Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. J. Near Infrared Spectrosc., 1, 25–32.

Wünsch, K. (2011): Pflanzenbauliche Konzeption der Bereitstellung von Biomasse zur Produktion biogener Gase in Baden-Württemberg, Dissertation, Institut für Kulturpflanzenwissenschaften, Fachgebiet Allgemeiner Pflanzenbau, Universität Hohenheim.

DANKSAGUNG

Der vorliegenden Arbeit liegen Untersuchungen zugrunde, die ich als Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Universität Hohenheim im Rahmen des Forschungsprojekts „Entwicklung und Erprobung eines innovativen Online-Messsystems für NawaRo-Biogasanlagen auf Basis der Nah-Infrarot-Reflexionspektroskopie (NIRS)“ durchführte. Dieses Projekt war in die Bioenergieforschungsplattform Baden-Württemberg eingebunden und wurde durch das Ministerium für Ländlichen Raum und Verbraucherschutz (Baden-Württemberg), mit Mitteln der Baden-Württemberg Stiftung gGmbH gefördert. An dieser Stelle möchte ich mich für diese Unterstützung bedanken. Herrn Ernst Berg gilt hier besonderer Dank, ebenso allen Projektpartnern und allen Beteiligten für die gute Zusammenarbeit und die interessanten Gespräche im Rahmen der Statusseminare. Ein herzliches Dankeschön an meinen Kooperationspartner Daniel Löffler vom Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte und Abfallwirtschaft (ISWA) der Universität Stuttgart für die gute persönliche Zusammenarbeit und seine unerschöpfliche Geduld während unserer gemeinsamen Versuchsphase.

Ich bedanke mich bei Herrn Professor Dr. Thomas Jungbluth für die Annahme als Doktorandin am Institut für Agrartechnik der Universität Hohenheim, für die Überlassung des Themas und die ständige Gesprächsbereitschaft und die Betreuung der Arbeit. Herrn Prof. Dr. Martin Kranert danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens und Herrn Prof. Dr. Hans-Peter Piepho für die Bereitschaft, die Funktion des dritten Prüfers zu übernehmen. Mein besonderer Dank gilt Dr. Hans Oechsner, Leiter der Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie (Baden-Württemberg), für die fachliche Betreuung im Bereich Biogas, für seine wertvollen Anregungen und das Gewähren des Freiraums der eigenverantwortlichen Durchführung des Projektes.

Natürlich möchte ich mich auch bei allen Mitarbeitern/innen der Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie und des Instituts für Agrartechnik, die zum Erfolg dieses Projektes beigetragen haben, bedanken.

Ein ganz großes Dankeschön dabei an Annette Buschmann, Monika Tomalla und Sarah Kus für die gewissenhafte Untersuchung unzähliger Substratproben sowie die zuverlässige Bewältigung weiterer umfangreicher Laborarbeiten.

Dank auch an die Wissenschaftlichen Hilfskräfte für die verlässliche Bearbeitung der ausgiebigen Aufgaben im Biogaslabor, insbesondere an Frau Anna-Maria Eid. Die Mitarbeiter der Messtechnik und der Werkstatt waren mir eine wertvolle Hilfe in allen Belangen der Technik und der Logistik für das Biogaslabor.

Besonderer Dank gilt Herrn Christof Serve-Rieckmann für einen anregenden Gedankenaustausch und die Unterstützung der wissenschaftlichen Arbeit. Margit Andratschke danke ich für ihre sonnige, freundliche Art und die engagierte Führung des Sekretariats. Herzlichen Dank an meine Kollegen Friedericke Hahn, Anca Vintiloiu, Hans-Joachim Nägele, Simon Zielonka und Andreas Lemmer für die fortwährende Gesprächsbereitschaft, die gute Atmosphäre und das freundschaftliche Arbeitsumfeld.

Mein herzlichster Dank gilt meiner Familie, meinem Mann Martin Stockl für die langen fachlichen Diskussionen mit konstruktiven Vorschlägen und Anregungen, sowie meinen beiden Kindern Adrian und Alina für ihre Liebe und meiner Schwester Beate Neuschaefer für ihre moralische Unterstützung und Aufmunterung in schwierigen Phasen.

Berglern, Dezember 2013

Andrea Stockl