

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Rohstoff- und Energietechnologie

Anaerobe Hydrolyse und Methanisierung fester, flüssiger und pastöser organischer
Produktionsrückstände aus Brauereien

Thomas Herfellner

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung,
Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen
Grades eines

Doktor-Ingenieurs

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender:

Univ.-Prof. Dr. H.-Chr. Langowski

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. M. Faulstich
2. Priv.-Doz. Dr. W. Ruß
3. Hon.-Prof. Dr. H. M. Eßlinger
(Technische Universität Bergakademie Freiberg)

Die Dissertation wurde am 25.11.2010 bei der Technischen Universität München eingereicht und
durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
am 12.05.2011 angenommen.

Danksagung

Diese Arbeit entstand während meiner Tätigkeiten als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Wissenschaftszentrum Weihenstephan der TU München. In dieser Zeit wurde der Lehrstuhl, an dem ich diese Arbeit begonnen habe, neu organisiert. Für die Umsetzung und Durchführung dieser Arbeit möchte ich an dieser Stelle folgenden Personen danken:

Meinem Doktorvater, Herrn **Univ.-Prof. Dr.-Ing. Martin Faulstich** für die Möglichkeit, meine Tätigkeiten an seinem Lehrstuhl für Rohstoff- und Energietechnologie fortzuführen sowie für die wissenschaftliche Betreuung meiner Arbeiten.

Herrn **Priv.-Doz. Dr.-Ing. Winfried Ruß**, der an der Entwicklung der Idee zu dieser Arbeit beteiligt war und sich bereiterklärte an der Prüfung mitzuwirken.

Herrn **Hon.-Prof. Dr.-Ing. Michael Eßlinger** für die Mitwirkung an der Prüfung.

Herrn **Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Horst-Christian Langowski** für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes.

Herrn **Univ.-Prof. i. R. Dr.-Ing. Roland Meyer-Pittroff**, für die Möglichkeit meine Arbeit an seinem Lehrstuhl (Energie- und Umwelttechnik der Lebensmittelindustrie) zu beginnen.

Der Wissenschaftsförderung der deutschen Brauwirtschaft e.V. (insbesondere Frau Dr. Erika Hinzmann) für die Förderung des Forschungsprojektes „Verweilzeitverkürzung bei der anaeroben Fermentation von Biertreber“.

Herrn Dr.-Ing. Dominik Antoni für die gemeinsame Entwicklung einer Methode zur gaschromatischen Bestimmung von kurzketigen Fettsäuren und Lösungsmitteln. Herrn Dipl.-Ing. Gunther Pesta und Herrn Dipl.-Ing. Günther Bochmann, die mir bei manchem Problem beratend zur Seite standen.

Meinen Diplomanden/Masteranden Herrn Christoph Nophut, Herrn Andreas Habegger und Frau Eva Schlichter, meinen Semestranden Herrn Georg Bertram, Herrn Korbinian Tomschi, Frau Barbara Dagner und Frau Rebecca Pfisterer, die durch ihre Arbeiten die Grundlagen für diese Arbeit schufen. Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Wolfgang Sontheim und Frau Kerstin Schwanitz, die mich als studentische Hilfskraft unterstützten.

Bei allen meinen ehemaligen Kollegen vom Lehrstuhl für Energie- und Umwelttechnik sowie meinen Kollegen vom Lehrstuhl für Rohstoff- und Energietechnologie, die mir ein angenehmes Arbeitsklima ermöglichten.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, für die fortwährende Unterstützung und meiner Ehefrau Veronika.

Freising, 24.11.2010

Thomas Herfellner

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	8
1 Einleitung	9
1.1 Problemstellung	9
1.2 Zielsetzung der Arbeit.....	11
2 Biochemische und verfahrenstechnische Grundlagen.....	14
2.1 Eigenschaften und Zusammensetzung von Brauereireststoffen	14
2.1.1 Der Brauprozess	14
2.1.2 Treber.....	15
2.1.3 Trubstoffe	21
2.1.4 Hefe	22
2.1.5 Abwasser	23
2.2 Anaerober Abbau organischer Substrate	23
2.2.1 Hydrolyse	24
2.2.2 Acidogenese.....	31
2.2.3 Acetogenese.....	36
2.2.4 Methanogenese	40
2.2.5 Einflussfaktoren auf den anaeroben Abbauprozess.....	45
2.3 Fermentationsprozesse.....	50
2.3.1 Fermentationsparameter	50
2.3.2 Batch-Fermentation	52
2.3.3 Kontinuierliche Fermentation.....	53
2.4 Reaktortechnik	55
2.4.1 Rührkesselreaktor	55
2.4.2 Festbettreaktor	56
2.4.3 UASB-Reaktor	58

3	Stand des Wissens: Anaerobe Fermentation von Brauereireststoffen..	61
3.1	Anaerobe Fermentation von organischen Brauereireststoffen	61
3.1.1	Brauereiabwasser	61
3.1.2	Biertreber	64
3.1.3	Trubstoffe, Hefe.....	64
3.1.4	Flüssige Hydrolyseabläufe	65
3.2	Vorbehandlungsmethoden für lignozellulosehaltige Substrate.....	65
3.2.1	Mechanische Zerkleinerung	66
3.2.2	Saure Vorbehandlung	66
3.2.3	Alkalische Vorbehandlung	67
3.2.4	Thermischer Aufschluss	67
3.2.5	Thermo-chemische Verfahren	69
3.2.6	Chemisch-mechanische Vorbehandlung	70
3.2.7	Enzymatische Vorbehandlung.....	70
3.2.8	Enzyme als Fermentationsadditiv.....	72
3.2.9	Sonstige Vorbehandlungsmethoden	73
3.3	Fazit	74
4	Material und Methoden	76
4.1	Analytik	76
4.1.1	Analytik der Flüssigphasen	76
4.1.2	Analytik der Gasphasen.....	81
4.1.3	Analytik der Feststoffphasen.....	83
4.2	Eingesetzte Substrate	84
4.2.1	Biertreber	84
4.2.2	Brauereiabwasser.....	84
4.2.3	Misch-Enzympräparat	85
4.2.4	Inokuli.....	85

4.3	Versuchsaufbau und -durchführung	86
4.3.1	Verwendete Fermenter	86
4.3.2	Versuchsdurchführung.....	91
5	Optimierung der Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber durch Enzymadditivierung	94
5.1	Einfluss der Substratverweilzeit und Raumbelastung	94
5.1.1	Einfluss auf die Versäuerungsleistung	94
5.1.2	Einfluss auf den chemischen Sauerstoffbedarf.....	97
5.1.3	Einfluss auf pH-Wert und Ammoniumbildung	98
5.1.4	Einfluss auf die Produktivität	99
5.1.5	Einfluss auf die Abbaugrade	100
5.2	Einfluss des Enzymeinsatzes	101
5.2.1	Einfluss auf die Versäuerungsleistung	101
5.2.2	Einfluss auf den chemischen Sauerstoffbedarf.....	103
5.2.3	Einfluss auf pH-Wert und Ammoniumbildung	104
5.2.4	Einfluss auf die Produktivität	104
5.2.5	Einfluss auf die Abbaugrade	105
5.2.6	Einfluss auf die Methanisierbarkeit.....	107
6	Hydrolyse und Versäuerung von Treber und Trubstoffen	110
6.1	Fermentation verschiedener Treberarten	110
6.1.1	Einfluss der Treberart auf die Produktbildung	111
6.1.2	Einfluss der Treberart auf die Produktivität	114
6.2	Fermentation von Trubstoffen	116
6.2.1	Einfluß der Trubkonzentration auf die Produktbildung	116
6.2.2	Einfluß der Trubkonzentration auf die Produktivität	120

7	Zweistufige Vergärung von Treber und Brauereiabwasser	122
7.1	Bereitstellung von Gerstentreber-Hydrolysat.....	122
7.2	Methanisierung des Hydrolyсата im Festbettreaktor.....	124
7.2.1	Einfluss der Hydrolysatzugabe auf die Fettsäureabbaugrade.....	125
7.2.2	Einfluss der Hydrolysatzugabe auf die CSB-Abbaugrade	127
7.2.3	Einfluss der Hydrolysatzugabe auf den pH-Verlauf.....	128
7.2.4	Einfluß der Hydrolysatzugabe auf die Ammoniumkonzentration.....	129
7.2.5	Einfluss der Hydrolysatzugabe auf die Gasbildung	130
7.2.6	Einfluss der Hydrolysatzugabe auf die Gaszusammensetzung	132
8	Schlußfolgerungen und Ausblick.....	134
9	Literatur	143
	Abkürzungen	150
	Abbildungsverzeichnis	152
	Tabellenverzeichnis	157

Kurzfassung

Die anaerobe Fermentation organischer Substrate zur Bereitstellung des erneuerbaren Energieträgers Biomethan ist eine in der Agrarindustrie weit verbreitete Technologie. Auch in der Lebensmittelindustrie wird dieses Verfahren zur Aufreinigung von Abwässern erfolgreich eingesetzt und ist damit Stand der Technik. Speziell für Brauereien bietet diese Technologie die Möglichkeit sämtliche organische Reststoffe, die sich in ihrer Konsistenz und Zusammensetzung erheblich unterscheiden, energetisch zu verwerten und damit Energiekosten zu senken. Problematisch stellt sich jedoch der Abbau der in der Biomasse (z.B. Treber) enthaltenen Lignozellulose dar. Aufgrund deren schlechten mikrobiologischen Abbaubarkeit, sind lange Substratverweilzeiten die Folge. Um die Investitionskosten zu senken und die Anlagengrößen zu minimieren wurden verschiedene Methoden untersucht, um Lignozellulose in einem geeigneten Verfahren aufzuschließen und dadurch die Bioverfügbarkeit zu erhöhen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zunächst der Einsatz eines biotechnologisch hergestellten Enzymsubstrates zur Intensivierung der Hydrolyse polymerer Substratbestandteile untersucht. Es konnte nachgewiesen werden, dass der Zusatz von Enzymen den Abbaugrad an organischer Trockensubstanz steigert. Durch die im Vergleich zur rein mikrobiologischen Hydrolyse und Versäuerung vorteilhaften Fettsäurezusammensetzung im anfallenden Hydrolysat, wird eine stabile nachfolgende Methanisierung des Hydrolysats ermöglicht. Auch bei kurzen Substratverweilzeiten (fünf Tage) in der Hydrolyse- und Versäuerungsphase, können hohe Abbauraten von mehr als 50 % garantiert werden. Als nachteilig stellte sich die dafür benötigte Enzymmenge heraus, die die Wirtschaftlichkeit des Enzymeinsatzes in Frage stellt.

Erstmals wurde in dieser Arbeit die Vergärbarkeit von unterschiedlichen Treberfraktionen und von Trubstoffen erfolgreich nachgewiesen. Dabei wurde festgestellt, dass die Treberart keinen Einfluß auf die Versäuerungsleistung hat. Trubstoffe können in Konzentrationen von bis zu 15 Mass.-% (bezogen auf die Trebermasse) in eine Hydrolysestufe von Trebern zudosiert werden. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurde eine kontinuierliche zweistufige Vergärungsanlage zur kombinierten Verwertung von flüssigen und festen Brauereireststoffen in Betrieb genommen. Im Labormaßstab wurde ein stabiler Fermentationsverlauf mit hohen Gaserträgen (3,5 l/g CSB/l*d) und Methangehalten von 58 Vol.-% erreicht. Zu befürchtende Hemmwirkungen aufgrund des aus dem Eiweißabbau resultierenden Ammoniumstickstoffes, konnten nicht beobachtet werden.

1 Einleitung

Die weltweite **Klimaerwärmung** beruht vorrangig auf der Emission von Gasen und Partikeln, die bei der Förderung, dem Transport, der Verarbeitung und der Verbrennung von fossilen Rohstoffen freigesetzt werden (STERN, 2006). Der fortschreitende Klimawandel lässt den Klimaschutz zu einem der meist beachteten Themen der Umweltpolitik werden. Eine wirksame **Klimaschutzpolitik** ist nur durch eine deutliche Verminderung der Emissionen von Treibhausgasen zu realisieren. Mögliche Instrumente dafür sind eine Steigerung der **Energieeffizienz** und der **Ersatz fossiler durch erneuerbare Energieträger**. Deshalb plant die Europäische Union den Anteil an erneuerbaren Energien am Primärenergieeinsatz bis zum Jahre 2020 auf 20 % zu erhöhen (FAULSTICH, 2007 & FAULSTICH, 2008).

Neben Windenergie, Solarthermie oder Photovoltaik bietet die Nutzung von **Biomasse** aus ökologischer Sicht vielfältige Chancen zur Energieerzeugung und Schonung der zunehmend knapper werdenden fossilen Energieträger. Verglichen mit anderen Energieträgern bietet Biomasse die Möglichkeit, feste, flüssige und gasförmige Energieträger zur Verfügung zu stellen. Mit Biomasse sind im Gegensatz zu anderen erneuerbaren Energien alle Energieformen (Wärme, Strom und Kraftstoffe) substituierbar (FAULSTICH, 2007).

Mögliche, für die Energieerzeugung nutzbare Biomasseformen, sind **biogene Reststoffe** und **nachwachsende Rohstoffe**. Jährlich fallen in der Forst- und Holzwirtschaft, Landwirtschaft, Tierkörperbeseitigung, Lebensmittelindustrie (speziell in der **Brauindustrie**), hohe Reststoffmengen mit einem enormen energetischen Potenzial an. Dies wird vor allem an der jährlichen in deutschen Brauereien anfallenden Naßtrebermenge von rund 2 Mio. Tonnen deutlich. Es gilt Wege zu finden, das Potenzial von Produktionsreststoffen sinnvoll zu nutzen.

1.1 Problemstellung

Entsorgungsproblematik

Die Entsorgung bzw. bisherige stoffliche Verwertung fester und pastöser organischer Reststoffe stellt für Brauereien aufgrund **hoher Entsorgungskosten** bzw. **Schwankungen an möglichen Absatzmärkten** ein zunehmendes Problem dar. Die **Deponierung** von Biertreber ist nicht möglich, da der dafür zulässige maximale Gehalt an organischer Trockensubstanz (5 %, bezogen auf den gesamten Trockensubstanzgehalt) überschritten wird. Treber wären unter diesen Gesichtspunkten als Sondermüll zu betrachten. Die Entsorgung ist dadurch mit sehr hohen Kosten verbunden. Die Verwertung von Biertreber als **Futtermittel** ist derzeit noch weitgehend gesichert. Die Erlöse durch die Abgabe von Trebern an die Futtermittelindustrie sind in Abhängigkeit von der regionalen Situation jedoch rückläufig. Dieser Entsorgungsweg wird aufgrund neuer Futtermittelverordnungen, der Konkurrenz zu hochwertigen anderen Futtermitteln und abnehmender Tierbestände in Zukunft eingeschränkt.

Überschuss- und Gelägerhefe kann ebenfalls als Futtermittel an landwirtschaftliche Betriebe abgegeben werden. Hierbei sind jedoch langfristig ähnliche Probleme zu erwarten wie bei Biertreber. Aus diesen Gründen sind andere Verwertungswege zu entwickeln.

Stoffliche Verwertungswege

Aufgrund der stofflichen Zusammensetzung sind Biertreber für die **Kompostierung** grundsätzlich geeignet. Wegen langer Verweilzeiten und erheblicher Emissionsprobleme ist die Kompostierung jedoch nur eingeschränkt sinnvoll.

Die stoffliche Verwertung von Trebern in der **Baustoff- oder Backwarenindustrie** ist ebenfalls möglich. Jedoch stellt dieser Verwertungsweg nur ein geringes Absatzpotenzial dar (RUß et al., 2004).

Eine weitere stoffliche Verwertungsmöglichkeit von Biertreber stellt das Verfahren der **Treberfraktionierung** (vgl. ISHIWAKI et al., 2000) dar. Hierbei werden die Fraktionen Fasern (Spelzen), Proteine und Flüssigkeit voneinander getrennt und einzeln verwertet. Die Wirtschaftlichkeit soll neben der Bereitstellung von thermischer Energie bei der Verbrennung der Fasern auch durch den Verkauf von Treberprotein gegeben sein. Die Marktpreise dafür orientieren sich an jenen von Sojamehl, welches auf dem Weltmarkt jedoch kostengünstig zur Verfügung steht.

Energetische Verwertungswege

Der hohe Energiegehalt der organischen Brauereiabfälle lässt im Hinblick auf die Verknüpfung von Energie- und Umwelttechnik energetische Verwertungsmöglichkeiten von Brauereireststoffen immer interessanter werden. Zur Diskussion stehen dabei die Treberverbrennung sowie die anaerobe Fermentation zu Biogas.

Bei der **Treberverbrennung** werden Biertreber in einem Kessel zur Prozessdampferzeugung verbrannt. Die **Vortrocknung** der Treber erfolgt mechanisch über Pressen auf einen für die Verbrennung geforderten Wassergehalt von unter 60 %. Da das restliche Wasser der Treber in der Feuerung verdampft wird und dafür die Verdampfungswärme aufgewendet werden muss, reduziert sich der Heizwert. Die Pressen neigen zur Verstopfung, so dass die kontinuierliche Trebervorentwässerung Schwierigkeiten bereiten kann. Negativ für die Energiebilanz stellt sich der Energieeinsatz für mechanische Pressen dar. Zudem gestaltet sich die Reinigung des bei der Verbrennung freiwerdenden **Rauchgases** problematisch. Eine ausreichende Entstickung und Entstaubung des Rauchgases ist im Hinblick auf die TA Luft nur durch eine aufwendige, kosten- und energieintensive zweistufige Rauchgasreinigung zu erreichen. Der Verbrennungsvorgang ist aufgrund der Materialbeschaffenheit und des hohen Wassergehalts technisch schwierig durchführbar und der Ascheanfall hoch.

Die **anaerobe Fermentation** stellt die zweite Möglichkeit zur energetischen Verwertung von festen organischen Reststoffen dar (NISHIO et al., 2007 & VIÉITEZ et al., 1999). Diese Technik wird bereits zur Behandlung und Aufbereitung von Abwasser in vielen Brauereien erfolgreich eingesetzt. Bei der Vergärung von festen organischen Stoffen treten, im Vergleich zur Vergärung von Abwasser, aufgrund der chemischen Zusammensetzung Probleme auf. Vor allem der hohe Anteil an Lignozellulose bei Biertreber ist durch die Mikroflora nur schwer abzubauen. Für den Aufschluss lignozellulosehaltiger Substrate wurden verschiedene **Vorbehandlungsmethoden** mit unterschiedlichem Erfolg untersucht, um die Verfügbarkeit für die Mikroorganismen zu erhöhen.

1.2 Zielsetzung der Arbeit

Die anaerobe Fermentation ist für die Verwertung fester, flüssiger und pastöser Reststoffe ein geeignetes Verfahren. Die Toleranzbereiche hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung der Substrate sind hoch, d.h. es sind grundsätzlich sämtliche organische Produktionsrückstände einer Brauerei geeignet. Im Vordergrund steht dabei die Beschleunigung des anaeroben Abbaus des schwerabbaubaren Treberinhaltsstoffes Lignozellulose. Lignozellulose ist ein Verbund aus mikrobiologisch abbaubarer Zellulose und Hemizellulose und dem nicht fermentierbaren Lignin. Ohne Vorbehandlung ist für den Abbau dieses Verbundes eine Verweilzeit von mehreren Wochen nötig. In den Arbeiten von MÖLLER (1992), BEHMEL (1993) und KRETSCHMER (1997) wurde die Vergärung von Biertreber im Hinblick auf geeignete Vorbehandlungsmethoden untersucht. Deren Erkenntnisse werden im Rahmen dieser Arbeit im Hinblick auf folgende Themen weiterentwickelt.

Der **enzymatische Aufschluss** von Lignozellulose stellt eine Möglichkeit dar, die **Bioverfügbarkeit** des organischen Substrates zu erhöhen. Der Enzymeinsatz hat gegenüber anderen Vorbehandlungsmethoden den Vorteil, dass der Chemikalieneinsatz gering gehalten wird. Zudem sind keine hohen Prozesstemperaturen oder -drücke nötig. Jedoch ist derzeit für einen effektiven und wirtschaftlichen Aufschluss der Lignozellulosematrix der Enzymeinsatz hoch. Der Enzymeinsatz im Rahmen dieser Arbeit erfolgt nicht in einer vorangehenden Aufschlussstufe, sondern erstmals als **Fermentationsadditiv** während der anaeroben Fermentation. Im Vergleich zu einer vorgeschalteten Aufschlussstufe können der apparative Aufwand sowie Kosten für Betriebsmittel gesenkt werden. Durch die Enzymadditivierung sollen die Enzymaktivität während der Hydrolyse- und Versäuerungsstufe gesteigert und die mikrobiellen Abbauraten erhöht werden. Des Weiteren wird die Zielgröße **Substratverweilzeit** optimiert. Im Bezug auf die Enzymadditivierung werden folgende Fragestellungen untersucht.

- 1) Einfluß eines Mischenzymsubstrates als Fermentationsadditiv auf die Verflüssigung polymerer Treberbestandteile während der Hydrolyse- und Versäuerungsphase.
- 2) Einfluß des Mischenzymsubstrates als Fermentationsadditiv auf die Versäuerungsleistung der Mikroorganismen während der Hydrolyse- und Versäuerungsphase.
- 3) Einfluß des Mischenzymsubstrat als Fermentationsadditiv auf den Fermentationsverlauf während der Hydrolyse- und Versäuerungsphase.
- 4) Einfluß des Mischenzymsubstrates als Fermentationsadditiv während der Hydrolyse und Versäuerungsphase auf eine nachfolgende Methanisierung.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist es, die **Vergärbarkeit weiterer Reststofffraktionen** wie **Trubstoffe** oder **unterschiedliche Treberarten** zu untersuchen. Der Schwerpunkt der bisherigen Forschungsarbeiten lag auf der Fermentation von Gerstentreber. Weitere Reststoffe wurden nicht oder nur sehr unzureichend untersucht. Deshalb werden in dieser Arbeit die Auswirkungen des Einsatzes verschiedener Treberarten auf die Hydrolyse- und Versäuerungsqualität festzustellen. Des Weiteren wird die Hydrolysierbarkeit von Treber-Trub-Mischungen untersucht. Die hierbei zu beantwortenden Fragestellungen lauten:

- 5) Einfluß der Treberart Einfluss auf die Hydrolyse- und Versäuerungsqualität.
- 6) Einfluß der Zudosierung von Trubstoffen als Co-Substrat bei der Hydrolyse und Versäuerung von Biertrebern.

In bisherigen Forschungsarbeiten wurden zweistufige Fermentationsversuche ausschließlich mit Gerstentreber durchgeführt. Für die Hydrolyse- und Versäuerungsstufe wurden dabei Rührkesselreaktoren eingesetzt. Dafür wurden Treber mit Wasser vermischt, um die Pumpfähigkeit und Rührbarkeit zu gewährleisten. Das abschließende Ziel dieser Arbeit ist die **zweistufige Fermentation** von Gerstentreber und Brauereiabwasser zu untersuchen. Die Verwendung von Brauereiabwasser hat den Vorteil bisher verwendetes Anmischwasser zu substituieren und gleichzeitig den beträchtlichen Abwasserstrom aus Brauereien in einem kombinierten Verfahren zu verwerten. Daraus lässt sich folgende Fragestellung ableiten:

- 7) Einfluß der Substrate Brauereiabwasser und Gerstentreberhydrolysat auf die Methanfermentation.

2 Biochemische und verfahrenstechnische Grundlagen

2.1 Eigenschaften und Zusammensetzung von Brauereireststoffen

2.1.1 Der Brauprozess

Die **Bierherstellung** gliedert sich in verschiedene Produktionsschritte. Zunächst wird Weizen- und/oder Gerstenmalz **geschrotet**. Dabei fällt Malzstaub an. Das geschrotete Malz wird mit vorgewärmtem Brauwasser **vermaischt**, um die im Getreidekorn enthaltenen Inhaltsstoffe durch Enzymaktivität zu lösen (Gewinnung des Extraktes). Die dadurch entstehenden Mono- und Oligosaccharide werden später für die alkoholische Gärung benötigt. Nach der **Abtrennung der Biotreber** im Läuterbottich oder Maischefilter wird die Extraktlösung (Würze) um etwa 5 Vol.-% eingedampft, um die gewünschte Konzentration von vergärbaren Inhaltsstoffen (Einstellung des Stammwürzegehalts) zu erhalten, die Malzenzyme weitgehend zu inaktivieren und unerwünschte Inhalts- und Geschmacksstoffe auszutreiben (z.B. Dimethylsulfid). Nach der Hopfenzugabe werden noch enthaltene grobe Trubstoffe (während der **Würzekochung** koaguliertes Protein) im Whirlpool abgetrennt. Anschließend wird die Würze abgekühlt und auf die Anstelltemperatur für die nachfolgende **alkoholische Gärung** von 4 – 8 °C gebracht. Während der Würzekühlung fällt Kühltrub aus. Für die Gärung wird Hefe zugegeben, die am Ende der Gärung als Überschuss- und Gelägerhefe zunächst separiert wird und vor der **Abfüllung** durch **Filtration** entfernt wird. Für die Bierfiltration wird vorwiegend Kieselgur als Filtrierhilfsmittel verwendet. Etiketten werden in der Flaschenreinigungsmaschine vom Leergut gelöst und abgeführt (KUNZE, 2007 & NARZIB, 2004).

Das Reststoffaufkommen während der Bierherstellung ist in Tabelle 2.1 dargestellt:

Tab. 2.1: *Spezifisches Reststoffaufkommen während der Bierherstellung (BEHMEL, 1993; NARZIB, 2004 & HACKENSELLNER, 2001)*

Produktionsreststoff	Produktionsschritt	Menge in kg/hl VB
Malzstaub	Schroten	0,05 – 0,25
Treber	Maischen	16,0 – 20,0
Heißtrub	Würzekochung	0,8 – 1,6
Kühltrub	Würzekühlung	0,3 – 0,6
Überschußhefe/Geläger	alkoholische Gärung	2,0 – 2,6
Kieselgur	Filtration	0,65
Papier/Etiketten	Flaschenreinigung	0,30
Abwasser	allgemein	250 - 600

Im Folgenden werden die für die anaerobe Fermentation relevanten Reststoffe näher beschrieben.

2.1.2 Treber

Einer der Grundrohstoffe für die Bierherstellung ist **Gersten-** und/oder **Weizenmalz**. Während des Maischens wird die im Malz enthaltene Stärke durch Enzymaktivität abgebaut. Somit werden **Biertreber** als die beim Maischverfahren nicht in Lösung gegangenen Fraktionen des Malzes bezeichnet. Die chemische Zusammensetzung der Treber hängt vom Brauverfahren, der Art des produzierten Bieres und dem eingesetzten Getreide ab.

Tab. 2.2: Durchschnittliche Zusammensetzung der verwendeten Treber in Mass.-% der Trockensubstanz (MÖLLER, 1992; BEHMEL, 1993, SANTOS et al., 2003, NARZIB, 2004 & MUSATTO et al., 2006)

		Gerstentreber	Gersten-/Weizen-Treber
leicht abbaubare Fraktionen	Eiweiß	20 - 28	20 - 28
	Fett	8 - 18	8 - 18
	Stärke	0,8 - 1,0	0,6 - 1,0
schwer/ nicht abbaubare Fraktionen	Hemizellulose	25 - 30	35 - 40
	Zellulose	18 - 20	14 - 16
	Lignin	8 - 10	4 - 7
	Asche	3 - 4	3 - 4

Dabei ergeben 100 kg Malz zwischen 120 und 130 kg Naßtreber. Bei Weizenbiersuden fallen je nach Anteil des Weizenmalzes ca. 10 bis 15 % weniger an. Der **Wassergehalt** der Naßtreber schwankt zwischen 75 und 80 Mass.-% (NARZIB, 2004). Der Hauptunterschied beider Treberarten liegt in der Lignozellulosefraktion begründet. Der Anteil an Hemizellulose ist in Trebern aus Weizenbiersuden höher und der Zelluloseanteil geringer. Neben der Einteilung in den in Tabelle 2.2 dargestellten Treberarten, gibt es Unterschiede in Abhängigkeit der Verwendung von dunklem oder hellem Malz. Die Darrtemperaturen liegen bei der Herstellung von dunklen Malzen höher. Nebenprodukte (z.B. Maillardprodukte aus der Reaktion niedermolekularer Stickstoffverbindungen mit reduzierenden Zuckern), die durch den Temperatureinfluss beim Darren gebildet werden (NARZIB, 2004), können bei der anaeroben Fermentation von dunklen Treber u.U. zu Hemmwirkungen führen.

Für die chemische Zusammensetzung der Treber sind der Aufbau und die Bestandteile des Getreidekorns ausschlaggebend.

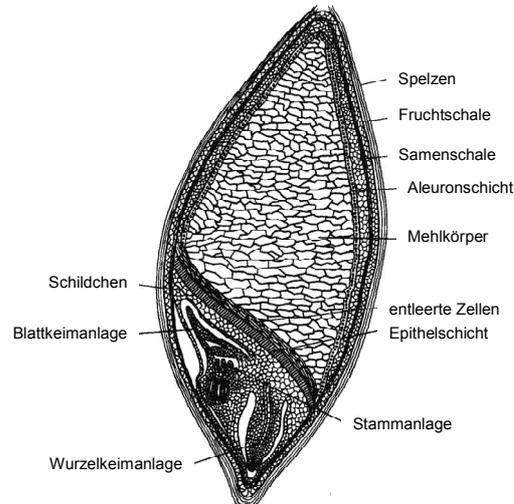


Abb. 2.1: Längsschnitt eines Gerstenkorns (KUNZE, 2007)

Für die **Würzebereitung** ist die Stärke, die im Mehlkörper enthalten ist, von Interesse. Während der Vermälzung wird das Getreidekorn deshalb zur Keimung angeregt, um stärkeabbauende Enzyme (α - und β -Amylase) zu bilden. Diese Enzyme sorgen im Maischprozess für die Freisetzung von Glukose, die als Substrat für die spätere alkoholische Gärung dient. Da für die Bierherstellung nur die Würze verwendet wird, müssen die Treber durch das sogenannte **Abläutern** entfernt und anschließend entsorgt werden. Im Wesentlichen bestehen Treber aus den Spelzen, den Keimanlagen und Schalentteilen des Gersten- und/oder Weizenkorns (KUNZE, 2007).

Die **Spelzen** bestehen im Wesentlichen aus Zellulose, Hemizellulose und Lignin. Bei der **Schrotung** des Malzes wird jedoch ein weitgehender Erhalt der Spelzen angestrebt. Dies ist aus technologischen Gründen für den Läutervorgang notwendig, erschwert jedoch den mikrobiologischen Abbau zusätzlich, da keine Zerkleinerung der Spelzen erfolgt (NARZIß, 2004 & BEHMEL, 1993).

Die Hauptfraktionen von Treber werden im Folgenden beschrieben.

Kohlenhydrate

Die **Polysaccharide** in pflanzlichem Material setzen sich aus Zellulose, Hemizellulose und Lignin zusammen. Diese drei Fraktionen, die den Hauptbestandteil pflanzlicher Zellwände ausmachen, sind miteinander verflochten, weshalb der Begriff **Lignozellulose** verwendet werden kann.

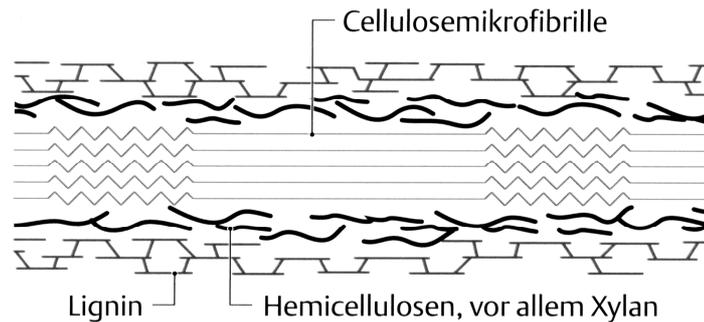


Abb. 2.2: Schematischer Aufbau einer Pflanzenzellwand (Fuchs, 2006)

Zellulose besteht aus β -Glucopyranoseresten, die über β -1,4 glykosidische Bindungen miteinander verknüpft sind. So entstehen **kristalline** und **amorphe** Zelluloseketten (Einzelfibrillen). Über Wasserstoffbrückenbindungen verbinden sich mehrere Einzelfibrillen zu sog. Elementarfibrillen. Die Gesamtmatrix wird dann als **Zellulosefibrillen** bezeichnet. Der Anteil kristalliner Zellulose beträgt dabei etwa 60 %. In den amorphen Abschnitten liegen säure- und alkalilabile Bindungen vor, bei deren Hydrolyse wiederum kristalline Zellulose entsteht. Aufgrund des geringen Molekulargewichts dieser Abschnitte besteht keine Faserstruktur mehr (BELITZ et al., 2001 & FUCHS, 2006).

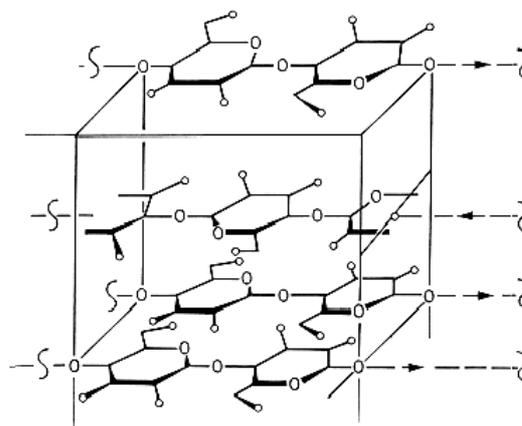


Abb. 2.3: Elementarstruktur von Zellulose (BELITZ et al., 2001)

Die Abstände zweier Atome der benachbarten Ketten sind sehr kurz. Dies führt zu einer hohen Stabilität der Wasserstoffbrückenbindungen und erschwert das Eindringen von Wasser- und Enzymmolekülen (KRETSCHMER, 1997).

Als **Hemizellulosen** werden alkalilösliche Polysaccharide der sekundären pflanzlichen Zellwand verstanden. Im Unterschied zu Zellulose enthalten Hemizellulosen noch andere

Monosaccharide sowie als Seitengruppen Acetyler, Methylether oder Uronsäuren. Hemizellulosen werden nach der vertretenen Hauptzuckerkomponente als Xylane, Mannane oder Galactane benannt. Xylane bilden den Hauptteil der Hemizellulosen. Verglichen mit Zellulose tritt hier an die Stelle der Hexose Glucose die Pentose Xylose. Die einzelnen Bauteile der Hemizellulosen sind β -1,3 oder β -1,4 glykosidisch verknüpft. Die entstehenden Makromoleküle sind kürzer als die Zellulosemoleküle. Da sie zudem verzweigt und substituiert sind, wird keine kristalline Struktur ausgebildet. Hemizellulosen sind deshalb im Gegensatz zu Zellulosen **laugen-, säure- und teilweise auch wasserlöslich** (FUCHS, 2006 & BELITZ et al., 2001).

Lignin ist neben den beiden erwähnten Polysacchariden der bedeutendste Pflanzenbestandteil. Lignin besteht aus **aromatischen Phenylpropaneinheiten**. Die Grundstruktur bildet ein phenolischer Aromat mit mindestens einer freien OH-Gruppe und einer alkoholischen Seitenkette mit einer Doppelbindung. Je nach Art der weiteren Seitenketten werden die drei Monolignole Cumaryl-, Coniferyl- und Sinapinalkohol unterschieden. Aufgrund dieser dreidimensionalen Vernetzung ist Lignin äußerst **persistent**. Ein mikrobiologischer Abbau durch Bakterien während der anaeroben Fermentation zu Biomethan ist deshalb nicht möglich. Lediglich einige Pilzarten besitzen ein ligninolytisches Enzymsystem (HEIDER, 2006).

Stärke spielt bei der chemischen Zusammensetzung von Trebern eine untergeordnete Rolle. Biertreber beinhalten Stärkekörner in Form von Grobgrießen, die während des Brauprozesses nicht vollständig abgebaut werden (NARZIß, 2004).

Auch bei Stärke kann man zwischen amorphen (70 Mass.-%) und kristallinen (30 Mass.-%) Strukturen unterscheiden. Die Stärke besteht hauptsächlich aus zwei polymeren Kohlenhydraten, der Amylose und dem Amylopektin. **Amylose** ist einfacher aufgebaut. Es bildet eine lineare Kette von α -1,4-glykosidisch verbundenen D-Glucosemonomeren mit einem **Polymerisationsgrad** (bezogen auf Gerste) von 1850. Unter Polymerisationsgrad versteht man dabei die Anzahl der Monomere, die ein Makromolekül aufbauen. Die Polymerisation der Amylose erfolgt in Form einer linksgängigen Doppelhelix. Eine Windung ist 2,1 nm lang und besteht aus 6 Glucoseeinheiten (BELITZ et al., 2001).

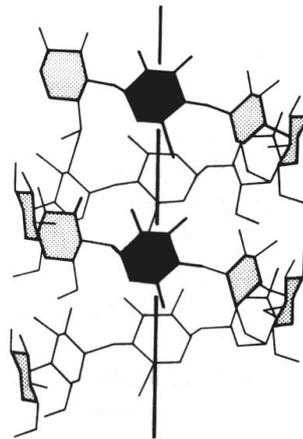


Abb. 2.4: Struktur einer Amylose-Doppelhelix (BELITZ et al., 2001)

Amylopektin macht rund 75 Mass.-% der Stärke aus. Amylopektin ist im Gegensatz zu Amylose ein verzweigtes Polymer. Die Grundkette ist ebenfalls α -1,4-glykosidisch verknüpft. Charakteristisch ist die durch eine 1,6- α -glykosidische verknüpfte Verzweigung, die sich alle 15-30 Monomere wiederholt. Bei den Kettenlängen der Verzweigungen gibt es Unterschiede im Polymerisationsgrad. Eine Klasse besteht aus 11 – 16 Molekülen und die andere aus 40-45 Molekülen pro Seitenkette (BELITZ et al., 2001).

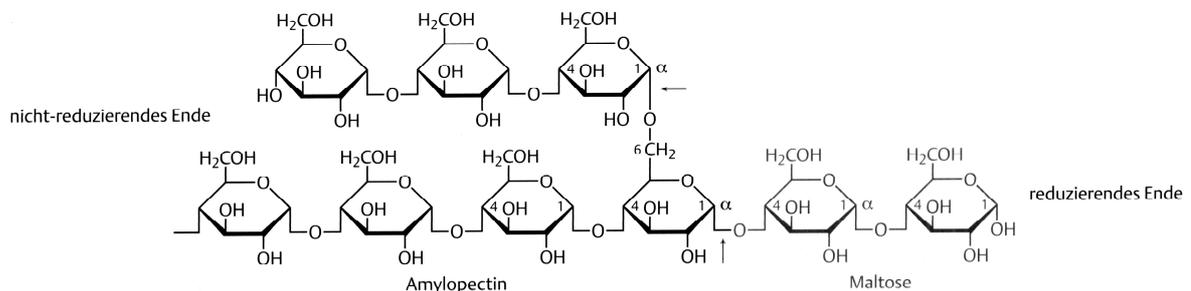


Abb. 2.5: Grundstruktur von Amylopektin (FUCHS, 2006)

Durch Verknüpfungen an verschiedenen Stellen bildet sich ein sogenanntes „**Cluster**“ aus. Die kristallinen Bereiche der Stärke sind auf die Amylopektinstruktur zurückzuführen. Die **Amylopektin-Doppelhelices** ordnen sich radial, mit dem reduzierenden Ende nach außen zeigend, im Stärkekorn an. Dadurch werden die Ketten tangential zueinander angeordnet und es können sich kristalline Strukturen zwischen den Clustern bilden.

Proteine

Getreideproteine werden entsprechend ihrer Löslichkeit in vier **Osborne-Fractionen** eingeteilt. Dabei sind **Albumine** wasserlöslich. **Globuline** lösen sich in Salzlösungen.

Prolamine hingegen können erst mit einer ethanolischen Lösung aufgelöst werden. Den verbleibenden Rückstand bilden die **Gluteline** (KUNZE, 2007 & BELITZ et al., 2001).

Gersteneiweiß besteht zu ca. 30 % aus Glutelin, das in der Aleuronschicht des Gerstenkorns lokalisiert ist. Aufgrund seiner schweren Löslichkeit gehen Gluteline, bei Gerste **Hordenine** genannt, unverändert in die Treber über. Prolamine (**Hordeine**) machen ca. 37 % des Gerstenproteins aus. Da Prolamine erst in alkoholischen Lösungen in Lösung gehen, geht auch diese Fraktion zum Großteil in die Trebern über. Der Anteil der Globuline (**Edestine**) beträgt ca. 15 %. Diese Proteinfraction ist bereits in der Maische löslich. Das Edestin besteht aus den Komponenten α -, β -, γ - und δ -Globulin. Die Albumine (**Leukosine**) bilden etwa 11 % des Gerstenproteins aus. Da diese Fraktion wasserlöslich ist, sind neben den Globulinen auch kaum Albumine in den Trebern zu finden. Neben diesen Proteinen findet sich in der Gerste noch eine kleinere Fraktion von Glykoproteinen (KUNZE, 2007 & BELITZ et al., 2001).

Bei der **Aminosäurezusammensetzung** sind sowohl bei Gerste als auch bei Weizen ein hoher Anteil an **Prolin** und ein sehr hoher Anteil an **Glutaminsäure** zu finden. Zu beachten sind die Anteile an Serin, Glycin, Alanin, Valin und Leucin. Der Anteil der restlichen Aminosäuren spielt eine untergeordnete Rolle, wobei Tryptophan, Histidin, Cystein und Methionin die geringsten Anteile haben. Aromatische Abbauprodukte aus Proteinen während der anaeroben Fermentation stammen deshalb vorwiegend aus Phenylalanin (KUNZE, 2007 & BELITZ et al., 2001).

Lipide

Lipide werden vorwiegend im Keimling und der Aleuronschicht gespeichert. Die Lipide der Braugerste bestehen zu 70 Mass.-% aus Triacylglyceriden, zu 20 Mass.-% aus Phospholipiden und zu 10 Mass.-% aus Glykolipiden.

Triacylglyceride bestehen aus drei Fettsäuren und einem C3-Alkohol, dem Glycerin. Sie sind über Esterbindungen miteinander verbunden. **Phospholipide** sind die Grundbausteine von Membranen. Dieser Glycerintriester enthält im Gegensatz zum Triacylglycerid nur 2 Fettsäure-Reste. Die dritte Hydroxy-Gruppe ist mit Phosphorsäure verestert, die wiederum mit Cholin oder mit einem anderen Alkohol verestert ist. Stellt Cholin den Substituenten dar, bezeichnet man das Molekül als Lecithin (BELITZ et al., 2001).

Die Fettsäurezusammensetzung der Getreidearten unterscheidet sich dabei nicht wesentlich. Mit über 50 % dominiert in Gerste und Weizen der Anteil an **Linolsäure**. Weitere wichtige Fettsäuren sind **Palmitinsäure** (rund 20 %) und **Ölsäure** (rund 10 %). Während Keimling und Aleuronzellen reich an Triglyceriden sind, überwiegt im Endosperm der Anteil an Phospho- und Glykolipiden (KUNZE, 2007 & BELITZ et al., 2001).

2.1.3 Trubstoffe

Bei den Trubstoffen ist zwischen Heißtrub (Kochtrub) und Kühltrub zu unterscheiden. **Heißtrub** entsteht durch Hitzeokoagulation von stickstoffhaltigen Substanzen während der Würzekochung. Die Abtrennung erfolgt anschließend beispielsweise im sogenannten Whirlpool. Unter **Kühltrub** werden alle Ausscheidungen zusammengefasst, die bei der Würzekühlung unterhalb von 70 – 55 °C entstehen (KUNZE, 2007 & NARZIß, 2004).

Die chemische Zusammensetzung der Trubstoffe hängt wiederum stark vom Brauverfahren sowie von der Art und Qualität des Malzes ab.

Tab. 2.3: Durchschnittliche chemische Zusammensetzung der Trubstoffe in Mass.-% der Trockensubstanz (BEHMEL, 1993 & NARZIß, 2004)

	Heißtrub	Kühltrub
Protein	40 – 70	50
Bitterstoffe	7 – 32	-
Fettsäuren	1 – 2	-
Polyphenole	4 – 8	15 – 25
Kohlenhydrate	4 – 10	20 – 30
Mineralstoffe	≥ 3	-

Die Proteinfraction besteht hauptsächlich aus den Albuminen und Globulinen des Gerstenproteins und zu kleineren Teilen aus Hopfenprotein, die während der Würzekochung koagulieren. Die **Bitterstoffe** und **Polyphenole** gelangen über die Hopfung in die Würze. Während der Würzekochung liegen sie gelöst vor und werden damit hauptsächlich erst während der Würzekühlung im Kühltrub abgeschieden. Bei den Bitterstoffen handelt es sich im Wesentlichen um die in Abbildung 2.6 dargestellten **α -Säuren** (Humulone) und **β -Säuren** (Lupulone) (KUNZE, 2007).

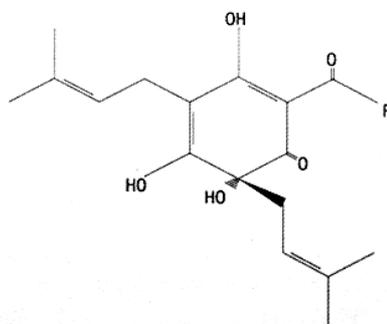


Abb. 2.6: Strukturformel der α -Säure (KUNZE, 2007)

Zu den Polyphenolen oder Gerbstoffen zählen Benzoessäurederivate, Zimtsäurederivate, Flavonoide wie Xanthohumol, Proanthocyanidine, Catechingerbstoffe und Tannine. Abbildung 2.7 zeigt die Strukturformel von Xanthohumol (KUNZE, 2007).

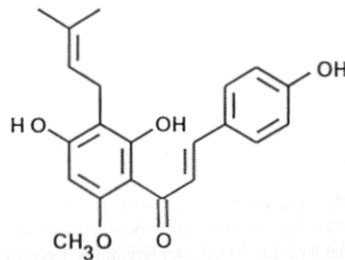


Abb. 2.7: Strukturformel von Xanthohumol (KUNZE, 2007)

2.1.4 Hefe

Hefen werden während des Brauprozesses für die **alkoholische Gärung** von der in der Würze gelösten Glucose zu Ethanol benötigt. Während der alkoholischen Gärung findet ein Zuwachs der Hefebiomasse statt, die nach Abschluss der Gärung vom Bier abgetrennt werden muss. Als **Überschußhefe** wird dabei die geerntete Hefe nach der Gärung bezeichnet. Die nach der Lagerung bzw. Reifung des Bieres anfallende Hefemenge wird als **Gelägerhefe** bezeichnet. Je Hektoliter Verkaufsbier fallen 1,1 – 1,8 l Überschufhefe und 0,9 – 1,5 l Gelägerhefe an. In der Praxis wird dabei v.a. das in der Überschufhefe enthaltene Hefebier zurückgewonnen (ANNEMÜLLER et al., 2005).

Die chemische Zusammensetzung der Hefe hängt vom Hefestamm und dem Erntezeitpunkt ab. Im Mittel ergibt sich die in Tabelle 2.4 aufgeführte Zusammensetzung:

Tab. 2.4: Durchschnittliche chemische Zusammensetzung von Hefe in Mass.-% der Trockensubstanz (ANNEMÜLLER et al., 2005)

	Anteil
Protein	45 – 60
Kohlenhydrate	15 – 39
Fett	2 - 12
Mineralstoffe	6 - 12

Der Proteingehalt setzt sich im Wesentlichen aus Albuminen und Globulinen zusammen. Die Kohlenhydratfraktionen bei Hefen sind Glucane und Mannane, die in den Zellwänden

lokalisiert sind, sowie das Speicherkohlenhydrat Glykogen und in geringen Mengen Trehalose, dass v.a. bei Stresssituationen gebildet wird (ANNEMÜLLER et al., 2005).

Hefen haben zudem einen hohen Gehalt an **Mineralstoffen** und **Vitaminen**. Deshalb ist die Aufbereitung der Überschuß- und Gelägerhefe beispielsweise für die Kosmetikindustrie praktikabel. Eine Verwertung der Hefe als Substrat für die anaerobe Fermentation zu Biogas ist nur bedingt geeignet, da v.a. **vitale Hefen** in Konkurrenz zu den anderen Mikroorganismen treten und den Fermentationsverlauf somit erheblich stören können. Eine Inaktivierung der Hefezellen und ein weitgehender Zellaufschluss sind deshalb Voraussetzung. Ohne Zellaufschluss ist es für hydrolytische und fermentierende Bakterien nur schwer möglich die in der Hefezelle enthaltenen Proteine und Kohlenhydrate zu verwerten.

2.1.5 Abwasser

Der Abwasseranfall und die Abwasserzusammensetzung variieren nach Brauereigröße und Brauverfahren. Abwasser fällt im Sudhaus, im Gärkeller und der Abfüllung an. Der Abwasserstrom aus dem Sudhaus setzt sich u.a. aus Glattwasser und Behälterspülwasser zusammen. Im Abwasser aus der Gärung und Lagerung ist Hefe und Restbier enthalten. Der Abwasserstrom aus der Füllerei enthält Überschäumbier, Abspritzbier, Reinigungsflüssigkeit und Leim (HACKENSELLNER, 2001).

Tab. 2.5: Mittlere Parameter von Brauereiabwasser (PESTA, 2004)

	Einheit	Anteil
CSB	mg/l	900 – 4000
BSB	mg/l	700 – 2200
CSB/BSB	mg/l	1,5 – 1,8
Gesamtstickstoff	mg/l	25 – 85
Gesamtphosphat	mg/l	5 – 35
Absetzbare Stoffe	mg/l	150 - 1500

2.2 Anaerober Abbau organischer Substrate

Der anaerobe Abbau ist ein **vierstufiger Prozess**. Er wird von verschiedenen Gruppen eng miteinander vergesellschafteter Mikroorganismen durchgeführt. Die einzelnen Abbauschritte sind dabei **Hydrolyse** (Verflüssigung), **Acidogenese** (Versäuerung), **Acetogenese** (Essigsäurebildung) und **Methanogenese** (Methanbildung). Abbildung 2.8 zeigt das Schema des anaeroben Abbauprozesses.

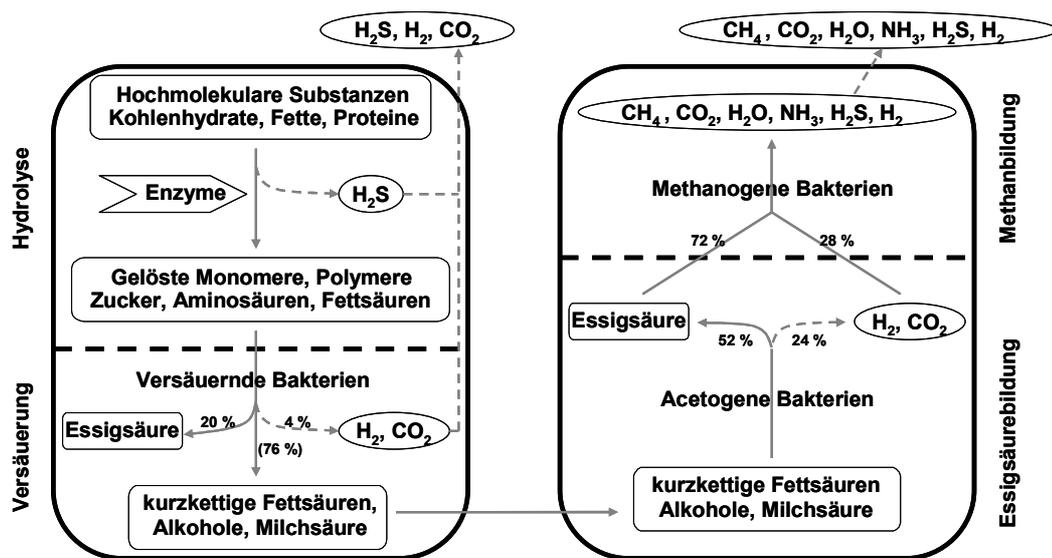


Abb. 2.8: Schema des anaeroben Abbauprozesses (eigene Darstellung nach MADIGAN et al., 2003)

2.2.1 Hydrolyse

Organische Substrate bestehen oft aus wasserunlöslichen Komplexen von mehreren **Biopolymeren**. Diese Verbindungen können in dieser Form nicht in die Mikroorganismenzelle aufgenommen werden. Deshalb werden von den abbauenden Mikroorganismen **Exoenzyme** nach außen ins Medium sekretiert oder an der Außenseite der Zelle in Form von Enzymkomplexen angelagert. Diese Enzyme führen die Hydrolyse der komplexen Verbindungen außerhalb der Zelle durch. Die hydrolytische Spaltung wird durch Inkrustierung (z.B. mit Lignin) oder durch das Vorliegen von kristallinen Strukturen gehemmt (FUCHS, 2006).

Abbau der Polysaccharide

Für die Abbaubarkeit von Zellulose gilt grundsätzlich folgendes Kriterium: Da der prozentuale Anteil der kristallinen Strukturen zur Gesamtmasse bei Zellulose umgekehrt proportional zum enzymatischen Abbau des Polymers ist, wird die Zerlegung in monomere Bausteine mit zunehmender Kristallinität schwieriger (KRETSCHMER, 1997).

Der enzymatische Zelluloseabbau erfolgt durch **Zellulasen**, die von Bakterien und Pilzen gebildet werden. Beispiele für Mikroorganismen, die zellulolytische Enzyme produzieren sind Myxobakterien, Actinomyceten, Streptomyceten, Cellulomonas- und Bacillus-Arten. Pilze sind sehr effektiv, wenn eine starke Lignininkrustierung vorliegt (HEIDER, 2006 & KRETSCHMER, 1997).

Drei verschiedene Glucanase-Enzymkomplexe werden von Mikroorganismen zum Abbau von kristalliner Cellulose sekretiert (HOEGGER et al., 2007).

Tab. 2.6: Glucanase-Enzymkomplexe (HOEGGER et al., 2007)

	Klassifizierung	pH-Bereich	Temperatur-Bereich
Cellulase	EC 3.2.1.4	3,6 – 9,0	35 – 80 °C
Exo-β-Glucanase	EC 3.2.1.91	2,5 – 6,8	37 - 70 °C
β-Glucosidase	EC 3.2.1.21	3,5 – 8,0	35 – 85 °C

Exoenzyme werden stets in kleinen Mengen gebildet. Da die Sekretion dieser Exoenzyme über charakteristischer Moleküle reguliert wird, erfolgt die Sekretion großer Enzymmengen erst bei Vorhandensein dieser Moleküle. Der direkte Kontakt von Enzym und Substrat erfolgt durch die Anlagerung der Mikroorganismen parallel zur Längsrichtung der Fasern. Die endospaltenden Glucanasen hydrolysieren polymeres Substrat an den leicht- und wasserzugänglichen Stellen, d.h. an den amorphen Stellen und produzieren kurzkettinge Ketten mit nicht reduzierendem Ende. So reduziert sich die Gesamtlänge der Elementarfibrillen. Die Anzahl der freien Kettenenden erhöht sich und an den nicht reduzierenden Enden können Exoglucanasen angreifen. Diese spalten aus den unverzweigten β -Glucosepolymeren Cellobiose und verschiedene Oligosaccharide ab. Anschließend werden die verschiedenen Oligosaccharide durch die β -1,4-Glucosidase in die einzelnen Glucoseeinheiten hydrolysiert (FUCHS, 2006). Danach werden Glucose- und Cellobiosemoleküle in die Mikroorganismenzelle transportiert. Eine Cellobiosephosphorylase spaltet dabei die glykosidische Bindung innerhalb der Cellobiose.

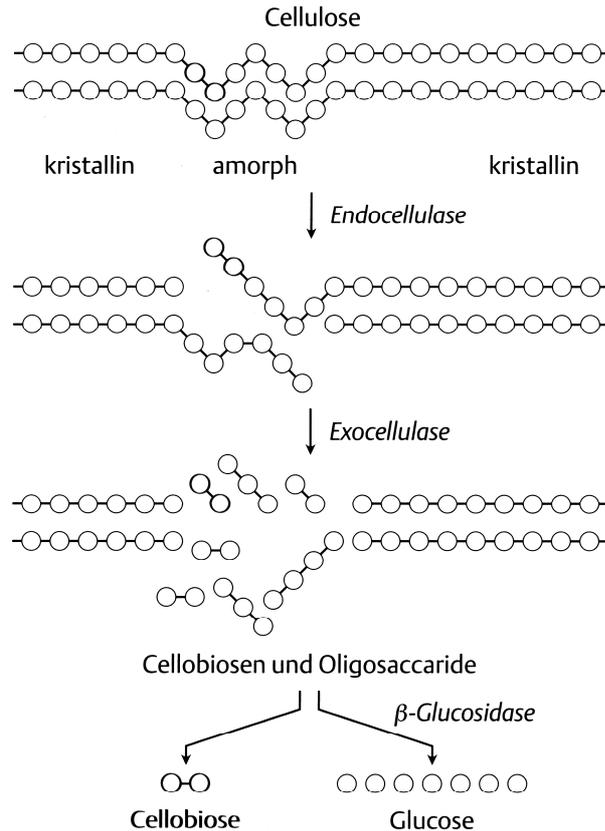


Abb. 2.9: Schema des enzymatischen Abbaus von Zellulose (FUCHS, 2006)

Bei den **Hemizellulosen** kommt vor allem der Baustein **Xylan** vor. Deshalb wird hier beispielhaft der Xylanabbau näher beschrieben. Am Abbau von Xylan, welches mit 50 – 500 Einheiten deutlich kürzer als ein Zellulosepolymer (100000 Einheiten) ist, sind mehrere Enzyme beteiligt, die allgemein als Xylanasen bezeichnet werden. Xylanasen werden hauptsächlich von *Aspergillus* sp. und *Trichoderma* sp. sowie von Bakterienarten, wie *Bacillus* sp. synthetisiert (vgl. Tabelle 2.7).

Tab. 2.7: Xylanasen (HOEGGER, 2007)

	Klassifizierung	pH-Bereich	Temperatur-Bereich
Endo-1,4-β-D-Xylanase	EC 3.2.1.8	3,5 – 7,0	40 – 80 °C
α-D-Glucuronidase	EC 3.2.1.139	7,0	37 – 55 °C
Acetylerase	EC 3.1.1.6	4,8 – 9,0	30 °C
1,4-β-D-Xylosidase	EC 3.2.1.37	3,0 – 9,0	40 – 75 °C

Abbildung 2.10 zeigt den schematischen Abbau von Xylan.

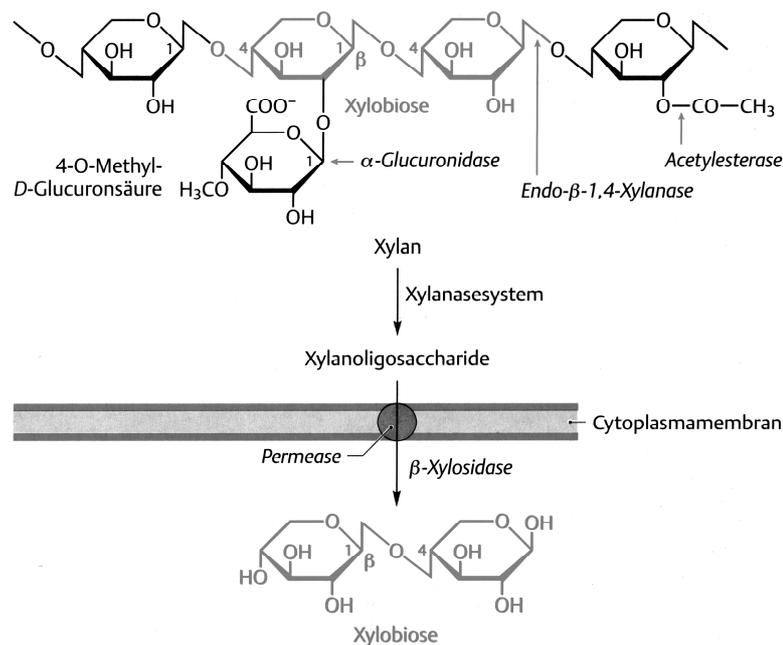


Abb. 2.10: Schema des enzymatischen Abbaus von Xylan (FUCHS, 2006)

Zunächst werden die Seitenketten des Xylans durch die verschiedenen Enzyme abgespalten. Anschließend spalten Endo- β -Xylanasen die Xylanketten in Oligosaccharide auf. Mit Hilfe von Transportproteinen, den sogenannten Permeasen, werden diese Xylanoligosaccharide durch die Cytoplasmamembran in die Zelle transportiert. Dort erfolgt durch β -Xylosidasen die weitere Zerlegung zu Xylobiose.

Auf die Darstellung des Abbaus von **Lignin** wird an dieser Stelle verzichtet, da dieser unter anaeroben Bedingungen nicht stattfindet.

Der enzymatische **Stärkeabbau** erfolgt durch Amylasen. α -Amylase hydrolysiert neben Stärke auch Glykogen und andere 1,4- α -Glucane. Bei Amylose greift die α -Amylase innerhalb der Helix an und hydrolysiert die Kette nach jeder Windung (Endospaltung). Hierbei entstehen Oligosaccharide mit 6-7 Glucoseeinheiten.

Amylopektin wird durch Amylasen willkürlich gespalten, Verzweigungen werden dabei übersprungen. Eine Zerlegung in die Grundbausteine erfolgt nur teilweise. Zur vollständigen Hydrolyse werden weitere Enzyme benötigt, wie die Pullulanase, Glucoamylase und die Grenzextrinase (Cyclodextrin-Glycosyltransferase). Das Abbauschema von Amylopektin ist in Abbildung 2.11 dargestellt.

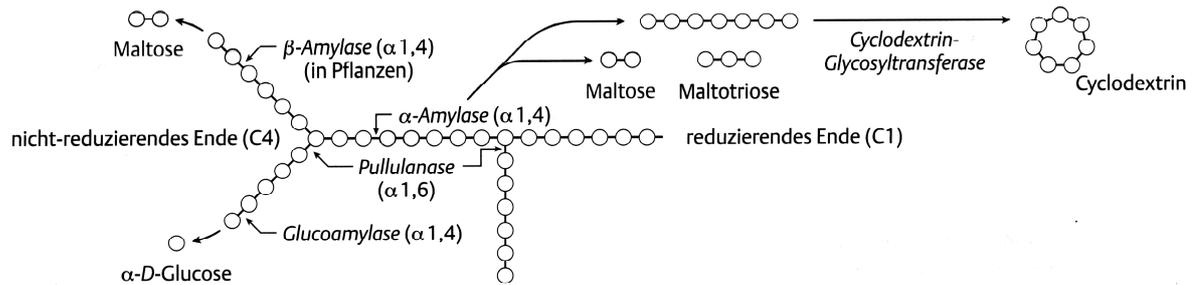


Abb. 2.11: Enzymatischer Abbau von Amylopektin (FUCHS, 2006)

Pullulanase ist ein endospaltendes Enzym, welches α -1,6-glykosidische-Bindungen des Amylopektin, Glykogen oder Pullulan hydrolysieren kann. Aus dem Amylopektin entstehen somit lineare Amyloseketten, die durch Spaltung der 1,6-verbundenen Verzweigungen abgetrennt werden. Glucoamylasen sind Exoenzyme und setzen vom nicht reduzierenden Ende der 1,4- α -verknüpften A- und B-Seitenketten des Amylopektins Schritt für Schritt β -D-Glucose frei. Sie können aber auch 1,6-Verknüpfungen lösen, jedoch laufen diese 30-mal langsamer ab. Eine besondere Reaktion katalysieren die Cyclodextrin-Glycosyltransferasen (CGTase). Sie haben eine endospaltende α -Amylaseaktivität und können gleichzeitig eine glykosidische Bindung ausbilden. Die α -Amylasen bilden Maltodextrine (lineare Spaltprodukte mit 6-12 Glucoseeinheiten), welche durch die CGTase zu Cyclodextrinen zusammengesetzt werden (FUCHS, 2006).

Tab. 2.8: Enzyme des Stärkeabbaus (HOEGGER, 2007)

	Klassifizierung	pH-Bereich	Temperatur-Bereich
α-Amylase	EC 3.2.1.1	5,6 – 5,8	70 – 75 °C
Pullulanase	EC 3.2.1.41	5,1	55 – 60 °C
Glucoamylase	EC 3.2.1.20	4,5	55 – 60 °C
Cyclodextrin-Glycosyltransferase	EC 3.2.1.19	6,0	60 °C

Abbau der Lipidfraktion

Um Lipide in eine für Mikroorganismen verwertbare Form zu bringen, müssen zunächst die Esterbindungen über extrazelluläre Enzyme (**Lipasen**) gespalten werden. Erst danach kann der Transport der Spaltprodukte in die Zelle erfolgen. Lipasen gehören zur Gruppe der Carboxylester-Hydrolasen und sind nur an der Lipid-Wasser-Grenzschicht aktiv, da

Triacylglyceride amphiphatische Moleküle sind. Dieses Verhalten ist bei der Hydrolyse von Lipiden ein geschwindigkeitsbestimmender Faktor. Je größer die Grenzschicht ist, d.h. je besser das Fett homogenisiert ist, desto schneller läuft die Hydrolyse ab. Die **Lipolyse** verläuft schrittweise. Zuerst werden Triacyl-, dann Diacyl- und zuletzt Monoacylglyceride in deren Bestandteile metabolisiert (vgl. Abbildung 2.12). Außerdem ist die Hydrolysegeschwindigkeit von der Länge der Acylreste abhängig (7,26)

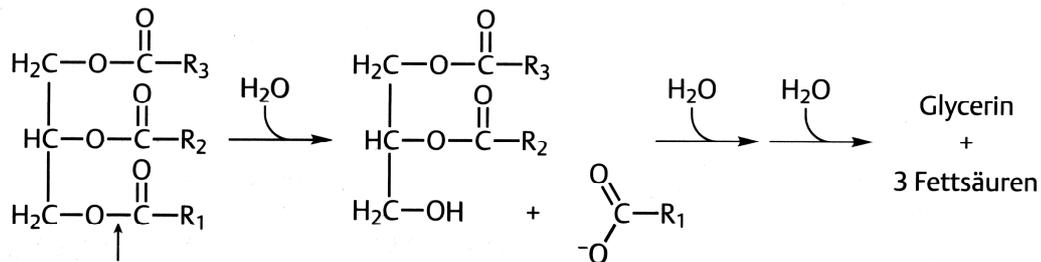


Abb. 2.12: Enzymatischer Abbau von Triacylglyceriden (FUCHS, 2006)

Phospholipide werden durch Phospholipasen hydrolysiert. Entsprechend den Substraten werden sie in Phospholipasen, Lysophospholipasen und Glykolipid-Hydrolasen unterteilt. Der Mechanismus der Spaltung erfolgt analog zu den Triacylglyceriden.

Tabelle 2.9 zeigt wichtige Enzyme, die am Fettabbau beteiligt sind.

Tab. 2.9: Enzyme des Fettabbaus (HOEGGER, 2007)

	Klassifizierung	pH-Bereich	Temperatur-Bereich
Carboxylester-Hydrolasen	EC 3.1.1	5,0 – 8,5	30 – 60 °C
Phospholipase	EC 3.1.4.3	4,4 – 8,5	35 – 60 °C
Lysophospholipase	EC 3.1.1.5	2,3 – 9,0	30 – 55 °C
Glykolipid-Hydrolasen			

Abbau der Proteinfraktion

Der Abbau von Proteinen erfolgt durch proteolytisch wirkende **Peptidasen**. Diese Enzyme lassen sich in Endopeptidasen (Proteinasen) und Exopeptidasen unterteilen. Beide Peptidasen spalten Peptidbindungen. Endopeptidasen spalten die Proteinkette in Bruchstücke auf. Diese Bruchstücke werden dann von der Zelle aufgenommen und durch die sogenannten

Exopeptidasen zu Aminosäuren abgebaut. Exopeptidasen spalten entweder vom C-terminalen (Carboxypeptidasen) oder vom N-terminalen (Aminopeptidasen) Ende der Peptidkette einzelne Aminosäuren ab. In der Zelle können sie dann zur Proteinbiosynthese verwendet, desaminiert und in den Intermediärstoffwechsel eingeschleust oder zu Ammonium und flüchtigen Säuren verarbeitet werden (FUCHS, 2006).

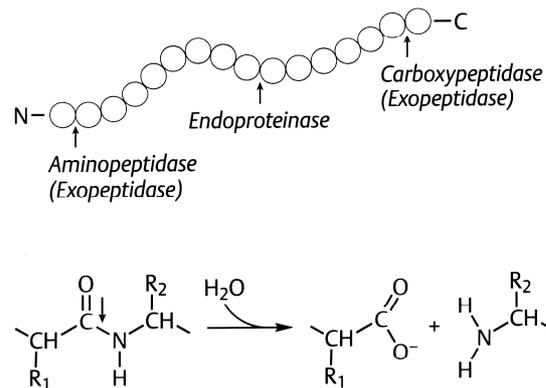


Abb. 2.13: Enzymatischer Abbau von Proteinen (FUCHS, 2006)

Die Endopeptidasen lassen sich entsprechend der Natur ihres aktiven Zentrums in Gruppen einteilen. Exopeptidasen dagegen können anhand ihrer Synthese-Spaltprodukte unterschieden werden (HOEGGER, 2007).

Tab. 2.10: Enzyme des Proteinabbaus (HOEGGER, 2007)

	Klassifizierung	pH-Bereich	Temperatur-Bereich
Exopeptidasen			
Aminopeptidase	EC 3.4.11	7,0 – 7,2	45 °C
Carboxypeptidasen	EC 3.4.16-18	4,8 – 5,6	50 °C
Tri-, Dipeptidasen	EC 3.4.13-14	7,5 – 8,5	45 °C
ω -Peptidasen	EC 3.4.19	6,0 – 8,0	
Endopeptidasen			
Serin-Endop.	EC 3.4.21		
Cystein-Endop.	EC 3.4.22		
Asparaginsäure-Endop.	EC 3.4.23	5,5 – 8,5	45 – 50 °C
Metall-Endop.	EC 3.4.24		

2.2.2 Acidogenese

Während der Versäuerungsphase werden die monomeren Produkte der Hydrolyse (Glucose, Aminosäuren, etc.) zu kurzkettigen Fettsäuren verstoffwechselt. Abbildung 2.14 zeigt die Hauptwege des anaeroben Abbaus verschiedener Monomere.

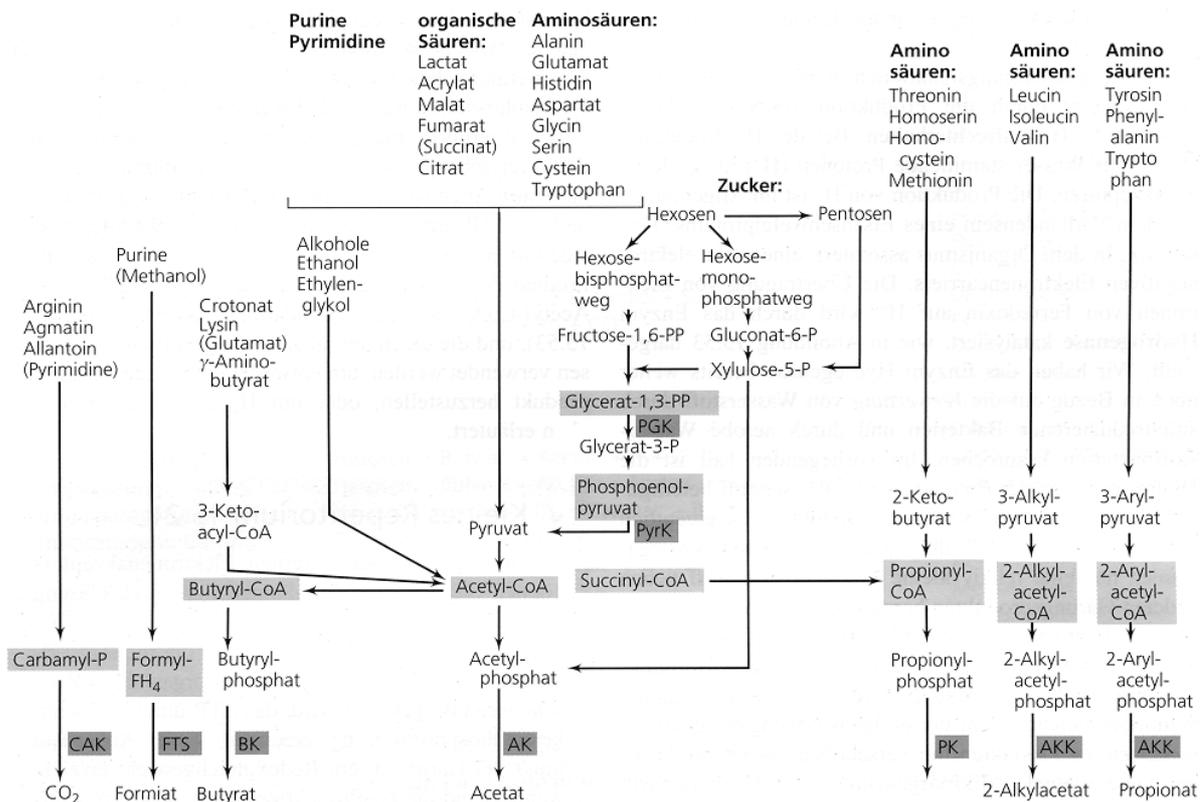


Abb. 2.14: Hauptwege des Abbaus organischer Monomere aus der Hydrolyse (MADIGAN, 2003)

Kohlenhydratstoffwechsel

Das Hauptprodukt der Hydrolyse von Polysacchariden ist Glucose. Glucose wird über die **Glykolyse** zunächst zu **Pyruvat** und über weitere Gärungen zu kurzkettigen Fettsäuren abgebaut. Pyruvat stellt somit die Ausgangssubstanz für diverse Stoffwechselwege dar.

Die **gemischte Säuregärung** bzw. **Milchsäuregärung** der fakultativ anaeroben Enterobakterien bzw. Bacillen liefert als Produkte Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure oder Ethanol (Abbildungen 2.15 und 2.16).

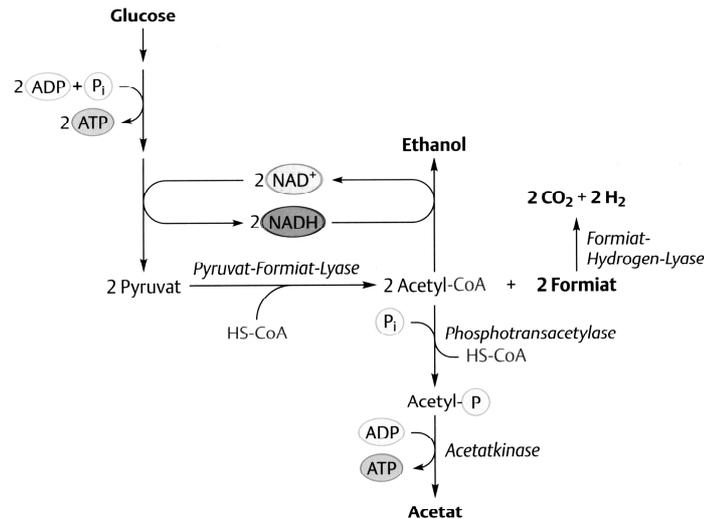


Abb. 2.15: Schema der gemischten Säuregärung (HEIDER, 2006)

Über eine Pyruvat-Lyase wird dabei zunächst Pyruvat zu Acetyl-CoA und Formiat metabolisiert. In einer weiteren enzymkatalysierten Reaktion entsteht Essigsäure. Formiat kann in die Produkte Kohlendioxid und Wasserstoff gespalten werden (HEIDER, 2006).

Die Bildung von Milchsäure erfolgt über die **homo-** bzw. **heterofermentative Milchsäuregärung**. Bei der homofermentativen Milchsäuregärung (Abbildung 2.23) stellt Pyruvat das Edukt der durch eine Lactatdehydrogenase katalysierten Reaktion dar (HEIDER, 2006).

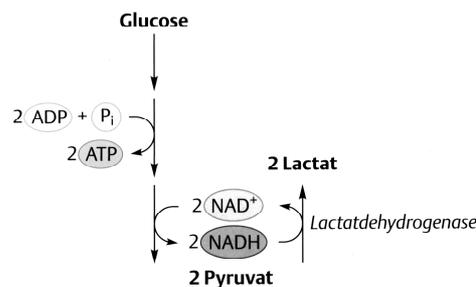


Abb. 2.16: Homofermentative Milchsäuregärung (HEIDER, 2006)

Als Nebenprodukte werden bei dieser Reaktion in kleinen Mengen Essigsäure oder Diacetyl gebildet. Die heterofermentative Milchsäuregärung verläuft nicht über die Glykolyse und Pyruvat. Dieser Gruppe von Milchsäurebakterien fehlen für die Glykolyse wichtige Enzyme. Deshalb sind diese Mikroorganismen an die direkte Vergärung von Hexosen und Pentosen zu Lactat, Ethanol und Kohlendioxid spezialisiert. Der Abbauweg ist in Abbildung 2.17 dargestellt.

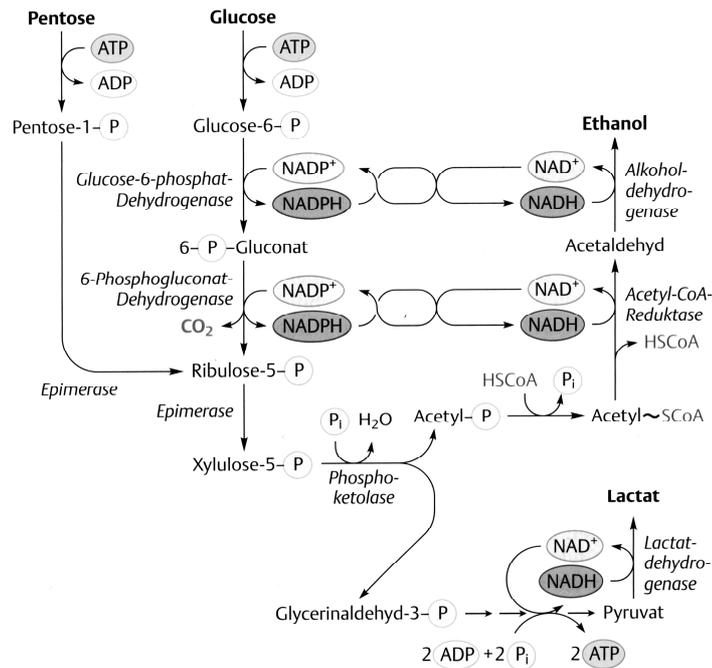


Abb. 2.17: Heterofermentative Milchsäuregärung (HEIDER, 2006)

Die **Buttersäuregärung** ist typisch für grampositive anaerobe Endosporenbildner (Clostridien). Je nach Milieubedingungen werden als Gärungsprodukte kurzkettige Säuren (Buttersäure, Essigsäure), Alkohole (Butanol, Ethanol) und gasförmige Produkte (Wasserstoff, Kohlendioxid) gebildet. Das Ausgangssubstrat ist wiederum Pyruvat bzw. Acetyl-CoA.

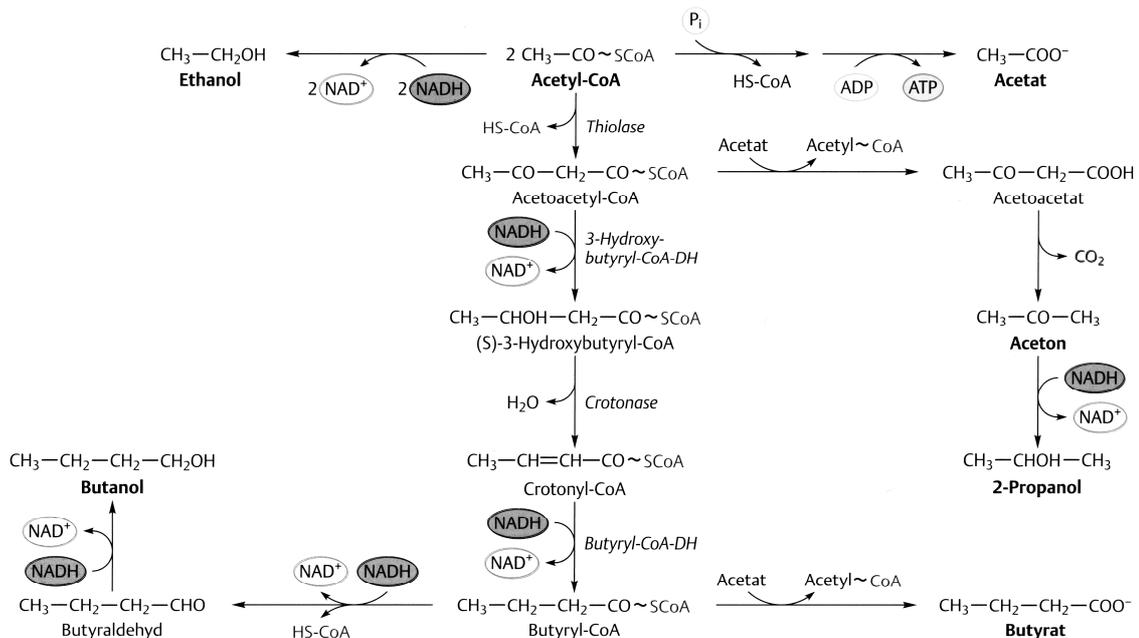


Abb. 2.18: Teilschritte der Buttersäure- bzw. Lösungsmittelgärung (HEIDER, 2006)

Bei der Hydrolyse und Versäuerung organischer Substrate durch Pansenmikroorganismen, stellen die Reaktionswege zu Essigsäure und Alkoholen nur geringe Anteile dar. Hauptabbauweg ist die Produktion von Buttersäure.

Eine weitere wichtige Gärung ist die **Propionsäuregärung**. Es gibt hier zwei unterschiedliche Stoffwechselwege, den Methylmalonyl-CoA- und den Acrylyl-CoA-Weg. Abbildung 2.19 zeigt den Methylmalonyl-CoA-Weg.

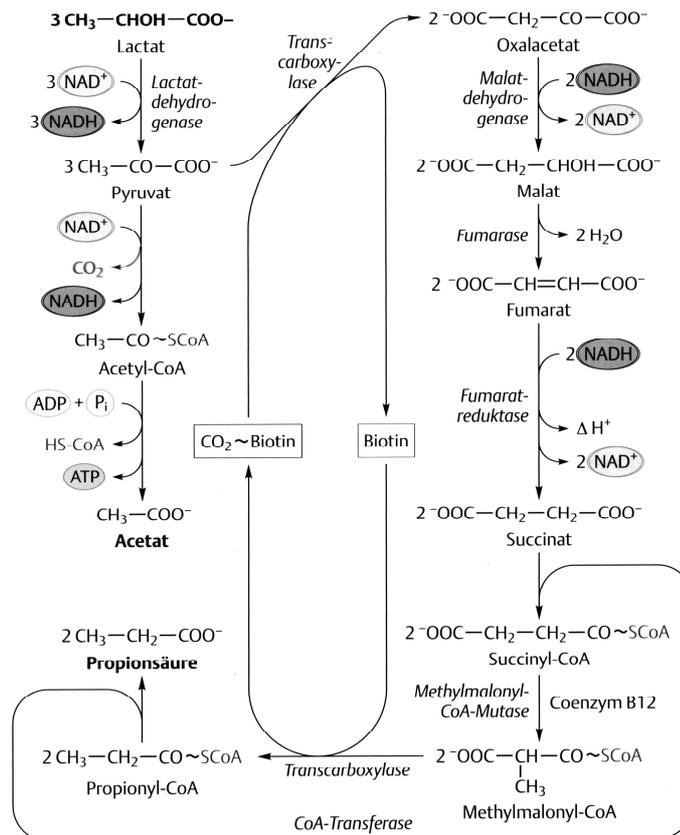


Abb. 2.19: Methylmalonyl-CoA-Weg der Propionsäuregärung (HEIDER, 2006)

Das Ausgangssubstrat für diesen Stoffwechselweg ist Lactat, das zunächst zu Pyruvat oxidiert wird. Pyruvat kann anschließend zu Acetat metabolisiert werden. Die Hauptgärung von Pyruvat erfolgt jedoch über eine Biotin enthaltende Transcarboxylase zu Oxalacetat. Oxalacetat wird anschließend über verschiedene Enzyme des reduktiven Citratcyklus zu Methylmalonyl-CoA umgewandelt. Methylmalonyl-CoA dient dabei als Carboxyldonor. Die weitere Reaktion verläuft erneut über die Transcarboxylase zu Propionyl-CoA. Der CoA-Rest wird schließlich wieder abgespalten und steht erneut für die Produktion von Methylmalonyl-CoA zur Verfügung. Bei dieser Abspaltung entsteht das Endprodukt Propionsäure.

Im Acrylyl-CoA-Weg wird Lactat in einem ersten Schritt zu Lactyl-CoA aktiviert und anschließend zu Acrylyl-CoA dehydratisiert. Die entstandene Doppelbindung wird reduziert und es entsteht Propionyl-CoA, das auch hier als CoA-Donor fungiert (HEIDER, 2006).

Aminosäurestoffwechsel

Der Hauptstoffwechselweg der Aminosäurevergärung ist nach Stickland benannt. **Stickland** erkannte 1934, dass die Aminosäuren Alanin und Glycin nur vergoren werden, wenn sie als Gemisch vorliegen. Einzeln werden sie nicht umgesetzt. Die paarweise Aminosäuregärung erfolgt durch die Oxidation einer geeigneten Aminosäure unter ATP-Bildung. Die zweite Aminosäure wird parallel zur Reoxidation von NADH reduziert. Abbildung 2.20 zeigt die **Stickland-Gärung** für Alanin und Glycin. Als Endprodukt dieser Gärung entsteht im Fall von Alanin und Glycin Essigsäure (HEIDER, 2006).

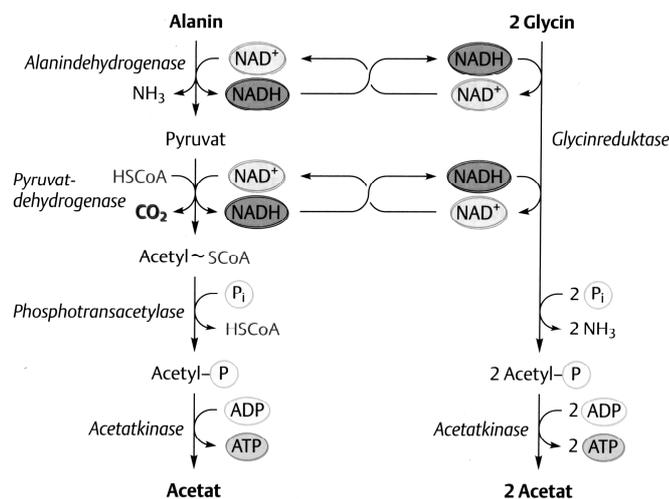


Abb. 2.20: Stickland-Gärung mit Alanin und Glycin (HEIDER, 2006)

Neben den beiden angeführten Aminosäuren nehmen noch weitere Aminosäuren an der Stickland-Gärung teil (Tabelle 2.11).

Tab. 2.11: Aminosäuren der Stickland-Gärung (MADIGAN et al., 2003)

oxidierte AS	reduzierte AS
Alanin	Glycin
Leucin	Prolin
Isoleucin	Hydroxyprolin
Valin	Tryptophan
Histidin	Arginin

Einige Bakterienarten können auch einzelne Aminosäuren vergären. Diese Stoffwechselwege sind jedoch im Vergleich zur Stickland-Gärung wesentlich komplexer, da aus derselben Verbindung oxidierte und reduzierte Produkte gebildet werden müssen. Zudem existieren für dieselbe Aminosäure je nach Bakterienart mehrere verschiedene Abbauewege. Tabelle 2.12 zeigt mögliche Gärungsprodukte verschiedener Aminosäuren. Die ebenfalls frei werdenden Produkte Ammoniak und Kohlendioxid werden dabei nicht berücksichtigt. Das jeweilige Hauptgärungsprodukt ist fett dargestellt (MADIGAN et al., 2003).

Tab. 2.12: Gärungsprodukte verschiedener Aminosäuren (ZEHNDER, 1988)

Aminosäure	Gärungsprodukte
Tryptophan	Indolacetat , Indol, Indolpropionat
Phenylalanin	Phenylacetat , Phenylpropionat
Tyrosin	Hydroxyphenylacetat , Hydroxyphenylpropionat, Phenol
Arginin	Ornithin
Threonin	Propionat , Butyrat , Acetat
Glutaminsäure	Acetat, Butyrat
Lysin	Acetat, Butyrat
Asparaginsäure	Acetat, Succinat
Cystein	Pyruvat
Histidin	Glutamat
Serin	Pyruvat
Methionin	Acetat, Propionat, Butyrat
Asparagin	Acetat
Alanin	Acetat
Valin	iso-Butyrat
Leucin	iso-Valerat
Isoleucin	2-Methylbutyrat
Prolin	Valerat, Propionat, Acetat

2.2.3 Acetogenese

Während der **Acetogenese** erfolgt der weitergehende Abbau der bis hierhin gebildeten Säuren und den teilweise noch langkettigen Fettsäuren zu Kohlendioxid, Wasserstoff und Acetat. Die aus der Hydrolyse von Fetten stammenden langkettigen Fettsäuren, werden ebenfalls während der Acetogenese über die **β -Oxidation** abgebaut.

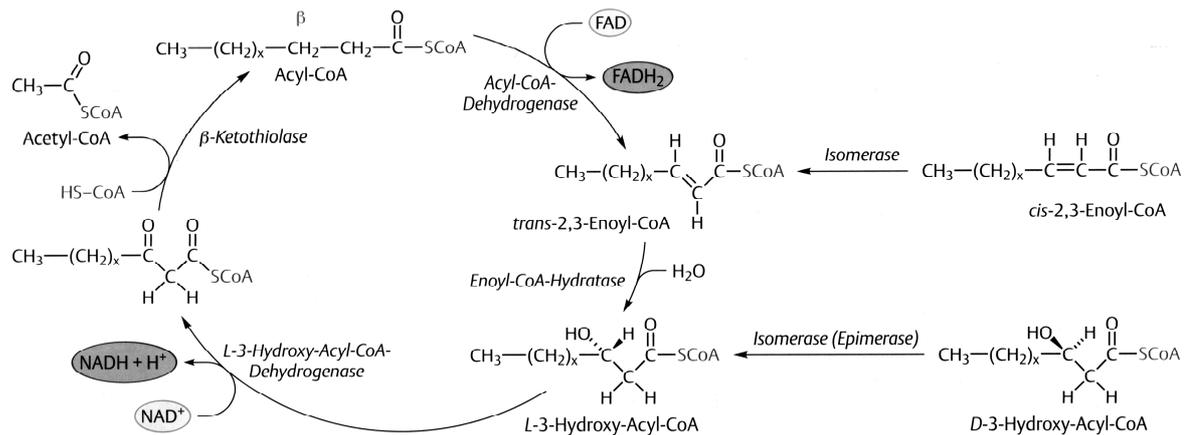


Abb. 2.21: Schema der β -Oxidation von langkettigen Fetten (FUCHS, 2006)

Langkettige Fettsäuren werden zunächst mittels Coenzym A (CoA) aktiviert. Die Oxidation führt zur Freisetzung von Acetyl-CoA und einer um zwei C-Atome verkürzten Fettsäure. Diese verkürzte Fettsäure kann anschließend den Zyklus erneut durchlaufen. Bei der Oxidation von Fettsäuren mit ungerader Anzahl von C-Atomen wird zusätzlich CO₂ gebildet.

Aufgrund ihrer Stoffwechselprozesse kann man die acetogenen Mikroorganismen in zwei Gruppen einteilen. In die **homoacetogenen Organismen**, die CO₂ und H₂ in Acetat umwandeln und eine Gruppe **sekundärer Gärer**, die in einer Syntrophie zusammenleben.

Homoacetogene Stoffwechselwege

Die homoacetogenen Organismen bauen CO₂ und H₂ zu Acetat um, dies geschieht über den **Acetyl-CoA-Weg**. Die Reaktionen des Acetyl-CoA-Weges bilden keinen Zyklus. Kohlendioxid wird über zwei lineare Reaktionsketten reduziert (siehe Abbildung 2.22).

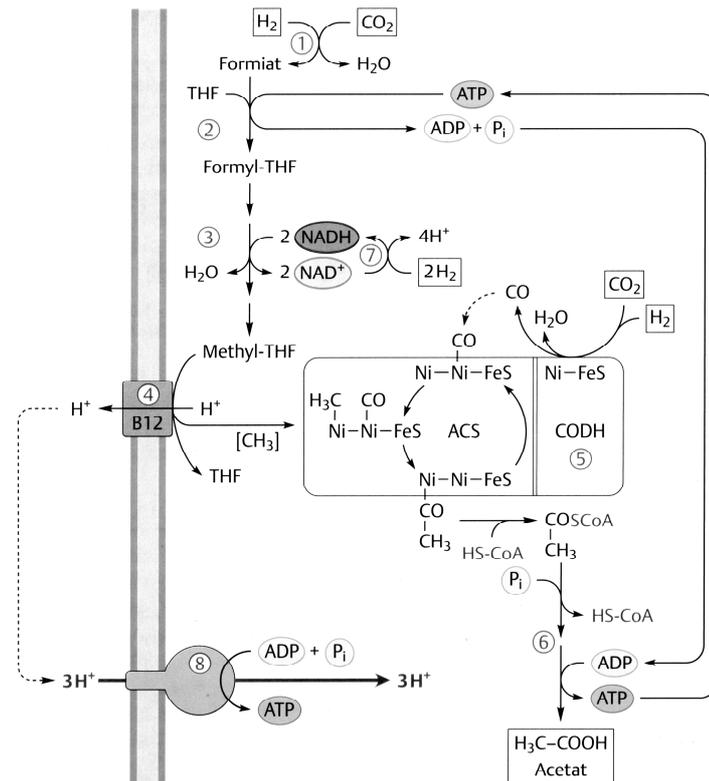


Abb. 2.22: Schema der Acetatbildung aus CO_2 und H_2 über den Acetyl-CoA-Weg (HEIDER, 2006)

Ein Kohlendioxidmolekül wird dabei zu einer Methylgruppe eines Essigsäuremoleküls reduziert, ein anderes zur Carbonylgruppe der Essigsäure. Am Ende werden beide Moleküle zur Essigsäure zusammengefügt. Das Schlüsselenzym dieses Prozesses ist die **Kohlenmonoxidhydrogenase**, ein Enzymkomplex, der die Metalle Nickel, Zink und Eisen als Cofaktoren enthält und folgende Reaktion von Kohlendioxid und Wasserstoff zu Kohlenmonoxid und Wasser katalysiert (MADIGAN et al., 2003).

Neben dem beschriebenen Acetyl-CoA-Weg können einige Homoacetogene auch verschiedene Zucker als Substrat nutzen. Eine Auswahl an Organismen, die diesen Weg zum Energiegewinn und nicht zum Einbau von Kohlenstoff in ihre Biomasse nutzen, ist in Tabelle 2.13 aufgelistet.

Tab. 2.13: Beispiele für homoacetogene Mikroorganismen (MADIGAN et al., 2003)

Acetoanaerobicum noterae	Acetobacterium wodii
Acetoanaerobicum wieringae	Acetogenium kivui
Acetitomaculum ruminis	Clostridium aceticum
Clostridium thermoaceticum	Clostridium formiaceticum
Desulfotomaculum orientis	Sporomusa paucivorans

Stoffwechselwege der sekundären Gärer

Diese zweite Gruppe der acetogenen Organismen metabolisieren beispielsweise Propionat, Butyrat, Succinat oder Alkohole zu Acetat sowie CO_2 und H_2 . Bei dieser Mikroorganismengruppe handelt es sich um syntrophe Organismen. **Syntrophie** bezeichnet eine Lebensgemeinschaft zweier Mikroorganismengruppen, in der beide für die Durchführung bestimmter Stoffwechselwege voneinander abhängen. Bei der anaeroben Fermentation zu Biomethan bilden methanogene (**Wasserstoffverbraucher**) und acetogene (**Wasserstoffproduzenten**) Mikroorganismen eine syntrophe Assoziation. Die Aktivität methanogener Bakterien führt zu einem niedrigen Wasserstoffpartialdruck im Milieu. Dies ist die thermodynamische Voraussetzung für die Wasserstofffreisetzung acetogener Organismen. Man spricht hierbei von einem „**interspecies hydrogen transfer**“ (MADIGAN et al., 2003 & HEIDER, 2006). Erst durch die Anwesenheit von Methanbakterien können die Stoffwechselwege der acetogenen Bakterien ablaufen und umgekehrt.

Die syntrophen **Sekundärfermentierer** fermentieren Stoffwechselprodukte der hydrolysierenden und versäuernden Bakterien. Beispiele für syntrophe Abbauwege sind die Vergärung von Ethanol zu Essigsäure oder die Gärung von Butyrat zu Acetat:

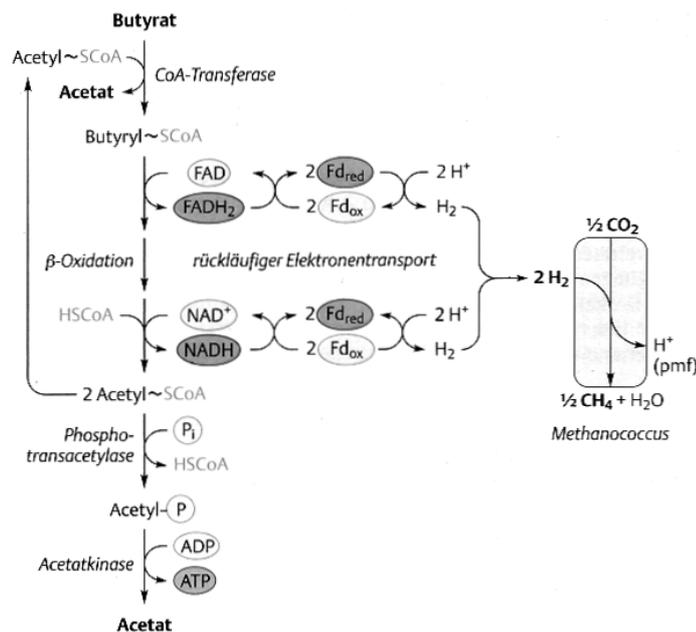


Abb. 2.23: Syntrophe sekundäre Vergärung von Butyrat zu Acetat (HEIDER, 2006)

Sowohl die Ethanolgärung, als auch die Butyratgärung sind endergone Reaktionen. D.h. es wird Energie benötigt, um die Reaktion durchzuführen. Wird der gebildete Wasserstoff jedoch von den methanogenen Bakterien sofort verbraucht, verschiebt sich das Reaktionsgleichgewicht zu Gunsten der Produkte und die Reaktionen werden exergon. Im Regelfall

wird die Wasserstoffkonzentration bei 10^{-4} bar gehalten (MADIGAN et al., 2003 & HEIDER, 2006).

Tab. 2.14: Beispiele für syntrophe Mikroorganismen (MADIGAN et al., 2003)

Spezies	Substrat	Produkte
Syntrophomonas wolfei	Carbonsäuren mit 4 – 8 C-Atomen	Acetat, CO ₂ , H ₂
Syntrophomonas sp.	Carbonsäuren mit bis zu 18 C-Atomen	Acetat, CO ₂ , H ₂
Syntrophobacter wolinii	Propionat	Acetat, CO ₂ , H ₂
Syntrophus gentianae	Benzoat	Acetat, CO ₂ , H ₂

Tabelle 2.15 zeigt zusammenfassend die wichtigsten acetogenen Reaktionen:

Tab. 2.15: Wichtige acetogene Reaktionen bei der anaeroben Fermentation zu Biomethan (MADIGAN et al., 2003)

Reaktionstyp	Gesamtreaktion
homoacetogen	Glucose + 4 H ₂ O → 2 Acetat + 2 HCO ₃ ⁻ + 4H ⁺ + 4 H ₂
homoacetogen	Glucose + 2 H ₂ O → Butyrat + 2 HCO ₃ ⁻ + 4 H ₂ + 3 H ⁺
homoacetogen	2 H ₂ + 2 HCO ₃ ⁻ + H ⁺ → Acetat + 4 H ₂ O
syntroph	Butyrat + 2 H ₂ O → 2 Acetat + H ⁺ + H ₂
syntroph	Propionat + 3 H ₂ O → Acetat + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + H ₂
syntroph	2 Ethanol + 2 H ₂ O → 2 Acetat + 4 H ₂ + 2H ⁺
syntroph	Benzoat + 6 H ₂ O → 3 Acetat + 2 H ⁺ + CO ₂ + 3 H ₂

Der Ablauf der Acetogenese ist stark vom vorherrschenden Wasserstoffpartialdruck im Reaktionsmedium abhängig. Anreicherungen von Propionat können Hinweise auf eine Störung des Prozesses geben, da die Vergärung von Propionat schon bei sehr geringen Mengen an Wasserstoff keine Energie mehr liefern kann (MUDRACK et al., 2003 & KUNST et al., 2005).

2.2.4 Methanogenese

Während der Methanogenese wird CH₄ aus verschiedenen Edukten gebildet. Man unterscheidet dabei in die Substratquelle CO₂, acetotrophe Substrate und Methylsubstrate. Letztere spielen eine untergeordnete Rolle. Es gibt drei Ordnungen methanogener Bakterien: **Methanobacteriales**, **Methanococcales** und **Methanomicrobiales**. An der Methanbildung sind zudem eine Reihe charakteristischer Coenzyme beteiligt. Diese lassen sich in zwei

Gruppen einteilen. Als **C1-Überträger** werden die Coenzyme Methanofuran, Methanopterin und Coenzym M (CoM) bezeichnet. Zu den **Redoxenzymen** zählen die Coenzyme F₄₂₀ und 7-Mercaptoheptanoylthreoninphosphat (Coenzym B, CoB). Das Tetrapyrrolcoenzym F₄₃₀ überträgt keine Kohlenstoffeinheit, ist aber bei einem solchen Vorgang unmittelbar beteiligt und kann deshalb der ersten Gruppe zugeteilt werden (MUDRACK et al., 2003 & HEIDER, 2006).

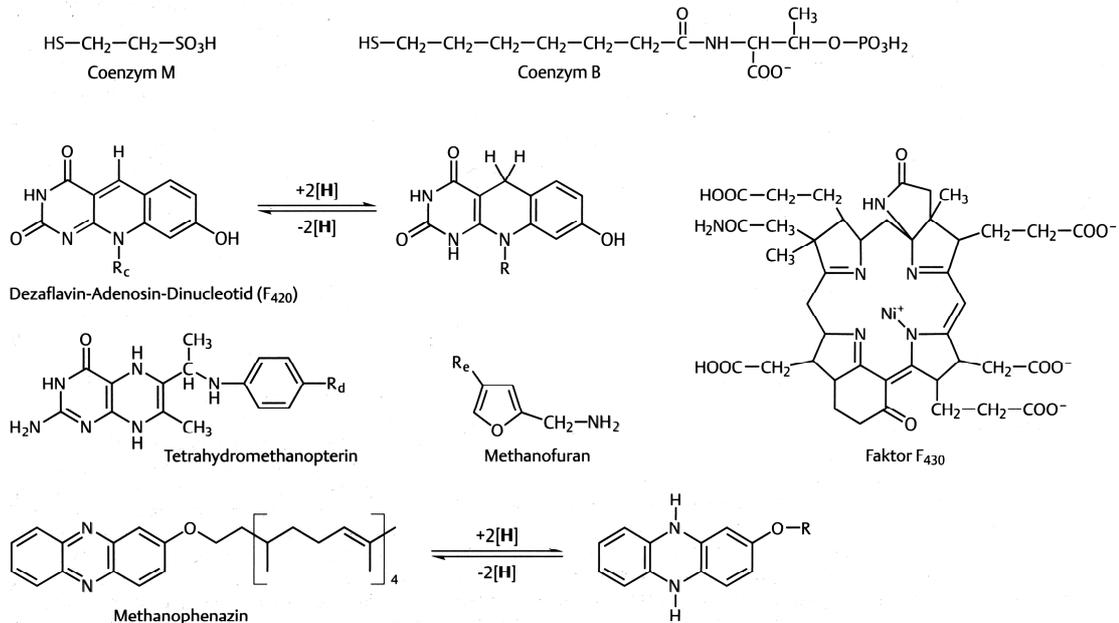


Abb. 2.24: Coenzyme methanogener Mikroorganismen (HEIDER, 2006)

Methanbildung aus Wasserstoff und Kohlendioxid

Die **wasserstoffoxidierenden** Mikroorganismen, die an diesem Stoffwechselweg beteiligt sind können Methan aus CO₂ und H₂ bilden. Weitere Substrate für die Methanbildung auf diesem Weg sind Kohlenmonoxid und Formiat, die die benötigten Elektronen für die Reduktion bereit stellen. Sogar bestimmte Alkohole können als Elektronendonatoren dienen (MADIGAN et al., 2003).

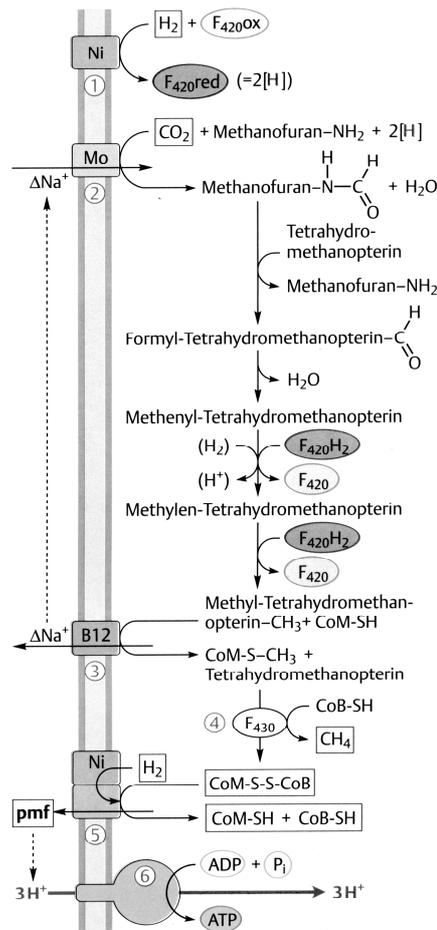
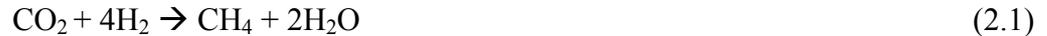


Abb. 2.25: Schema der Methanbildung aus H_2 und CO_2 (HEIDER, 2006)

Zunächst wird Kohlendioxid durch eine membranständige Formyl-Methanofuran-Dehydrogenase aktiviert und anschließend auf das Niveau einer Formylgruppe reduziert und auf das Coenzym Tetrahydromethanopterin übertragen. In zwei Schritten wird es danach durch das reduzierte Coenzym F_{420} auf Methylen- und Methylniveau dehydriert und reduziert. Die Methylgruppe wird auf ein Enzym übertragen, welches Coenzym M enthält. Das so entstandene Methyl-CoM wird schließlich zu Methan reduziert. Dabei sind die Coenzyme F_{430} und B beteiligt. Coenzym F_{430} entfernt die CH_3 -Gruppe aus dem CH_3 -CoM-Komplex und bildet einen Ni^{2+} - CH_3 -Komplex. Elektronen aus dem Coenzym B (CoB) reduzieren diesen und bilden dabei Methan sowie einen Disulfidkomplex aus CoB und CoM. Über H_2 werden CoB und CoM wieder regeneriert. Aus dieser Reaktion ist für die Organismen ein ATP-Gewinn über eine Protonenpumpe möglich. Na^+ -Protonen werden zu Proton- Motive Force (pmf) umgewandelt. Aus diesem Grund wird die Methanogenese auch „anaerobe Atmung“ genannt (MADIGAN et al., 2003 & HEIDER, 2006).

Die stöchiometrische Summengleichung der Methanbildung aus CO₂ lautet:



Methanbildung aus Acetat

Die Spaltung von Acetat zu CO₂ und CH₄, wird als acetotrophe Reaktion bezeichnet. Diese Reaktion wird nur von wenigen methanogenen Organismen (Methanosarcina-Arten) durchgeführt. Diese Bakterien besitzen zusätzlich das Coenzym Methanophenazin (MP). Bei der anaeroben Fermentation zu Biomethan dominiert die Methanbildung aus der acetotropen Reaktion im Vergleich zur Methanbildung aus Kohlendioxid. Ungefähr zwei Drittel des gebildeten Methans werden auf diese Weise erzeugt (MADIGAN et al., 2003 & MUDRACK et al., 2003).

Der Reaktionsmechanismus der Methanbildung aus Acetat wird in Abbildung 2.26 dargestellt.

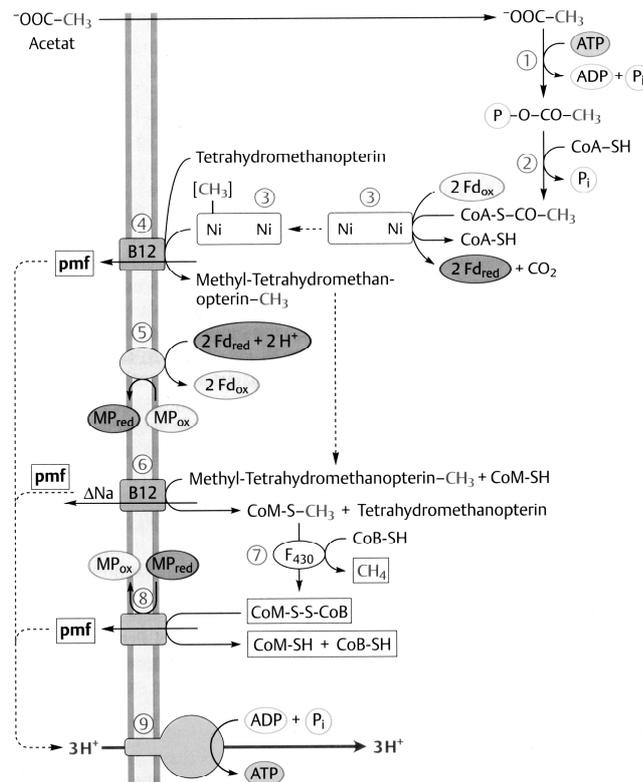


Abb. 2.26: Schema der Methanbildung aus Acetat (HEIDER, 2006)

Unter ATP-Hydrolyse wird zunächst Acetat zu Acetyl-CoA aktiviert. Das bifunktionale Enzymsystem aus Kohlenmonoxid-Dehydrogenase und Acetyl-CoA-Synthase spaltet Acetyl-CoA zu Methyleinheiten sowie CO-Einheiten und setzt aus letzterer CO₂ frei. Die Methylgruppe wird über F₄₃₀ auf CoM übertragen. Der weitere Reaktionsweg erfolgt analog zur Methanbildung aus Kohlendioxid.

Die stöchiometrische Summengleichung der Methanbildung aus Acetat lautet:



Eine Auswahl wichtiger Vertreter der methanogenen Bakterien ist in Tabelle 2.16 dargestellt.

Tab. 2.16: Klassifikation methanogener Bakterien nach Substratquellen (MADIGAN et al., 2003)

Gattung	Art	Substratquelle
Methanobacterium	Methanobacterium thermoautotrophicum	CO ₂ , H ₂
	Methanobacterium bryantii	CO ₂ , H ₂
	Methanobacterium formicium	CO ₂ , H ₂ , Formiat
	Methanobacterium ruminantum	CO ₂ , H ₂ , Formiat
	Methanobacterium arboriphilus	CO ₂ , H ₂
	Methanobacterium smithii	CO ₂ , H ₂ , Formiat
Methanococcaceae	Methanococcus vannielii	CO ₂ , H ₂ , Formiat
Methanomicrobiales	Methanosarcina barkeri	H ₂ , Methanol, Acetat
	Methanosarcina mazei	Methylamine
	Methanotherix soehngenii	Acetat
	Methanomicrobium mobile	CO ₂ , H ₂ , Formiat
	Methanospirillum hungatii	CO ₂ , H ₂ , Formiat
Methanopyrales	Methanopyrus	CO ₂ , H ₂

Alle Methanogenen Organismen sind den Archaeobakterien zuzuordnen. Sie unterscheiden sich von anderen Bakterien in einigen wesentlichen Merkmalen. Wichtige Unterschiede liegen zum Beispiel im Aufbau der Zellwände, in verschiedenen Verknüpfungsarten der Membranlipide oder in der Empfindlichkeit gegenüber Toxinen und Antibiotika (MADIGAN et al., 2003 & HEIDER, 2006).

2.2.5 Einflussfaktoren auf den anaeroben Abbauprozess

Fermentationstemperatur

Wie alle chemischen Reaktionen werden auch biochemische Reaktionen von der Temperatur beeinflusst. Die **van't Hoffsche Gleichung** beschreibt den Einfluss der Temperatur auf das Reaktionsgleichgewicht (K_p) biochemischer Reaktionen.

$$\frac{d \ln K_p}{dT} = \frac{\Delta G}{R \cdot T^2} \quad (2.3)$$

Aus ihr ist abzuleiten, dass sich das Reaktionsgleichgewicht einer endothermen Reaktion bei zunehmender Temperatur zu Gunsten der Produkte verschiebt, bei exothermen Reaktionen folglich zu Gunsten der Edukte.

Da dies sowohl für Aufbau-, als auch Abbaureaktionen gilt und dabei extrem hohe Temperaturen zur Denaturierung zelleigener Enzyme führen kann, werden Mikroorganismen gemäß ihrer Temperaturvorlieben in verschiedene Gruppen eingeteilt. Man unterscheidet **psychrophile** (unter 20 °C), **mesophile** (20 – 40 °C) und **thermophile** (über 40 °C) Mikroorganismen. Die Organismen erreichen in den angegebenen Temperaturbereichen das Maximum ihrer Wachstumsrate (KROISS et al., 2005).

Nach ZOETEMEYER et al. (1982) sind versauernde Mikroorganismen weniger temperaturempfindlich. Sie besitzen ein Wachstumsmaxima im mesophilen und eines im thermophilen Bereich (Abbildung 2.27).

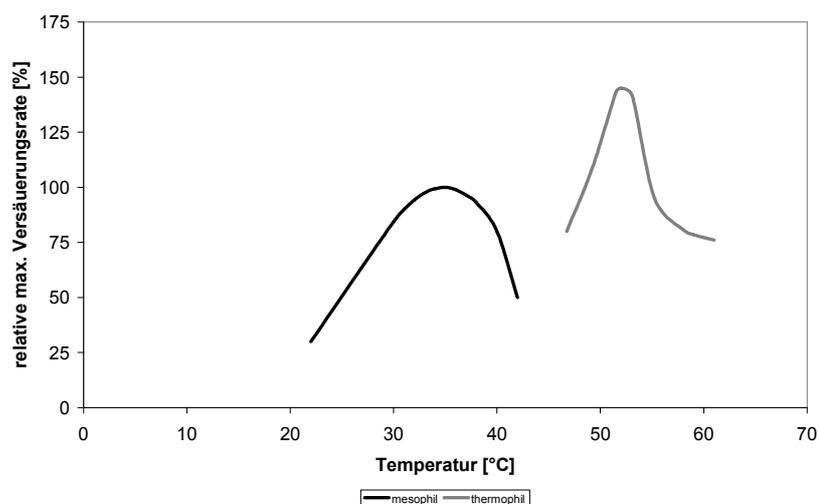


Abb. 2.27: Relative maximale Versäuerungsrate von Säurebakterien in Abhängigkeit von der Temperatur (nach ZOETEMEYER et al., 1982)

Die Versäuerungsraten sind auf die maximale Versäuerungsrate bei 35 °C im mesophilen Bereich bezogen. Der Verlauf der beiden Kurven lässt Rückschlüsse auf die Prozessstabilität zu. Kurzfristige Temperaturschwankungen werden im mesophilen Bereich von den Mikroorganismen besser toleriert, da ein breiteres Maximum vorliegt als im thermophilen Reaktorbetrieb. Die Vorteile einer thermophilen Betriebsweise liegen in den höheren Substratumsatzraten und der damit verbundenen kürzeren Verweilzeit des Substrats im Reaktor (KROISS et al., 2005).

Unter den methanogenen Bakterien existieren psychrophile, mesophile und thermophile Stämme.

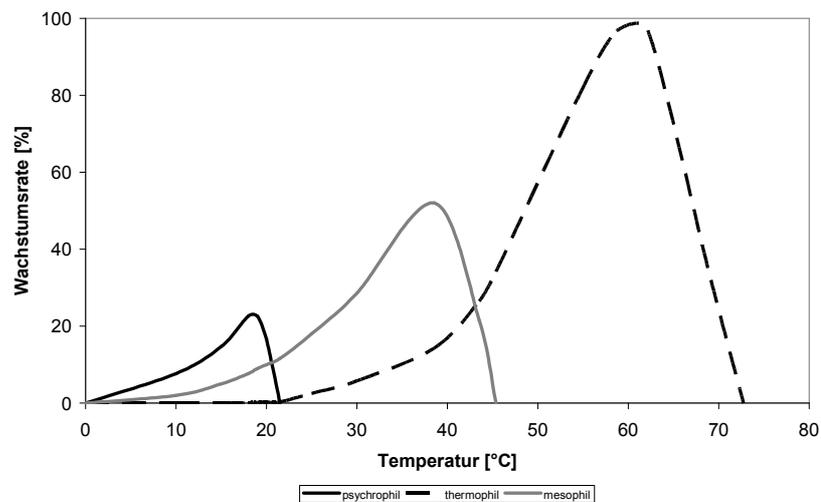


Abb. 2.28: Abhängigkeit der maximalen Umsatzraten methanogener Bakterien von der Temperatur (nach KROISS et al., 2005)

Die mesophilen Organismen stellen dabei jedoch die mit Abstand größte Gruppe dar. Ihre maximalen Umsatzraten erreichen die mesophilen Organismen bei Temperaturen zwischen 30 und 40 °C, psychrophile Organismen zwischen 15 und 20 °C und die thermophilen zwischen 50 und 55 °C. In Ausnahmefällen arbeiten Methanbildner wie zum Beispiel das *Methanobacterium thermoautotrophicum* auch bei hochthermophilen Temperaturen von 65 bis 75 °C. Ab etwa 42 °C fallen die Umsatzraten der mesophilen Bakterien stark ab, während thermophile Organismen hier geringe Umsatzraten zeigen. Charakteristisch ist, dass in allen Temperaturbereichen der optimale Temperaturbereich sehr eng ist. Die Umsatzraten sind im thermophilen Bereich am höchsten (KROISS et al., 2005).

pH-Wert

Unter pH-Wert versteht man den negativen dekadischen Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration. Den Bakterien der einzelnen Prozessstufen sind unterschiedliche pH-Werte zueigen, bei denen ihnen ein optimales Wachstum garantiert ist. Daher existiert kein optimaler pH-Wert für den Gesamtprozess. Bei hydrolysierenden und acidogenen Bakterien liegt der optimale pH-Wert zwischen 4,5 und 6,3. Zwar findet auch unterhalb dieses Wertes Versäuerung statt, allerdings auf niedrigerem Niveau. Methanbakterien hingegen benötigen ein neutrales Milieu mit einem pH-Wert im Bereich von 6,8 bis 7,5. Dieser muss auch im Fermenter eingehalten werden, denn bei einer Unterschreitung dieser Grenze zeigt sich eine deutliche Reduzierung der Stoffwechselaktivität und daraus resultiert eine verminderte Methanproduktion (KROISS et al., 2005).

Da der pH-Wert auch von den eingesetzten Substraten abhängt, tritt eine Versäuerung besonders bei stark kohlenhydrathaltigem Substrat auf. Im Gegensatz dazu wird bei proteinhaltigem Substrat Ammonium gebildet, das durch seine Alkalität den pH-Wert stark anhebt.

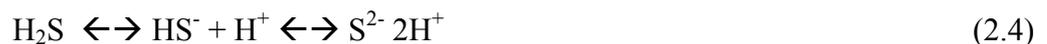
Gerade bei der Reinigung hoch konzentrierter Abwässer besteht die Gefahr der Versäuerung. Als Gegenmaßnahme empfiehlt sich zum einen die Rücknahme der CSB-Belastung des Reaktors, zum anderen das Neutralisieren des pH-Wertes durch Zugabe von Calciumhydroxid oder Natronlauge (KROISS et al., 2005).

Wasserstoffpartialdruck

Wie bereits erläutert, spielt der Wasserstoff bei den anaeroben Abbauvorgängen eine entscheidende Rolle (Interspecies Hydrogen Transfer). In der acetogenen Stufe hingegen verhindert ein hoher Wasserstoffpartialdruck die β -Oxidation der Fettsäuren (Abspaltung von Essigsäure), da keine Dehydrierung stattfinden kann. Die methanogenen Mikroorganismen benötigen Wasserstoff als Elektronendonator und sind auch gegenüber höheren Konzentrationen an Wasserstoff unempfindlich. Eine übermäßige Wasserstoffbildung ist ein frühzeitiges Anzeichen für einen folgenden Abfall des pH-Wertes. Bei hohem pH-Wert sind die Reaktionen der acetogenen Phase, bei denen Wasserstoff gebildet wird, gehemmt. Die in der Acidogenese gebildeten flüchtigen Fettsäuren reichern sich an und werden nicht mehr zu Methan und Kohlendioxid umgesetzt. Die Folge ist ein Absinken des pH-Wertes. Die Auswirkungen hohen Wasserstoffpartialdruckes auf die versäuernden Mikroorganismen äußern sich in der Zusammensetzung der Ausscheidungsprodukte. Stärker reduzierte Produkte wie Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Milchsäure und Ethanol werden anstelle von Essigsäure, Wasserstoff und Kohlendioxid gebildet. Dennoch findet aber eine Versäuerung der organischen Substanzen statt (GREPMEIER, 2002).

Schwefelwasserstoffkonzentration

Schwefelwasserstoffquellen sind proteinhaltige Substrate (Aminosäuren Cystein und Methionin), Schwefelsäure (Reinigung von Edelstahlbehältern) oder Sulfate. Sulfate werden von schwefelreduzierenden Mikroorganismen zu Schwefelwasserstoff umgewandelt. Der entstehende Schwefelwasserstoff wird teilweise mit dem entstehenden Biogas frei. Aufgrund der Wasserlöslichkeit ist auch die Dissoziation nach untenstehender Gleichung als schwache Säure möglich. Dabei entstehen Hydrogensulfid- und Sulfidionen (GREPMEIER, 2002).



Bei einer Überlastung des Fermenters (Methanstufe) und dem daraus resultierenden Absinken des pH-Wertes verschiebt sich obiges Gleichgewicht auf die Seite des undissoziierten Schwefelwasserstoffes wodurch die Hemmwirkung zunimmt. Eine besonders starke Abhängigkeit vom pH-Wert liegt in einem Bereich zwischen pH 6 bis pH 8 vor (Abbildung 2.29).

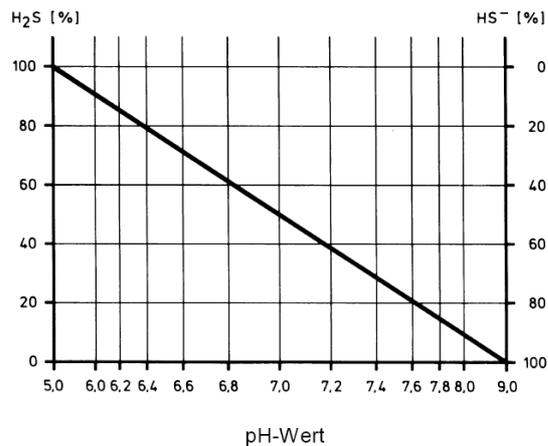


Abb. 2.29: Prozentualer Anteil des undissoziierten Schwefelwasserstoffes in Abhängigkeit vom pH (KROISS et al., 2005)

Bei pH 6 liegen etwa 90 % des Gesamtsulfids als Schwefelwasserstoff vor, bei pH 8 hingegen weniger als 10 %. Einen weiteren Einfluss auf die Toxizität des Schwefelwasserstoffes hat die Temperatur. Mit steigender Temperatur nimmt die Toxizität des Schwefelwasserstoffes zu (GREPMEIER, 2002).

Eine Hemmung kann auch durch Konkurrenz um das Substrat Wasserstoff zwischen sulfatreduzierenden und methanogenen Mikroorganismen unter Anwesenheit von Sulfat geschehen. Aus energetischen Gründen wird die Reduktion des Sulfates zu

Schwefelwasserstoff der Methanbildung vorgezogen. Für die Methanbildung fehlen der nötige Wasserstoff bzw. Essigsäure (GREPMEIER, 2002).

Die Auswirkungen der Sulfatreduktion bzw. die Konzentration an Schwefelwasserstoff beeinflussen jedoch die hydrolysierenden und versäuernden Mikroorganismen nicht. Durch zweistufige Prozessführung kann in der ersten Stufe, bedingt durch den niederen pH-Wert, ein Großteil des Schwefels in Form von Schwefelwasserstoff mit dem Hydrolysegas entfernt werden. Dies bringt zwei entscheidende Vorteile mit sich. Zum einen ist die Gefahr einer Hemmung durch Schwefelwasserstoff in der Methanstufe dadurch minimiert, zum anderen ist der Anteil an Schwefelwasserstoff im Biogas der zweiten Stufe deutlich geringer. Falls das Gas der ersten Stufe getrennt erfasst und z.B. über einen Biofilter abgeleitet wird, vermindert dies die Notwendigkeit einer aufwendigen Gasreinigung und Korrosionsprobleme bei der anschließenden Gasverwertung (GREPMEIER, 2002).

Ammonium/Ammoniak

Ammonium stellt eine wichtige Nährstoffquelle für die methanogenen Mikroorganismen dar. Ammoniak wird beim Abbau stickstoffhaltiger Verbindungen, vor allem von Proteinen, freigesetzt. Abhängig vom pH-Wert und der Temperatur kann Ammonium und das damit in Gleichgewicht stehende Ammoniak zu einem wesentlichen Hemmfaktor für die methanogenen Mikroorganismen werden. Die versäuernden Mikroorganismen werden in ihren Abbaureaktionen hingegen kaum beeinträchtigt. Auch für Ammonium und Ammoniak lässt sich in wässriger Lösung ein pH-Wert abhängiges Dissoziationsgleichgewicht angeben (KROISS et al., 2005).



Für die Hemmwirkung ist vornehmlich der undissoziierte Anteil, das Ammoniak verantwortlich. Der Anteil des undissoziierten Ammoniaks steigt in wässriger Lösung nach obigem Gleichgewicht mit steigendem pH-Wert. Eine beginnende Hemmung nicht adaptierter methanogener Mischpopulationen wurde bei Ammoniumstickstoffkonzentrationen von 700 mg/l beobachtet (KOSTER, 1988). Für methanogene Reinkulturen wurden höhere Werte von 3300 mg/l und 4200 mg/l für eine beginnende Hemmung ermittelt. Die hemmende Wirkung des freien Ammoniaks im Fermenter tritt bei wesentlich geringeren Konzentrationen auf. Obiges Gleichgewicht ist auch stark von der Temperatur abhängig. Bei niedrigeren Temperaturen verschiebt sich das Dissoziationsgleichgewicht in Richtung Ammonium (GREPMEIER, 2002).

Sonstige Einflussfaktoren

Neben den beschriebenen Faktoren spielen Nährstoffgehalte und Spurenelementkonzentrationen eine Rolle. Für eine optimale Gasausbeute sollte ein Kohlenstoff : Stickstoff-Verhältnis (C : N) zwischen 16 : 1 und 25 : 1 angestrebt werden. Für den anaeroben Abbau von Kohlenhydraten ist ein Nährstoffverhältnis von CSB : N : P von 300 : 5 : 1 und für den Abbau von Lipiden und Proteinen ein Verhältnis von CSB : N : P von 800 : 5 : 1 erforderlich. Bei Stickstoffmangel kann der Kohlenstoff nur unvollständig genutzt werden. Im Überschuss vorhandener Stickstoff wird von den Mikroorganismen ammonifiziert und kann als Ammonium oder Ammoniak hemmende und toxische Einflüsse ausüben (GREPMEIER, 2002).

Zudem werden Mindestkonzentrationen an Spurenelementen wie Kobalt, Molybdän, Nickel, Selen, Chrom, Mangan und Blei benötigt. Andererseits kann das Vorhandensein von Metallen eine toxische Wirkung hervorrufen (GREPMEIER, 2002).

2.3 Fermentationsprozesse

Als **Fermentation** wird in der Biotechnologie die Umsetzung von biologischen Materialien (Substrat) mit Hilfe von Bakterien-, Pilz- oder Zellkulturen oder durch den künstlichen Zusatz von Enzymen (Fermenten) zu verschiedenen Produkten bezeichnet. Ein Fermentationsprozess läuft in der Regel in einem Fermenter ab. Fermenter sind **Bioreaktoren**, in denen in Anwesenheit eines Biokatalysators eine Stoffumwandlung erfolgt. Eine gute Homogenisierung des Substrates ist nötig für eine hohe Umsatzrate (CHMIEL, 2008).

2.3.1 Fermentationsparameter

Raumbelastung

Zur Charakterisierung umweltbiotechnischer Anlagen wird meist die Raumbelastung herangezogen. Sie dient dazu, ein Optimum an Abbauleistung zu erreichen. Die Raumbelastung B_R gibt an, wie viel Kilogramm organischer Trockensubstanz oTS dem Fermenter je m^3 Volumen und Zeiteinheit zugeführt werden kann. Die Raumbelastung ergibt sich gemäß folgender Beziehung:

$$B_R = \frac{\dot{m} \cdot c}{V_R} \quad (2.6)$$

Verweilzeit

Ein weiterer Parameter bei der Auslegung der Reaktorgröße ist die hydraulische Verweilzeit HRT (hydraulic retention time). Allgemein stellt dies die Zeitdauer dar, die ein zugeführtes Substrat im Durchschnitt bis zu seinem Austrag im Fermenter bleibt.

$$HRT = \frac{V_R}{\dot{V}} \quad (2.7)$$

Durchmischung

Um eine hohe Abbauleistung und Biogasproduktion zu erreichen, ist ein intensiver Kontakt zwischen abzubauenem Substrat und den Mikroorganismen erforderlich, welcher durch die Durchmischung hergestellt wird. Besonders wichtig ist dies während der Hydrolyse und Acidogenese. Infolge der Durchmischung werden pH- und Temperaturgradienten verringert. Außerdem wird die Bildung von Schwimm- oder Sinkschichten verhindert. Die Durchmischung kann mechanisch oder durch die Biogasblasen erfolgen. Bei mechanischem Mischen entsteht allerdings ein hoher Energieaufwand. In der Methanogenese muss die Durchmischung zudem sehr schonend ablaufen, da andernfalls die Mikroorganismen durch Scherkräfte negativ beeinflusst werden.

CSB-Abbaugrad

Der CSB-Abbaugrad beschreibt den prozentualen Anteil des CSB im Zulauf, der im Reaktor abgebaut wird.

$$\text{Abbaugrad} = 100 - \frac{CSB_{\text{Ablauf}} \cdot 100}{CSB_{\text{Zulauf}}} \quad (2.8)$$

Spezifische Biogasbildungsrate

Die spezifische Biogasbildungsrate gibt die Menge an Biogas wieder, die pro Reaktorvolumen am Tag gebildet wird.

$$\text{spez. Biogasbildungsrate} = \frac{\dot{V}_{\text{gas}}}{V_R} \quad (2.9)$$

Gasausbeute

Die Gasausbeute beschreibt die Menge an Biogas, die pro Gramm eliminiertem CSB entsteht.

$$\text{Gasausbeute} = \frac{\dot{V}_{\text{gas}}}{V_S} \cdot (CSB_{\text{Zulauf}} - CSB_{\text{Ablauf}}) \quad (2.10)$$

2.3.2 Batch-Fermentation

Eine Batch-Fermentation ist ein Prozess in einem **geschlossenen System**. Zu Beginn wird eine definierte Menge Substrat in den Reaktor gegeben und mit Mikroorganismen (Inokulum) beimpft. Während der sich anschließenden Fermentation werden dem Reaktor keine Massenströme zu- oder abgeführt. Das Fermentationsvolumen bleibt somit konstant. Nach Beendigung der Fermentation wird der Reaktor entleert, gereinigt und der nächste Fermentationsprozess eingeleitet. Durch den Stoffwechsel der Mikroorganismen ändern sich während der Fermentation die Biomasse- und Metabolitkonzentrationen sowie die Substratzusammensetzung (CHMIEL, 2008).

Nach der Befüllung des Bioreaktors wird die erste Fermentationsphase (**Lag-Phase**) von der Adaption der Mikroorganismen an das Substrat geprägt. Die Länge dieser Phase wird vor allem durch den physiologischen Zustand des Inokulums beeinflusst. Nach erfolgreicher Adaption an das Substrat beginnt während der **logarithmischen Phase** die Zellvermehrung mit einer konstanten Wachstumsrate. Auch das Substrat wird mit einer konstanten Abbaurrate verwertet. Ist das Substrat weitgehend verbraucht oder sind genügend Hemmstoffe vorhanden, tritt die **stationäre Phase** ein und das Wachstum kommt zum Stillstand. Absterbende Zellen werden lysiert, wodurch erneut Nährstoffe frei werden. Deshalb ist während dieser Phase ein geringes Wachstum möglich. Häufig ist in dieser Phase die Bildung von sekundären Metaboliten zu beobachten. In der letzten Fermentationsphase, der **Sterbephase**, sind alle Energiereserven verbraucht und die Zellen sterben ab (CHMIEL, 2008).

Folgende Abbildung zeigt die typische Wachstumskurve einer Batch-Fermentation.

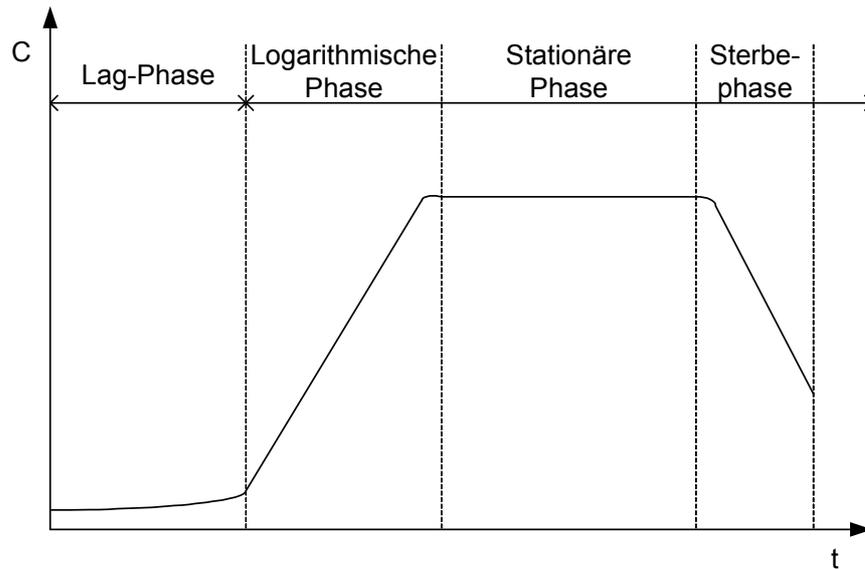


Abb. 2.30: Typische Wachstumskurve einer Batch-Fermentation (nach CHMIEL, 2008)

Werden für die Fermentation mehrere Substrate oder komplex zusammengesetzte Substrate verwendet, tritt oft ein mehrphasiger Fermentationsverlauf (**Diauxie**) auf. Zunächst werden für die Mikroorganismen leicht verwertbare Substratgruppen bevorzugt abgebaut. Nach einer erneuten kurzen Lag-Phase erfolgt der Abbau der schwerer abbaubaren Substratgruppen.

Die Leistungsfähigkeit einer Batch-Fermentation wird durch die Produktivität ausgedrückt:

$$\text{Pr} = \frac{P}{V_R \cdot t} \quad (2.11)$$

2.3.3 Kontinuierliche Fermentation

Bei kontinuierlichen Fermentationen wird dem Bioreaktor Substrat mit einer **konstanten Zufuhr** F zugegeben. Die Fermentationsmasse, die dabei dem Reaktor entnommen wird, entspricht der zugeführten Substratmasse. Im Rührkesselreaktor herrscht eine homogene Durchmischung des Reaktorinhalts. Somit verlässt neben den gebildeten Produkten und Biomasse auch nicht umgesetztes Substrat den Fermenter.

Abbildung 2.31 zeigt den typischen Verlauf der Variablen während einer kontinuierlichen Fermentation.

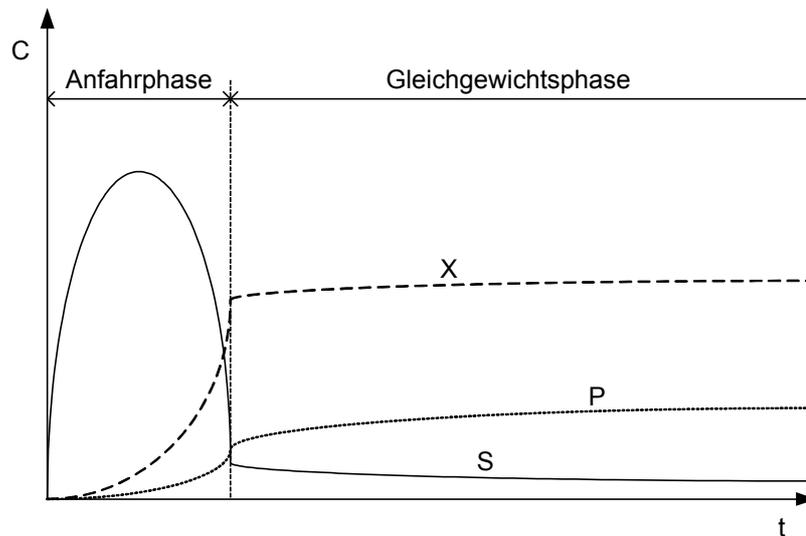


Abb. 2.31: Konzentrationsverlauf von Substrat (S)-, Produkt (P)- und Biomassekonzentration (X) einer kontinuierlich betriebenen Fermentation im CSTR (nach CHMIEL, 2008)

Während der **Anlaufphase** steigt die Substratkonzentration an und die Biomasse vermehrt sich mit maximaler Wachstumsrate. Je mehr Biomasse gebildet wird, desto mehr Substrat wird abgebaut. Schließlich wird mehr Substrat abgebaut als zugeführt wird. Dies hat zur Folge, dass auch die Wachstumsrate wieder sinkt. Somit erreicht das System einen **Gleichgewichtszustand**, in dem sämtliche Parameter nahezu konstant bleiben (CHMIEL, 2008).

Im Gleichgewichtszustand stellt sich die **Wachstumsrate** der Mikroorganismen auf die Verdünnungsrate ein. Die Verdünnungsrate ist dabei wie folgt definiert:

$$D = \frac{F}{V_R} \quad (2.12)$$

Die **Produktivität** der kontinuierlichen Fermentation kann über folgende Gleichung berechnet werden:

$$Pr = P \cdot D \quad (2.13)$$

2.4 Reaktortechnik

2.4.1 Rührkesselreaktor

Den einfachsten Bioreaktortyp stellt der **Ausschwemmreaktor** oder CSTR (Continuously Stirred Tank Reactor) genannt.

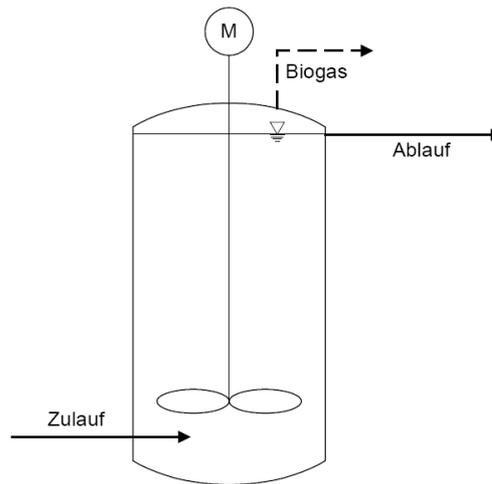


Abb. 2.32: Schema eines Rührkesselreaktors (GREPMEIER, 2002)

Die ständigen Durchmischung und Umwälzung des Substrates erfolgt durch einen Rührer oder Pumpen. Bei CSTR-Reaktoren gibt es keine Vorrichtung zum gezielten Rückhalt von Biomasse. Daraus resultiert, dass die hydraulische Aufenthaltszeit der Aufenthaltszeit der Mikroorganismen und damit auch dem Schlammalter entspricht. Es findet keine Anreicherung von Mikroorganismen im System statt, da sie mit dem Abwasserablauf mit ausgespült werden. Damit der Betrieb stabil gefahren werden kann, müssen sich neu gebildete und ausgespülte Mikroorganismen die Waage halten (MEYER et al., 2005).

Von besonderer Bedeutung ist folglich die **Wachstumsgeschwindigkeit** der Organismen. Des Weiteren steigt das erforderliche **Schlammalter** durch Faktoren wie Sterberate und Sicherheitsfaktoren. Das kontinuierliche Mischen fördert zwar den Kontakt zwischen Substrat und Mikroorganismen, andererseits verlässt dadurch aber auch ein Teil des Substrats unvollständig abgebaut den Reaktor (MEYER et al., 2005).

Rührkesselreaktoren besitzen ein **breites Einsatzspektrum**. Auch Substrate mit hohem Feststoffanteil können in diesen Bioreaktoren vergoren werden. Vor allem für die Hydrolyse und Versäuerung von biogenen Feststoffen ist dieser Reaktortyp geeignet.

Bei der Methanisierung von Abwässern sind Aufenthaltszeiten von 15 bis 25 Tagen die Regel. Die Aufenthaltszeit stellt das wichtigste Bemessungskriterium der CSTR-Reaktoren dar. Bei allen anderen Reaktortypen hängt die hydraulische Verweilzeit nicht von der

Verweilzeit der Biomasse ab, weshalb dort die Aufenthaltszeiten wesentlich geringer sind (MEYER et al., 2005).

Im Allgemeinen kann man bei einem CSTR von einem **Schwachlastreaktor** sprechen, dessen entscheidender Nachteil aufgrund der langen Aufenthaltszeit des Abwassers im Reaktor seine Dimensionierung darstellt. So hat sich zum Beispiel der Betrieb eines CSTR mit Abwasser mit einem BSB (biologischer Sauerstoffbedarf) kleiner als 1000 mg/l als nicht ökonomisch erwiesen, da auch bei geringer organischer Belastung des Abwassers große Reaktorvolumina benötigt werden (MEYER et al., 2005).

Ein Vorteil ist der relativ geringe maschinelle und steuerungstechnische Aufwand, was sich natürlich auch an den Investitionskosten ausmachen lässt. Negativ wirken sich hingegen die entstehenden Energiekosten durch den Betrieb des Rührers aus (MEYER et al., 2005).

2.4.2 Festbettreaktor

Bei **Festbettreaktoren** ist ein großer Teil des Reaktorvolumens mit **Trägermaterial** gefüllt. Dieses dient als Aufwuchsfläche für Mikroorganismen und führt zu einer Anreicherung von Biomasse im Reaktor.

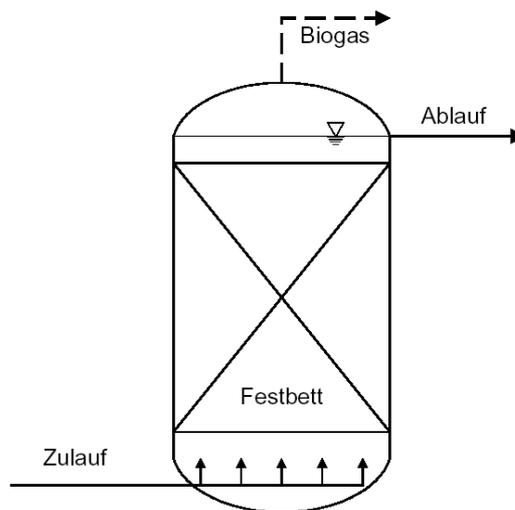


Abb. 2.33: Schema eines Festbettreaktors (Meyer et al., 2005)

Festbettreaktoren können im **Aufstrom- oder Abstromprinzip** betrieben werden. Sie unterscheiden sich dabei in der Anreicherung an Biomasse. Aufstromreaktoren zeigen höhere Konzentrationen an Biomasse. Diese liegt in Festbettreaktoren sowohl in Form von Aufwuchs, als auch suspendiert vor. Der Austrag im Aufstrombetrieb ist jedoch geringer. Nachteilig gegenüber dem Abstromverfahren ist eine höhere Verstopfungsanfälligkeit der Reaktoren. Wegen der Rückhaltewirkung werden Festbettreaktoren auch als „**anaerobe**

Filter“ bezeichnet. Das Volumenanteil des Trägermaterials liegt in der Regel bei ca. 70 % (MEYER et al., 2005).

Aufgrund des Füllgrades kann zwischen Festbettreaktoren und Teilfestbettreaktoren unterschieden werden. Hierbei sind die Grenzen fließend. Als Festbett dienen vor allem Kunststoffe, die hohe spezifische Oberflächen, hohe Porositäten und eine hohe Festigkeit bei geringem spezifischem Gewicht aufweisen. So werden Kunststoffe wie Polyethylen (PE), Polypropylen (PP), oder Polyvinylchlorid (PVC) eingesetzt, aber auch keramische Werkstoffe (MEYER et al., 2005).

Großtechnische Anlagen haben eine **hohe Bandbreite in ihrer CSB-Belastbarkeit**. Sie können bei hoch konzentrierten Abwässern mit einer CSB-Fracht von bis zu 20 kg CSB/(m³*d) eingesetzt werden. Teilweise sind auch höhere Raumbelastungen möglich. Die hydraulischen Verweilzeiten betragen bei einer mittleren CSB-Fracht von 10 kg CSB/(m³*d) zwischen 18 und 168 Stunden. Um eine ausreichende Durchströmung des Festbettes zu erzielen und gleichzeitig die Ausschwemmverluste der Biomasse zu minimieren, spielt die Wahl der Aufstromgeschwindigkeit eine entscheidende Rolle. Beide Ziele können bei Aufströmgeschwindigkeiten zwischen 0,5 und 2,0 m/h erreicht werden. Letztere sind jedoch nur bei niedrigen CSB-Konzentrationen im Zulauf möglich (MEYER et al., 2005).

Festbettreaktoren haben im Vergleich zu anderen Reaktortypen verschiedene Vor- und Nachteile. Durch die Fixierung der Biomasse auf Trägermaterialien kann ein hohes Schlammalter erzielt werden. Dies führt zu einer **Spezialisierung der Bakterienkulturen** und kann beim Abbau problematischer Substanzen von Vorteil sein. Außerdem sind die Reaktoren für relativ hohe CSB-Belastungen geeignet. Nachteilig sind hohe Kosten der Trägermaterialien und die Verstopfungsanfälligkeit. Bei weniger geeigneten Trägermaterialien liegt eine sehr geringe Biomassekonzentration im Reaktor vor (MEYER et al., 2005).

Die wichtigsten Vor- und Nachteile anaerober Festbettreaktoren sind in Tabelle 2.17 zusammengefasst.

Tab. 2.17: Vor- und Nachteile von Festbettreaktoren (MEYER et al., 2005)

Vorteile	Nachteile
hohe CSB-Raumbelastungen möglich	z.T. hohe Kosten für Trägermaterial und Stützkonstruktion
komplexe Abbaumechanismen durch Spezialisierung der Organismen möglich	Kurzschlussströme und Verstopfungen sind möglich
hohes Schlammalter wegen der Fixierung auf Trägermaterialien	nur geringe Mengen an abfiltrierbaren und ausfällbaren Stoffe zuführbar
	geringe Biomassekonzentration
	lange Inbetriebnahmephase möglich

2.4.3 UASB-Reaktor

UASB-Reaktoren (Upflow Anaerobic Sludge **B**lanket) wurden um 1970 entwickelt und sind heute Stand der Technik in der anaeroben Abwasserbehandlung. Der Aufbau des Reaktors gliedert sich in die drei Zonen Schlammbett, Schlammdecke und Dreiphasenabscheider. Abbildung 2.34 zeigt die schematische Darstellung eines typischen UASB-Reaktors.

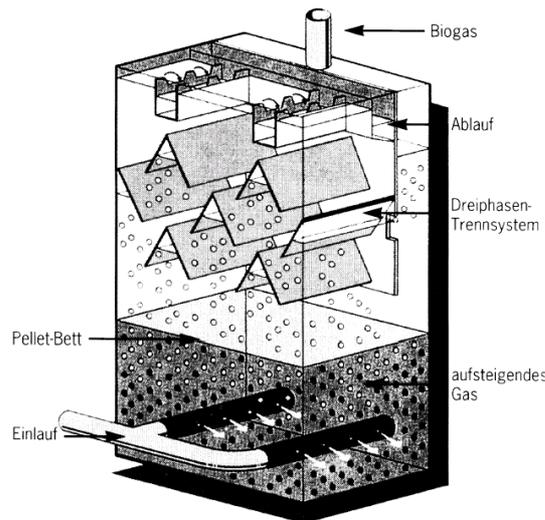


Abb. 2.34: Schematische Darstellung eines UASB-Reaktors (MEYER et al., 2005)

Die Funktion des UASB-Reaktors beruht auf der Fähigkeit der aktiven Biomasse sich zusammenzulagern und gut absetzbare, schwere Flocken oder so genannte "Pellets" zu bilden. Die **Pelletbildung** ist ein selbstinduzierter Prozess der Bakterien. Hierbei ist es von Vorteil, dass Bakterien im Inneren der Pellets vor negativen Umwelteinflüssen geschützt sind und durch die Nähe symbiotische Abläufe verbessert werden.

Die 2-3 mm großen Pellets können grob in 3 Schichten unterteilt werden. In der äußeren Schicht befinden sich methanogene Organismen, versäuernde Bakterien und Sulfatreduzierer (z.B. Methanosarcina). Diese Schicht verbraucht ebenso wie die mittlere Schicht H_2 . In der mittleren Schicht sind ebenfalls versäuernde Bakterien und Methanbakterien. In der innersten Schicht befinden sich vor allem Methanosaeta, Essigsäure verwertende Methanbakterien (MEYER et al., 2005 & MCHUGH et al., 2003).

Um einen Reaktor in Betrieb zu nehmen und Pellets zu erhalten, darf dieser zuerst nur mit nur geringen CSB-Frachten belastet werden. Bei Abbauraten von 80-90 % muss die Belastung gesteigert werden. Dieser Vorgang wird mehrmals wiederholt, bis es zur sichtbaren Bildung von Pellets kommt. Die Pelletbildung hängt zudem von der Abwasserzusammensetzung und bestimmten verfahrenstechnischen Bedingungen ab. Für die Abwasserzusammensetzung gilt,

dass eine CSB-Konzentration von 1000 mg/l im Zulauf sowie eine Acetatkonzentration von 200 mg/l nicht überschritten werden sollten. Weiterhin erweist sich eine Eisen- und Kalziumkonzentration von 50-150 mg/l im Zulauf als förderlich. Ebenso kommt ein hoher Kohlenhydrat- und Proteingehalt im Abwasser der Pelletbildung zugute. Durch die Absetzung dieser Pellets mit einer Geschwindigkeit von über 50 m/h kommt es zu einer Anreicherung der Biomasse im Reaktor in Form eines Schlammбетtes. Nicht zur Pelletbildung geeignete Mikroorganismen werden hingegen ausgespült (MEYER et al., 2005, SINGH et al., 1997 & MCHUGH et al., 2003).

Das zu reinigende Abwasser wird von unten durch ein engmaschiges **Verteilersystem** dem Reaktor zugeführt und durchströmt diesen von unten nach oben. Dabei wird das Abwasser zuerst durch das Schlammбетt aus Mikroorganismenpellets geleitet. Deshalb findet hier durch den intensiven Kontakt zwischen Abwasser und Mikroorganismen auch der größte Teil des Abbaus, nämlich 80 bis 90 % der organischen Abwasserinhaltsstoffe, statt (MEYER et al., 2005).

Neben der Gasbildung beim anaeroben Abbau sorgt die Durchströmungsrichtung von unten nach oben für die notwendige Umwälzung der Biomasse im System. Steigt das Biogas weiter auf, so gelangt es schließlich im oberen Teil des Reaktors an den **Dreiphasenabscheider**. Durch diesen wird die Trennung von Flüssigkeit, Gas und Feststoffen bewirkt. Während das Biogas durch Sammelleitungen aus dem Reaktor abgeführt wird, bewirkt die Konstruktion des Abscheiders, dass im Prozessverlauf aufgewirbelte und mit der Strömung aufgestiegene Pellets im Reaktor gehalten werden und auf den Boden zurücksinken. Das gereinigte Wasser kann an Überläufen abfließen. Zum Teil wird es allerdings in den Reaktor zurückgeführt um das Ausschwemmen der nicht aktiven Biomasse sicherzustellen (MEYER et al., 2005).

Hinsichtlich der Raumbelastung lässt sich eine Spanne von 8 bis 15 kg/(m³·d) ausmachen. Allerdings eignet sich das UASB-Verfahren wegen der Verstopfungsgefahr durch das Schlammбетt **nicht für feststoffreiche Frachten** und damit auch nicht für stark lipidhaltige Abwässer.

Tab. 2.18: Vor- und Nachteile von UASB-Reaktoren (MEYER et al., 2005)

Vorteile	Nachteile
Raumbelastungen von 8-15 kg/m ³ *d	Pelletbildung nicht bei allen Abwässern möglich
preiswertes und kompaktes System	Ausschwemmen von Pellets und damit Biomasseverluste möglich
schnelle Inbetriebnahme möglich	gegenüber zu hohen Feststoff-, Fett- und Kalziumkonzentrationen sehr empfindlich
Biomassebedarf einfach und exakt bestimmbar	Wegen geringer Aufenthaltszeiten im Reaktor nur schlechte Pufferung von Belastungsspitzen
schnelles Anfahren nach Störfällen durch Nachimpfen mit eigenem Impfschlamm nur sehr geringe Scherkräfte für Mikroorganismen keine Verstopfungsproblematik	
Umwälzung im Reaktor erfolgt überwiegend durch Gasaufstieg	

3 Stand des Wissens: Anaeroben Fermentation von Brauereireststoffen

Im Folgenden wird der **Stand des Wissens** bei der anaeroben Fermentation von organischen Brauereireststoffen beschrieben. Des Weiteren werden verschiedene **Vorbehandlungsmethoden** beschrieben, die den Aufschluss von lignozellulosehaltigem Material verbessern sollen. Ein Kriterium dabei ist die anschließende **Verwertbarkeit des vorbehandelten Substrates** in der anaeroben Fermentation. Der Schwerpunkt der Vorbehandlungsmethoden liegt beim **enzymatischen Aufschluss** von Biertreber im Hinblick auf eine anschließende, mikrobiologische Hydrolyse und Versäuerung.

3.1 Anaerobe Fermentation von organischen Brauereireststoffen

3.1.1 Brauereiabwasser

Die anaerobe Behandlung von betrieblichem Abwasser ist in Brauereien **Stand der Technik** (YU et al., 1996, FILLIAUDEAU et al., 2006, MEYER et al., 2005 & CRONIN, 1997). Als Reaktoren werden überwiegend **UASB- oder Festbettreaktoren** eingesetzt. Die Betriebstemperaturen liegen dabei im **mesophilen** Bereich (vgl. LEAL et al., 1998 & ALVARADO-LASSMAN et al., 2008). Betriebliches Abwasser fällt, betriebs- und produktionsbedingt, bei unterschiedlichen Temperaturniveaus an. Aus diesem Grund ist es sinnvoll, den Einfluss der Fermentationstemperatur auf die Methanisierung von betrieblichem Abwasser auch bei thermophilen und mesophilen Bedingungen zu untersuchen.

Thermophile Bedingungen

Die thermophile (50 – 55 °C) Behandlung von Abwässern wird vorrangig bei stark belasteten Abwässern angewendet. Der thermophile Prozess wird oftmals als **weniger stabil** gegenüber **Temperaturschwankungen** angesehen und wird aus diesem Grund seltener als die mesophile Behandlung eingesetzt (SOTO et al., 1992).

Hierfür gibt es verschiedene Gründe. Der **Biomasseverlust** durch Ausschwemmen aus dem Reaktor ist bei der thermophilen Behandlung höher als bei mesophilen Prozessen (SOTO et al., 1992). Dieses Phänomen tritt vor allem bei Substraten auf, die nur aus gelösten Fettsäuren bestehen. Bei einer Beimischung von Zuckern, wie Sukrose und Glukose, bilden sich stabile Granula mit guten Sedimentierungseigenschaften aus. Dies zeigen Ergebnisse verschiedener Untersuchungen von UEMURA et al. (1993) und WIEGANT (1995).

Bei thermophiler Behandlung ist die **Bildung von Pellets erschwert**. Dies resultiert aus der vermehrten **Mineralisierung** in den Reaktoren. Dadurch sinkt der Gehalt an extrazellulären

Polymeren, die von den Mikroorganismen abgegeben werden. Ebenso verändert sich die charakteristische Zusammensetzung der Mikroorganismen. Dominieren in mesophilen Milieus lange filamentöse Bakterien, so beherrschen thermophile Milieus vermehrt kurze, coccoidale bis stäbchenförmige Organismen (UEMURA et al., 1993). Dies scheint sich negativ auf die Aggregation auszuwirken.

Die maximale Reaktortemperatur sollte 60 °C nicht übersteigen. Auch wenn Methanbildung bis 75 °C möglich ist. Optima hängen von der Art des Inokulums (Startkultur) ab und schwanken stark. Batch-Reaktoren und Reaktoren mit Rührwerken sind gegenüber Temperaturschwankungen weniger tolerant als Reaktoren, in denen Biomasse zurückgehalten wird. Limitiert wird die Belastbarkeit thermophiler Reaktoren durch erhöhte Gehalte an gelösten Fettsäuren im Abfluss sowie sinkenden Abbaugraden mit zunehmender Belastung (WIEGANT, 1995).

Psychrophile Bedingungen

Die psychrophile (< 20 °C) Behandlung von Abwasser beschränkt sich vornehmlich auf **schwach** (0,3-06 g CSB/l) **belastete Abwässer**. Diese stammen z.B. aus Haushalten oder industriellen Betrieben (unter anderem auch Mälzereien und Brauereien). Vor allem in Zonen mit **kühlem Klima oder kalten Jahreszeiten** ist es sinnvoll, sich mit der Behandlung solcher Abwässer unter psychrophilen Bedingungen zu beschäftigen, um energieintensives Erwärmen vor der Reinigung einzusparen. Bei psychrophilen Bedingungen sind verminderte spezifische Abbau- und Wachstumsraten zu erkennen. Darüber hinaus ändern sich die Reaktionsbedingungen in der flüssigen Phase auf verschiedene Weise. Die Löslichkeit von Gasen (v.a. Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Methan, Kohlendioxid) erhöht sich ebenso wie die Viskosität des Wassers. Dies hat niedrigere pH-Werte und eine erschwerte Durchmischung des Substrats zur Folge (LETTINGA et al., 2001, REBAC et al., 1995 & REBAC et al., 1997).

Auf Grund der niedrigen Konzentrationen des Substrats und der niedrigen Umsatzraten beim psychrophilen Abbau ist es wichtig, Verluste von Biomasse so gering wie möglich zu halten. Bei Reaktoren, die speziell auf die Rückhalteeigenschaften setzen, wird die **hydraulische Belastung** zum **vorherrschenden Faktor** gegenüber der Belastung mit organischem Material (LETTINGA et al., 2001).

Ein weiterer Aspekt ist die Entwicklung eines Inokulums, das an psychrophile Bedingungen angepasst ist. Die Anpassung eines mesophilen Mediums an psychrophile Temperaturen zeigt in einigen Fällen, dass sich psychrophile Organismen nicht durchsetzen, sondern sich mesophile Organismen an niedrigeren Temperaturen anpassen. (REBAC et al., 1995). Mit einigen Veränderungen an bestehenden Reaktoren, wie der Optimierung der Substratdurchmischung und des Schlammrückhaltevermögens sowie dem mehrstufigen

Abbau können dennoch relativ hohe Abbauraten auch unter niedrigen Temperaturen ($< 15\text{ °C}$) erreicht werden (LETTINGA et al., 2001).

Die Untersuchungen von CONNAUGHTON et al. (2006) zeigten, dass die psychrophile Betriebsweise hinsichtlich der CSB-Abbauraten mit Mesophilen vergleichbar ist. Bei beiden Betriebsweisen wurden Abbaugrade von 85 - 90 % erreicht. Zunächst produzierte der mesophile Reaktor nahezu die doppelte Menge an Biogas. Zum Ende des Versuchszeitraums, der sich in Phasen mit unterschiedlichen Belastungen und Volumenströmen unterteilt, zeigte der psychrophile Reaktor jedoch nahezu identische Werte in Biogasmenge und Methananteil. Interessant ist, dass die Anlaufphase des psychrophilen Reaktors kürzer ist als die des mesophilen Reaktors. Hinsichtlich des Potenzials Energie zu gewinnen und der Abbaustabilität erscheint der psychrophile Abbau als sehr gute Alternative zum Abbau unter mesophilen Bedingungen (CONNAUGHTON et al., 2006).

Beim Vergleich der methanogenen Aktivitäten stellte sich heraus, dass in beiden Reaktoren mesophile Organismen wuchsen, dass diese sich aber im 15 °C kalten Medium an die psychrotrophe Umgebung angepasst hatten. Ersichtlich wurde dies daran, dass beide Reaktoren ähnlich hohe Maximalwerte bei der methanogenen Aktivität zeigten, und dass bei einer Temperatursteigerung bei beiden eine höhere methanogene Aktivität gemessen werden konnte. Wären an diesem Prozess psychrotrophe Bakterien beteiligt gewesen, so wäre dies dadurch erkennbar, dass bei steigender Temperatur die methanogene Aktivität gesunken wäre (CONNAUGHTON et al., 2006).

In einer EGSB-Versuchsanlage (expanded granular sludge blanket) wurde Abwasser aus einer Brauerei mit CSB-Werten von 550 bis 825 mg/l behandelt. Bei EGSB-Anlagen handelt es sich um eine Weiterentwicklung der UASB-Technologie. Bei dieser Art von Anlagen wird mit höheren Durchflussgeschwindigkeiten gearbeitet und somit das Pelletbett erweitert, weil es sich in der Schwebelage befindet (KATO et al., 1999 & MEYER et al., 2005). Die Anlage wurde zunächst bei 30 °C betrieben. Anschließend wurde die Temperatur schrittweise bis auf 12 °C abgesenkt. In einem zweiten Versuchsteil wurde die Anlage bei 20 °C weiter betrieben. Mit sinkender Temperatur sank auch der CSB-Abbau. Bis 20 °C fiel dieser Effekt allerdings nur gering aus. Bis dahin verminderte sich die Abbauleistung von ca. 80 % auf etwa 70 %. Der kritische Punkt wurde bei der weiteren Absenkung der Temperatur erreicht. Zwischen 15 und 20 °C schwankte der Abbaugrad zwischen 20 und 50 %. Der zweite Versuchsteil wurde mit konstanten 20 °C durchgeführt und wies durchgehend Abbauraten von über 80 % auf. Die Ergebnisse des knapp 60-tägigen Versuches legen die Eignung des EGSB-Verfahrens zum Abbau von leicht belasteten Brauereiabwässern nahe. Kritisch sind allerdings hohe Biomasseverluste im Ablauf des Reaktors. Diese treten vor allem nach Phasen der Temperatursenkung auf. Mit geeigneter Prozessführung ist an Hand dieser Ergebnisse die Reinigung von Abwasser niedrigen CSB-Gehaltes möglich (KATO et al., 1999).

Die anaerobe Behandlung von Brauereiabwasser ist Stand der Technik. Als geeignete Reaktortypen erweisen sich UASB- und Festbettreaktoren. Vor allem mit Festbettreaktoren ist die Fermentation hochbelasteter Abwässer möglich. Grundsätzlich ist die anaerobe Behandlung von Abwasser innerhalb eines breiten Temperaturspektrums möglich. Neben der mesophilen Betriebsweise sind auch bei thermophilen oder psychrophilen Bedingungen hohe CSB-Abbauraten möglich. Bei der Fermentation von hochbelasteten Abwässern ist jedoch weiterhin die mesophile Betriebsweise in Festbettreaktoren (vgl. Tabellen 2.17 und 2.18) die geeignete Methode (GAO et al., 2007). Andere Reaktortypen (UASB, EGSB) weisen diese Potenziale nur bedingt auf (MEYER et al., 2005 & LEAL et al., 1998).

3.1.2 Biertreber

Biertreber ist grundsätzlich als Substrat für die anaerobe Fermentation geeignet. Dies wurde in mehreren Veröffentlichungen belegt (BEHMEL, 1992, MÖLLER, 1992, KRETSCHMER, 1997, EZEONU et al., 1994, MACHEINER et al., 2003 & PESTA, 2006). Zum Teil wurden dabei auch verschiedene Vorbehandlungsmethoden getestet.

BEHMEL (1993) untersuchte die Abbaugrade von Gerstentreber in einer **zweistufigen Hydrolyse** (jeweils Batch-Fermentation) mit **alkalischer Zwischenbehandlung**. In der ersten Stufe wurden mittels Pansenmikroorganismen die leicht abbaubaren Fraktionen (Fette und Proteine) nahezu vollständig hydrolysiert. Die Substratverweilzeit lag dabei bei drei Tagen. Anschließend wurde das Digestat nach einer Fest-Flüssig-Trennung einer alkalischen Behandlung unterzogen. Als Laugen wurden Natronlauge und eine Mischung aus Natronlauge und Kalilauge (1:1) mit einer Konzentration von 12 g/l verwendet. Die Laugenextraktion dauerte 24 Stunden. Nach der Extraktion erfolgte eine weitere Fest-Flüssig-Trennung. Das Digestat wurde mittels Pansenmikroorganismen erneut hydrolysiert. Gegenüber einer einstufigen, biologischen Hydrolyse kann der Verflüssigungsgrad an organischer Substanz von rund 40 % mit einer anschließenden alkalischen Extraktion auf rund 65 % gesteigert werden. Wird eine zweite Hydrolyse durchgeführt, steigern sich die Verflüssigungsraten an organischer Substanz auf insgesamt 85 % (BEHMEL, 1993).

3.1.3 Trubstoffe, Hefe

Die Verwendung von Trubstoffen und Überschuß- bzw. Gelägerhefe wurde bisher kaum untersucht. Lediglich BEHMEL (1993) weist auf die grundsätzliche Verwertbarkeit von Trubstoffen als Co-Substrat hin. Versuche zur Bewertung des Einflusses auf die Hydrolysierbarkeit wurden dabei nicht durchgeführt.

3.1.4 Flüssige Hydrolyseabläufe

Die Methanisierung flüssiger Hydrolyseabläufe aus der Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber wurde in sehr wenigen Arbeiten untersucht. Lediglich MÖLLER (1992) und KRETSCHMER (1997) führten diesbezüglich Untersuchungen durch. Beide verwendeten dabei flüssiges Hydrolysat aus einer kontinuierlich betriebenen Hydrolyse- und Versäuerungsstufe, das über eine Fest-Flüssig-Trennung gewonnen wurde. Der Hydrolyse wurde eine mechanisch-alkalische Vorbehandlung vorgeschaltet.

In den Versuchen von MÖLLER (1992) wurde das Hydrolysat, das über eine chemisch-physikalische Vorbehandlung mit nachgeschalteter biologischer Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber gewonnen wurde, einer Methanisierungsstufe (Festbettreaktor; Fermentationstemperatur 38 °C) zugeführt. Mit steigender NaOH-Konzentration in der Vorbehandlung ergab sich dabei eine schlechtere CSB-Abbaurrate. Der Grund dafür liegt in der verstärkten Bildung von Nebenprodukten (Furanderivate und Maillardprodukte), die bei der Methanfermentation nicht umgesetzt werden können und eine Hemmung hervorrufen. Die mittlere CSB-Abbaurrate lag bei einer Laugenkonzentration von 0,2 N bei ca. 85 %. Aufgrund der relativ kurzen Versuchsdauer (unter 50 Tage) können keine Aussagen über mögliche Anreicherungen dieser Nebenprodukte und deren Auswirkungen auf die Prozessstabilität getroffen werden. Durch die Laugenzugabe in der Vorbehandlung sind fallende CSB-Abbauraten während der Methanisierung zu erwarten. Zudem wirken sich erhöhte Salzfrachten durch die Laugenzugabe negativ auf die Methanisierung aus (MÖLLER, 1992 & KRETSCHMER, 1997).

3.2 Vorbehandlungsmethoden für lignozellulosehaltige Substrate

Die Hydrolyse von Lignozellulose wird von mehreren Faktoren begrenzt. Der Kristallinitätsgrad der Zellulose spielt dabei eine entscheidende Rolle. Nativ vorliegende **Lignozellulose** ist aufgrund ihrer **kristallinen Struktur** für den mikrobiologischen Abbau in der anaeroben Fermentation zu Biogas nur schwer zugänglich. Erschwerend wirkt sich zudem die Inkrustierung der Zellulose mit Lignin aus. Weitere Faktoren sind der Polymerisationsgrad, der Wassergehalt, die verfügbare Substratoberfläche und der Ligningehalt (CHANG et al., 2000 & LAUREANO-PEREZ et al., 2005).

Um einen hohen Abbaugrad bzw. eine ausreichende Feststoffreduzierung zu erzielen, sind ohne Vorbehandlung des Substrates **lange Verweilzeiten** im Bioreaktor nötig. Lange Verweilzeiten haben wiederum größere Fermentervolumina und damit höhere Investitionskosten zur Folge. Werden hingegen kürzere Verweilzeiten angestrebt, erhöht sich ohne Substratvorbehandlung der Anteil an **Digestat**, das einer Nachbehandlung unterzogen werden muss (KRETSCHMER, 1997 & MÖLLER, 1992).

Aus diesen Gründen ist es sinnvoll, lignozellulosehaltige Substrate einem vorgeschaltetem Aufbereitungsverfahren zu unterziehen. Im Folgenden wird ein Überblick über wichtige Vorbehandlungsmethoden gegeben.

3.2.1 Mechanische Zerkleinerung

Die mechanische Zerkleinerung durch **Mahlen** von lignozellulosehaltiger Biomasse wird angewendet, um die **Partikelgrößen** und die **Kristallinität** zu **reduzieren**. Dadurch werden größere spezifische Oberflächen erreicht. Ebenso wird der Polymerisationsgrad verringert (HENDRIKS et al., 2009). Die Kristallinität hat dabei einen größeren Einfluß auf die Verzuckerung von Zellulose als die Partikelgröße oder die spezifische Oberfläche (MÖLLER, 1992). Diese Veränderungen der **Oberflächenstrukturen** verbessern die Zugänglichkeit für Mikroorganismen und Enzyme und ermöglichen damit eine Beschleunigung des Abbaus. In Abhängigkeit von der Art der Zerkleinerung und der Mahldauer können für lignozellulosehaltige Substrate Steigerungen der Hydrolyseraten von 5 – 25 % erreicht werden (HENDRIKS et al., 2009). Gleichzeitig können die Substratverweilzeiten während der Fermentation um 23 – 59 % reduziert werden (DELGENÉS et al., 2002).

Die mechanische Zerkleinerung hat den Vorteil, dass keine für eine nachfolgende Fermentation inhibierende Substanzen, wie Hydroxymethylfurfural (HMF), gebildet werden. Diesem Vorteil steht ein entscheidender Nachteil gegenüber. Für den Betrieb der Mühlen ist ein hoher **Energieaufwand** nötig. Eine wirtschaftliche Betriebsweise ist vor dem Hintergrund steigender Energiepreise derzeit nicht möglich (HENDRIKS et al., 2009).

3.2.2 Saure Vorbehandlung

Durch die Zugabe von **Säuren** werden **Kohlenhydrate** aus dem Lignozelluloseverband gelöst und zu niederen Bausteinen mit hoher biologischer Verwertbarkeit hydrolysiert (MÖLLER, 1992). Lignin wird dabei kaum angegriffen. Gelöste Ligninkomponenten kondensieren jedoch unter sauren Bedingungen und fallen aus. Diese **Ausfällungen** können wiederum inhibierend auf nachfolgende Fermentationen wirken. Hemizellulose wird weitgehend in monomere Bausteine zerlegt. Zellulose wird erst unter extremen Bedingungen (hohe Temperaturen und Drücke) aufgelöst. Aus den Hydrolyseprodukten können sich im sauren Milieu Furane und andere **Nebenprodukte** bilden, die eine spätere Methanisierung hemmen können (HENDRIKS, 2009, MÖLLER, 1992 & LIU et al., 2003).

Grundsätzlich eignen sich verschiedene Säuren (Schwefelsäure, Salzsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure) für die Vorbehandlung von Lignozellulose. Die Hydrolyserate verbessert sich mit zunehmenden Säurekonzentrationen. Der wesentliche Vorteil der sauren Hydrolyse ist die

weitgehende Lösung der Hemizellulosen und die Verbesserung der Zugänglichkeit der Zellulose für eine nachfolgende, enzymatische Behandlung (HENDRIKS, 2009 & RAMOS, 2003).

Die Verwendung von Schwefelsäure kann durch die verstärkte Freisetzung von Schwefelwasserstoff zusätzlich zu Hemmungen in der Methanogenese führen (HENDRIKS, 2009). Gleichzeitig werden die Biogasqualität herabgesetzt und **Korrosionsprobleme** verstärkt. Wird Salpetersäure eingesetzt, resultiert eine Verschlechterung der Gasqualität durch Stickstofffreisetzung (HENDRIKS, 2009).

3.2.3 Alkalische Vorbehandlung

Die Natronlaugebehandlung von Lignozellulose zur Erhöhung des fermentierbaren Anteils ist eine der ältesten Vorbehandlungsmethoden. Alkalische Lösungsmittel eignen sich für die **Extraktion** von Hemizellulosen und zerstören die Ligninstruktur. Durch die interkristalline Quellung der Zellulose wird die kristalline Struktur der Zellulose zerstört und der Polymerisationsgrad verringert (MÖLLER, 1992).

Beim Laugenaufschluss werden **Nebenprodukte** (vgl. Säurebehandlung) gebildet, die hemmend auf methanogene Bakterien wirken. Diese negativen Effekte wurden bereits bei Laugenkonzentrationen von 1 g/l beobachtet (HENDRIKS et al., 2009).

Auch der Einsatz von Kalilauge oder $Mg(OH)_2$ bzw. $Ca(OH)_2$ ist grundsätzlich möglich. Inhibierende Effekte stellen sich jedoch auch hier ein.

3.2.4 Thermischer Aufschluss

Ein weiteres Verfahren für den Aufschluss von Lignozellulose stellt die **thermische Behandlung** dar. Ab Temperaturen von 150 – 180 °C (Reaktionszeiten 5 – 10 min) beginnen Hemizellulose und zum Teil auch Lignin in Lösung zu gehen (GARROTE et al., 1999). Teile der aufgeschlossenen Hemizellulose bilden dabei Säuren, die die weitere Hydrolyse von Hemizellulose katalysieren (GREGG et al., 1996, LIU et al., 2003 & ZHU et al., 2005). Die Reaktionsprodukte aus dem Aufschluss der Ligninfraktion sind größtenteils Phenole, die eine hemmende bzw. toxische Wirkung auf Mikroorganismen haben (GOSSETT et al., 1982). Wie bei der sauren Vorbehandlung ist die Kondensation dieser phenolischen Produkte möglich (LIU et al., 2003). Andere Reaktionsprodukte, die bei der thermischen Behandlung von Lignozellulose entstehen, sind **heterozyklische Komponenten** wie Vanillin, Furfural oder Hydroxymethylfurfural (RAMOS et al., 2003). WEIMER et al. (1995) gehen sogar davon aus, dass der thermische Aufschluss möglicherweise den Kristallinitätsgrad von Zellulose erhöhen kann.

Grundsätzlich sind verschiedene Arten der thermischen Behandlung zu unterscheiden. Die **Behandlung mit Dampf** und die **Dampfexplosion** (steam explosion) sowie die Behandlung mit **Heißwasser** (liquid hot water). Während der Dampfbehandlung wird die Biomasse in geschlossenen Gefäßen auf bis zu 240 °C erhitzt, wodurch sich gleichzeitig der Druck erhöht. Nach einer gewissen Haltezeit erfolgt eine Entspannung und Abkühlung der Biomasse. Dadurch wird die Hemizellulosefraktion aufgeschlossen, wodurch sich die Bioverfügbarkeit der Zellulose erhöht (HENDRIKS et al., 2009). Im Unterschied zur Dampfbehandlung wird die Entspannung und Abkühlung bei der Dampfexplosion schneller durchgeführt. Dadurch kommt es zu einer **schlagartigen Verdampfung** flüssiger Bereiche der Biomasse. Der dabei entstehende Dampf nimmt ein weitaus größeres Volumen ein, als das Wasser im noch flüssigen Zustand und es kommt zu einer **Explosion** (HENDRIKS et al., 2009). Nach BROWNELL et al. (1986) ist jedoch ein Vorteil für die Bioverfügbarkeit der Lignozellulose nach einer Dampfexplosion aufgrund von Strukturänderungen nicht gesichert. Der Zusammenhang von Reaktionszeit und Reaktionstemperatur wird für die Dampfbehandlung über folgenden Gewichtungsfaktor ausgedrückt:

$$\log R_0 = \log(t \cdot e^{\frac{T-100}{14,75}}) \quad (3.1)$$

Die Reaktionszeit bei der Dampfbehandlung hängt zudem vom **Wassergehalt der Biomasse** ab. Höhere Wassergehalte bedingen längere **Reaktionszeiten**. Auch der Einfluß des Reaktionsdruckes spielt eine große Rolle, da bei geringen Drücken geringere Hydrolyseraten erzielt werden (LAWTHER et al., 1996).

Die Behandlung mit heißem Wasser im flüssigen Zustand wird durchgeführt um die **Bildung toxischer und inhibierender Reaktionsprodukte** für eine nachfolgende Fermentation zu verringern. Dies wird bei pH-Werten zwischen 4 und 7 erreicht. Im Unterschied zur Dampfbehandlung ist die Menge gelöster Substanzen höher. Jedoch sind die Konzentrationen der gelösten Produkte in der Flüssigphase aufgrund der Heißwasserzugabe geringer (HENDRIKS et al., 2009).

Ein weiteres thermisches Verfahren stellt die **Thermodruckhydrolyse** des ATZ Entwicklungszentrum dar. Ziel dieses Verfahrens ist es komplexe Biopolymere bei kurzen Verweilzeiten aufzuschließen. Das Verfahren arbeitet bei einem Druck von 20 bar und einer Temperatur von 190 °C. Bei diesen Bedingungen ist ein Aufschluss des Substrates in 20 Minuten realisierbar (PRECHTL, 2006).

Grundsätzlich ist die Kombination des thermischen Aufschlusses mit einer Säurezugabe möglich. Die dabei entstehenden positiven Effekte auf den Hydrolysegrad sind jedoch nach LIU et al. (2003) nicht eindeutig auf die Säurezugabe zurückzuführen.

3.2.5 Thermo-chemische Verfahren

Thermisch-saure Vorbehandlung

Der thermische Aufschluss kann durch die Zugabe von Säure weiter gesteigert werden. Säure wirkt dabei als **Katalysator** für die Auflösung der Hemizellulose. Dadurch kann die Aufschlusstemperatur herabgesetzt und die Enzymverfügbarkeit gesteigert werden (GREGG et al., 1996). Werden Hemizellulosen und Lignin nicht gleichmäßig, sondern absatzweise aufgebrochen, können sich verstärkt kristalline Zellulosestrukturen ausbilden (GREGG et al., 1996). Auch die Bildung von **Furfuralen** darf über 160 °C nicht vernachlässigt werden.

SÖDERSTRÖM et al. (2003) und WU et al. (1999) untersuchten die Dampfbehandlung von Lignozellulose in Kombination mit Schwefeldioxid. Die beste Verzuckerungsrate wurde bei einer Reaktionstemperatur von 175 °C und einer Reaktionszeit von 7,5 min erreicht.

Thermisch-alkalische Vorbehandlung

Eine weitere Möglichkeit zur Steigerung des thermischen Aufschlusses ist die Zugabe von Laugen. In den Arbeiten von CHANG et al. (2001) wurde der Einfluß der Zugabe von Kalziumhydroxid im Temperaturbereich von 100 – 150 °C untersucht. Vor allem für **Biomasse mit einem geringen Anteil an Lignin** ist diese Methode geeignet. Der Verbrauch an Kalziumhydroxid liegt bei 0,1 g/g Substrat.

Der Einsatz von Natronlauge wurde von PENAUD et al. (1999) untersucht. Bei Raumtemperatur wurden 53 % des vorhandenen CSB in Lösung gebracht. Die Laugenzugabe betrug dabei 5 g/l. Eine Steigerung der Laugenkonzentration brachte keine Verbesserung. Eine Steigerung des gelösten CSB auf 85 % konnte in Versuchen bei 140 °C erreicht werden. Jedoch war dazu eine Laugenkonzentration von 26 g/l nötig. Der Unterschied in den benötigten Laugenkonzentrationen kann dadurch erklärt werden, dass bei Raumtemperaturen der CSB-Anstieg zum Großteil auf die Lösung von Protein zurückzuführen ist. Erst bei höheren Temperaturen kann mehr Lignozellulose gelöst werden, wofür jedoch eine höhere Laugenmenge benötigt wird. Das auf diese Weise vorbehandelte Substrat wurde einer Methanisierungsstufe zugeführt, um den Einfluss der Natronlaugenzugabe auf die Produktion von Methan zu untersuchen. Dabei wurden **Hemmwirkungen** ab einer Laugenkonzentration von 5 g/l festgestellt. Ähnliche Ergebnisse und hemmende Einflüsse auf die Methanisierung wurden bei der Verwendung von Kalilauge, Magnesiumhydroxid und Kalziumhydroxid festgestellt (PENAUD et al., 1999).

3.2.6 Chemisch-mechanische Vorbehandlung

Die chemisch-physikalische Vorbehandlung von Biertreber wurde in den Arbeiten von MÖLLER (1992) im Technikumsmaßstab untersucht. Als geeignete Mühle wurde dabei eine Rührwerkskugelmühle identifiziert. Die Treber wurden mit einer Feststoffkonzentration von 5 % in die Mühle gegeben. Gleichzeitig erfolgte eine Zugabe von Natronlauge (0 – 0,5 N), um die Feststoffverflüssigung (vorwiegend Hemizellulose und Protein) zu intensivieren. Die Mahltemperatur betrug 70 °C, die Mahldauer 20 Minuten. Bei diesen Versuchsbedingungen konnte eine Feststoffverflüssigung von rund 50 % erzielt werden. Als optimale Laugenkonzentration wurde 0,2 N definiert, da mit höheren Laugenkonzentrationen keine Verbesserung des Abbaus bewirkt wurde (MÖLLER, 1992).

Der **Energieaufwand** für die physikalisch-chemische Vorbehandlung lag für diesen Versuchsaufbau bei rund 0,5 kWh pro kg Naßtreber (MÖLLER, 1992).

Die chemisch-physikalisch vorbehandelten Treber wurden anschließend einer kontinuierlich betriebenen mikrobiologischen Hydrolyse- und Versäuerungsstufe zugeführt. Die Substratverweilzeit betrug dabei 13 Tage. Von den verbleibenden Feststoffen aus der Vorbehandlung konnten ca. 55 % verflüssigt werden. Somit ergibt sich ein Gesamtabbaugrad von rund 80 %. Belastbare Ergebnisse über die Qualität der Versäuerung der verflüssigten Hydrolyseprodukte wurden dabei nicht angeführt (MÖLLER, 1992).

3.2.7 Enzymatische Vorbehandlung

Eine weitere Vorbehandlungsmethode ist die enzymatischen Hydrolyse der komplexen Biomoleküle (Polysaccharide, Proteine, Fette) in monomere Bausteine. Je komplexer die Substratzusammensetzung ist, desto schwieriger gestaltet sich der enzymatische Aufschluss, da dafür das Zusammenwirken **verschiedener Enzymklassen** nötig ist. Kommerzielle Enzyme werden **biotechnologisch durch Pilze** hergestellt. Die kommerzielle Enzymproduktion mittels Mikroorganismen erfolgt entweder über **Flüssig-Fermentationen** (SmF – submerged fermentation) oder über **Feststofffermentationen** (SSF – solid state fermentation). Für die Flüssig-Fermentation werden spezifische, genetisch veränderte Mikroorganismen verwendet. In der Feststofffermentation können aufgrund des geringeren Wassergehalts auch Wildtypen eingesetzt werden. Hinsichtlich der Wachstumsraten, Produktivitäten und Betriebskosten ist die Feststofffermentation zu bevorzugen. Typische Pilzkulturen, die für die Enzymproduktion für lignozellulosehaltige Biomasse eingesetzt werden, sind *Aspergillus* sp. oder *Trichoderma* sp. (HÖLKER et al., 2004 & TENDERDY et al., 2003).

Die **enzymatische Hydrolyse** von lignozellulosehaltiger Biomasse wurde in zahlreichen Veröffentlichungen untersucht (u.a. BELDMAN et al., 1987). Bisherige Arbeiten konzentrieren

sich vor allem auf den enzymatischen Aufschluss für die Produktion von **Bioethanol** oder **Biomethan**. Ein typisches dafür eingesetztes Substrat ist Stroh. Biertreber weist jedoch neben der Lignozellulose-Fraktion auch einen beträchtlichen Proteinanteil auf, der wiederum einen Einfluss auf die enzymatische Vorbehandlung ausüben kann. Die nachfolgenden Ausführungen beschränken sich deshalb auf den Wissensstand der **enzymatischen Vorbehandlung von Biertreber**.

Für den enzymatischen Aufschluss von Biertreber wurden bisher kommerzielle Einzelenzyme oder Enzymmischungen eingesetzt. In den Arbeiten von FAULDS et al. (2008) wurde die **enzymatische Verzuckerung** mittels **Carbohydrasen** und **Proteasen** bei verschiedenen pH-Bereichen untersucht. Es wurden Enzyme unterschiedlicher Pilzkulturen getestet. Für 50 mg Trebertrockenmasse wurden jeweils 1 Un Proteasen oder 100 Un Carbohydrasen zugegeben. Eine Enzymaktivitätseinheit (1 Un) entspricht einer Enzymmasse (mg), die unter definierten Bedingungen 1 μ mol Produkt freisetzen kann. Die Aufschlüsse wurden bei 50 °C für jeweils 4 h durchgeführt. Bei niedrigen pH-Werten (3 – 5,5) zeigten Carbohydrasen, die mittels *Trichoderma sp.* hergestellt wurden, die höchste Verflüssigungsrate (25 % der TS). Die höchsten Verflüssigungsraten über einen pH-Bereich von 3 – 11 zeigten die Carbohydrasen, die mittels *Humicola sp.* gewonnen wurden. Der Anteil an gelöster organischer Trockensubstanz lag dabei, je nach eingesetztem Enzym, zwischen 10 und 35 %.

Die enzymatische Hydrolyse der Proteinfraktion durch die alleinige Zugabe von **kommerziellen Proteinase**n bei ähnlichen Reaktionsbedingungen ist in den Arbeiten von TREIMO et al. (2008) beschrieben. Bei Enzymdosagen von 10 bzw. 20 μ l/g Trebertrockenmasse konnten rund 80 % der Proteine verflüssigt werden. CELUS et al. (2007) konnten die enzymatische Hydrolyse von Treberprotein auf einen Hydrolysegrad von nahezu 100 % steigern. Jedoch ist dafür eine zusätzlich alkalische Extraktion mit 0,1 M NaOH bei 60 °C für 1 h nötig. FORSSEL et al. (2008) erreichten unter ähnlichen Bedingungen durch die alleinige Zugabe von **kommerziellen Carbohydrasen** einen Hydrolysegrad der Polysaccharidfraktion von rund 30 %.

MUSATTO et al. (2008) führten Versuche durch, um die enzymatische Hydrolyse der Zellulosefraktion im Treber zu verbessern. Als Enzyme wurden über ***Trichoderma reesei*** gewonnene Cellulasen verwendet. Vor dem Enzymeinsatz wurde das Zielsubstrat Treber mit schwachen Säuren bzw. Laugen vorbehandelt, um die Lignozellulosestrukturen aufzubrechen. Dadurch konnte die Effektivität der Cellulasen verbessert werden. Die Reaktionsdauer betrug 96 h bei 45 °C. Die höchste Verzuckerungsrate, d.h. Glukosefreisetzung, wurde mittels alkalischer Vorbehandlung erreicht. Im Vergleich zur rein enzymatischen Hydrolyse mit Cellulasen beträgt die Umsatzrate von Zellulose nach alkalischer Vorbehandlung das 4-fache. Insgesamt konnten nach 96 h rund 90 % der theoretisch hydrolysierbaren Glukose freigesetzt werden.

TREIMO et al. (2009) untersuchten die Effektivität des kombinierten Einsatzes von kommerziellen Carbohydrasen und Proteinasen. Als Reaktionsbedingungen wurden 60 °C und 4 h (einstufiger Aufschluss) bzw. 2 x 4 h (zweistufiger Aufschluss) als Inkubationszeit gewählt. In den Versuchen wurde kein signifikanter Einfluss des pH-Wertes auf die Enzymeffektivität festgestellt. Eine Verbesserung des Hydrolysegrades durch einen zweistufigen Aufschluss konnte nicht nachgewiesen werden. Insgesamt konnten rund 40 % der Kohlenhydratfraktion und 80 % der Proteinfraction aufgeschlossen werden. Als optimale Enzymdosagemenge wurden 20 µl/g Trebertrockenmasse identifiziert. Mit der halben Enzymmenge wurden noch ähnliche Hydrolysegrade erreicht.

3.2.8 Enzyme als Fermentationsadditiv

Die bisher vorgestellten Forschungsarbeiten konzentrieren sich auf die enzymatische Vorbehandlung von Biertreber, um bestimmte Teilfraktionen zu verflüssigen. Der Einsatz von Enzymen zur Intensivierung der mikrobiologischen, anaeroben Hydrolyse und Versäuerung wurde dabei nicht untersucht.

PESTA (2006) untersuchte die Applikationspotenziale eines Mischenzymsubstrates aus der Feststofffermentation im anaeroben Fermentationsprozess. Der Hydrolyseschritt von zellulosehaltigen Substanzen in Biertreber sollte durch die enzymatische Behandlung verbessert und die gleichzeitig ablaufende Versäuerung beschleunigt werden.

Die **Enzymproduktion** erfolgte durch zwei **Pilzkulturen** (P1 und P2) in einer **Solid-State-Fermentation** (SSF) unter aeroben Bedingungen. Die Pilzkulturen wurden dabei auf einer Substratmischung aus **Rapsextraktionsschrot** und **Biertreber** im Verhältnis 2,4:1 kultiviert. Die Zudosierung von Rapsextraktionsschrot zum Zielsubstrat Biertreber ist aufgrund des hohen Wassergehalts in Trebern notwendig (PESTA, 2006).

Nach der Kultivierung der Pilze auf dem Zielsubstrat ergab sich folgendes enzymatisches Aktivitätsspektrum:

Tab. 3.1: *Enzymatische Aktivitäten (in U/g Frischmasse) der Pilzkulturen (PESTA, 2006)*

	Esterase	Pektinase	Xylanase	Cellulase	Amylase
P1	6,56	0,18	17,61	20,65	0,26
P2	1,96	0,14	4,26	1,80	6,86

Die Effektivität dieser Enzymmischung wurde in einem 24-stündigen Hydrolyseversuch bei 30 °C untersucht. Die Zugabe an **Frischenzymsubstrat** betrug dabei 20 % der Treberfrischmasse. Nach 6 h waren in der Regel bereits 80 % der nach 24 h freigesetzten

Zuckermenge entstanden. Nach 24 h konnten nahezu 90 % der verzuckerbaren Kohlenhydrate freigesetzt werden (PESTA, 2006).

Für den Einsatz in der anaeroben Fermentation wurde ein **Blend** (Verhältnis 1:1) aus beiden Kulturen hergestellt. Dazu wurde das Kultursubstrat, bestehend aus Resten von Rapsextraktionsschrot sowie Biertreber, Pilzkultur und Enzymen zur Erhöhung der Haltbarkeit in einer Gefriertrocknungsanlage **lyophilisiert**. Der Restfeuchtegehalt des Produkts betrug 5 % (PESTA, 2006).

Dieses Potenzial wurde in weiteren Versuchen hinsichtlich der Applikation während der anaeroben Fermentation untersucht. Es wurden zwei (ohne und mit Enzymdosage) kontinuierlich betriebene Hydrolysereaktoren mit nachgeschalteter Methanisierung in Betrieb genommen. Die Substratverweilzeit betrug in der Hydrolysestufe 11 Tage und in der Methanstufe 20 Tage. Die Substratverweilzeiten wurden absichtlich lang gewählt, um Prozessstörungen ausschließen zu können. Im direkten Vergleich weist die enzymatisch behandelte Hydrolyse- und Versäuerungsstufe eine um rund 30 % höhere Abbaurate auf. Zudem war der Verlauf der Fettsäurenkonzentrationen über den Versuchszeitraum hinweg gleichmäßiger. Damit in Zusammenhang stehen eine Verbesserung der Gasqualität in der Methanstufe mit einem um rund 8 % höheren Methangehalt und einer Erhöhung der Gasausbeute um rund 10 %.

3.2.9 Sonstige Vorbehandlungsmethoden

Vorbehandlung mit Oxidationsmitteln

Die oxidative Vorbehandlung wird mit **Wasserstoffperoxid** oder **Peressigsäure** durchgeführt. Ziel dieser Methode ist es Hemizellulose und Lignin aufzuschließen, um die Bioverfügbarkeit der Zellulosefraktion zu steigern. Da die eingesetzten **Oxidationsmittel** nicht selektiv wirken, wird eine beträchtliche Menge an Nebenprodukten gebildet, die für weitere Fermentationen hemmend bzw. toxisch wirken. Aus diesem Grund ist die Vorbehandlung mit Oxidationsmitteln nur sehr eingeschränkt möglich (HENDRIKS et al., 2009).

Vorbehandlung mit Kohlendioxid

Die Behandlung lignozellulosehaltiger Biomasse mit **Kohlendioxid** wird unter Druck und bei Temperaturen bis 200 °C durchgeführt. Die Reaktionszeiten liegen bei dieser Methode im Minutenbereich. Unter diesen Reaktionsbedingungen wirkt CO₂ in der Flüssigkeit als Säure und bewirkt dadurch die Hydrolyse von Hemizellulose (HENDRIKS et al., 2009 & ZHENG et al., 1998).

Die Vorbehandlung mit **überkritischem CO₂** wurde von KIM et al. (2001) untersucht. Weichholz wurde dabei für 10 – 60 min Drücken von 213 – 275 bar und Temperaturen von

112 – 165 °C ausgesetzt. Anschließend erfolgte eine enzymatische Hydrolyse mit kommerziellen Zellulasen. Die Zugabe von überkritischem Kohlendioxid unterschützt die Freisetzung von monomeren Zuckern, vor allem bei höheren Wassergehalten der Biomasse. Zwar kann die Bildung von inhibierenden Substanzen mit dieser Methode reduziert werden, jedoch sind die Investitions- und Betriebskosten dieser Anlagentechnik für einen wirtschaftlichen Einsatz zu hoch.

Ammoniakexplosion

Die Behandlung lignozellulosehaltiger Biomasse mit **Ammoniak** beruht auf dem gleichen Prinzip wie die **Dampfexplosion**. Die Reaktionszeiten betragen in den Versuchen von ALIZADEH et al. (2005) bei Raumtemperatur bis zu 60 Tage, während bei einer Temperatur von 120 °C nur wenige Minuten nötig sind. Mit einer nachfolgenden, enzymatischen Behandlung wurde eine bis zu 6-fache Steigerung der Hydrolyserate im Vergleich zu Versuchen ohne Ammoniakbehandlung erzielt. Nachteilig wirkt sich der hohe Ammoniakbedarf mit 1 kg pro kg Trockenbiomasse aus.

Ultraschallaufschluss

Die **Ultraschall-Behandlung** von Biomasse wurde in den Arbeiten von ZHANG et al. (2008) untersucht. Bei einer Behandlungsdauer von 30 min und einer Intensität von 1,6 W/m betrug der Feststoffabbau rund 50 %. Die Freisetzung von gelöstem CSB und der Feststoffabbau können durch Intensität und Behandlungsdauer weiter gesteigert werden. Aussagen über die Wirtschaftlichkeit und Effizienz dieser Methode wurden dabei nicht getroffen.

In weiteren Arbeiten, wie z.B. YU et al. (2008), wurde die Anwendung von Ultraschall bei der Klärschlammbehandlung untersucht. Auch hier konnte eine unterstützende Wirkung nachgewiesen werden.

3.3 Fazit

Die **biologische Verwertbarkeit** von lignozellulosehaltigen Substraten, die einer Vorbehandlung unterzogen wurden, wird von mehreren Faktoren wie **Kristallinität**, **Oberflächenverfügbarkeit**, **Ligningehalt** oder Bildung von **Nebenprodukten** beeinflusst. Die Entfernung von für nachfolgende Fermentationen toxischen bzw. inhibierenden Produkten ist kostenintensiv bzw. ineffizient. Ebenso spielen Faktoren wie **Wasserverbrauch**, **Energieeintrag**, **Chemikalienverbrauch** oder die Eignung des Verfahrens für **einen kontinuierlichen Betrieb** eine entscheidende Rolle (HENDRIKS et al., 2009).

Durch die Vorbehandlung von Lignozellulose mit Säuren, Oxidationsmitteln oder Lösungsmitteln sind zwar hohe Hydrolysegrade erreichbar, jedoch stellen sich diese Methoden als sehr kostenintensiv heraus (MOSIER et al., 2005). Günstiger im Bezug auf Abbaugrade und ökonomische Gesichtspunkte scheinen die thermische und alkalische Behandlung sowie die Behandlung mit Ammoniak. Die Wirtschaftlichkeit dieser Verfahren unterscheidet sich nach EGGEMANN et al. (2005) kaum. Jedoch scheint es sinnvoll zu sein, für weitere Vorbehandlungsmaßnahmen und Fermentationen spezielle Enzym-Blends zu entwickeln, um Unterschiede in der Wirtschaftlichkeit und Effizienz dieser Verfahren festzustellen. Ein Nachteil der Behandlung mit Ammoniak ergibt sich aus den längeren Substratverweilzeiten und dem hohen Ammoniakbedarf (HENDRIKS et al., 2009).

Die Vorbehandlung mit Kohlendioxid ist noch unzureichend untersucht. Deshalb können keine belastbaren Aussagen zur Effizienz und Wirtschaftlichkeit dieser Vorbehandlungsmethode getroffen werden (HENDRIKS et al., 2009).

Grundsätzlich hängt die Wahl einer geeigneten Vorbehandlung vom Zielsubstrat ab. Für Biertreber wird diese Entscheidung durch den hohen Proteingehalt erschwert, da vor allem bei der thermischen Behandlung Maillardprodukte oder HMF entstehen, die eine weitere Fermentation stören. Auch die chemische Vorbehandlung, insbesondere mit Laugen, kann durch erhöhte Salzfrachten zu erheblichen Hemmwirkungen führen.

Beim enzymatischen Aufschluss von Bietreber wurden bisher kommerzielle Enzyme eingesetzt, die eine noch zu geringe Substratspezifität aufweisen oder in der Herstellung zu kostenintensiv sind. In den Arbeiten von PESTA (2006) wurde deshalb eine speziell auf das Substrat Biertrber angepasste Enzymmischung entwickelt. Durch die Enzymproduktion mittels Feststofffermentation können grundsätzlich die Betriebskosten der Enzymproduktion gesenkt werden. In ersten Vorversuchen wurde diese Enzymmischung auf die Anwendbarkeit als Additiv während der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber getestet. Ein grundsätzliches Applikationspotenzial konnte nachgewiesen werden.

4 Material und Methoden

4.1 Analytik

Für die Bewertung der Versuche wurden verschiedene chemische und physikalische Analysen durchgeführt, die in nachfolgender Tabelle aufgelistet sind.

Tab. 4.1: Übersicht über die verwendeten Analysemethoden

Probenart	zu analysierende Fraktion	verwendete Methode
flüssig	freie Fettsäuren	Gaschromatographie
	chemischer Sauerstoffbedarf	Küvettschnelltest/Photometrie
	organischer Gesamtkohlenstoff	Küvettschnelltest/Photometrie
	Ammoniumstickstoff	Küvettschnelltest/Photometrie
	Gesamtstickstoff	Küvettschnelltest/Photometrie
	pH	Potentiometrie
gasförmig	Zusammensetzung Menge	Gaschromatographie, Massenspektrometrie Milligascounter
fest	Rohprotein	Kjeldahl-Aufschluß
	Rohfett	Soxhlett-Extraktion
	Heizwert	Kalorimetrie

4.1.1 Analytik der Flüssigphasen

Freie Fettsäuren

Für die Beurteilung der anaeroben Fermentation organischer Substrate zu **Methan** spielen freie, in der Fermentationsflüssigkeit **gelöste Fettsäuren** eine wichtige Rolle.

Für die Analyse diente ein Gaschromatograph des Typs Clarus 600 (Perkin Elmer LAS GmbH, Rodgau) mit programmierbarem Split/Splitless Kapillar-Injektor und Flammenionisationsdetektor. Als Verdampferöhrchen wurden Quarz 2 mm PSS Liner (Restek GmbH, Bad Homburg) verwendet. Diese wurden manuell mit deaktivierter Glaswolle (Restek GmbH, Bad Homburg) präpariert, da mit dieser Methode eine höhere Reproduzierbarkeit als mit kommerziell vorgefertigten Linern erzielt werden konnte.

Die spezifischen Daten der gaschromatographischen Fettsäure- und Lösungsmittelanalytik sind nachfolgend aufgelistet.

Tab. 4.2: Gaschromatographische Fettsäure- und Lösungsmittelanalytik

Trennsäule	Stabilwax®-DA (Restek GmbH, Bad Homburg) 30 m x 0,25 mm x 0,5 µm
Temperaturprogramm	1 min isotherm bei 70 °C 60 °C/min bis 150 °C; 0,5 min isotherm bei 150 °C 30 °C/min bis 220 °C 20 °C/min bis 250 °C; 5,5 min isotherm bei 250 °C
Trägergas-Säulenfluss	Wasserstoff (50 cm/s)
Split	50 : 1
Injektionsvolumen	0,1 µl
Injektortemperatur	250 °C
Detektorflüsse	H2: 45 ml/min; Druckluft: 450 ml/min
Detektortemperatur	300 °C

Die **Kalibrierlösung** beinhaltet folgende Substanzen und Konzentrationen:

Tab. 4.3: Zusammensetzung der wässrigen Kalibrierlösung für die gaschromatographische Fettsäure- und Lösungsmittelanalytik

	Substanz	Konzentration [mg/l]
Lösungsmittel	Aceton	5000
	Ethanol	2000
	1-Butanol	10000
Freie Fettsäuren	Essigsäure	5000
	Propionsäure	4000
	Iso-Buttersäure	500
	Buttersäure	4000
	Iso-Valeriansäure	500
	Valeriansäure	1000
	Capronsäure	500
	Oenanthsäure	500

Als **Interner Standard** (ISTD) für die Bestimmung der Lösungsmittel wurde Isobutanol, für die Bestimmung der freien Fettsäuren m-Valeriansäure, jeweils in derselben wässrigen Lösung verwendet.

Tab. 4.4: Zusammensetzung der Interner Standard-Lösung für die gaschromatographische Fettsäure- und Lösungsmittelanalytik

	ISTD	Konzentration [mg/l]
Lösungsmittel	Iso-Butanol	10000
Freie Fettsäuren	m-Valeriansäure	5000

Zur Probenvorbereitung wurden die flüssigen Proben aus den Bioreaktoren zweimal für 10 min bei 15000 U/min zentrifugiert. Vom Überstand wurde 1 ml Flüssigkeit mit 10 %-iger m-Phosphorsäure angesäuert, um zu gewährleisten, dass die zu detektierenden Fettsäuren in undissoziierter Form vorliegen. Anschließend wurden 0,8 ml der angesäuerten Probe mit 0,2 ml Interner Standard –Lösung vermischt und erneut für 10 min zentrifugiert. 0,8 ml der vorbereiteten Probe wurden in GC-Fläschchen abgefüllt und gaschromatographisch analysiert.

Um eine bestmögliche Wiederfindungsrate zu erzielen, wurde das System nach jeweils 100 Analyseläufen neu kalibriert. Um eine hohe Reproduzierbarkeit zu erzielen, war es nötig, die zu analysierenden Proben gegebenenfalls zu verdünnen, um im angegebenen Konzentrationsbereich zu bleiben.

Die Reproduzierbarkeit der gaschromatographischen Analyse stellt sich dabei wie folgt dar:

Tab. 4.5: Reproduzierbarkeit der gaschromatographischen Fettsäureanalytik

Komponente	Konzentrationsbereich				Abweichung	
Essigsäure	500	-	5000	mg/l	± 105	mg/l
Propionsäure	400	-	4000	mg/l	± 85	mg/l
Iso-Buttersäure	60	-	600	mg/l	± 15	mg/l
Buttersäure	400	-	4000	mg/l	± 65	mg/l
Iso-Valeriansäure	50	-	500	mg/l	± 15	mg/l
Valeriansäure	100	-	1000	mg/l	± 20	mg/l
Capronsäure	50	-	500	mg/l	± 15	mg/l
Oenanthsäure	50	-	500	mg/l	± 15	mg/l

Die in Tabelle 4.5 angegebenen Fehlergrenzen wurden mit dem **t-Test** ermittelt. Als Bewertungsgrundlage für die angesetzten 3-fach Bestimmungen diente das 95 % Konfidenzintervall (KREYSZIG, 1998).

Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB)

Der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) ist ein Maß für die Erfassung aller chemisch oxidierbaren Substanzen. Der CSB wird dabei als **Sauerstoffäquivalent** ausgedrückt, das der Menge an Kaliumdichromat entspricht, das von den in einem Liter Flüssigkeit enthaltenen Verbindungen verbraucht wird. Diese Verbindungen reagieren mit schwefelsaurer Kaliumdichromatlösung in Gegenwart von Silbersulfat als Katalysator.

Für die Erfassung des CSB in flüssigen Proben wurden **Küvettschnelltests** der Hach Lange GmbH, Düsseldorf (LCK 014: Messbereich 1 – 10 g/l; LCK 914: Messbereich 5 – 60 g/l) verwendet. Zur Probenvorbereitung wurden die Proben vor der Analyse für 10 min bei

15000 U/min zentrifugiert. Ein definiertes (und gegebenenfalls verdünntes) Probevolumen wurde zunächst in die Küvetten pipettiert und anschließend für zwei Stunden bei 148 °C oxidiert. Die dabei auftretende Grünfärbung des Cr^{3+} , die mit dem chemischen Sauerstoffbedarf der Probelösung korreliert, wurde mittels **Photometer** (Hach Lange GmbH, DR 2800) bei einer Wellenlänge von 605 nm bestimmt. Die CSB-Konzentration konnte dabei direkt am Photometer abgelesen werden.

Organischer Gesamtkohlenstoff (TOC)

Analog zum CSB gibt der TOC-Wert (**Total Organic Carbon**) Aufschluss über die Menge an in der Fermentationsflüssigkeit **gelöstem organischem Kohlenstoff**. Vor allem bei der Beurteilung der Qualität der Methanisierung ist dieser Parameter wichtig. Deshalb wird im Rahmen dieser Arbeit der TOC als zusätzlicher Parameter zum Monitoring der zweistufigen Vergärung (Kapitel 7) eingeführt. Das Prinzip der Messmethode beruht auf der **nasschemischen Oxidation** des Gesamtkohlenstoffs durch ein Aufschlussreagenz. Der anorganisch vorliegende Kohlenstoff (TIC) wird dabei ebenfalls durch Ansäuern in CO_2 überführt. Über eine CO_2 -durchlässige, semipermeable Membran gelangt das frei werdende Kohlendioxid in eine Indikator-Lösung und verursacht eine Farbveränderung. Bei der TOC-Bestimmung werden zwei verschiedene Methoden unterschieden, die Austreib-Methode und die **Differenz-Methode**. Als geeignet für die Analytik der Proben erwies sich die Differenz-Methode, da die Proben flüchtige Substanzen enthalten, die bei der Austreibmethode mit ausgetrieben werden.

Für die Erfassung des TOC wurden **Küvettschnelltests** (LCK 381: Messbereich 60 – 735 mg/l) der Hach Lange GmbH verwendet. Zur Probenvorbereitung wurden die Proben vor der Analyse für 10 min bei 15000 U/min zentrifugiert. Der Probenaufschluss erfolgte für zwei Stunden bei 100 °C. Die **Farbveränderung des Indikators**, deren Intensität mit der Kohlendioxidmenge korreliert, wurde **photometrisch** (Hach Lange GmbH, DR 2800) bei 440 nm bestimmt.

Ammoniumstickstoff

Über die Ammoniumkonzentration kann auf den Abbau von Proteinen geschlossen werden. Zudem wirkt Ammonium bei höheren Konzentrationen in der Methanisierung hemmend auf die beteiligten Mikroorganismen. In den von der Hach Lange GmbH eingesetzten **Küvettschnelltests** (LCK 302: Messbereich 47 – 130 mg/l) reagieren die in der Probe gelösten Ammoniumionen im stark alkalischen Bereich mit Hypochloritionen und Salicylationen zu Indophenolblau. Als Katalysator dieser Reaktion dient Nitroprussid-Natrium.

Zur Probenvorbereitung wurden die Proben vor der Analyse für 10 min bei 15000 U/min zentrifugiert. Je nach zu erwartender Ammoniumkonzentration musste die Probe anschließend verdünnt werden. Von der verdünnten Probe wurden 0,2 ml in die Analysenküvette pipettiert. Nach einer Reaktionszeit von 15 min bei Raumtemperatur wurde die Farbveränderung zu **Indophenolblau**, deren Intensität mit der Kohlendioxidmenge korreliert, photometrisch (Hach Lange GmbH, DR 2800) bei 695 nm bestimmt. Die Ammoniumkonzentration konnte direkt am **Photometer** abgelesen werden.

Gesamtstickstoff (TN)

Anorganisch und organisch gebundener Stickstoff wird durch einen Aufschluss mit Peroxodisulfat zu Nitrat oxidiert. Die Nitrationen reagieren anschließend in schwefel- und phosphorsaurer Lösung mit 2,6-Dimethylphenol zu einem **Nitrophenol**. Dabei ist eine **Gelbfärbung** der Lösung zu beobachten. Auch hier wurden Küvettenschnelltests (LCK 388: Messbereich 20 – 100 mg/l) der Hach Lange GmbH eingesetzt.

Zur Probenvorbereitung wurden die Proben vor der Analyse für 10 min bei 15000 U/min zentrifugiert. Je nach zu erwartender Stickstoffkonzentration musste die Probe anschließend verdünnt werden. Der Aufschluss der Probe erfolgte bei 100 °C für 60 min. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde die Aufschlusslösung mit schwefel- und phosphorsaurer Lösung sowie 2,6-Dimethylphenol vermischt. Nach einer Reaktionszeit von 15 min wurde die Verfärbung zu Nitrophenol, deren Intensität mit der Gesamtstickstoffkonzentration korreliert, **photometrisch** (Hach Lange GmbH, DR 2800) bei 340 nm gemessen. Die Gesamtstickstoffkonzentration kann direkt am Photometer abgelesen werden.

In Tabelle 4.6 sind die Fehlergrenzen der Küvettenschnelltests angegeben.

Tab. 4.6: Reproduzierbarkeit der Küvettenschnelltests

	Schnelltest	Konzentrationsbereich				Abweichung	
CSB	LCK 014	1000	-	10000	mg/l	± 340	mg/l
CSB	LCK 914	5000	-	60000	mg/l	± 550	mg/l
TOC	LCK 381	60	-	735	mg/l	± 35	mg/l
Ammonium-N	LCK 302	47	-	130	mg/l	± 15	mg/l
Gesamt-N	LCK 388	20	-	100	mg/l	± 8	mg/l

Die in Tabelle 4.6 angegebenen Fehlergrenzen wurden mit dem **t-Test** ermittelt. Als Bewertungsgrundlage für die angesetzten 3-fach Bestimmungen diente das 95 % Konfidenzintervall (KREYSZIG, 1998).

pH-Wert

Der pH-Wert einer flüssigen Probe wurde **potentiometrisch** bestimmt. Unterschiedliche pH-Werte führen an der pH-Elektrode zu einer galvanischen Spannung. Am pH-Meter wird dies als elektrische Spannung registriert. Über die dem Gerät zugrunde liegende Kalibration kann auf den pH-Wert der Probe geschlossen werden.

Für die pH-Wert Bestimmung wurde ein pH-Meter der WTW GmbH, Weilheim vom Typ pH 330 i verwendet.

4.1.2 Analytik der Gasphasen

Gaszusammensetzung

Die qualitative Analytik des Biogases erfolgt mit einer Kopplung aus **Gaschromatographie** (mit Heliumionisationsdetektor; HID) und **Massenspektrometrie**. Vor dem Start der Analyse werden zwei Probenschleifen (MS- und HID-Schleife) mit der zu untersuchenden Gasprobe gespült. Die Ventile (Valves), mit denen die Probenschleifen gekoppelt sind, befinden sich dabei in Off-Stellung.

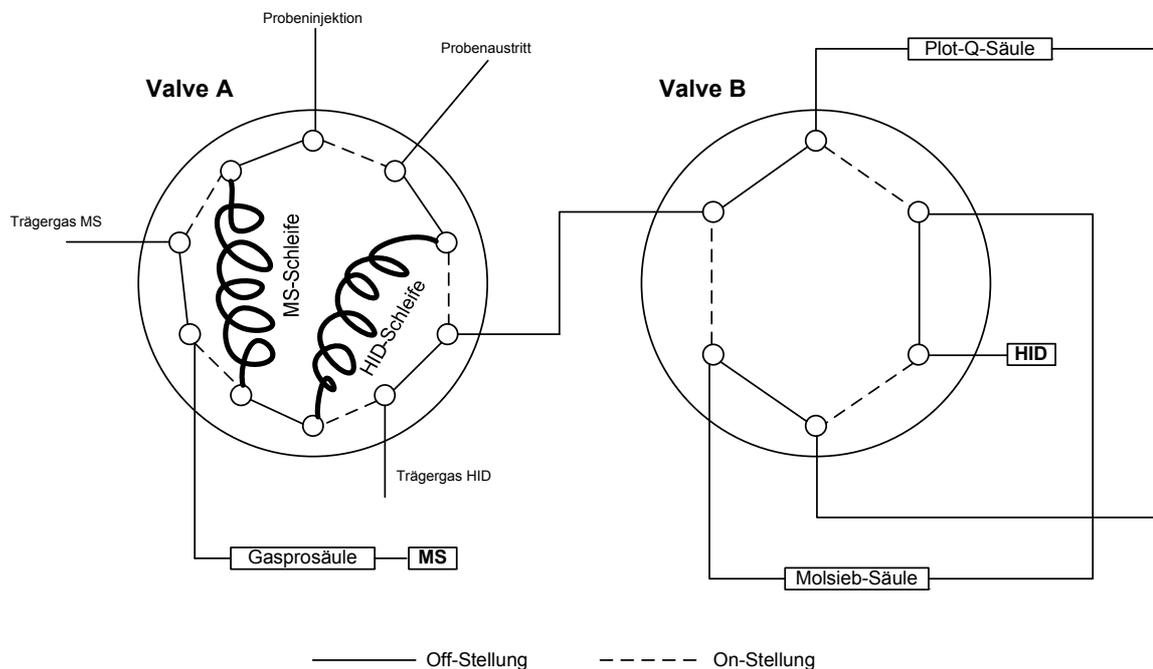


Abb 4.1: Ventil-Schaltung (Valve) und Gasflüsse bei der GC/MS-Analytik von Hydrolyse- und Methanisierungsgas

Beim Analysestart wird Valve A auf On geschaltet (Valve B bleibt auf Off) und die Probe wird zum MS geleitet bzw. zu Valve B. Bevor die einzelnen Gaskomponenten am HID

detektiert werden, strömt die Gasprobe über die **Plot-Q-Säule** und anschließend über die **Molsiebsäule**. In der Plot-Q-Säule werden CO₂ und H₂O zurückgehalten, alle anderen Gaskomponenten können diese Säule schnell passieren. Dadurch wird verhindert, dass die Molsiebsäule durch H₂O degeneriert wird. Nach 3,8 min schaltet auch Valve B auf On. Der Gasfluss durch die in Reihe geschalteten Säulen kehrt sich um. Zuerst wird die Molsiebsäule und anschließend die Plot-Q-Säule durchströmt. Nach 20 min schalten beide Valves wieder auf Off und die Analyse ist beendet.

Die **Kalibriergase** für die Analyse von Biogas beinhalten folgende Komponenten und Konzentrationen:

Tab. 4.7: Zusammensetzung des Kalibriergases für die Biogasanalytik

Komponente	Summenformel	Konzentration	
Kohlendioxid	CO ₂	58	Vol.-%
Methan	CH ₄	10000	ppm
Schwefelwasserstoff	H ₂ S	20000	ppm
Wasserstoff	H ₂	38,5	Vol.-%
Sauerstoff	O ₂	5000	ppm

Die **Kalibrierung** für Biogas erfolgte durch Mischung des Kalibriergases mit Methan, da Methan im Biogas die höchste Konzentration aufweist. Somit konnten unterschiedliche Konzentrationslevels der einzelnen Komponenten hergestellt und für jede Komponente eine Kalibrierkurve ermittelt werden

Für die Analyse diente ein GC/MS-System des Typs Agilent 6890. Die spezifischen Daten der Analysemethode sind nachfolgend aufgelistet.

Tab. 4.8: GC/MS-Analytik von Biogas

Trennsäulen	1: Supelco 2 x SPB-1 (60 m x 0,32 mm x 4,0 µm) 2: Molsieve-CarbonPlot (60 m x 0,53 mm x 30 µm)
Temperaturprogramm	8,8 min isotherm bei 80 °C 20 °C/min bis 260 °C; 2,33 min isotherm bei 260 °C
Trägergas	Säule 1: Helium (80,6 ml/min) Säule 2: Helium (17,7 ml/min)
Split 1	Säule 1: 60 : 1 Säule 2: 2 : 1
Probenmenge	10 ml
Detektoren	HID (Heliumionisationsdetektor) und MS

Die Reproduzierbarkeit der GC/MS-Analytik stellt sich dabei wie folgt dar:

Tab. 4.9: Reproduzierbarkeit der GC/MS-Analytik von Biogas

	Konzentrationsbereich				Abweichung	
	min	max	Einheit		Vol.-%	ppm
CO₂	0	-	30	Vol.-%	± 2,5	Vol.-%
CH₄	50	-	100	Vol.-%	± 5,9	Vol.-%
H₂S	0	-	5000	ppm	± 350	ppm
H₂	0	-	20	Vol.-%	± 2,8	Vol.-%
O₂	0	-	3000	ppm	± 240	ppm

Die in Tabelle 4.9 angegebenen Fehlergrenzen wurden mit dem t-Test ermittelt. Als Bewertungsgrundlage für die angesetzten 3-fach Bestimmungen diente das 95 % Konfidenzintervall. (KREYSZIG, 1998)

Gasvolumina

Die Biogasvolumina wurden mittels digitalem Gaszähler des Typs Milligascounter der Dr.-Ing. Ritter Apparatebau GmbH, Bochum gemessen.

4.1.3 Analytik der Feststoffphasen

Rohprotein

Die Bestimmung des **Stickstoffgehalts** von Frischtreber bzw. des Digestats aus der Hydrolysestufe wurde nach der Methode **Kjeldahl** gemäß MEBAK durchgeführt. Nach dem Probenaufschluss sowie durchgeführter Destillation und Titration mit 0,1 N Salzsäure (HCl) kann der Stickstoffgehalt einer Feststoffprobe wie folgt berechnet werden:

$$N = \frac{(H - B) \cdot 14}{E \cdot TS} \cdot F \quad (3.1)$$

Der Gehalt an **Rohprotein** berechnet sich durch Multiplikation des Stickstoffgehalts mit dem Faktor 6,25. Dieser Faktor ergibt sich aus den durchschnittlichen Stickstoffgehalten der Proteine von 16 % in Gerste und Weizen.

Freies Rohfett

Die Bestimmung des Gehalts an freiem Rohfett von Frischtreber bzw. des Digestats aus der Hydrolysestufe wurde mittels **Soxhlet-Extraktion** ebenfalls nach MEBAK durchgeführt. Die Auswertung erfolgte über Differenzwägung der Extraktionskolben.

4.2 Eingesetzte Substrate

4.2.1 Biertreber

Das Substrat Treber wurde von der Staatsbrauerei Weihenstephan bezogen. Für die Versuche wurden dabei Treber aus der Produktion von hellem untergärigem Bier (Gerstentreber) und obergärigem Weißbier (Gersten/Weizen-Treber) verwendet. Für die experimentellen Arbeiten wurden die verschiedenen Treberchargen hinsichtlich der Bestandteile untersucht.

Es ergab sich folgende Zusammensetzung:

Tab. 4.10: Mittlere Zusammensetzung der Trebertrockensubstanz

		Gerstentreber	Gersten/Weizen-Treber
leicht abbaubare Fraktionen	Eiweiß	22,5	26,7
	Fett	13,4	14,1
	Stärke	1,1	0,9
schwer/ nicht abbaubare Fraktionen	Lignozellulose	61,1	55,2
	Asche	2,9	3,1

4.2.2 Brauereiabwasser

Die über Küvettenschnelltests ermittelte, mittlere Zusammensetzung des verwendeten Brauereiabwassers stellt sich wie folgt dar:

Tab. 4.11: Mittlere Zusammensetzung von Brauereiabwasser

	Einheit	Anteil
CSB	mg/l	2645
Gesamtstickstoff	mg/l	47
Gesamtphosphat	mg/l	18

4.2.3 Misch-Enzympräparat

Zur Beschleunigung des Aufschlusses der einzelnen Treberfraktionen wurde die Effizienz eines kommerziell erworbenen Enzympräparats als Additiv untersucht. Die Eigenschaften wurden in Kapitel 3.2.8 beschrieben.

Vor der Zudosierung in die Versuchsreaktoren wurde das lyophilisierte Produkt gemahlen, um eine schnellere Lösung der Enzyme in der Fermenterbrühe zu gewährleisten.

4.2.4 Inokuli

Als **Inokulum** wird eine Flüssigsuspension bezeichnet, die die für die Fermentationen notwendigen Mikroorganismen enthält.

Für den Betrieb der Hydrolyse und Versäuerung wurde **Pansensaft** von Rindern verwendet. Pansenmikroorganismen eignen sich besonders für die anaerobe Fermentation von Biertrebern, da diese eine hohe Adaption an Substrate mit hohem Anteil von Zellulose und Hemizellulose aufweisen. Die wichtigsten im Pansen vertretenen Mikroorganismen sowie deren Stoffwechselwege wurden in Kapitel 2.1 beschrieben. In den Versuchen von KRETSCHMER (1997) konnte nachgewiesen werden, dass sich die Abbauleistungen der Mikroorganismen von frischem Pansensaft und eingefrorenem Pansensaft nicht wesentlich unterscheiden. Dies konnten in eigenen Testreihen bestätigt werden. Deshalb wurde für die Versuche dieser Arbeit Pansensaft aus dem Schlachthof Grub bei München (Versuchsgut der Landesanstalt für Landwirtschaft) portioniert und bei -20 °C aufbewahrt. Vor Versuchsstart wurde die benötigte Menge an Pansensaft auf die Versuchstemperatur temperiert.

Klärschlamm eignet sich sehr gut als Inokulum für die Acetogenese und Methanogenese. Für diese Versuchsreihen wurde ausgefaulte Klärschlamm aus der kommunalen Kläranlage in Freising verwendet.

4.3 Versuchsaufbau und -durchführung

4.3.1 Verwendete Fermenter

Rührkesselreaktor (kontinuierliche Hydrolyse und Versäuerung)

Für die Durchführung der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von festen organischen Reststoffen wurden Rührkesselreaktoren gemäß Abbildung 4.2 verwendet.

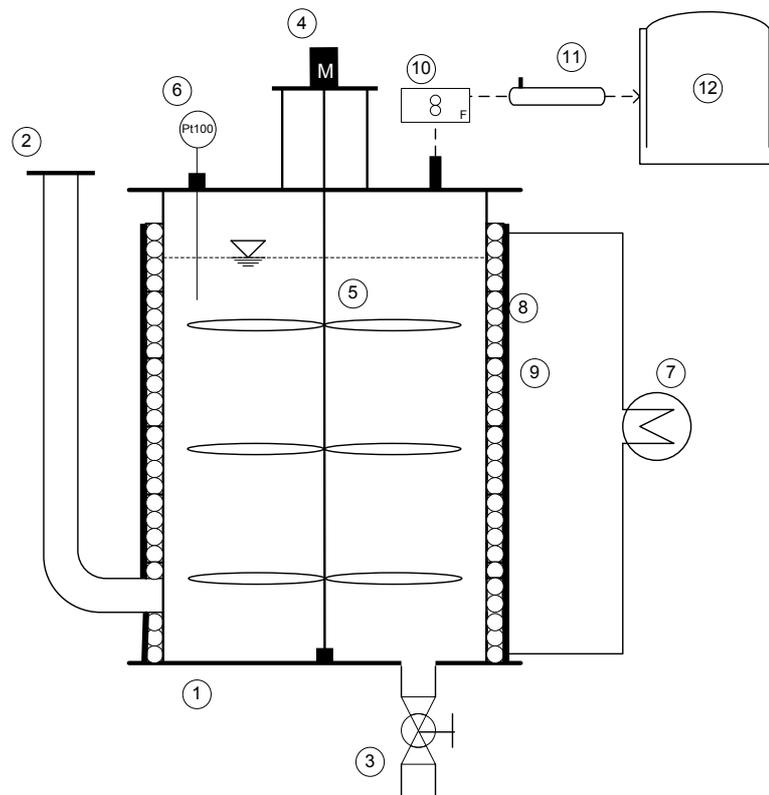


Abb. 4.2: Schematische Darstellung eines Rührkesselreaktors zur anaeroben Hydrolyse und Versäuerung fester organischer Stoffe

Die Substratzufuhr in den Reaktor (1) erfolgt manuell über das Befüllungsrohr (2). Für die Entnahme von Hydrolysat und Digestat ist am Reaktorboden ein Ablasshahn (3) angebracht. Dadurch kann gewährleistet werden, dass die Materialentnahme homogen erfolgt und der Reaktor-Zusammensetzung entspricht. Für die Durchmischung des Fermenterinhaltens sorgt ein Elektromotor (4), der die Welle mit den Rührflügeln (5) antreibt. Die Überwachung der Fermentationstemperatur erfolgt mit einem Eintauchtemperaturfühler (6). Für die Beheizung des Fermenters wurde ein Wasserbadthermostat (7) verwendet. Das Heizwasser zirkuliert dabei in einer Rohrwicklung (8) an der Behälteraußenwand, die, um Wärmeverluste

weitgehend zu vermeiden, isoliert (9) ist. Das entstehende Hydrolysegas wird durch einen Gaszähler (10) und eine Gasmaus (11) zur Probennahme geleitet und schließlich in einem Sammelbeutel (12) aufgefangen.

In Tabelle 4.12 sind die eingesetzten Bauteile aufgelistet.

Tab. 4.12: Technische Daten der Bauteile eines Rührkesselreaktors

Nr.	Bauteil	Hersteller, Bezugsquelle
1	Edelstahlbehälter (V2A), 10 l	Eigenbau
2	Befüllungsrohr (V2A)	Eigenbau
3	Kugelhahn (V2A)	Nerb GmbH, Freising
4	Elektrotriebmotor RC 321 25:1	Dr. Fritz Faulhaber GmbH & Co. KG, Schönaich
5	Welle mit Rührflügel (V2A)	Eigenbau
6	Eintauchtemperaturfühler Pt 100	Ahlborn Mess- und Regelungstechnik GmbH, Holzkirchen
7	Wasserbadthermostat Haake N3	Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, USA
8	Rohrwicklung, Rotilabo	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
9	Isolierung	Übelein Baustoffe GmbH, Freising
10	Gaszähler, Milligascounter	Dr.-Ing. Ritter Apparatebau GmbH, Bochum
11	Gasmaus	Schott AG, Mainz
12	Tedlar Gasbeutel, 232-08A, 10 l	SKC Inc., Pennsylvania, USA

Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit des Versuchsaufbaus wurden insgesamt vier Reaktoren (Batch-Fermentation über sieben Tage) mit identischen Substrat- und Inokulummengen befüllt. Bei den analysierten Kontrollparametern ergaben sich Abweichungen von unter 10 %. Eine Reproduzierbarkeit des Versuchsaufbaus ist damit gegeben.

Eudiometer (Batch-Versuche)

Für die Durchführung der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von festen organischen Reststoffen im Batch-Verfahren wurde ein Eudiometerversuchsstand gemäß Abbildung 4.2 verwendet.

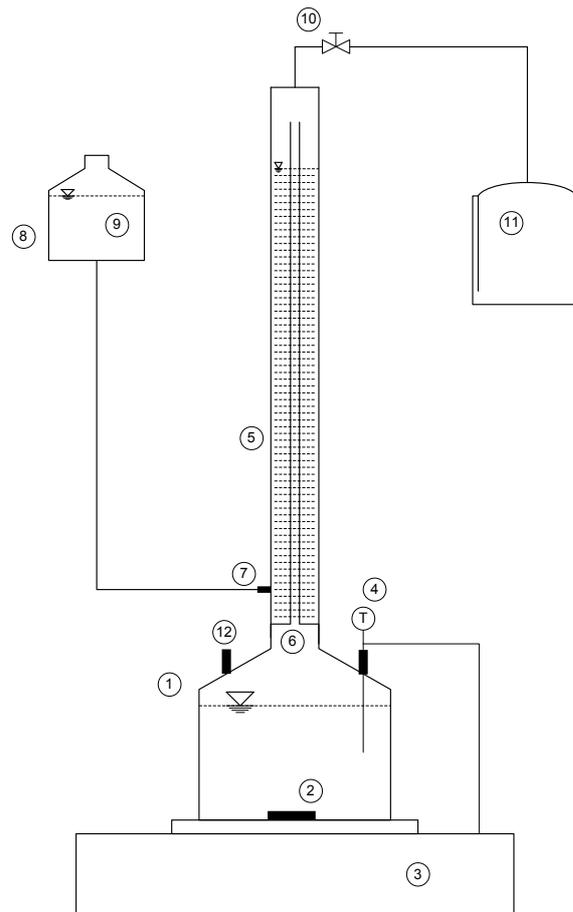


Abb. 4.3: Schematische Darstellung eines Eudiometerversuchsstandes zur anaeroben Hydrolyse und Versäuerung fester organischer Stoffe

Bei Versuchsbeginn wird die Standflasche (1) mit dem zu vergärenden Substrat befüllt. Die Durchmischung erfolgt über einen Rührfisch (2). Dieser wird über einen Magnetrührer mit Heizplatte (3) angetrieben. Die Temperaturregelung der Fermentation erfolgt mit einem an die Heizplatte angeschlossenen Temperatursensor (4). Die Standflasche ist mittels Glasschliffverbindung mit einer Glasröhre verbunden (5). Das entstehende Fermentationsgas strömt durch die innere Glaskapillare (6) in den Kopfraum der Glasröhre und verdrängt die sich in der Röhre befindende Sperrflüssigkeit (9). Die Sperrflüssigkeit wird dabei über einen Auslass (7) in einen Ausgleichsbehälter (8) gedrückt. Das während der Fermentation entstehende Gasvolumen kann an der Skalierung der Glasröhre abgelesen werden. Nach erfolgtem Ablesen, muss die Sperrflüssigkeit wieder auf den Nullpunkt der Skalierung eingestellt werden. Dazu wird das Absperrventil (10) geöffnet, wodurch das Gas aus der Glasröhre in den Sammelbeutel (11) gedrückt wird. Gleichzeitig fließt die Sperrflüssigkeit wieder in die Glasröhre zurück. Für die Entnahme von Gasproben ist an der Standflasche eine Probenahmestelle (12) installiert.

In Tabelle 4.13 sind die eingesetzten Bauteile aufgelistet.

Tab. 4.13: Technische Daten der Bauteile eines Eudiometerversuchsstandes

Nr.	Bauteil	Hersteller, Bezugsquelle
1	Glasstandflasche	Gaßner Glastechnik GmbH, München
2	Rührfisch	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
3	Magnetrührer mit Heizplatte	
4	Temperatursensor	
5,6	Glasröhre mit Glaskapillare	Gaßner Glastechnik GmbH, München
7	Schlauch, Rotilabo	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
8	Glasflasche	Schott AG, Mainz
9	Sperrflüssigkeit	
10	Ventil	Gaßner Glastechnik GmbH, München
11	Tedlar Gasbeutel, 232-08A, 10 l	SKC Inc., Pennsylvania, USA
12	Olive mit Septum	Gaßner Glastechnik GmbH, München

Die Sperrflüssigkeit setzt sich wie folgt zusammen:

Tab. 4.14: Zusammensetzung der Sperrflüssigkeit

Substanz	Menge
H ₂ SO ₄ konz.	30 ml
H ₂ O dest.	1000 ml
Na ₂ SO ₄ *10 H ₂ O	200 g
Methylorangelösung	Einige Tropfen

Die Verwendung einer Sperrflüssigkeit anstelle von Wasser ist nötig, um die Lösung von CO₂ in Wasser zu vermeiden und somit eine Verfälschung der Gasvolumenmessung zu verhindern.

Die Überprüfung der Reproduzierbarkeit des Versuchsaufbaus erfolgte analog der Rührkesselreaktoren.

Festbettreaktor (kontinuierliche Methanisierung)

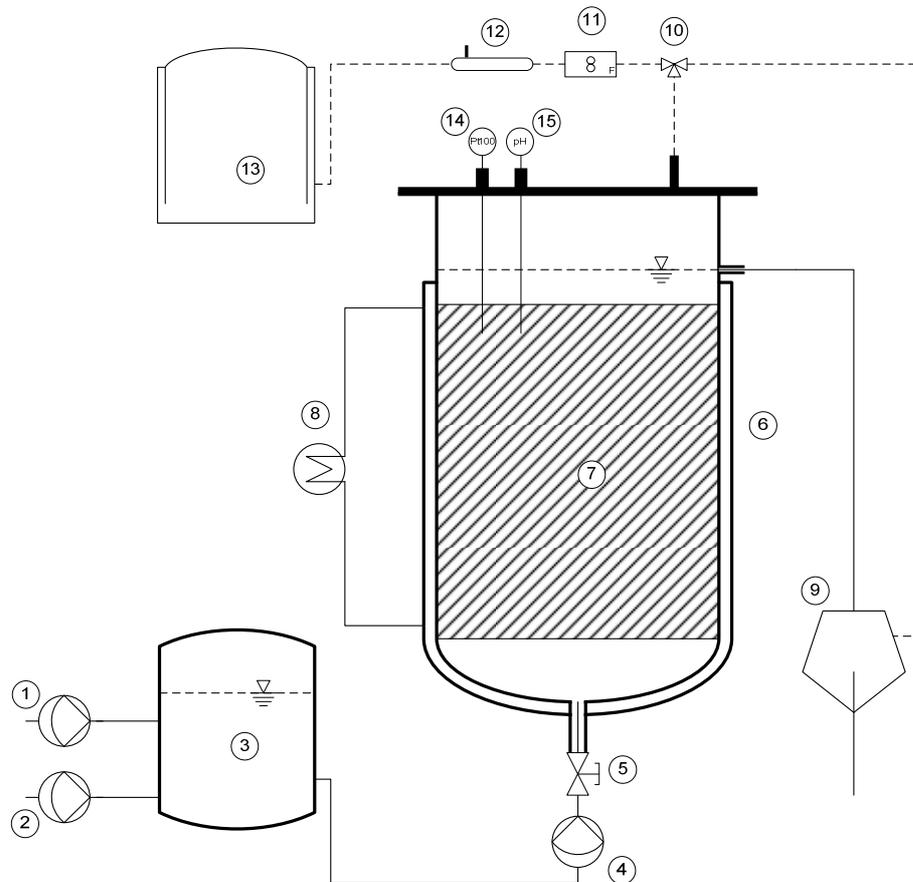


Abb. 4.4: Schematische Darstellung eines Festbettreaktors zur Methanisierung von Hydrolysat

Über zwei Membrandosierpumpen wird Brauereiabwasser (1) und Hydrolysat (2) in den Misch- und Ausgleichsbehälter (3) gepumpt. Dieser Behälter ist für das Einstellen des benötigten CSB und nötig und dient zugleich als Vorversäuerungsbehälter. Über eine weitere Membrandosierpumpe (4) wird das Substrat aus Behälter (3) in den Festbettreaktor (6) gepumpt. Am Boden des Reaktors befindet sich ein Absperrhahn (5). Im Reaktor befindet sich das Festbettmaterial (7), das als Aufwuchsfläche für die Mikroorganismen dient. Die Beheizung des doppelwandigen Glasreaktors erfolgt über ein Wasserbadthermostat (8). Das von unten zugeführte Substrat durchströmt das Festbett, wird dort abgebaut und fließt aus dem Kopfraum des Reaktors in einen Gasabscheider (9). Dadurch kann das im Fermenterablauf noch gelöste Gas ausgetrieben und der Gasvolumenmessung (11) zugeführt werden. Für die Entnahme von Gasproben ist eine Gasmaus (12) installiert. Das entstehende Biogas wird in einem Gassammelbeutel (13) aufgefangen. Für die Kontrolle des Fermentationsverlaufes sind ein Temperaturfühler (14) und eine pH-Sonde (15) fix installiert.

In Tabelle 4.15 sind die eingesetzten Bauteile aufgelistet.

Tab. 4.15: Technische Daten der Bauteile der Versuchsanlage zur Methanisierung von Hydrolysat

Nr.	Bauteil	Hersteller, Bezugsquelle
1, 2, 4	Dosierpumpe, Gamma/L	ProMinent Dosiertechnik GmbH, Heidelberg
3	Kunststoffbehälter, 30 l	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
6, 5	Glasbehälter mit Teflondeckel, doppelwandig, 8 l	Gaßner Glastechnik GmbH, München
7	Festbettmaterial	VWRInternational GmbH, Ismaning
8	Wasserbadthermostat Haake N3	Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, USA
9	Glasbehälter, 1,5 l	Schott AG, Mainz
10	Ventil, Rotilabo	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
11	Gaszähler, Milligascounter	Dr.-Ing. Ritter Apparatebau GmbH, Bochum
12	Gasmaus	Schott AG, Mainz
13	Tedlar Gasbeutel, 232-08A, 10 l	SKC Inc., Pennsylvania, USA
14	Eintauchtemperaturfühler Pt 100	Ahlborn Mess- und Regelungstechnik GmbH, Holzkirchen
15	pH-Sonde	Ahlborn Mess- und Regelungstechnik GmbH, Holzkirchen

4.3.2 Versuchsdurchführung

Versuchsphase 1

Während dieser Versuchsphase wurde der Einsatz eines Mischenzymsubstrates (MES) während der Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber (GT) hinsichtlich der Versäuerungsqualität und der Abbauraten untersucht.

Dazu wurden Rührkessel-Bioreaktoren als kontinuierliche anaerobe Hydrolyse- und Versäuerungsstufe in Betrieb genommen. Nach erfolgreicher Adaptionsphase (drei Wochen) der Mikroorganismen an das Zielsubstrat wurden die Reaktoren mit Gerstentreber beschickt. Zusätzlich wurde mit der täglichen Beschickung der Reaktoren das Misch-Enzym-Substrat zudosiert. Ziel war das Erreichen einer stabilen Fermentationsphase bei den jeweils gewählten Verweilzeiten. Die unterschiedlichen Verweilzeiten wurden durch stetes Erhöhen der täglichen Substratzufuhr erreicht. Nach Erreichen eines jeweils konstanten Fermentationsverlaufes, wurden jeweils die mittleren Zusammensetzungen der Hydrolysate über einen Zeitraum von 15 Tagen ermittelt.

Die Herstellung der Substratmischungen für die Reaktorbefüllung erfolgte in externen Mischbehältern.

Tab. 4.16: Übersicht der Versuchsreihen der mikrobiologisch-enzymatischen Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber

Nr.	Fermentationsart	Substrate	Mischungsverhältnisse	Verweilzeit [d]
E.1a	kontinuierlich	GT, MES, Wasser	0,98 : 0,02 : 1	11
E.1b	kontinuierlich	GT, MES, Wasser	0,98 : 0,02 : 1	9
E.1c	kontinuierlich	GT, MES, Wasser	0,98 : 0,02 : 1	7
E.1d	kontinuierlich	GT, MES, Wasser	0,98 : 0,02 : 1	6
E.1e	kontinuierlich	GT, MES, Wasser	0,98 : 0,02 : 1	5
E.1f	kontinuierlich	GT, MES, Wasser	0,98 : 0,02 : 1	4
E.1g	kontinuierlich	GT, MES, Wasser	0,98 : 0,02 : 1	3
E.2a	kontinuierlich	GT, Wasser	1 : 1	11
E.2b	kontinuierlich	GT, Wasser	1 : 1	9
E.2c	kontinuierlich	GT, Wasser	1 : 1	7
E.2d	kontinuierlich	GT, Wasser	1 : 1	6
E.2e	kontinuierlich	GT, Wasser	1 : 1	5
E.2f	kontinuierlich	GT, Wasser	1 : 1	4
E.2g	kontinuierlich	GT, Wasser	1 : 1	3

Versuchsphase 2

Diese Versuchsphase diente der Überprüfung der Vergärbarkeit weiterer Brauereireststoffe wie Trub und unterschiedliche Treberarten. In Tabelle 4.17 sind die durchgeführten Versuche aufgelistet.

Tab. 4.17: Übersicht der Versuchsreihen der mikrobiologischen Hydrolyse und Versäuerung verschiedener organischer Brauereireststoffe

Nr.	Fermentationsart	Substrate	Mischungsverhältnisse	Versuchsdauer [h]
T.1	Batch	GT, Inokulum, Wasser	1 : 1 : 1	185
T.2	Batch	GWT _h , Inokulum, Wasser	1 : 1 : 1	185
T.3	Batch	GWT _d , Inokulum, Wasser	1 : 1 : 1	185
HT.1	Batch	GT, HT, Inokulum, Wasser	0,03 : 0,97 : 1 : 1	185
HT.2	Batch	GT, HT, Inokulum, Wasser	0,06 : 0,94 : 1 : 1	185
HT.3	Batch	GT, HT, Inokulum, Wasser	0,09 : 0,91 : 1 : 1	185
HT.4	Batch	GT, HT, Inokulum, Wasser	0,12 : 0,88 : 1 : 1	185
HT.5	Batch	GT, HT, Inokulum, Wasser	0,15 : 0,85 : 1 : 1	185

Versuchsphase 3

In dieser Versuchsphase wurde die Eignung von Hydrolysat aus der kontinuierlichen mikrobiologischen Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Brauereiabwasser als Substrat für die Methanisierung in einem Festbettreaktor untersucht. Ein weiteres Ziel ist es,

die Prozessstabilitäten in einem Langzeitversuch nachzuweisen. Dazu wurde der Ablauf in einer Fest-Flüssig-Trennung (Zentrifugation) in flüssiges Hydrolysat und Digestat getrennt. Das Hydrolysat wurde anschließend in den Festbettreaktor gepumpt.

Tab. 4.18: Übersicht der Versuchsreihen der zweistufigen Fermentation von Gerstentreber und Brauereiabwasser

Nr.	Fermentationsart	Substrate	Mischungsverhältnisse	Verweilzeit [d]
HM.1	kontinuierlich	GT, Abwasser	1 : 2	5
HM.2	kontinuierlich	Hydrolysat, Abwasser		2

Als Fermentationstemperatur wurde für alle Versuche der mesophile Bereich (38 °C) gewählt, da dort stabile Fermentationsbedingungen herrschen und geringe Temperaturschwankungen keinen signifikanten Einfluss auf die Reproduzierbarkeit haben.

5 Optimierung der Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber durch Enzymadditivierung

In diesem Versuchsabschnitt wird der Einfluss der Zudosierung eines **Enzym-Komplexes** auf den **Abbaugrad** und die **Fermentationsqualität** bei der Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber dargestellt. Weitere Untersuchungskriterien sind **Substratverweilzeit**, **Raumbelastung** und **Produktivität**.

Für alle Versuchsreihen wurde die quasi-kontinuierliche (Substratzugabe erfolgte 1 x pro Tag) Fermentation als Betriebsweise gewählt. Im Folgenden wird diese Fermentation als kontinuierliche Fermentation bezeichnet.

5.1 Einfluss der Substratverweilzeit und Raumbelastung

Bei kontinuierlich betriebenen Fermentationen hat die Substratverweilzeit einen entscheidenden Einfluss auf das Erreichen eines stabilen Fermentationsverlaufes. In diesem Versuchsabschnitt wurde deshalb überprüft, ob auch bei geringen Substratverweilzeiten der Gleichgewichtszustand erreicht werden kann. Die Fehlerbalken stellen die Standardabweichung vom Mittelwert innerhalb des 15-tägigen Betrachtungszeitraumes dar. Da eine Verweilzeitverkürzung durchgeführt wurde, wird in den folgenden Abbildungen eine fallende Darstellungsweise der Abszissen verwendet.

5.1.1 Einfluss auf die Versäuerungsleistung

Die Gesamtfettsäurebildung gibt Aufschluss über die Qualität der Versäuerung. Hohe Gesamtfettsäurekonzentrationen deuten auf eine hohe Versäuerungsleistung der Hydrolyseprodukte (Monosaccharide, Aminosäuren) hin.

Abbildung 5.1 zeigt die jeweiligen, von der Substratverweilzeit abhängigen, mittleren Gesamtfettsäurekonzentrationen im Hydrolysat mit Zudosierung des Misch-Enzym-Substrates. Deshalb wurde auf eine zusätzliche Darstellung einer Nullprobe verzichtet. Bei Reduzierung der Substratverweilzeit auf sechs Tage ist ein steter Anstieg der mittleren Gesamtfettsäurekonzentration zu beobachten. Die Maximalkonzentration beträgt hier rund 34 g/l. Verglichen mit der Verweilzeit von elf Tagen ist dies gleichbedeutend mit einer Steigerung der mittleren Gesamtfettsäurekonzentration auf 165 %. Dies liegt an der höheren Raumbelastung bei niedrigeren Substratverweilzeiten. Steht mehr Substrat für die Verflüssigung zur Verfügung, können folglich auch mehr Fettsäuren gebildet werden. Des Weiteren kann durch den Enzymzusatz eine schnelle Versäuerung der Hydrolyseprodukte durch die fermentativen Bakterien erfolgen.

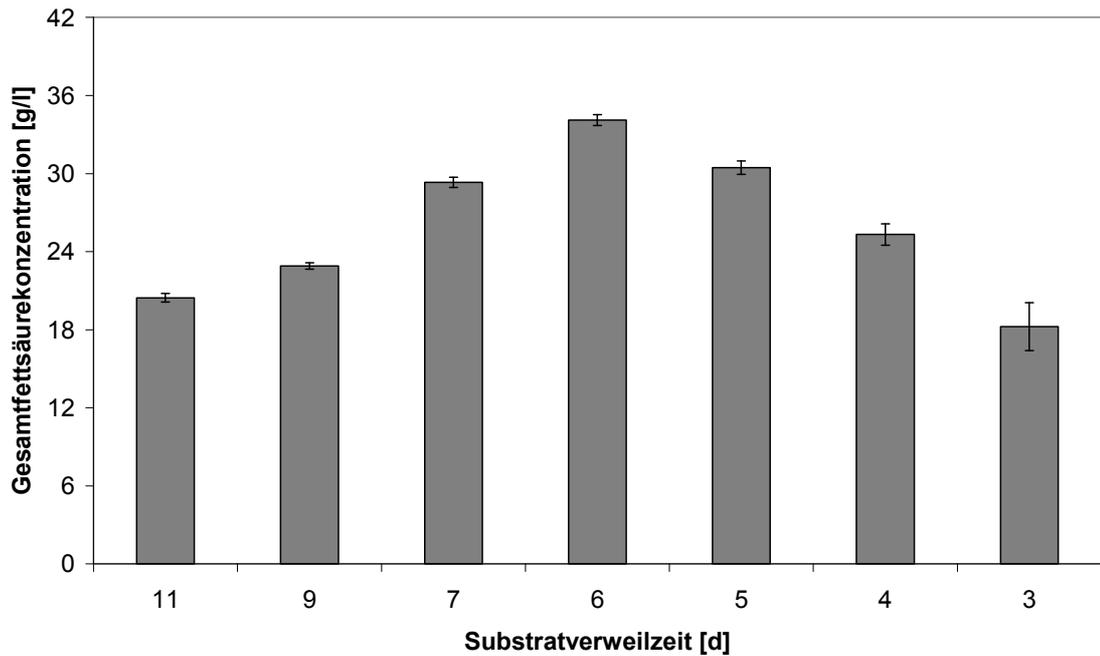


Abb. 5.1: Mittlere Gesamtfettsäurekonzentration im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Abbildung 5.2 zeigt die auf die Raumlast bezogene spezifische Fettsäurebildung.

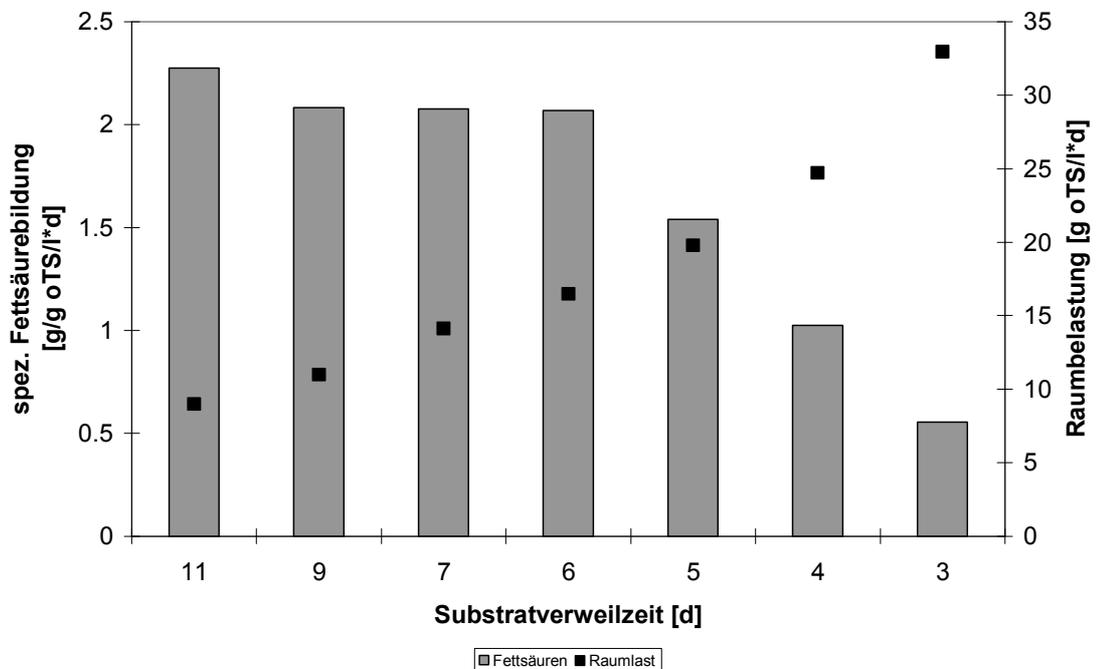


Abb. 5.2: Spezifische Fettsäurebildung im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von Raumbelastung und Substratverweilzeit

Bis zu einer Substratverweilzeit von sechs Tagen ist die spezifische Fettsäurebildung nahezu konstant bei rund 2 g/g oTS*d. Wird die Verweilzeit verkürzt, fällt die Fettsäureproduktion ab. Bei einer Substratverweilzeit von vier Tagen reduziert sich die Fettsäureproduktion um die Hälfte.

Ein weiteres, wichtiges Kriterium für die Beurteilung der Versäuerungsqualität ist das Fettsäurespektrum. Das Fettsäurespektrum gibt über die spätere Methanisierbarkeit des Hydrolysates Aufschluss. Überwiegen die Anteile von Essigsäure und Buttersäure gegenüber den Anteilen von Propionsäure und längerkettigen Fettsäuren, kann von einer guten Methanisierbarkeit ausgegangen werden.

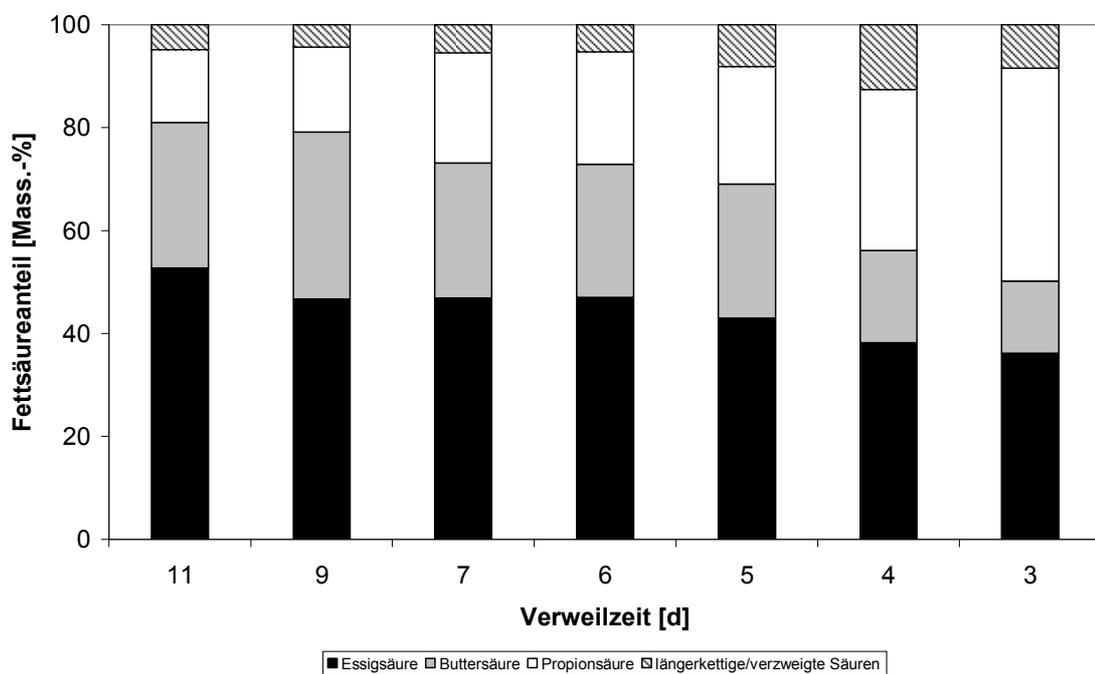


Abb. 5.3: Mittleres Fettsäurespektrum im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Abbildung 5.3 zeigt die Fettsäureverteilung im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung mit Enzymzudosierung. Der Anteil an leichter methanisierbaren Fettsäuren (Essigsäure und Buttersäure) bleibt bis zu einer Verweilzeit von fünf Tagen stabil bei rund 70 %. Erst bei einer Verweilzeit von drei Tagen verschiebt sich das Fettsäureverhältnis deutlich. Der Anteil der leichter verwertbaren Fettsäuren beträgt ca. 50 %. Eine Methanisierung bei akzeptablen Verweilzeiten sollte damit noch gegeben sein.

5.1.2 Einfluss auf den chemischen Sauerstoffbedarf

Der chemische Sauerstoffbedarf kann als Parameter für die Beurteilung der Hydrolyse bzw. Verflüssigung organischer Substanz herangezogen werden. Je höher der Abbau an polymeren Verbindungen in der Feststoffphase ist, desto höher ist der Anteil an gelösten monomeren Moleküle in der Flüssigphase der Fermenterbrühe. Dies hat einen Anstieg des CSB zur Folge.

Abbildung 5.4 stellt die mittleren CSB-Konzentrationen in der Flüssigphase der Hydrolyse von Gerstentreber mit Mischenzymzugabe dar.

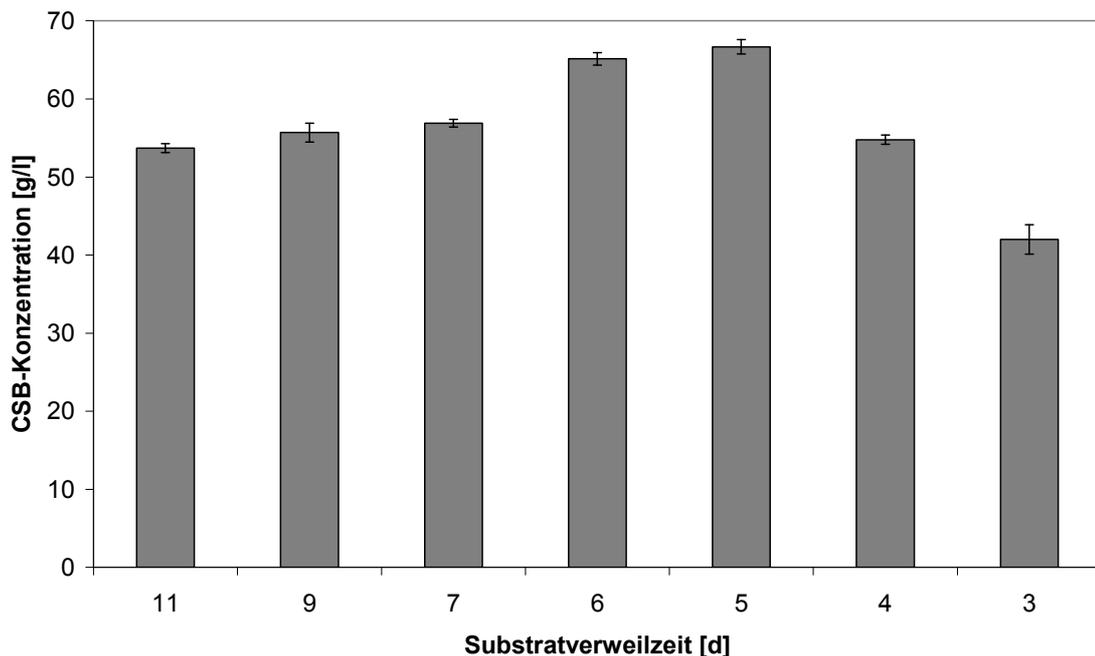


Abb. 5.4: Mittlere CSB-Konzentration im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Im Vergleich zu den Verläufen der Gesamtfettsäurekonzentrationen ist die Steigerungsrate der CSB-Konzentrationen wesentlich geringer. Die Maximalkonzentration wird mit rund 66 g/l bei einer Verweilzeit von fünf Tagen erreicht. Dies ist gleichbedeutend mit einer Steigerung auf nahezu 120 % im Vergleich zur Verweilzeit von elf Tagen. Auffällig ist, dass das hohe CSB-Niveau im Gegensatz zur Fettsäurebildung über ein größeres Verweilzeitspektrum gehalten werden kann. Der Abbau an organischer Substanz bleibt damit trotz steigender Raumbelastungen hoch. Eine wesentliche Verschlechterung erfolgt erst bei einer Substratverweilzeit von drei Tagen.

5.1.3 Einfluss auf pH-Wert und Ammoniumbildung

Die Ammoniumkonzentration im flüssigen Hydrolysat spiegelt den Abbau an Treberprotein wieder. Neben den Gesamtfettsäuren beeinflusst auch die Ammoniumkonzentration den pH-Wert. Abbildung 5.5 stellt die pH-Werte und Ammoniumkonzentrationen in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit dar.

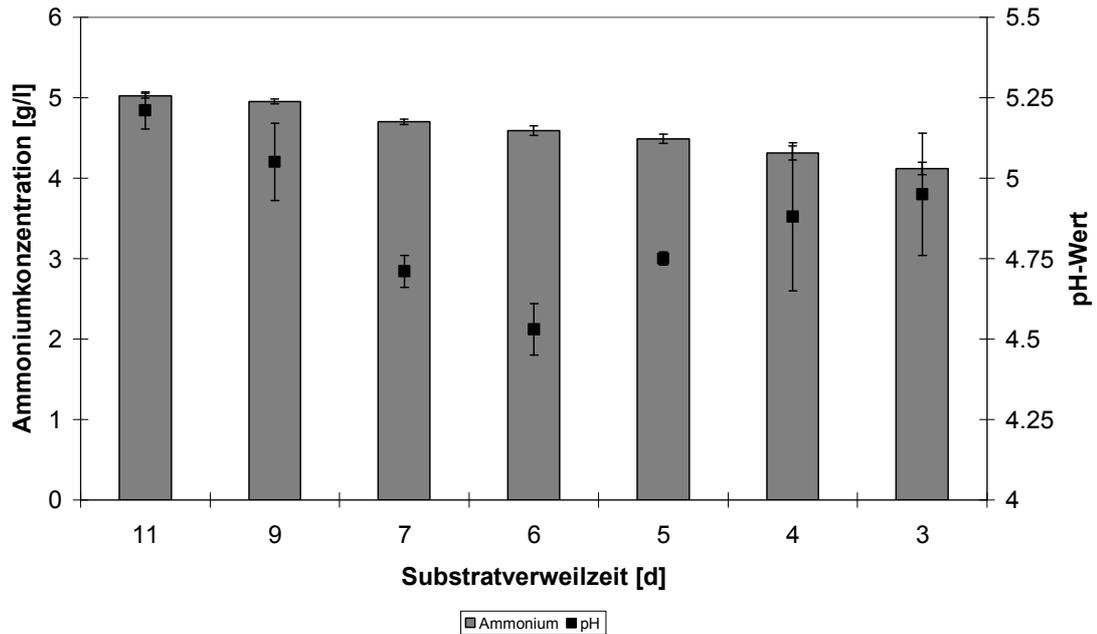


Abb. 5.5: pH-Werte und Ammoniumkonzentrationen im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Deutlich zu erkennen ist die mit geringeren Verweilzeiten einhergehende, fallende Ammoniumkonzentration im Hydrolysat von rund 5 g/l bei einer Verweilzeit von elf Tagen auf rund 4 g/l bei 3-tägiger Verweilzeit. Der Grund dafür liegt im Verdünnungseffekt, da mit sinkender Verweilzeit mehr Fermentervolumen ausgetauscht wird. Zudem sinkt auch der Abbaugrad an Protein.

Die pH-Werte der Fermentationsbrühe sinken bis zu einer Verweilzeit von sechs Tagen auf 4,5 ab. Dies kann durch die Zunahme der Fettsäurekonzentration (vgl. Abbildung 5.1) erklärt werden. Der spätere pH-Anstieg, resultiert aus der abnehmenden Fettsäurebildung und der relativ konstanten Ammoniumkonzentration. Ammonium wirkt damit durch seine basische Eigenschaft der Versäuerung durch Fettsäuren entgegen.

5.1.4 Einfluss auf die Produktivität

Die Produktbildungsrate (Produktivität) gibt Aufschluss über die Effizienz einer Fermentation. Bei der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von organischem Material sind die Gesamtfettsäurebildung und der chemische Sauerstoffbedarf wichtige Parameter. Die Produktivität beider Fermentationsprodukte wird in Abbildung 5.6 gezeigt.

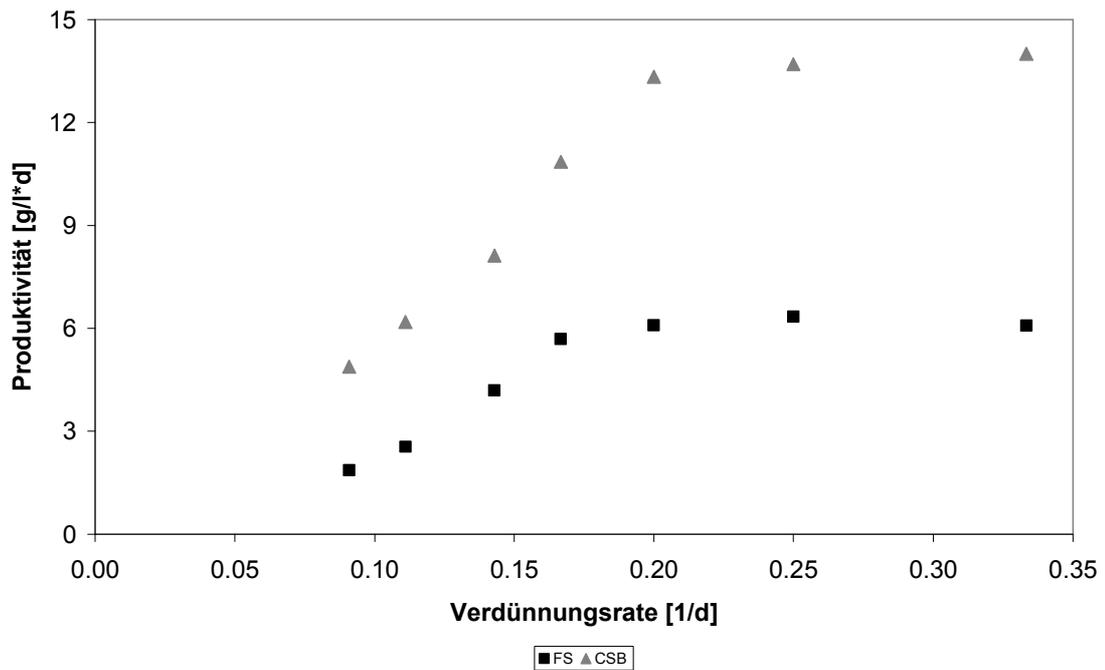


Abb. 5.6: Produktivitäten (CSB, Fettsäuren) im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Der Verlauf der Produktivität einer kontinuierlichen Fermentation wird in Abhängigkeit von der Verdünnungsrate aufgetragen. Die Verdünnungsrate ist dabei gleich dem Kehrbuch der Verweilzeit. Bei beiden Fermentationsprodukten (CSB und Fettsäuren) ist ein nahezu linearer Anstieg der Produktivität bis zu einer Substratverweilzeit von fünf Tagen zu beobachten. Die CSB-Produktivität beträgt hier rund 14 g/l*d, die Fettsäureproduktivität rund 6 g/l*d. Bei weiterer Verkürzung der Verweilzeit stagnieren die Produktivitäten.

5.1.5 Einfluss auf die Abbaugrade

Die Abbaugrade der verschiedenen Treberbestandteile sind ein wichtiges Kriterium für die Beurteilung der Hydrolyseeffizienz. Je höher die Verflüssigungsrate an organischer Substanz, desto weniger Digestat fällt an. Vor allem der Proteinabbau spielt eine entscheidende Rolle für die nachfolgende Methanisierung des Hydrolysats (mögliche Ammoniakhemmung).

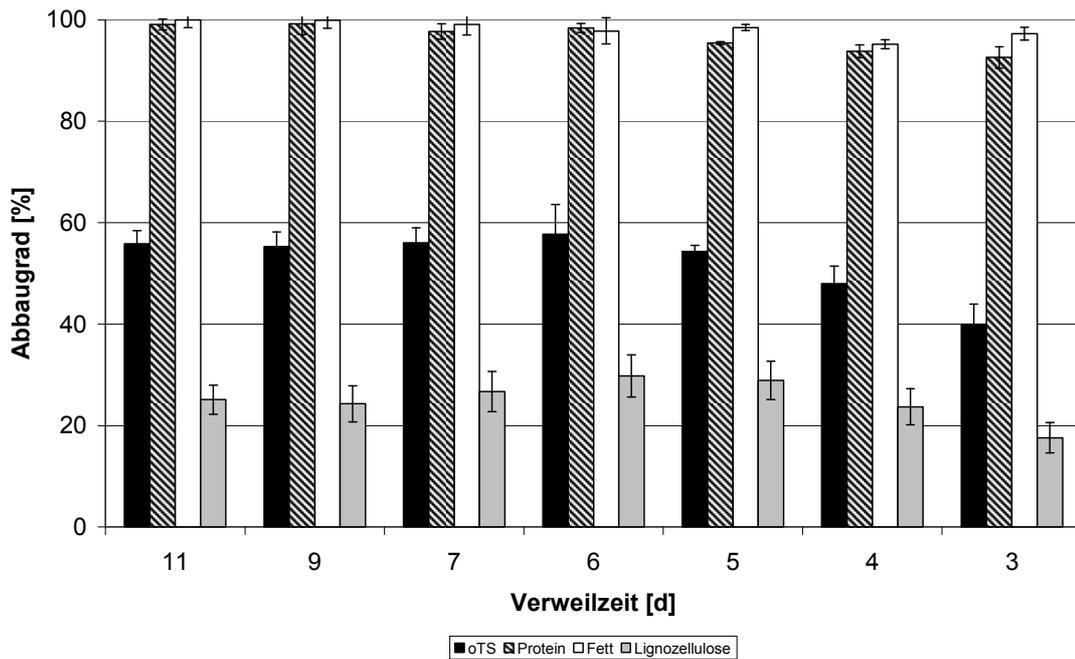


Abb. 5.7: Abbaugrade der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

In der Hydrolyse und Versäuerung mit Enzymzusatz beträgt der Abbaugrad an organischer Substanz zunächst unabhängig von der Substratverweilzeit rund 55 %. Erst bei Verweilzeiten von vier bzw. drei Tagen fallen die Abbaugrade auf 50 % bzw. 40 %. Die leicht hydrolysierbaren Anteile (Fette und Proteine) werden dabei unabhängig von den Verweilzeiten nahezu vollständig abgebaut. Dies wird auch an den Ammoniumkonzentrationen (Abbildung 5.5) deutlich, da Ammonium durch die Hydrolyse der Proteine freigesetzt wird. Lignozellulose wird maximal zu einem Viertel abgebaut.

5.2 Einfluss des Enzymeinsatzes

Der Enzymzusatz wurde mit dem Ziel durchgeführt, die Hydrolyse zu unterstützen und dadurch die Versäuerung zu beschleunigen. In diesem Kapitel wird deshalb der Einfluss der Zudosierung des Mischenzymsubstrates durch den Vergleich mit einer rein mikrobiologischen Hydrolyse und Versäuerung beschrieben.

5.2.1 Einfluss auf die Versäuerungsleistung

Abbildung 5.8 zeigt die Gesamtfettsäurekonzentrationen im Hydrolysat in Abhängigkeit des Enzymzusatzes und der Substratverweilzeit.

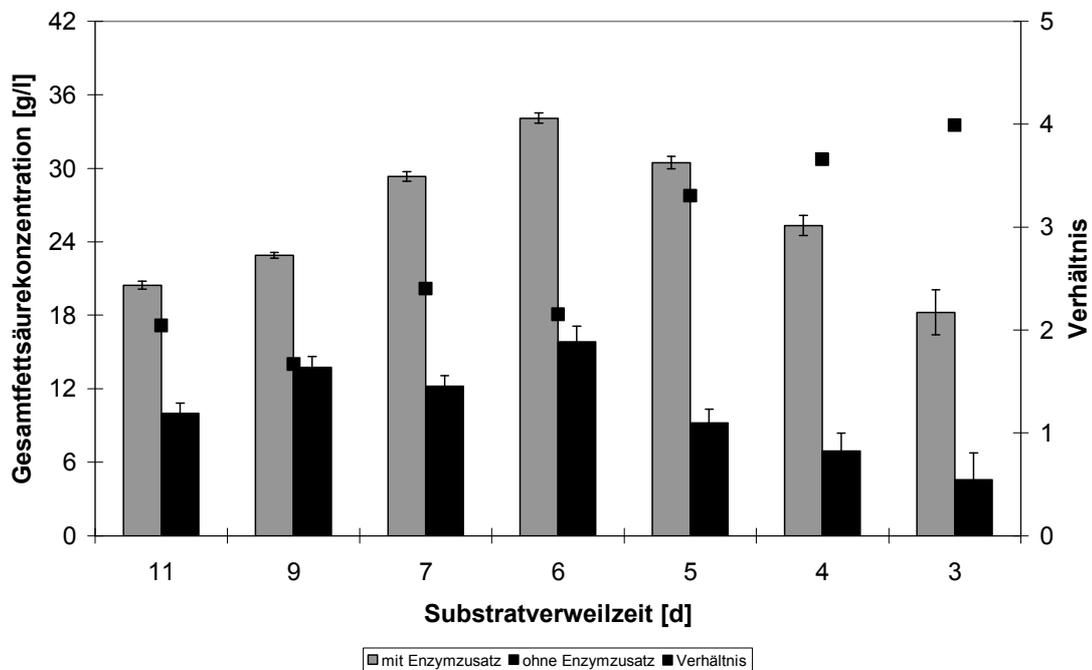


Abb. 5.8: Gesamtfettsäurekonzentration im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber mit und ohne Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Als Maximalfettsäurekonzentrationen wurden ohne Enzymzusatz rund 16 g/l und mit Enzymzusatz rund 34 g/l bei einer Substratverweilzeit von jeweils sechs Tagen erreicht. Ohne Enzymdosage ist bei kürzeren Verweilzeiten ein deutlicher Abfall der Gesamtfettsäurekonzentration zu beobachten. Dieser Abfall kann durch den Enzymeinsatz zunächst noch gemindert werden. Vergleicht man die Verhältnisse der Gesamtfettsäurekonzentrationen, zeigt sich, dass bei Verweilzeiten über fünf Tagen mit

Enzymzusatz annähernd die doppelte Fettsäuremenge gebildet wird. Bei geringeren Verweilzeiten fällt die Versäuerungsleistung der Reaktoren ohne Enzymdosage gegenüber den Reaktoren mit Enzymzusatz deutlich ab. Bei einer Substratverweilzeit von drei Tagen wird durch den Zusatz des Misch-Enzymkomplexes trotz bereits geringer werdender Gesamtfettsäurekonzentration noch die vierfache Fettsäuremenge freigesetzt.

Diese Tendenz wird durch den Verlauf des Fettsäurespektrums (Abbildung 5.9) untermauert.

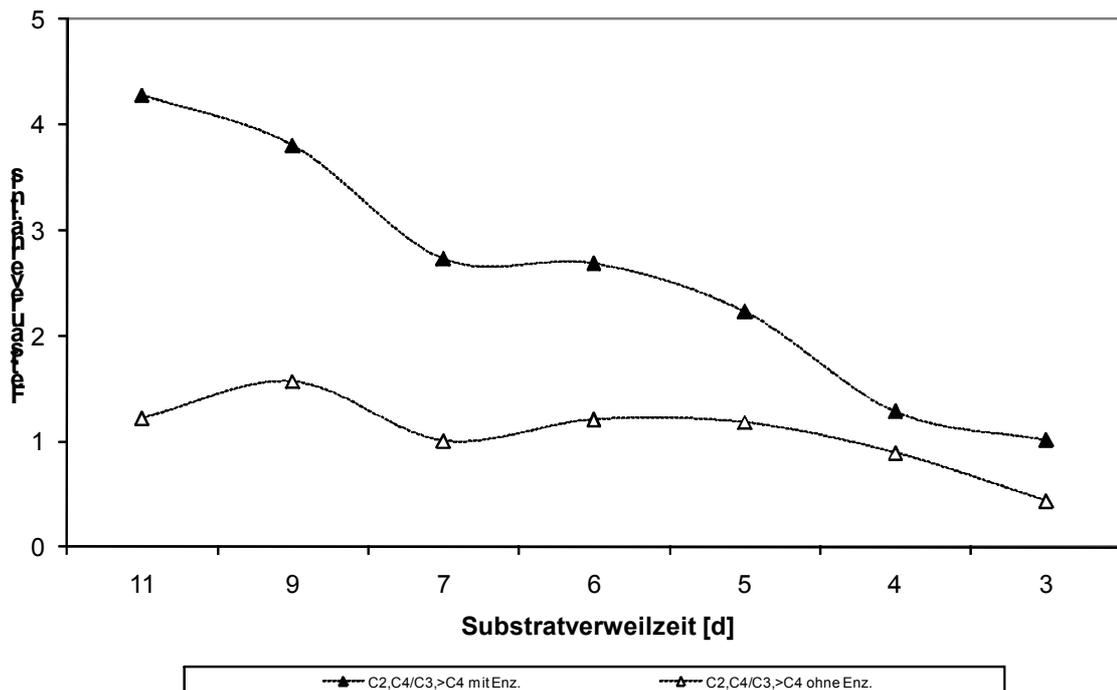


Abb. 5.9: Verhältnisse von leichter methanisierbaren und schwerer methanisierbaren Fettsäuren im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber mit und ohne Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Im Vergleich zur Säulendarstellung (vgl. Abb. 5.3) wurde hier aus Gründen der Übersichtlichkeit diese Darstellungsform gewählt, da hier die Verhältnisse der leichter (C2, C4) und schwerer methanisierbaren (C3, >C4) Fettsäuren gezeigt werden. Deutlich ist auch hier der Einfluss der Enzymdosage zu erkennen. Bei hohen Verweilzeiten (elf bzw. neun Tage) betragen die leichter methanisierbaren Fettsäuren insgesamt nahezu das 4-fache der schwerer methanisierbaren Säuren. Bis zu einer Verweilzeit von fünf Tagen überwiegt deren Anteil immer noch mit dem Faktor 2,5. Erst bei niedrigen Verweilzeiten gleicht sich das Fettsäureverhältnis aus.

Anders verhalten sich die Fettsäureverhältnisse bei der Hydrolyse und Versäuerung ohne Enzymzusatz. Bis zu einer Verweilzeit von fünf Tagen ist das Verhältnis ausgeglichen und verschiebt sich anschließend in Richtung der schwerer methanisierbaren Fettsäuren.

5.2.2 Einfluss auf den chemischen Sauerstoffbedarf

Ähnlich wie bei den Gesamtfettsäurekonzentrationen betragen die CSB-Konzentrationen (Abbildung 5.10) in der Hydrolyse und Versäuerung mit Enzymzusatz bei Verweilzeiten unter sechs Tagen das 3- bis 4-fache gegenüber der rein mikrobiologischen Fermentation. Bei längeren Verweilzeiten (über neun Tage) ist das Verhältnis noch nahezu ausgeglichen. In Bezug auf die CSB-Konzentrationen ist somit wiederum deutlich der Einfluss des Mischenzymzusatzes zu erkennen.

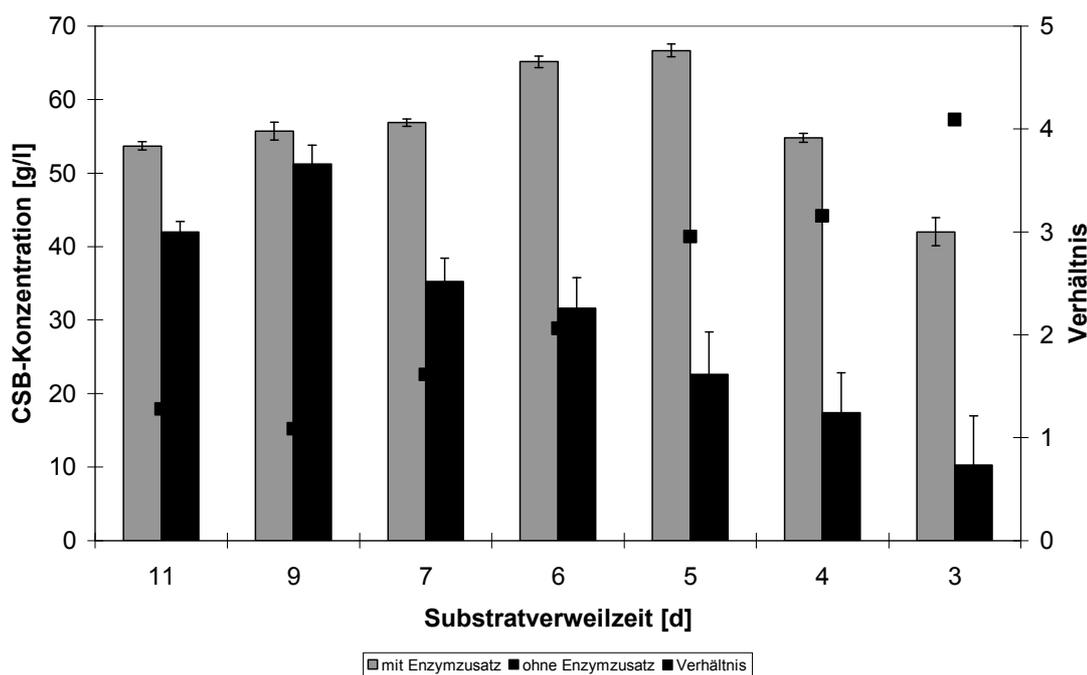


Abb. 5.10: CSB-Konzentrationen im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber mit und ohne Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Vor allem bei geringer werdenden Verweilzeiten wirkt sich die Enzymzugabe positiv auf die Feststoffverflüssigung aus. Deutlich zu erkennen sind die über die Fehlerbalken ausgedrückten Schwankungsbreiten der CSB-Konzentrationen bei der rein mikrobiologischen Fermentation. Die Ursache dafür ist ein relativ unregelmäßiger Fermentationsverlauf. Dies konnte bereits bei den Gesamtfettsäurekonzentrationen (Abbildung 5.8) festgestellt werden, wenn auch in geringerem Maße. Bei den Versuchen mit Enzymdosage konnte eine höhere Prozessstabilität erreicht werden.

5.2.3 Einfluss auf pH-Wert und Ammoniumbildung

Weniger deutlich sind die Unterschiede der Ammoniumkonzentrationen. Auch ohne Enzymeinsatz sind hohe Ammoniumkonzentrationen und damit ein hoher Proteinabbau zu verzeichnen. Nur bei Verweilzeiten unter fünf Tagen ist ein deutlicherer Unterschied zu den Hydrolysen mit Enzymdosage zu erkennen.

Die pH-Werte der Hydrolysen ohne Enzymzusatz verlaufen zwar analog, liegen jedoch bei längeren Verweilzeiten um 0,5 und bei geringeren Verweilzeiten um 1 über den Hydrolysen mit Enzymeinsatz. Die Gründe dafür sind vergleichsweise hohe Ammoniumkonzentrationen und geringere Fettsäurekonzentrationen.

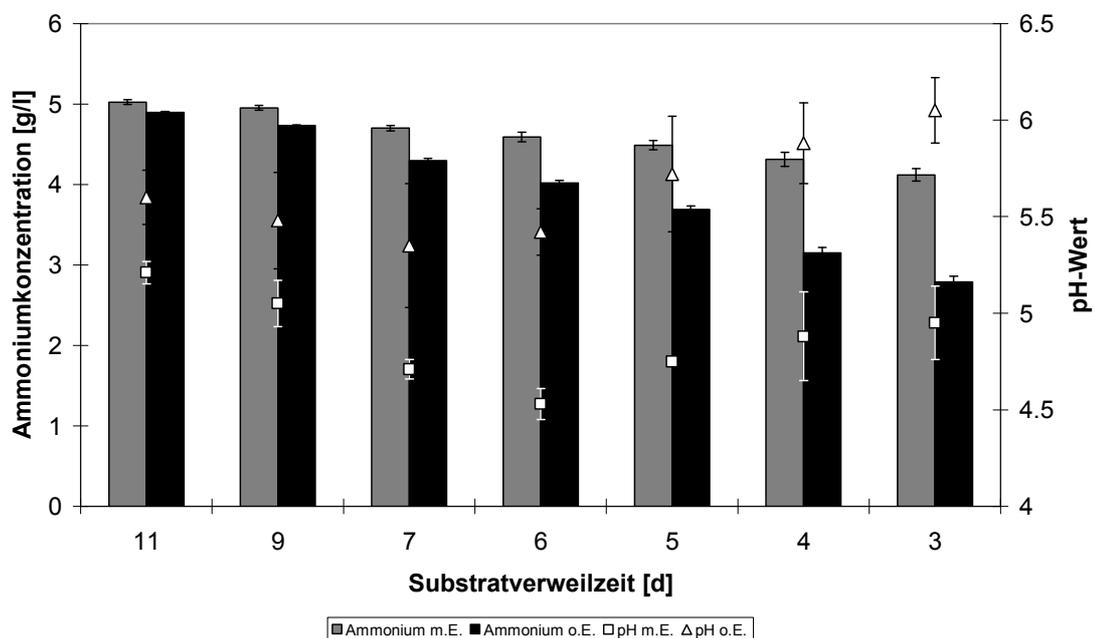


Abb. 5.11: pH-Werte und Ammoniumkonzentrationen im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber mit und ohne Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

5.2.4 Einfluss auf die Produktivität

Die in Abbildung 5.12 dargestellten Produktivitätsverläufe unterscheiden sich deutlich in Abhängigkeit vom Enzymzusatz.

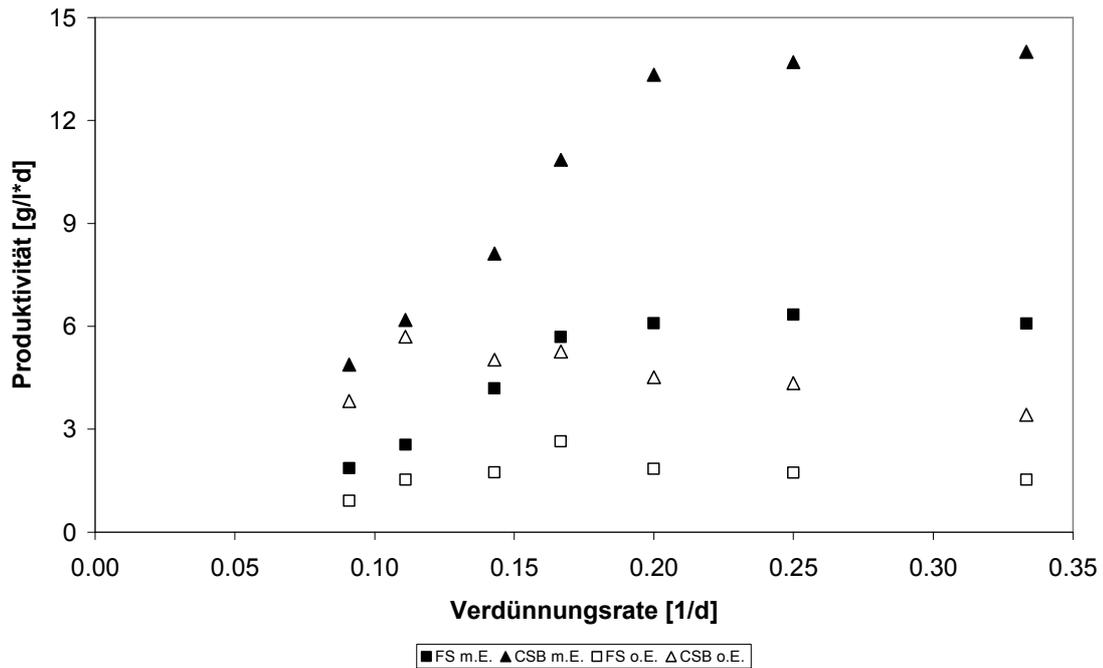


Abb. 5.12: Produktivitätsverhältnisse (mit/ohne Enzymzusatz) im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Ohne Enzymzusatz ist bei der Fettsäureproduktivität bis zu einer Verweilzeit von sechs Tagen eine Steigerung auf rund 2,8 g/l*d zu beobachten. Bei geringeren Verweilzeiten sinkt die Produktbildungsrate von Fettsäuren ab. Ähnlich verhält sich der Verlauf der CSB-Produktivität. Bis zu einer Substratverweilzeit von sechs Tagen stagniert die CSB-Produktivität bei rund 5 g/l*d. Anschließend fällt die Produktivität bis auf 3,5 g/l*d ab.

Auch bei kürzeren Verweilzeiten sind die Produktivitäten der Hydrolysen mit Enzymdosage rund drei- bis viermal höher als in den Hydrolysen ohne Enzymeinsatz.

5.2.5 Einfluss auf die Abbaugrade

Abbildung 5.13 zeigt die Abbaugrade der Hydrolyse ohne Enzymeinsatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit.

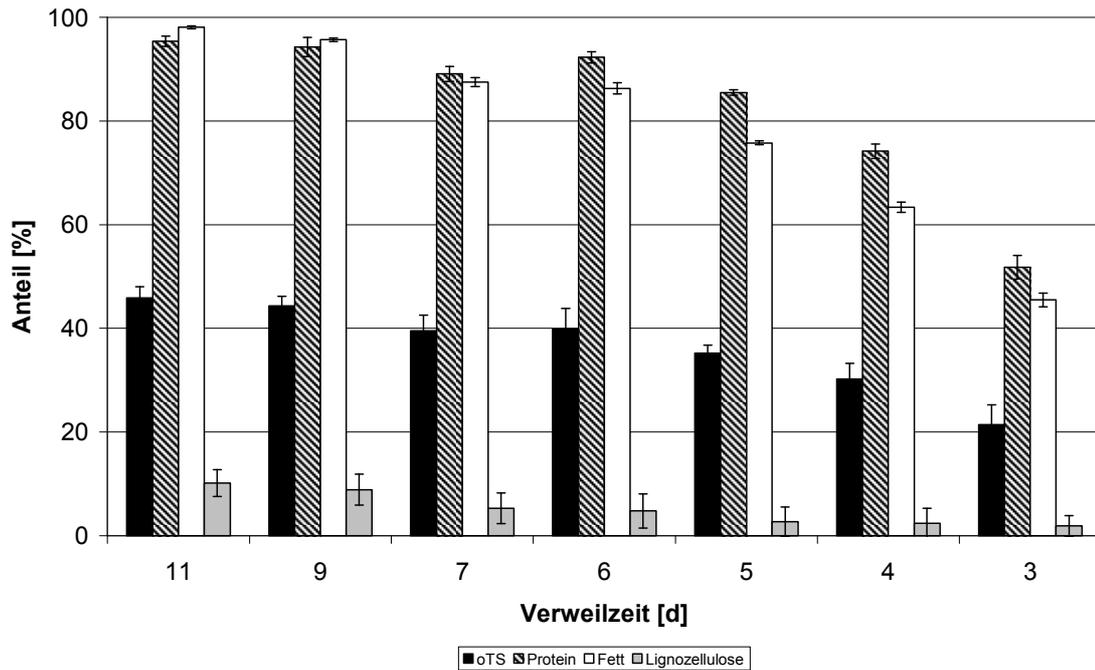


Abb. 5.13: Abbaugrade der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber ohne Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Der Abbaugrad an organischer Substanz liegt in der Hydrolyse ohne enzymatische Behandlung bei Verweilzeiten von elf bzw. neun Tagen bei ca. 40 %. Der Abbaugrad fällt jedoch sehr schnell bei weiterer Verweilzeitverkürzung ab. Bei drei Tagen hydraulischer Verweilzeit beträgt dieser Abbaugrad nur noch 20 %. Auch der Abbaugrad an leicht hydrolysierbaren Substanzen (Fett und Protein) fällt auf 50 %. Lignozellulose wird durchweg ohne enzymatische Behandlung kaum abgebaut.

Setzt man die jeweiligen Abbaugrade der Hydrolysen mit Enzymzusatz ins Verhältnis zu den Hydrolysen ohne Enzymdosage ergeben sich die in Abbildung 5.14 dargestellten Verläufe. Deutlich ist wieder der Einfluss des Enzymeinsatzes vor allem bei geringen Verweilzeiten zu erkennen. Während die Abbaugradverhältnisse bei Verweilzeiten bis sechs Tagen relativ konstant bei 1 bis 1,5 liegen, können die Abbauraten bei kürzeren Verweilzeiten durch den Enzymeinsatz abgepuffert werden.

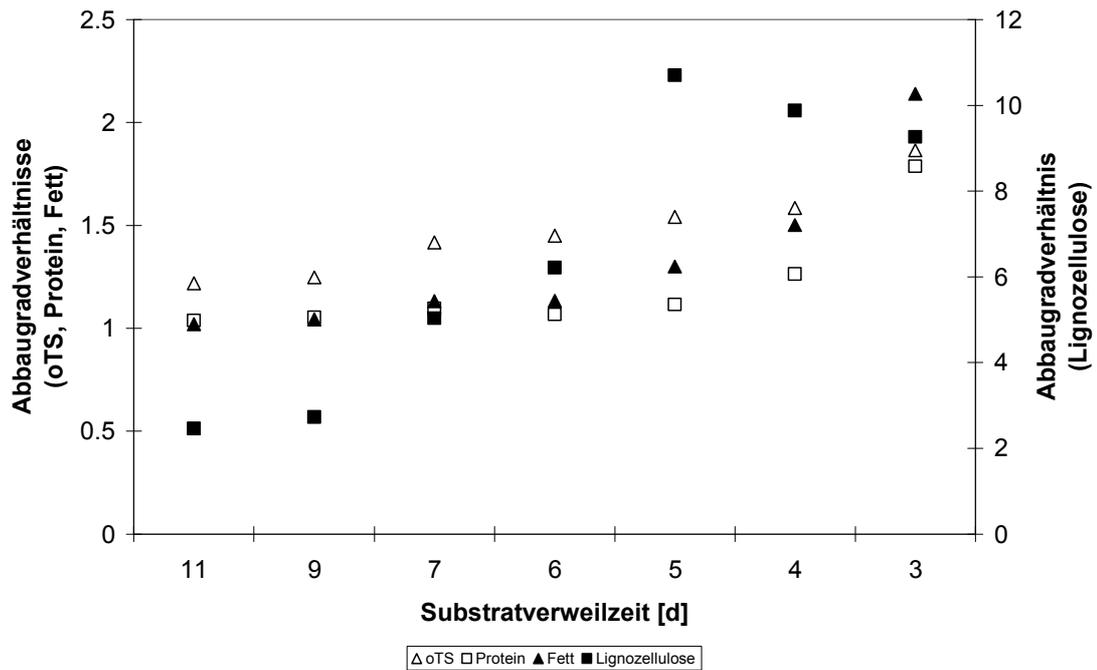


Abb. 5.14: Abbaugradverhältnisse (mit/ohne Enzymzusatz) der einzelnen Fraktionen der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

5.2.6 Einfluss auf die Methanisierbarkeit

Für den Methanisierungsversuch wird flüssiges, abzentrifugiertes Hydrolysat aus der Hydrolyse mit Enzymzusatz verwendet. Aufgrund der vorher beschriebenen Ergebnisse, erfolgte die Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber bei einer Verweilzeit von fünf Tagen. Nach einer dreiwöchigen Adaptionsphase wurde die Verweilzeit des Substrates in der Methanstufe auf vier Tage und die Raumbelastung von $5,1 \text{ g}_{\text{CSB}}/\text{l} \cdot \text{d}$ eingestellt. Die folgenden Abbildungen zeigen die Ergebnisse über einen Versuchszeitraum von 30 Tagen nach Erreichen eines stabilen Prozesses.

Ziel dieses Methanisierungsversuches ist es, die grundsätzliche Vergärbarkeit eines Hydrolysates, das aus der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreiber mit Enzymzugabe gewonnen wurde, zu testen. Deshalb wurden als Untersuchungsparameter der CSB-Abbaugrad und die Biogaszusammensetzung herangezogen.

Abbildung 5.15 stellt den CSB-Abbaugrad und den spezifischen Biogasertrag dar.

Rund 86 % der zudosierten CSB-Raumlast werden im Mittel abgebaut. Die Schwankungsbreite um den Mittelwert liegt bei ca. 4 %. Gleichzeitig werden täglich pro Liter Reaktorvolumen im Durchschnitt ca. 2,2 Liter Biogas erzeugt.

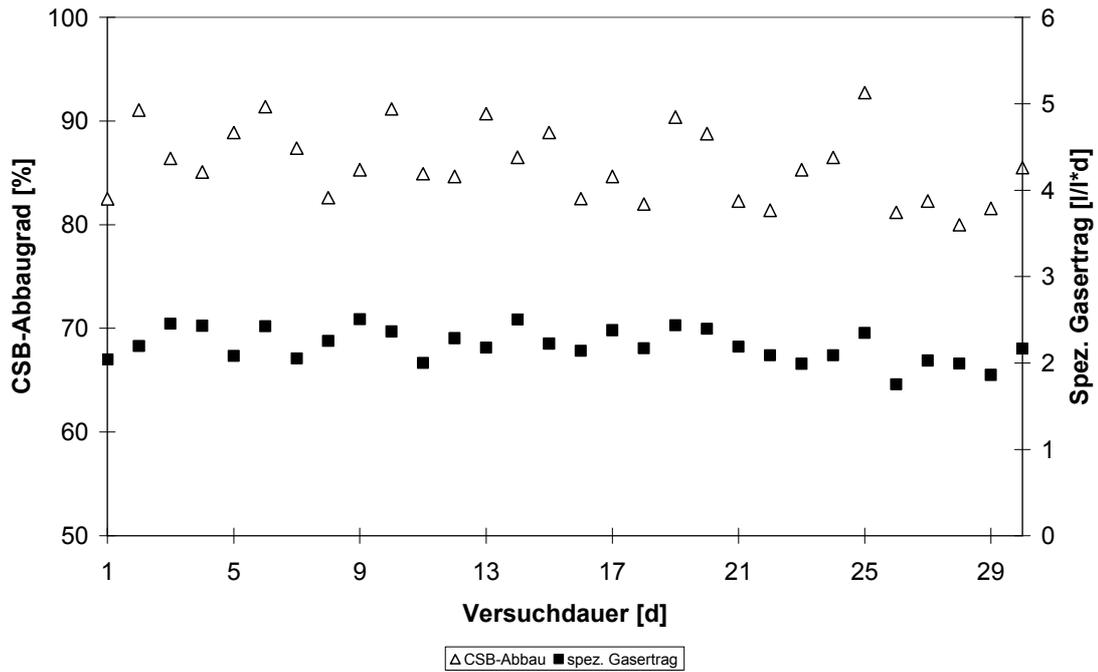


Abb. 5.15: CSB-Abbaugrad und spez. Biogasertrag der kontinuierlichen Methanisierung von abzentrifugiertem Hydrolysat aus der Hydrolyse mit Enzymzusatz (Verweilzeit 4 d; Raumbelastung: 5,1 $g_{CSB}/l*d$)

Abbildung 5.16 zeigt die Verläufe der Biogaszusammensetzung.

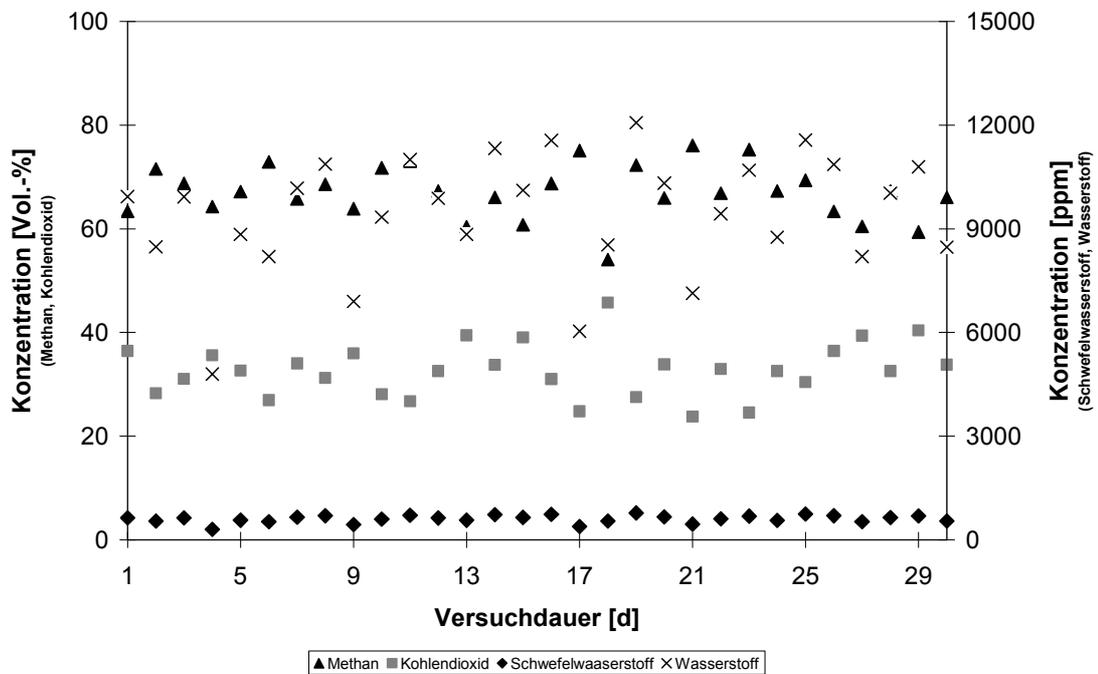


Abb. 5.16: Gaszusammensetzung der kontinuierlichen Methanisierung von abzentrifugiertem Hydrolysat aus der Hydrolyse mit Enzymzusatz (Verweilzeit 4 d; Raumbelastung: 5,1 $g_{CSB}/l*d$)

Während des Methanisierungsversuches konnte ein gleichbleibend hoher Methangehalt von rund 67 % erzielt werden. Entsprechend beträgt der Kohlendioxidgehalt im Mittel ca. 31 %.

Einen entscheidenden Aufschluss über den Prozessverlauf geben der Wasserstoffgehalt und der Schwefelwasserstoffgehalt. Auffällig ist der niedrige Schwefelwasserstoffgehalt mit rund 600 ppm. Der Grund dafür liegt darin, dass der Großteil bereits in der Hydrolyse ausgetrieben wurde.

6 Hydrolyse und Versäuerung von Treber und Trubstoffen

Neben Biertreber sind auch **Trubstoffe** oder **Gelägerhefe** als Substrate für die anaerobe Fermentation zu Biomethan denkbar. Bei ersten Vorversuchen zur anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gelägerhefe konnten keine belastbaren Ergebnisse erzielt werden. Vitale Hefen stehen in anaeroben Fermentationsprozessen in **Konkurrenz mit den fermentativen Mikroorganismen**. Eine Hemmung der Versäuerung ist die Folge (PESTA, 2004). Auch in den Versuchen mit hitzeinaktivierter Hefe wurde eine Hemmung der versäuernden Mikroorganismen festgestellt. Ohne vorherigen Aufschluss der Hefezellen ist deshalb keine Fermentation des Substrates Gelägerhefe möglich. Hefe stellt jedoch aufgrund der Inhaltsstoffe ein interessantes Substrat für die anaerobe Fermentation zu Biomethan dar. Vor allem die Versorgung der fermentativen Mikroorganismen mit Spurenelementen kann durch die Beimischung von Gelägerhefe unterstützt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde kein Aufschluss der Hefezellen durchgeführt.

In diesem Versuchsabschnitt wird deshalb der Einfluss verschiedener Treberarten auf die **Fermentationsqualität** bei der Hydrolyse und Versäuerung dargestellt. In einer weiteren Versuchsreihe wird die Eignung von **Heißtrub** als Co-Substrat untersucht.

Für alle Versuchsreihen wurde die Batch-Fermentation als Betriebsweise gewählt. Die Versuchsdauer betrug jeweils 185 h.

6.1 Fermentation verschiedener Treberarten

Die Zusammensetzung von Biertreber variiert nach Art des hergestellten Bieres. Während für untergäriges Bier Gerstenmalz verwendet wird, wird für die Herstellung von obergärigem Weißbier eine Mischung aus Gersten- und Weizenmalz verwendet. Für die Produktion von dunklem Bier wird dunkles Malz eingesetzt. In den folgenden Versuchen wurden drei verschiedene Treberarten untersucht.

- Treber aus der Produktion von hellem untergärigem Bier (UB hell)
- Treber aus der Produktion von hellem obergärigem Weißbier (WB hell)
- Treber aus der Produktion von dunklem obergärigem Weißbier (WB dunkel)

6.1.1 Einfluss der Treberart auf die Produktbildung

Für die Beurteilung des Einflusses der Treberart auf die Produktbildung wurden die Fettsäurebildung sowie die CSB-Konzentration als Kriterien herangezogen. Abbildung 6.1 zeigt die Verläufe der Gesamtfettsäurekonzentrationen über die Versuchsdauer.

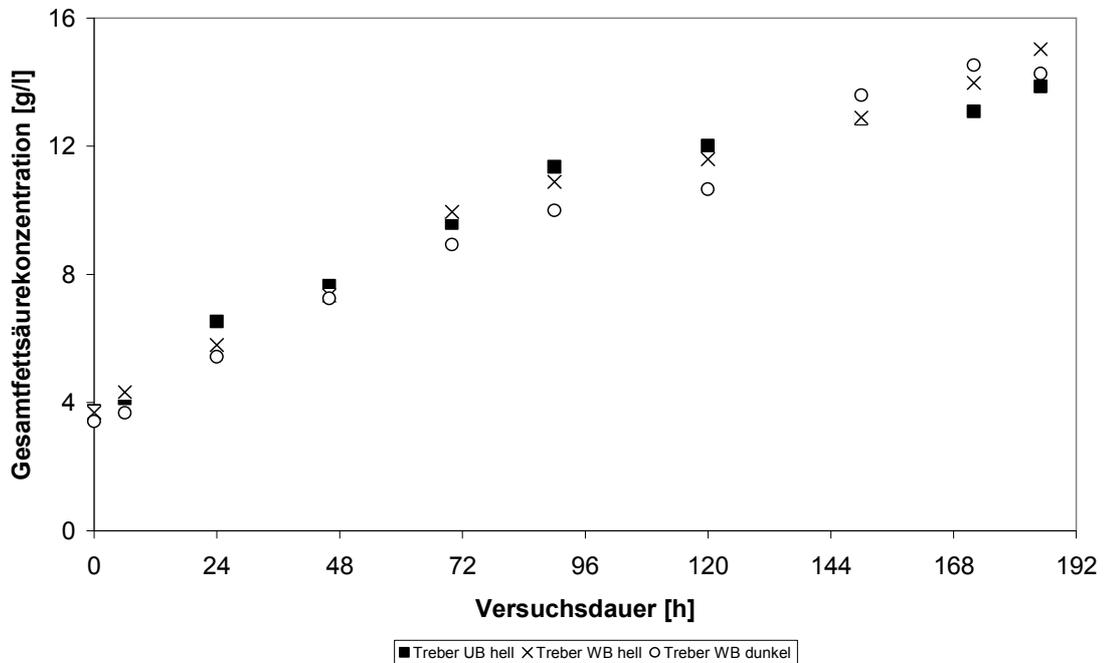


Abb. 6.1: Gesamtfettsäurekonzentration im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation)

Die Verläufe der Gesamtfettsäurekonzentrationen im Hydrolysat sind bei den drei verwendeten Treberarten nahezu identisch. Die erreichten Maximalkonzentrationen liegen am Versuchsende zwischen 13 und 14 g/l. Hinsichtlich der Versäuerungsrate kann somit kein Einfluss der Treberart festgestellt werden.

Die Verläufe der CSB-Konzentrationen (Abbildungen 6.2) verlaufen ebenfalls ähnlich. Die Konzentrationen bei der Fermentation von Treber aus der Produktion von obergärigem Weißbier sind geringfügig höher. Ein wesentlicher Unterschied bei der Fermentation von „dunklem“ zu „hellem“ Treber kann nicht festgestellt werden.

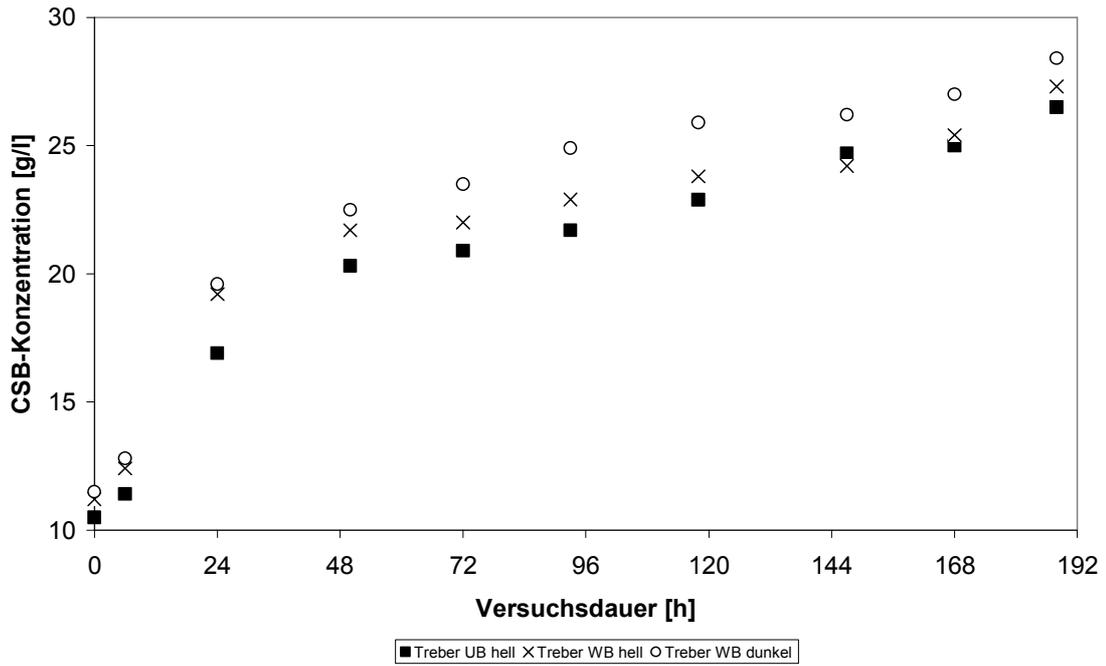


Abb. 6.2: CSB-Konzentration im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von verschiedenen Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation)

Die maximalen CSB-Konzentrationen liegen zwischen 25 und 28 g/l.

Abbildung 6.3 zeigt die Steigerungsrate der Summenparameter Gesamtfettsäurekonzentration und CSB vom Versuchsstart bis zum Versuchsende nach 185 h.

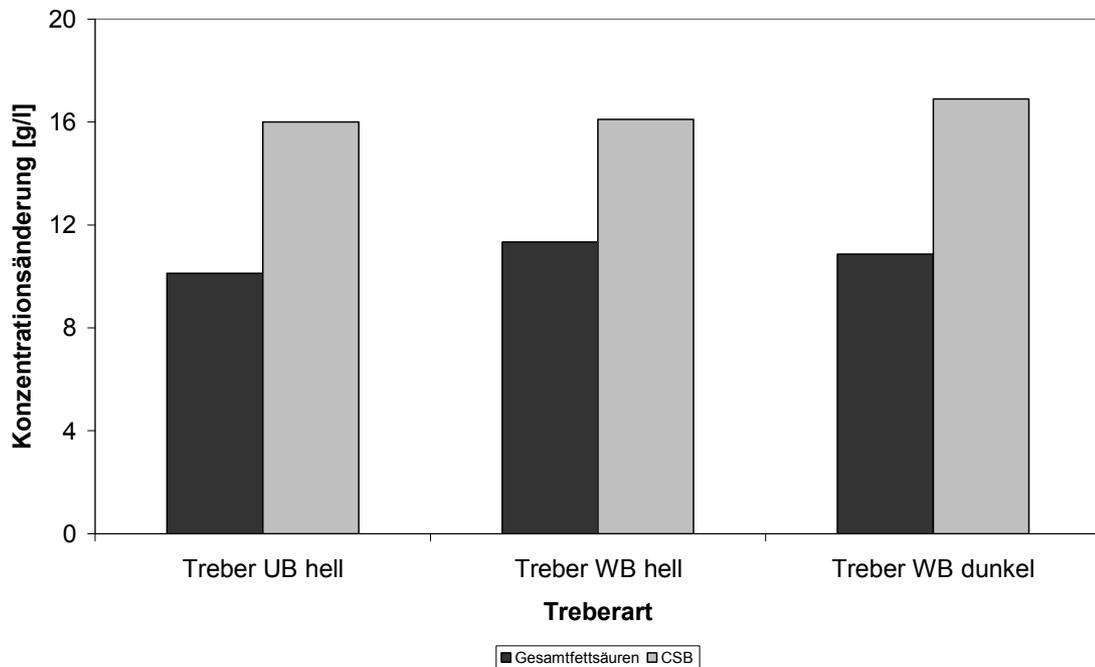


Abb. 6.3: Produktbildung im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation)

Ein ausgeprägter Unterschied zwischen den verschiedenen Treberarten bei den Summenparametern kann nicht festgestellt werden. Lediglich der Zuwachs der Gesamtfettsäurekonzentration ist bei den Versuchen mit Treber aus der Produktion von obergärigem Weißbier mit rund 11,5 g/l um 1 g/l geringfügig höher. Die CSB-Zuwachsraten liegen bei rund 16 g/l.

Die beiden folgenden Grafiken (Abbildungen 6.4 und 6.5) stellen die Konzentrationsverhältnisse der einzelnen Fettsäuren zueinander dar. Über die Verhältnisse Essigsäure zu Propionsäure bzw. Buttersäure zu längererkettigen Fettsäuren kann eine Aussage über eine nachfolgende Methanisierbarkeit des Hydrolysats getroffen werden. Während die Verhältnisse von Essigsäure zu Propionsäure ähnlich verlaufen, gibt es bei den Verhältnissen von Buttersäure zu den längererkettigen Fettsäuren Unterschiede.

Nach 72 Stunden beträgt die Essigsäurekonzentration das achtfache der Propionsäurekonzentration. Nach Erreichen der stationären Phase sinkt dieses Verhältnis kontinuierlich ab. Die Propionsäurekonzentration beträgt am Ende der Versuche bereits ein Viertel der Essigsäurekonzentration.

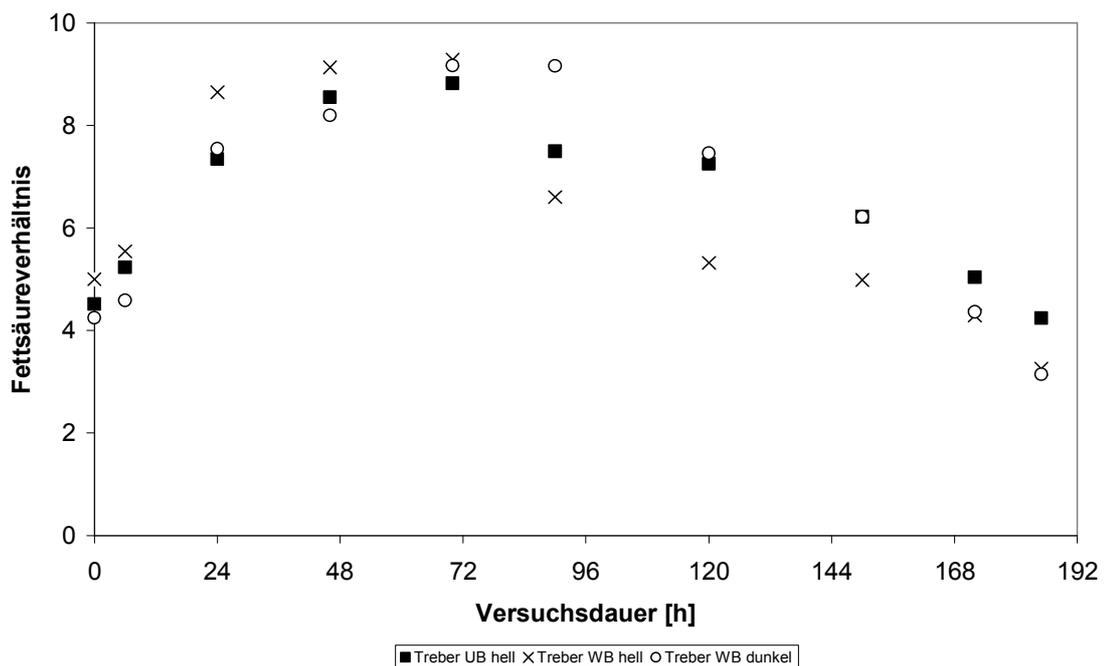


Abb. 6.4: Verhältnisse von Essigsäure zu Propionsäure im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation)

Anders verhalten sich die Verhältnisse von Buttersäure zu längererkettigen Fettsäuren (Abbildung 6.5).

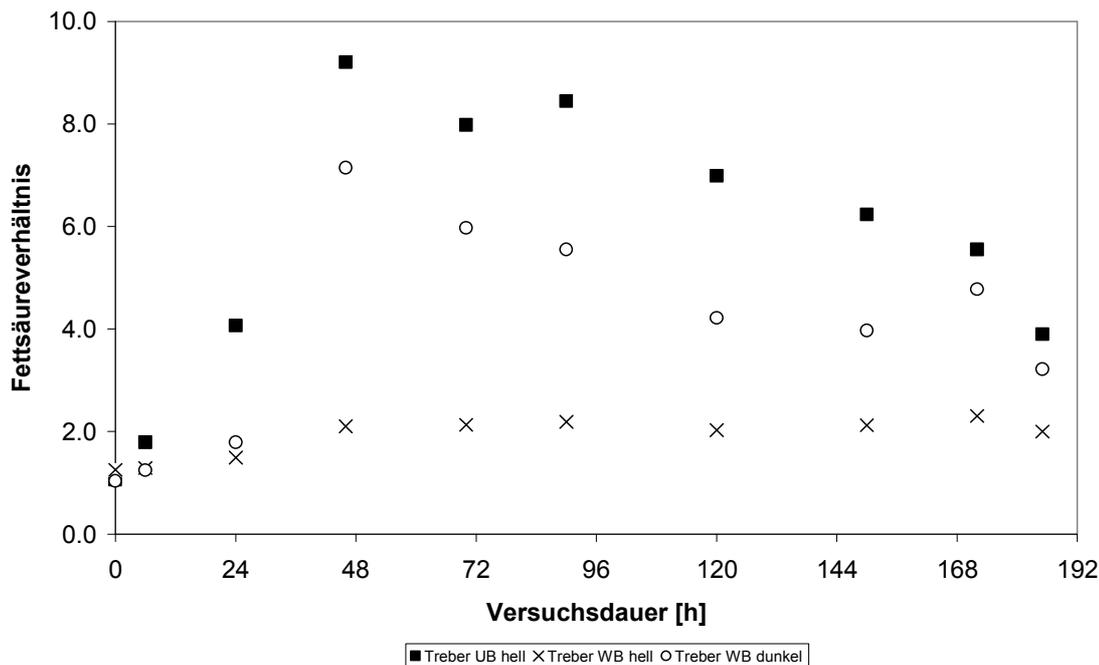


Abb. 6.5: Verhältnisse von Buttersäure zu längerkettigen Fettsäuren im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation)

Hier besteht ein deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen Treberarten. Der Buttersäureanteil beträgt bei der Fermentation von Treber aus der Produktion von untergäurigem, hellen Bier das neun- bis sechsfache gegenüber den längerkettigen Fettsäuren. Bei „dunklem“ Weißbier-Treber verschiebt sich das Fettsäureverhältnis in Richtung längerkettige Fettsäuren. Bei beiden Kurven zeigt sich zuerst eine Verschiebung in Richtung Buttersäure. Nach Erreichen der stationären Phase (nach ca. 72 h) verschiebt sich das Fettsäureverhältnis in Richtung längerkettige Fettsäuren, wobei der Buttersäureanteil weiterhin deutlich überwiegt. Beim dritten Trebersubstrat zeigt sich ein konstantes Verhältnis mit der doppelten Buttersäuremenge im Vergleich zu den längeren Fettsäuren. Dieser Treber unterscheidet sich damit sehr von den beiden anderen Trebersubstraten.

6.1.2 Einfluss der Treberart auf die Produktivität

Ein weiteres Kriterium für die Beurteilung der Qualität der Fermentation sind die Produktivitäten der einzelnen Fermentationsprodukte. Abbildungen 6.6 und 6.7 zeigen die Produktivitäten der Gesamtfettsäurebildung über den Fermentationsverlauf. Dabei wurden die relativen Produktivitäten zwischen den einzelnen Probenahmeintervallen berechnet.

Bei den CSB-Produktivitäten (Abbildung 6.6) ist zu erkennen dass nach einer Versuchsdauer von 72 h die Produktivität auf rund 50 mg/l*h absinkt. Nach 24 h liegen die CSB-Produktivitäten noch über 350 mg/l*h.

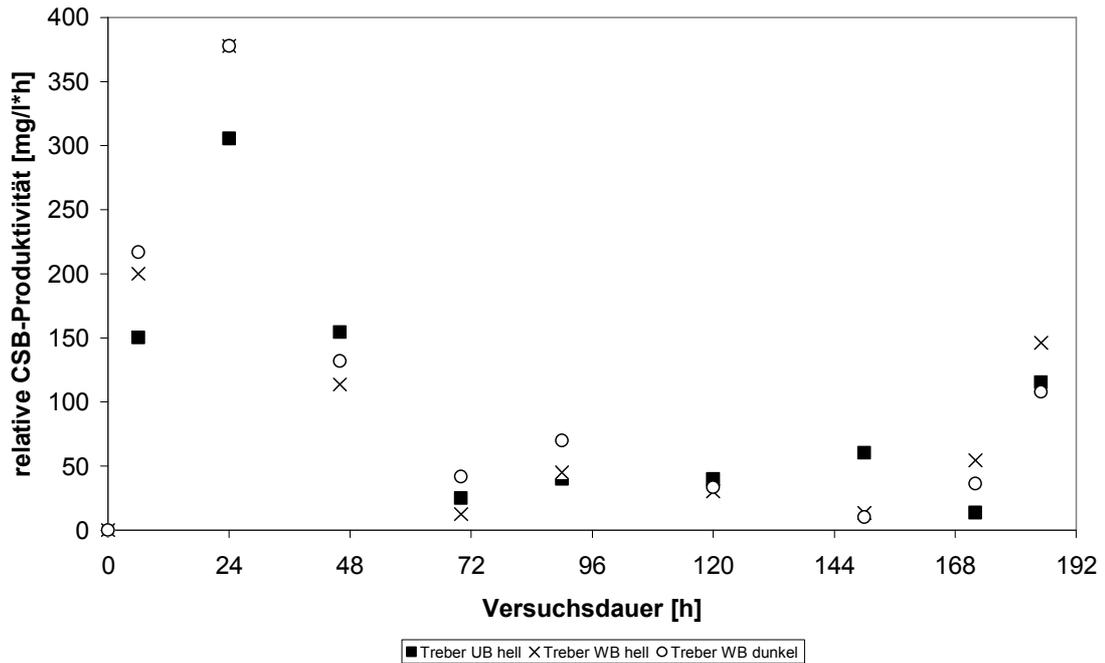


Abb. 6.6: Verläufe der relativen Produktivitäten (CSB) der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation)

Die Gesamtfettsäureproduktivitäten verlaufen dagegen anders. Für alle drei Treberarten ist ein unregelmäßiger Verlauf zu erkennen. Auch bei längerer Versuchsdauer sind noch höhere Produktbildungsraten zu verzeichnen. Ein schneller Produktivitätsabfall wie beim Parameter CSB ist nicht zu verzeichnen.

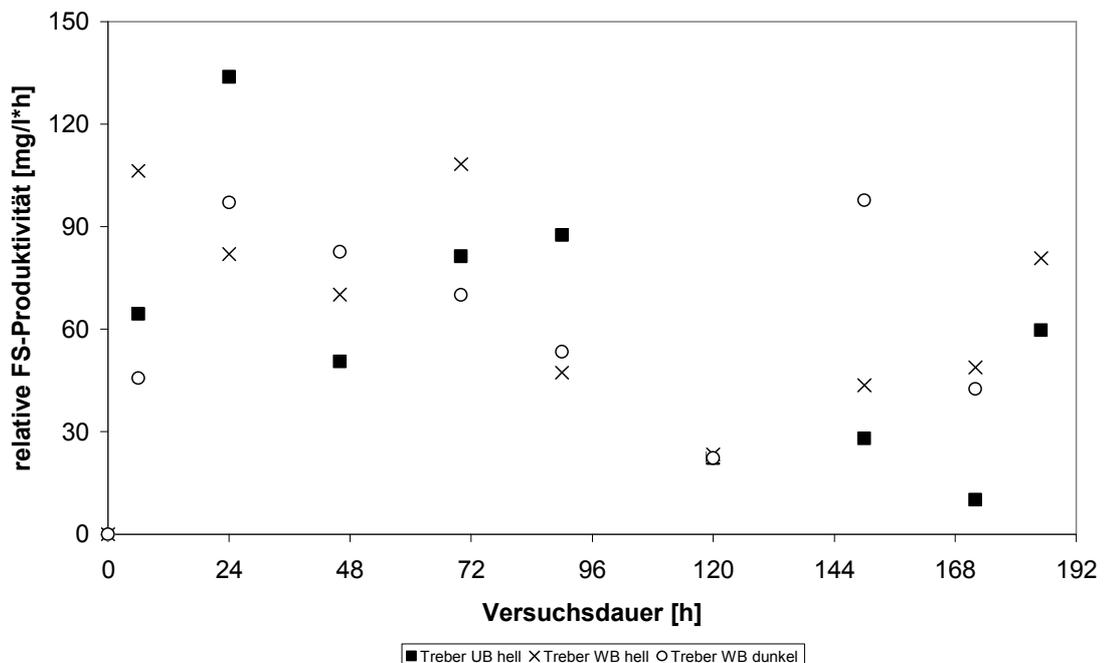


Abb. 6.7: Verläufe der relativen Produktivitäten (Gesamtfettsäuren) der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation)

6.2 Fermentation von Trubstoffen

Trubstoffe fallen während der Bierproduktion als Heißtrub nach der Würzekochung bzw. als Kühltrub nach der Würzekühlung an. In diesem Versuchsabschnitt wird der Einfluß der Trubkonzentration auf den Hydrolyse-/Versäuerungsverlauf untersucht. Als Referenzsubstrat wird dabei Heißtrub verwendet. Dieser Heißtrub wird anschließend in verschiedenen Massenanteilen zu Treber aus der Produktion von untergärigem, hellen Bier gemischt.

6.2.1 Einfluß der Trubkonzentration auf die Produktbildung

Für die Beurteilung des Einflusses der Trubkonzentration auf die Produktbildung wurden wiederum die Fettsäurebildung sowie die CSB-Konzentration als Kriterien herangezogen. Abbildung 6.8 zeigt die Verläufe der Gesamtfettsäurekonzentrationen über die Versuchsdauer.

Im Vergleich zur Fettsäurebildung bei der Monofermentation von Treber aus der Produktion von hellem untergärigem Bier ist bei einer Co-Fermentation durch Trubzugabe ein schnelleres Überbrücken der Lag-Phase zu erkennen. Bereits nach 48 h werden hohe Gesamtfettsäurekonzentrationen erreicht. Diese variieren zu diesem Zeitpunkt je nach Trubmenge zwischen 13 g/l und 17,5 g/l. Bei der Nullprobe ist die Versäuerung verzögert.

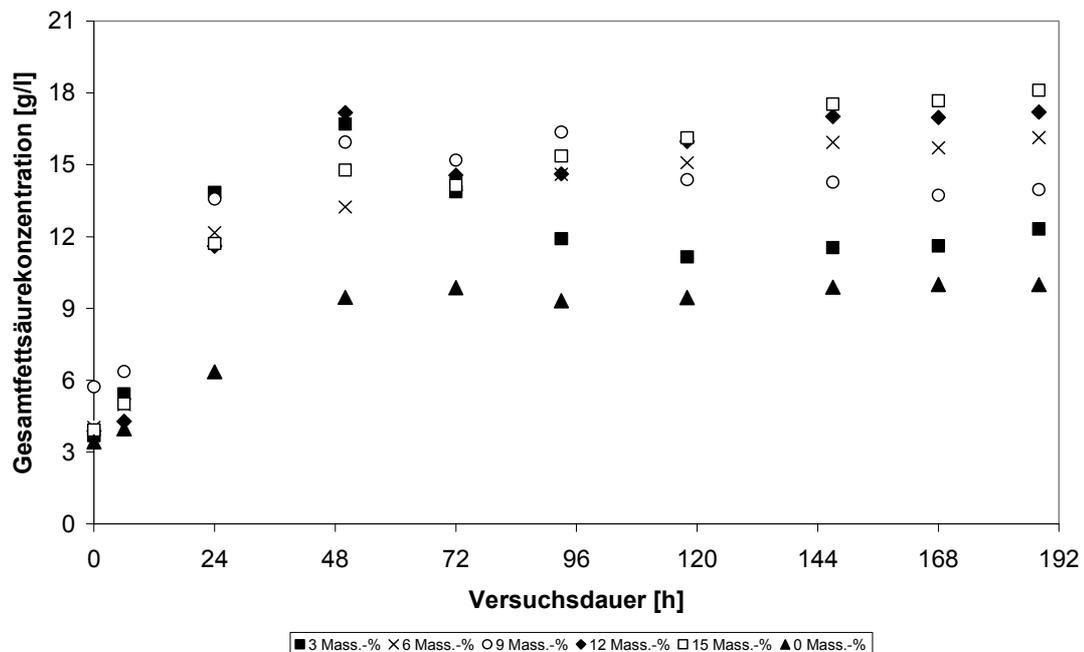


Abb. 6.8: Gesamtfettsäurekonzentrationen im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Heißtrub in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation)

Relativ ähnlich verlaufen die in Abbildung 6.9 angeführten CSB-Konzentrationen.

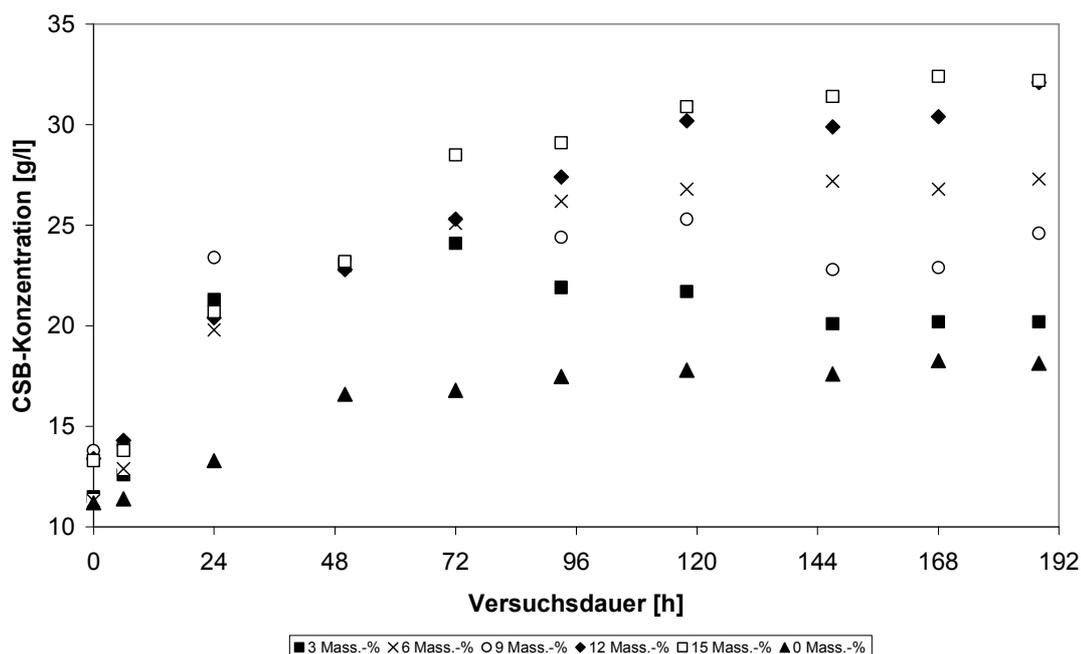


Abb. 6.9: CSB-Konzentrationen im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Heißtrub in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation)

Bis zu einer Versuchsdauer von 72 Stunden verlaufen die Kurven unabhängig von der Trubkonzentration nahezu identisch. Es werden dabei Konzentrationen von rund 25 g/l erreicht. Anschließend ist ein Auffächern zu beobachten. Die CSB-Konzentrationen unterscheiden sich bei Versuchsende um über 10 g/l. Je höher die Trubkonzentrationen, desto höher sind auch die CSB-Konzentrationen. Bei den Versuchen mit 3 und 9 Mass.-% Trub sind fallende CSB-Konzentrationen zu beobachten.

Abbildung 6.10 stellt die Produktbildungsraten über den gesamten Versuchszeitraum dar.

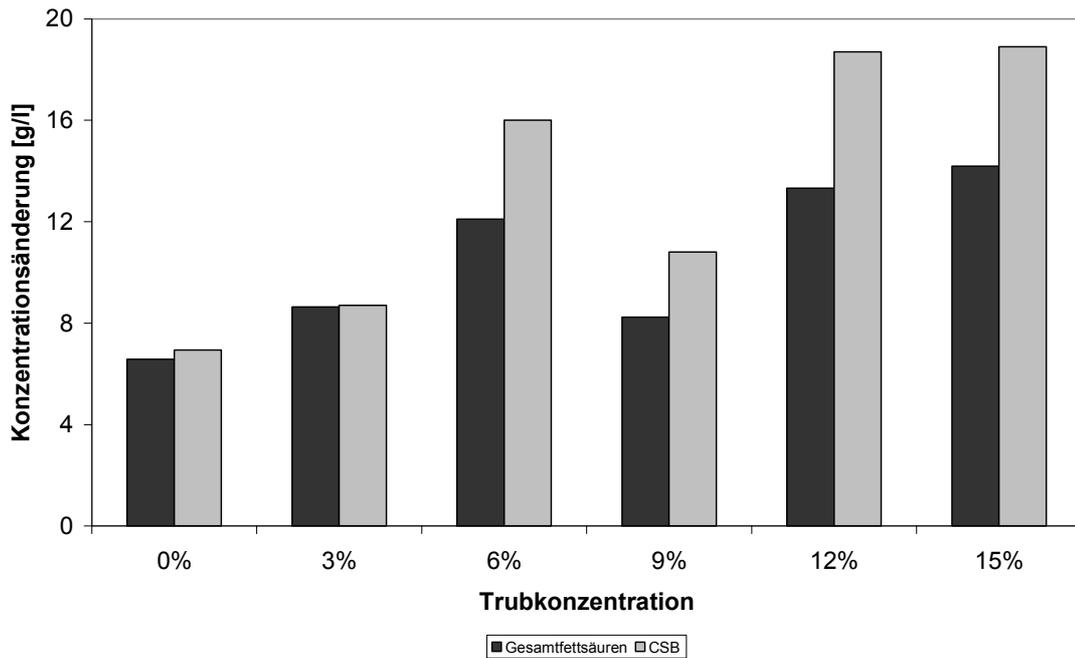


Abb. 6.10: Produktbildung im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Heißtrub in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation)

Wird nur die relative CSB-Konzentrationszunahme betrachtet, ist ersichtlich, dass mit steigender Trubzugabe auch der relative CSB-Zuwachs steigt. Bei einer Verdoppelung der Trubkonzentration von 3 auf 6 Prozent verdoppelt sich auch die relative CSB-Konzentrationszunahme von 8,7 g/l auf 16 g/l. Bei höheren Trubzugaben erfolgen geringere Steigerungsraten auf rund 19 g/l. Analog verlaufen auch die Zuwachsraten der Gesamtfettsäurekonzentrationen. Eine Ausnahme bildet bei allen Untersuchungsparametern der Versuch mit 9 Mass.-% Trub.

Ein weiteres wichtiges Kriterium für die Beurteilung der Hydrolysequalität sind die Fettsäureverhältnisse, die in folgenden Abbildungen angeführt sind.

Mit einem Verhältnis von 3 bis 3,5 ist die Startkonzentration der Essigsäure gegenüber Propionsäure bei allen Ansätzen deutlich hoher. Dieses Fettsäureverhältnis resultiert aus der Fettsäurekonzentration des Inokulums. Bereits nach 24 h fällt dieses Verhältnis auf 1,5 bis 1,7. Bis zum Versuchsende bleibt die Konzentration der Essigsäure gegenüber der Propionsäure annähernd konstant.

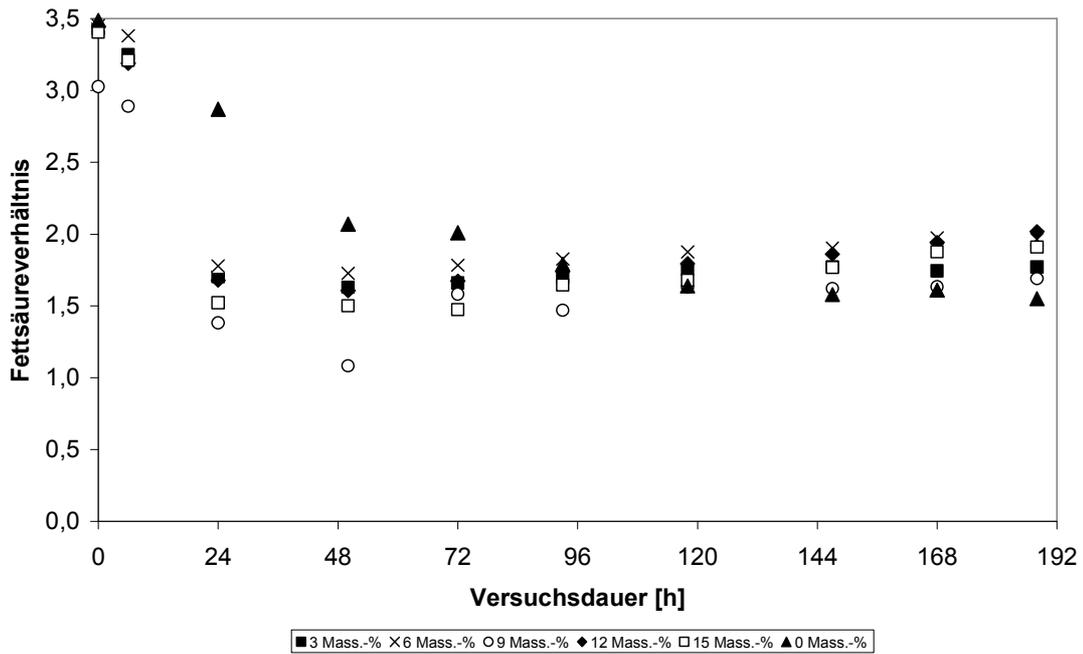


Abb. 6.11: Verhältnisse von Essigsäure zu Propionsäure im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Heißtrub in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation)

Abbildung 6.12 zeigt die Fettsäureverhältnisse zwischen Buttersäure und längerkettigen Säuren.

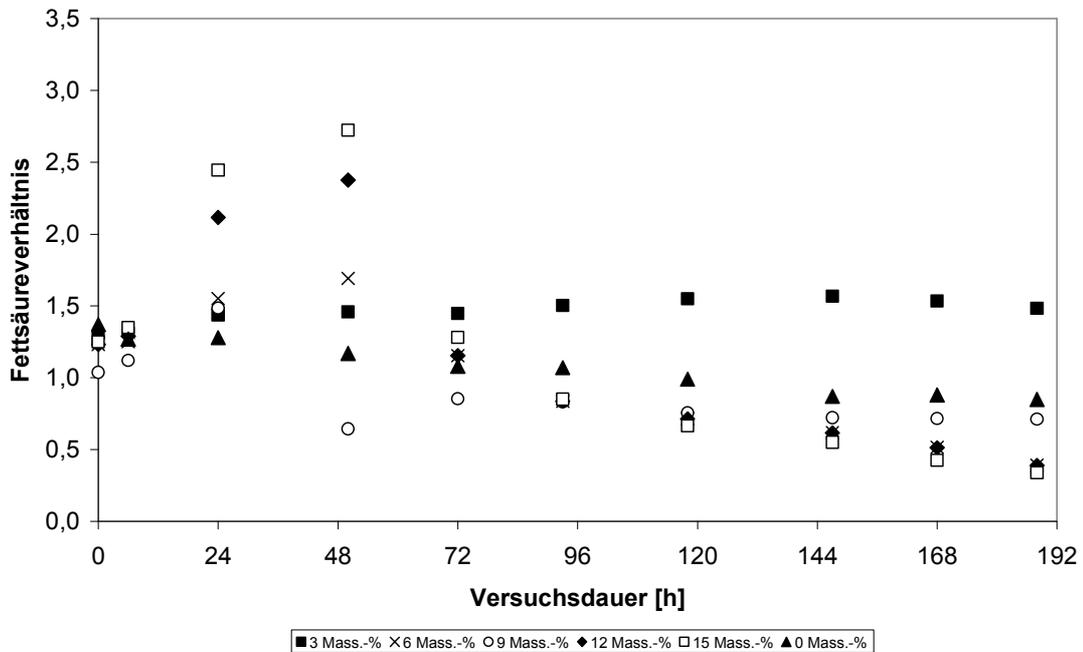


Abb. 6.12: Verhältnisse von Buttersäure zu längerkettigen Fettsäuren im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Heißtrub in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation)

Auffällig bei den in Abbildung 6.16 gezeigten Kurven ist, dass mit steigendem Trubanteil das Verhältnis Buttersäure zu längerkettigen Fettsäuren bis zu einer Versuchsdauer von 48 h auf Seiten der Buttersäure liegt. In Abhängigkeit von der Trubkonzentration liegen die Verhältnisse zwischen 1,4 und 2,7. Anschließend kippt dieses Verhältnis bei allen Versuchen. Mit zunehmender Versuchsdauer, überwiegt zunehmend der Anteil an längerkettigen Fettsäuren. Der Versuch mit 3 Mass.-% Trub stellt eine Ausnahme dar, da hier ein konstanter Verlauf des Verhältnisses bei rund 1,4 erkennbar ist.

6.2.2 Einfluß der Trubkonzentration auf die Produktivität

Im Folgenden wird der Einfluss der Trubkonzentration auf die relativen Produktivitäten der Parameter Gesamtfettsäuren und CSB dargestellt.

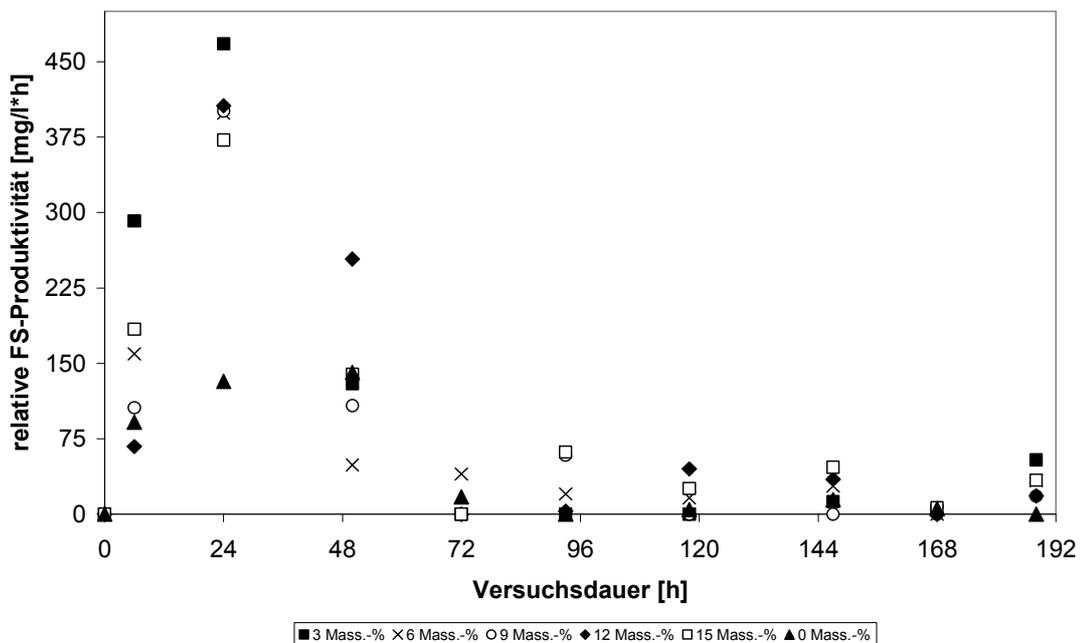


Abb. 6.13: Verläufe der relativen Produktivitäten (Gesamtfettsäuren) der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Trubstoffen in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation)

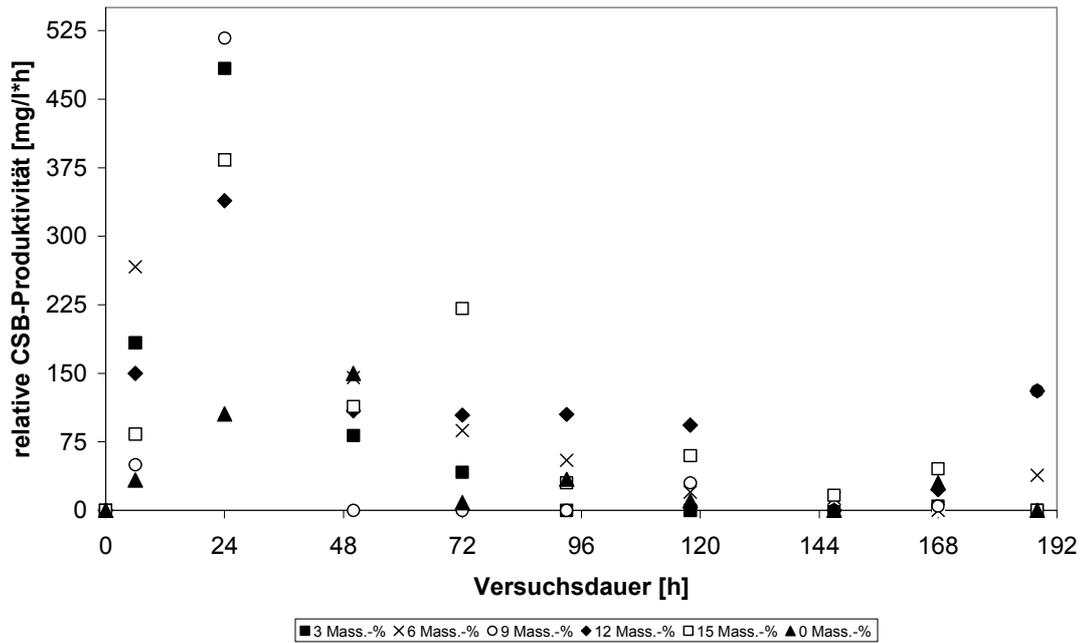


Abb. 6.14: Verläufe der relativen Produktivitäten (CSB) der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Trubstoffen in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation)

Unabhängig von der Trubkonzentration (Ausnahme Nullprobe) ist zu erkennen, dass die maximalen Produktivitäten nach einer Versuchsdauer von 24 h erreicht werden. Vor allem die Fettsäurebildung fällt nach 72 h auf ein sehr niedriges Niveau (unter 75 mg/l*h) ab. Ähnlich verhalten sich die Verläufe der CSB-Produktivitäten. Auch hier sind innerhalb der ersten 48 h die höchsten Produktivitäten zu verzeichnen. Bei der Nullprobe ist wiederum ein verzögerter Verlauf zu erkennen.

7 Zweistufige Vergärung von Treber und Brauereiabwasser

Ziel dieses Versuchsabschnittes ist es, eine zweistufige Verwertung der Substrate Gerstentreber und Brauereiabwasser zu untersuchen.

7.1 Bereitstellung von Gerstentreber-Hydrolysat

In einem ersten Schritt wurde Biertreber aus der Produktion von hellem untergärigem Bier in einem separaten Hydrolysereaktor rein mikrobiologisch hydrolysiert. Zum Anmischen wurde Brauereiabwasser verwendet. Die Verweilzeit im Hydrolysereaktor betrug fünf Tage. Vom hydrolysierten Gemisch der Hydrolysereaktoren wurde die flüssige Phase abgepresst, die feste Phase wurde verworfen. Für die nachfolgende Methanisierung wurde das Hydrolysat zwischen dem 40. und 80. Versuchstag verwendet. Der pH-Wert des flüssigen Hydrolysats lag durchschnittlich bei 4,66. In vier Stichproben wurde der Abbaugrad an organischer Trockensubstanz zwischen dem 40. und 80. Versuchstag ermittelt. Dieser lag bei rund 39 %. Das Mischungsverhältnis von Treber zu Abwasser betrug 1:2.

Abbildung 7.1 zeigt die Gesamtfettsäure-, CSB- und TOC-Konzentrationen der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Brauereiabwasser.

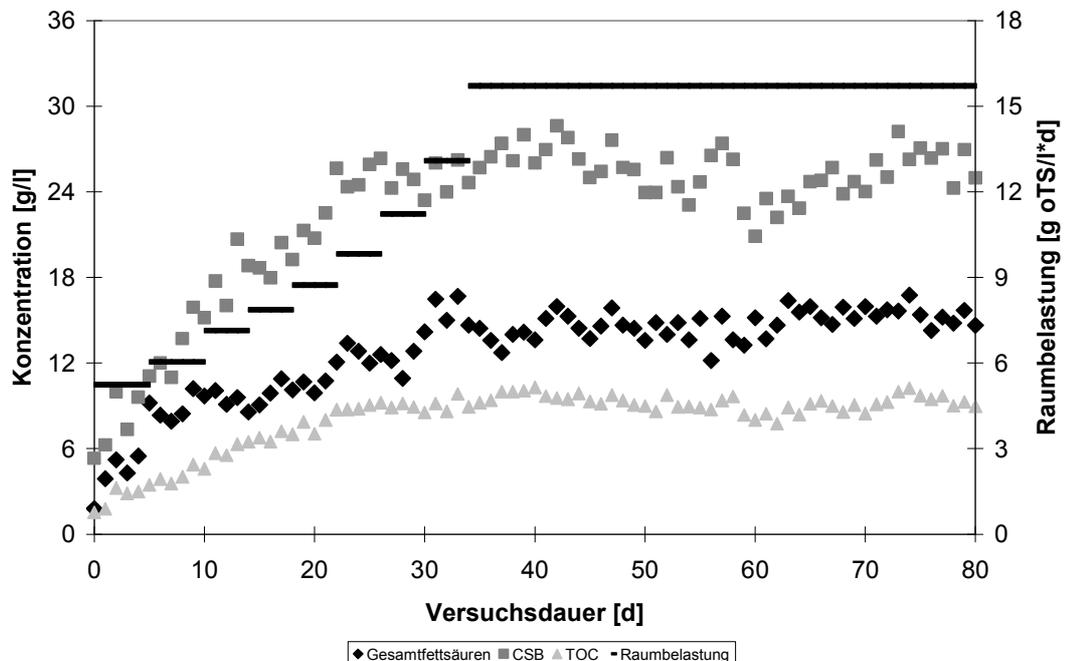


Abb. 7.1: Produktkonzentrationen (FS, CSB, TOC) im Hydrolysat der kontinuierlichen Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Brauereiabwasser in Abhängigkeit von der Raumbelastung

Während der ersten 30 Versuchstage wurde im Abstand von fünf bis sechs Versuchstagen eine schrittweise Verweilzeitverkürzung vorgenommen bis die Zielverweilzeit von fünf Tagen erreicht wurde. Während dieser Anfahrphase konnten keine Prozessstörungen beobachtet werden. Auch nach dem Erreichen der Zielverweilzeit konnte ein stabiler Fermentationsverlauf mit geringen Schwankungen um den Mittelwert der jeweiligen Produktkonzentrationen gewährleistet werden (siehe Tabelle 7.1).

Tab. 7.1: Mittlere Produktkonzentrationen im Hydrolysat der kontinuierlichen Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Brauereiabwasser (Verweilzeit: 5 Tage)

	mittlere Konzentration [g/l]	Abweichung [g/l]
CSB	25,44	± 1,70
Gesamtfettsäuren	14,75	± 0,96
TOC	9,22	± 0,57

Ähnlich gestalten sich die Verläufe der Produktivitäten, die in Abbildung 7.2 dargestellt sind.

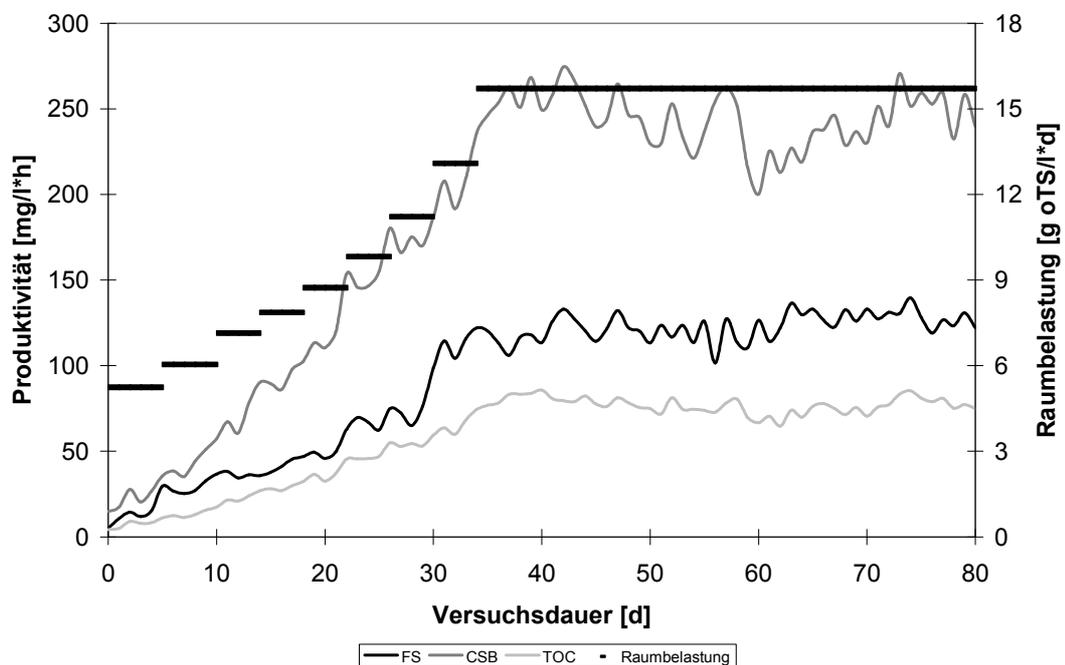


Abb. 7.2: Produktivitäten (FS, CSB, TOC) der kontinuierlichen Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Brauereiabwasser in Abhängigkeit von der Raumbelastung

7.2 Methanisierung des Hydrolysats im Festbettreaktor

Die Methanisierung des Hydrolysats aus der kontinuierlichen Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber erfolgte in einem Festbettreaktor. Der Aufbau des Versuchsstandes ist in Abbildung 4.4 dargestellt.

Der Versuchszeitraum betrug insgesamt 72 Tage, die in drei Phasen unterteilt werden können. Die ersten 20 Tage dienten als Start- und Adaptionsphase, in der die Funktion des Versuchsaufbaues überprüft wurde. Des Weiteren wurde dieser Zeitraum zur Adaption der Mikroorganismen an das Substrat Brauereiabwasser genutzt. Auf eine Darstellung und Auswertung der Ergebnisse dieses ersten Versuchszeitraumes wird verzichtet.

Die restlichen 52 Versuchstage verteilen sich auf zwei verschiedene Phasen der Steigerung der Raumbelastung. In den später dargestellten Graphen werden nur diese 52 Versuchstage betrachtet. Die erste Steigerungsphase erstreckte sich über 18 Tage, die zweite Steigerungsphase über 34 Tage. Die Erhöhung der Raumbelastung erfolgte durch die stete Erhöhung der Hydrolysatdosage zu Brauereiabwasser im Zulauf. Das dem Abwasser beigemischte Hydrolysat wurde zentrifugiert, um den Schwebstoffeintrag in den Reaktor zu unterbinden.

Gegen Ende der ersten Steigerungsphase war deutlich zu erkennen, dass Biomasse aus dem Reaktor ausgeschwemmt wurde. Durch die Verringerung des Volumenstroms und das Abzentrifugieren der im Hydrolysat enthaltenen Schwebstoffe wurde dieses Problem gelöst. Von diesem Zeitpunkt an waren kaum mehr Biomasseverluste im Ausfluss des Festbettreaktors feststellbar.

Deshalb wurde der Zulauf zum Reaktor abgestellt und der Verlust mit Klärschlamm wieder aufgefüllt. Um den Austrag im weiteren Versuchsverlauf zu minimieren, wurde von nun an die hydraulische Verweilzeit verdoppelt und im gleichen Schritt die CSB-Konzentration im Zulauf verdoppelt, um die Raumbelastung in gleicher Weise beizubehalten und anschließend wieder zu steigern.

Während der Versuchsdurchführung kam es zu mehreren kleinen Störungen. Die Erfassung der gebildeten Gasmenge des Festbettreaktors konnte wegen technischer Probleme nicht immer durchgeführt werden. Den folgenden graphischen Darstellungen der Ergebnisse wird nur die zweite Steigerungsphase (letzte 34 Versuchstage) zugrunde gelegt. Der Versuchszeitraum wird dabei von 0 bis 34 Tage angegeben.

Die zweite Steigerungsphase konnte nicht bis zur Belastbarkeitsgrenze der Fermentation fortgeführt werden. Dies lag an den zu geringen Mengen an flüssigem Hydrolysat, die in den Reaktoren gewonnen werden konnten. Eine Verringerung der Verweilzeit in den Hydrolysereaktoren führte zu einem rapiden Absinken der CSB-Konzentrationen, so dass eine weitere Steigerung nicht möglich war.

7.2.1 Einfluss der Hydrolysatzugabe auf die Fettsäureabbaugrade

Abbildung 7.3 zeigt die Verläufe der Gesamtfettsäurekonzentrationen im Zu- und Ablauf der kontinuierlichen Methanisierung von Gerstentreberhydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung.

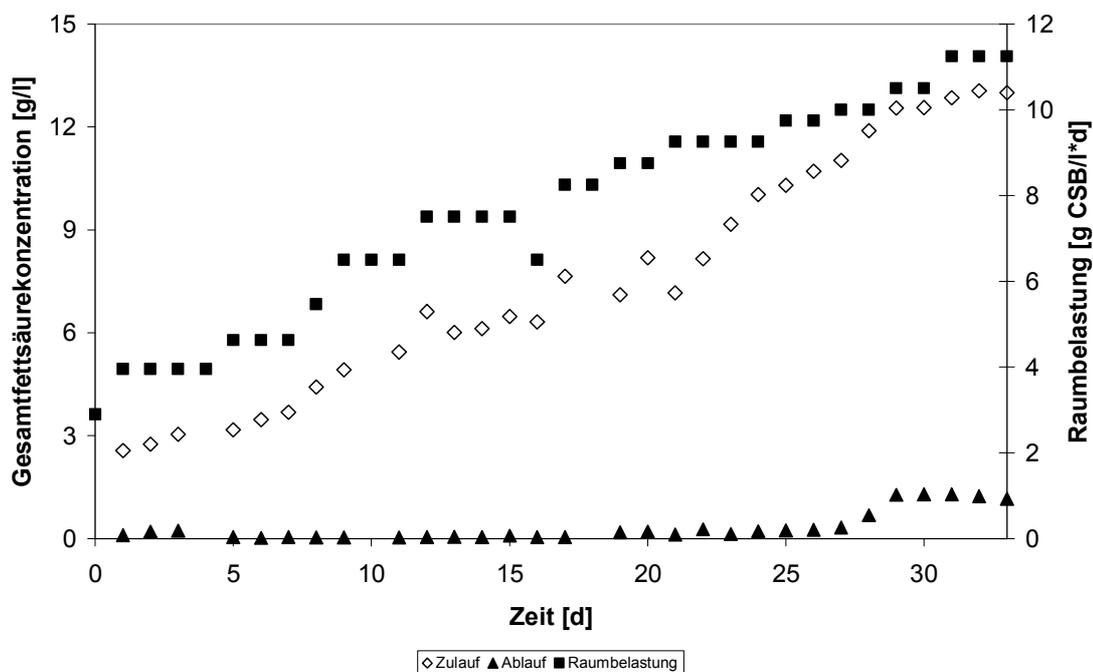


Abb. 7.3: Gesamtfettsäurekonzentration im Zu- und Ablauf bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung (2. Steigerungsphase)

In der zweiten Steigerungsphase konnte eine kontinuierliche Steigerung der Raumlast erfolgen. Die Gesamtfettsäurekonzentration im Zulauf beträgt am Ende des Versuches bei einer Raumbelastung von 11,25 g CSB/l*d ca. 11 g/l. Die Konzentration im Ablauf beträgt lediglich rund 1 g/l. Während der zweiten Steigerungsphase konnte durchgehend ein hoher Fettsäureabbaugrad von über 90 % erzielt werden (siehe auch Abbildung 7.4).

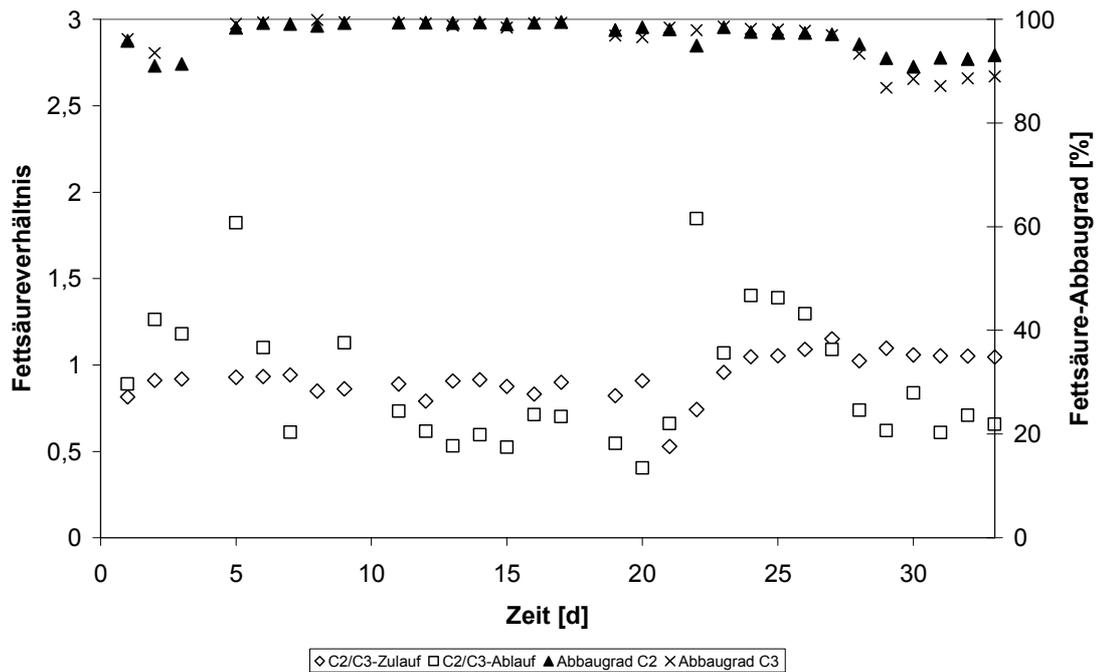


Abb. 7.4: Fettsäureverhältnisse und Fettsäureabbaugrad bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat (2. Steigerungsphase)

Abbildung 7.4 zeigt die Verhältnisse von Essigsäure und Propionsäure im Zu- und Ablauf sowie die Abbaugrade beider Fettsäuren. Während der zweiten Phase liegen im Zulauf beide Säuren in nahezu gleicher Konzentration vor. Im Ablauf des Festbettreaktors ist eine Schwankung des Fettsäureverhältnisses zu beobachten. Zu Beginn und im letzten Drittel der zweiten Steigerungsphase liegt im Vergleich zur Essigsäurekonzentration etwa die 1,5-fache Menge an Propionsäure vor. Dieses Verhältnis ändert sich jedoch in beiden Fällen sehr schnell wieder in Richtung Essigsäure. In beiden Fällen kann davon ausgegangen werden, dass die Raumbelastung des Festbettreaktors kurzfristig an der Grenze zur Überlastung war.

7.2.2 Einfluss der Hydrolysatzugabe auf die CSB-Abbaugrade

Analog zu den Gesamtfettsäurekonzentrationen im Zu- und Ablauf verhalten sich auch die CSB-Konzentrationen (Abbildung 7.5).

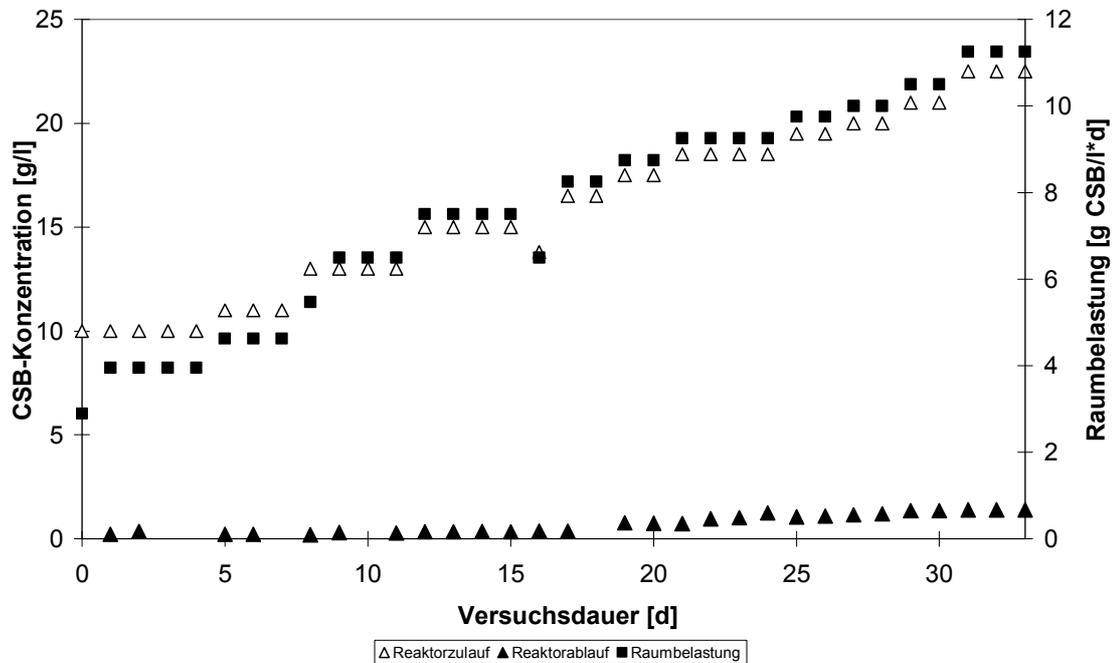


Abb. 7.5: CSB-Konzentration im Zu- und Ablauf bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung (2. Steigerungsphase)

Mit steter Erhöhung der Raumbelastung, steigt in gleicher Weise auch die CSB-Konzentration im Zulauf. Bei Versuchsende beträgt die CSB-Konzentration rund 22,5 g/l. Die CSB-Konzentration im Methanstufenablauf betrug dagegen maximal 1,4 g/l. Wie die niedrigen CSB-Konzentrationen im Ablauf zeigen, wurden während der zweiten Steigerungsphase auch hier stets Abbaugrade von über 90 % erreicht. Zu Beginn dieser Steigerungsphase konnten sogar CSB-Abbaugrade von über 97 % erzielt werden (siehe Abbildung 7.6).

Bei einer Raumbelastung von 11,25 g CSB/l*d und CSB-Zulaufkonzentrationen von 22,5 g/l konnte ein durchgehend stabiler Reaktorbetrieb beobachtet werden.

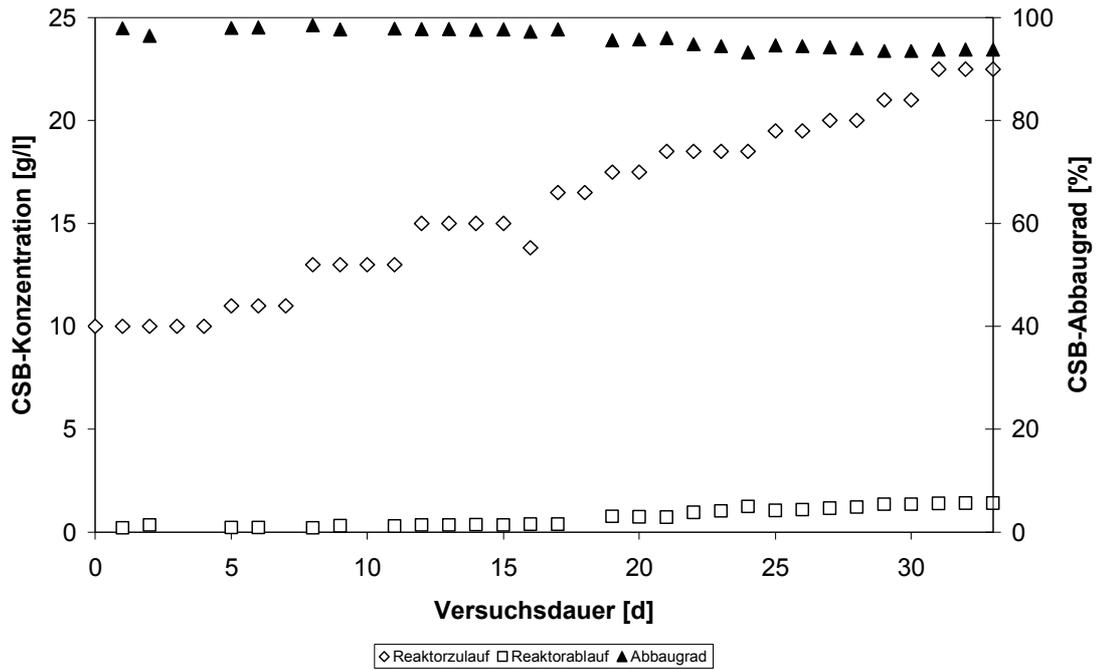


Abb. 7.6: CSB-Konzentrationen im Zu- und Ablauf sowie CSB-Abbaugrad bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat (2. Steigerungsphase)

7.2.3 Einfluss der Hydrolysatzugabe auf den pH-Verlauf

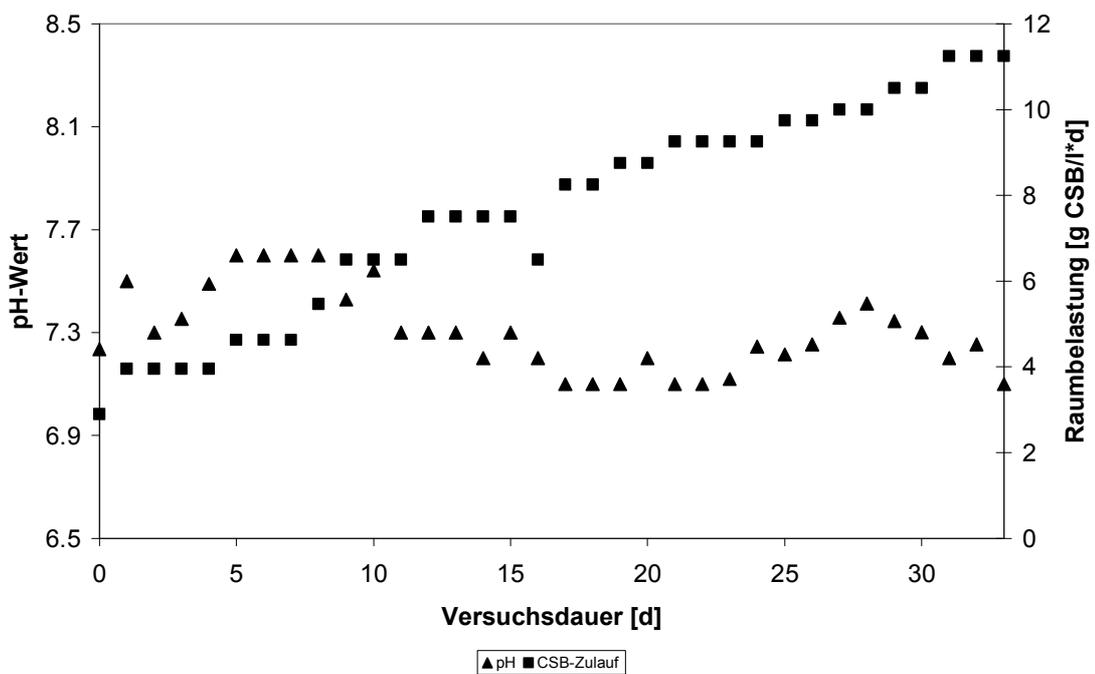


Abb. 7.7: pH-Verlauf bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der CSB-Konzentration im Zulauf (2. Steigerungsphase)

Abbildung 7.7 stellt den pH-Verlauf der Methanisierung von Gerstentreberhydrolysat in Abhängigkeit von der CSB-Konzentration dar. Der pH-Anstieg zu Beginn der zweiten Steigerungsphase ist durch die Zugabe von frischem Inokulum zu erklären. Erst ab einer Raumbelastung von über 6 g CSB/l*d kommt es zum Absinken des pH-Wertes. Auch bei weiterer Steigerung der Raumbelastung bleibt der pH-Wert im Festbettreaktor stabil zwischen 7,2 und 7,3.

7.2.4 Einfluß der Hydrolysatzugabe auf die Ammoniumkonzentration

Abbildung 7.8 zeigt die Ammoniumkonzentrationen während der Methanisierung.

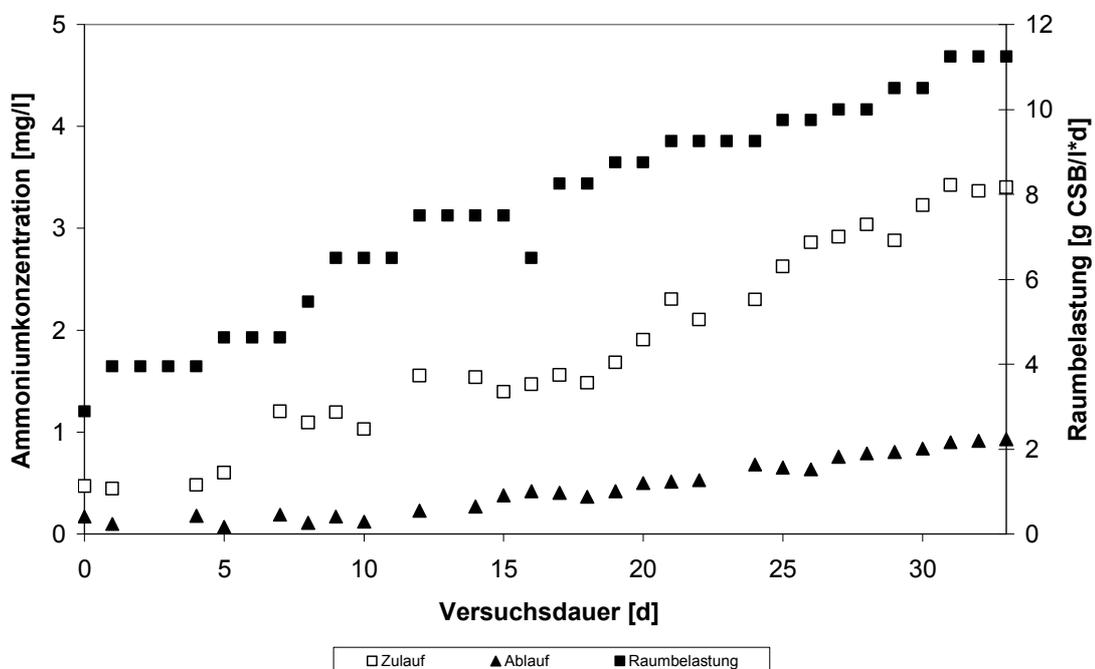


Abb. 7.8: Ammoniumkonzentrationen bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung (2. Steigerungsphase)

Mit steigender Raumbelastung nimmt auch die Ammoniumkonzentration im Zulauf der Methanstufe zu. Auch bei Versuchsende wird eine Konzentration von 3,2 g/l nicht überschritten. In Abhängigkeit vom pH-Wert und der Temperatur wird Ammonium zu Ammoniak überführt (vgl. Kapitel 2.2.5). Eine Hemmung der Methanisierung durch zu hohe Ammoniakkonzentrationen war während des Versuches nicht zu beobachten. Die geringeren Konzentrationen im Ablauf resultieren aus der Überführung zu Ammoniak und der Verwertung von Ammonium als Stickstoffquelle für den Stoffwechsel der Mikroorganismen.

7.2.5 Einfluss der Hydrolysatzugabe auf die Gasbildung

Die in Abbildung 7.9 dargestellte spezifische Gasbildungsrate verläuft ebenfalls analog zur CSB-Zulaufkonzentration. Bei Versuchsende werden rund 4 l Biogas pro l Reaktor am Tag gebildet.

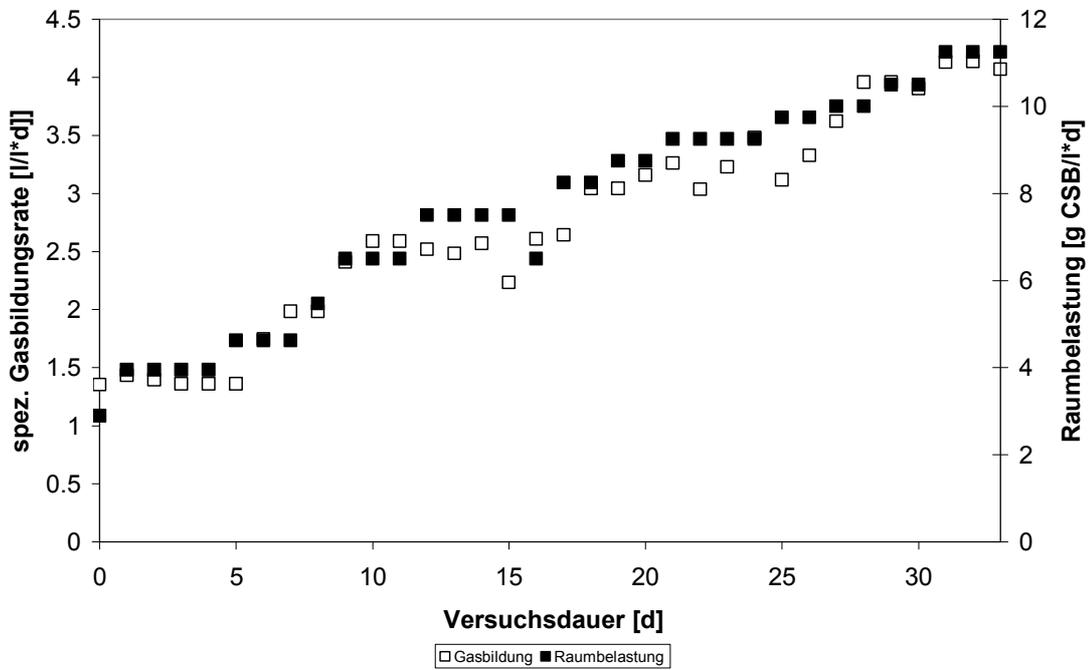


Abb. 7.9: Gasbildungsrate bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der CSB- Konzentration im Zulauf (2. Steigerungsphase)

Die auf die Raumbelastung bezogene Gasausbeute, verläuft während der zweiten Steigerungsphase annähernd konstant (siehe Abbildung 7.10). Sie beträgt rund 2,5 l pro Gramm zugeführter CSB-Belastung. Trotz der steten Erhöhung der Raumbelastung erfolgt ein stabiler Abbau der zugeführten organischen Fracht.

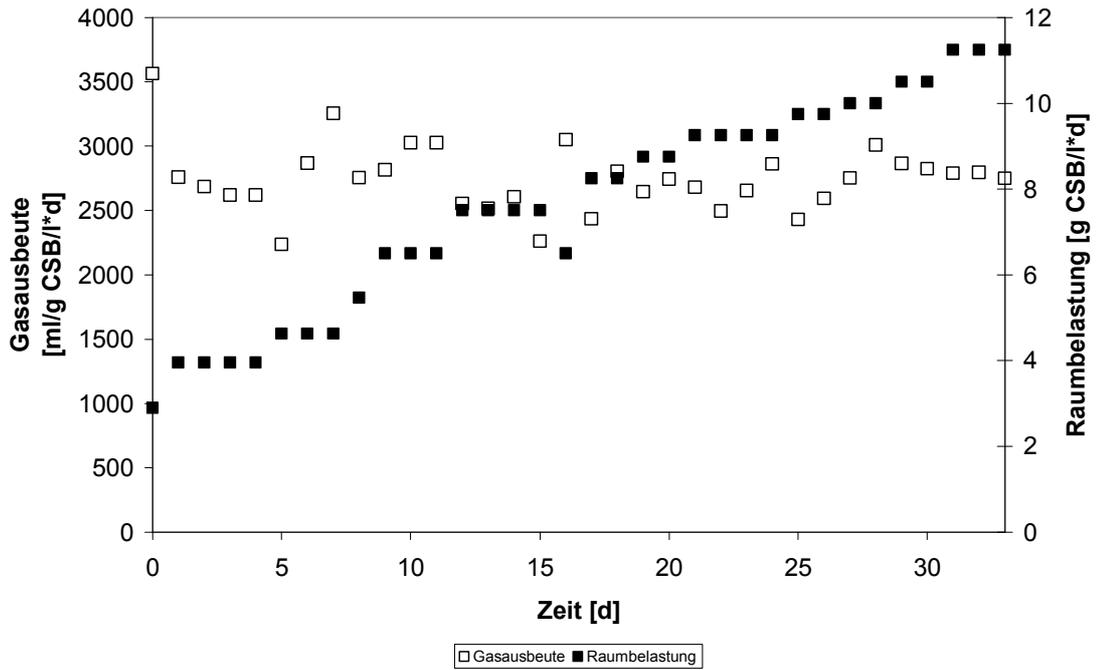


Abb. 7.10: Gasausbeute bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung (2. Steigerungsphase)

Abbildung 7.11 zeigt die über den Versuchszeitraum kumulierte Biogasmenge.

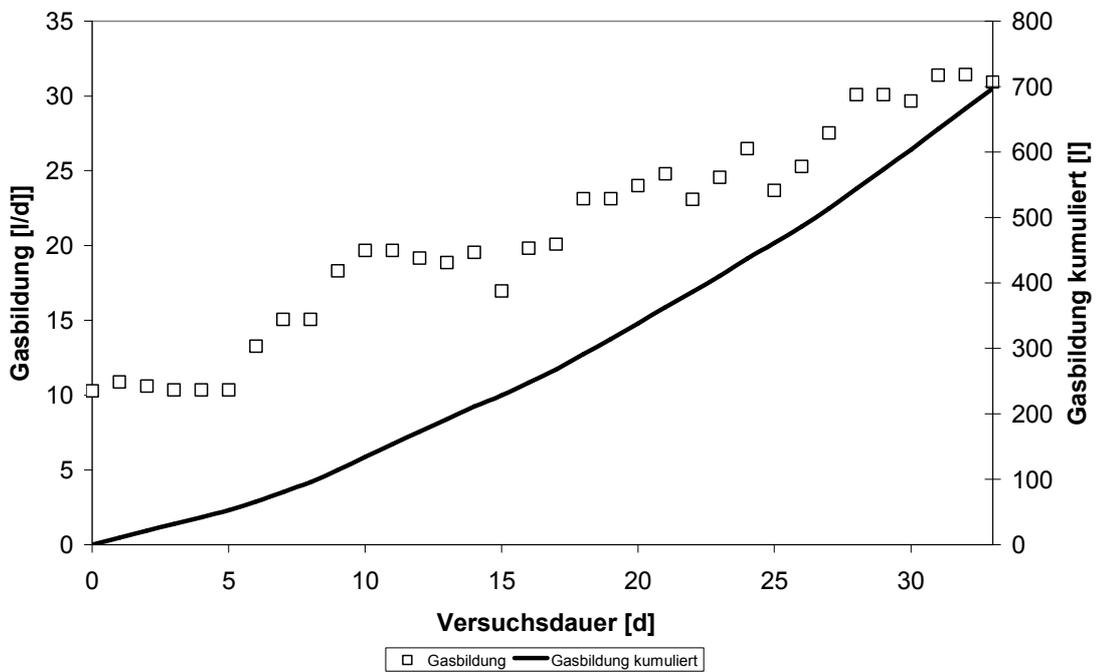


Abb. 7.11: Kumulierte Gasbildung bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat (2. Steigerungsphase)

Auch hier ist ein konstanter Verlauf zu erkennen, der auf einen stabilen biologischen Prozess schließen lässt. Die Steigung der Kurve während der zweiten Steigerungsphase nimmt im Vergleich zur ersten Phase zu. Auch dies ist ein Kriterium für einen stabilen Prozess. Im gesamten Versuchszeitraum wurde annähernd $0,7 \text{ m}^3$ Biogas gebildet.

7.2.6 Einfluss der Hydrolysatzugabe auf die Gaszusammensetzung

Ein wichtiges Kriterium für die Bewertung des Methanisierungsversuches ist die Zusammensetzung des gebildeten Biogases.

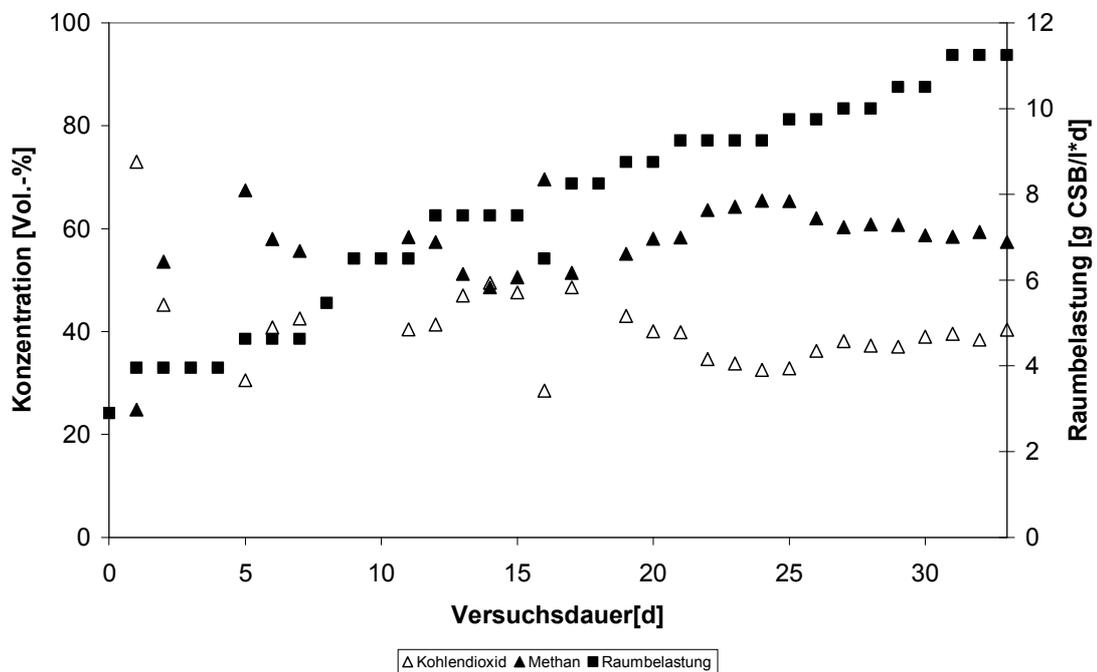


Abb. 7.12: Methan- und Kohlendioxidkonzentrationen bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung (2. Steigerungsphase)

Abbildung 7.12 stellt zunächst die Verläufe der Methan- und Kohlendioxidkonzentrationen dar. Während der zweiten Steigerungsphase konnte eine Zunahme der Methankonzentration beobachtet werden. Gegen Ende des Versuches konnte ein annähernd konstanter Verlauf der Methan- und Kohlendioxidkonzentrationen erzielt werden. Der Methananteil beträgt dabei im Mittel rund 58 Vol.-%, der Kohlendioxidanteil ca. 38 Vol.-%.

Weitere wichtige Gaskomponenten sind Schwefelwasserstoff und Wasserstoff, deren Verläufe in Abbildung 7.13 dargestellt sind.

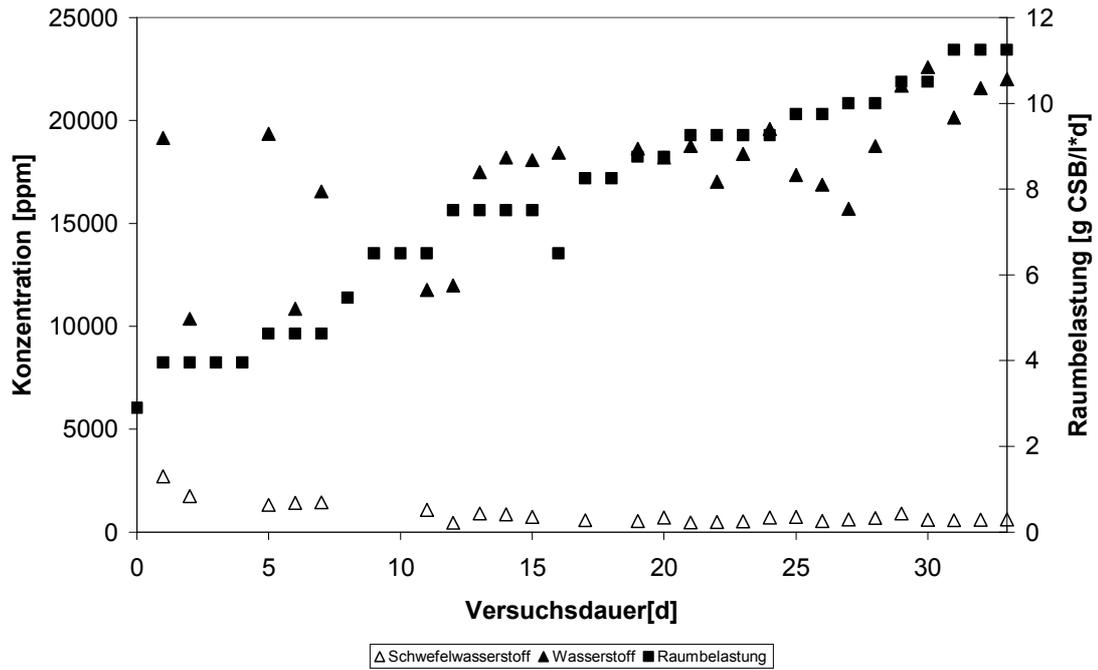


Abb. 7.13: Schwefelwasserstoff- und Wasserstoffkonzentrationen bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung (2. Steigerungsphase)

Die Schwefelwasserstoffkonzentrationen im Biogas sind sehr gering. Der Wasserstoffanteil pendelt sich bei ca. 2 Vol.-% ein.

8 Schlußfolgerungen und Ausblick

Das Ziel des ersten Versuchsabschnittes war es, den Einfluss von Enzymen als Fermentationsadditiv auf die mögliche **Verweilzeitverkürzung** einer kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber zu erreichen. Gleichzeitig sollte ein **stabiler Fermentationsverlauf** erreicht werden. Ohne Enzymzugabe erfolgt die Hydrolyse (Verflüssigung) von polymeren Treberbestandteilen über Exoenzyme, die von den fermentierenden bzw. versäuernden Mikroorganismen ins Fermentationsmedium abgesondert werden. Durch den Zusatz eines **Mischenzymsubstrates als Fermentationsadditiv** sollte die **Hydrolyse unterstützt** und beschleunigt werden. Dadurch soll eine **schnellere und höhere Versäuerungsrate** der gelösten Monomere erfolgen.

Im zweiten Versuchsabschnitt wurde der Einfluss verschiedener Treberarten und von Trubstoffen auf die Hydrolyse- und Versäuerung untersucht. Dadurch sollte die Kombinierbarkeit unterschiedlicher fester und pastöser Reststoffe während der anaeroben Fermentation untersucht werden.

Im letzten Versuchsabschnitt wurde die Anwendbarkeit auf ein zweistufiges Verfahren zur Produktion von Biogas untersucht, um Aussagen über ein mögliches Gesamtkonzept treffen zu können.

1) Einfluß des Mischenzymsubstrates als Fermentationsadditiv auf die Verflüssigung polymerer Treberbestandteile während der Hydrolyse- und Versäuerungsphase.

Als Prozessparameter für die Beurteilung der Verflüssigungsrate werden der chemische Sauerstoffbedarf im Hydrolysat und die Abbaugrade der einzelnen Treberfraktionen herangezogen. Unabhängig von der Substratverweilzeit konnten in allen Versuchen, in denen die Enzymzugabe erfolgte, höhere CSB-Konzentrationen beobachtet werden (vgl. Abbildung 5.12). Die CSB-Konzentration ist in diesem Fall äquivalent zur Substratverflüssigung, da mit steigender Zahl der in der Fermentationsflüssigkeit gelösten Substanzen auch der chemische Sauerstoffbedarf steigt, der für deren Oxidation benötigt wird. Der Einfluss der Enzyme ist bei Verweilzeiten unter 6 Tagen am deutlichsten. Bei diesen Verweilzeiten kann durch den Enzymeinsatz die 3- bis 4-fache CSB-Konzentration erreicht werden.

Vor allem im Hinblick auf die Abbaugrade an organischer Substanz (vgl. Abbildungen 5.8, 5.16 und 5.17) ist ein deutlicher Unterschied zwischen Hydrolyse mit Enzymzusatz und Hydrolyse ohne Enzymzusatz zu erkennen. Eine hohe Abbaurate von 50 % der organischen Trebertrockensubstanz ist mit Enzymzusatz bei Verweilzeiten von 3 Tagen immer noch möglich. Höhere Abbauraten sind auf Grund von einsetzender Produkthemmung bzw. der hohen Raumbelastung in einer einstufigen Hydrolyse nicht mehr möglich.

Durch das breite Enzymspektrum können gleichzeitig unterschiedliche Treberfraktionen aufgeschlossen werden. Dadurch sind hohe Abbauraten der Protein- und Fettfraktion gewährleistet. Gleichzeitig erhöht sich die Verfügbarkeit der Lignozellulosematrix. Ähnlich hohe Abbaugrade sind in Fermentationen ohne gezielten Enzymzusatz nicht möglich.

Der Einsatz eines Mischenzymsubstrates als Additiv während der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber zur Steigerung der Verflüssigungsraten ist gerechtfertigt.

2) Einfluß des Mischenzymsubstrates als Fermentationsadditiv auf die Versäuerungsleistung der Mikroorganismen während der Hydrolyse- und Versäuerungsphase.

Noch deutlicher wird der Einfluss des Mischenzymsubstrates auf die Versäuerungsleistung (vgl. Abbildung 5.9 und 5.12).

In den Versuchen ohne Enzymzusatz ist die Versäuerungsrate geringer. Die fermentierenden Mikroorganismen müssen zunächst durch die Sekretion von Exoenzymen sich selbst Stoffwechseledukte zur Verfügung stellen. Dies wirkt sich negativ auf die Produktion von Fettsäuren aus, da im Vergleich zu den Versuchen mit Enzymzusatz kein Überschuss an verstoffwechselbaren Monomeren vorliegt. Eine Verlangsamung der Versäuerung, v.a. bei kurzen Verweilzeiten, ist die Folge.

Positiv wirkt sich der Enzymzusatz auch auf das Fettsäurespektrum aus. Der Grund dafür ist, dass auch Teile der Lignozellulosefraktion abgebaut werden. Dadurch liegen im Vergleich zu den Aminosäurekonzentrationen höhere Zuckerkonzentrationen in der Flüssigphase vor. Bei der Versäuerung von Aminosäuren entstehen höhere Anteile an längerkettigen Fettsäuren, bei der Versäuerung von Zuckern kurzkettige Fettsäuren (Essigsäure, Buttersäure). Durch den Enzymeinsatz kann damit das Fettsäureverhältnis in Richtung der leichter methanisierbaren Fettsäuren verschoben werden, da ein Teil der Kohlenhydratfraktion abgebaut werden kann.

Abbildung 8.1 zeigt, dass durch den Enzymeinsatz ein hoher Anteil der gelösten Monomere zu kurzkettigen Fettsäuren metabolisiert wird.

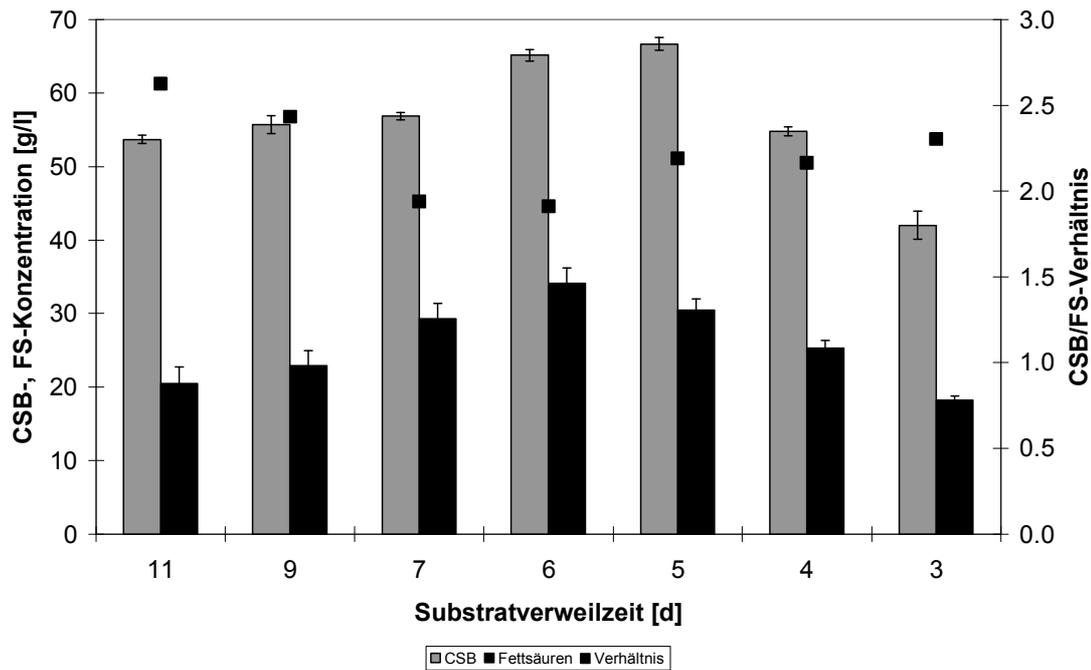


Abb. 8.1: Verhältnisse von CSB-/Fettsäurekonzentrationen im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit

Ziel der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung ist es, bei hohen Hydrolyseraten gleichzeitig eine hohe Fettsäurebildung zu erzielen. Je höher die Fettsäurekonzentration im Vergleich zur CSB-Konzentration ist, desto mehr gelöste Monomere (Zucker, Aminosäuren) werden zu kurzkettige Fettsäuren metabolisiert. Bei einer Substratverweilzeit von sechs Tagen ist das Verhältnis von CSB und Fettsäuren am Besten. Dies ist für eine spätere Methanisierung des Substrates wichtig, da die Versäuerung sonst zeitgleich zur Methanbildung stattfinden müsste. Dies würde längere Substratverweilzeiten aufgrund konkurrierender Abbaumechanismen nach sich ziehen. Der Grund für ein schlechteres Verhältnis bei höheren Verweilzeiten liegt darin, dass die Enzymzugabe prozentual zur Trebermasse zudosiert wurde. Dadurch läuft bei höheren Verweilzeiten zwar die Hydrolyse der polymeren Verbindungen ausreichend, jedoch scheint diese Enzymmenge nicht für eine Intensivierung der Versäuerung auszureichen. Bei einer Verweilzeit von sechs Tagen und weniger ist die zugegebene Enzymmenge bereits im Überschuss vorhanden, sodass die Exoenzymproduktion der Mikroorganismen reduziert werden kann. Somit kann sich der Metabolismus der Mikroorganismen auf die Bildung kurzkettiger Fettsäuren konzentrieren

Eine hohe Versäuerungsrate der in der Flüssigphase vorliegenden Hydrolyseprodukte, wird durch den gezielten Enzymeinsatz verstärkt. Vor Allem bei kurzen Verweilzeiten wirkt sich der Enzymeinsatz positiv auf die Versäuerungsraten und das Fettsäurespektrum aus.

3) Einfluß des Mischenzymsubstrat als Fermentationsadditiv auf den Fermentationsverlauf während der Hydrolyse- und Versäuerungsphase.

Die anaerobe Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber konnte bis zu einer Verweilzeit von 3 Tagen erfolgreich reduziert werden. Die Prozessstabilität ist bei den Versuchen mit Enzymzugabe höher. Die Schwankungsbreite innerhalb der verschiedenen Verweilzeiten wird durch den Enzymeinsatz sowohl bei den CSB-Konzentrationen, als auch bei den Gesamtfettsäurekonzentrationen verringert. Die Folge ist ein gleichbleibender, stabiler Prozessverlauf. Allerdings werden erste Anzeichen eines schlechteren Fermentationsverlaufes bei einer Verweilzeit von 4 Tagen sichtbar. Hier werden die Konzentrationsschwankungen auch in der Hydrolyse mit Enzymeinsatz größer. Die ungünstigere Fettsäureverteilung sowie der abnehmende Abbaugrad lassen den Schluss zu, dass eine Verweilzeitverkürzung unter 5 Tage nicht sinnvoll für die Prozessstabilität ist.

Grundsätzlich ist der Enzymzusatz für die Prozessstabilität förderlich. Bei kurzen Verweilzeiten ist dieser Effekt jedoch nicht mehr so ausgeprägt wie bei längeren Verweilzeiten.

4) Einfluß des Mischenzymsubstrates als Fermentationsadditiv während der Hydrolyse und Versäuerungsphase auf eine nachfolgende Methanisierung.

Substratspezifische Enzyme bewirken eine für die Methanisierung günstige Fettsäurezusammensetzung (vgl. Abbildungen 5.3, 5.10 und 5.11). Ein höherer Anteil an leicht methanisierbaren Fettsäuren wie Essig- und Buttersäure im Vergleich zu rein mikrobiologischen Fermentation kann dadurch erreicht werden. Dies ist ein entscheidender Vorteil, da für eine erfolgreiche Methanisierung vorrangig das Fettsäureverhältnis wichtig ist. Dies zeigt sich in den durchgeführten Methanisierungsversuchen (vgl. Abbildungen 5.18 und 5.19). Ein hoher CSB-Abbaugrad sowie ein hoher spezifischer Gasertrag mit hohem Methananteil kann gewährleistet werden.

Limitierend auf die Methanisierung des flüssigen Hydrolysats kann die darin vorhandene Ammoniumkonzentration wirken. Methanbakterien werden bei hohen Ammoniumgehalten in ihrem Stoffwechsel gehemmt. Bei höheren Raumbelastungen in der Methanstufe kann der Abbaugrad sinken und die Biogasqualität verschlechtern. Um diesem Problem entgegenwirken zu können, ist es gegebenenfalls sinnvoll, vor der Methanstufe den Ammoniumgehalt im Hydrolysat zu reduzieren. Denkbare Methoden sind dabei Strippen oder eine Magnesiumammoniumphosphat-Fällung. Eine Ammoniumhemmung konnte in diesen Versuchen nicht nachgewiesen werden, da die eingestellte Raumlast niedrig gewählt wurde und deshalb das Hydrolysat verdünnt wurde.

Die Ergebnisse des durchgeführten Methanisierungsversuches lassen den Schluss zu, dass sich der Enzymzusatz während der Hydrolyse und Versäuerung grundsätzlich positiv auf die CSB-Abbauraten und die Biogaszusammensetzung auswirkt.

Für die Hydrolyseversuche in Kapitel 5 wurde ein lyophilisiertes Enzymsubstrat verwendet. Da die enzymatische Aktivität jedoch bei der Lyophilisierung abnimmt, ist bei der Verwendung von frischem nicht lyophilisiertem Enzymsubstrat ein noch höherer Abbaugrad zu erwarten. Die Ergebnisse aus dem Vorprojekt bestätigen diesen Ansatz. Um diesen Ansatz weiter zu untersuchen, muss die gleichzeitige Enzymproduktion am selben Ort wie die anaerobe Fermentation erfolgen. Die Probleme liegen dabei jedoch in den unterschiedlichen Fermentationsformen. Die Enzymproduktion erfolgt unter aeroben Bedingungen, während die Biogasfermentation anaerob erfolgt. Auftretende Hemmungen in der Hydrolyse durch das Wachstum filamentöser Pilze, der durch den Enzymzusatz verursacht wird, können nicht ausgeschlossen werden, da es während einer Hydrolyse auch zu Sauerstoffeintrag kommen kann. Dieses Phänomen wurde in einem fehlgeschlagenen Versuch beobachtet. Im Kopfraum des Bioreaktors kam es zu Wachstum von Pilzen die über das Enzymsubstrat eingebracht wurden. Durch eine vorhergehende Enzymaufreinigung und Sterilisation des restlichen Kultursubstrates kann dies verhindert werden. Allerdings wird dadurch der apparative und energetische Aufwand größer. Eine Sterilisation des Kultursubstrates ist dennoch nötig, da das Kultursubstrat aus der Enzymproduktion ebenfalls im Gesamtprozess weiterverwertet werden muss, um Entsorgungskosten zu vermeiden.

Die auf den Enzymzusatz zurückzuführende Steigerung des Abbaugrades um ca. 10 % wird durch den Verlust an Trebersubstrat, das für die Enzymproduktion bereitgestellt werden muss, gemindert bzw. ausgeglichen. Wird nur eine einstufige Hydrolyse und Versäuerung durchgeführt, ist die Verbesserung durch den Enzymeinsatz im Bezug auf den Gesamtprozess relativ gering. Das zurückbleibende Digestat beträgt auch nach dem Enzymzusatz noch rund die Hälfte der ursprünglich zugeführten Trebertrockensubstanz. Im Vergleich bleiben bei der rein mikrobiologischen Hydrolyse 60 % der Trebertrockensubstanz als Digestat übrig.

Wird eine Enzymproduktion vor Ort durchgeführt erhöht sich der apparative Aufwand und führt zu erhöhten Investitions- und Betriebskosten. Werden die Enzyme zugekauft, fallen ebenfalls zusätzliche Kosten an. Zudem ist durch die vorhergehende Lyophilisierung die Wirksamkeit des Enzymsubstrates herabgesetzt und bringt keine entscheidende Verbesserung für den Gesamtprozess.

Aus diesen Gründen ist der Enzymzusatz trotz der in den Thesen eins bis vier genannten Vorteile nicht sinnvoll. Die weiteren Versuchsreihen dieser Arbeit wurden deshalb ohne Enzymzusatz durchgeführt.

5) Einfluß der Treberart auf die Hydrolyse- und Versäuerungsqualität.

Grundsätzlich liegen die Unterschiede der Treberarten in der Hemizellulose- und Proteinfraction (vgl. Tabelle 2.2). Die Treberart hat jedoch in den durchgeführten Versuchen keine Auswirkungen auf die Qualität der Hydrolyse und Versäuerung. Dies wird an den Summenparametern Gesamtfettsäuren und CSB deutlich. Dies liegt vor Allem daran, dass vorwiegend die leicht abbaubaren Fraktionen Protein und Fett verflüssigt wurden, die in allen untersuchten Trebern in ähnlichen Massenanteilen enthalten sind. Eine höhere Verflüssigungs- und Versäuerungsrate, die bei der Fermentation von „Weißbirtrebern“ im Vergleich zu reinen Gerstentrebern aufgrund des höheren Hemizellulose-Anteils zu erwarten ist, bedingt kürzere Substratverweilzeiten. Auch bei der Verwendung von Trebern aus der Produktion von dunklem Weißbier konnten keine negativen Auswirkungen, die durch Nebenprodukte des Darrens (Maillardverbindungen, Furane) hervorgerufen werden können, festgestellt werden. Es sind keine wesentlichen Unterschiede zu erkennen.

Die Verwendung verschiedener Treberarten aus der Produktion unterschiedlicher Biersorten ist deshalb ohne Einschränkungen möglich.

6) Einfluß der Zudosierung von Trubstoffen als Co-Substrat bei der Hydrolyse und Versäuerung von Birtrebern.

Die Steigerungen der CSB-Konzentrationsverläufe der trubversetzten Proben sind anfangs intensiver, als bei der Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber. Der Grund dafür liegt in der Lage und Zugänglichkeit der Nährstoffe, da Mikroorganismen zuerst die leicht abbaubaren Substanzen abbauen. Da Kohlenhydrate wie Zellulose oder Hemizellulose als fester Bestandteil der Spelzen schwer abbaubar sind, werden während der Hydrolyse der Treber zuerst die Proteine, Fette und Reststärke zu monomeren Komponenten abgebaut. Treberproteine sind zum Teil in die Lignozellulosematrix eingebunden. Obwohl diese leicht abbaubar sind, dauert es vergleichsweise länger bis die von den Mikroorganismen produzierten Exoenzyme am Wirkungsort eine effektive Hydrolyse ermöglichen. Daraus resultiert der flachere Verlauf der CSB-Konzentration. Bei den trubversetzten Versuchen ist mit Heißtrub ein Substrat vorhanden, das im Vergleich zu Treberprotein noch leichter zugänglich ist. Bei diesen Versuchen wurde ein Teil des schwerabbaubaren Trebers durch leichtabbaubaren Heißtrub ersetzt. Dies hat eine schnellere Hydrolyse und damit einen schnelleren Anstieg der CSB-Konzentration zur Folge.

Ähnlich verhält es sich bei den Fettsäurekonzentrationen. Wird nur Gerstentreber fermentiert, ist eine langsamere Versäuerung zu beobachten. Aufgrund des hohen Eiweißgehalts in den heißtrubversetzten Versuchen, wird eine größere Menge an Aminosäuren freigesetzt, die zu Fettsäuren abgebaut werden. Vergleicht man die Verläufe der CSB- und Fettsäurekonzentration, stellt man fest, dass bei den trubversetzten Proben eine schnellere Versäuerung der Hydrolyseprodukte zu beobachten ist.

Anhand der Graphen der Fettsäureverhältnisse (leichter zu schwerer methanisierbar) wird ersichtlich, dass bei den trubversetzten Proben anfangs der Anteil der leichter methanisierbaren Fettsäuren überwiegt. Dies resultiert aus der im Inokulum vorliegenden Fettsäurekonzentration. Am zweiten Versuchstag verändert sich dieses Verhältnis in Richtung der schwerer methanisierbaren Säuren. Dies ist mit dem hohen Proteinanteil zu erklären. Aufgrund des Aminosäurespektrums im Trub werden auch länger-kettige Fettsäuren gebildet. Es entstehen aus den verzweigten Aminosäuren, wie zum Beispiel Valin oder Isoleucin, länger-kettige Fettsäuren. Der Proteinanteil bei der Fermentation von Gerstentreber ist geringer als bei den Fermentationen mit Trub als Co-Substrat. Deshalb ist eine im Vergleich verzögerte Verschiebung in Richtung schwerer methanisierbare Fettsäuren zu beobachten.

Bei den durchgeführten Versuchen konnte durch die Zudosierung von Trub keine Verschlechterung der Hydrolyse- und Versäuerungsqualität festgestellt werden. Mögliche Hemmwirkungen, die durch die enthaltenen Gerbstoffe hervorgerufen werden können, waren bei den eingesetzten Trubkonzentrationen nicht zu beobachten. Da die beim Brauprozess anfallenden Trubmengen bezogen auf Treber unter 15 Mass.-% betragen, ist die Verwendung von Trubstoffen als Co-Substrat möglich. Grundsätzlich lässt der Verlauf des Fettsäureverhältnisses darauf schließen, dass mit zunehmender Trubkonzentration auch der Anteil an schwerer methanisierbaren Fettsäuren steigt. Eine mögliche Konsequenz für die Methanisierung ist, dass die Acetogenese zum geschwindigkeitslimitierenden Schritt wird, da die Essigsäurebildung aus den länger-kettigen Fettsäuren verzögert werden kann. Längere Substratverweilzeiten während der Methanisierung sind eine mögliche Folge.

7) Einfluß der Substrate Brauereiabwasser und Gerstentreberhydrolysat auf die Methanfermentation.

Um diesen Einfluss zu überprüfen, wurde eine zweistufige Fermentation mit Brauereiabwasser und Gerstentreber durchgeführt. Die Abbauleistungen während der Methanisierung im Festbettreaktor sind während der gesamten Steigerungsphase der Raumbelastung sehr hoch. Durchgängig wurden mehr als 95 % des sich im Zulauf zum Reaktor vorhandenen CSB eliminiert. Eine weitere Steigerung der Raumbelastung ist noch möglich. Mit diesem Versuchsaufbau konnte jedoch eine Verkürzung der Substratverweilzeit aus technischen Gründen nicht vorgenommen werden. Eine Steigerung des Substratvolumenstromes bedingt den Einbau einer Rückhaltevorrückung für Biomasse, um ein Ausschwemmen zu verhindern. Dies war jedoch im Labormaßstab nicht möglich.

Betrachtet man Abbildung 7.7, so fällt eine sinkende Tendenz des pH-Wertes auf. Bei weiterer Belastung des Reaktors ist mit Einschränkungen des Abbaus durch das zunehmend versauernde Reaktionsmilieu zu rechnen, da der pH-Wert des Hydrolysats wie angegeben im Bereich von 4,66 lag. Eine Pufferung durch Laugenzugabe kann dann nötig sein. Besser ist

jedoch die Rezirkulation von Methanstufenablauf, um den zu erwartenden pH-Abfall zu kompensieren.

Die Qualität des im Festbettreaktor gebildeten Biogas ist gut. Bei Zugabe einer Mischung aus Abwasser und Hydrolysat konnten Methangehalte von 70 Vol.-% und mehr gemessen werden. Bei reiner Hydrolysatzugabe wurden immer noch Methankonzentrationen bis 60 Vol.-% gemessen. Darüber hinaus sind die gebildeten Konzentrationen an unerwünschtem Schwefelwasserstoff niedrig (< 1 Vol.-%). Dies liegt wiederum an der zweistufigen Prozessführung, die den Austrag an Schwefelwasserstoff während der Hydrolyse ermöglicht.

Die spezifisch gebildete Gasmenge pro Gramm abgebautem CSB veränderte sich nur wenig während der Versuche. Das Maximum der gebildeten Gasmenge trat bei einer Raumbelastung von $6,25 \text{ g CSB/l}_{\text{Reaktorvolumen}} \cdot \text{d}$ auf.

Der Einsatz von Biertreber-Hydrolysat als Substrat bzw. als Cosubstrat in Verbindung mit Brauereiabwasser ist positiv zu bewerten. Trotz des niedrigen pH-Wertes des Hydrolyсата sind sehr gute Ergebnisse hinsichtlich des Abbaugrades und der Stabilität des Abbaus erzielt worden. Die Biogasqualität in den eingesetzten Reaktoren ist ebenfalls aufgrund des hohen Methananteils gut. Aus den in Kapitel 6 beschriebenen Versuchen geht hervor, dass bei der anaeroben Fermentation von Treber ein Zusatz von Heißtrub keine negativen Folgen auf den Gärverlauf hat. Beim Brauprozess fallen pro Hektoliter Bier im Mittel 18 kg Treber und 1,1 bis 2,4 kg Trub an. Daraus resultiert ein prozentualer Anteil zwischen 6,1 und 13,3 Mass.-%. Bei diesen Verhältnissen konnten in den durchgeführten Versuchen keine durch Bitterstoffe oder Polyphenole hervorgerufenen Hemmungen beobachtet werden. Fermentative Mikroorganismen besitzen zudem eine Fähigkeit zur Adaption an hemmende Substanzen wie Polyphenole. Jedoch unterscheiden sich die Trubstoffe in ihrer Zusammensetzung. Der Anteil an Polyphenolen im Kühltrub ist wesentlich höher als im Heißtrub. Aufgrund des dann höheren Anteils von Polyphenolen, sind Hemmungen trotzdem nicht gänzlich auszuschließen. Von der gesamten Abwassermenge ist jedoch nur ein kleiner Teil für die Hydrolyse- und Versäuerungsstufe nötig, der Rest kann direkt der Methanisierung zugeführt werden. Dies hat den Vorteil, dass für die Hydrolyse und Versäuerung kein Verdünnungswasser (nötig um ein pumpfähiges und rührbares Gemisch zu erhalten) benötigt wird. Des Weiteren werden die Ammoniummengen, die im Hydrolysat enthalten sind, in der Methanstufe durch die Restabwassermenge verdünnt. Dadurch kann eine Ammoniakhemmung während der Methanisierung weitgehend ausgeschlossen werden. Analog wird durch den Verdünnungseffekt auch die Hemmwirkung der Polyphenole gemindert. Die in These 7 formulierten möglichen Störungen während der Methanisierung können durch den Verdünnungseffekt des Abwassers reduziert bzw. weitgehend ausgeschlossen werden.

Die Verwendung der Reststoffe Treber, Abwasser und Trub in einer zweistufigen Biogasanlage ist damit gewährleistet.

Ausblick

Aus den bisher gewonnenen Ergebnissen sind folgende weiterführende Untersuchungen notwendig bzw. sinnvoll:

Zum Einen ist in Versuchen im Technikumsmaßstab zu prüfen, ob der Enzymeinsatz wirtschaftlich ist. Für die Enzymproduktion ist ein Teilmassenstrom der Treber abzuführen und ist möglicherweise für eine weitere Verwertung nicht mehr geeignet. Zudem ist der Enzymeinsatz, um diese Abbaugrade zu erzielen, mit rund 2 Mass.-% der Trebermenge sehr hoch. Sollte die Enzymproduktion nicht effizient vor Ort durchgeführt werden könne, ist der Enzymeinsatz wahrscheinlich nicht gerechtfertigt.

Ein weiterer Schwerpunkt weiterführender Arbeiten ist die Verwertung des nach der Hydrolyse und Versäuerung anfallenden Digestats. Wird nur eine Hydrolyse- und Versäuerungsstufe eingesetzt, bleibt rund die Hälfte der Trebertrockenmasse als Digestat übrig. Im Falle des Verzichts auf den Enzymeinsatz bleiben rund 60 % übrig. Eine Lösung stellt eine zweite Hydrolyse- und Versäuerungsstufe dar. Jedoch kann auch in einer weiteren Stufe der Ligninanteil nicht abgebaut werden. Somit gilt es, die Wirtschaftlichkeit einer zweistufigen Hydrolyse- und Versäuerung zu überprüfen. Sie ist grundsätzlich in Frage zu stellen, da in jedem Fall Digestat anfällt.

Möglicherweise stellt damit die Suche nach einem geeigneten Verfahren zur thermischen Nutzung des Digestats, das nach der ersten Hydrolyse- und Versäuerungsstufe anfällt, die geeignete Alternative dar.

In einem weiteren Arbeitsschritt ist eine Pilotanlage zu installieren, in der die Reststoffe einer Modellbrauerei verwertet werden können. Erst mit dieser Anlage können genaue Bilanzierungen durchgeführt werden. Zudem kann anschließend die Auslegung und Simulation einer Praxisanlage zur anaeroben Fermentation in Kombination mit der thermischen Digestatnutzung durchgeführt werden.

9 Literatur

- ALIZADEH H., TEYMOURI F., GILBERT T.I., DALE B.E., 2005, Pretreatment of switschgrass by ammonia fiber explosion (AFEX), *Applied Biochemistry and Biotechnology* Vol., Seiten 1133-1141
- ALVARADO-LASSMAN A., RUSTRIÁN E., GARCÍA-ALVARADO M.A., RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ, HOUBRON E., 2008, Brewery wastewater treatment using anaerobic inverse fluidized bed reactors, *Bioresource Technology*, Vol. 99, Seiten 3009 - 3015
- ANNEMÜLLER G., MANGER H.-J., LIETZ P., 2005, *Die Hefe in der Brauerei*, VLB Berlin, Berlin
- BEHMEL U., 1993, *Mehrstufige Methanisierung von Brauereireststoffen*, Dissertation, TU München
- BELDMAN G., HENNEKAM J., VORAGEN A.G.J., 1987, Enzymatic hydrolysis of beer brewers' spent grain and the influence of pretreatments, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 30, Seiten 668-671
- BELITZ H.D., GROSCH W., SCHIEBERLE P., 2001, *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg
- BOCHMANN G., HERFELLNER T., SUSANTO F., KREUTER F., PESTA G., 2007, Application of enzymes in anaerobic digestion, *Water Science Technology*, Vol. 56, Seiten 29-35
- BROWNELL H.H., SADDLER J.N., 1986, Steam pretreatment of lignocellulosic material for enhanced enzymatic hydrolysis, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 29, Seiten 228-235
- BUSWELL A.M., MUELLER H.F., 1952, Mechanism of methane fermentation, *Industrial and Engineering Chemistry*, Vol. 44, Seiten 550-552
- CELUS I., BRIJS K., DELCOUR J.A., 2007, Enzymatic hydrolysis of brewers' spent grain proteins and technofunctional properties of the resulting hydrolysates, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 55, Seiten 8703-8710
- CHANG V.S., HOLTZAPPLE M.T., 2000, Fundamental factors affecting enzymatic reactivity, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 84-86, Seiten 5-37
- CHMIEL H., 2008, *Bioprozesstechnik*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- CONNAUGHTON S., COLLINS G., O'FLAHERTY V., 2006, Psychrophilic and mesophilic anaerobic digestion of brewery effluent: A comparative study, *Water Research*, Vol. 40, Seiten 2503-2510
- CRONIN C., LO K.V., 1998, Anaerobic treatment of brewery wastewater using UASB reactors seeded with activated sludge, *Bioresource Technology*, Vol. 64, Seiten 33-38

- DELGENÉS J.P., PENAUD V., MOLETTA R., 2002, Pretreatments for the enhancement of anaerobic digestion of solid wastes, In: Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes, IWA Publishing, Seiten 201-228
- EGGEMANN T., ELANDER R.T., 2005, Process and economic analysis of pretreatment technologies, *Bioresource Technology*, Vol. 96, Seiten 2019-2025
- EZENOU F.C., OKAKA A.N.C., 1994, Process kinetics and digestion efficiency of anaerobic batch fermentation of brewer's spent grains (BSG), *Process Biochemistry*, Vol. 31, Seiten 7-12
- FAULDS C.B., ROBERTSON J.A., WALDRON K.W., 2008, Effect of pH on the solubilisation of brewers' spent grain by microbial carbohydrases and proteases, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 56, Seiten 7038-7043
- FAULSTICH M., 2007, Sondergutachten – Klimaschutz durch Biomasse, Sachverständigenrat für Umweltfragen, Erich Schmidt Verlag, Berlin
- FAULSTICH M., 2008, Umweltgutachten – Umweltschutz im Zeichen des Klimawandels, Sachverständigenrat für Umweltfragen, Erich Schmidt Verlag, Berlin
- FILLAUDEAU L., BLANPAIN-AVET P., DAUFIN G., 2005, Water , wastewater and waste management in brewing industries, *Journal of Cleaner Production*, Vol. 14, Seiten 463-471
- FORSSELL P., KONTKANEN H., SCHOLS H.A., HINZ S., EJSINK V.G.H., TREIMO J., ROBERTSON J.A., WALDRON K.W., FAULDS C.B., BUCHERT J., 2008, Hydrolysis of brewers' spent grain by carbohydrate degrading enzymes, *Journal of the Institute of Brewing*, Vol. 114, Seiten 306-314
- FUCHS G.; 2006: Abbau organischer Verbindungen. In: Fuchs G., *Allgemeine Mikrobiologie*, Thieme Verlag, Stuttgart New York, Seiten 381-404
- GAO M., SHE Z., JIN C., 2007, Performance evaluation of a mesophilic (37 °C) upflow anaerobic sludge blanket reactor in treating distiller's grains wastewater, *Journal of Hazardous materials*, Vol. 141, Seiten 808 – 813
- GARROTE G., DOMINGUEZ H., PARAJO J.C., 1999, Hydrothermal processing of lignocellulosic materials, *European journal of Wood and Wood products*, Vol. 57, Seiten 191-202
- GREPMEIER M., 2002, Experimentelle Untersuchungen an einer zweistufigen fuzzy-geregelten anaeroben Abwasserreinigungsanlage mit neuartigem Festbettmaterial, Dissertation, TU München
- GOSSETT J.M., STUCKEY D.C., OWEN W.F., MCCARTY P.L., 1982, Heat treatment and anaerobic digestion of refuse, *Journal of the Environmental Engineering Division*, Vol. 108, Seiten 437-454

- GREGG D., SADDLER J.N., 1996, A techno-economic assessment of the pretreatment and fractionation steps of a biomass-to-ethanol process, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 57/58, Seiten 711-727
- HACKENSELLNER T., 2001, *Umwelttechnik für Brauereien*, Unternehmensgruppe Huppmann, Kitzingen
- HEIDER J.; 2006: Anaerobe Atmung. In: Fuchs G., *Allgemeine Mikrobiologie*, Thieme Verlag, Stuttgart New York, Seiten 381-404
- HENDRIKS A.T.W.M., ZEEMAN G., 2009, Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass, *Bioresource Technology*, Vol. 100, Seiten 10-18
- HERFELLNER T., Ruß W., 2008, Verweilzeitverkürzung bei der anaeroben Fermentation von Biertrebern, *Wissenschaftsförderung der deutschen Brauwirtschaft e.V., Forschungsbericht R399*
- HOEGGER P., MAJCHERCZYK A., DWIVEDI R., SVOBODOVA K., KILARU S., KÜES U., 2007, *Enzymes in Wood Degradation*. In: *Wood Production, Wood Technology, and Biotechnological Impacts*. Universitätsverlag Göttingen, Göttingen.
- HÖLKER U., HÖFER M., LENZ J., 2004, Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 64, Seiten 175-186
- KATO M.T., REBAC S., LETTINGA G., 1999, Anaerobic treatment of low-strength brewery wastewater in expanded granular sludge bed reactor, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 76, Seiten 15-32
- ISHIWAKI N., MURAYAMA H., AWAYAMA H., KANAUCHI O., SATO T., 2000, Development of High Value Uses of Spent Grain by Fractionation Technology, *MBAA Technical Quarterly*, Vol. 37, Seiten 261-265
- KIM K.H., HONG J., 2001, Supercritical CO₂ pretreatment of lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis, *Bioresource Technology*, Vol. 77, Seiten 139-144
- KOSTER, I.W., KOOMEN, E., 1988, Ammonia inhibition of the maximum growth rate (μ_m) of hydrogenotrophic methanogens at various pH-levels and temperatures, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 28, Seiten 500-505
- KREYSZIG E., 1998, *Statistische Methoden und ihre Anwendungen*, Vandenhoeck & Rupprecht, Göttingen
- KRETSCHMER S., 1997, *Untersuchungen zur Verkürzung der Verweilzeit bei der Hydrolyse von Cellulose und bei der anaeroben Fermentation lignocellulosehaltiger Lebensmittelreststoffe am Beispiel von Biertrebern*, VDI Verlag, Düsseldorf

- KROISS H., SVARDAL K.; 2005: Einflussfaktoren auf die anaeroben biologischen Abbauvorgänge. In: Bischofsberger W., Dicht N., Rosenwinkel K.-H., Seyfried C.F., Böhnke B. (Hrsg.), Anaerobtechnik, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Seiten 49-86
- KUNST S.; 2005: Mikrobiologische Grundlagen. In: Bischofsberger W., Dicht N., Rosenwinkel K.-H., Seyfried C.F., Böhnke B. (Hrsg.), Anaerobtechnik, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Seiten 23-48
- KUNZE W., 2007, Technologie Brauer und Mälzer, VLB Berlin, Berlin
- LAUREANO-PEREZ L., TEYMOURI F., ALIZADEH H., DALE B.E., 2005, Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass, Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol. 121-125, Seiten 1081-1099
- LAWTHER J.M., SUN R., BANKS W.B., 1996, Effects of extraction conditions and alkali type on yield and composition of wheat straw hemicellulose, Journal of Applied Polymer Science, Vol. 60, Seiten 1827-1837
- LEAL K., CHACIN E., BEHLING E., GUTIEREZ E., FERNANDEZ N., FORSTER C.F., 1998, A mesophilic digestion of brewery wastewater in an unheated anaerobic filter, Bioresource Technology, Vol. 64, Seiten 51-55
- LETTINGA G., REBAC S., ZEEMAN G., 2001, Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment, Trends in Biotechnology, Vol. 19, Seiten 363-369
- LIU C., WAYMANN M., 2003, The effect of flow rate of compressed hot water on xylan, lignin and total mass removal from corn stover, Industrial & Engineering Chemistry Research, Vol. 42, Seiten 5409-5416
- MACHEINER D., ADAMITSCH B.F., KARNER F., HAMPEL W.A., 2003, Pretreatment and hydrolysis of brewer's spent grains, Engineering in Life Sciences, Vol. 3, Seiten 401-405
- MADIGAN M.T., MARTINKO J.M., PARKER J., GOEBEL W., 2003, Brock – Mikrobiologie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg Berlin
- MCHUGH S., CARTON M., MAHONY T., O'FLAHERTY V., 2003, Methanogenic population structure in a variety of anaerobic bioreactors, FEMS Microbiology Letters, Vol. 219, Seiten 297-304
- MEBAK – Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission, 2006, VLB Berlin, Berlin
- MEYER H., LANGE R. et.al.; 2005: Anaerobe Abwasserbehandlung. In: Bischofsberger W., Dicht N., Rosenwinkel K.-H., Seyfried C.F., Böhnke B. (Hrsg.), Anaerobtechnik, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Seiten 23-48
- MÖLLER M., 1992, Chemisch-physikalischer Aufschluß von Biertreber als Vorbehandlung zur anaeroben fermentation zu Biogas, Dissertation, TU München

- MOSIER N., WYMAN C., DALE B., ELANDER R., LEE Y.Y., KOLTZAPPLE M., LADISCH M., 2005, Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass, *Bioresource Technology*, Vol. 96, Seiten 673-686
- Mudrack K., Kunst S., 2003, *Biologie der Abwasserreinigung*, Spektrum akademischer Verlag, Heidelberg Berlin
- MUSATTO S.I., DRAGONE G., ROBERTO I.C., 2006, Brewer's spent grain: generation characteristics and potential applications, *Journal of Cereal Science*, Vol. 43, Seiten 1-14
- MUSATTO S.I., FERNANDES M., MILAGRES A.M.F., ROBERTO I.C., 2008, Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 43, Seiten 124-129
- NARZIB L., 2004, *Abriss der Bierbrauerei*, Wiley VCH Verlag, Weinheim
- NISHIO N., NAKASHIMADA Y., 2007, Recent development of anaerobic digestion process for energy recovery from wastes, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 103, Seiten 105-112
- PENAUD V., DELGENÈS J.P., MOLETTA R., 1999, Thermo-chemical pretreatment of a microbial biomass: influence of sodium hydroxide addition on solubilisation and anaerobic biodegradability, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 25, Seiten 258-263
- PESTA G., LENZ J., MEYER-PITTRUFF R., 2006, Verzuckerung von Biertrebern durch Mischenzyme zur Steigerung der spezifischen Gasausbeute bei der anaeroben Vergärung, *Wissenschaftsförderung der deutschen Brauwirtschaft e.V., Forschungsbericht R399*
- PESTA G., MEYER-PITTRUFF R., 2004, Reduzierung von Starkverschmutzerzuschlägen in Brauereien – Regenerative Energie durch Biogasverwertung, *Brauwelt*, Vol. 144, Seiten 9-11
- PRECHTL, S., FAULSTICH, M., 2006, Optimierte Verwertung organischer Abfälle durch das ATZ-TDH-Verfahren, in: Lorber, K. E., Staber, W., Menapace, H., Klenzl, N., Vogrin, A. (Hrsg.): *Abfall- und Deponietechnik, Abfallwirtschaft, Altlasten*. 8. Depotech 22. bis 24. November 2006, Leoben. VGE Verlag, Essen
- RAMOS L.P., 2003, The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials, *Química Nova*, Vol. 26, Seiten 863-871
- REBAC S., VAN LIER J.B., JANSSEN M.G.J., DEKKERS F., SWINKELS K.T.M., LETTINGA G., 1997, High-rate anaerobic treatment of malting waste water in a pilot-scale EGSB under psychrophilic conditions, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Vol. 68, Seiten 135-146
- REBAC S., RUSKOVA J., GERBENS S., VAN LIER J.B., STAMS A.J.M., LETTINGA G., 1995, High-rate anaerobic treatment of wastewater under psychrophilic conditions. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, Vol. 80, Seiten 499-506

- RUSS W., MEYER-PITTROFF R., 2004, Utilizing waste products from the food production and processing industries, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 44, Seiten 57-62
- SANTOS M., JIMENEZ J.J., BARTOLOME B., GOMEZ-CORDOVEZ C., DEL NOZAL M.J., 2003, Variability of brewer's spent grain within a brewery, *Food Chemistry*, Vol. 80, Seiten 17-21
- SINGH R.P., KUMAR S., OJHA C.S.P., 1997, A critique on operational strategies for start-up of UASB reactors: effects of sludge loading rate and seed/Biomass concentration, *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 1, Seiten 107-119
- SÖDERSTRÖM J., PILCHER L., GALBE M., ZACCHI G., 2003, Two-step pretreatment of softwood by dilute H₂SO₄ impregnation for ethanol production, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 24, Seiten 475-486
- SOTO M., MÉNDEZ R., LEMA J., 1992, Characterization and comparison of biomass from mesophilic and thermophilic fixed bed anaerobic digesters, *Water Science Technology*, Vol. 25, Seiten 203-212
- STERN N., 2006, *The economics of climate change*, The Stern Review, Cambridge University Press
- TENGERDY R.P., SZAKACS G., 2003, Bioconversion of lignocellulose in solid substrate fermentation, *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 13, Seiten 169-179
- TREIMO J., ASPMO S.I., EIJSINK V.G.H., HORN S.J., 2008, Enzymatic solubilization of proteins in brewers' spent grain, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 56, Seiten 5359-5365
- TREIMO J., WESTERENG B., HORN S.J., FORSELL P., ROBERTSON J.A., FAULDS C.B., WALDRON K.W., BUCHERT J., EIJSINK V.G.H., 2009, Enzymatic solubilization of brewers' spent grain by combined action of carbohydrases and peptidases, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 57, Seiten 3316-3324
- UEMURA S., HARADA H., 1993, Inorganic composition and microbial characteristics of methanogenic granular sludge grown in a thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactor, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 43
- VIÉITEZ E.R., GHOSH S., 1999, Biogasification of solid wastes by two-phase anaerobic fermentation, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 16, Seiten 299-309
- WEIMER P.J., HACKNEY J.M., FRENCH A.D., 1995, Effects of chemical treatments and heating on the crystallinity on cellulose biodegradation, *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 48, seiten 169-178
- WIEGANT W., CLAASSEN J., LETTINGA G., 1995, Thermophilic anaerobic digestion of high strength wastewaters, *Biotechnological Bioengineering*, Vol. 27

- WU M.M., CHANG K., GERGG D.J., BOUSSAID A., BEATSON R.P., SADDLER J.N., 1999, Optimazation of steam explosion to enhance hemicellulose recovery and enzymatic hydrolysis of cellulose in softwoods, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. , Seiten 47-54
- YU H., GU G., 1996, Biomethanation of brewery wastewater using an anaerobic upflow blanket filter, *Journal of Cleaner Production*, Vol. 4, Seiten 219-223
- YU G.H., HE P.J., SHAO L.M., ZHU Y.S., 2008, Extracellular proteins, polysaccharides and enzymes impact on sludge aerobic digestion after ultrasonic pretreatment, *Water Research*, Vol. 42, Seiten 1925-1934
- ZEHNDER A. J. B., 1988, *Biology of anaerobic mircoorganisms.*: John Wiley & Sons, Wageningen
- ZHANG Y.H.P., LYND L.R., 2004, Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulose systems, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 88, Seiten 797-824
- ZHANG G., LIU H., ZHANG P., ZHANG Y., 2008, Ultrasonic pretreatment of biosolid, *International Journal of Biotechnology*, Vol. 10, Seiten 27-34
- ZHENG Y., LIN H.M., TSAO G.T., 1998, Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion, *Biotechnology Progress*, Vol. 14, Seiten 890-896
- ZHU Y., LEE Y.Y., ELANDER R.T., 2005, Optimization of dilute-acid pretreatment of corn stover using a high solids percolation reactor, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol. 121-124, Seiten 1045-1054
- ZOETEMEYER, R.J., ARNOLDY P., COHEN A., BOELHOUWER C., 1982, Influence of temperature on the anaerobic acidification of glucose in a mixed culture forming part of two stage digestion process, *Water Research*, Vol. 16, Seiten 313-321

Abkürzungen

AS	Aminosäure
ATP	Adenosintrphosphat
B	Blindwert
B _R	Raumbelastung
c	Konzentration
C	Kohlenstoff
°C	Grad-Celsius
CoA	CoenzymA
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
CSTR	kontinuierlicher Rührkesselreaktor (continuous stirred tank reactor)
d	Tag
D	Verdünnungsrate
E	Einwaage
F	Zulauftrate
FAD	Flavinadenindinukleotid
FM	Frischmasse
FS	Fettsäuren
g	Gramm
G	Rektionsenthalpie
GT	Gerstentreber
GWT	Gersten-/Weizentreber
h	Stunde
H	Titrationwert
hl	Hektoliter
HRT	hydraulische Verweilzeit
HT	Heißtrub
kg	Kilogramm
K _P	Gleichgewichtskonstante (van't Hoffsche Gleichung)

KT	Kühltrub
l	Liter
m	Masse
m	Meter
mm	Millimeter
m ³	Kubikmeter
MES	Mischenzymsubstrat
mg	Milligramm
min	Minute
N	Stickstoff
NAD	Nikotinamidadenindinukleotid
oTS	organische Trockensubstanz
P	Phosphor
P	Produkt
ppm	parts per million
Pr	Produktivität
R	allgemeine Gaskonstante
S	Substrat
t	Zeit
T	Temperatur
TS	Trockensubstanz
Un	Unit
U	Umdrehungen
UASB	Upflow Anaerobic Sludge Blanket
V	Volumen
VB	Verkaufsbier
V _R	Reaktorvolumen
X	Biomasse

Abbildungsverzeichnis

Kapitel 2

Abb. 2.1:	Längsschnitt eines Gerstenkorns	16
Abb. 2.2:	Schematischer Aufbau eine Pflanzenzellwand.....	17
Abb. 2.3:	Elementarstruktur von Zellulose	17
Abb. 2.4:	Struktur einer Amylose-Doppelhelix.....	19
Abb. 2.5:	Grundstruktur von Amylopektin	19
Abb. 2.6:	Strukturformel der α -Säure.....	21
Abb. 2.7:	Strukturformel von Xanthohumol	22
Abb. 2.8:	Schema des anaeroben Abbauprozesses.....	24
Abb. 2.9:	Schema des enzymatischen Abbaus von Zellulose	26
Abb. 2.10:	Schema des enzymatischen Abbaus von Xylan	27
Abb. 2.11:	Enzymatischer Abbau von Amylopektin.....	28
Abb. 2.12:	Enzymatischer Abbau von Triacylglyceriden	29
Abb. 2.13:	Enzymatischer Abbau von Proteinen	30
Abb. 2.14:	Hauptwege des Abbaus organischer Monomere aus der Hydrolyse.....	31
Abb. 2.15:	Schema der gemischten Säuregärung.....	32
Abb. 2.16:	Homofermentative Milchsäuregärung.....	32
Abb. 2.17:	Heterofermentative Milchsäuregärung.....	33
Abb. 2.18:	Teilschritte der Buttersäure- bzw. Lösungsmittelgärung	33
Abb. 2.19:	Methylmalonyl-CoA-Weg der Propionsäuregärung	34
Abb. 2.20:	Stickland-Gärung mit Alanin und Glycin.....	35
Abb. 2.21:	Schema der β -Oxidation von langkettigen Fetten	37
Abb. 2.22:	Schema der Acetatbildung aus CO_2 und H_2 über den Acetyl-CoA-Weg.....	38
Abb. 2.23:	Syntrophe sekundäre Vergärung von Butyrat zu Acetat	39
Abb. 2.24:	Coenzyme methanogener Mikroorganismen.....	41
Abb. 2.25:	Schema der Methanbildung aus H_2 und CO_2	42
Abb. 2.26:	Schema der Methanbildung aus Acetat	43
Abb. 2.27:	Relative maximale Versäuerungsrate von Säurebakterien in Abhängigkeit von der Temperatur	45
Abb. 2.28:	Abhängigkeit der maximalen Umsatzraten methanogener Bakterien von der Temperatur.....	46
Abb. 2.29:	Prozentualer Anteil des undissoziierten Schwefelwasserstoffes in Abhängigkeit vom pH	48
Abb. 2.30:	Typische Wachstumskurve einer Batch-Fermentation.....	53
Abb. 2.31:	Konzentrationsverlauf von Substrat (S)-, Produkt (P)- und Biomassekonzentration (X) einer kontinuierlich betriebenen Fermentation im CSTR	54

Abb. 2.32:	Schema eines Rührkesselreaktors.....	55
Abb. 2.33:	Schema eines Festbettreaktors.....	56
Abb. 2.34:	Schematische Darstellung eines UASB-Reaktors.....	58

Kapitel 4

Abb 4.1:	Valve-Schaltung und Gasflüsse bei der GC/MS-Analytik von Hydrolyse- und Methanisierungsgas	81
Abb. 4.2:	Schematische Darstellung eines Rührkesselreaktors zur anaeroben Hydrolyse und Versäuerung fester organischer Stoffe	86
Abb. 4.3:	Schematische Darstellung eines Eudiometerversuchsstandes zur anaeroben Hydrolyse und Versäuerung fester organischer Stoffe.....	88
Abb. 4.4:	Schematische Darstellung eines Festbettreaktors zur Methanisierung von Hydrolysat	90

Kapitel 5

Abb. 5.1:	Mittlere Gesamtfettsäurekonzentration im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	95
Abb. 5.2:	Spezifische Fettsäurebildung im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von Raumbelastung und Substratverweilzeit.....	95
Abb. 5.3:	Mittleres Fettsäurespektrum im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	96
Abb. 5.4:	Mittlere CSB-Konzentration im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	97
Abb. 5.5:	pH-Werte und Ammoniumkonzentrationen im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	98
Abb. 5.6:	Produktivitäten (CSB, Fettsäuren) im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	99
Abb. 5.7:	Abbaugrade der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit....	100

Abb. 5.8:	Gesamtfettsäurekonzentration im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit und ohne Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	101
Abb. 5.9:	Verhältnisse von leichter methanisierbaren und schwerer methanisierbaren Fettsäuren im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit und ohne Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	102
Abb. 5.10:	CSB-Konzentrationen im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit und ohne Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	103
Abb. 5.11:	pH-Werte und Ammoniumkonzentrationen im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit und ohne Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	104
Abb. 5.12:	Produktivitätsverhältnisse (mit/ohne Enzymzusatz) im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	105
Abb. 5.13:	Abbaugrade der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber ohne Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	106
Abb. 5.14:	Abbaugradverhältnisse (mit/ohne Enzymzusatz) der einzelnen Fraktionen der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit	107
Abb. 5.15:	CSB-Abbaugrad und spez. Biogasertrag der kontinuierlichen Methanisierung von abzentrifugiertem Hydrolysat aus der Hydrolyse mit Enzymzusatz (Verweilzeit 4 d; Raumbelastung: 5,1 g _{CSB} /l*d)	108
Abb. 5.16:	Gaszusammensetzung der kontinuierlichen Methanisierung von abzentrifugiertem Hydrolysat aus der Hydrolyse mit Enzymzusatz (Verweilzeit 4 d; Raumbelastung: 5,1 g _{CSB} /l*d)	108
 Kapitel 6		
Abb. 6.1:	Gesamtfettsäurekonzentration im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation).....	111
Abb. 6.2:	CSB-Konzentration im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation)	112
Abb. 6.3:	Produktbildung im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation)	112

Abb. 6.4:	Verhältnisse von Essigsäure zu Propionsäure im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation).....	113
Abb. 6.5:	Verhältnisse von Buttersäure zu längerkettigen Fettsäuren im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation).....	114
Abb. 6.6:	Verläufe der relativen Produktivitäten (CSB) der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation).....	115
Abb. 6.7:	Verläufe der relativen Produktivitäten (Gesamtfettsäuren) der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung verschiedener Treberarten in Abhängigkeit von der Versuchsdauer (Batch-Fermentation).....	115
Abb. 6.8:	Gesamtfettsäurekonzentrationen im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Heißtrub in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation).....	116
Abb. 6.9:	CSB-Konzentrationen im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Heißtrub in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation).....	117
Abb. 6.10:	Produktbildung im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Heißtrub in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation).....	118
Abb. 6.11:	Verhältnisse von Essigsäure zu Propionsäure im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Heißtrub in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation).....	119
Abb. 6.12:	Verhältnisse von Buttersäure zu längerkettigen Fettsäuren im Hydrolysat der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Heißtrub in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation)	119
Abb. 6.13:	Verläufe der relativen Produktivitäten (Gesamtfettsäuren) der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Trubstoffen in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation).....	120
Abb. 6.14:	Verläufe der relativen Produktivitäten (CSB) der anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Trubstoffen in Abhängigkeit von Versuchsdauer und Trubkonzentration (Batch-Fermentation).....	121
 Kapitel 7		
Abb. 7.1:	Produktkonzentrationen (FS, CSB, TOC) im Hydrolysat der kontinuierlichen Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Brauereiabwasser in Abhängigkeit von der Raumbelastung	122

Abb. 7.2:	Produktivitäten (FS, CSB, TOC) der kontinuierlichen Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Brauereiabwasser in Abhängigkeit von der Raumbelastung	123
Abb. 7.3:	Gesamtfettsäurekonzentration im Zu- und Ablauf bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung ...	125
Abb. 7.4:	Fettsäureverhältnisse und Fettsäureabbaugrad bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat	126
Abb. 7.5:	CSB-Konzentration im Zu- und Ablauf bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung ...	127
Abb. 7.6:	CSB-Konzentrationen im Zu- und Ablauf sowie CSB-Abbaugrad bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat	128
Abb. 7.7:	pH-Verlauf bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der CSB- Konzentration im Zulauf.....	128
Abb. 7.8:	Ammoniumkonzentrationen bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung	129
Abb. 7.9:	Gasbildungsrate bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der CSB- Konzentration im Zulauf.....	130
Abb. 7.10:	Gasausbeute bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung	131
Abb. 7.11:	Kumulierte Gasbildung bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat	131
Abb. 7.12:	Methan- und Kohlendioxidkonzentrationen bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung ...	132
Abb. 7.13:	Schwefelwasserstoff- und Wasserstoffkonzentrationen bei der kontinuierlichen Methanisierung von Hydrolysat in Abhängigkeit von der Raumbelastung ...	133

Kapitel 8

Abb. 8.1:	Verhältnisse von CSB-/Fettsäurekonzentrationen im Hydrolysat der kontinuierlichen anaeroben Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber mit Enzymzusatz in Abhängigkeit von der Substratverweilzeit.....	136
-----------	--	-----

Tabellenverzeichnis

Kapitel 2

Tab. 2.1: Spezifisches Reststoffaufkommen während der Bierherstellung	14
Tab. 2.2: Durchschnittliche Zusammensetzung der verwendeten Treber in Mass.-% der Trockensubstanz	15
Tab. 2.3: Durchschnittliche chemische Zusammensetzung der Trubstoffe in Mass.-% der Trockensubstanz	21
Tab. 2.4: Durchschnittliche chemische Zusammensetzung von Hefe in Mass.-% der Trockensubstanz	22
Tab. 2.5: Mittlere Parameter von Brauereiabwasser.....	23
Tab. 2.6: Glucanase-Enzymkomplexe	25
Tab. 2.7: Xylanasen	26
Tab. 2.8: Enzyme des Stärkeabbaus	28
Tab. 2.9: Enzyme des Fettabbaus	29
Tab. 2.10: Enzyme des Proteinabbaus	30
Tab. 2.11: Aminosäuren der Stickland-Gärung.....	35
Tab. 2.12: Gärungsprodukte verschiedener Aminosäuren.....	36
Tab. 2.13: Beispiele für homoacetogene Mikroorganismen.....	38
Tab. 2.14: Beispiele für syntrophe Mikroorganismen	40
Tab. 2.15: Wichtige acetogene Reaktionen bei der anaeroben Fermentation zu Biomethan ..	40
Tab. 2.16: Klassifikation methanogener Bakterien nach Substratquellen	44
Tab. 2.17: Vor- und Nachteile von Festbettreaktoren.....	57
Tab. 2.18: Vor- und Nachteile von UASB-Reaktoren.....	60

Kapitel 3

Tab. 3.1: Enzymatische Aktivitäten (in Un/g Frischmasse) der Pilzkulturen	72
---	----

Kapitel 4

Tab. 4.1: Übersicht über die verwendeten Analysemethoden	76
Tab. 4.2: Gaschromatographische Fettsäure- und Lösungsmittelanalytik.....	77
Tab. 4.3: Zusammensetzung der Kalibrierlösung für die gaschromatographische Fettsäure- und Lösungsmittelanalytik	77
Tab. 4.4: Zusammensetzung der Interner Standard-Lösung für die gaschromatographische Fettsäure- und Lösungsmittelanalytik.....	77
Tab. 4.5: Reproduzierbarkeit der gaschromatographischen Fettsäureanalytik.....	78
Tab. 4.6: Reproduzierbarkeit der Küvettenschnelltests	80

Tab. 4.7: Zusammensetzung des Kalibriergases für die Biogasanalytik	82
Tab. 4.8: GC/MS-Analytik von Biogas	82
Tab. 4.9: Reproduzierbarkeit der GC/MS-Analytik von Biogas	83
Tab. 4.10: Mittlere Zusammensetzung der Trebertrockensubstanz.....	84
Tab. 4.11: Mittlere Zusammensetzung von Brauereiabwasser.....	84
Tab. 4.12: Technische Daten der Bauteile eines Rührkesselreaktors	87
Tab. 4.13: Technische Daten der Bauteile eines Eudiometersversuchsstandes.....	89
Tab. 4.14: Zusammensetzung der Sperrflüssigkeit.....	89
Tab. 4.15: Technische Daten der Bauteile der Versuchsanlage zur Methanisierung von Hydrolysat	91
Tab. 4.16: Übersicht der Versuchsreihen der mikrobiologisch-enzymatischen Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber	92
Tab. 4.17: Übersicht der Versuchsreihen der mikrobiologischen Hydrolyse und Versäuerung verschiedener organischer Brauereiabwasser	92
Tab. 4.18: Übersicht der Versuchsreihen der zweistufigen Fermentation von Gerstentreber und Brauereiabwasser	93

Kapitel 7

Tab. 7.1: Mittlere Produktkonzentrationen im Hydrolysat der kontinuierlichen Hydrolyse und Versäuerung von Gerstentreber und Brauereiabwasser (Verweilzeit: 5 Tage).....	123
--	-----

Lebenslauf

Berufspraxis

05/2010 – Wissenschaftlicher Angestellter am Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung

12/2005 – 04/2010 Wissenschaftlicher Mitarbeiter und Doktorand am Lehrstuhl für Rohstoff- und Energietechnologie der Technischen Universität München (bis März 2007 Lehrstuhl für Energie- und Umwelttechnik der Lebensmittelindustrie)

- Wissenschaftliche Tätigkeitsbereiche
 - Anaerobe Fermentation organischer Produktionsrückstände und hoch belasteter Abwässer der Lebensmittelindustrie zur Erzeugung von Biomethan
 - Energietechnische Untersuchungen an Anlagen in der Lebensmittelindustrie
 - Vorträge auf internationalen, wissenschaftlichen, fachspezifischen Tagungen
 - Veröffentlichungen in fachspezifischen Zeitschriften
- Weitere Verantwortungsbereiche
 - Projektleitung eines Forschungsprojekts der Wissenschaftsförderung der deutschen Brauwirtschaft e.V.
 - Betriebsberatung landwirtschaftlicher Biogasanlagen
 - Betreuung von studentischen Abschlussarbeiten
 - Vorlesungen und Übungen in den Fächern „Technische Thermodynamik“ und „Kessel-, Kraft- und Kälteanlagen“
 - Praktikum „Wärmetechnik“
 - Mitorganisation der Tagung „Energie- und Umwelttechnik der Lebensmittelindustrie“
 - Organisation und Betreuung von Messeständen

Ausbildung

10/2000 – 10/2005 Studium „Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel“ an der Technischen Universität München mit den folgenden Abschlüssen und Abschlussarbeiten:

Bachelor of Science (1,7), Bachelor's Thesis: „Zusammenstellung und Vergleich verschiedener Verfahren zur Aufbereitung schwefelwasserstoff-haltiger Gase“

Diplom-Ingenieur (1,6), Diplomarbeit: „Erstellung eines Gesamtkonzepts für die Kälteversorgung eines Camembert-Werkes“

- 07/1999 – 04/2000 Wehrdienst beim Pionierbataillon 4 in Bogen/Donau
09/1990 – 06/1999 Tassilo Gymnasium Simbach/Inn
Zeugnis der Allgemeinen Hochschulreife (2,2)

Studentische Nebentätigkeiten

- 11/2005 Wissenschaftliche Hilfskraft am Lehrstuhl für Energie- und Umwelttechnik der Lebensmittelindustrie der Technischen Universität München
09/2003 – 10/2003 Praktikum bei der Ludwig Stocker Hopffisterei GmbH in München in den Bereichen Produktion, Verkauf
03/2003 – 04/2003 Praktikum bei der Ludwig Stocker Hopffisterei GmbH in München in den Bereichen Personal, Marketing
07/2000 – 09/2000 Werkstudent bei der Wacker Chemie GmbH in Burghausen
05/2000 – 06/2000 Praktikum bei der Weißbierbrauerei Kößlarn in den Bereichen Produktion, Verkauf

Sonstige Kenntnisse

- Fremdsprachen Englisch (fließend in Wort und Schrift)
Französisch (Grundkenntnisse)