

# Wie viel Biogas steckt in Pflanzen?

Abschluss-Symposium  
des Biogas Crops Network (BCN)  
Potsdam, 7. Mai 2009

Gefördert durch:



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages

Mit Unterstützung durch:

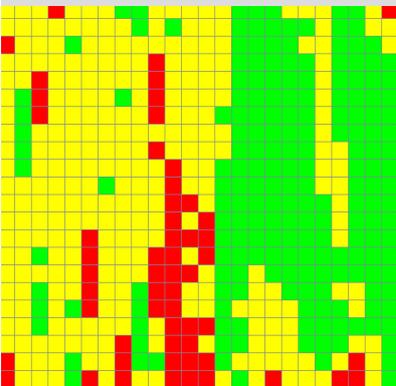


Projektträger Jülich  
Forschungszentrum Jülich

**Bornimer Agrartechnische Berichte**

Heft 68

Potsdam-Bornim 2009



Wieviel Biogas  
steckt in Pflanzen

Abschluss-Symposium  
des Biogas Crops Network (BCN)  
Potsdam, 7. Mai 2009

---

Bornimer Agrartechnische Berichte  
Heft 68

Potsdam-Bornim 2009

**Herausgeber:**

Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V.  
Max-Eyth-Allee 100  
14469 Potsdam-Bornim  
☎ (0331)-5699-0  
Fax.: (0331)-5699-849  
E-mail: [atb@atb-potsdam.de](mailto:atb@atb-potsdam.de)  
Internet: <http://www.atb-potsdam.de>

Juli 2009

**Autoren:**

Dr. Stefan Köhler

**Layout:**

Andrea Gabbert

Herausgegeben vom Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) mit Förderung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz und des Ministeriums für Ländliche Entwicklung, Umwelt und Verbraucherschutz des Landes Brandenburg.

Für den Inhalt der Beiträge zeichnen die Autoren verantwortlich.

Eine Weiterveröffentlichung von Teilen ist unter Quellenangabe und mit Zustimmung des Leibniz-Instituts für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. möglich.

ISSN 0947-7314

© Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V., Potsdam-Bornim 2009

Inhaltsverzeichnis	Seite
	<i>page</i>
<b>Wie viel Biogas steckt in Pflanzen? – Das Biogas Crops Network (BCN)</b> <i>How much biogas is in plants? - The Biogas Crops Network (BCN)</i> Stefan Köhler, Karen Sensel, Boris Habermann	5
<b>Förderinitiative Forschung zur Bioenergie – Aktivitäten des BMBF</b> <i>Research in bioenergy – Activities of the Federal Ministry of Education and Research</i> Gudrun Maaß	14
<b>Stand und Perspektiven der Energieproduktion aus Biomasse in Deutschland und Europa</b> <i>State-of-the-art and prospects of biobased energy production in Germany and Europe</i> Helmut Lamp	22
<b>Gute Verdichtung im Silo – der Schlüssel zu hoher Konservatqualität</b> <i>High compaction – basis for high quality silage</i> Rainer Tölle, Jan Häbler, Jürgen Hahn	25
<b>VVS eine Software zur Optimierung des Einlagerungsprozesses in Horizontalsilos</b> <i>VVS a tool for optimization of stockpiling in horizontal silo</i> Ivo Muha, Herbert Lenz, Dirk Feuchter, Stefan Handel, Gabriel Wittum	35
<b>Effizienzsteigerung der Biomethanisierung durch Enzymzusätze</b> <i>Increase in efficiency of biomethanation by enzyme application</i> Ulrike Schimpf, Rafael Valbuena	44
<b>Potentiale zur alleinigen Fermentation von Grassilage: Aspekte der Silagequalität und Fermentationsbedingungen</b> <i>Potentials of the sole fermentation of grass silage: aspects of silage quality and fermentation conditions</i> Diana Andrade, Hauke Heuwinkel, Andreas Gronauer	57
<b>Optimierung der Monovergärung von Nachwachsenden Rohstoffen durch die Zugabe von Spuren-elementen</b> <i>Optimization of monofermentation from renewable raw materials by the addition of trace elements</i> Elhussein Abdoun, Peter Weiland	69
<b>Neue mikrobiologische Erkenntnisse bei der Vergärung von Rübensilagen unter kontrollierten, Fuzzy geregelten Reaktorbedingungen ergeben Konsequenzen bei der Prozessführung</b> <i>New Microbiological Insights During Fuzzy Logics Controlled Anaerobic Digestion of Fodder Beet Silage Reveal Consequences for the Operation of Biogas Plants</i> Paul Scherer, Niclas Krakat, Kaspar Satke, Antje Westphal, Lukas Neumann, Olaf Schmidt, Burak Demirel, Nils Scharfenberg, Christian Rösner, Monika Unbehauen	79
<b>Einsatz von mathematischen Prozessmodellen zur Optimierung des anaeroben Abbauprozesses</b> <i>Application of mathematical models for optimization of the anaerobic digestion process</i> Tito Gehring, Manfred Lübken, Konrad Koch, Harald Horn, Marc Wichern	96

- Vergärung von Roggen-Ganzpflanzensilage in einer zweiphasigen Prozessführung** 114  
*Anaerobic digestion of rye silage in two-phase process*  
Mandy Schönberg, Bernd Linke
- Vergärung von Roggen-Ganzpflanzensilage – Verfahrenstechnische und mikrobiologische Charakterisierung eines zweistufigen Bioleaching-Prozesses** 126  
*Mikrobielle Lebensgemeinschaften in einem zweistufigen Biogasreaktor mit Bioleaching von Roggensilage*  
Michael Klocke, Kerstin Mundt, Mario Sontag, Mandy Schönberg, Bernd Linke
- Vergärung von Grassilage in einer zweiphasigen Prozessführung** 140  
*Digestion of grass silage in a two phase biogas process*  
Simon Zielonka, Andreas Lemmer
- Vergärung von Maissilage in einer zweiphasigen Prozessführung - Forschungsergebnisse und Erfahrungen bei der praktischen Umsetzung in technischen Anlagen** 153  
*Double stage fermentation of maize silage – Research results and experiences in implementing of technical biogas plants*  
Jeanette Buschmann, Günter Busch

## Wie viel Biogas steckt in Pflanzen? – Das Biogas Crops Network (BCN)

### *How much biogas is in plants? - The Biogas Crops Network (BCN)*

Stefan Köhler, Karen Sensel, Boris Habermann

Institut für Agrar- und Stadtökologische Projekte an der Humboldt-Universität zu Berlin (IASP),  
Philipstr. 13, 10115 Berlin  
<http://www.iasp.asp-berlin.de>,  
E-Mail: [iasp@agrار.hu-berlin.de](mailto:iasp@agrار.hu-berlin.de)

#### Die Ausgangssituation

Am 16.03.2004 veröffentlichte das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) das Förderprogramm „Netzwerke Grundlagenforschung erneuerbare Energien und rationelle Energieanwendung“<sup>1</sup>. Das BMBF förderte mit diesem Programm „... die interdisziplinäre Zusammenarbeit von Forschern verschiedenster Fachrichtungen und Anwendern in Universitäten, außeruniversitären Forschungseinrichtungen und Unternehmen der Wirtschaft. Wissenschaftler aus so unterschiedlichen Bereichen wie Materialforschung, Biochemie, Mathematik und zahlreichen weiteren Disziplinen haben sich zu 18 Netzwerken mit insgesamt über 100 Einzelprojekten zusammengeschlossen, um grundlegende Fragen der Energieforschung im Bereich der erneuerbaren Energien und der rationellen Energieanwendung zu lösen. (...) Ziele der Förderung sind der Aufbau und die Stärkung von Netzwerken zwischen Universitäten, Instituten der Max-Planck-Gesellschaft und anderen außeruniversitären Forschungseinrichtungen auf dem Gebiet der erneuerbaren Energien und der rationellen Energieanwendung. Die in diesem Rahmen geförderte naturwissenschaftliche Grundlagenforschung soll sich sowohl an den Bedürfnissen der angewandten Forschung orientieren als auch eigene, neue Wege gehen. Damit wurden die Voraussetzungen geschaffen für das Aufgreifen neuer Fragestellungen in der naturwissenschaftlichen Grundlagenforschung, für die Auslotung ihrer Anwendungsperspektiven und damit für Anstöße zu Innovationen für den Wirtschaftsstandort Deutschland.“<sup>2</sup>

Mit der Novellierung des Erneuerbare-Energien-Gesetzes 2004 hatte der Deutsche Bundestag beschlossen, bis zum Jahr 2020 den Anteil der erneuerbaren Energien an der gesamten Stromversorgung auf mindestens 20% zu steigern. Einen wesentlichen Beitrag hierzu kann die Nutzung pflanzlicher Biomasse, im Idealfalle spezieller *Biogas Crops*, zur Erzeugung von Biogas leisten, sowohl in der gemeinsamen Vergärung mit Gülle als auch

---

<sup>1</sup> Vgl. <http://www.bmbf.de/foerderungen/2200.php> (21.05.2009)

<sup>2</sup> Zitat: <http://www.ngee.de/foerderinitiative> (21.05.2009)

bei der Verwendung als alleiniges Gärsubstrat (Monofermentation). Da seinerzeit nur etwa 5% des technisch erschließbaren Biogaspotenzials in Deutschland genutzt wurden, waren weitere Innovationen in der Biogaserzeugung, besonders zur Erhöhung der Gasausbeuten und zur Verbesserung von Funktion und Betriebssicherheit der Vergärungsverfahren, dringend notwendig. Vor allem fehlten Grundlagenuntersuchungen zur mikrobiellen Methangewinnung während der Monofermentation von Biogaspflanzen. Darüber hinaus können geeignete Diagnoseverfahren dazu beitragen, das Vergärungsverhalten von potenziellen Biogaspflanzen abzuschätzen.

### Die Zielstellung

Das Biogas Crops Network (BCN) (s. **Bild 1**) hatte zum Ziel, durch eine gezielte Systemanalyse der mikrobiologischen Stoffumwandlung unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses der Vorbehandlung und Lagerung der pflanzlichen Substrate, der Bildung von Intermediaten sowie der Prozessführung wissenschaftliche Grundlagen zur Biogasgewinnung aus pflanzlicher Biomasse in Monofermentation zu schaffen. Die Untersuchungen sollten unter Verwendung unterschiedlicher Biogaspflanzen erfolgen, die sich in der Struktur und der stofflichen Zusammensetzung wesentlich unterscheiden und für den praktischen Einsatz bei der landwirtschaftlichen Biogaserzeugung hohe Bedeutung haben.



**Bild 1:** Logo des Biogas Crops Network (BCN)

Das Netzwerk der zehn beteiligten Forschungseinrichtungen zielte ab auf eine systematische Grundlagenforschung entlang der Wertschöpfungskette Pflanze (Energiespeicher) – Reaktor/Fermenter (Energieumwandlungsprozess) – Biogas (Energieträger). Hierzu zählten im Einzelnen ...

- die Erforschung der wissenschaftlichen Grundlagen zur Entwicklung einer speziellen Vorbehandlungsstrategie für verschiedene Biogaspflanzen als Basis einer stofflich und energetisch effizienten Verwertung im nachfolgenden Biomethanisierungsprozess;
- Untersuchungen zur Entwicklung eines optimalen Verfahrens der Vergärung von Biogaspflanzen auf der Basis der Untersuchung verschiedener Verfahrensführungen;

- die Analyse der mikrobiellen Architekturen, Zusammensetzung, Populationsdynamik und ihrer Intermediate als Basis für neue wesentliche Steuergrößen der Biogaserzeugung aus Pflanzen in Abhängigkeit von den verschiedenen Pflanzenarten, Verfahrensführungen und Prozessparametern;
- die Schaffung neuer mathematischer Modelle zur Prozessbeschreibung, Simulation und Standardisierung mit dem Ziel der Stabilisierung, Regelung und Optimierung des anaeroben Abbauprozesses von Biogas Crops.

## Das Netzwerk

### *Netzwerkpartner und -koordinator*

1. Institut für Agrar- und Stadtökologische Projekte  
an der Humboldt-Universität zu Berlin (IASP) (Koordinator)  
des Vereins zur Förderung agrar- und stadtökologischer Projekte e. V. (A.S.P.)  
Philippstr. 13,  
10115 Berlin
2. Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e. V. (ATB)  
Abt. Bioverfahrenstechnik  
Max-Eyth-Allee 100  
14469 Potsdam
3. Brandenburgische Technische Universität Cottbus (BTU)  
Institut für Umwelttechnik, Lehrstuhl Abfallwirtschaft  
Siemens-Halske-Ring 8  
03046 Cottbus
4. Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg (HAWH)  
Fakultät Life Sciences, FTZ für Regenerative Energien und Verfahrenseffizienz  
Labor für Angewandte Mikrobiologie  
Lohbrügger Kirchstr. 65  
21033 Hamburg-Bergedorf
5. Humboldt-Universität zu Berlin (HU)  
Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Institut für Pflanzenbauwissenschaften  
Fachgebiet Agrartechnik  
Philippstraße 13  
10115 Berlin
6. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL)  
Institut für Landtechnik, Bauwesen und Umwelttechnik  
Arbeitsbereich Umwelttechnik in der Landnutzung  
Am Staudengarten 3  
85354 Freising
7. Technische Universität München (TUM)  
Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft  
Am Coulombwall  
85748 Garching

8. Universität Hohenheim (UH)  
Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie  
Garbenstraße 9  
70599 Stuttgart
9. Universität Heidelberg  
Lehrstuhl Simulation in Technology (UH-SIT)  
Im Neuenheimer Feld 368  
69120 Heidelberg  
*neu: Goethe-Universität Frankfurt am Main*  
*Goethe-Zentrum für Wissenschaftliches Rechnen (G-CSC)*  
*Kettenhofweg 139*  
*60325 Frankfurt am Main*
10. Johann Heinrich von Thünen-Institut (vTI)  
Institut für Agrartechnologie und Biosystemtechnik  
Bundesallee 50  
38116 Braunschweig

#### *Teilprojekte*

Die zehn Netzwerkpartner des BCN bearbeiteten innerhalb der Projektlaufzeit insgesamt 14 Forschungsthemen, welche in 12 Einzelvorhaben bewilligt und gefördert wurden (in Klammern: jeweiliges Förderkennzeichen). Das BCN wurde gefördert aus Mitteln des BMBF. Projektträger war der Projektträger Jülich, Forschungszentrum Jülich GmbH (PTJ).

1. Untersuchungen zum Einfluss der enzymatischen Vorbehandlung von Biogas Crops auf die Prozesskette zur Methangewinnung; Ökonomische Sensitivitätsanalyse des Biogasprozesses einschließlich vor- und nachgelagerter Bereiche (03SF0317A)
2. Optimierung der Prozesskette zur Methangewinnung aus Grünlandaufwuchs mittels Biogastechnologie (03SF0317B)
3. Untersuchungen zur Entwicklung eines optimalen Verfahrens der Vergärung von Biogas-Crops (Grassilage) durch zweistufige Prozessführung mit Bioleaching (03SF0317D)
4. Mathematische Modellierung und Optimierung der Einlagerungslogistik für Biogas-Crops in Horizontalsilos (03SF0317E)
5. Untersuchungen zur Entwicklung eines optimalen Verfahrens der Vergärung von Biogas Crops (Maissilage) durch zweistufige Prozessführung mit Bioleaching (03SF0317F)
6. Untersuchungen zur Entwicklung eines optimalen Verfahrens zur Vergärung von Biogas-Crops (Roggensilage) durch zweistufige Prozessführung mit Bioleaching (03SF0317G)

7. Teilprojekt 1: Erfassung der mikrobiellen Diversität bei der Monoinputvergärung von Futterrübensilage Teilprojekt 2: Optimierung der automatischen Hochdurchsatzvergärung von Futterrübensilage (03SF0317I)
8. Einfluss der Substrat-Vorbehandlung und der Prozessführung auf die Struktur, Zusammensetzung und Aktivität der Biozönose bei der Vergärung von Energiepflanzen (Mais und Gras) (03SF0317J)
9. Robuste und effiziente Simulationsmodelle für die Erzeugung von Biogas (03SF0317K)
10. Einsatz von mathematischen Prozessmodellen zur Optimierung, Stabilisierung und Regelung des anaeroben Abbauprozesses von pflanzlicher Biomasse (03SF0317L)
11. Erfassung der mikrobiellen Biozönosen in Monovergärungen von Getreide-Ganzpflanzensilage in mehrstufigen Fermentationen (Bioleaching-Verfahren) (03SF0317M)
12. Untersuchung der funktionalen Zusammenhänge zwischen der Silierung und Methangärung verschiedener Energiepflanzen auf die Gasausbeute und Gasqualität (03SF0317N)

### *Arbeitsgruppen*

Um zwischen den einzelnen Forschergruppen an den zehn Forschungseinrichtungen ein möglichst hohes Maß an gegenseitiger Koordinierung und Zusatznutzen zu erreichen („Synergie-Effekte“), wurde das BCN entsprechend seiner Forschungsschwerpunkte in vier Arbeitsgruppen (AG) strukturiert:

#### AG 1: Vorbehandlung der Substrate

Darstellung funktionaler Zusammenhänge zwischen Vorbehandlung, dem Silierprozess und der Methangärung auf Gasausbeute und Gasqualität

#### AG 2a: Prozessführung und -steuerung

Evaluierung von verschiedenen Vergärungstechniken in kontinuierlichen Langzeitversuchen

#### AG 2b: Biochemische & mikrobiologische Analytik

Charakterisierung der Struktur, Zusammensetzung und Aktivität der mikrobiellen Biozönose unter Einfluss der Substratvorbehandlung und Prozessführung

#### AG 3: Prozessmodellierung & Synthese

Stabilisierung, Regelung und Optimierung des anaeroben Abbauprozesses von Biogas Crops auf der Basis der entwickelten mathematischen Modelle

## Das Abschluss Symposium

Zum Abschluss des Biogas Crops Network (BCN) war eine öffentliche Veranstaltung zur Präsentation und Diskussion der wichtigsten Forschungsergebnisse durchzuführen. Mit diesem Öffentlichen Abschluss Symposium des BCN unter dem Titel „Wie viel Biogas steckt in Pflanzen?“ wollte das Netzwerk Wissenschaftler, Experten, Multiplikatoren sowie Landwirte und Anlagenbetreiber ansprechen. Das Ziel der Veranstaltung bestand in der allgemein zugänglichen, breiten Information der interessierten Öffentlichkeit über die Resultate der mehrjährigen, mit Mitteln des BMBF geförderten Forschungstätigkeit der zehn BCN-Netzwerkpartner. Das Symposium wurde vom IASP und ATB in enger Kooperation mit der Brandenburgischen Energie Technologie Initiative (ETI) und der Industrie- und Handelskammer (IHK) Potsdam organisiert sowie vom BMBF und PTJ gefördert.

Am Öffentlichen Abschluss Symposium des BCN am 07.05.2009 in der IHK Potsdam nahmen ca. 130 Experten aus Forschung, Praxis, Politik, Verwaltung und Öffentlichkeit teil. Darüber hinaus erreichte die Information über das Forschungsnetzwerk und seine Förderung durch das BMBF und den PTJ wegen der intensiven Öffentlichkeitsarbeit eine große Zahl weiterer Experten. Weit über die Teilnehmerzahl des Symposiums hinaus wurden Bestellungen für den hier vorgelegten Tagungsband abgegeben. In fachlicher Hinsicht wurde das Symposium nach allen vorliegenden Rückmeldungen übereinstimmend als sehr positiv bewertet. Hervorgehoben wurde, dass die ausschließliche Orientierung auf neue wissenschaftliche Ergebnisse aus der Grundlagenforschung der Veranstaltung ein Alleinstellungsmerkmal gab. Darüber hinaus war das Forschungsthema des Netzwerkes bzw. des Symposiums – die Monovergärung von Biogaspflanzen – bisher nirgends alleiniger Bestandteil einer so großen, öffentlichen Fachveranstaltung. Die strikte Fokussierung der Forschungsaktivitäten des BCN auf ausschließlich pflanzliche Substrate ermöglichte, ungeachtet der letzten Novellierung des EEG, grundlegend neue wissenschaftliche Erkenntnisse zum anaeroben Abbauprozess organischer Stoffe, welche in dieser Kompaktheit und Vergleichbarkeit bisher einmalig sind. Dementsprechend aktiv gestaltete sich die Diskussion zu den drei Themenkomplexen Vorbehandlung, Nassvergärung und Trockenvergärung, welche gemessen an der Größe des Auditoriums und der Spezifik der einzelnen Beiträge sehr rege war. Der vorliegende Tagungsband fasst die Impulsreferate und alle wissenschaftlichen Beiträge zusammen. Er möge die Information in die breite Öffentlichkeit tragen und die Diskussion zu den Ergebnissen und Schlussfolgerungen intensivieren.

Die Organisatoren IASP, ATB und ETI danken allen beteiligten Einrichtungen und Personen für die aktive Unterstützung der Veranstaltung.

## Ein Ausblick

Im Vergleich zur Ausgangssituation (s. o.) hat sich Gesamtsituation in der Biogasbranche erheblich verändert. Sie ist in Deutschland gekennzeichnet durch die 2. Novellierung des Erneuerbare Energien-Gesetzes (EEG), welche 2009 in Kraft trat (nach der 1. Novelle im Jahr 2004). Die Entwicklung in den ca. 3,5 Jahren der Projektlaufzeit des Biogas Crops Network und die aktuelle wirtschaftliche Gesamtsituation lassen sich wie folgt zusammenfassen<sup>3</sup>:

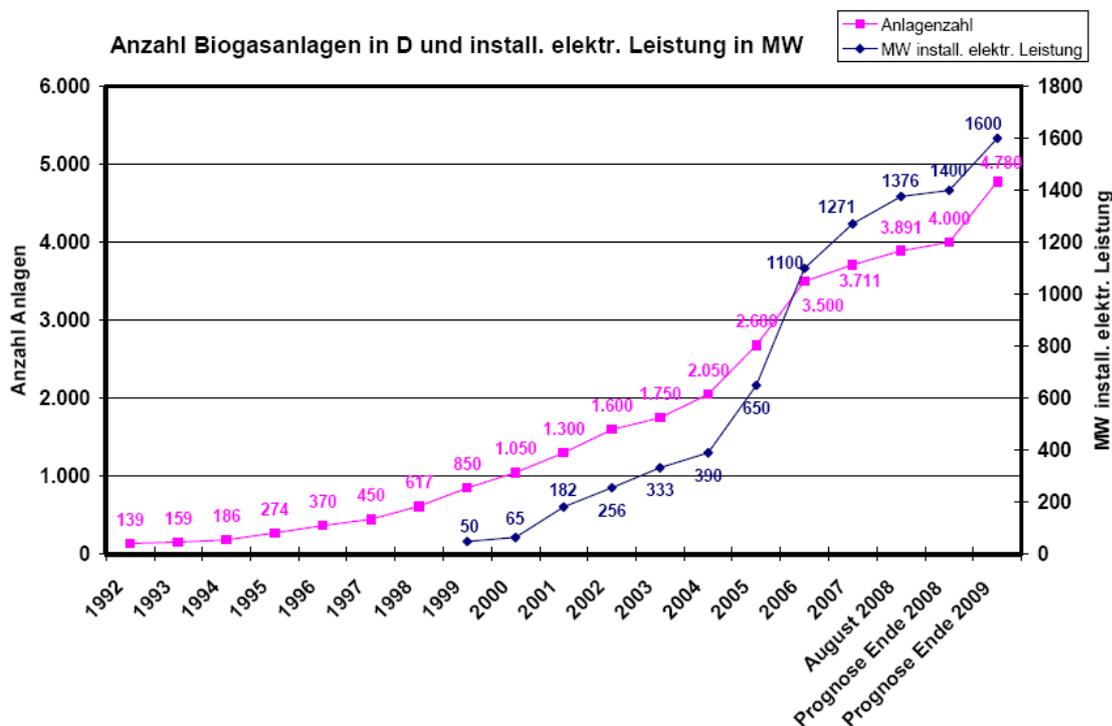
Biogas hat nach derzeitigen Schätzungen ein Potenzial zur Abdeckung von ca. 8% des Gesamtenergiebedarfs. Demgegenüber zeichnet es sich durch vielfältige Möglichkeiten der Erzeugung und Nutzung aus: Es ist grundlastfähig und lässt sich in die wichtigsten nachgefragten Energieformen umwandeln (Strom, Wärme, Treibstoff). Hinzu kommt, dass die Biogastechnik in Deutschland einen schnell wachsenden Wirtschaftsbereich mit steigendem Exportanteil darstellt. Mehr als 10.000 Menschen sind bereits jetzt in der Biogasbranche tätig.

Treibende Kraft für die positive Entwicklung war und ist das EEG, welches nicht nur eine stabile Vergütung sichert, sondern zusätzlich die Entwicklung neuer Techniken fördert. Die EEG-Novelle 2004 war der Startschuss für den extrem schnellen Ausbau der Biogaserzeugung in den Jahren 2005-2007. Mit der Einführung des Biomasse-Bonus wurde die Grundlage für die Nutzung von Energiepflanzen geschaffen. Die installierte elektrische Leistung stieg in den Jahren 2005-2007 von 400 MW auf 1.300 MW an. Eine Vielzahl neuer Techniken zur Gaserzeugung und -verwertung wurde entwickelt. Derzeit dominiert die Nutzung des Gases zur kombinierten Strom- und Wärmeerzeugung. Daneben speisen bereits 14 Großanlagen Biomethan in das Erdgasnetz ein, 1 Anlage erzeugt Biomethan als Reinkraftstoff. Etwa 20 weitere Anlagen befinden sich in der Bau- und Genehmigungsphase.

In Deutschland produzierten Ende 2008 knapp 4.000 Biogasanlagen rund elf Milliarden Kilowattstunden Strom und deckten damit den Bedarf von mehr als drei Millionen durchschnittlichen Haushalten. Mit dem neuen EEG geht der Fachverband Biogas e. V. von einem deutlichen Anstieg der Anlagenzahl in Deutschland sowie davon aus, dass im Jahr 2009 etwa 780 neue Biogasanlagen mit einer installierten Leistung von gut 200 Megawatt ans Netz gehen werden (s. **Bild 2**). Die Biogasanlagen in Deutschland erzeugen im Jahr rund 2,75 Milliarden Kubikmeter Biomethan – und damit bereits jetzt rund drei Prozent des deutschen Erdgasbedarfs von 84 Milliarden Kubikmetern.

---

<sup>3</sup> Diese und folgende Angaben in Anlehnung an bzw. unter Verwendung von: P. Weiland: „Biogas in Niedersachsen – Auswirkungen des neuen EEG“. Hannover, 11.11.2008, sowie Fachverband Biogas e. V.: „Biogas-Branche will eine Milliarde Euro investieren“, 16.01.2009. [http://www.biogas.org/datenbank/file/notmember/presse/09-01-16\\_PM\\_IGW\\_Druck.pdf](http://www.biogas.org/datenbank/file/notmember/presse/09-01-16_PM_IGW_Druck.pdf).



**Bild 2:** Entwicklung der Biogasbranche in Deutschland 1992-2009 (Quelle: Biogasfachverband e. V.)

**Bild 2** verdeutlicht zugleich, dass den über 800 in Betrieb genommenen Anlagen im Jahr 2006 im vergangenen Jahr nur noch ca. 100 neugebaute Anlagen gegenüber standen. Mit dem sprunghaften Anstieg der Substratpreise 2007/2008 war die Wirtschaftlichkeit vieler Anlagen nicht mehr gegeben, und der Markt für Biogasanlagen brach massiv ein. Die Ursachen für den Abschwung lagen – rückwirkend betrachtet – u. a. in der einseitigen Förderung der ausschließlichen Nutzung von Energiepflanzen durch das EEG selbst:

- Verhinderung der Verarbeitung biogener Rest- und Abfallstoffe durch das Ausschließlichkeitsprinzip des NawaRo-Bonus
- Verdrängung der Verwertung von Gülle durch die einseitige Förderung der Trockenfermentation
- Mangel an Anreizen für eine höhere Energieeffizienz der Anlagen (Wärmenutzung, Minderung Eigenenergiebedarf, etc.)

Die Schlussfolgerungen aus diesen Unzulänglichkeiten der 1. Novelle des EEG mündeten in die 2. Novellierung 2009, deren Ziele sind:

- Steigerung des Anteils erneuerbarer Energie an der Stromerzeugung bis 2020 auf 30%
- Verbesserung der Energieeffizienz bei der Gasproduktion und -nutzung

- Steigerung des Anteils von Wirtschaftsdünger am Substratinput zwecks Minderung von Treibhausgasemissionen
- stärkere Nutzung von biogenen Rest- und Abfallstoffen
- Verbesserung der wirtschaftlichen Situation kleiner landwirtschaftlicher Biogasanlagen
- Erhöhung des Anteils an genutzter Abwärme der BHKW
- Vermeidung von Methanemissionen bei der Lagerung des Gärrestes und der Aufbereitung auf Erdgasqualität

Tatsächlich ist für 2009 aufgrund der verbesserten Vergütung für den erzeugten Strom (bis zu 27 €-Cent/kWh<sub>el</sub>) ein neuer Biogasboom zu erwarten. Verstärkt dürften wieder kleinere Biogasanlagen mit einer elektrischen Leistung 150-200 kW<sub>el</sub> gebaut werden. Stark an Bedeutung gewinnen werden aufgrund der neuen Vergütungsstruktur (Boni) die Nutzung von Gülle und rein pflanzlichen Nebenprodukten. Zu prognostizieren ist ebenfalls, dass Zwischenkulturen und andere Nicht-Nahrungspflanzen vermehrt angebaut und zur Gaserzeugung genutzt werden. Für die Verarbeitung von Landschaftspflegematerial werden bevorzugt Trockenfermentationsverfahren eingesetzt werden.

Insbesondere die letztgenannten Vorhersagen belegen die reale wirtschaftliche Anschlussfähigkeit des Biogas Crops Network: Die Vergärung pflanzlichen Materials zur Biogaserzeugung wird weiter an Bedeutung gewinnen. Wenn diese zukünftig tendenziell auch weniger in Mono- als eher in Kofermentation stattfinden wird, so war und bleibt die Erforschung wissenschaftlicher Grundlagen zur Biogasgewinnung aus pflanzlicher Biomasse von entscheidender Wichtigkeit für die Fortentwicklung der Biogasbranche insgesamt.

## Forschung zur Bioenergie Aktivitäten des BMBF

### *Research in bioenergy – Activities of the Federal Ministry of Education and Research*

Gudrun Maaß

Referat "Grundlagenforschung Energie"  
Bundesministerium für Bildung und Forschung  
E-Mail: gudrun.maass@bmbf.bund.de

#### Hintergrund und Ausgangslage

Der erwartete Klimawandel, die ständig steigende Nachfrage nach Energie und anderen Ressourcen sind eine globale Herausforderung, der sich alle Regierungen dieser Welt stellen müssen. Die weit entwickelten Industrieländer haben hier eine besondere Verantwortung. Sie haben die personellen und finanziellen Kapazitäten, um Technologien und Methoden zu entwickeln, die Lösungsansätze für die Probleme, mit denen wir konfrontiert sind, bieten.

Der Weltenergieverbrauch würde nach heutigen Schätzungen ohne weitere Politikmaßnahmen von derzeit 460 000 PJ bzw. 17 Mrd. Steinkohleneinheiten (SKE) auf 700 000 bis 740 000 PJ oder 25 bis 27 Mrd t SKE im Jahr 2050 steigen. Den weitaus größten Teil der Steigerung verursachen die Entwicklungs- und Schwellenländer. Kohle, Erdöl und Erdgas mit einem Anteil von gut 80% am heutigen Primärenergiebedarf werden auch in den nächsten Jahrzehnten den überwiegenden Teil des Weltenergiebedarfs decken. Heute tragen Öl zu 34%, Erdgas zu 22% und Kohle zu 26% zur Weltenergieversorgung bei. Die Projektionen ohne weitere Politikeingriffe gehen davon aus, dass sich der Anteil der fossilen Energieträger bis 2030 kaum vermindert. Die wachsende Nachfrage würde die Preise für die fossilen Energien merklich steigen lassen (s. **Bild 1**).

Dieser Mehrverbrauch fossiler Energien steht im Gegensatz zu den Erfordernissen des Klimaschutzes (s. **Bild 2**). Die globalen Emissionen von Treibhausgasen müssen ab 2020 erheblich reduziert werden, um den Klimawandel und seine gravierenden ökonomischen und gesellschaftlichen Auswirkungen in erträglichen Grenzen halten zu können.

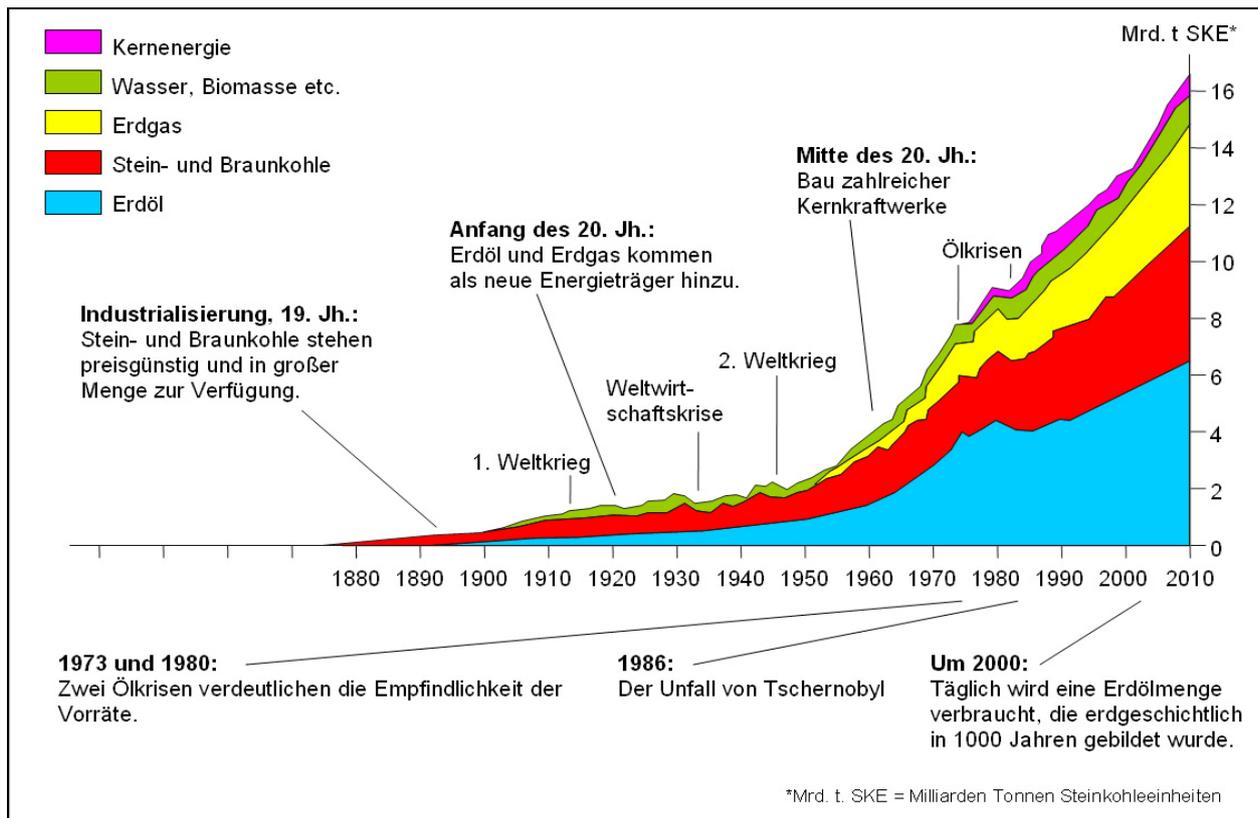


Bild 1: Entwicklung des globalen Energiebedarfs

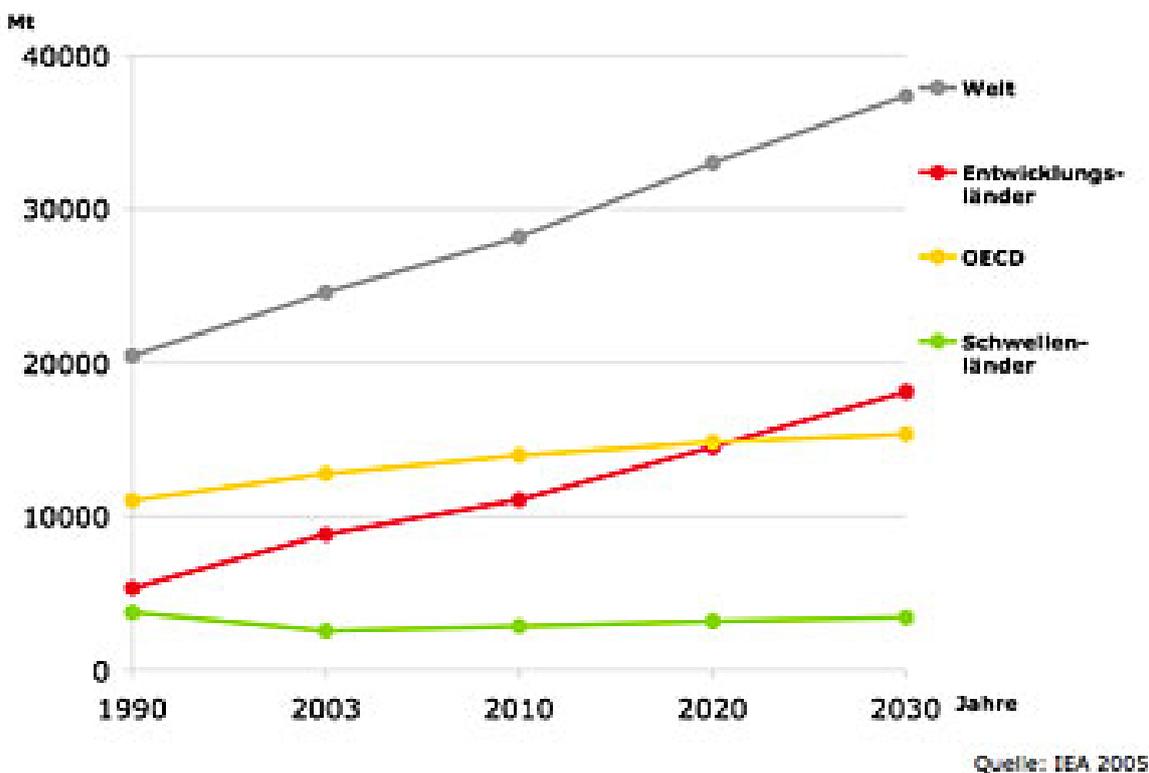


Bild 2: Energiezugehörige CO<sub>2</sub> Emissionen

## **Ziele, allgemein und spezifisch**

Die Bundesregierung hat sich strategische und quantitative Ziele gesetzt, um die negativen Auswirkungen des Energieverbrauchs auf das Klima zu reduzieren. Strategische Ziele sind eine nachhaltige Energieversorgung gemäß den Kriterien Versorgungssicherheit, Wirtschaftlichkeit sowie Klima- und Umweltverträglichkeit, die Erweiterung der technologischen Optionen zur flexiblen Energieversorgung und in diesem Zusammenhang die Erhöhung der technologischen Leistungsfähigkeit Deutschlands. Quantitatives Ziel ist eine Reduktion der Treibhausgasemissionen um 40% gegenüber 1990.

## **Beitrag der Forschung**

Forschung muss neue Möglichkeiten erschließen: Sie muss das kurz- bis mittelfristig bestehende technische Optimierungspotenzial weiter ausbauen. Dies muss ergänzt werden durch grundlegende Forschung für neue Technologien, die noch weit von marktgängigen Produkten entfernt sind. Sie spielt eine Schlüsselrolle für Zukunftslösungen einer nachhaltigen, umwelt- und klimaschonenden Energie- und Rohstoffversorgung.

Die Bundesregierung nimmt diese Herausforderung mit seinen Förderkonzepten aktiv an. Sie leistet mit ihren Aktivitäten einen wesentlichen Beitrag. Im Rahmen der Hightech-Strategie der Bundesregierung haben wir zukunftsweisende Maßnahmen in der Klimaforschung, der Energieforschung und der sozial-ökologischen Forschung initiiert.

## **Energieforschung der Bundesregierung**

Die Zuständigkeiten für die Energieforschung sind innerhalb der Bundesregierung auf mehrere Ressorts verteilt.

- Das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) hat die Federführung für die programmatische Ausrichtung der Energieforschungspolitik (so genannte „Programmzuständigkeit“). Es ist außerdem zuständig für die Projektförderung in den Bereichen nichtnukleare Energieforschung (ohne erneuerbare Energien), rationale Energieumwandlung, nukleare Sicherheit und Endlager.
- Das Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) ist zuständig für die Projektförderung im Bereich erneuerbare Energien. Dies beinhaltet vor allem auch Pilot- und Demonstrationsprojekte.
- Das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) ist zuständig für die Projektförderung im Bereich Bioenergie und für das neugegründete Deutsche Biomasseforschungszentrum.
- Das Bundesministerium für Verkehr, Bau und Stadtentwicklung (BMVBS) ist zuständig für Projektförderung im Bereich Transport und in Teilen für den Bereich

Bauen und Wohnen sowie federführend für das Nationale Innovationsprogramm Wasserstoff und Brennstoffzellentechnologie.

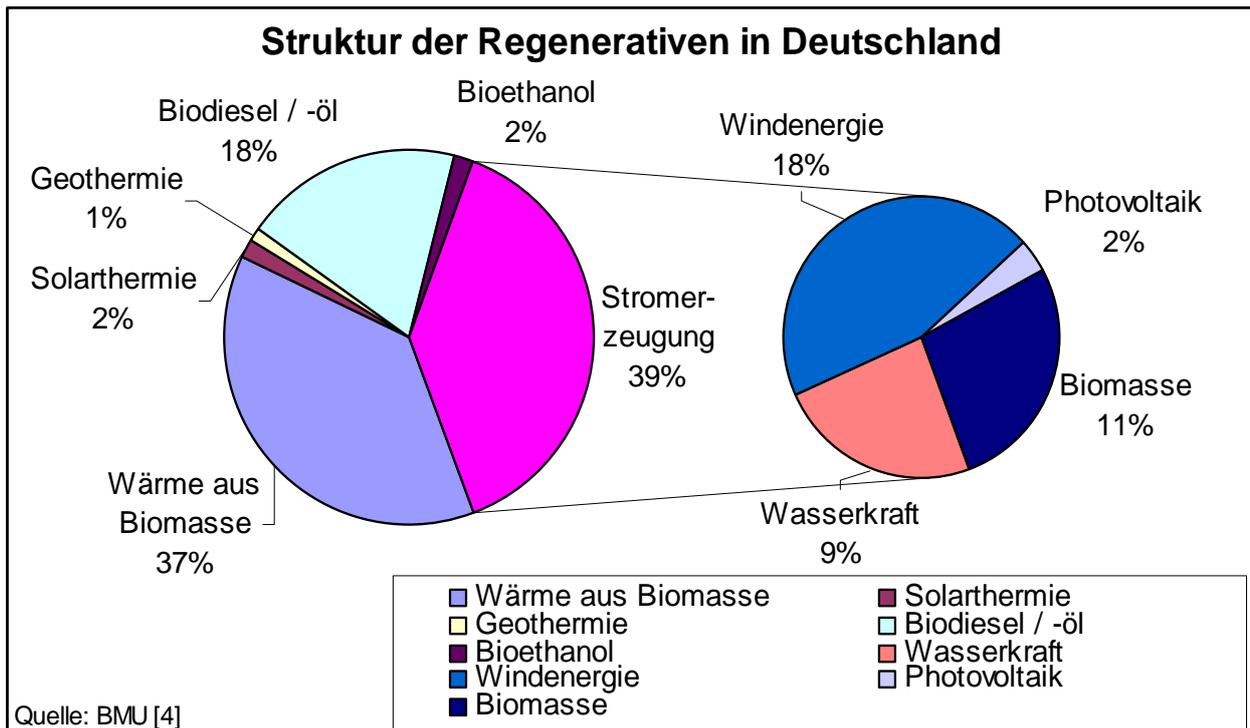
- Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) ist zuständig für die institutionelle Förderung der Energieforschung sowie für die Grundlagen- und Versorgungsforschung. Die Zuständigkeit des BMBF erstreckt sich dabei auf alle Energieforschungsbereiche; allerdings sollte die geförderte Forschung grundlagenorientiert sein. Von besonderem Gewicht ist dabei die Vernetzung mit anderen Forschungsbereichen wie z.B. Materialforschung, Nanotechnologie, Lasertechnologie, Mikrosystemtechnik, Nachhaltigkeit.

### **Förderkonzept des BMBF zur Energieforschung**

2008 hat das BMBF sein neues Förderkonzept für die Energieforschung veröffentlicht: Grundlagenforschung Energie 2020+. Es soll zu den übergeordneten strategischen Zielen der Bundesregierung beitragen, z. B. zum Klimaschutz oder zu dem Ziel, 3% des Bruttoinlandsproduktes (BIP) für die Forschung auszugeben. Thematisch konzentriert es sich auf die Bereiche interdisziplinäre Forschung für mehr Energieeffizienz, Ausbau erneuerbarer Energien, CO<sub>2</sub>-Speicherung als wichtiges Element zukünftiger Kohlenutzung, Kernfusionsforschung als langfristige Option einer sicheren Stromversorgung und die Sicherung der kerntechnischen Kompetenz für den geordneten Kernenergieausstieg. Außerdem hat es sich auch allgemeine Ziele gesetzt wie z.B. die Zusammenführung institutioneller Förderung und Projektförderung, die besondere Förderung von systemorientierten Forschungsansätzen und die Nachwuchsförderung als wichtiges Instrument für eine erfolgreiche Energieforschung.

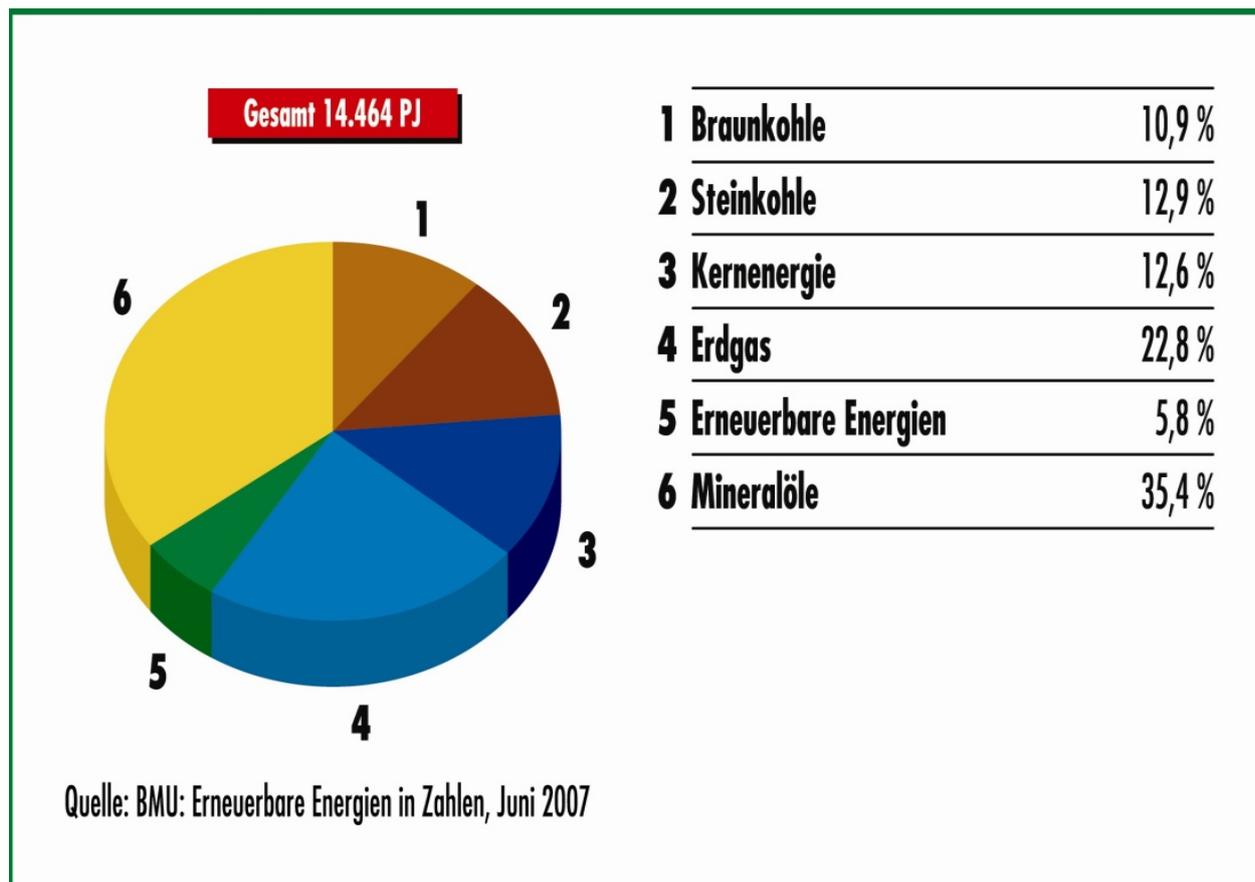
### **Bedeutung der erneuerbaren Energien, insbesondere der Bioenergie**

Im Jahr 2007 hatten erneuerbare Energieträger in Deutschland einen Anteil am Endenergieverbrauch von 8,6% (s. **Bild 3**). Die Bundesregierung hat sich zum Ziel gesetzt, diesen Anteil bis zum Jahre 2020 auf 20 zu erhöhen. Um dieses Ziel zu erreichen, sind noch erhebliche Forschungsaktivitäten erforderlich. Das BMBF konzentriert sich hierbei schwerpunktmäßig auf die Bioenergie und die Solarenergie.



**Bild 3:** Struktur der Regenerativen in Deutschland im Jahre 2007

Schon heute hat Biomasse einen nennenswerten Anteil an der Energieversorgung in Deutschland (s. **Bild 4**). Mit steigendem Anteil der erneuerbaren Energie an der Energieversorgung wird auch der Anteil der Bioenergie weiter wachsen. Dies kann zu einer möglichen zunehmenden Flächenkonkurrenz zwischen Nahrungs- und Bioenergieproduktion führen. Bei der Lösung dieses Problems kommt der Forschung eine besondere Rolle zu: Erstens, Forschung hilft bei der Analyse der Ursachen. Zweitens, Forschung erarbeitet Handlungsempfehlungen für die Umsetzung. Drittens - und dies ist entscheidend - Forschung trägt wesentlich zur langfristigen Lösung des Problems bei durch neue wissenschaftliche Erkenntnisse sowie Innovationen.



**Bild 4:** Struktur des Primärenergieverbrauches in Deutschland 2006

Herausforderungen für die Forschung sind dabei vor allem die fehlende Wirtschaftlichkeit, die Flächenkonkurrenz zwischen unterschiedlichen Nutzungsoptionen und die Rohstoffknappheit, die Produktivitätssteigerung in der Landwirtschaft sowie die nachhaltige Produktion von Bioenergie.

Das BMBF hat diese Herausforderungen in seiner Forschung mit der Förderinitiative Bio-Energie 2021 aufgenommen. Im Rahmen dieser Fördermaßnahme werden ca. 10 Mio./a ausgegeben.

### **BMBF-Förderaktivität „Bioenergie 2021“**

Übergeordnete Ziele dieser Fördermaßnahme sind Ausbau der klimaneutralen Energieversorgung, die Reduktion der Abhängigkeit von fossilen Rohstoffen, die Steigerung der Effizienz bei der Erzeugung und Nutzung landwirtschaftlicher Rohstoffe, die Abfederung der Konkurrenz zwischen Energie- und Nahrungs- bzw. Futtermittelproduktion, die Verbesserung des Technologietransfers durch Zusammenarbeit von Wissenschaft und Wirtschaft sowie der Ausbau der Technologieführerschaft auf dem Gebiet Bioenergie.

Konkret soll „BioEnergie 2021“ beitragen zur Steigerung des Nettoenergieertrags pro Flächeneinheit, zur Verbesserung der Konversion von Biomasse, zum Ausbau der energetischen Nutzung von Energiepflanzen und von biologischen Reststoffen und Abfällen sowie zur Entwicklung gekoppelter Nutzungspfade für die energetische und stoffliche Nutzung von Biomasse (Kaskadennutzung).

Die Förderinitiative ist in drei Module eingeteilt:

- Modul A „Bioraffinerie der Zukunft“: Umsetzung von integrativen Gesamtkonzepten für energetische und stoffliche Nutzung von Pflanzen (u.a. Bioraffinerie-Konzepte)
- Modul B „Energiepflanzen – Pflanze als Energie- und Rohstofflieferant“: Optimierung von Kulturpflanzen als Energiepflanzen
- Modul C „Ideenwettbewerb Bioenergie – neue Wege beschreiten“: Förderung von Arbeitsgruppen mit neuen Forschungsansätzen für die Nutzung von Biomasse.

Für die energetische Nutzung der Biomasse ist die Bioenergiekonversion besonders wichtig. Der Schwerpunkt der BMBF-Förderung liegt in diesem Bereich auf Untersuchungen des gesamten Prozesses zur Biomasseerzeugung bis hin zur Umwandlung in die gewünschte Endenergieform zwecks Erhöhung der Energieträger-Flexibilität, der gezielten Erzeugung von Synthesegasen und Produktgasen sowie der Entwicklung neuartiger Biokraftstoffe (inklusive Kaskadennutzung). Außerdem stehen im Fokus die Entwicklung innovativer Gastrenn-, Gasreinigungs bzw. Gaskonditionierungsverfahren, die Entwicklung physikalischer und verfahrenstechnischer Grundlagen für neue Formen der elektrischen Energieerzeugung aus Biogasanlagen, auch mit Abwärmenutzung, sowie die Modellierung der gesamten stofflichen und energetischen Umwandlungskette, einschließlich des Austrags von Schadstoffen.

Besonderen Wert wurde bei der Fördermaßnahme auch auf die Nachwuchsförderung gelegt. Hierzu wurde im Modul C ein Ideenwettbewerb ausgeschrieben. Die vier Gewinner wurden im Mai dieses Jahres ausgewählt und haben jetzt in den nächsten vier Jahren Gelegenheit, ihre innovativen Forschungsideen umzusetzen.

### **Institutionelle Förderung des BMBF**

Zum Schluss noch eine kurze Darstellung der institutionellen Förderung. Eine Reihe von Forschungseinrichtungen der Helmholtz-Gemeinschaft verfolgt Aktivitäten zum Thema Bioenergie.

Das Forschungszentrum Karlsruhe (FZK) befasst sich mit Aktivitäten zur Biomasseproduktion, zur Biomassevorbehandlung, zu Verwertungsstrategien und Umweltauswirkungen. Außerdem führt es systemanalytische Untersuchungen zu diesem Thema durch.

Das Forschungszentrum Jülich (FZJ) befasst sich schwerpunktmäßig mit der Bioproduktion, der stoffliche Nutzung von Biomasse sowie systemanalytischen Fragen.

Das Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ) befasst sich vorrangig mit Fragen der ökologischen Systemanalyse.

Das Helmholtz-Zentrum München (GSF) kümmert sich um Fragen der Bioproduktion und der Biotechnologie.

Das Deutsche Zentrum für Luft- und Raumfahrt (DLR) verfolgt Aktivitäten zum Thema „Thermisch-chemische Prozesse zur Brennstoff-Erzeugung“.

### **Schlussbemerkung**

Das BMBF wird durch Grundlagen- und anwendungsorientierte Forschung dafür sorgen, dass die Energiegewinnung und –nutzung umwelt- und klimaverträglicher wird.

BMBF wird seiner globalen Verantwortung gerecht. Es wendet erhebliche Mittel für F&E in den genannten Bereichen auf. Wir müssen in Deutschland zeigen, dass Energiesparen, der Einsatz regenerativer Energieträger und Nachhaltigkeit funktionieren, aber ohne den Transfer der von uns entwickelten Technologien in die Schwellen- und Entwicklungsländer – und dies geht insbesondere für die Bioenergie - bleiben diese Technologien global wirkungslos.

## **Stand und Perspektiven der Energieproduktion aus Biomasse in Deutschland und Europa**

### ***State-of-the-art and prospects of biobased energy production in Germany and Europe***

Helmut Lamp

Bundesverband BioEnergie e.V. (BBE), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn

E-Mail: lamp@bioenergie.de

Eine turbulente erste Jahreshälfte 2008 hatte die Bioenergiebranche zu überstehen. In einer mehr oder weniger konzertierten Aktion gelang es, Zweifel über den Nutzen der Bioenergie in die Öffentlichkeit, bis weit in die Politik hinein zu tragen. Katastrophale Hungerkatastrophen, steigende Lebensmittelpreise, mangelnder Klimaschutz, weltweite Flächenkonkurrenz, hohe Energiepreise...die Bioenergie wurde für alles mögliche verantwortlich gemacht – teilweise sogar für Unmögliches!

So konnte man in einer Zeitschrift im April lesen „Biosprit tötet Nashörner“ und eine sehr betroffen wirkende Referentin des kirchlichen Hilfswerks Misereor gab im selben Monat in Frankfurt unter anderem dem Biotreibstoff die Schuld an verdreckten Latrinen in Brasilien! Auch verschiedene Wissenschaftler tischten nun plötzlich „Erkenntnisse“ auf, die nichts mit den Realitäten außerhalb der Studierstuben zu tun hatten. Fakten, die seit Jahren akzeptiert und von verschiedenen Bundesregierungen fortgeschrieben worden waren, wurden einfach nicht zur Kenntnis genommen.

Als der Raps zu blühen begann, zeigte das Trommelfeuer gegen die Bioenergie Wirkung. Zunehmend glaubten Politiker vor übertriebenem Einsatz der Bioenergie warnen zu müssen. Als einer der wenigen Standhaften erwies sich Bundeslandwirtschaftsminister Seehofer: „Was noch vor einem halben Jahr allgemein als richtig akzeptiert wurde, kann nun doch nicht plötzlich grundfalsch sein!“

Neben den Biotreibstoffen stand insbesondere die Biogasbranche im Visier der Kritiker. Unter diesen Vorzeichen wurde monatelang über die Novellierung des Erneuerbare Energien Gesetzes, den Rahmen eines neu zu schaffenden Wärmegesetzes und über die Fortführung der Biotreibstoff-Förderung in politischen und außerpolitischen Gremien gerungen. Mit Blick auf die verbreitete Antistimmung gegen die Bioenergie kann das novellierte EEG genauso wie das nun gültige Wärmegesetz im Ergebnis zwar nicht als optimal, aber doch zumindest als akzeptabel gewertet werden. Im Treibstoffbereich ist die Diskussion über den Fortgang der Dinge zwar noch nicht abgeschlossen, gibt aber zu erheblichen Sorgen Anlass.

Doch zunächst einmal zum EEG. Positiv zu vermerken ist, dass das Gesamtniveau der Vergütung nicht nur gehalten, sondern – insgesamt gesehen - auch leicht ausgebaut werden konnte. Der eingeleitete erste Schritt, demnächst die Gülle viehhaltender Betriebe verstärkt in die Verstromung einzubeziehen, wird zum „Frieden“ in den Dörfern beitragen. Durch die angezogenen Agrarpreise hat sich ohnehin die Diskussion um örtliche Flächenkonkurrenzen im ländlichen Raum schon weitgehend entspannt.

Ein erheblicher Fortschritt ist, dass in bonusberechtigten Anlagen zur Vergasung von nachwachsenden Rohstoffen künftig auch nicht bonusfähige Energieträger – wie z. B. Rest- und Abfallstoffe – mitvergoren werden dürfen. Warum eine ähnliche Regelung der Holzverstromung versagt blieb, ist jedoch nicht nachvollziehbar. Die Herkunft des eingesetzten Energieholzes ließe sich anhand der Einkaufsbelege unproblematisch nachweisen.

Weiterführend ist neben verbesserter Wärmedämmung, in die auch modernisierte Altanlagen einbezogen wurden, der Einstieg in die Honorierung der energetischen Verwendung von Landschaftspflegematerial und des Holzes aus Kurzumtriebsplantagen. Die Vergütung von Strom aus Klär-, Deponie- und Grubengas wird in etwa weitergeführt wie bisher. Für Pflanzenölanlagen gilt das nicht, hier hat der Gesetzgeber sich von der öffentlichen Diskussion beeindrucken lassen und die Förderung so gestaltet, dass größere Anlagen praktisch nicht mehr wirtschaftlich zu betreiben sind. Es gibt keinen Grund Pflanzenöl aus nachhaltigem Anbau auch energetisch zu nutzen, wie dies auch die großen, international agierenden Pflanzenölimporteure – natürlich völlig unbeeindruckt von deutschen Selbstbeschränkungen – weiterhin praktizieren werden. Deutschland verabschiedet sich mit dieser Regelung von der Weiterentwicklung moderner Pflanzenölkraftwerke und überlässt diesen Markt allein ausländischen Mitbewerbern.

Das ab 2009 gültige Wärmegesetz mit einer Nutzungspflicht für regenerative Wärme in Neubauten wäre für die Bioenergie nicht akzeptabel, wenn nicht parallel dazu eine deutliche Erhöhung der Förderungen über das schon bestehende Marktanzreizprogramm (MAP) in Aussicht gestellt worden wäre. Wer sich in Neubauten für Wärme aus Bioenergie entscheidet, muss sich aus wirtschaftlichen Gründen meist für eine Vollversorgung entscheiden und kann sich nicht – wie bei der Solarenergie möglich – mit einem vorgegebenen Anteil begnügen. Da aber die Investitionsförderung über das Marktanzreizprogramm deutlich ausgebaut werden soll, sind für die Nutzung biogener Wärme durchaus auch positive Anreize zu erwarten. Neben Investitionen in Altbauten, sollen bei Übererfüllung der gesetzlichen Anforderungen auch im Neubaubereich (mindestens 50% biogene Wärme) Fördermittel aus dem MAP für den Einbau biogener Wärmeanlagen bereitgestellt werden.

Nachdem die Pflöcke für die nächste Zukunft von der Politik eingeschlagen wurden, kehrt nun überwiegend verhaltener Optimismus in diese Branchen ein. Überwiegend verhalten, weil die Betriebe im Bereich der Holz- oder Pflanzenölverstromung nicht zufrieden sein können, ebenso wenig wie allein stromabsetzende Biogasanlagenbetreiber, die mit steigenden Kosten für die eingesetzten Energieträger zu kämpfen haben. Doch die Auftragsbücher der Anlagenhersteller sehen nicht mehr ganz so deprimierend aus wie noch vor

wenigen Monaten. Das gilt vor allem für Anlagenhersteller, die Biogasanlagen oder Holzheizkessel verkaufen – trotz langer Ungewissheit über die künftig geltenden Feinstaubregelungen.

Schwere Sorgen und starke Verunsicherung plagen hingegen die Biotreibstoffbranche: Mittelständische, hiesige Biokraftstoffhersteller stehen vor dem Ruin! Bei einer Steuerlast von gegenwärtig 15 Cent je Liter, gepaart mit steigenden Rohstoffkosten, ist reiner Biodiesel nicht mehr wettbewerbsfähig. Dieser Markt deckte bisher etwa 60% der Nachfrage ab. Ab 2009 soll die Besteuerung um weitere 6 Cent erhöht werden und die im Biokraftstoffquotengesetz verankerte Erhöhung der Biokraftstoffquote im fossilen Kraftstoff wird von maßgeblichen Stellen in Frage gestellt. Wenn die aktuellen Überlegungen realisiert werden, wird der Zusammenbruch einer hoffnungsvollen Branche staatlicherseits eingeleitet – von dem Staat, der aus guten Gründen den Aufbau einer mittelständisch geprägten Biotreibstoffproduktion über Jahre initiiert und gefördert hatte.

Das bedeutet für tausende von Mitarbeitern im Umfeld der Biokraftstoffbranche den Verlust der Arbeitsplätze und Steuerverluste in Milliardenhöhe, denn hiermit ist für die Speditionen, die vormals regionalen Biodiesel tankten und versteuerten endgültig der Startschuss gegeben, zum Tanken wieder ins Ausland zu fahren!

Nach stürmischer Entwicklung in den vergangenen zehn Jahren sind momentan die Zukunftsaussichten für die Bioenergiebranche kurzfristig also eher als „durchwachsen“ zu bezeichnen. Es mag für viele kleine, mittelständische Unternehmen in der aktuellen Situation kein Trost sein, aber mittel- und langfristig sind die Zukunftserwartungen für die Bioenergiebranche dennoch unverändert optimistisch zu bewerten!

Dass der Satz „Alles bleibt, wie es ist“ die unwahrscheinlichste aller Prognosen ist, hat die Entwicklung der Ölpreise in den vergangenen zwölf Monaten unmissverständlich klar gemacht. Mit steigenden Energiepreisen wird die Bioenergie auf internationalen Märkten zunehmend an Gewicht gewinnen. Die schlichte Angst vor Energie-Versorgungsengpässen wird als Argument für die Nutzung nichtfossiler Energiequellen dem Klimaschutz den Rang ablaufen, so elementar wichtig dies Thema auch ist und bleiben wird.

Die Bioenergie hat mit ihrem Endenergieanteil die Kernenergie bereits hinter sich gelassen und wird nach Gas und Kohle und vor dem Öl noch vor Mitte dieses Jahrhunderts den dritten Rang im Energiemix einnehmen – in Deutschland, in Europa und weltweit. Nationale Förderungen sind vorläufig noch unverzichtbar, um unser Land auf die sich abzeichnenden Entwicklungen vorzubereiten.

Schon in wenigen Jahrzehnten werden nicht mehr Förderprogramme den Fortgang im Bereich der Bioenergie maßgeblich bestimmen, sondern die Preisentwicklungen auf internationalen Energiemärkten werden maßgeblich den schnellen Ausbau der Bioenergie voran treiben! Deutschland wird von der weltweit bereits stark zunehmenden Nachfrage nach Bioenergie-technologien nur dann nachhaltig profitieren können, wenn es beizeiten die Zukunftsfelder der Energie intensiv beackert.

## Gute Verdichtung im Silo – der Schlüssel zu hoher Konservatqualität

### *High compaction – basis for high quality silage*

Rainer Tölle, Jan Häbler, Jürgen Hahn

Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Fachgebiet Agrartechnik, Philippstr. 13 – Haus 16, D 10115 Berlin, Germany  
E-Mail: rainer.toelle@agrar.hu-berlin.de

**Kurzfassung:** Höhere Häckselleistungen, größere Transportmittel und Silos bedingen steigende Anforderungen an die Konservierung von Biomasse. Einlagerung und Verdichtung werden zunehmend zum „Flaschenhals“. Systematische Versuche mit Vibrationswalzen weisen nach, dass diese bei relativ kurzen Verdichtungszeiten Dichtewerte im Empfehlungsbereich ermöglichen. Weitere Untersuchungen sollen zeigen, welcher Anteil dabei der Vibration zukommt und wie während der Einlagerung die notwendigen Informationen für Prozesssteuerung und –dokumentation bereitgestellt werden können.

**Schlüsselwörter:** Horizontalsilo, Verdichtung, nachwachsende Rohstoffe, Vibrationswalze, Fahrerinformationssystem

**Abstract:** *Improved combine capacities, larger means of transportation and silos determine advanced requirements for silage preservation. Storage and compaction are increasingly becoming a “bottle-neck”. Systematic attempts with vibratory rollers resulted in recommended densities despite relatively short compaction times. More research is intended to determine the effect of vibration and to show how the information required for process control and documentation can be provided during storage.*

**Keywords:** *bunker silo, compaction, biomass, vibratory roller, driver information system*

### 1 Veranlassung

Norddeutsche Landwirtschaftsbetriebe ernten teilweise an 90 Tagen im Jahr silofähiges Häckselgut. In der übrigen Zeit müssen die Biogasanlagen mit Konservaten betrieben werden. Die grundsätzliche Vorgehensweise der Silagebereitung ist aus der Futterkonservierung bekannt. Untersucht wurden deshalb die sich speziell aus der Biogastechnologie ergebenden Besonderheiten sowie neue Entwicklungen in der Verdichtertechnik. Weiterhin dienten die Versuche der Bereitstellung einheitlichen Ausgangsmaterials für die ande-

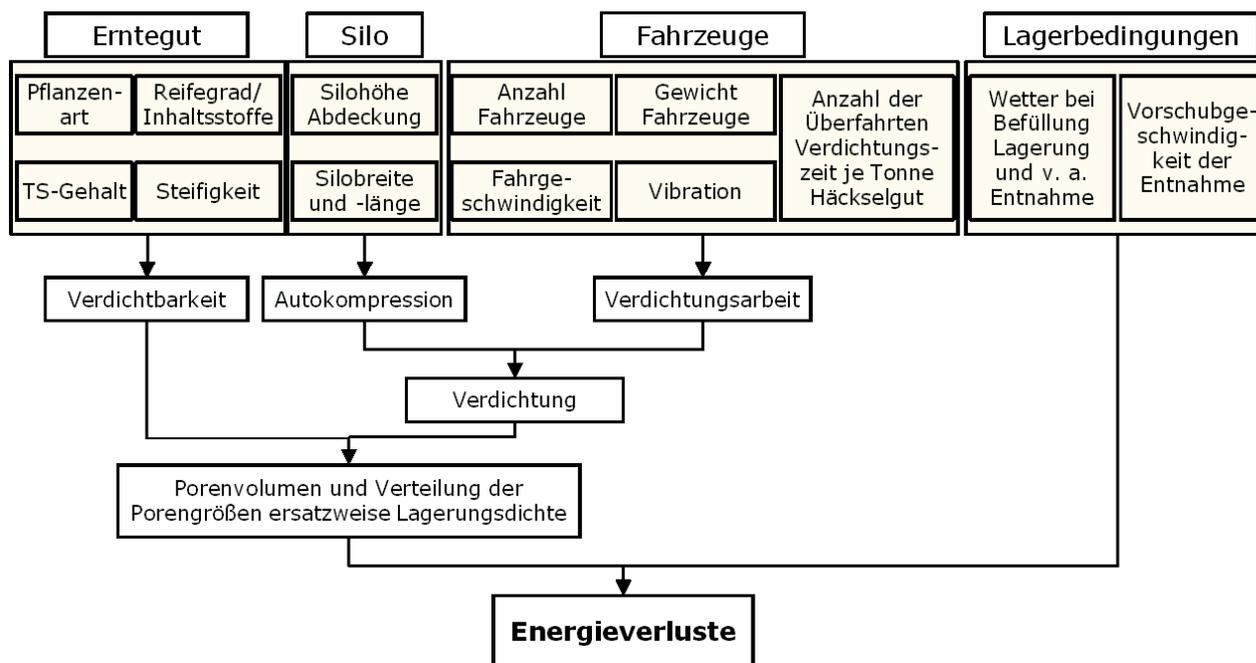
ren Arbeitsgruppen des Netzwerks und der Gewinnung umfangreichen Datenmaterials für die mathematische Modellierung der Biomasseneinlagerung.

## 2 Stand der Technik

Zum Energieerhalt während der Bereitung und Lagerung von Silage wird eine ausreichende Verdichtung bei der Einlagerung für erforderlich gehalten. Die Sollwerte der Lagerdichte für Silage aus Mais liegen bei Trockenmassegehalten von 28 bis 32% zwischen 230 und 270 kg TM/m<sup>3</sup> (BUNDESARBEITSKREIS FUTTERKONSERVIERUNG 2006). Diese Sollwerte wurden abgeleitet aus einem Gasaustausch von 20 Liter/(m<sup>2</sup>\*h) an der Oberfläche der Silofüllung. Untersuchungen in Praxisbetrieben zeigen, dass diese Grenzwerte der Dichte nur unter besonders günstigen Umständen erreicht werden (SPIEKERS 2005). Ein Teil der Schwierigkeiten entsteht durch die steigende Leistung moderner Feldhäcksler. Diese führt zu hohen Masseströmen in der Erntekette, die oft die Leistungsfähigkeit der Verdichter im Silo übersteigt. Es wird schneller eingelagert, als ausreichend verdichtet werden kann. Damit gehen vermeidbare Energieverluste von bis zu 10% einher. Eine effektive Siloverdichtung gewinnt außerdem durch steigende Nachfrage nach Silage auch für energetische Zwecke an Bedeutung. Die stark ansteigenden Preise der letzten Jahre führen dazu, dass erneut über effektivere Verdichtung nachgedacht wird.

Voraussetzung für die Weiterentwicklung der Verdichtungsverfahren ist deren Leistungsbewertung, die ihrerseits von der möglichst direkten Messbarkeit der Silagedichte abhängt. Die im Silo erreichte Verdichtung wird durch viele Faktoren beeinflusst. Das Erntegut variiert nach Pflanzenart und Struktur sowie in der Feuchte zum Zeitpunkt der Einlagerung und führt damit unter sonst gleichen Bedingungen zu unterschiedlichen Ergebnissen bei der Verdichtung. Unterschiedliche Bauformen der Silos und die praktizierten Befüllverfahren, wie die Progressive Wedge Method oder das Überfahr-Verfahren nehmen Einfluss auf den Einsatz der verdichtenden Technik. Deren Leistung hängt unter anderem von Bauart, Masse, Bereifung und ggf. einer Vibration während der Verdichtung ab.

Die Ursachen der Energieverluste im Silo lassen sich auf das luftgefüllte Porenvolumen im Siliergut zurückführen, da über diese Poren der Sauerstoff eindringt, der über zu Veratmung und Energieverlusten führt. **Bild 1** zeigt die technisch-physikalischen Einflussgrößen des luftgefüllten Porenvolumens und damit der Energieverluste (HAHN & TÖLLE 2009). Als Verdichter kommen sehr verschiedene Maschinen in Betracht. Meist werden in der landwirtschaftlichen Praxis vierrädrige Fahrzeuge, wie Radlader und Traktoren verwendet. Aber auch Anbauwalzen und Raupentechnik kommen zum Einsatz. In den hier vorgestellten Untersuchungen wurden vor allem Walzenzüge mit Vibration eingesetzt. Diese Maschinen sind auf eine optimale Verdichtungswirkung im Erdbau ausgelegt und werden von landwirtschaftlichen Betrieben auf großen Silos in zunehmendem Umfang eingesetzt (HÄBLER *at al.* 2008).



**Bild 1:** Technisch-physikalische Einflussgrößen auf Energieverluste bei Einlagerung und Silierung

Zu den wichtigen Einsatzparametern der Walzen gehören Frequenz und Amplitude der Vibration. Diese können über einen bestimmten Einstellbereich hinweg verändert werden. Der besondere Effekt der Vibration im Erdbau beruht auf dem Einrütteln von Kugelpackungen, wobei kleinere Teilchen in die Zwischenräume der größeren geschoben werden. Da Häckselgut keine Kugelform hat, gibt es widersprüchliche Auffassungen darüber, ob solche Effekte auch bei der Verdichtung von Häckselgut auftreten. Gute Erfahrungen der Praxis mit Vibrationswalzen führten zur Arbeitshypothese, dass Vibrationswalzen auch auf Häckselgut vierrädrigen Fahrzeugen gleichen Gewichts überlegen sind.

### 3 Material und Methoden

Zur Untersuchung dieser Annahme wurde ein Arbeitsprogramm aufgestellt, das den spezifischen Bedingungen der Silowirtschaft Rechnung tragen musste. Insbesondere der hohe Wert des Siloinhalts ließ nur Versuche ohne Beeinträchtigung des betrieblichen Arbeitsablaufs zu. Da Großsilos mit Erntegut verschiedener Ackerschläge befüllt werden, war auch die Schaffung sonst gleicher Umstände nur ansatzweise zu erfüllen. Für die Messung der Verdichtungsleistung war ein effizientes Messverfahren zu entwickeln. Dieses sollte sich auch zur Untersuchung des Vibrationseinflusses eignen.

Der Versuchsbetrieb liegt in Brandenburg und bewirtschaftet ca. 4.000 ha Fläche, davon 950 ha Silomais. An 90 Tagen im Jahr werden neben Mais auch Gras, Roggen-GPS und Schrot einsiliert. Dazu stehen 11 große Silos mit bis zu 12.000 m<sup>3</sup> Fassungsvermögen zur Verfügung. Die Silowände sind 3 oder 5 Meter hoch. Eingelagert wird mit der Progressive

Wedge Technique. Ein Radlader verteilt das Häckselgut auf der schrägen Rampe. Ein Verdichter arbeitet gleichzeitig auf anderen Bereichen des Silos. Die Befüllung eines Silos dauerte bis zu 9 Tage. Bei fortschreitender Einlagerung werden hintere Bereiche bereits abgedeckt.

Im Versuchsbetrieb wurde als Verdichter eine Vibrationswalze HAMM 3412HT eingesetzt, die ca. 12 Tonnen wog und mit glatter Bandage ausgestattet war. Bei den Versuchen zur Wirkung der Nachverdichtung wurde diese Walze auch viermal ohne Vibration betrieben. Weiterhin kamen ein 9-t-Radtraktor (Claas Axion 820) und ein 12,8-t-Traktor (Claas Xerion 3800) zum Einsatz.

Die Massebestimmung des Häckselguts erfolgte über Radlast- oder Fuhrwerkswaagen. Stündlich entnommene 500-Gramm-Proben belegten den Tagesverlauf des Trockensubstanzgehaltes. Zur Volumenmessung des Futterstocks kam ein Laser-Theodolit der Fa. Leica zum Einsatz, der auch die Bewegung der Vibrationswalze auf dem Silo automatisch verfolgte. Videoaufnahmen der Silobefüllung erfassten Ort und Zeit der Anlieferung des Häckselguts und dienten der Kontrolle der Verdichtungszeiten durch die Technik. Dabei gingen nur diejenigen Zeiten in die Bewertung ein, in denen sich ein Fahrzeug auf dem Häckselgut bewegte.

Anhaltspunkte für konkrete Lagerungsdichten der Silage lieferten Bohrprobenserien. Diese wurden nach abgeschlossener Silierung am offenen Silo gewonnen. Gemessen wurden der Trockensubstanzgehalt, die Lagerungsdichte und das Porenvolumen.

Zur Untersuchung des gasgefüllten Porenvolumens diente ein aus der Bodenphysik bekanntes Verfahren mit den nötigen Anpassungen an die spezifischen Anforderungen im Futterstock (REES *at al.* 1983). Grundlage bildet die Allgemeine Gasgleichung ohne Berücksichtigung der Temperatur. **Bild 2** zeigt die Apparatur beim Einsatz im Silo.



**Bild 2:** Apparatur zur Bestimmung des Porenvolumens beim Einsatz im Silo

Die Leistungen der Maschinenvarianten konnte nur während der Nachverdichtung direkt verglichen werden. Nach Abschluss der Befüllung war genug Platz im Silo, um zwei Verdichter gleichzeitig einzusetzen. Dazu wurde die Silorampe in Gefällrichtung zweigeteilt, und auf beiden Seiten mit verschiedenen Technikvarianten verdichtet. Es wurde darauf geachtet, dass beide Fahrzeuge sich gleich schnell und gleich lange bewegten. Vor und nach der Verdichtung erfolgte eine geodätische Vermessung der Silorampe. Sie diente der Ermittlung der Volumenreduktion.

Das zwischen den jeweiligen Oberflächen befindliche Volumen wurde mit der Software „Surfer“ von Golden Software berechnet. Als Methode zur Oberflächenmodellierung eignet sich „Kriging“ mit besten Ergebnissen für Haufwerke, während die glatten Betonflächen leerer Silos durch „Triangulation mit linearer Interpolation“ am besten abgebildet werden. Die Volumen wurden für jeden Tag und jede geprüfte Variante berechnet.

#### 4 Ergebnisse

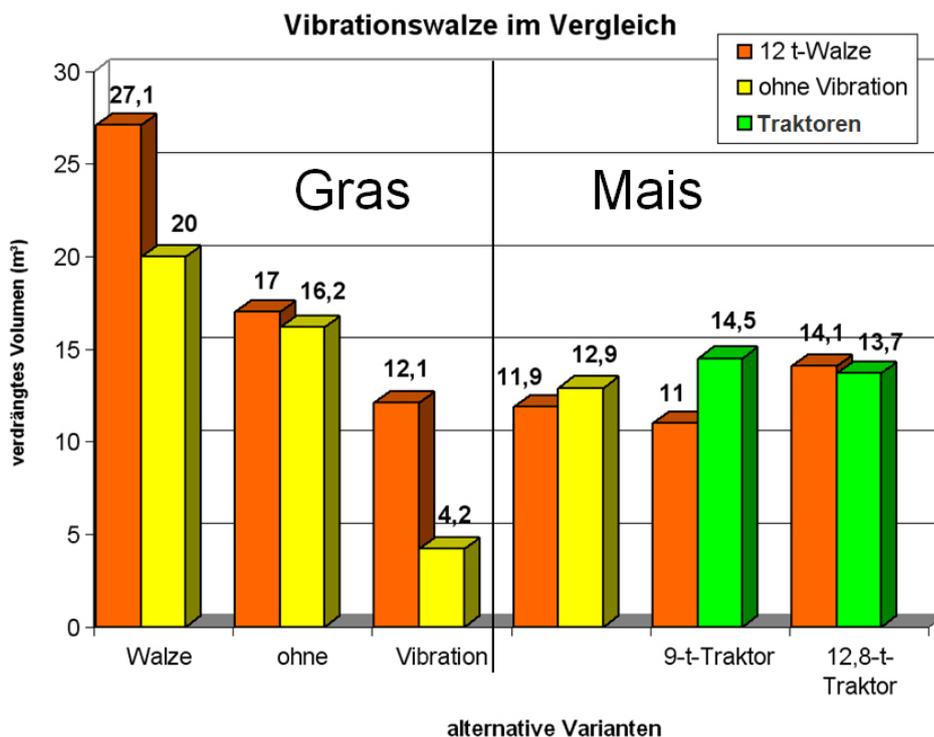
Die hier vorgestellten Ergebnisse beruhen auf 14 Messtagen und der Einlagerung von 14.488 t Maishäckselgut in den Jahren 2006 und 2007. Die drei Silos hatten 5 Meter hohe Seitenwände. Bezogen auf die reine Arbeitszeit verdichtete die Vibrationswalze einen Massestrom von 122 t Frischmasse je Stunde. Der Trockensubstanzgehalt betrug im Mittel 36,1%. Es wurde eine durchschnittliche Lagerungsdichte von 250 kg Trockensubstanz oder 695 kg Frischmasse je Kubikmeter erreicht.

Bei den später gezogenen Bohrprobenserien ergab sich eine durchschnittliche Dichte über die gesamten Silos ohne Randbereiche von 275 kg TS/m<sup>3</sup>. Der subjektive Eindruck von Farbe, Geruch und Temperatur der Silage war positiv. Dazu trägt auch die hohe Vorschubgeschwindigkeit bei der Entnahme von im Mittel 5,5 m pro Woche bei.

In nur 40 Sekunden Verdichtungszeit je t Frischmasse erreicht das Verfahren eine erstaunlich hohe und offensichtlich ausreichende Dichte. Die bislang in der Literatur zu findenden Empfehlungen gehen von 2 bis 3,5 min notwendiger Traktorarbeitszeit je Tonne Originalsubstanz aus. Die Vibrationswalze arbeitete in den untersuchten Silos damit deutlich kürzer als die Zeitempfehlung. Sie erreicht jedoch, besonders bei hohen Trockensubstanzgehalten, nicht ganz den empfohlenen Wert.

Ebenfalls uneinheitlich wird die Nachverdichtung in der Literatur bewertet. Darunter ist die Verdichtung nach Ende der täglichen Befüllung des Silos zu verstehen. Der Zweck besteht in einer weiteren Steigerung der Dichte besonders in oberflächennahen Schichten.

Die Ergebnisse der Nachverdichtungsmessung von Grashäcksel ließ in allen drei Versuchen einen positiven Effekt der Vibration erkennen (**Bild 3**). An einem Tag regnete es während der Nachverdichtung stark, der Vibrationseffekt war hier relativ gering.



**Bild 3:** Vergleich der Verdichter

Die Versuche brachten noch keinen Nachweis des Vibrationseffekts beim Mais. Auch zeigte ein 9-t-Traktor eine höhere Verdichtungsleistung als die 12-t- Walze mit Vibration. Der 12,8-t-Traktor wies das gleiche Leistungsniveau der 12-t-Vibrationswalze auf. Um Fehlschlüsse durch eventuelle Unterschiede in der Vorverdichtung bei Versuchsbeginn zu vermeiden, ist eine deutlich höhere Anzahl von Versuchen erforderlich. Da Vibration den Treibstoffbedarf erheblich erhöht, steht auch eine ökonomische Bewertung noch aus.

Die Untersuchungen zum Porenvolumen sollten klären, ob Pflanzenart und Trockensubstanzgehalt einen Einfluss auf das gasgefüllte Porenvolumen nach erfolgter Verdichtung haben. Im Ergebnis der Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Dichte der Silage einen guten Schätzwert für das Porenvolumen liefert (**Bild 4**). Die funktionalen Zusammenhänge sind dabei für Gras und Mais annähernd gleich. Sie gelten über einen großen Feuchtebereich hinweg, weshalb aus dem Porenvolumen auch nicht auf den für die Energieerzeugung interessanten Trockensubstanzgehalt der Proben geschlossen werden kann. Als Eigenkompression wird die Verdichtung bezeichnet, die durch darüber liegendes Häckselgut erzeugt wird. Dieser Vorgang begründet den Einfluss der Silohöhe auf die Dichte der Silage. Hier zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen Gras und Mais. Die Abhängigkeit der Dichte von der Entnahmetiefe der Bohrprobe ist bei Grassilage ausgeprägter (**Bild 5**).

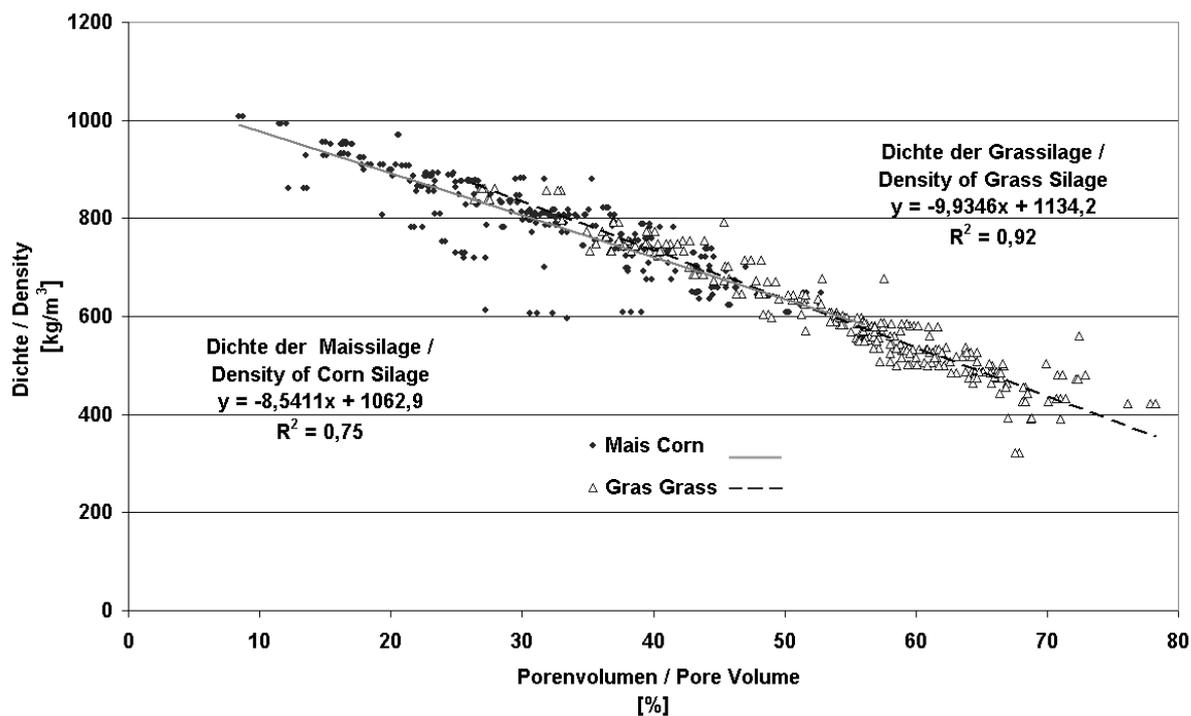


Bild 4: Zusammenhang zwischen Porenvolumen der Bohrproben und ihrer Dichte

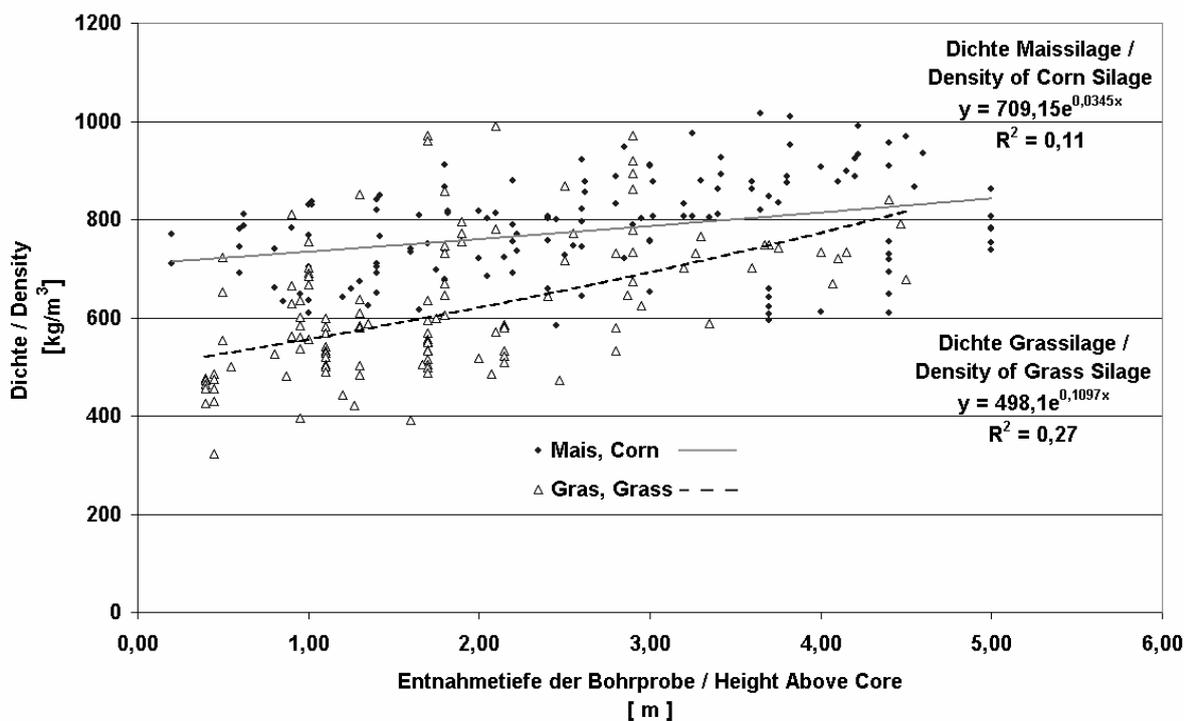


Bild 5: Zusammenhang von Dichte und Entnahmetiefe der Bohrprobe

Gelingt eine Online-Messung der Dichte des Häckselguts während der Verdichtung, kann über ein Fahrerinformationssystem der gesamte Einlagerungsprozess kontrolliert, optimiert und dokumentiert werden. Ein solches Informationssystem würde auch den Entscheidungsdruck des Fahrers der verdichtenden Maschine reduzieren, der bei hohen Masseströmen nur durch verzögerte Annahme des Häckselguts eine ausreichende Verdichtung gewährleisten kann. Deshalb wurde ein Online-Dichtemesssystem aus dem Straßenbau (HAMM Compaction Quality) auf Häckselgut getestet. Der zugehörige Dichtesensor misst die Vibrationsresonanz.

Während der Siloversuche war diese Resonanz aufgrund der hohen Schwingungsdämpfung im weichen Material kaum feststellbar. DGPS und Bordcomputer mit Registrierung der Anzahl der Überfahrten haben sich dagegen bewährt. Deshalb sollte der Resonanzsensor durch eine Messung der Einsinktiefe ergänzt oder ersetzt werden. Mit insgesamt 8 optischen Abstandssensoren und einem 3-D Lagesensor wurde versucht, die Einsinktiefe des Verdichterfahrzeugs auf dem zu messen (**Bild 6**). Von der Einsinktiefe wurde erwartet, dass sie Rückschlüsse auf die Dichte des überfahrenen Häckselgutes zulässt. In der Versuchsphase wurden die Daten zu einem Rechner gefunkt, wo sie visualisiert und aufgezeichnet wurden.



**Bild 6:** Optische Abstandssensoren zur Messung der Einsinktiefe des Verdichterfahrzeugs

Die Entwicklungsaufgabe besteht nun darin, die Abstandsmesswerte in verschiedenen Situationen bestimmten Einsinktiefen zuzuordnen. Das geschieht durch das Einblenden dynamischer Diagramme in die Videos der Verdichterfahrten (**Bild 7**).



**Bild 7:** Einblenden dynamischer Diagramme in das Video der Verdichterfahrt

## 5 Zusammenfassung

In hohen Horizontalsilos kann durch Verdichtung auf der Rampe und den Einsatz von Vibrationswalzen eine beachtliche Verdichtungsleistung von 122 t Frischmasse je Stunde erzielt werden. Diese Verdichtungsleistung liegt deutlich über den Angaben in der Literatur. Allerdings werden die empfohlenen Dichtewerte bei hohen Trockensubstanz-Gehalten häufig nicht erreicht.

Die Online-Dichtemessung und das darauf aufbauende Fahrer-Informationssystem sind angestrebte Hilfsmittel zur effektiven Siloverdichtung. Die dafür entwickelten Sensoren sind noch nicht praxisreif.

Der Zusammenhang zwischen dem gasgefüllten Porenvolumen und der Dichte von Silagen ist für Gras und Mais nahezu identisch. Er gilt für einen großen Bereich der Gutfeuchte. Die Verdichtung unter Eigengewicht ist dagegen bei Gras ausgeprägter als bei Mais. Dies sollte in mathematischen Modellen der Siloverdichtung berücksichtigt werden.

Für die quantitative Bestimmung der Vibrationswirkung auf die Verdichtung im Silo sind weitere Versuche nötig. Diese sind durchaus praxisrelevant, da die Vibration für einen bedeutenden Anteil des Kraftstoffverbrauchs verantwortlich ist.

In Bewertungen zeigen Vibrationswalzen bei gleicher Eigenmasse eine mit Radtraktoren vergleichbare Verdichtungsleistung. Bei Ausstattungsentscheidungen in großen Landwirtschaftsbetrieben und bei Lohnunternehmern kann Walzenzügen wegen der geringeren

Anschaffungskosten durchaus der Vorzug gegeben werden, zumal sie deutlich bessere Voraussetzungen für die Zuordnung eines Fahrerinformationssystems bieten, mit dem der gesamte Einlagerungsprozess kontrolliert, optimiert und dokumentiert werden kann.

## 6 Literatur

- BUNDESARBEITSKREIS FUTTERKONSERVIERUNG (2006):** Praxishandbuch Futterkonservierung, 7. Auflage 2006, DLG Verlag
- HÄBLER J., TÖLLE R., HAHN J. (2008):** Vibrationswalzen als Siloverdichter. Tagung LAND.TECHNIK 2008, Hohenheim, 26.09.2008
- HAHN J., TÖLLE R. (2009):** Precision Storage – ein Beitrag zur Informationslogistik. 16. Arbeitswissenschaftliches Kolloquium des VDI-MEG Arbeitskreises Arbeitswissenschaften im Landbau, 9.-10. März 2009 Potsdam, Bornimer Agrartechnische Berichte Heft 66
- REES D.V.H., AUDSLEY E., NEALE M.A. (1983):** Apparatus for obtaining an undisturbed core of silage and for measuring the porosity and gas diffusion in the sample. Journal of Agricultural Engineering Research 28, 107-114
- SPIEKERS H. (2005):** Empfehlungen zum Controlling am Silo, Internet April 2005, LfL

# VVS eine Software zur Optimierung des Einlagerungsprozesses in Horizontalsilos

## *VVS a tool for optimization of stockpiling in horizontal silo*

Ivo Muha, Herbert Lenz, Dirk Feuchter, Stefan Handel, Gabriel Wittum

Goethe Universität Frankfurt, Goethe Zentrum für wissenschaftliches Rechnen, Kettenhofweg 139, 60325 Frankfurt

E-mail: wittum@gcsc.uni-frankfurt.de

**Kurzfassung:** Das entwickelte Software Tool VVS (VerdichtungsVisualisierungssystem) ist für den Einsatz in einem Verdichtungsfahrzeug optimal geeignet. Es teilt das zu verdichtende Gebiet in Planquadrate ein und färbt diese entsprechend ihres Verdichtungsgrades ein. Der Fahrer des Verdichtungsfahrzeuges kann während der Fahrt auf diese Informationen zugreifen und somit die Silage optimal verdichten. Dadurch wird der Energieverlust, welcher während der Lagerung der Silage auftritt, minimiert und damit die Methanabgabe des Reaktors optimiert. Ein nachhaltiger Umgang mit Rohstoffen wird somit gefördert.

**Schlüsselwörter:** VVS, Verdichtungsvisualisierungssystem, Einlagerungsprozess, Verdichtung, Silo

**Abstract:** *The developed software Tool VVS (VerdichtungsVisualisierungssystem, engl. CompressionVisualizationSystem) is very suitable for use in a compression vehicle. The silo is covered by a square grid. Depending on the compression rate each square is marked with a specific colour. The driver of the compression vehicle is able to see where the compression process is not finished yet and he can continue to compress on these squares. Therefore an optimal compression of the whole silo can be achieved. Hence the loss of energy which appears during storage can be minimized and methane production optimized. An effective handling of resources is enhanced.*

**Keywords:** VVS, Verdichtungsvisualisierungssystem, stockpiling, compression, silo

## 1 Motivation

Die Erntekette umfasst den gesamten Vorgang von der Ernte über den Abtransport bis hin zur Einlagerung der Silage in Silos. Der zeitkritische Faktor hierbei ist die Einlagerung in das Silo. Aus diesem Grund ist es sinnvoll genau an dieser Stelle die Erntekette zu optimieren. Wird die Silage nicht ausreichend und schnell genug verdichtet, ist ein zu hoher

Luftanteil in der Silage vorhanden. Dadurch kann zum einen weniger Material im Silo gelagert werden und zum anderen beginnt die Silage bereits im Silo zu verfaulen. Dies führt dazu, dass das Silo sich erwärmt und dabei Energie abgibt. Dieser Prozess wirkt sich negativ auf die Methanausbeute aus.

Die Silage hat zu Beginn ca. 60% Luftanteil. Wenn die Silage gleichmäßig und ausreichend verdichtet wird, kann der Luftanteil auf ca. 35 - 40% reduziert werden. Durch einen geringeren Luftanteil wird die Qualität der Silage verbessert, insbesondere kann der Energieverlust deutlich reduziert werden. Um eine möglichst hohe Methanausbeute zu erreichen, ist es essenziell, dass die Silage optimal verdichtet wird. Das im Folgenden vorgestellte Software Tool VVS hilft dem Fahrer des Verdichtungsfahrzeuges die Silage optimal zu verdichten, indem es dem Fahrer anzeigt, an welchen Stellen im Silo noch nicht ausreichend verdichtet worden ist.

## **2 Funktionen von VVS**

Im Folgenden werden die Funktion von VVS vorgestellt.

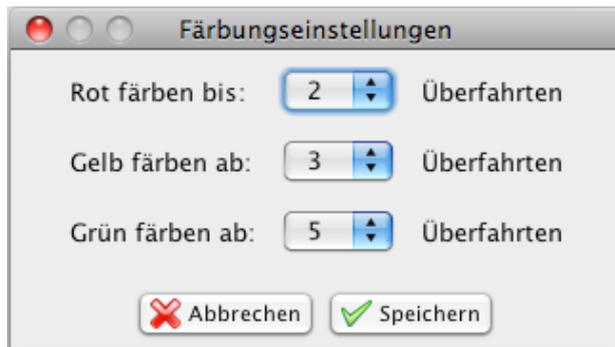
### *2.1 Visualisierung der Verdichtung*

Die wichtigste Funktion ist die Visualisierung der lokalen Verdichtung in einem Horizontalsilo. Das Silo ist mit einem äquidistanten Gitter der Maschenweite 1 m überzogen. Ein Messsystem verfolgt nun die Bewegung des Verdichtungsfahrzeuges und der Messserver sendet die Bewegungsdaten an VVS. VVS berechnet unter Berücksichtigung der Schräglage den genauen Aufsetzpunkt der Walze. Wird der Schwerpunkt eines Planquadrates dabei von der Walze getroffen, wird dieses Planquadrat markiert sowie der entsprechende Höhenwert gespeichert. Typischerweise wird jedes Planquadrat während einer Verdichtungsfahrt mehrfach überfahren. Die verschiedenen Höhenwerte werden in einer optimalen Datenstruktur gespeichert. Die Anzahl der Überfahrten eines Planquadrates wird schließlich farblich markiert.

Die Farbtafel wurde wie folgt realisiert:

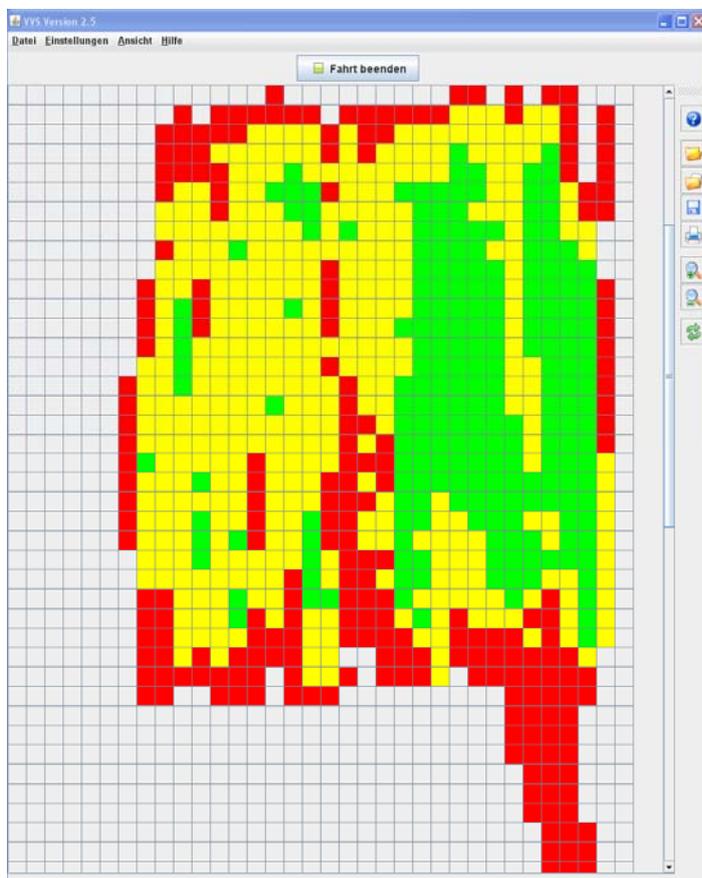
- grün (gut verdichtet)
- gelb (mäßig verdichtet)
- rot (schlecht verdichtet)
- grau (Planquadrat wurde noch nicht überfahren)

Die Kriterien für die Einfärbung können vom Benutzer jederzeit verändert werden.



**Bild 1:** Färbungseinstellungen

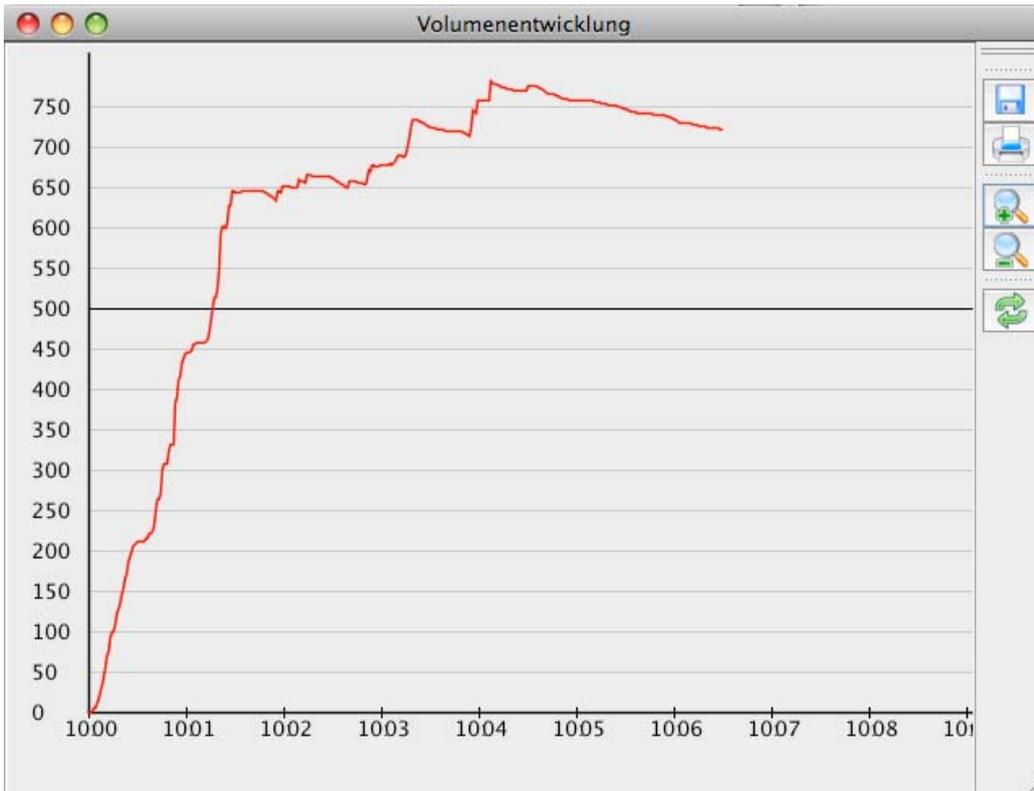
Das folgende Bild zeigt ein Silo, in dem rechts bereits ausreichend gut verdichtet wurde (grün) und links noch verdichtet werden muss (gelb & rot).



**Bild 2:** Visualisierung der Verdichtung im Silo

## 2.2 *Volumenentwicklung*

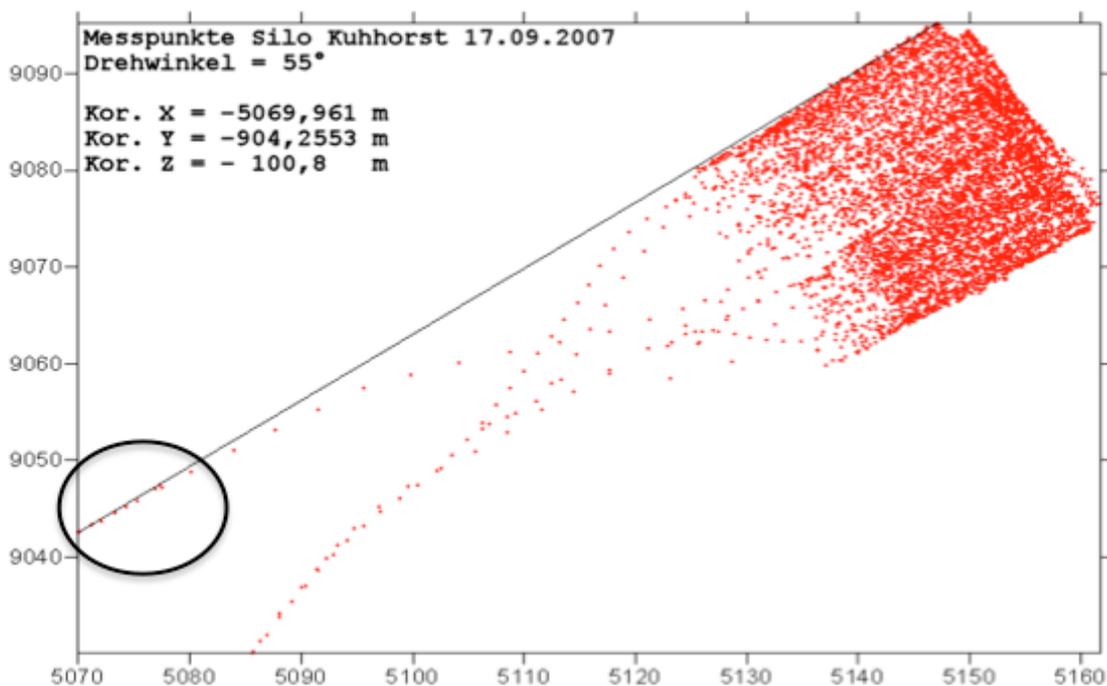
VVS berechnet zu jedem Zeitpunkt das momentane Silovolumen. Zur Berechnung werden die gespeicherten Höhenwerte gebraucht. Die Integration wird mit Hilfe der summierten Simpsonregel berechnet. Die Volumenentwicklung kann unter dem Menüpunkt „Ansicht“ aufgerufen werden.



**Bild 3:** Volumenentwicklung VVS

### 2.3 Siloverwaltung

Bevor mit VVS gearbeitet werden kann, müssen für das gegebene Silo die sogenannten Siloparameter bestimmt werden. Für die Bestimmung der Parameter wird eine Kalibrierungsfahrt an einer Mauer entlang durchgeführt. In **Bild 3** sind die Messpunkte einer Kalibrierungsfahrt durch den schwarzen Kreis markiert.



**Bild 4:** Projektion der Messpunkte Silo Kuhhorst

Der Punkt, welcher der Y-Achse am nächsten ist, wird verwendet um die Korrekturen X, Y und Z zu bestimmen. Um den Drehwinkel zu bestimmen wird durch die Messpunkte der Kalibrierungsfahrt eine Gerade gezogen. Der Drehwinkel ist schließlich der Winkel zwischen der Geraden und der X-Achse.

Schließlich kann in der Siloverwaltung auch eine Bodenplatte geladen werden. Dies ist vor allem dann sinnvoll, wenn der Boden des Silos große Unebenheiten aufweist.

**Bild 5:** Siloverwaltung

## 2.4 Fehlerprotokoll

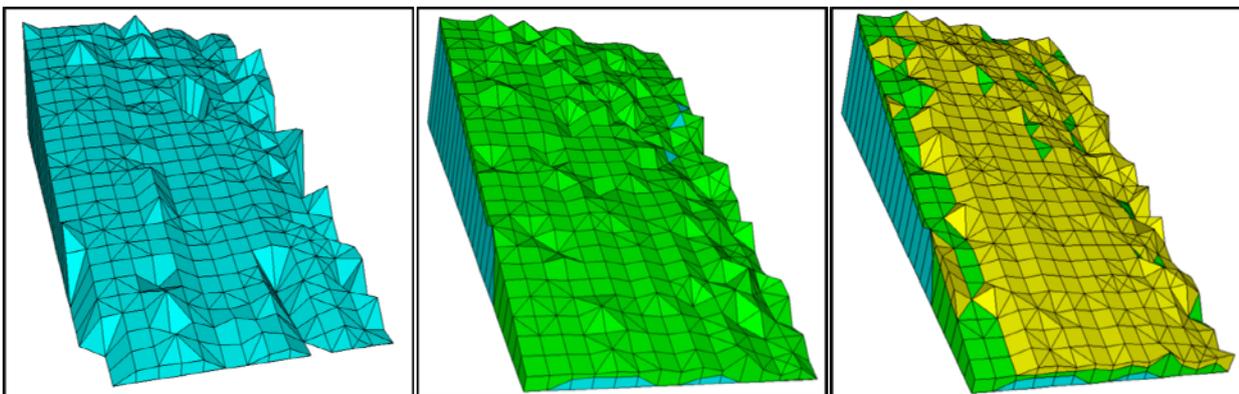
Um die Arbeit mit VVS zu erleichtern werden alle auftauchenden Fehler in der Datei „error.log“ protokolliert.

Beispiele für auftretende Fehler und deren Fehlerbehandlung:

- „Messpunkte mit negativen Höhenwerten“  
Die Siloparameter müssen genauer bestimmt werden, unter Umständen muss eine Bodenplatte geladen werden.
- „Fehler bei der Datenübertragung“  
Der Messserver sendet die Daten im falschen Format.
- „Messdaten außerhalb des Silos“  
Die Siloparameter müssen genauer bestimmt werden.

## 2.5 Export von Siloschichten

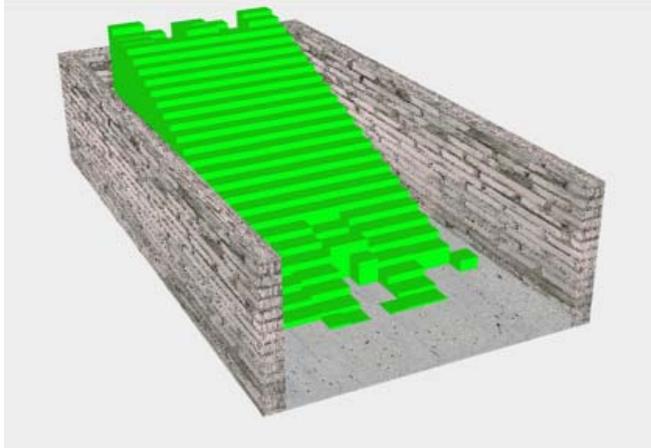
In einem Silo entstehen während der Einlagerung viele verschiedene Schichten. Die unterschiedlichen Schichten können mit VVS exportiert und schließlich mit Hilfe des Software Tools UG (LANG & WITTUM 2005, FEUCHTER 2008) visualisiert werden. Der Fahrer des Verdichtungsfahrzeugs muss dazu jedes Mal, wenn eine neue Schicht beginnt, diese unter dem Menüpunkt „Datei/cldm Export“ exportieren.



**Bild 6:** verschiedene Schichten Kuhhorst Silo 23.09.2007  
(Links: morgens; Mitte: mittags; Rechts: abends)

## 2.6 3D – Siloansicht

Unter dem Menüpunkt Ansicht kann sich der Benutzer von VVS jederzeit die aktuelle 3D – Siloansicht anschauen.



**Bild 7:** 3D - Siloansicht

## 3 Eigenschaften von VVS

Bei der Entwicklung von VVS wurde immer das Ziel verfolgt eine praxistaugliche Software mit geringen Systemanforderungen zu entwickeln. Besonderen Wert wurde auch auf die Möglichkeit einer kostengünstigen und unkomplizierten Integration in bereits bestehende Messsysteme gelegt.

### 3.1 Systemanforderungen

Die Systemanforderungen für den VVS Client und den VVS Server sind wie folgt:

- Prozessor mit mind. 1 GHz
- 512 MB Arbeitsspeicher
- Java Runtime Engine 1.6

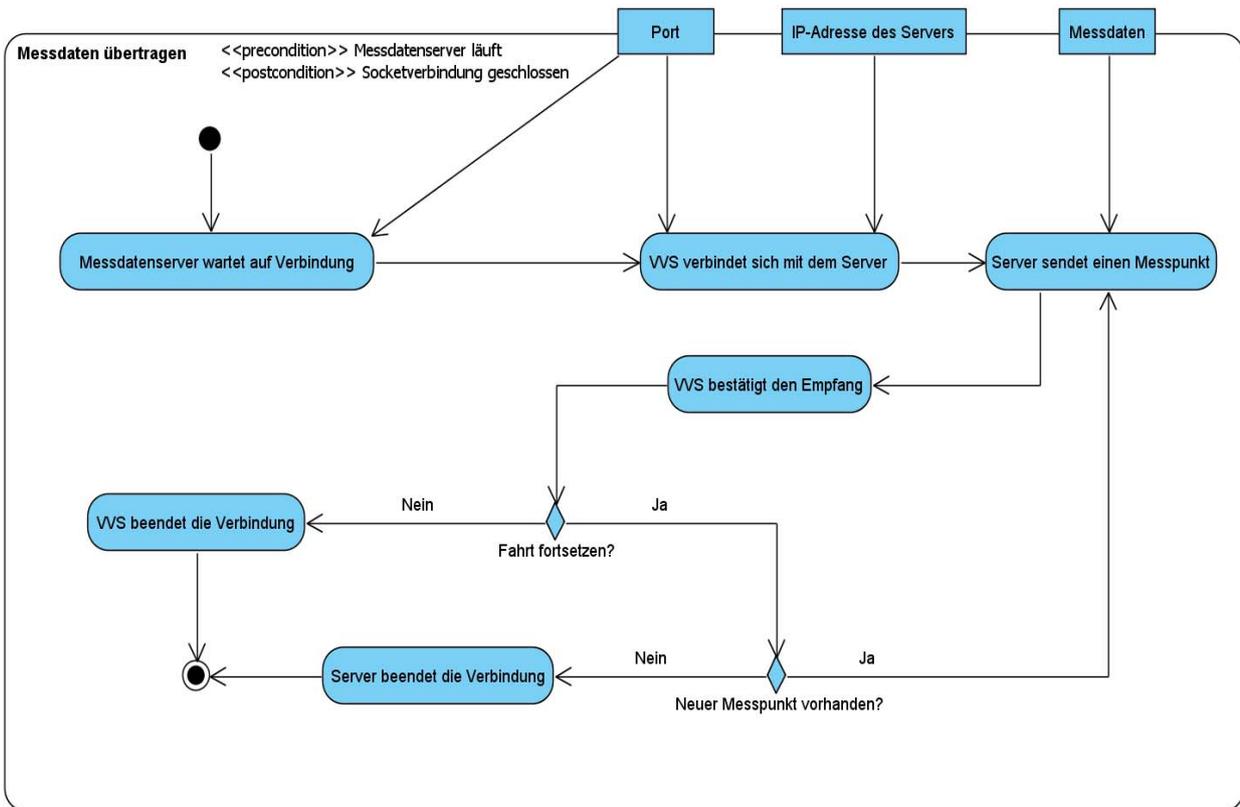
Da VVS in Java geschrieben wurde, kann dies prinzipiell problemlos auf jedem beliebigen Betriebssystem eingesetzt werden.

### 3.2 Client – Server Architektur

Eine Client – Server Architektur besteht aus einem Server und einem Client. Der Client ist in diesem Falle VVS selbst. VVS empfängt Messdaten von dem sogenannten Messserver.

Funktionsweise (siehe **Bild 7**): Der Messserver hat eine IP-Adresse und benötigt einen Port, auf dem er auf eine Verbindung von VVS wartet. Entsprechend benötigt VVS den Port und die IP-Adresse des Servers um eine Verbindung herzustellen. Ist eine

Verbindung hergestellt, sendet der Messdatenserver die Messpunkte an VVS. Da die Kommunikation über TCP-Sockets realisiert ist, bestätigt VVS automatisch den Empfang jedes einzelnen Messpunkts. Der Benutzer von VVS kann zu jeder Zeit entscheiden, ob die Fahrt beendet werden soll. Dabei besteht die Möglichkeit die Fahrt zu speichern und später fortzusetzen. Wird die Fahrt unterbrochen, beendet VVS die Verbindung mit dem Messserver. Wird die Fahrt fortgesetzt, wartet VVS auf weitere Messpunkte. Bekommt der Messserver keine weiteren Messdaten, wird die Verbindung seitens des Messservers geschlossen. Wenn der Messserver weiteren Input erhält, werden die Messpunkte an VVS gesendet und das ganze beginnt wieder von vorne.



**Bild 8:** Diagram Client - Server Architektur

Um VVS in ein neues Messsystem zu integrieren, muss entsprechend nur ein Messserver, der die Schnittstelle zwischen VVS und dem Messsystem darstellt, implementiert werden. Dabei ist zu beachten, dass die Messdaten zeichenbasiert und in folgendem Format an VVS verschickt werden müssen:

ID ↔ X ↔ Y ↔ Z ↔ Std ↔ Min ↔ Sek ↔ Kommentar ←

**Bild 9:** Format der Messdaten

#### 4 Schlussfolgerung

Die Modellierung des Einlagerungs- und Verdichtungsprozesses kann durch die entwickelte Software VVS sehr gut beschrieben werden. Die Software wurde konsequent weiterentwickelt und kann nun ohne größeren Aufwand auch in der Praxis betrieben werden. VVS bietet eine solide und gleichzeitig preiswerte Basis um alle nötigen Informationen in Echtzeit im Verdichtungsfahrzeug zur Verfügung zu stellen. Damit kann der Fahrer des Verdichtungsfahrzeuges sehen, an welchen Stellen des Silos noch nicht ausreichend verdichtet worden ist, und entsprechend diese Stellen weiter verdichten. Dadurch wird eine optimale Verdichtung der Silage gewährleistet und VVS leistet einen wichtigen Beitrag zum nachhaltigen Umgang mit Rohstoffen.

#### 6 Literaturverzeichnis

**LANG S., WITTUM G. (October 2005):** Large scale density driven flow simulations using parallel unstructured grid adaptation and local multigrid methods. *Concurrency Computat.* 17, 11, 1415-1440.

**FEUCHTER D. (2008):** Geometrie- und Gittererzeugung für anisotrope Schichtengebiete, Dissertation, Universität Heidelberg

## Effizienzsteigerung der Biomethanisierung durch Enzymzusätze

### *Increase in efficiency of biomethanation by enzyme application*

Ulrike Schimpf, Rafael Valbuena

Institut für Agrar- und Stadtökologische Projekte an der Humboldt-Universität zu Berlin (IASP),  
Philippstr. 13, 10115 Berlin

<http://www.iasp.asp-berlin.de>,

E-Mail: [ulrike.schimpf@agrار.hu-berlin.de](mailto:ulrike.schimpf@agrار.hu-berlin.de)

**Kurzfassung:** Inhalt und Ziel des Projektes war eine Effizienzsteigerung der Biogasgewinnung durch den Einsatz von Enzympräparaten zur Vorbehandlung von Energiepflanzen (Mais und Roggen) während verschiedener Prozessstufen. Dabei wurde ebenfalls der Einfluss der Konservierung (Silierung) sowie der Einfluss verschiedener Häcksellängen (4 und 8 mm) auf die Methanausbeute untersucht. Zur Auswahl einer Cellulase, Pektinase und Laccase für den Einsatz während der Silierung, direkt vor der Silierung und während des Biogasprozesses kamen Enzymaktivitätsbestimmungen zur Anwendung. Die Rohstoff-, Silage- und Gärproduktqualitäten, stofflichen Umsetzungen während der Silierung und Biogaspotenzialbestimmungen wurden durch weitreichende Inhaltsstoffanalysen ermittelt. Bewertet wurde der Erfolg der enzymatischen Behandlung durch Batch-Gärtests.

Minderträge oder geringe Enzymwirkungen bezogen auf die Methanausbeute waren unter Anwendung der Häcksellänge von 4 mm zu messen. Eine enzymatische Behandlung der Energiepflanzen während der Silierung zeigte Erfolge hinsichtlich des Einsatzes von Enzymen bei den Varianten mit einer Häcksellänge von 8 mm. Eine signifikante Steigerung der Methanausbeute wurde durch den Einsatz eines Enzymcocktails aus Cellulase, Pektinase und Laccase erzielt. Bei der Vorbehandlung von Roggensilage mittels Wasser direkt vor dem Biogasprozess konnten hohe Mehrerträge gegenüber der Kontrollvariante und der Variante mit Enzymzusatz erzielt werden. Werden die Enzympräparate während des Biogasprozesses einzeln oder in Mischung zugesetzt, können die Methanausbeuten bei den Varianten mit einer Häcksellänge von 8 mm ebenfalls wirtschaftlich relevant gesteigert werden. Jedoch zeigte sich hier eine Zerkleinerung der Substrate auf 4 mm als vorteilhaft bezogen auf die Höhe der Methanausbeute. Es ist innerhalb der Sensitivitätsanalyse zu klären, welche Art der Behandlung energetisch und preislich günstiger ist. Es wird eine Dosierung von Enzympräparaten bei sehr faserreichen und langfasrigen Substraten mit hohem Trockensubstanzgehalt wie Roggen empfohlen. Auch begründet durch einen geringen Massenverlust während der Silierung bei der Anwendung von 8 mm Häckseln. Als einflussnehmend auf die Methanausbeuten erwiesen sich die Parameter: Trockensub-

stanz, organische Trockensubstanz, Lignin, Cellulose, Hemicellulose, das Säurespektrum, der Massenverlust während der Silierung sowie in geringerem Maße der Gehalt an wasserlöslichen Kohlenhydraten (starke Korrelationen mit der Methanausbeute bei der Vorbehandlung mit Wasser). Vorrangig wird während der Silierung sowie der Vergärung im Fermenter der Anteil an Cellulose sowie an Hemicellulose bezüglich des Lignocellulose-Komplexes abgebaut.

**Schlüsselwörter:** Enzymatische Vorbehandlung, Energiepflanzen, Lignocellulose, Cellulase, Pektinase, Laccase, Silage

**Abstract:** *The enhancement of the efficiency in biogas production processes was the aim of the project. It was realized by the use of different enzyme preparations for the pre-treatment of maize and rye during several process stages. That comprised investigations regarding the influence of conservation (ensiling) and chip size (4 and 8 mm) on methane values. By the use of enzyme activity analysis specific enzyme preparations (cellulase, pectinase, laccase) could be selected for the application before and after the ensiling plus during the biogas process. Wide determinations of ingredients concerning raw products, silages and digestates gave information for substantial impacts and conversions during the ensiling and biogas processes. The success of enzyme applications could be measured via methanation in laboratory scale (Eudiometer tests). Using 4 mm chip sizes only minor enzyme effects were determined. In contrast the enzymatic pre-treatments of 8 mm chips during ensiling were more effective. The methane yield could be significantly increased with an enzyme cocktail of cellulase, pectinase and laccase. By adding water to rye silage 24 hours before the biogas process started (pre-treatment) high methane values were the consequence compared to the control (without pre-treatment) and the variant with enzymes. The methane values could be also economically increased when enzyme preparations separately or as mixtures will be added during the biogas process to silage with chip sizes of 8 mm (for example with pectinase). But by the use of 4 mm chips and no pre-treatment the highest methane yield could be found at this process stage. In a sensitivity analysis the best pre-treatment referring costs and energy must be found. A dosage of enzymes is recommended by crops with high values of fibers, long-fibrous structures and high dry matter content such as rye (8 mm), also founded by low mass losses during ensiling using 8 mm particles. Parameters which exert influence on methane yield are: dry matter, organic dry matter, content of lignin, cellulose and hemicellulose, organic acid spectrum, mass loss during ensiling and to a lesser extent the carbohydrate content (but a high correlation due to methane yield at the pre-treatment with water). With an enzymatic pre-treatment during ensiling a lot of volatile fatty acids (acetic acid, lactic acid) could be released. Furthermore the content of cellulose and hemicellulose can be preferentially converted during ensiling and fermentation of lignocellulosic materials.*

**Keywords:** *Enzymatic pre-treatment, biogas crops, lignocellulose, cellulase, pectinase, laccase, silage*

## 1 Einleitung und Zielstellung

Ziel des Projektes war die Erhöhung der Methanausbeute während des Biogasprozesses durch eine geeignete, kostengünstige, enzymatische Vorbehandlung ausgewählter Energiepflanzen.

Durch einen gezielten enzymatischen Aufschluss des Lignocellulose-Komplexes von Energiepflanzen war eine bessere Verwertung der Pflanzenbestandteile, vorrangig der von den Mikroorganismen im Biogasprozess schwer abbaubaren Pflanzenzellwände, zu erzielen, da diese neben anderen Bestandteilen wie Fett, Protein und Stärke erneuerbare Energiesubstrate darstellen. Der genannte Komplex besteht hauptsächlich aus den Biopolymeren: Cellulose, Hemicellulose und Lignin. In Energiepflanzen stellen diese Bestandteile die mengenmäßig stärkste Fraktion der organischen Substanz dar. Diese Fraktion der organischen Substanz wird im Biogasprozess von unterschiedlichsten Mikroorganismen nur bis zu einem bestimmten Grad abgebaut. Grund für einen limitierten Abbau ist die Komplexität der Struktur der Lignocellulose (AMON *et al.* 2007, HOWARD *et al.* 2003). Um die Komplexität zu mindern (Depolymerisierung) und die einzelnen Biopolymere für den Abbau durch Mikroorganismen zugänglich zu machen, war es Ziel des Teilprojektes, Enzyme verschiedener Klassen (Hydrolasen, Oxidoreduktasen) und verschiedener Herkunft (Bakterien, Pilze, Pilzmyzel) einzusetzen. Die enzymatische Hydrolyse der Cellulose zum Beispiel kann nur mittels hoch spezifischer Cellulasen ausgeführt werden, wobei die enzymatische Hydrolyse als heterogene Reaktion den direkten physikalischen Kontakt von Enzym und Substrat voraussetzt. Dazu muss das Enzym von der wässrigen Lösung zur Partikeloberfläche und durch physikalische Barrieren wie Lignin diffundieren, auf der Oberfläche des Substrates adsorbieren und anschließend die Hydrolyse katalysieren. Diese komplexen Reaktionen können durch physikochemische Eigenschaften des Substrates wie Kristallinität, Grad der Polymerisierung, Oberflächengröße und den Anteil an Lignin und Hemicellulose beeinflusst werden. Die Arbeiten von MUSSATTO *et al.* (2008) zeigten einen wesentlichen Einfluss der Matrix aus Lignin und Hemicellulose auf die enzymatische Hydrolyse von Cellulose. Mit geringerem Gehalt an Lignin und Hemicellulose verbesserte sich die Effizienz der enzymatischen Hydrolyse von Cellulose zu Glucose (MUSSATTO *et al.* 2008).

Einzubeziehen waren bei der Zielstellung die Haltbarmachung des Rohstoffes zur ganzjährigen Beschickung der Biogasanlage sowie die Berücksichtigung verschiedener Häcksellängen. Weiterhin waren die Auswahl geeigneter kostengünstiger Enzymvarianten zum Einsatz in verschiedenen Prozessstufen und die Entwicklung einer enzymatischen Behandlungsstrategie zur Begünstigung der Methanbildung durch den Einsatz geeigneter Enzyme oder Enzymmischungen von Bedeutung. Erreicht werden sollten ein maximaler Aufschluss des Lignocellulose-Komplexes in der Biomasse zur optimalen Versorgung der Mikroorganismen mit verstoffwechselbaren Substraten und somit eine Effizienzsteigerung des anaeroben Abbaus pflanzlicher Substrate. Die Betrachtung der Kinetik/Abbauraten der Stoffumwandlungen sowie eine Verbesserung der Transportprozesse (Pumpfähigkeit etc.) des Substrates im Biogasprozess waren ebenso Ziel des Projektes. Schlussfolgernd

ist anzumerken, dass die Schaffung von Prozessen mit geringem Energieverlust (Silierung, Biogasprozess) primäres Ziel der Arbeit war.

## 2 Material und Methoden

Gearbeitet wurde mit den Energiepflanzen Mais und Roggen, welche aus Fehrbellin (Rhinmilch GmbH Agrargesellschaft) bzw. Dolgeln (Landwirt M. Schulz) bezogen wurden. Gehäckselt wurde bei der Ernte auf 4 sowie auf 8 mm.

Die unterschiedlichen Enzympräparate weisen, wie in **Tabelle 1** aufgeführt, eine differierende Herkunft und verschiedene Einsatzgebiete auf. Diese wurden durch Enzymaktivitätsbestimmungen mittels der Modellsubstrate Carboxymethylcellulose, Filterpapier, Arabinoxylan, Arabinogalactan, Glucomannan, Pektin, 2,6-Dimethoxyphenol und Guajacol bei unterschiedlichen Bedingungen (Silierung: pH 4,5; 30°C, Biogasproduktion: pH 7,5; 38°C) charakterisiert (KÖNIG *et al.* 2002, Universität Göttingen 1997, GHOSE 1987, MILLER 1959) und in Folge dessen für einzelne Anwendungen im Silier- und Biogasprozess nach Höhe der Enzymaktivitäten ausgewählt.

**Tabelle 1:** Herkunft und Einsatzgebiete der Enzympräparate

Enzympräparat	Mikroorganismus	Einsatzgebiet
<b>A1-Cellulase</b>	Trichoderma reesei	Brot- und Backwarenindustrie
<b>A2-Cellulase</b>	Aspergillus niger	Brot- und Backwarenindustrie
<b>A3-Cellulase</b>	Acremonium spec.	Brot- und Backwarenindustrie
<b>B1-Pektinase</b>	Aspergillus niger Trichoderma longibrachiatum	Produktion von Püree, Fruchtpulver und klarem/trüben Fruchtsaftkonzentrat von Mango, Guave und anderen tropischen Früchten und Steinfrüchten
<b>B2-Hemicellulase</b>	Bacillus subtilis Disporotrichum dimorphosp.	Bierherstellung (Filtrationsprozesse)
<b>B3-Cellulase</b>	Trichoderma longibrachiatum	Frucht- und Gemüsesaftextraktion
<b>B4-Pektinase</b>	Aspergillus niger	Tresterbehandlung (Apfel, Birne)
<b>C1-Cellulase</b>	Trichoderma reesei	Biogasproduktion
<b>C2-Pektinase</b>	Aspergillus niger	Fruchtsaftgewinnung (Orangen und andere Früchte)
<b>(Laccase A)</b>	Agaricus bisporus	Oxidation von ein- und mehrwertigen phenolischen Verbindungen (Analytik von Phenolen etc.)
<b>L-Laccase C</b>	Trametes spec.	Umsetzung von phenolischen Verbindungen in huminstoffähnlichen Polymeren, Oxidation von ortho- und para-Diphenolen

A = SternEnzym GmbH & Co. KG, B = DSM, C = Biopract GmbH, L = ASA Spezialenzyme GmbH

Die Rohstoffe, Silagen, Gärprodukte und Inokula wurden bezüglich einer Reihe von Inhaltsstoffen charakterisiert. Zur Bestimmung der Silagequalität wurden die Massenverluste während der Silierung gemessen, die Dichten, pH-Werte und die Keimzahl der Silagen (Hefen, Schimmelpilze) ermittelt. Ebenso konnte anhand des DLG-Schlüssels die Qualität hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung bewertet werden. Zur Messung der Enzymwirkung wurden einerseits die Abbaugrade der Biopolymere während der Silierung wie auch Methanisierung ermittelt und andererseits die Biogaspotenziale der Proben mittels Eudiometer-Gärtests bestimmt (VDI 4630, DIN 38414).

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Enzymauswahl

Anhand der Enzymaktivitätsbestimmungen wurden die in der nachstehenden **Tabelle 2** aufgeführten Enzympräparate ausgewählt. Dabei handelt es sich jeweils um eine Cellulase, Pektinase und Laccase.

**Tabelle 2:** Enzymauswahl

Silierung	Biogasproduktion (Batch-Gärtest)
A3	A1
B4	B1
L	L

Cellulase A3 und Pektinase B4 wiesen neben hohen Enzymaktivitäten die Charakteristik auf, das ein pH-Optimum bei pH 4 nachweisbar war. Demnach waren diese Enzyme besonders für die Anwendung während der Silierung geeignet. Die pH-Optima der Cellulase A1 und Pektinase B1 liegen etwas höher (zwischen 5 und 6), daher sind diese besser für die Zugabe direkt im Gärgefäß (Biogasprozess) geeignet. Gründe für den Einsatz von Laccase C liegen einerseits in den höheren Enzymaktivitäten gegenüber Laccase A und andererseits in der besseren Lagerstabilität.

Abweichend von den genannten ausgewählten Enzympräparaten wurden bei der Maissilage von 2005 die Präparate B3 und B4 zur enzymatischen Vorbehandlung eingesetzt.

#### 3.2 Silagequalität

Die Maissilagen der Erntejahre 2005 und 2006 wiesen eine Dichte zwischen 192 und 241 kg Trockensubstanz (TS)/m<sup>3</sup> auf. Zwischen 183 und 196 kg TS/m<sup>3</sup> lagen die Dichten der Roggensilagen der Jahre 2006 und 2007. Es konnte nicht eindeutig nachgewiesen

werden, dass sich eine spezifische Häcksellänge (4/8 mm) positiv auf die Dichte auswirkt. Hinsichtlich der Hefekeimzahl konnten unbedenkliche Keimgehalte zwischen  $10^2$  und  $10^4$  Kolonie bildende Einheiten/ml Frischmasse (FM) gemessen werden. Die chemische Beurteilung mittels DLG-Schlüssel ließ den Schluss zu, dass es sich bei den hergestellten Silagen um eine sehr gute Qualität handelte.

Innerhalb der Konservierungszeit von 90 Tagen und ab dem 90. Tag bis zum 365. Tag der Lagerung (275 Tage) wurde der Massenverlust der einzelnen Varianten der Silagen gemessen. Unter Anwendung von 4 mm-Häckseln war bei Mais- wie auch Roggensilagen ein höherer Massenverlust während der Konservierung festzustellen, dies bezieht sich auf die Varianten mit und ohne Enzym. Durch eine Enzymzugabe vor der Silierung erhöhten sich größtenteils die Massenverluste während dieses Prozesses. Hervorzuheben sind hohe Massenverluste durch den Zusatz einer Mischung aus Cellulase und Pektinase sowie Cellulase und Laccase oder Celullase, Pektinase und Laccase. Zwischen den 4 und 8 mm-Häckseln der Varianten der Roggensilage gab es deutliche Differenzen. Wurden 8 mm-Häcksel verwendet, zeigten die verschiedenen Varianten lediglich einen Massenverlust von rund 3%, wohingegen die Varianten mit einer Länge von 4 mm Massenverluste von rund 12% aufwiesen. Die Massenverluste nehmen durch eine Steigerung der Enzymkonzentration zu. Es wurde weiterhin nachgewiesen, dass die Massenverluste mit steigender Trockensubstanz des Substrates sinken.

### 3.3 Biogaspotenzialbestimmungen

#### *Enzymatische Behandlung vor der Silierung*

Mais der Erntejahre 2005 und 2006 sowie Roggen der Jahre 2006 und 2007 wurden vor der Einsilierung im Labormaßstab mit Enzymlösungen besprüht und in Weckgläser (1,5 L) einsiliert. Dabei wurden bei der Maissilage von 2005 Enzymkonzentrationen von 4 g/kg FM (B3-Cellulase) und 3,1 g/kg FM (B4-Pektinase) eingesetzt. Die darauf folgenden Silagen wurden mit einzelnen Enzympräparaten und Präparatmischungen mit einer Konzentration je Enzym von 0,07 g/kg FM versetzt. Roggensilage des Jahres 2007 wurde mit einer Enzymkonzentration von 0,07 g/kg FM sowie 0,14 g/kg FM je Enzym in Einzel- oder Mischpräparaten behandelt.

Unter Berücksichtigung der Massenverluste während der Silierung wurden die Methanausbeuten der Silagen bestimmt und auf eine Tonne Ausgangsmais bzw. -Roggen bezogen. Hinsichtlich der Anwendung von 4 mm-Häckseln wurden im Allgemeinen durch Enzymzusätze Mindererträge oder geringe Mehrerträge, verglichen mit der Kontrollvariante ohne Enzym, erzielt.

Bei der Maissilage 2005 konnte über die Enzymzugabe die Methanausbeute bei den Häckseln mit einer Länge von 8 mm um bis zu 18% gesteigert werden. Als beste Variante erwies sich die Applikation einer Pektinase (B4), welche als Nebenaktivitäten Cellulase und Hemicellulaseaktivitäten aufwies. Konträr dazu konnte bei der Maissilage von 2006

kein Mehrertrag bezüglich der Methanausbeute erzielt werden. Dies wird begründet durch a) eine differierende chemische Beschaffenheit bezüglich der Silagen, b) eine unterschiedliche Aktivität der eingesetzten Inokula im Batch-Test sowie eine bessere Zugänglichkeit der in Lignocellulose enthaltenen Biopolymere, da relativ hohe Abbauraten, auch bei der Kontrollvariante, bezüglich der Cellulose während der Silierung gemessen werden konnten (8-28%). Desweiteren zeigten sämtliche Varianten während der Methanisierung eine gute Abbaubarkeit bezogen auf Cellulose von rund 62-98%. Aufgrund der hohen Abbauraten werden eine Vielzahl an niedermolekularen Produkten wie Glucose gebildet, welche in der Lage sind, ab bestimmten Konzentrationen enzymatische Umsetzungen zu inhibieren (PALMQUIST & HAHN-HÄGERDAL 2000) und somit die Methanausbeute zu senken.

Bei der Roggensilage von 2006 konnten die Methanausbeuten durch den Zusatz von Enzymmischungen bei den Häckseln mit einer Länge von 8 mm gesteigert werden, als besonders geeignet erwies sich die Variante mit einem Zusatz an Cellulase, Pektinase und Laccase. Mittels dieser Mischung konnte die Methanausbeute signifikant um 28% gesteigert werden. Diese Variante enthielt den höchsten Anteil an Essigsäure in der Frischmasse (20% höher als die Kontrollvariante). Durch eine Zugabe von Cellulase und Pektinase oder Pektinase und Laccase wurde die Methanausbeute um rund 10% erhöht. Zur Überprüfung der Ergebnisse wurden die genannten Mischungen bei der darauffolgenden Roggensilage (2007) in gleicher Konzentration sowie in doppelt so hoher Dosierung eingesetzt. Die Ergebnisse konnten nicht reproduziert werden. Mit erhöhter Enzymdosierung an Cellulase und Pektinase konnte ein Mehrertrag bezogen auf die Methanausbeute von 8% erzielt werden. Gründe hierfür liegen in a) den differierenden Zusammensetzungen der Silagen, b) den verwendeten unterschiedlichen Inokula und c) einer besseren Zugänglichkeit der Lignocellulose. Es wurden bei der Roggensilage von 2007 höhere Abbauraten, auch bei der Kontrollvariante ohne Enzymzusatz, von zum Beispiel Cellulose und der Organischen Substanz gemessen. Das weist darauf hin, dass die Silage von 2007 leichter vergärbar ist. Es werden infolgedessen viele Substrate freigesetzt, so dass sich die Enzymzugabe nur geringfügig auf die Methanausbeute auswirkt bzw. eine negative Wirkung zeigt. Eine zu Mindererträgen führende Wirkung begründet sich durch eine Substrat- bzw. Produkthemmung der Enzympräparate.

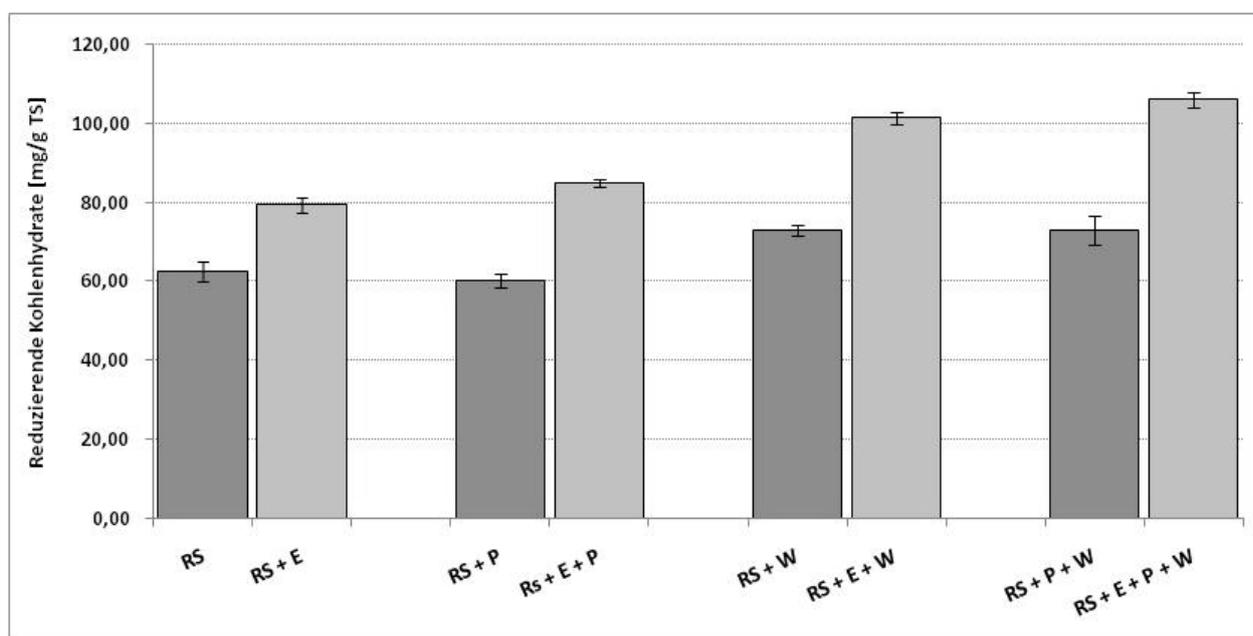
Statistische Auswertungen ergaben, dass folgende Parameter die Methanausbeute beeinflussen: Lignin > Trockensubstanz bzw. Organische Trockensubstanz > Cellulose > Essigsäure > Milchsäure > Hemicellulose. Die angegebene Reihenfolge beginnt mit dem Parameter mit der höchsten Korrelation. Demnach ist die Methanausbeute hauptsächlich vom Lignin- und Trockensubstanzgehalt abhängig. Während sich jedoch ein hoher Lignin-gehalt negativ auf die Methanausbeute auswirkt, wirken z.B. hohe Konzentrationen an organischen Säuren positiv.

Es wurde nachgewiesen, dass durch eine enzymatische Behandlung die Gehalte an Fettsäuren und Alkoholen gesteigert werden konnten, d.h. leicht vergärbare Moleküle gebildet wurden. Im Gegensatz dazu, gab es keine Wirkungen bezogen auf den Gehalt an Ammoniak.

### Enzymatische Behandlung nach der Silierung

Roggensilage aus dem Erntejahr 2007 wurde 24 Stunden vor der Methanisierung mit verschiedenen Methoden vorbehandelt. Zur Anwendung kamen eine Pasteurisierung (90°C, 1 bar, 20 Min), eine Wasserbehandlung (350 g Wasser + 350 g Substrat) und eine Enzymbehandlung (0,35 g/kg FM, A3-Cellulase+B4-Pektinase). Ebenso wurden die einzelnen Behandlungsmethoden kombiniert.

Durch die Vorbehandlung wurde eine Reihe an wasserlöslichen reduzierenden Kohlenhydraten freigesetzt. Durch gleichzeitiges Pasteurisieren, Wasser und Enzym hinzugeben konnte eine Steigerung des Kohlenhydratgehaltes um 70% gemessen werden. Ohne ein Pasteurisieren wurde eine Steigerung von 62% nachgewiesen, das lässt darauf schließen, dass ein Teil der gebildeten Kohlenhydrate mikrobiell umgesetzt wurde. Dieser Effekt wiederholt sich beim Vergleich der Proben mit Enzymzusatz sowie ohne und mit Pasteurisierung. Gegensätzlich dazu werden bei einer Wasserbehandlung mit und ohne Pasteurisieren (ohne Enzym) gleiche Gehalte an reduzierenden Kohlenhydraten gemessen (siehe **Bild 1**).



RS = Roggencsilage, E = Enzymzusatz, P = Pasteurisieren, W = Wasserzusatz

**Bild 1:** Gehalte an reduzierenden Kohlenhydraten/Vergleich der Varianten mit und ohne Enzymzusatz

Weiterhin wurde nachgewiesen, dass ein Enzymeinsatz bei einer unbehandelten bzw. mit Wasser und/oder Pasteurisieren behandelten Probe den Gehalt an wasserlöslichen reduzierenden Kohlenhydraten um 27-45% steigert. Bei dieser Art der Vorbehandlung lässt sich eine Abhängigkeit der Methanausbeute von den Kohlenhydratgehalten mit einer mittleren Korrelation von  $r = 0,6$  nachweisen.

Aufgesprühte Enzympräparate, ein Wasserzusatz oder das Pasteurisieren der Silage führten zu einem Mehrertrag bezüglich der Methanausbeuten. Im besonderen Maße zeigten Zusätze von Wasser separat oder in Mischung mit biologischen Hilfsmitteln oder physikalischen Verfahren eine Wirkung hinsichtlich der Methanausbeute. Zunahmen an Methan von bis zu 25% konnten nachgewiesen werden. Wasser dient bei der Vorbehandlung von Silage als Quellungsmittel und ermöglicht somit chemische Zellreaktionen, welche die Bindungen der Lignocellulose lösen bzw. spalten können (EL SEOUD *et al.* 2008, SUN & CHENG 2002). Dadurch können Monosaccharide freigesetzt werden, welche leicht vergärbare Substrate im Biogasprozess darstellen. Ebenso werden Kohlenhydrate aus dem Substrat durch eine 24-stündige Wasserbehandlung extrahiert und stehen somit in besser zugänglicher Form für die Biogasbildung zur Verfügung. Zugleich werden die getreideeigenen Enzyme aufgrund des erhöhten Grades an frei verfügbarem Wasser (Wasseraktivität) aktiviert und dienen dem Abbau verschiedener Polymere, wodurch niedermolekulare Produkte, welche leicht vergärbare sind, entstehen.

Wurde nur Enzym appliziert, stiegen die Methanausbeuten um 9%. Werden einzelne Verfahren kombiniert, zeigte sich lediglich bei der Kombination aus Wasserzusatz und dem Pasteurisieren eine synergistische Wirkung. In der folgenden Tabelle sind die einzelnen Varianten sowie deren Methanausbeuten etc. aufgeführt. Proben mit einer Behandlung mit Wasser oder einer Kombination von Behandlungsmethoden, welche einen Wasserzusatz beinhalten, weisen gegenüber den nicht mit Wasser versetzten Proben hohe Abbauraten bezüglich Cellulose während des Biogasprozesses von über 80% auf. Der höchste Abbau an organischer Trockensubstanz wurde mittels der Variante mit einem Zusatz von Wasser während des Biogasprozesses gemessen, dieser liegt bei 73%.

**Tabelle 3:** Methanausbeuten der Varianten der Roggensilage (2007)

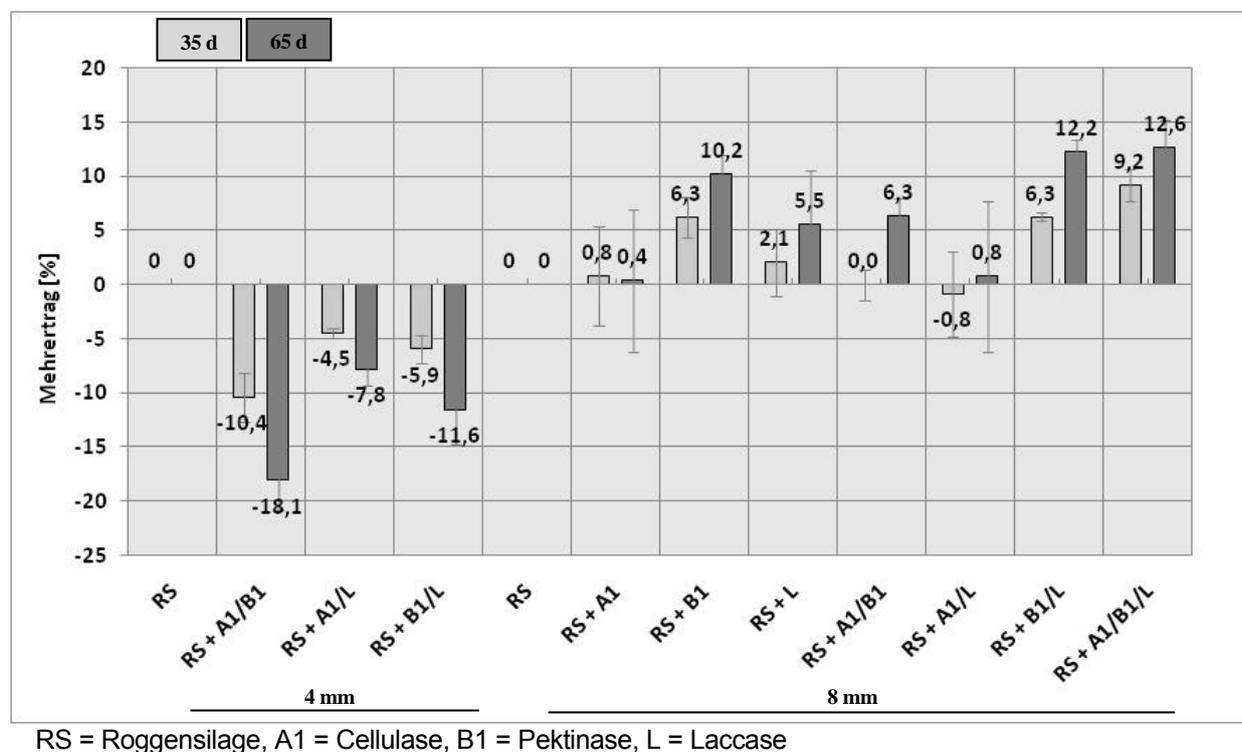
Ausbeuten	n	Biogas	Methan	Methan	Methangehalt	Differenz
		[m <sup>3</sup> /t oTS]	[m <sup>3</sup> /t oTS]	[m <sup>3</sup> /t FM]	[Vol %]	[%]
<b>RS 8 mm</b>	3	433 ± 27	258 ± 17	<b>87 ± 6</b>	58,2	<b>0</b>
<b>RS + P</b>	2	439 ± 48	262 ± 12	<b>88 ± 4</b>	59,7	<b>+ 1,55</b>
<b>RS + E</b>	3	470 ± 16	282 ± 15	<b>95 ± 5</b>	59,9	<b>+ 9,30</b>
<b>RS + P + E</b>	3	461 ± 28	270 ± 22	<b>91 ± 7</b>	58,5	<b>+ 4,65</b>
<b>RS + W</b>	2	545 ± 51	320 ± 33	<b>107 ± 11</b>	58,8	<b>+ 24,03</b>
<b>RS + P + W</b>	2	584 ± 49	322 ± 28	<b>108 ± 9</b>	55,0	<b>+ 24,81</b>
<b>RS + W + E</b>	2	515 ± 51	301 ± 32	<b>101 ± 11</b>	58,5	<b>+ 16,67</b>
<b>RS + P + W + E</b>	3	493 ± 50	275 ± 31	<b>92 ± 11</b>	55,8	<b>+ 6,59</b>
<b>MCC</b>	<b>2</b>	<b>672 ± 9</b>	<b>367 ± 7</b>	-	<b>54,6</b>	-

RS = Roggensilage, E = Enzymvariante, P = Pasteurisieren, W = Wasserzusatz, MCC = Mikrokristalline Cellulose (Standard), oTS = Organische Trockensubstanz, FM = Frischmasse, n = Probenanzahl

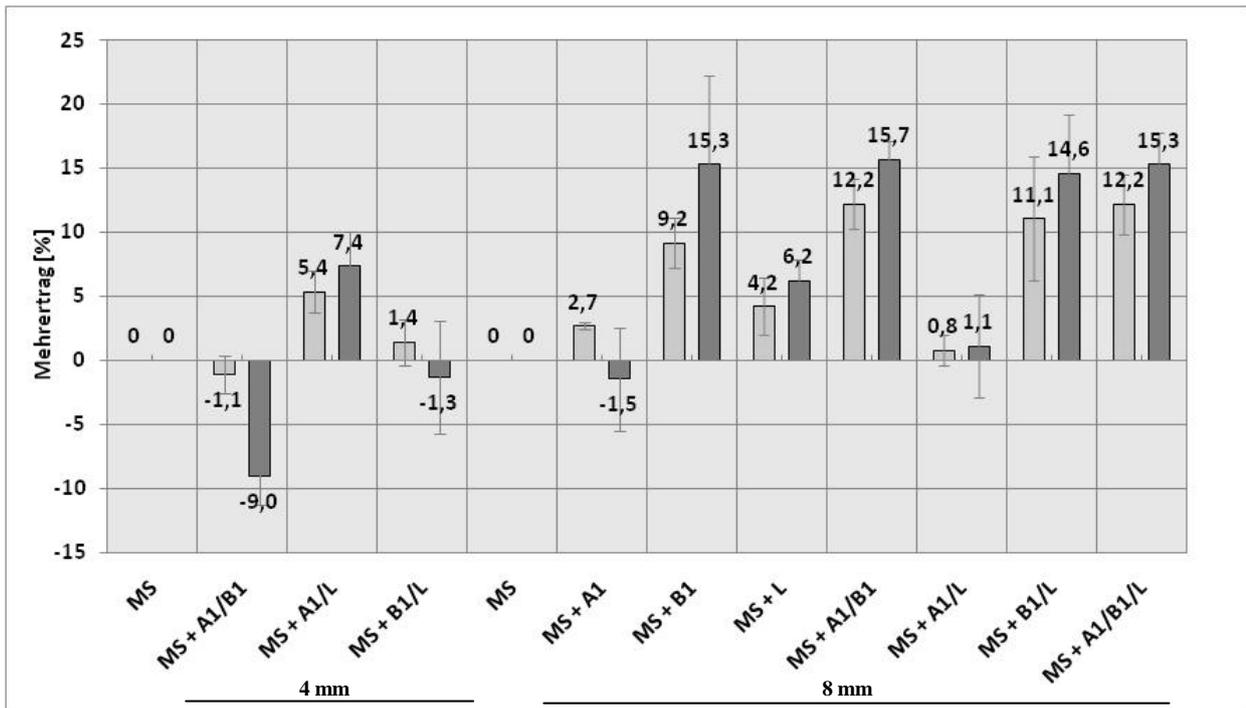
### Enzymatische Behandlung direkt im Gärgefäß

Mais- und Roggensilage des Erntejahres 2006 wurde mit 0,07 g/kg Frischmasse je Enzym (A1, B1, L) direkt im Gärgefäß mit Einzel- oder Mischpräparaten enzymatisch vorbehandelt. Geringe bis keine Enzymwirkungen waren unter Anwendung von 4 mm-Häckseln zu messen. Bei Roggensilage führte eine enzymatische Behandlung von 4 mm-Partikeln darüber hinaus zu Mindererträgen. Wurden hingegen 8 mm-Häcksel verwendet, konnte sowohl bei Mais- wie auch bei Roggensilage ein Mehrertrag bezüglich der Methanausbeute erzielt werden. Vorrangig wurden hohe Mehrerträge bei Enzymmischungen mit einer Pektinase und bei Pektinase als Einzelpräparat erzielt. Durch den Zusatz einer Mischung aus Cellulase, Pektinase und Laccase konnte bei der jeweiligen Silage der höchste Mehrertrag von 12% (Maissilage) bzw. 9% (Roggensilage) gemessen werden. Als kostengünstige Alternative könnte anstelle der Dreifachmischung eine Pektinase eingesetzt werden, welche Mehrerträge von 9% bzw. 6% aufwies.

Die enzymatisch nicht behandelten Varianten mit einer Häcksellänge von 4 mm überstiegen die Methanausbeuten der enzymatisch erfolgreich behandelten Varianten mit einer Häcksellänge von 8 mm, daher wären die Kosten für einen Enzymeinsatz im Hinblick auf die Wirtschaftlichkeit den Kosten der Zerkleinerung gegenüberzustellen. Dies geschieht gegenwärtig in einer Sensitivitätsanalyse. Durch eine Erhöhung der Verweilzeit im Batch-Test von 35 Tagen auf 65 Tage wurden die Enzymwirkungen unterschiedlich beeinflusst, dargestellt in den **Bild 2** und **3**.



**Bild 2:** Mehrerträge bezüglich der Methanausbeuten bei Roggensilage nach einer Verweilzeit von 35 d und 65 d



MS = Maissilage, A1 = Cellulase, B1 = Pektinase, L = Laccase

**Bild 3:** Mehrerträge bezüglich der Methanausbeuten bei Maissilage nach einer Verweilzeit von 35 d und 65 d

Bis auf wenige Ausnahmen werden die Enzymwirkungen durch eine längere Verweilzeit verstärkt. Dies wird darauf zurückgeführt, dass anfänglich leicht vergärbare Substrate abgebaut werden und anschließend die vergärbaren Substrate. Der Abbau schwer vergärbare Anteile ist ein langsamer Prozess, welcher durch den Zusatz von Enzymen beschleunigt werden kann. Lignocellulosen werden dabei so modifiziert und abgebaut, dass diese über die gesamte Verweilzeit von 65 d Produkte aus dem Substratabbau für eine Methanisierung liefern, wohingegen die Abbaurrate bezüglich der Lignocellulose bei der Kontrollvariante ohne Enzymzusatz mit der Zeit abnimmt. Werden negative Effekte verstärkt, nimmt die Inhibierung der Enzymaktivitäten durch Substrat- oder Produkthemmungen zu.

#### 4 Fazit

Aufgrund der sich jährlich ändernden chemischen Zusammensetzung der Rohstoffe und demzufolge der Silagen und der damit verbundenen Schwankungen hinsichtlich der Methanausbeuten und der Mehrerträge durch enzymatische Vorbehandlungen ist eine Anwendungsempfehlung nur bedingt möglich. Einfluss haben vorrangig folgende Parameter auf die Methanausbeute: Trockensubstanz, organische Trockensubstanz, Faserbestandteile (hauptsächlich Lignin und Cellulose), Säurespektrum, Massenverluste und in geringem Maße die wasserlöslichen Kohlenhydrate.

Es kann gesagt werden, dass keine oder eine nur geringe Enzymwirkung (-21 bis +5%) bei der enzymatischen Behandlung von Mais- und Roggensilage bei der Nutzung der Häcksellänge von 4 mm gemessen wurde, und demzufolge eine enzymatische Behandlung von 4 mm-Häckseln nicht empfohlen werden kann. Ein Enzymzusatz während der Silierung ist bei dem Rohstoff Roggen mit einer Häcksellänge von 8 mm zu befürworten, da hierbei höhere Methanausbeuten verglichen mit der Kontrollvariante ohne Enzym und den enzymatisch behandelten Varianten mit einer Häcksellänge von 4 mm gemessen werden konnten. Als erfolgreich erwiesen sich hinsichtlich des Einsatzes in Silagen Enzymzusätze wie Cellulase/Pektinase, Pektinase/Laccase bzw. Cellulase/ Pektinase/Laccase. Eine signifikante Steigerung der Methanausbeute von 28% wurde mittels der Enzymmischung Cellulase, Pektinase und Laccase erzielt. Als vorteilhaft erwiesen sich bei der enzymatischen Behandlung von Mais- und Roggensilage während der Silierung hohe Essigsäuregehalte in der Silage. Bei der Anwendung von Häckseln mit einer Länge von 8 mm konnte bezüglich der Massenverluste eine bessere Silagequalität gegenüber denen mit einer Länge von 4 mm erzielt werden. Wird das Biogassubstrat (Roggensilage) direkt vor dem Biogasprozess mit Wasser vermengt, kann eine Steigerung von bis zu 24% erreicht werden. Als zu kostenintensiv wird der Einsatz von Enzymen in dieser Prozessstufe angesehen, begründet durch einen hohen Enzympreis (Mischung aus Cellulase und Pektinase), eine hohe Enzymkonzentration (1 kg/t FM) und den geringen Mehrertrag von 9%. Die Methanerträge der mit Wasser, Enzymen und dem Pasteurisieren behandelten Roggensilage korrelierten mit den gemessenen wasserlöslichen Kohlenhydraten der einzelnen Varianten. Werden Enzyme während des Biogasprozesses eingesetzt, können Mehrerträge von 9 bis 12% bei der Anwendung von Mais mit einer Häcksellänge von 8 mm und den Enzympräparaten Pektinase bzw. Cellulase/Pektinase erzielt werden. Aus Kostengründen und wegen der guten Wirksamkeit von Pektinasen in verschiedenen Anwendungen werden diese für den Einsatz im Biogasprozess präferiert. Die genannten Vorzugsvarianten weisen eine verbesserte Biogasqualität auf, d. h. es konnte ein höherer Methangehalt als in der Kontrollvariante gemessen werden.

Die Ergebnisse geben Hinweise darauf, dass sehr faserreiches pflanzliches Material wie Roggensilage während der Silierung unter Verwendung von Pflanzenhäckseln mit einer Länge von 8 mm enzymatisch behandelt werden sollte, wohingegen eine enzymatische Behandlung von Maissilage erst während des Biogasprozesses erfolgreich scheint. Ist jedoch eine Zerkleinerung des pflanzlichen Materials, vor allem des Maises, auf 4 mm energetisch und preislich rentabler, sollte diese Variante bevorzugt werden.

Durch das Urteil des Oberlandesgerichtes von Naumburg vom 2. April 2008 sind Prozesshilfsstoffe zugelassen, welche keine Energieträger darstellen. Dazu zählen die in diesem Teilprojekt verwendeten Enzympräparate.

## 5 Literatur

- AMON T. *et al.* (2007):** Biogas production from maize and dairy cattle manure-Influence of biomass composition on the methane yield. *Agr. Ecos. & Environment* 118, 173 – 182
- Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung, Gruppe S - Schlamm und Sedimente (1985):** Bestimmung des Faulverhaltens, DIN 38414, Teil 8
- EL SEOUD O.A., FIDALE L.C., RUIZ N., D´ALMEIDA M.L.O., FROLLINI E. (2008):** Cellulose swelling by protic solvents: which properties of the biopolymer and the solvent matter? *Cellulose* 15, 371-392
- GHOSE T.K. (1987):** Measurements of cellulase activities. *IUPAC, Pure & Appl. Chem. Vol. 59, No. 2*, 257-268
- HOWARD R.L. *et al.* (2003):** Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *African Journal of Biotechnology* Vol. 2, 602 – 619
- KÖNIG J., GRASSER R., PIKOR H., VOGEL K. (2002):** Determination of xylanase,  $\beta$ -glucanase, and cellulase activity. *Anal. Bioanal. Chem.* 374, 80-87
- MILLER G.L. (1959):** Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytic Chemistry* 31, 426-428
- MUSSATTO S.I., FERNANDES M., MILAGRES A.M. F., ROBERTO I. C. (2008):** Effect of hemicelluloses and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. *Enzyme and Microbial Technology* 43, 124-129
- PALMQUIST E., HAHN-HÄGERDAL B. (2000):** Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresource Technology* 74, 17-24
- SUN Y., CHENG J. (2002):** Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology* 83, 1-11
- Univerisät Göttingen, Forstbotanik (1997):** Laccaseaktivitätsnachweis.
- VDI-Gesellschaft Energietechnik (2004):** VDI-Richtlinie 4630: Vergärung organischer Stoffe, ICS 13.030, 27.220.

## Potentiale zur alleinigen Fermentation von Grassilage: Aspekte der Silagequalität und Fermentationsbedingungen

### *Potentials of the sole fermentation of grass silage: aspects of silage quality and fermentation conditions*

Diana Andrade, Hauke Heuwinkel, Andreas Gronauer

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Landtechnik und Tierhaltung

Vöttinger Str. 36, 85354 Freising

E-mail: Diana.Andrade@lfl.bayern.de

**Kurzfassung:** Das Interesse an der Monofermentation von Grassilage wächst stetig. Die optimale Gestaltung der Randbedingungen von Substratwerbung über Konservierung bis hin zu Fermentation zur Maximierung der Methanausbeute waren Ziele diese Arbeit. Grassilage aus Weidelgras wurde in drei theoretischen Schnittlängen (4, 9, 15 mm) mit und ohne Einsatz von homo- oder heterofermentativen Milchsäurebakterien siliert und meso- oder thermophil vergoren. Die Vorbehandlung des Substrates war ohne Einfluss auf die Gasbildung im Batch- und Durchflussversuch. Dagegen beeinflusste die Gärtemperatur maßgeblich die Stabilität des Prozesses und die höchstmögliche Raumbelastung. Es zeigte sich, dass unter thermophilen Bedingungen vermutlich die  $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration zur frühzeitigen Versäuerung des Abbauprozesses führt. Aus demselben Grund konnten unter mesophilen Bedingungen zwar deutlich höhere, aber im Vergleich zu Mais relativ geringe maximale Raumbelastungen von  $2,5 \text{ kg oTS m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  erzielt werden. Eine Minderung der N-Zufuhr durch eine Mischung mit Stroh brachte nur vorübergehend die erhoffte positive Wirkung. Folglich ist in der Praxis bei Monovergärung von Gras weniger die Substratbehandlung als die Substratqualität (hier besonders der N-Gehalt) von Relevanz, sowie die Fermentationsbedingungen. Eine thermophile Fahrweise der Nassvergärung ist mit Grassilage nicht zu empfehlen.

**Schlüsselwörter:** Grassilage, Monofermentation, Silagevorbehandlung, thermophil, mesophil

**Abstract:** *The sole fermentation of grass silage is of increasing importance. The aim of this work was to determine optimal conditions during harvesting, conservation and fermentation of grass in respect of maximal specific methane yield. Grass silage was made from ryegrass which was cut at three theoretical length (4, 9, 15 mm) and conserved with and without the application of homo- and heterofermentative lactobacilli. The fermentation was compared at meso- or thermophilic conditions. Any pre-treatment of the grass did not affect the gas formation either in batch or flow-through experiments. But, the temperature of*

*fermentation strongly affected the stability of the process and the maximal loading rate. Data analysis revealed an early acidification caused by high ammonia concentration at thermophilic fermentation conditions. Even under mesophilic conditions the ammonia concentration was finally limiting the maximal loading rate, which reached with  $2,5 \text{ kg oTS m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  relatively low values as compared to the fermentation of corn silage. To reduce the amount of N daily added a mixture of grass silage and wheat straw was fed. But, the expected positive effect occurred only momentary. For sole grass fermentation in practice the substrate pre-treatment will be less critical as compared to the N-concentration of the grass and the temperature of fermentation. A thermophilic wet fermentation of grass silage can not be recommended.*

**Keywords:** *grass silage, monofermentation, pre-treatment, thermophil, mesophil*

## 1 Einleitung

Die hohen Investitions- und Substratkosten einer Biogasanlage erfordern verstärkt die Erhöhung des spezifischen Methanertrages durch die Verbesserung der Prozesseffizienz. Dies ist insbesondere in der Monovergärung zellulosehaltiger Substrate wie Grassilage wichtig. Hier steigt der Handlungsbedarf ganz besonders, da der Anteil an Dauergrünlandflächen, die aus der klassischen Futternutzung fallen kontinuierlich wächst wodurch das Interesse an einer Gras-Monovergärung zunimmt.

Zur Monovergärung von Energiepflanzen, insbesondere von Grassilage, liegen bisher nur wenige Untersuchungen vor. Es wird immer wieder vermutet, dass die Schnittlänge von Relevanz für die Methanausbeute ist. Systematische Untersuchungen dazu fehlen bisher. Trotzdem hat diese Vermutung schon zur Entwicklung einer spezifischen Häckslertechnik geführt (ANONYM 2006).

Ähnlich unklar ist das Bild beim Einsatz von Silierhilfsmitteln. Nicht in Frage gestellt wird ihr Nutzwert zur Erzielung einer guten, verlustarmen Konservierung bei schwierigen Ausgangssubstraten. Die Verbesserung der spezifischen Methanausbeute durch Silierhilfsmittel kann hingegen hinterfragt werden, da diese Mittel den Aufschluss an sich nicht beeinflussen dürften. Allerdings kann durch den Einsatz heterofermentativer Milchsäurebakterien (MSB) der Gehalt an Essigsäure in der Silage angehoben werden, was einerseits deren aerobe Stabilität im Anschnittbereich verbessert und andererseits auch Ausgangspunkt der acetoklastischen Methanbildung ist.

Nicht zuletzt wird immer wieder argumentiert, dass der Umsatz faserreicher Substrate unter thermophilen Bedingungen schneller und effizienter verläuft und damit auch ökonomisch attraktiver wäre, ohne dass dies bisher in der Praxis entsprechend Eingang gefunden hätte.

Die Arbeiten am Institut für Landtechnik und Tierhaltung der LfL im Rahmen des BiogasCrops-Network zielten darauf ab, all diese Aspekte systematisch zu untersuchen. Die Pro-

zesskette von der Futterwerbung über die Konservierung von Gras bis hin zu seiner Vergärung wurde hinsichtlich des Einflusses von Schnittlänge und Einsatzes von Silierhilfsmitteln auf die Silagequalität, das Gasertragspotential und die mögliche Raumbelastung im quasi-kontinuierlichen Betrieb unter meso- und thermophilen Bedingungen geprüft.

## 2 Material und Methoden

In den Jahren 2006 und 2007 lieferte ein Weidelgrasbestand des intensiven Ackerfutterbaus der Versuchsstation Hirschau der TU München das Ausgangsmaterial zur Erstellung der Silagen in Laborsilos (0,38 m Durchmesser, 1 m Höhe) und Weckgläsern. Im ersten Jahr wurde das Gras in dreifacher Wiederholung mit den drei theoretischen Schnittlängen (4, 9, 15 mm) gehäckselt und jede Schnittlänge mit zwei verschiedenen Silierhilfsmitteln (homo- und heterofermentative MSB), sowie ohne Zusatz angesetzt. Die Silierhilfsmittel wurden nach Angaben der Hersteller dosiert. Im zweiten Erntejahr reduzierten sich die Varianten auf die Schnittlängen 4 und 15 mm, sowie auf mit und ohne Einsatz heterofermentativer MSB, alles wiederum in dreifacher Wiederholung. Die Silageeigenschaften wurden mit dem Gehalt an Trockensubstanz (TS, 24 h bei 105°C), dem Anteil organischer TS (oTS) an der Gesamt-TS (Veraschung bei 600°C), dem pH, dem Gehalt an Kohlenstoff (C) und Stickstoff (N) in der TS (nach DUMAS-Aufschluß) und die Zusammensetzung der wasserdampflichen Fettsäuren (GC-Analyse: C2 bis C7) beschrieben.

Ein Batchtest nach VDI 4630 (KAISER 2007) beschrieb das Gasertragspotential jeder Wiederholung aller Silagevarianten aus 2006. Im anschließenden Durchflussversuch wurden aus den neun silierten Varianten die drei Varianten in zweifacher Wiederholung geprüft, die auf Basis der Daten des Batchversuches und der Laboruntersuchung die größte systematische Streuung aufwiesen. Im zweiten Untersuchungsjahr wurde die Variantenzahl von vornherein eingeschränkt (s.o.) und ausschließlich in kontinuierlicher Vergärung geprüft. Schwierigkeiten im Fermentationsablauf führten dazu, dass im zweiten Durchflussversuch eine Zeit lang in einer der zwei Wiederholungen jeder Variante die Hälfte der oTS in Form von Weizenstroh (s.a. Ergebnisse & Diskussion) gefüttert wurde.

Die Durchflussversuche in 36 L Rührreaktoren nach VDI 4630 ermittelten das Gasbildungspotential, die höchstmögliche Raumbelastung (RB) und die Prozessstabilität in Monovergärung. Jeder Fermenter besitzt einen Gaszähler (Milligascounter<sup>®</sup>, Dr.-Ing. Ritter Apparatebau, Bochum) und einen Gassammelsack, aus dem automatisch gesteuert die Gaszusammensetzung (IR-Sensoren für CH<sub>4</sub> und CO<sub>2</sub>; elektrochemisch für H<sub>2</sub>S und O<sub>2</sub>) je 1,5 L gesammeltes Gasvolumen erfasst wird (AWITE Bioenergie GmbH, Langenbach). Die Gasmenge wird als Stundensummenwert und die Gasanalyse zum Zeitpunkt ihrer Messung in einer Datenbank parallel mit stündlichen Mittelwerten der Raumtemperatur abgelegt. Jede geprüfte Variante der Silagevorbereitung wurde unter mesophilen (38°C) und thermophilen (55°C) Bedingungen in zweifacher Wiederholung geprüft. Zu Versuchs-

beginn wurde mit einem Inokulum gestartet, das mit 3 kg oTS m<sup>-3</sup> aus 80 % Bullengülle-TS und 20 % Milchvieh-TMR angefüttert ist. Das Inokulum wird seit 2002 in einer 3,5 m<sup>3</sup> Technikumsanlage unter mesophilen Bedingungen mit einer hydraulischen Verweilzeit von 20 Tagen stetig bereitgehalten. Seine Eigenschaften sind in **Tabelle 1** dargestellt. 2006 wurde es zum Ansatz mit 50% Wasser verdünnt, 2007 kam es unverdünnt zum Einsatz. In beiden Jahren erfolgte eine Adaptation der Fermenter an das Futter und die Vergärungsbedingungen während einer Anlaufphase von 3 Monaten bei RB 0,5 in der die Temperatur der später thermophilen Fermenter stetig bis auf 55°C gesteigert wurde.

**Tabelle 1:** Charakterisierung der Inokula zum Anfahren der Durchflussversuche

	TS	oTS	Gesamt flüchtige Fettsäure	pH	FOS/TAC- Verhältnis	NH <sub>4</sub> -N
	[%]	[% TS]	[mg L <sup>-1</sup> ]			[mg L <sup>-1</sup> ]
1. Durchfluss	6,5	76,2	1531	8,1	0,33	1790
2. Durchfluss	6,9	76,1	1329	8,0	0,29	2900

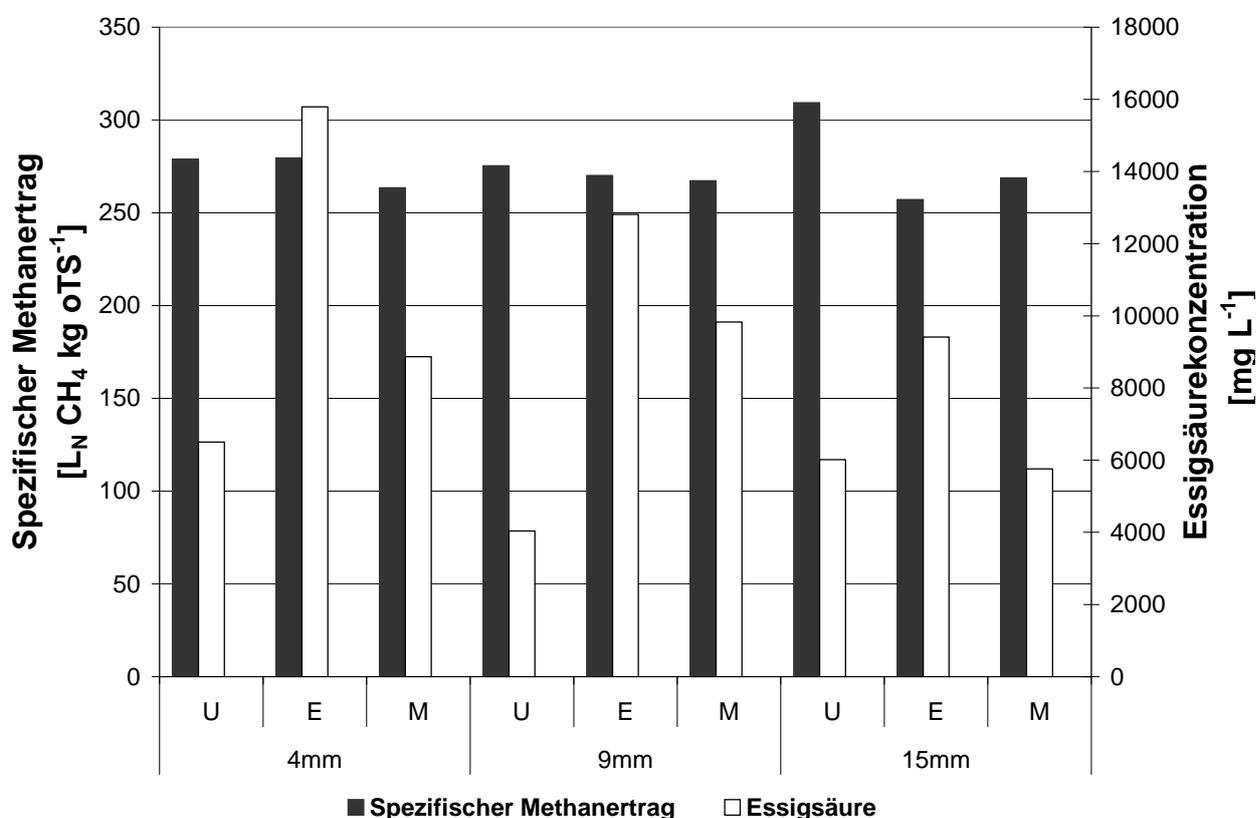
Die regelmäßige Entnahme von Gärrestproben zur Charakterisierung des aktuellen Fermenterzustandes (TS, oTS, pH, FOS/TAC, Fettsäuremuster, NH<sub>4</sub>-N) erfolgte während der Phase gleichmäßiger Fermentation innerhalb der Woche vor der nächsten Erhöhung der Raumbelastung (in Schritten von 0,5 kg). Zusätzliche Proben wurden in kritischen Phasen gezogen und untersucht.

Der normierte Biogas- und Methanertrag errechnete sich aus den Rohdaten über die Kombination mit den stündlichen Luftdruckdaten (ANONYM 2007) und der Gastemperatur. Eine statistische Bewertung der Unterschiede war nur für den Gasertrag im Batchversuch möglich. Zum Methanertrag und in den Durchflussversuchen lagen dafür nicht genügend Wiederholungen vor. Die Effizienz der Gasproduktion ( $L_N \text{ kg}^{-1} \text{ oTS}$ ) ermittelte sich im Batch aus der gebildeten Gasmenge bezogen auf die Einwaage an Substrat. Im Durchfluss war dies der Quotient aus der täglichen Fütterung dividiert durch die tägliche Gasproduktion. In der Woche vor einer Steigerung der RB wurde ein Mittelwert und dessen Streuung aus den sieben Tagesdaten berechnet, um den quasi Steady-State Zustand der Fermenter zu beschreiben.

### 3 Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Batchversuch

Drei Schnittlängen (4, 9 und 15 mm) wurden in der Kombination mit zwei Silierhilfsmitteln (homofermentative und heterofermentative MSB) getestet. Der mittlere potentielle Methanertrag aller Varianten von rund  $270 \text{ L}_N \text{ kg}^{-1} \text{ oTS}$  (**Bild 1**) liegt im Bereich anderer Arbeiten zur Vergärung von Grassilage (Amon et al. 2003, Kaiser et al. 2004). Meist fand sich eine deutliche Erhöhung der Essigsäurekonzentration durch den Zusatz der Silierhilfsmittel gegenüber der unbehandelten Kontrolle. Trotzdem wurde im Batch-Versuch kein Unterschied im spezifischen Methanertrag zwischen den verschiedenen Schnittlängen und Silierhilfsmitteln (**Bild 1**) festgestellt. Deshalb wurde die Schnittlänge 4 mm aufgrund ihrer deutlichen Differenzierung im Säuregehalt für den ersten Durchflussversuch ausgewählt.



**Bild 1:** Spezifischer Methanertrag im Batch-Versuch und Essigsäuregehalt von Grassilage, die unterschiedlich lang geschnitten (theoretische Schnittlänge in mm) und mit verschiedenen Silierhilfsmitteln behandelt wurde. (U unbehandelt, E heterofermentative Milchsäurebakterien, M homofermentative Milchsäurebakterien).

#### 3.2 Durchflussversuche

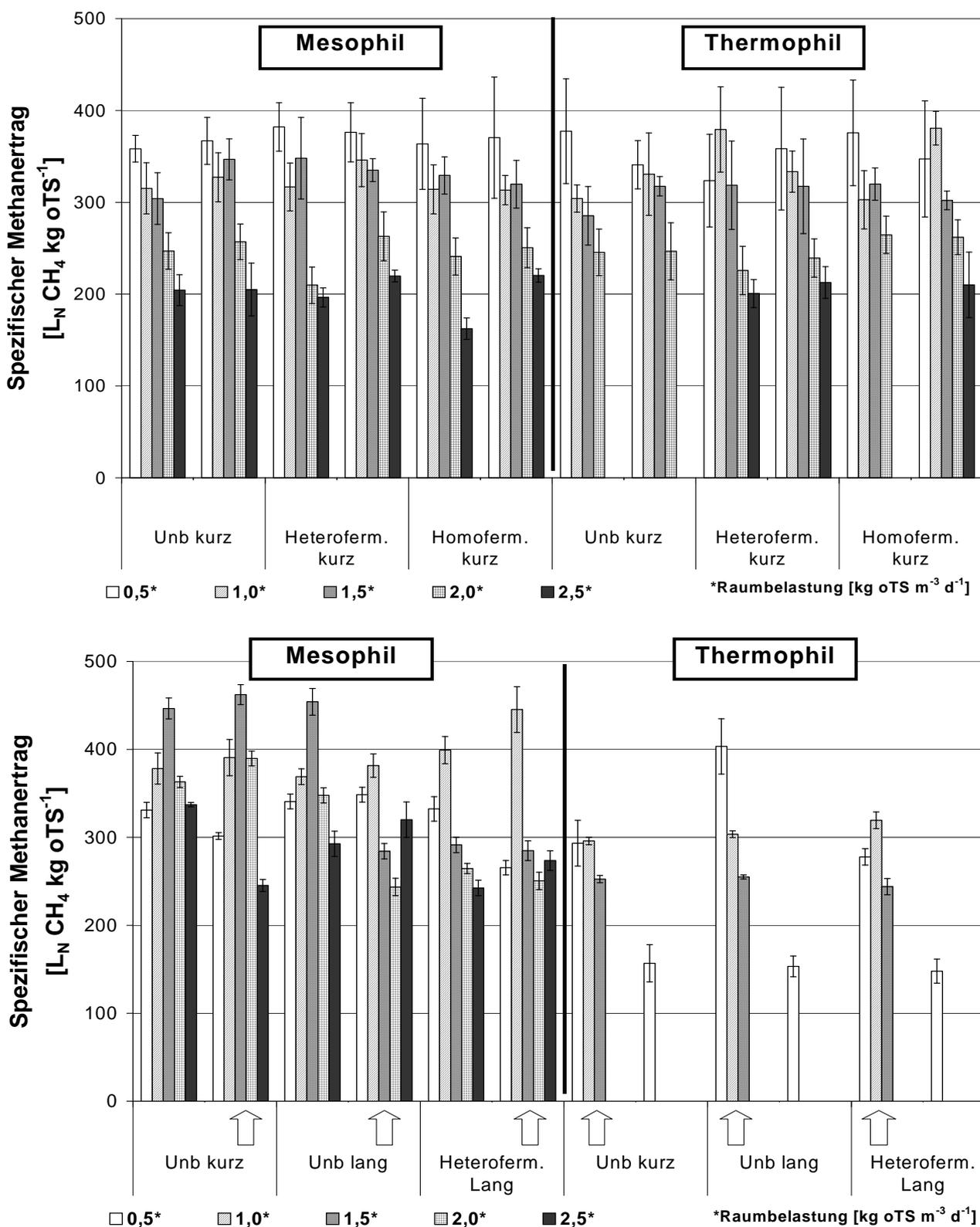
Aufgrund der Daten des Batch-Versuches stand im ersten Durchflussversuch die Bedeutung der Behandlung mit unterschiedlichen Silierhilfsmitteln auf die optimale Raumbelastung im Vordergrund. Während der zweite Versuch eine möglichst extreme Kombination

an Schnittlänge und Zugabe von Silierhilfsmitteln prüfte. Die Zusammensetzung der verwendeten Grassilagen ist in der **Tabelle 2** dargestellt.

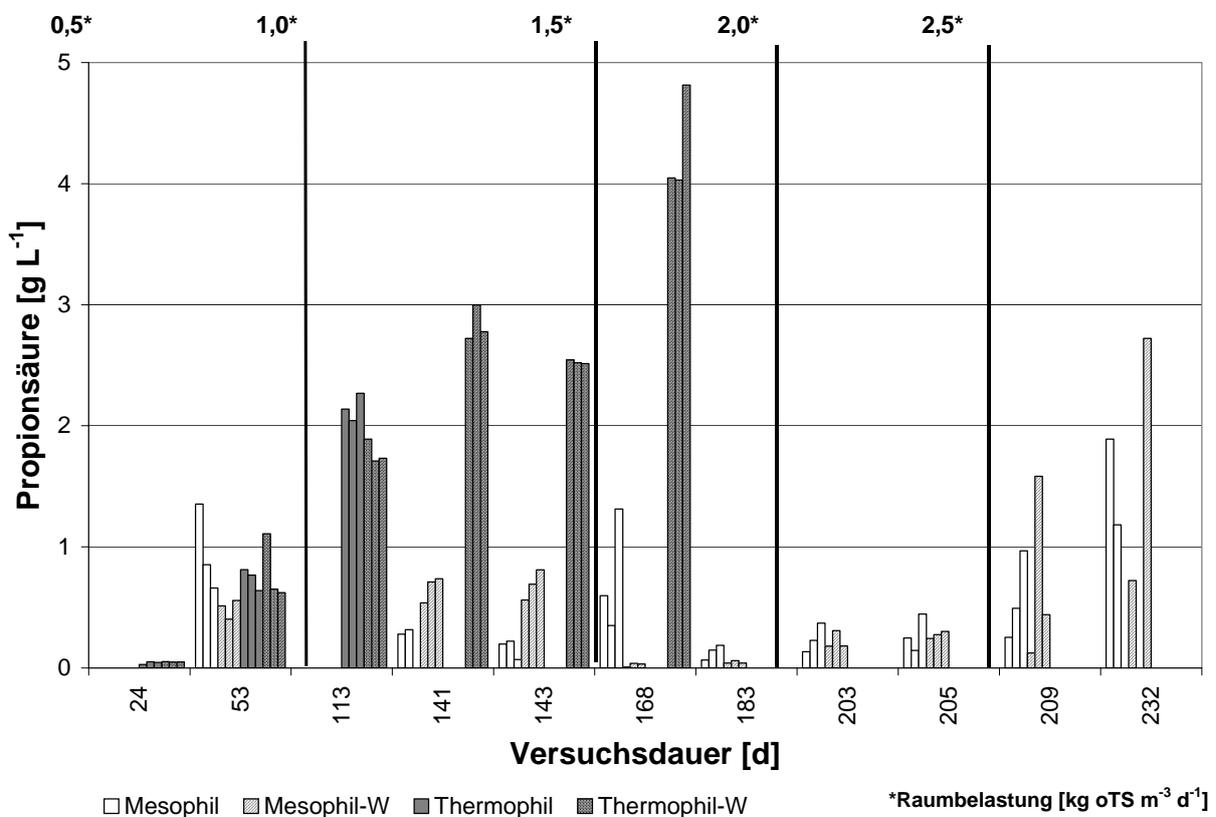
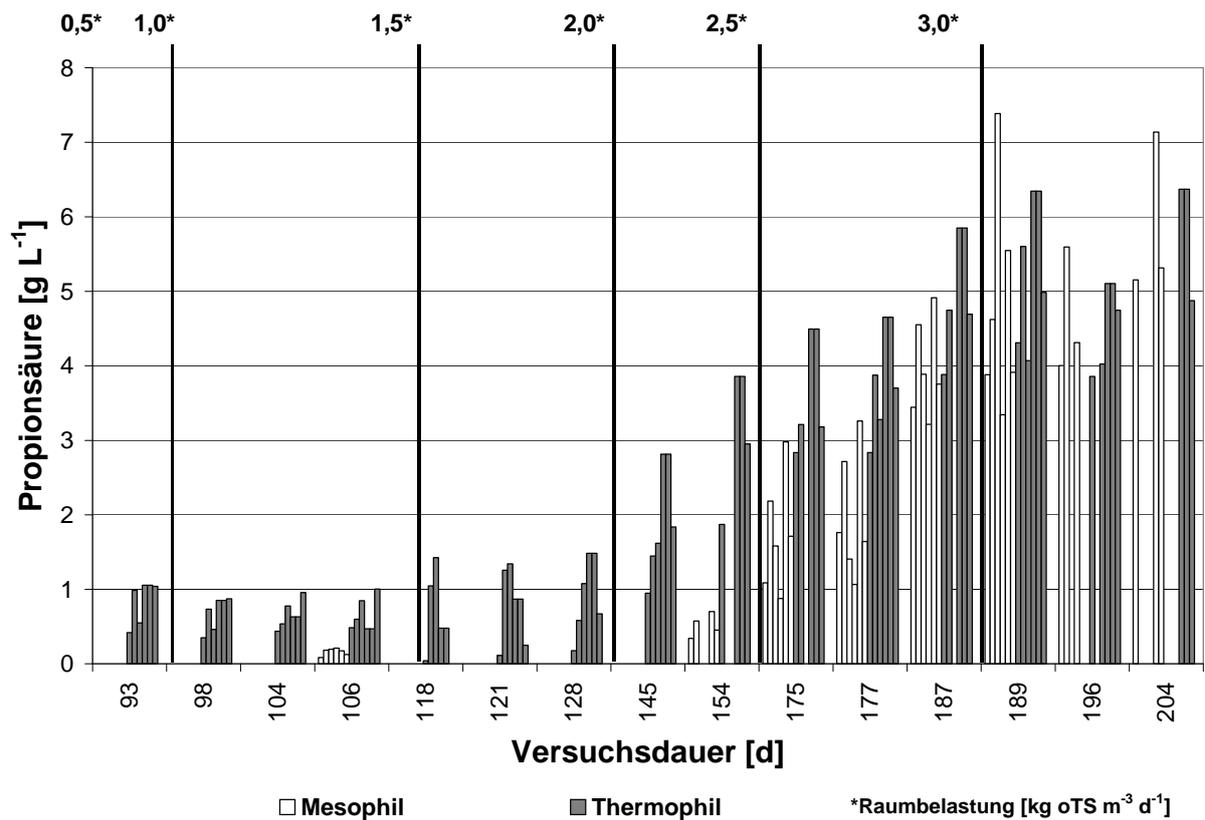
**Tabelle 2:** Charakterisierung der Grassilagen, die in den Versuchen eingesetzt wurden. Alle Silagen stammten aus Laborsilos. In Batch- und erstem Durchflussversuch kamen Silagen derselben Ernte, aber aus unterschiedlichen Laborsilos zum Einsatz

	Variante	TS (%)	oTS (% TS)	Essigsäure (mg L <sup>-1</sup> )	pH	C/N-Verhältnis	
Batch	Unb., 4mm	24,7	89,3	6501	4,4		
	Essig., 4mm	23,5	88,8	15789	4,7		
	Milch., 4mm	25,9	89,4	8868	4,4		
	Unb., 9mm	26,2	90,1	4038	4,4		
	Essig., 9mm	27,7	90,1	12810	4,4		
	Milch., 9mm	26,3	90,4	9826	4,3		
	Unb., 15mm	30,0	90,3	5040	4,5		
	Essig., 15mm	29,2	90,0	11978	4,5		
	Milch., 15mm	29,0	90,4	6260	4,2		
1. Durchfluss	Unb., 4mm	25,9	89,0	11456	4,6	11	
	Ernte 2006	Milch., 4mm	25,0	88,7	12187	4,6	13
		Essig., 4mm	23,2	88,3	13402	4,9	14
2. Durchfluss	Unb., 4mm	33,4	88,5	22796	4,1	16	
	Ernte 2007	Unb., 15mm	34,5	89,1	3485	4,3	16
		Essig., 15mm	33,8	88,6	18051	4,0	18
	Weizentroh	89,4	95,3	0	5,8	94	

Sowohl thermo- als auch mesophil war die Methanbildung im ersten Versuch über alle Varianten hinweg gleich (**Bild 2**). Es wurden bei RB von 0,5-1,5 die höchsten Erträge von mehr als 300 L<sub>N</sub> kg<sup>-1</sup> oTS erzielt. Auf mesophil teilweise noch deutlich höherem Ertragsniveau (bis über 400 L<sub>N</sub>) erwies sich im zweiten Versuch die thermophile Vergärung als klar schlechtere Variante unabhängig von der Silagevorhandlung, die auch in diesem Versuch Relevanz für den Gasertrag war.



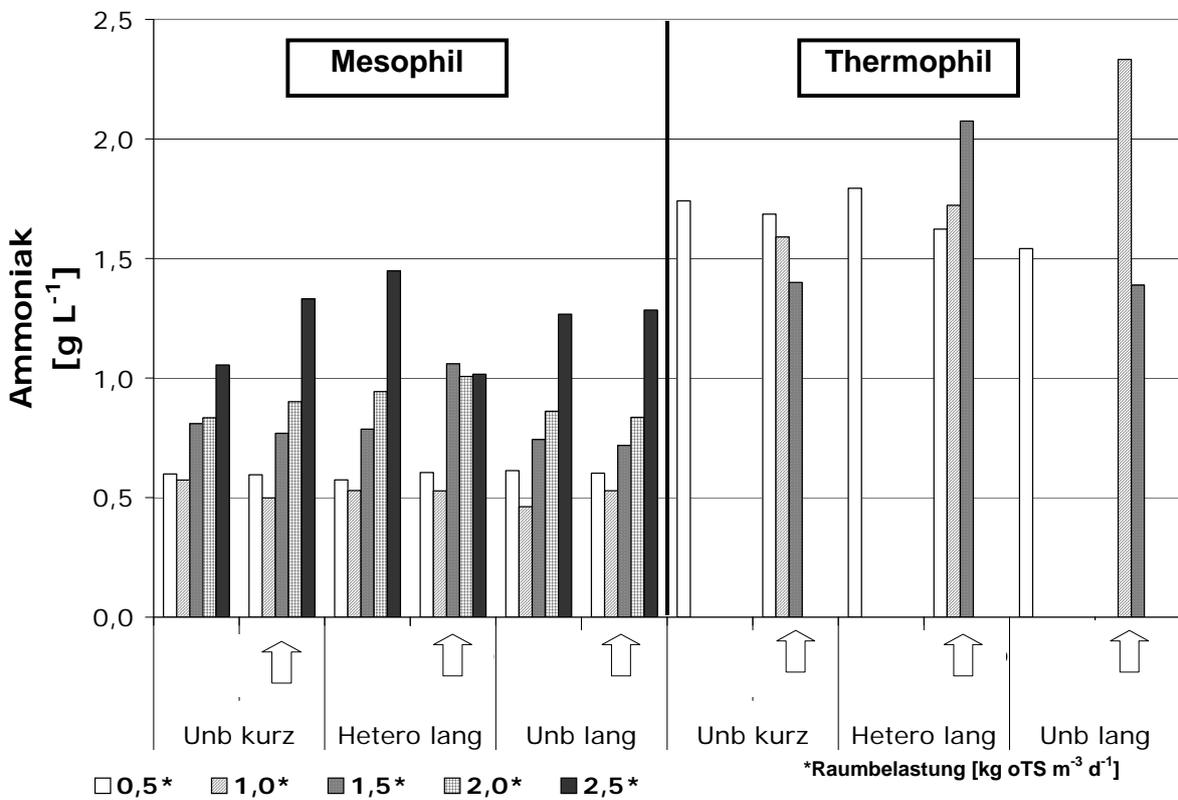
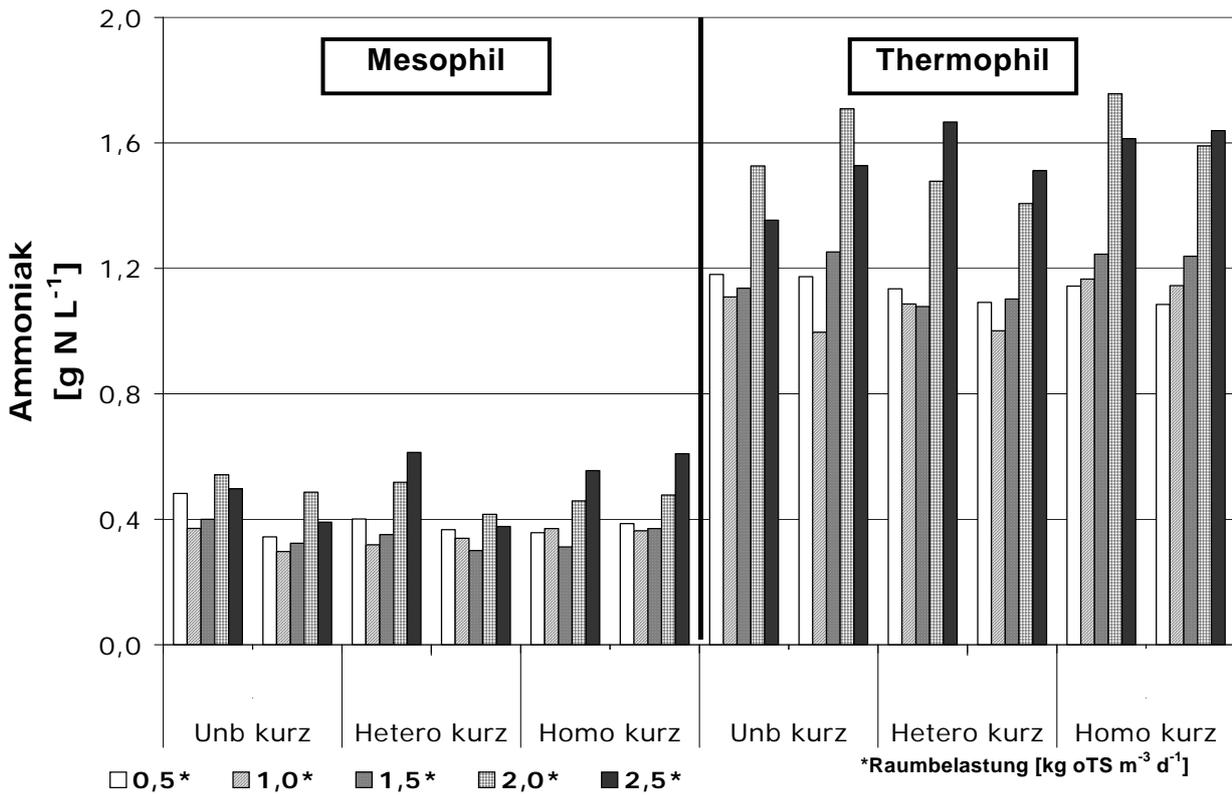
**Bild 2:** Mittelwert und Standardabweichung des spezifischen Methanertrages jedes Durchflussfermenters unter meso- und thermophilen Bedingungen in der Steady-State-Phase vor der Raumbelastungssteigerung. Die obere Grafik zeigt die Daten des ersten Versuches, die untere die des Zweiten. Die Varianten mit ↑-Markierung sind mit einer Mischung aus Grassilage und Weizenstroh (50:50, nur 2008) gefüttert worden. Kurz steht für die theoretische Schnittlänge 4 mm, lang für 15 mm; unb bedeutet unbehandelt



**Bild 3:** Konzentration an Propionsäure in jedem Durchflussfermenter unter meso- und thermophilen Bedingungen. Die obere Grafik zeigt die Daten des Versuches von 2007, die untere den von 2008. Die schraffiert dargestellten Varianten (-W, nur 2008) sind mit einer Mischung aus Grassilage und Weizenstroh (50:50) gefüttert worden

Das Ende des ersten Versuches war mit RB 2,0 (thermo-) bzw. 2,5 kg oTS m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> (mesophil) prozessbiologisch aufgrund einer Versäuerung erreicht (**Bild 3**). Dagegen neigte die thermophile Vergärung im Versuch 2 von Beginn an zur Versäuerung, was sich mesophil wiederum erst bei einer RB von 2,5 kg oTS m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> andeutete. Obwohl die Säuregehalte in beiden Versuchen sehr unterschiedlich waren, wies doch in beiden Versuchen in allen Varianten ein spezifischer Anstieg der Propionsäuregehalte auf Prozessschwierigkeiten hin. Ob dazu ein Grenzwert von rund 1000 mg L<sup>-1</sup> hilfreich ist, wie er durch EFFENBERGER *et al.* (2007) festgehalten wurde, lassen die Ergebnisse offen. Eher scheint die Änderung des Gehaltes gegenüber einer früheren Messung aussagekräftiger, was die Bedeutung einer stetigen Begleitung des Prozesses in der Praxis unterstreicht.

Als mögliche Ursache der Versäuerung wird in beiden Jahren die N-Konzentration im Fermenter diskutiert. Die aus Ammoniumgehalt, pH-Wert und Fermentertemperatur abgeleitete Ammoniakkonzentration war im zweiten Versuch thermophil von Beginn an sehr hoch (> 1500 mg L<sup>-1</sup>, **Bild 4**), während sie in diesem Versuch mesophil und im ersten Versuch in allen Varianten erst mit der Zeit auf dies Niveau vordrang. Der große Unterschied zwischen beiden Versuchen lag im Ansatz begründet, der im ersten Versuch aus einem 1:1 Gemisch aus Inokulum und Wasser und im Zweiten direkt aus dem Inokulum erfolgte, womit die Verdünnung des Ammoniumgehaltes zu Versuchsbeginn fehlte. Die Zunahme des Ammoniumgehaltes über die Zeit, d.h. mit der RB, ist auf das relativ N-reiche Substrat zurückzuführen und fokussiert damit ein zentrales Problem in der Vergärung von Grassilage in der Praxis. Denn eine prozesstoxische Wirkung von Ammoniak wird oft berichtet: GALLERT & WINTER (1997) belegen ab 560 mg NH<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> eine 50%ige Hemmung in der Methanogenese, ANGELIDAKI & AHRING (1994) weisen dies thermophil ab über 700 mg NH<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> nach. Dem stehen aber auch Berichte gegenüber, die bei sehr hohen Konzentrationen keine Beeinträchtigung der Biogasbildung beobachteten (SUNG & LIU 2003). Um diesem Einfluss des hohen N-Gehaltes im Futter zu begegnen wurde im zweiten Versuch eine Wiederholung aller Varianten zur Hälfte mit Weizenstroh versorgt. Thermophil brachte dies eine deutliche Stabilisierung des Fermentationsablaufes und war die einzige Möglichkeit die RB-Steigerung durchzuführen (**Bild 2**). Mesophil erwies es sich bei größerer RB eher als Nachteil, was auf Unterschiede in der Abbaubarkeit zurückgehen dürfte. Auf den Ammoniakgehalt hatte die Veränderung der Fütterung dagegen keinen Einfluss. Welche positive Wirkung im Prozessgeschehen vom Stroh zeitweise ausging ist damit weiterhin offen und bedarf unbedingt einer Klärung.



**Bild 4:** Rechnerische Ammoniakkonzentration in jedem Durchflussfermenter unter meso- und thermophilen Bedingungen in der Steady-State-Phase vor der Raumbelastungssteigerung. Weitere Erläuterungen s. **Bild 2**

#### 4 Zusammenfassung mit Schlussfolgerung

Beim systematischen Vergleich des Einflusses der Silagebereitung (Schnittlänge, sowie mit und ohne Anwendung von homo- oder heterofermentativen Milchsäurebakterien in der Silagebereitung) auf die alleinige Vergärung von Grassilage, zeigte sich, dass die Silageaufbereitung ohne Einfluss auf den spezifischen Methanertrag im Batch- oder Durchflussversuch blieb. Allerdings waren die Silagen von einem intensiv geführten Weidelgrasbestand gewonnen worden, womit dies Ergebnis auf ältere, magerere, oder auch auf Dauergrünlandbestände wenn, dann nur mit Vorsicht zu übertragen ist. Aus den geprüften Varianten lässt sich ableiten, dass mit üblichen Schnittlängen und der guten Konservierung einer Grassilage eine hinreichende Basis für eine gute Verwertung in der Biogasanlage gelegt wird.

Im Durchflussversuch zeigte sich die mesophile Monovergärung von Grassilage der thermophilen überlegen. Dies wurde auf temperaturbedingt frühzeitig zu hohe Ammoniakkonzentrationen im thermophilen Fermenterinhalt zurückgeführt. Generell ist dies in Verbindung mit reiner Grasvergärung eher zu erwarten, da der N-Gehalt des Substrates im Mittel vergleichsweise hoch ist. Andererseits zeigen andere Arbeiten, dass eine Adaptation der Biozönose an hohe Ammoniakkonzentrationen sehr wohl möglich ist. Im Vorfeld der Silagegewinnung kann vor allem über die N-Düngung und den Erntetermin der N-Gehalt des Grases gezielt angepasst werden.

Die aus diesen Versuchen abgeleitete längerfristig maximale RB für Grasmonovergärung von gut  $1,5 \text{ kg oTS m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  ist auch deshalb für die Praxis zuvorderst als Hinweis auf die besonderen Schwierigkeiten in der alleinigen Grasvergärung zu verstehen. Die Möglichkeit einer N-Toxizität im Fermenter zumindest vorübergehend durch eine Verdünnung des N-Gehaltes im Substrat zu begegnen, konnte aufgezeigt werden, scheint sich aber nicht grundsätzlich anzubieten. Keine Aussagen lassen sich aus dieser Untersuchung zum möglichen Nutzen durch den Einsatz von Zusatzstoffen ableiten, die gerade auch in Bezug auf die Lösung problematisch hoher N-Konzentrationen im Fermenter beworben werden.

In der Prozessüberwachung erwies sich einzig die Propionsäurekonzentration als geeignete Größe zukünftige Instabilitäten im Prozess anzuzeigen. Dies allerdings nur dann, wenn eine regelmäßige Untersuchung vorliegt, da sich kein Grenzwert ableiten ließ. Damit zeigt sich einmal mehr die zentrale Bedeutung der regelmäßigen Überwachung des Biogasprozesses für ein gutes Funktionieren eines Fermenters.

#### 5 Literatur

AMON T., KRYVORUCHKO V., AMON B., MOITZI G., BUGA S., FISTAROL D., HACKL E., JERICIC D., ZOLLITISCH W., PÖTSCH (2003): Optimierung der Biogaserzeugung aus den Energiepflanzen Mais und Kleegrass. Endbericht Juli 2003. Institut für Land-, Umwelt-, und Energietechnik, Universität für Bodenkultur Wien, Wien

- ANGELIDAKI I., AHRING B.K. (1994):** Anaerobic thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: effect of temperature. *Water Research* 28, 727-731.
- ANONYM (2006):** [http://www.krone.de/de/ldm/aktu/index.html?/de/ldm/aktu/html/news\\_de\\_087.html](http://www.krone.de/de/ldm/aktu/index.html?/de/ldm/aktu/html/news_de_087.html)
- ANONYM (2007):** Agrarmeteorologisches Messnetz Bayern, Wetterstation Nr. 8, Freising
- EFFENBERGER M., LEBUHN M., GRONAUER A. (2007):** Fermentermanagement – Stabiler Prozess bei NawaRo-Anlagen. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Landtechnik, Bauwesen und Umwelttechnik
- GALLERT C., WINTER J. (1997):** Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic waste: effect of ammonia on glucose degradation and methane production. *Applied Microbiology and Biotechnology* 48, 405 – 410
- KAISER F., DIEPOLDER M., EDER J., HARTMANN S., PRESTELE H., GERLACH R., ZIEHFREUND G., GRONAUER A. (2004):** Biogaserträge verschiedener nachwachsender Rohstoffe. *Landtechnik* 4/2004
- KAISER F. (2007):** Einfluss der stofflichen Zusammensetzung auf die Verdaulichkeit nachwachsender Rohstoffe beim anaeroben Abbau in Biogasreaktoren. Dissertation TU München
- SUNG S., LIU T. (2003):** Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion. *Chemosphere* 53 (1), 43-52

## Optimierung der Monovergärung von Nachwachsenden Rohstoffen durch die Zugabe von Spurenelementen

### *Optimization of monofermentation from renewable raw materials by the addition of trace elements*

Elhussein Abdoun, Peter Weiland

Institut für Agrartechnologie und Biosystemtechnik, Johann Heinrich von Thünen-Institut (vTI), Bundesallee 50, 38116 Braunschweig  
E-mail: elhussein.abdoun@vti.bund.de

**Kurzfassung:** Im Rahmen des Biogas-Crops-Network Forschungsvorhabens wurde der Einsatz von Spurenelementen zur Stabilisierung der Monovergärung von Mais- und Roggensilage bei unterschiedlichen Prozesstemperaturen (mesophil und thermophil) erforscht. Es wurde der Einfluss einer Spurenelementlösung sowie einzelner Spurenelemente (Nickel und Kobalt) untersucht.

Im Laufe der quasi-kontinuierlichen Versuche wurde bei der Monovergärung von Mais und Roggen ein Spurenelementmangel festgestellt. Der Mangel an Spurenelementen konnte nur zum Teil durch die Zugabe von Nickel und Kobalt gedeckt werden. Nach Zugabe von geringen Mengen einer komplexen Spurenelementlösung wurde eine Anreicherung an kurzkettigen Fettsäuren verhindert. Der Bedarf an Spurenelementlösung lag unter 0,01 ml/g oTS. Mit der Zugabe von Spurenelementlösung erreichte der mesophil betriebene Fermenter mit Mais eine Raumbelastung von 5 g oTS/l<sub>F</sub>\*d. Die spezifischen Methanausbeuten der Maisproben blieben bis zu maximaler Raumbelastung weitestgehend konstant. Die spezifischen Methanausbeuten der verschiedenen Roggenproben sanken mit steigender Raumbelastung kontinuierlich ab. Der mesophil betriebene Fermenter mit Roggensilage erreichte eine maximale Raumbelastung von 2 g oTS/l<sub>F</sub>\*d.

**Schlüsselwörter:** Spurenelement, Monovergärung, NaWaRo, Optimierung, Hemmung

**Abstract:** *Within the Biogas-Crops-Network Research project the use of trace elements in stabilizing the mono fermentation of maize silage and rye silage at different process temperatures (mesophilic and thermophilic) has been examined. The influence of a trace element solution as well as individual elements (nickel and cobalt) has been investigated.*

*Through the semi continuous experiments a trace element deficiency was found in the mono fermentation of maize silage and rye silage. The lack of trace elements was only*

partly covered by the addition of nickel and cobalt. After the addition of small amounts of a trace element solution an accumulation of fatty acids was prevented. The amount for trace element solution needed was below 0.01 ml/g oDM.

With the addition of trace element solution the mesophilic fermenters operated with maize has reached a loading rate of 5 g oDM/l<sub>F</sub>\*d. The specific methane yields of the maize samples did not change by increasing the loading rate. The specific methane yields of rye silage decreased continuously with increasing loading rate. The mesophilic digester operated with rye silage has reached a maximum loading rate of 2 g oDM/l<sub>F</sub>\*d.

**Keywords:** Trace element, mono fermentation, renewable raw materials, optimization, inhibition

## 1 Material und Methoden

### 1.1 Substrate

Für die Durchführung der Untersuchungen wurden Mais- und Roggensilage verwendet. Es wurden je Energiepflanze zwei Chargen eingesetzt. In **Tabelle 1** sind die wesentlichen Stoffdaten der untersuchten Substrate dargestellt. Der Trockensubstanzgehalt (TS) und der organische Trockensubstanzgehalt (oTS) wurden nach Standardmethoden bestimmt, ohne Berücksichtigung der Verluste an organischen Säuren während der Trocknung bei 105°C. Von Bedeutung sind die enthaltenen organischen Bestandteile, die einen deutlichen Einfluss auf den anaeroben Vergärungsprozess (z.B. Verweilzeit) haben.

**Tabelle 1:** Stoffdaten der Maissilage und der Roggensilage

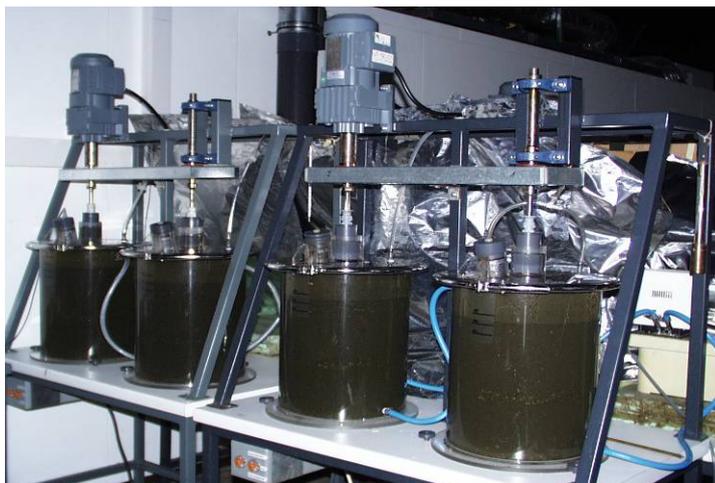
Substrat	TS*	oTS*	CSB	NH <sub>4</sub> -N	Gesamt-N	PO <sub>4</sub> -P
	[% FM]	[% FM]	[g/kg]	[g/kg]	[g/kg]	[g/kg]
Mais 1	39,6	38,3	519	0,47	5,2	0,84
Mais 2	33,3	32,1	460	0,45	4,5	0,72
Roggen 1	42,5	40,5	594	1,10	6,9	0,97
Roggen 2	43,6	41,5	608	1,08	6,7	1,02

\* = Flüchtige Fettsäuren nicht berücksichtigt

### 1.2 Versuchstechnik

Zur Untersuchung des Gärverhaltens der Silagen wurden quasi-kontinuierliche Versuche unter mesophilen Bedingungen (37°C) sowie unter thermophilen Bedingungen (55°C) durchgeführt. Die quasi-kontinuierlichen Versuche erfolgten in Rührkesselfer-

mentern aus Plexiglas mit einem Volumen von 20 l (**Bild 1**). Den Fermentern wurde täglich eine bestimmte Substratmenge zugeführt und die gleiche Menge Gärgemisch entnommen. Um den Eintritt von Sauerstoff in den Fermenter zu verhindern, erfolgten die Entnahme der Biomasse und das Zuführen von Substrat über ein Tauchrohr, das sich unterhalb der Flüssigphasenoberfläche befindet. Die Durchmischung des Fermenterinhalt erfolgte über ein mit einer Zeitschaltuhr gesteuertes Rührwerk.



**Bild 1:** Quasi-kontinuierlich betriebene Fermenter

Bei den quasi-kontinuierlichen Versuchen wurden die Fermenter zu Beginn mit Impfschlamm auf 15 l aufgefüllt. Anschließend wurde den Fermentern stufenweise Substrat mit verschiedenen Raumbelastungen, beginnend mit einer Raumbelastung von  $1 \text{ g oTS/l}_F \cdot \text{d}$ , zugeführt. Die Fermenter wurden mit jeder Raumbelastung so lange betrieben, bis sich ein quasi-stationärer Betriebszustand eingestellt hatte. Dieser Zustand ist erreicht, sobald keine wesentliche Änderung der Methanproduktion und Methanzusammensetzung beobachtet wird. Das produzierte Gas wurde in speziellen Gasbeuteln aufgefangen und die Gasmenge und deren Zusammensetzung wurden täglich gemessen.

### 1.3 *Eingesetzte Spurenelemente*

Im Rahmen der Untersuchung wurde der Einfluss einer Spurenelementmischung sowie einzelner Spurenelemente (Nickel und Kobalt) untersucht (**Tabelle 2** und **3**). Die Dosierungsmenge an Nickel, Kobalt und Spurenelementlösung erfolgte nach Bedarf. Die Zugabe erfolgte sobald eine Säureanreicherung auftrat. Als Vergleich wurde parallel ein Fermenter ohne die Zugabe von Spurenelementen betrieben. Am 166. Versuchstag wurden zusätzlich 8 ml Kobaltlösung im Fermenter mit Nickelzugabe und 8 ml Nickellösung im Fermenter mit Kobaltzugabe für die Maisversuchsreihe zugegeben, um den Einfluss einer Mischung aus beiden Elementen zu untersuchen.

**Tabelle 2:** Spurenelementlösung DSMZ 144 (5 fach)

Spurenelement	Einwaage [g]
Nitilotriessigsäure	64,0
Eisen(III)-chlorid-4-hydrat	1,0
Mangan(II)-chlorid-4-hydrat	0,5
Kobalt(II)-chlorid-6-hydrat	0,9
Calcium(II)-chlorid-2-hydrat	0,5
Zinkchlorid	0,5
Kupfer(II)-chlorid	0,1
Borsäure	0,1
Dinatriummolybdat (-2-hydrat)	0,1
Nickel(II)-chlorid-6-hydrat	0,1
Natriumchlorid	5,0
Natriumselenit-5-hydrat	0,1
Summe	73 g
Lösung	auf 1000 ml verdünnt*

DSMZ: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

\* = mit deionisiertem Wasser verdünnt

**Tabelle 3:** Kobalt- und Nickellösung

Spurenelement	Einwaage [g]	Lösung
Kobalt(II)-chlorid-6-hydrat	10	auf 1000 ml verdünnt*
Nickel(II)-chlorid-6-hydrat	10	auf 1000 ml verdünnt*

\* = mit deionisiertem Wasser verdünnt

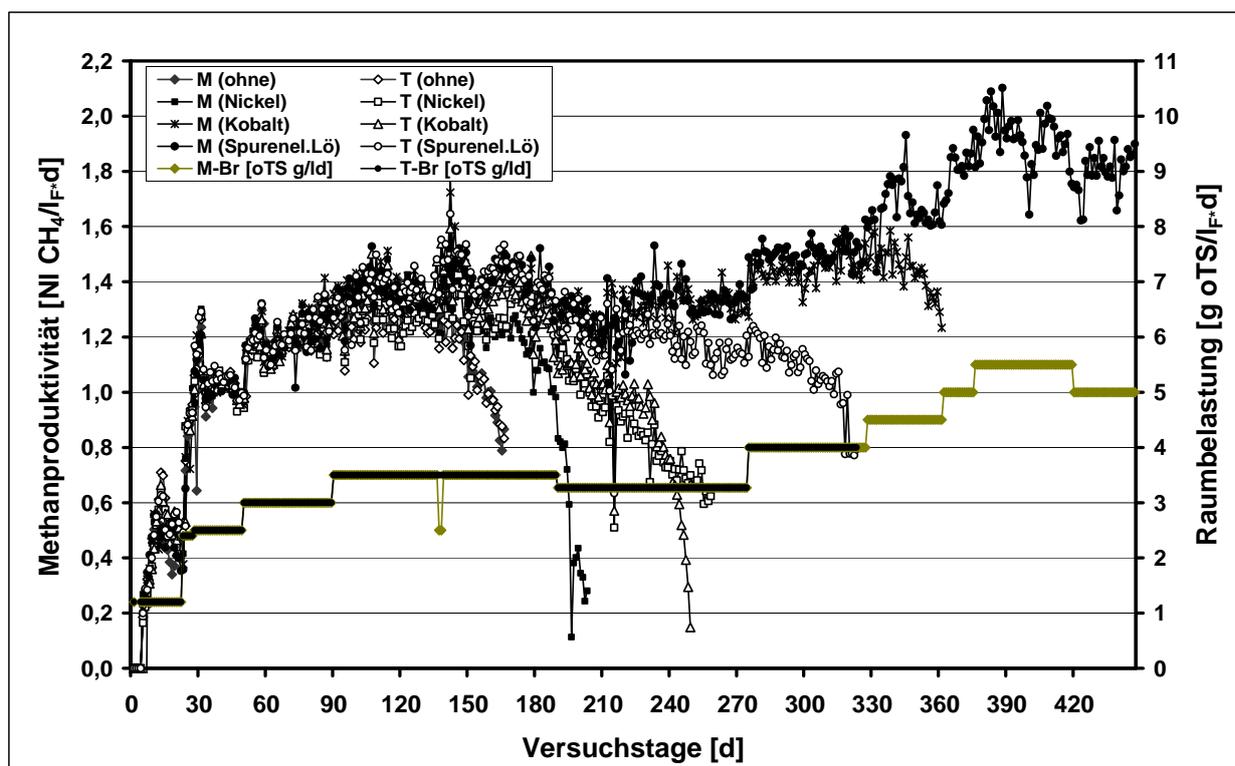
## 2 Ergebnisse

### 2.1 Maisversuche

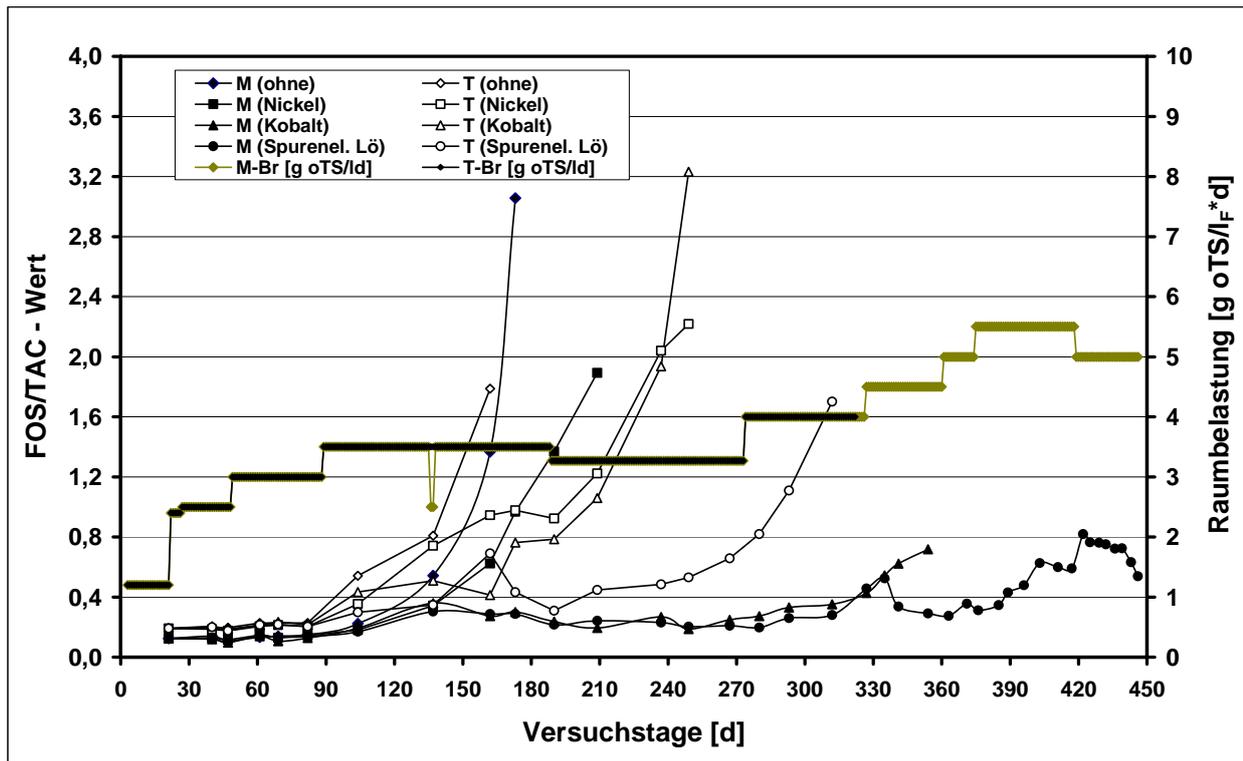
In **Bild 2** sind die Methanproduktivität und die Raumbelastung der unterschiedlichen Behandlungsmethoden während der Versuchszeit dargestellt. Bis zum 133. Versuchstag stieg die Methanproduktivität mit steigender Raumbelastung kontinuierlich an. Die Abbildung zeigt, dass es bei gleicher Raumbelastung keine nennenswerten Unterschiede zwischen den mesophil und thermophil durchgeführten Gärversuchen in Bezug auf die Methanproduktivität gab.

Im Laufe der quasi-kontinuierlichen Versuchsansätze wurde bei unterschiedlichen Raumbelastungen die FOS/TAC-Bestimmung durchgeführt. Bei einem FOS/TAC-Verhältnis  $< 0,3$  ist die Biologie im Fermenter intakt und der Abbau nicht gehemmt. Wie **Bild 3** zeigt, ist diese Bedingung bis zu einer Raumbelastung von  $3,5 \text{ g oTS}/I_F \cdot \text{d}$  für die mesophilen als auch für die thermophilen Versuche erfüllt.

In den Fermentern ohne Spurenelementzugabe stiegen die FOS/TAC-Werte ab dem 104. Versuchstag sowohl für die mesophilen als auch für die thermophilen Versuche kontinuierlich an, was auf eine Überlastung des Gärprozesses hinweist.



**Bild 2:** Methanproduktivität der Maissilage  
(M=mesophil, T=thermophil)



**Bild 3:** FOS/TAC der Maisversuche  
(M=mesophil, T=thermophil)

Als Folge sanken die Methanproduktivitäten und die Methangehalte ab dem 133. Versuchstag kontinuierlich ab, bis zu einer totalen Hemmung am 165. Versuchstag. Die Ursache hierfür kann eindeutig auf den Spurenelementmangel zurückgeführt werden. Bis zum 104. Versuchstag war eine ausreichende Spurenelementsversorgung der Bakterien durch die im Impfschlamm vorhandenen Nährstoffe gewährleistet.

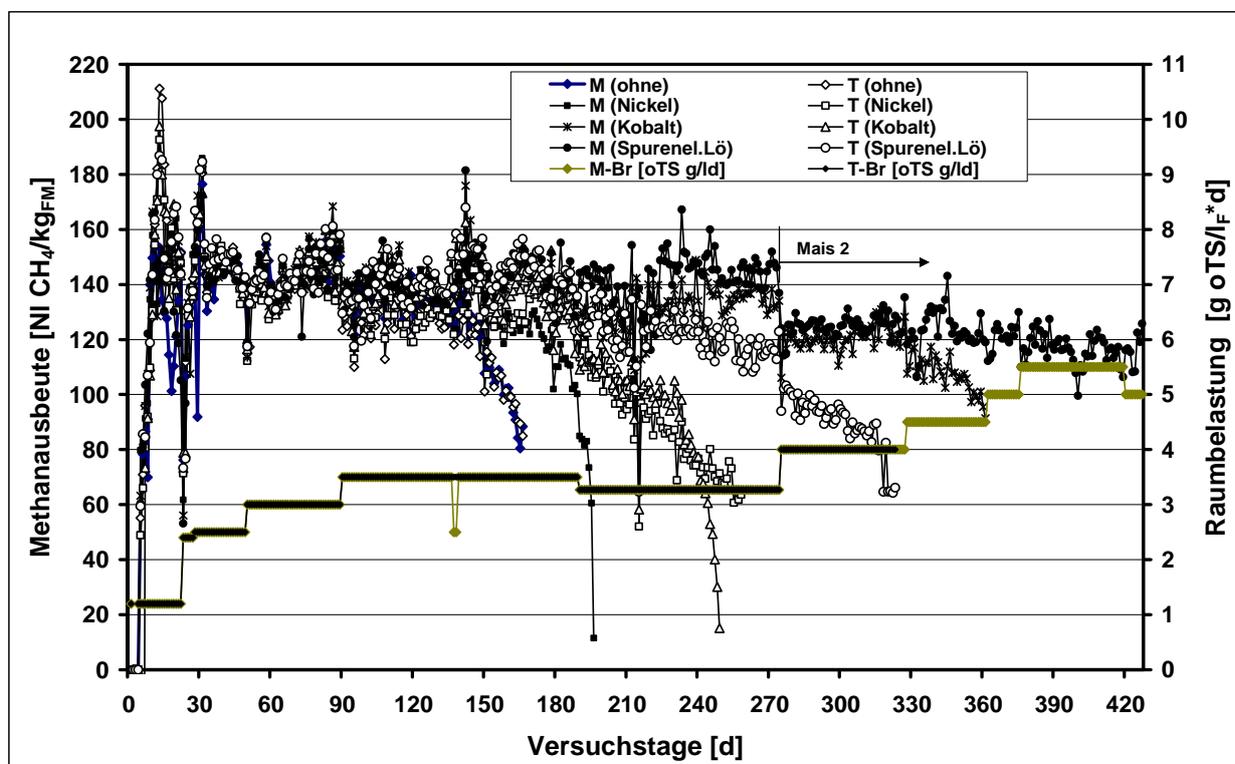
Im Gegensatz zu den Versuchen ohne Spurenelementzugabe nahmen bei den Fermentern mit Zugabe von ausschließlich Nickel bzw. Kobalt die FOS/TAC-Werte bzw. die Säurekonzentrationen erst nach deutlich längeren Versuchszeiten zu. Dies deutet daraufhin, dass der Mangel an Spurenelementen nur zum Teil gedeckt wurde und neben Nickel und Kobalt noch andere Spurenelemente fehlten.

Bis zum 258. Versuchstag waren die thermophilen Fermenter mit Zugabe von ausschließlich Nickel bzw. Kobalt und der mesophile Fermenter mit Zugabe von nur Nickel total gehemmt. Die Zunahme des FOS/TAC-Werts des mesophil betriebenen Fermenters trat bei alleiniger Zugabe von Kobalt im Vergleich zu der thermophilen Variante 5 Monate später auf. Ursache hierfür war, dass der mesophile Fermenter aufgrund eines Materialverlusts infolge einer technischen Störung mit spurenelementreichem Fermentermaterial einer Biogasanlage aufgefüllt wurde.

Bei den Fermentern mit Zugabe von Spurenelementlösung wurden die Säurekonzentrationen in den Fermentern auf ein Minimum reduziert und eine weitere Anreicherung an kurzkettigen Fettsäuren verhindert. Nach einem technischen Problem (Stromausfall) am

215. Versuchstag nahm der FOS/TAC-Wert des thermophilen Fermenter mit Zugabe von Spurenelementlösung kontinuierlich zu. Bei Erhöhung der Raumbelastung auf  $4 \text{ g oTS/l}_F \cdot \text{d}$  am 276. Versuchstag sanken die Methanproduktivität und Methangehalte kontinuierlich ab, bis zu einer totalen Hemmung am 320. Versuchstag.

Der mesophile Fermenter mit Zugabe der Spurenelementlösung lief bis zu einer Raumbelastung von  $5 \text{ g oTS/l}_F \cdot \text{d}$  am 375. Versuchstag stabil, ohne dass es durch Anreicherung von Fettsäuren zu einer Hemmung der Methanbildung kam. Bei Erhöhung die Raumbelastung auf  $5,5 \text{ g oTS/l}_F \cdot \text{d}$  nahm die Methanproduktivität nicht proportional zu, was darauf hindeutet, dass das zugeführte Substrat unvollständig abgebaut wird. Nach Reduzierung der Raumbelastung auf  $5 \text{ g oTS/l}_F \cdot \text{d}$  sank die Säurekonzentration kontinuierlich ab. Bis zum 450. Versuchstag lief der mesophil betriebenen Fermenter unter Zugabe von Spurenelementen mit konstanter Methanproduktivität stabil und erreichte bei der Raumbelastung von  $5 \text{ g oTS/l}_F \cdot \text{d}$  eine Methanproduktivität von  $1,85 \text{ NI CH}_4/\text{l}_F \cdot \text{d}$ . Die spezifischen Methanausbeuten der verschiedenen Maisproben blieben trotz Erhöhung der Raumbelastung weitgehend konstant bei  $140 \text{ NI CH}_4/\text{kg}_{\text{FM}}$  (**Bild 4**). Die Abnahme der Methanproduktivitäten ab dem 275. Versuchstag lag am Wechsel der Maischarge. Die Methankonzentration lag während der gesamten Versuchsdauer konstant bei 53 Vol.-%.



**Bild 4:** Methanausbeute der Maissilage (M=mesophil, T=thermophil)

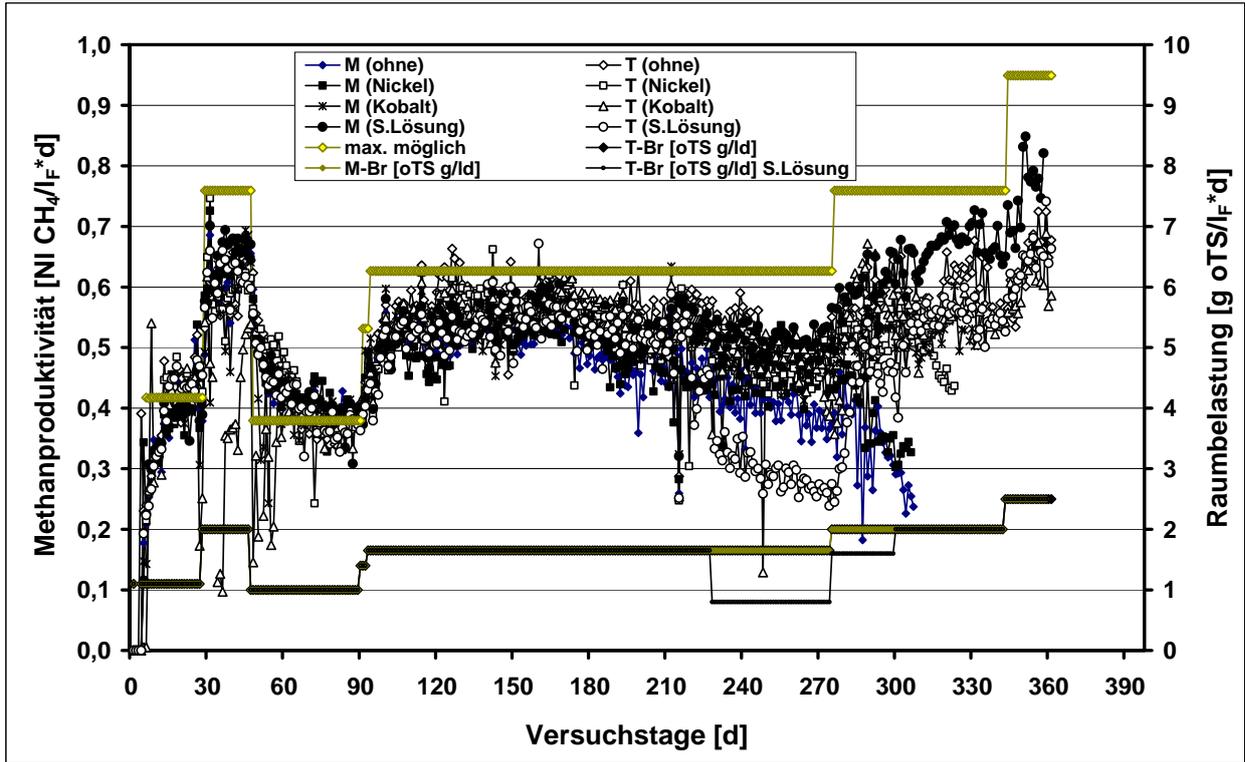
## 2.2 Roggenversuche

In **Bild 5** sind die Methanproduktivität und die Raumbelastung der Roggensilage bei unterschiedlichen Behandlungsmethoden (Einsatz von Spurenelementen) während der Versuchszeit dargestellt. Bei konstanter Raumbelastung von 1 g oTS/l<sub>F</sub>\*d (bis zum 28. Versuchstag) erreichte die Methanproduktivität bei allen Varianten einen stabilen Wert. Bei einer Erhöhung der Raumbelastung auf 2 g oTS/l<sub>F</sub>\*d stiegen die FOS/TAC-Werte der Roggenversuche bei konstanter Raumbelastung kontinuierlich an (**Bild 6**), was auf eine Überlastung des Systems hindeutet. Eine wiederholte Erhöhung der Raumbelastung auf einen niedrigeren Wert von 1,6 g oTS/l<sub>F</sub>\*d führte in den mesophilen Fermentern ohne Spurenelementzugabe bzw. mit Zugabe von nur Nickel und nur Kobalt erneut zur kontinuierlichen Zunahme der FOS/TAC-Werte, bis eine vollständige Hemmung auftrat. Dies deutet daraufhin, dass der Mangel an Spurenelementen mit der Zugabe von Nickel oder Kobalt nicht gedeckt wurde, sondern noch andere Spurenelemente in unzureichender Konzentration vorliegen.

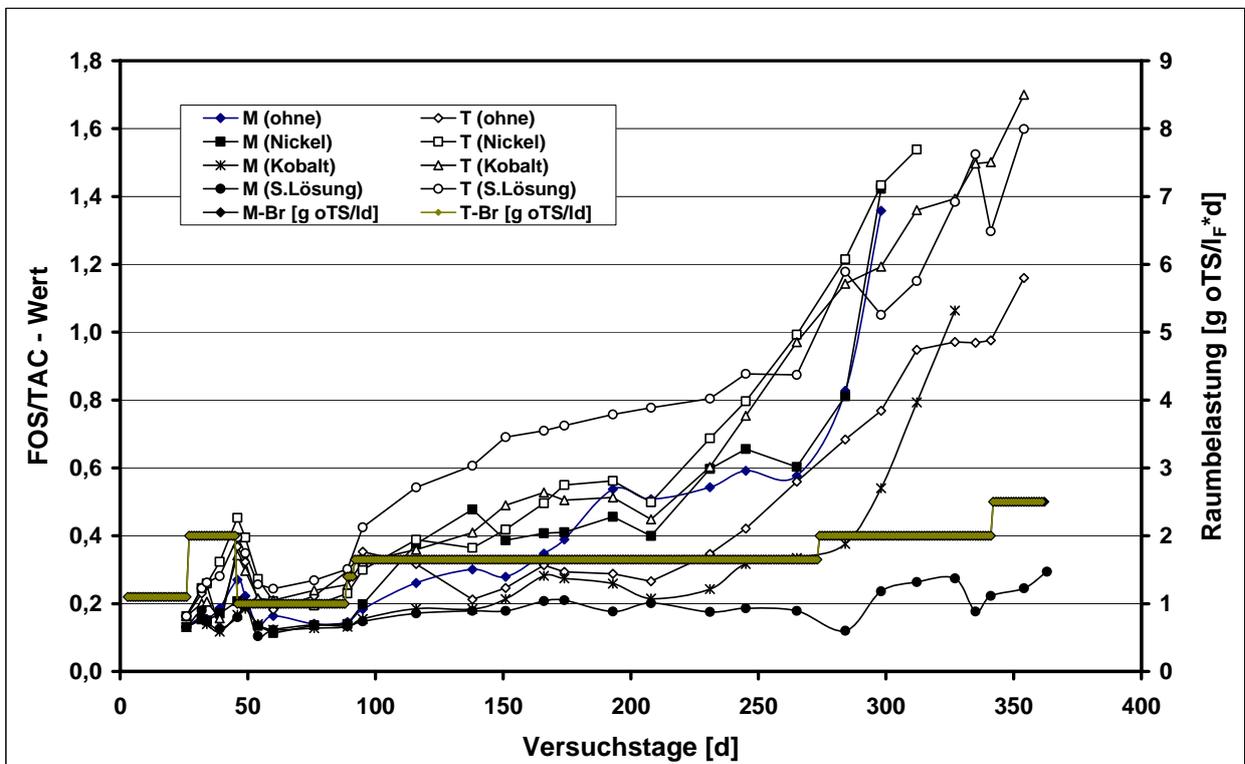
In den Fermentern mit Zugabe von geringeren Mengen Spurenelementlösung wurden die Säurekonzentrationen auf ein Minimum reduziert und eine weitere Anreicherung an kurzkettigen Fettsäuren verhindert. Bis zu einer Raumbelastung von 2 g oTS/l<sub>F</sub>\*d (342. Versuchstag) blieb der FOS/TAC-Wert unter der Stabilitätsgrenze. Bei einer Erhöhung der Raumbelastung auf 2,5 g oTS/l<sub>F</sub>\*d stieg der FOS/TAC-Wert wieder kontinuierlich an. Dies deutet darauf hin, dass die Grenze der Belastbarkeit bereits überschritten ist.

Die FOS/TAC-Werte aller thermophilen Versuche zeigten bei Erhöhung der Raumbelastung auf 1,6 g oTS/l<sub>F</sub>\*d eine steigende Tendenz. Bis zum 272. Versuchstag stiegen die FOS/TAC-Werte aller thermophilen Versuche bei konstanter Raumbelastung von 1,6 g oTS/l<sub>F</sub>\*d weiter an und erreichten Werte von > 0,6. Ab dem 180. Versuchstag sank die Methanproduktivität kontinuierlich bei konstanter Raumbelastung ab. Es kam zur Überlastung der Fermenter. **Bild 5** zeigt fernerhin, dass es bei gleicher Raumbelastung keine nennenswerten Unterschiede zwischen mesophiler und thermophiler Betriebsweise in Bezug auf die Methanproduktivität von Roggen gab.

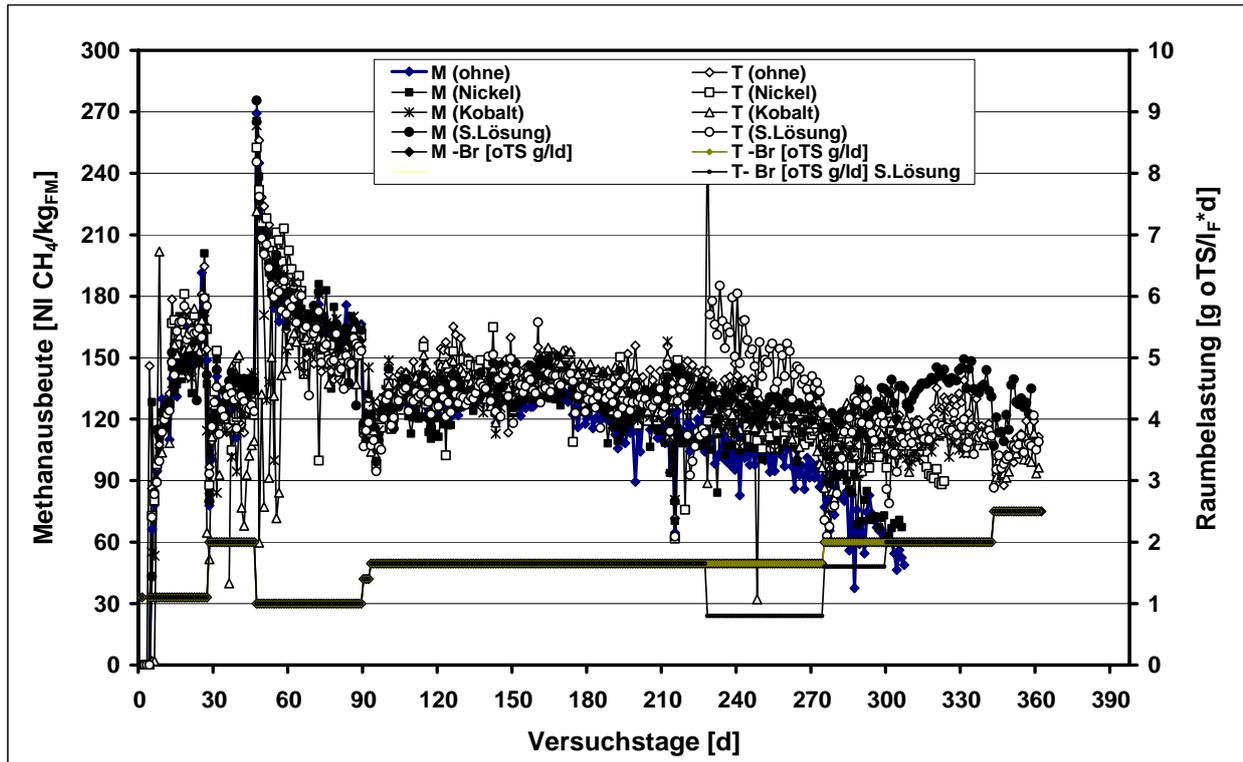
Die spezifischen Methanausbeuten der verschiedenen Roggenproben sanken mit steigender Raumbelastung kontinuierlich ab und erreichten bei einer Raumbelastung von 2 g oTS/l<sub>F</sub>\*d einen Wert von 137 NI CH<sub>4</sub>/kg<sub>FM</sub> (**Bild 7**). Die Methankonzentration lag während der gesamten Versuche mit Roggen konstant bei 53 Vol.-%.



**Bild 5:** Methanproduktivität von Roggen (M=mesophil, T=thermophil)



**Bild 6:** FOS/TAC der Roggenversuche (M=mesophil, T=thermophil)



**Bild 7:** Methanausbeute von Roggen  
(M=mesophil, T=thermophil)

### 3 Zusammenfassung

Im Laufe der quasi-kontinuierlichen Versuche wurden bei der Monovergärung von Mais und Roggen ein Spurenelementmangel festgestellt. Der Mangel an Spurenelementen konnte nur zum Teil durch die Zugabe von Nickel und Kobalt gedeckt werden. Nach Zugabe von geringen Mengen einer komplexen Spurenelementlösung wurden die in den Fermentern angereicherten Säuren fast vollständig abgebaut und eine weitere Anreicherung an kurzkettigen Fettsäuren verhindert. Der Bedarf an Spurenelementlösung lag unter 0,01 ml/g oTS.

Mit der Zugabe von Spurenelementen erreichte der mesophil betriebene Fermenter mit Mais eine Raumbelastung von 5 g oTS/l<sub>F</sub>\*d, bei einer stabilen Methanproduktivität von 1,85 NI CH<sub>4</sub>/l<sub>F</sub>\*d. Die spezifische Methanausbeute von Maissilage blieb bis zur maximalen Raumbelastung weitestgehend konstant. Die spezifischen Methanausbeuten der verschiedenen Roggenproben sanken mit steigender Raumbelastung kontinuierlich ab und erreichten bei einer maximalen Raumbelastung von 2 g oTS/l<sub>F</sub>\*d einen Wert von 137 NI CH<sub>4</sub>/kg<sub>FM</sub>. Die Methankonzentration für Mais- und Roggensilage lag während der gesamten Versuche konstant bei 53 Vol.-%.

## Neue mikrobiologische Erkenntnisse bei der Vergärung von Rübensilagen unter kontrollierten, Fuzzy geregelten Reaktorbedingungen ergeben Konsequenzen bei der Prozessführung

### *New microbiological insights during fuzzy logics controlled anaerobic digestion of fodder beet silage reveal consequences for the operation of biogas plants*

Paul Scherer, Niclas Krakat, Kaspar Satke, Antje Westphal, Lukas Neumann, Olaf Schmidt, Burak Demirel, Nils Scharfenberg, Christian Rösner, Monika Unbehauen

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg (HAW), Labor für Angewandte Mikrobiologie, FTZ REEVE, Forschungs- und Transferzentrum für Regenerative Energien und Verfahrenseffizienz, Lohbrügger Kirchstr. 65, 21033 Hamburg-Bergedorf,  
E-mai: Paul.Scherer@haw-hamburg.de

**Kurzfassung:** Es wurden zwei kontinuierliche, vollautomatisierte, intermittierend gerührte Reaktoren mit Futter- und Zuckerrübensilage als Monosubstrat ohne Güllezufuhr über einen Zeitraum von 1755 Tagen untersucht. Dazu wurden sechs mesophile und fünf thermophile definierte Reaktortage im Gleichgewichtszustand (nach dem Dreifachen der hydraulischen Verweilzeit HRT) beprobt. Der direkte Einfluss von Gülle konnte ausgeschlossen werden. Sowohl die PCR-basierende ARDRA Technik zur Bestimmung des Genotyps (operational taxonomic unit, OTU) als auch die Fluoreszenzmikroskopie mit digitaler Bildanalyse zur Bestimmung des Morphotyps kamen zur Anwendung. Dieses Langzeitexperiment stellt die erste Studie über die mikrobielle Diversität in einem Biogasreaktor dar, der unter definierten und geregelten Prozessbedingungen mit Energiepflanzen sowohl mesophil wie thermophil betrieben wurde.

Es konnten nahezu alle massgeblichen Bacteria-Gruppen des gängigen Lehrbuchschemas der anaeroben Nahrungskette zur Hydrolyse von Biomasse bestätigt werden. Trotz gleichen oder zumindest sehr ähnlichen Substrats variierten diese stark. Jedoch wurde auffallend beobachtet, dass die meisten Bacteria keine typischen Vertreter waren, teilweise sogar ganz neue Gattungen darstellten.

Die Ergebnisse zeigten, dass bei der Vergärung organikreicher NawaRo, wie z.B. Rübensilage, bei allen OLRs wasserstoffverwertende, methanbildende Archaea (Methanobacteriales und Methanomicrobiales) dominierten, während acetotrophe Methanbildner (Methanosarcinales) auf unter 10% oder nicht nachweisbar zurückgedrängt werden konnten. Erstaunlicherweise läuft die Methanbildung, insbesondere die thermophile, offenbar zuerst über eine nahezu komplette „kalte“ Vergasung der Biomasse zu  $H_2/CO_2$  ab, erst dann wird dieses Gasgemisch (und nicht Essigsäure) durch hydrogenotrophe Methanbildner zu

CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub> konvertiert. Dies steht im Gegensatz zu dem gängigen Anaerobmodell AD 1 (BATSTONE et al. 2006). Die methanbildenden Archaea lagen bei allen Beprobungstagen zwischen 15-25% der Gesamtpopulationen (manchmal sogar darüber), während großtechnische Biogasanlagen i.d.R. Zahlen zwischen 5-15% aufwiesen, Anlagen mit niedrigen Umsätzen sogar unter 5%. Damit eröffnet sich über eine Bildanalyse eine Klassifizierung von Biogasanlagen und Impfschlämmen.

Versuche mit 50°- 60°C („hyperthermophil“, reversibel) zeigten außerdem, dass bei 60°C sich eine ganz andere Archaea-Population durchsetzte. 60°C schliesst danach die gegenüber Acetat, NH<sub>3</sub> und H<sub>2</sub>S empfindlichen, fädigen Methanosaeten aus. Daraus leitet sich die Erkenntnis ab, dass für einen Hochdurchsatz die 60°C- der 55°C-Gärung vorzuziehen ist. Sie sollte von Anfang an durch geeignete Impfmaterien mit hoher Impfkraft etabliert werden, was hier der Fall war.

**Schlüsselwörter:** Biogas, NawaRo, Rüben, Energiepflanzen, Bakterien, Mikroflora

**Abstract:** *Two continuously and fully automated operated biogas reactors were driven for a period of 1755 days with fodder beet and sugar beet silage as mono-substrate of the same harvest, both without manure addition. They were intermittently stirred at mesophilic and thermophilic conditions under the process direction of a Fuzzy-Logics based feedback-control system. To obtain the aimed microbial insight, six defined mesophilic and five defined thermophilic reactor days were investigated in a balanced reactor state, i.e. after the threefold of the hydraulic retention time HRT. The HRT was prefixed between 5.5 and 30 days. As the experiments started first after a pre-run of 600 days, any direct influence of manure could be excluded. The PCR-based ARDRA technique (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) for the determination of a genotype, i.e. the operational taxonomic unit (OTU), as well as the digital quantitative imaging was simultaneously applied to find out the concurrent morphotypes. This long term experiment represents the first study about the microbial diversity in a reactor for the anaerobic digestion of energy crops under defined and controlled conditions, simultaneously under mesophilic and thermophilic conditions.*

*Nearly all relevant bacteria of the common textbook scheme for the anaerobic food chain to hydrolyse biomass could be confirmed, some additional could be detected. Apparently most of the bacteria were not well known typical members, some represented even a new genus. The findings clearly demonstrated that during anaerobic digestion of renewable biomass the hydrogenotrophic methanogens with H<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub> as substrate (Methanobacteriales and Methanomicrobiales) dominated. Acetotrophic methanogens (Methanosarcinales) represented mostly a minority down to a proportion of only 10% or not detectable. Therefore, the methanogenesis of energy crops includes first a “cold” gasification to H<sub>2</sub> + CO<sub>2</sub> and after this a second biogasification to CH<sub>4</sub> + CO<sub>2</sub>. This is in contrast to the common anaerobic digestion model AD 1 (BATSTONE et al. 2006). The counts of methanogenic archaea were estimated by image analysis and via the obtained OTUs to range generally*

*between 15-25% of the total microbial population. Industrial biogas plants offered 5-15% methanogens to the microbial population, whereas biogas plants with low efficiency exhibited only methanogens lower than 5%. Therefore, quantitative image analysis opens the way for a rapid classification of biogas reactors or for any inoculating material to start an anaerobic digester.*

*Surprisingly, the archaeal flora at 60°C (“hyperthermophilic”) was quite different to the archaeal flora at 55°C. Methanosaeta seemed to be absent at 60°C operation temperature. That opens the strategy to prefer in industrial scale also 60°C over 55°C to exclude Methanosaeta, which is known to be sensitive for acetate, ammonia and H<sub>2</sub>S. This should be enabled by an inoculum with high inoculating power. That was apparently here the case.*

**Keywords:** *biogas, renewable biomass, beets, energy crops, bacteria, microflora*

## 1 Einleitung

Futter- bzw. Zuckerrüben sind prinzipiell als Biogaspflanze besonders geeignet, da sie z.B. gegenüber Mais hohe Hektarerträge bei vergleichsweise geringem Wasserverbrauch aufweisen (140-160 Mg/ha, inkl. Kopf und Blatt) und keine störenden, unvergärbaren Ligninanteile enthalten. Sie können auch als Modellsubstrat für andere schnell vergärende NawaRo's gelten, die eine geringe Pufferkapazität aufweisen. Die AG Scherer der HAW setzte dabei im Biogas Crops Network auf diese einheimische, zweikeimblättrige C3-Pflanze, während die anderen AGs einkeimblättrige Pflanzensubstrate (Gras-, Roggen-, Triticale- und Mais-Silage) bevorzugten, da diese zum Zeitpunkt des BCN-Verbundstarts fast ausschließlich in der Landwirtschaft als Biogaspflanzen genutzt wurden.

Ziel war es, nebst der Optimierung der Bioverfahrenstechnik durch neuartige molekularbiologische Methoden (genetische Fingerprinttechnik ARDRA, Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) –auch ohne die kaum mögliche Kultivierung von Mikroorganismen-Informationen über die quantitative Zusammensetzung und Diversität der mikrobiellen Populationen bei unterschiedlichen Prozessparametern, wie Raumbelastung und Temperatur, zu gewinnen (SPIEGELMAN *et al.* 2005).

## 2 Methoden zu den Fermenterarbeiten

Für die Vergärungen kamen an der HAW entwickelte 6 Liter-Laborreaktoren mit vollautomatischer Substratzugabe zum Einsatz (DOBLER & SCHERER 2003). Ein mesophiler Reaktor wurde über 1755 Tage beprobt, der thermophile Reaktor über 1250 Tage (jetzt über 70.000 Betriebsstunden ununterbrochen im Betrieb und stabil). Eine Besonderheit sind die weitgehend vom Gasflow unabhängigen Methan- und CO<sub>2</sub>-Analysengeräte der Firma

BlueSens, Herten (SCHERER *et al.* 2003) sowie die selbst entwickelten Milligascounter® MGC zur volumetrischen Gaserfassung, die von der Firma Dr. Ing. Ritter GmbH in Bochum hergestellt und vertrieben werden und im „Bergedorfer Gärtest“ zum Einsatz kommen ([www.milligascounter.de](http://www.milligascounter.de), SCHERER 1999, VDI 2006). Für die Reaktorexperimente wurde zur Gasmengenmessung das größere Modell MGC 10 gegenüber dem kleinen Modell MGC 1 verwendet. Weitere online-Messgrößen waren der pH, der Redoxwert und die Temperatur. Die Reaktoren wurden in Intervallen von 3 x täglich mit Futterrüben- oder Zuckerrübensilage beschickt, wie dies in zahlreichen Vorversuchen ermittelt wurde (SCHERER *et al.* 2003). Dabei wurde 5 Minuten vor und während der Substratzugabe mit 250 Upm der Reaktor total durchmischt. Durch einen Überlauf kam also genau so viel Biomasse aus dem Reaktor, wie Substrat zugeführt wurde. Offline-Messgrößen waren z.B. die Volatile Fatty Acids VFA („FOS“) und Alkohole (per GC bestimmt), ferner die Milchsäure der Silage, die enzymatisch bestimmt wurde, sowie die Alkalinität (SCHERER 2008). Für Substratanalysen siehe SCHERER *et al.* 2003 und 2009b, DEMIREL *et al.* 2008 und 2009. Für die theoretisch möglichen Abbauraten wurde mit 1,81 Normliter Gas aus 1 g Kohlenstoff abgebaut gerechnet (SCHERER 2008).

Der erste Beprobungstag war erst 609 Tage nach Beimpfung, so dass zu diesem Zeitpunkt die Anfangsgülle sowie Klärschlamm restlos ausgewaschen war, was auch am Ammoniumgehalt von 200-300 ppm erkennbar war. Es wurde darauf geachtet, dass erst in aussagekräftigen, stabilen Gleichgewichtszuständen beprobt wurde (nach dem Dreifachen der per Fuzzyregelung erreichten hydraulischen Retentionszeit HRT).

### 3 Molekularbiologische Arbeitsmethoden

Die verwendeten Methoden zur DNA-Extraktion und PCR-Amplifikation mussten noch der NawaRo-Fermentation angepasst werden, auch wenn sie im wesentlichen nach RHEIMS & STACKEBRANDT (1999) geschahen. So greift das dort beschriebene Enzym Lysozym die Archaea-Zellwand nicht an, nur die der Bacteria. Alle 4 großen Archaea-Ordnungen (SCHERER & KNEIFEL 1983) wurden zuvor als Reinkulturen in Fermentermatrix durchgetestet, wobei die Methanosarcinen (DSMZ 804) besonders robust waren und erst nach 2fachem French Press-Aufschluss einer DNA-Extraktion zugänglich waren. Proteinase K und Lysozym mussten vor dem Zellaufbruch und nicht danach zugegeben werden (RHEIMS & STACKEBRANDT 1999). Ferner empfahl es sich dringend, zusätzliche DNA-Reinigungskits einzusetzen (Genomic DNA Wizard Purification Kit, Promega). Es wurde der Archaea-Primer Arch69F eingesetzt, der leicht modifiziert war (ARCH16S-For, YGAY-TAAGCCATGCRAAGT, modifiziert von KLOCKE *et al.* 2007), ferner ein Universal-Bacteria Primer (KRAKAT & SCHERER 2007). Das PCR-Protokoll wurde gemäß den Proben für Zeiten und Temperaturen jeweils optimiert. Fluoreszenzmikroskopische Auswertungen wurden wie früher mit der Software Image Pro ausgeführt. Dazu wurden die Bakterien in einer nur wenige µm dicken Schicht live und quantitativ mit einer mittleren Standardabweichung

von 5% ausgewertet (SCHERER *et al.* 2005, SCHERER *et al.* 2009b). Als Untersuchungsmethode wurde die Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA) angewandt. Aus jeder Klonbibliothek wurden 120 Klone ausgewählt und die per Gelelektrophorese selektierten, als OTUs eingestuft Klone sequenziert; bei Archaea über eine Länge von 850 Basenpaaren (bp), bei Bacteria über ca. 1500 bp. Die Klonsequenzen wurden mit der Software MEGA3 unter Windows phylogenetisch aufgearbeitet (KRAKAT & SCHERER 2007, KLOCKE 2007), dann nochmals mit der umfangreichen ARB-Software unter Linux, teils mit anderen Ergebnissen ([www.arb-home.de](http://www.arb-home.de)).

Alle Sequenzen wurden sorgfältig auf Artefakte und Brüche untersucht. Die visuelle Auftrennung verschiedener Klone nur aufgrund der Gelelektrophoresemuster erwies sich im Nachhinein als nicht zuverlässig, einige OTUs waren doppelt. Das taxonomische System des Bergey's Manual wurde benutzt ([www.dsmz.de](http://www.dsmz.de), WHITMAN *et al.* 2001). Die Veränderungen der Biozönose wurden mittels statistischer Kennwerte, wie Diversitätsindizes, Artenvielfaltsschätzern und Rarefaction-Kurven bewertet.

Es galt die vereinfachte Annahme, dass die prozentuale Verteilung der OTUs (operational taxonomic unit, in etwa synonym mit dem Begriff Species) in den 16S rDNA Bibliotheken in grober Näherung auch die quantitative Populationsstruktur in den Reaktoren widerspiegeln und dass hydrogenotrophe und acetotrophe Methanbildner eine ähnliche Stoffwechselaktivität aufweisen. 1 OTU hat im Vergleich zu anderen OTUs eine Ähnlichkeit von <97%, um als separate Species oder noch als geringer verwandt zu gelten.

#### 4 Ergebnisse Fuzzylogikregelung

Die verwendete Fuzzylogikregelung kam mit nur 2 kommerziell verfügbaren Messsonden aus (pH und Methangehalt), ferner mit der verrechneten Größe der spezifischen auf die Substratbeladung  $g\ oTS\ l^{-1}$  bezogenen Gasproduktion aus: Normliter Biogas  $g^{-1}oTS\ d^{-1}$ . Sie ermöglichte

- eine Startphase mit einem sicheren Einfahren des Gärreaktors;
- eine zügige Erholungsphase nach einem schweren Reaktorzwischenfall, z.B. durch Übersäuerung;
- eine Hochdurchsatzvergärung mit sehr hoher Beladungsrate und sehr kurzer Verweilzeit (SCHERER *et al.* 2009a, DEMIREL *et al.* 2009).

Die spezifische Gasproduktion pro Tag ist eine neue Regelgröße, die in der Literatur bisher noch nicht auftauchte (patentiert). Die einfache Gasproduktion, ohne Bezug auf die Beladungsrate eines Biogasreaktors, die von anderen Autoren teilweise als Regelgröße verwendet wird, ist jedoch ungeeignet, da diese mit erhöhter Beladungsrate des Reaktors stetig nach oben geht, auch wenn sich bereits hohe Fettsäuregehalte im Reaktor eingestellt haben (SCHERER *et al.* 2008).

In einer ersten 1½ jährigen Testperiode wurde unter manueller, 1x täglicher Substratbeschickung Katzenfutter in Dosen als Modellsubstrat für Speisereste unter thermophilen Bedingungen erfolgreich und stabil vergoren. Es resultierten dadurch in den Biogasreaktoren Ammoniumwerte von über 6 g/Liter und Ammoniakwerte von etwa 1,5 g/Liter, also hohe pH-Werte von 7,2-8,2 (SCHERER & LEHMANN 2004). Es kam dabei das zweistufige patentierte Hypertherm®-Verfahren (65°C/55-60°C) zur Anwendung, das ehemals für die Organik-Fraktion von Restmüll optimiert worden war, aber auch für Böschungsgut geeignet ist (SCHERER *et al.* 2000). Bei der weiteren, mehrjährigen Testphase wurde die Fuzzyregelung erfolgreich auf saure Rübensilage pH 3-3,5 (Fermenter-pH 6,3-7,3) als Monosubstrat ohne Gülle adaptiert. Es wurde eine relativ kurze Verweilzeit bzw. rel. hohe Beladungsrate vorgewählt, die die Bakterienpopulation selbsttätig erreichen musste, i.d.R. HRT 5,5 – 30 Tage. Die Beladungsrate OLR (organic loading rate) bewegte sich zwischen 2,5 – 14,3 g oTS l<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> (SCHERER *et al.* 2003, 2008, 2009a, DEMIREL *et al.* 2009)

## 5 Ergebnisse Mikrobiologie

Ziel war es, die bei dem NawaRo-System Rübensilage bei der Vergärung zu Methan und CO<sub>2</sub> mesophil wie thermophil beteiligten Mikroorganismen über das Abbild des Ribotyps (ribosomale DNA über ARDRA-Technik) und simultan über das direkte morphotypische Abbild (digitales Imaging bzw. Bildanalyse) auch ohne Kultivierung zu detektieren, was in dieser Kombination noch nie für eine NawaRo-Vergärung gemacht wurde.

Letztlich sind die molekularbiologischen Methoden zwar wesentlich genauer, aber um ein Vielfaches aufwendiger. Bildanalysen haben dagegen den Vorteil, eine sehr rasche Information über den Zustand eines Biogasreaktors zu geben. Methanogene Mikroorganismen (Archaea) haben das einzigartige Charakteristikum einer stark grünen Eigenfluoreszenz (sog. Faktor 420) bei Lichtanregung mit 400 – 430 nm Wellenlänge. Die Stärke der Fluoreszenz ist dabei sogar direkt proportional zur Aktivität der Bakterien, sie lässt sich aber nur schwer quantifizieren.

Die Gesamtbakterien untersucht man ohne Fluoreszenz im Phasenkontrastmodus und durch Differenzbildung lässt sich der Anteil an Methanbildnern feststellen. Sind die Methanbildner limitiert, kann es nicht zur erforderlichen pH-Neutralisation der in den sauren Silagen vorliegenden hydrolysierten Substrate kommen. Die OLR des Reaktors kann nicht auf Hochdurchsatz gesetzt werden. Daher kann an der Zahl der Methanbildner die Leistungskapazität eines Biogasreaktors abgeschätzt werden. Ist ein Limit unterschritten, übersäuert der Reaktor und dies kann bei pH-Werten unterhalb von 5,5 sogar zum Absterben der methanogenen Bakterien führen (SCHERER 2008). Besonders empfindlich sind dabei Essigsäure direkt verwertende Organismen, so die methanbildenden Methanosaeten, die auch gegen Ammonium und H<sub>2</sub>S empfindlich sind und daher in hochbelasteten Güllen von den wesentlich robusteren Methanosarcinen verdrängt werden können (KARAKASHEV *et al.* 2005, DEMIREL & SCHERER 2008). Bei Hemmung der Biogaspro-

duktion kann somit entschieden werden, ob die Ursache die zu geringe Anzahl der methanogenen Bakterien war oder andere Ursachen hat, z.B. chemische Einwirkung.

Für gerührte Biogasreaktoren ohne Aufwuchskörper gilt nach den Bildanalysen der HAW:

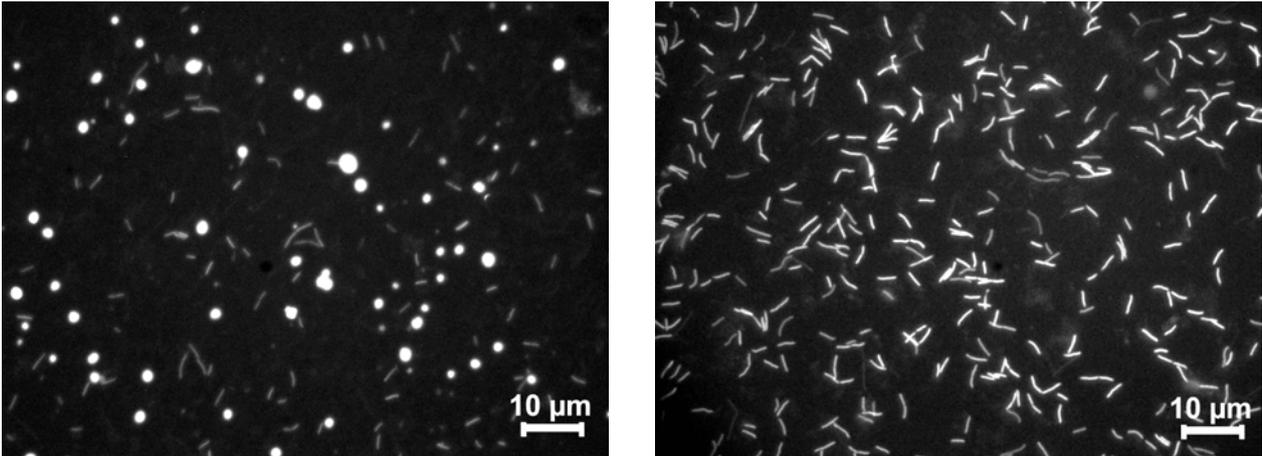
**Tabelle 1:** Mikrobieller Qualitätsindex zur Bonitierung von Biogasreaktoren

Reaktor-Gesamt-bakterien	Reaktor-Zustand	Methanbildende Archaea an der Gesamtpopulation	Reaktor-Zustand
$>10^{10}$ /ml	Sehr gut	> 15% (Spitze ca. 25%)	Sehr gut
$10^9$ - $10^{10}$ /ml	Normal	> 10-15%	Gut
$< 8 \times 10^9$ /ml	Mangel oder Hemmung, Mangel ins-bes. wenn HAc:HProp >5:1	> 5-10%	Mittelmäßig
		< 5%	Mangel oder Hemmung

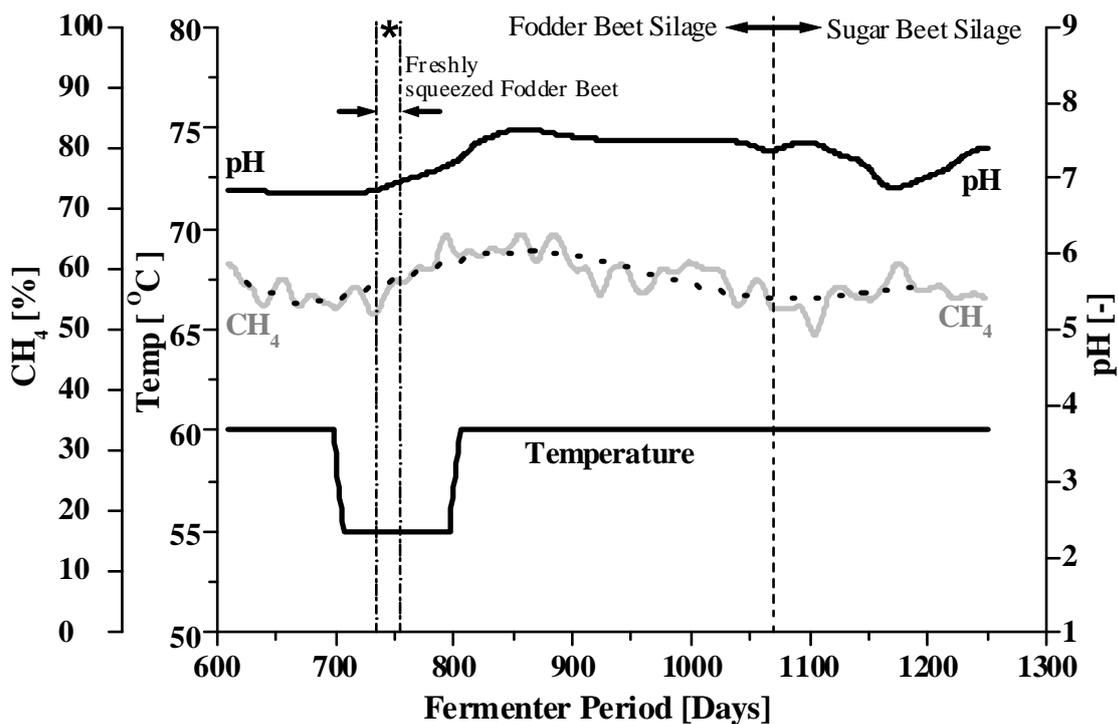
Sinkt die Zahl der Methanbildner auf unter 5% der bakteriellen Gesamtpopulation, so kann nach den Erkenntnissen an der HAW davon ausgegangen werden, dass der betreffende Reaktor ernsthafte Leistungsprobleme hat. Das Problem lässt sich in gewisser Weise durch erhöhte Biomasse im Reaktor kompensieren. Dieses ist aber nur mit einer sog. Pseudotrockenvergärung (12% TS) oder mit Biofilmen/Aufwuchskörpern zu erzielen.

Untersuchungen im Vorfeld zeigten bei der Rübenvergärung überraschend die Dominanz hydrogenotropher, das heißt i.d.R. Wasserstoff verwertender Methanbildner, während acetotrophe Methanbildner nur sehr wenig zu finden waren, - sowohl vom Morphotyp wie auch vom Ribotyp gesehen (ribosomale DNA über ARDRA).

Dabei bildet der Morphotyp acetotropher Methanbildner entweder Fäden (Methanosaeta, 1 Gattung), oder Sarcinen (kokkoide Zellpakete, 1 Gattung), also jedenfalls nicht die fast homogen wirkenden Stäbchen, wie in **Bild 1b** zu sehen sind.



**Bild 1a/b:** Dargestellt sind nur die typisch fluoreszierenden, methanbildenden Archaea im thermophilen Reaktor. **A.** Reaktortag 798d bei 55°C mit gemischten methanogenen Archaea, kokkoid und Stäbchen. **B.** Rechts der Reaktortag 609d mit ausschliesslich stäbchenförmigen Methanbildnern, fast wie eine Monokultur aussehend. Dieses Bild war im Reaktor reversibel durch 55° oder 60°C erzielbar.



**Bild 2:** Gezeigt ist der beprobte Verlauf des thermophilen Reaktors. In der Zeit vom Reaktortag 702-796d wurde die Temperatur von 60° auf 55°C abgesenkt, danach wieder auf 60°C erhöht. Ganz zu Anfang, ca. 80 Tage nach  $t_0$ , lief der Reaktor bei 65°C, um dann durch mangelnden Propionsäureabbau instabil zu werden (gezeigt in SCHERER et al. 2003). Der simultan betriebene mesophile Reaktorverlauf, der bis 1755 Tage beprobt wurde, ist aus Platzgründen nicht dargestellt.

Die Verteilung der mesophilen, methanbildenden Archaea ist in **Tabelle 2** gezeigt. Hier gab es zwei Imbalancen am Reaktortag 877d und bei 1600d. Dadurch kam es zu einem Maximum der acetotrophen Methanosarcinales (im wesentlichen Methanosaeten) von 21-58%, die ansonsten nur eine untergeordnete Rolle von 2 - 7,5% spielten

**Tabelle 2:** Gesamtergebnisse der im mesophilen Rübensilage-Biogasreaktor detektierten methanbildenden Archaea im Verlauf von 1755 Reaktortagen

HRT [day]	25.91	10.1	8.11	47.7	7.96	9.5						
OLR [ $g_{VS} l^{-1} day^{-1}$ ]	5.51	11.9	14.28	2.07	8.27	5.68						
spec. GPR [ $l_{STP} l^{-1} day^{-1}$ ]	0.616	0.762	0.538	0.633	0.567	0.441						
Investigated Reactor Days	650d	877d	1017d	1209d	1600d	1755d						
OTU / Clone [%]	OTU Clone	OTU Clone	OTU Clone	OTU Clone	OTU Clone	OTU Clone						
<i>Methanothermobacter thermoautotrophicus</i>	2	2.50										
<i>Methanobacterium Beijinense</i>		1	5.36	2	5.00	1	3.33					
<i>Methanobacterium formicicum</i>		1	0.89			1	1.67					
Methanobacteriales (order)	6	95.83	1	13.39	3	75.83	14	94.31	2	43.22	1	65.83
<b>Methanobacteriales, total</b>	<b>8</b>	<b>98.33</b>	<b>3</b>	<b>19.64</b>	<b>5</b>	<b>80.83</b>	<b>14</b>	<b>94.31</b>	<b>3</b>	<b>54.24</b>	<b>3</b>	<b>70.83</b>
<i>Methanosaeta harundinacea</i>				1	0.83							
<i>Methanomethylovorans sp.</i>								1	1.69			
<i>Methanosaeta concilii</i>			2	57.14	1	2.50		2	9.32	1	7.50	
Methanosarcinales (order)	1	1.67						1	4.24			
<b>Methanosarcinales, total</b>	<b>1</b>	<b>1.67</b>	<b>2</b>	<b>57.14</b>	<b>2</b>	<b>3.33</b>		<b>4</b>	<b>15.25</b>	<b>1</b>	<b>7.50</b>	
<i>Methanospirillum hungatei</i>			1	20.54	2	15.83	1	1.63	2	16.10	1	8.33
<i>Methanospirillum sp.</i>							1	4.07				
Methanomicrobiales (order)									4	13.56	2	10.83
<b>Methanomicrobiales, total</b>			<b>1</b>	<b>20.54</b>	<b>2</b>	<b>15.83</b>	<b>2</b>	<b>5.69</b>	<b>6</b>	<b>29.66</b>	<b>3</b>	<b>19.17</b>
not assignable Euryarchaeota1			3	2.68								
not assignable Euryarchaeota3								1	0.85			
not assignable Euryarchaeota4											2	2.50
Simpsons Index of Diversity	0.52	0.62	0.6	0.58	0.8	0.75						
Shannon - Index	1.09	1.36	1.07	1.55	1.91	1.65						
detected OTUs / Chao - I -Estimation	9 / 9.25	9 / 9.33	9 / 9.50	16 / 21.00	14 / 16.00	9 / 9.00						

Unter thermophilen Verhältnissen dominierten die hydrogenotrophen Methanobacteriales bis zu 100%. Es gab keine thermophilen Methanosaeten, dafür lediglich Methanosarcina thermophila, **Tabelle 3**. Die Nachweisgrenze wurde mit Reinkulturen zu 10Exp 5 bestimmt.

**Tabelle 3:** Gesamtergebnisse der im thermophilen Rübensilage-Biogasreaktor detektierten methanbildenden Archaea im Verlauf von 1249 Reaktortagen

HRT [day]	54.55d	25.91	25.91	25.91d	43.85					
OLR [ $g_{VS} l^{-1} day^{-1}$ ]	1.376	2.702	2.999	2.589	2.121					
sGPR [ $l_{STP} l^{-1} day^{-1}$ ]	0.57	0.588	0.844	0.485	0.564					
Investigated Reactor Days	609d	727d	745d	924d	1249d					
OTU / Clone [%]	OTU Clone	OTU Clone	OTU Clone	OTU Clone	OTU Clone					
<i>Methanothermobacter thermoautotrophicus</i>				1	8.82	27.19				
<i>Methanobacterium formicicum</i>	1	0.98	1	2.75						
<i>Methanothermobacter wolfei</i>			1	1.77	1	14.71				
Methanobacteriales	6	99.02	5	78.90	4	96.46	5	76.47	4	69.30
<b>Methanobacteriales, total</b>	<b>7</b>	<b>100</b>	<b>6</b>	<b>81.65</b>	<b>5</b>	<b>98.23</b>	<b>7</b>	<b>100</b>	<b>4</b>	<b>96.49</b>
<i>Methanosarcina thermophila</i>			1	9.17						
Methanosarcinales					1	1.77			1	3.51
<b>Methanosarcinales, total</b>			<b>1</b>	<b>9.17</b>	<b>1</b>	<b>1.77</b>			<b>1</b>	<b>3.51</b>
<i>Methanoculleus spec.</i>			2	9.17						
<b>Methanomicrobiales, total</b>			<b>2</b>	<b>9.17</b>						
Simpsons Index of Diversity	0.52	0.55	0.42	0.8	0.6					
Shannon - Index	1.06	1.22	0.86	1.73	1.09					
detected OTUs / Chao - I -Estimation	7 / 10	9 / 15	6 / 6	7 / 7	5 / 5					

Methanosaeten sind aus der Literatur dafür bekannt, geringste Essigsäurekonzentrationen direkt zu Methan verwerten zu können ( $\leq 60$  ppm). Die meisten Methanosaeten sind mesophil, es gibt aber auch thermophile Vertreter (*M. thermophila*). Sie haben eine Verdopplungszeit von etwa 1 Woche, sind also sehr langsam wüchsig und werden normalerweise durch permanent geringe Fettsäurewerte, wie sie in den untersuchten Reaktoren dank Fuzzyregelung unter 500 ppm vorhanden waren, gefördert. Dies war aber hier nicht der Fall, wenn der Reaktor stabil lief. Nur bei Imbalanzen (Fettsäuren  $>5000$  ppm) konnte überraschend der Anteil von Methanosaeten im mesophilen Reaktor steigen. Dies war nur an zwei Tagen der Fall, Tag 877d und 1600d. Hier stieg die Methanosaetenzahl auf 15% bzw. 57%, Methanosarcinen blieben aber erstaunlicherweise unter 6%, im thermophilen Reaktor gab es stattdessen nur *M. thermophila*, s. oben.

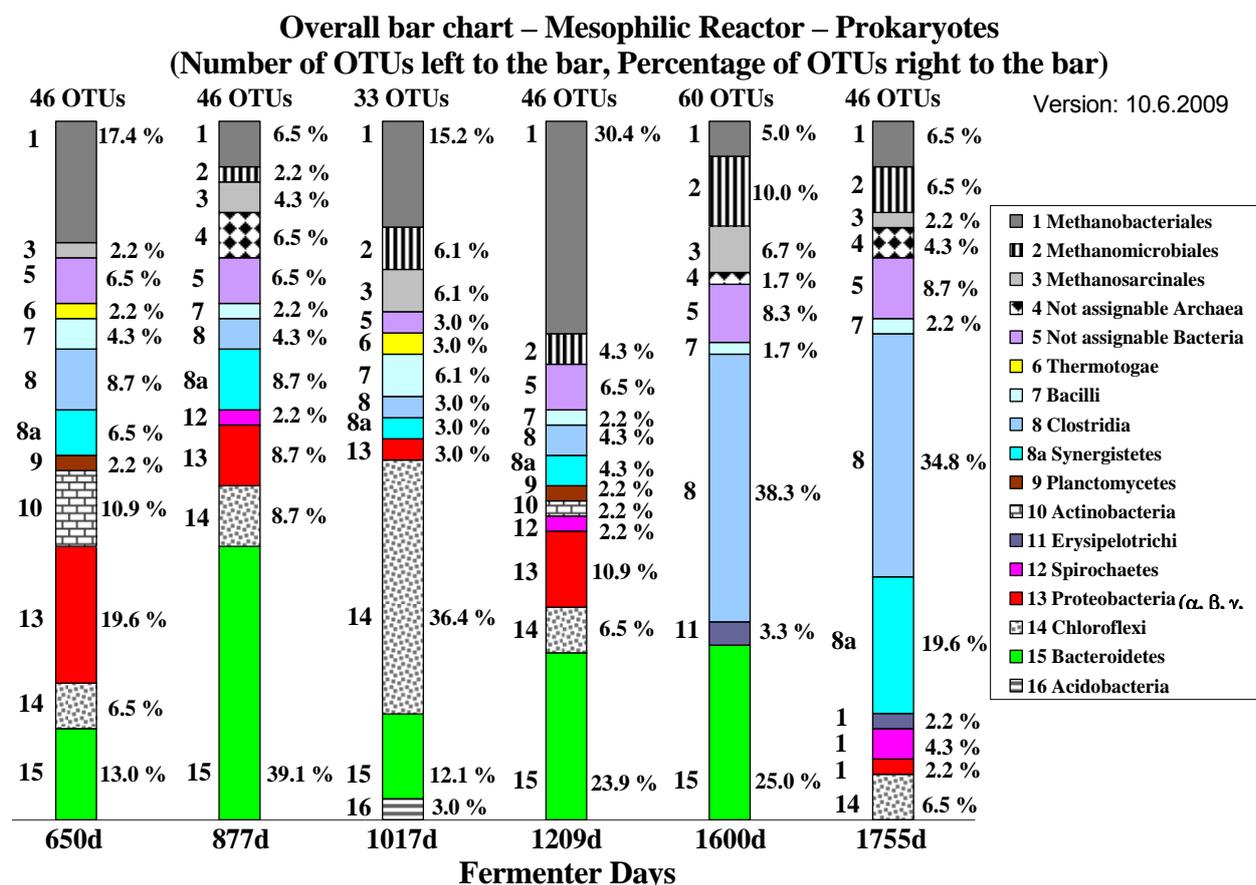
Methanosarcinen verwerten im Gegensatz zu Methanosaeten bevorzugt hohe Essigsäurekonzentrationen, 10fach höher ( $\geq 600-6000$  ppm), daneben aber auch Methanol, Methylamine und  $H_2 + CO_2$ . Diese haben Verdopplungszeiten von 1-3 Tage.

Sie setzen sich aber auch allein aufgrund hoher Ammoniumwerte gegenüber Methanosaeten durch (KARAKASHEV *et al.* 2005). Hydrogenotrophe Methanbildner sind mit Verdopplungszeiten von max. mehreren Stunden bis Tagen dagegen recht schnellwüchsig, wozu aber unmittelbar eine hohe Wasserstoffkonzentration als Energiesubstrat erforderlich ist. Hydrogenotrophe Methanbildner kennt man bisher nur von der Ordnung Methanobacteriales („Bacillustyp“, Stäbchen) und Methanomicrobiales (Stäbchen und kokkoide Morphotypen), ferner von den Methanococcales (überwiegend marine Vertreter) und Methanopyrales (Extremophile,  $98^\circ C$  und höher). Auch Methanosarcinales können hydrogenotroph sein, dann aber nur als vom Morphotyp charakteristische Methanosarcina, z.B. *M. barkeri* (WHITMAN *et al.* 2001). Kommen daher überwiegend stäbchenförmige Methanbildner in Biogasreaktoren vor, so kann direkt auf eine überwiegend hydrogenotrophe Methanbildung aus den gasförmigen Substraten  $H_2 + CO_2$  geschlossen werden, s. **Bild 1b**.

Die Dominanz von hydrogenotrophen Methanbildnern in einem Biogasprozess mit hohem Organikanteil wurde schon früher vereinzelt beobachtet (SCHERER *et al.* 2000, SCHERER *et al.* 2005, DEMIREL & SCHERER 2008, JANSSEN & KIRS 2008). Vergleichbare Ergebnisse mit einer Dominanz der stäbchenförmigen, hydrogenotrophen Methanobacteriales unter thermophilen Bedingungen bei der Vergärung von Gras berichtet Arab mit 92% der OTUs und mit 99% bei der Vergärung von Maissilage (Arab TUM, BCN-Bericht unveröff.). BAUER *et al.* (2008) hatten ebenfalls eine thermophile Vergärung von Maissilage betrieben und fanden als methanogene Archaea ausschliesslich Methanobacteriales und Methanosarcina thermophila (nur 1 einzige OTU bei mesophil), genau wie hier. Methanosaeten wurden ebenfalls bisher nicht im Kuhpannen gefunden, dafür fast ausschliesslich hydrogenotrophe Methanbildner (JANSSEN & KIRS 2008).

Methanbildende Archaea in NawaRo-Biogasreaktoren untersuchten auch Klocke *et al.* (BCN-Projekt, ATB) und fanden bei der ausschliesslich mesophilen Vergärung von Futterrübe, Mais, Roggen, Gras und Triticale die hydrogenotrophen Methanobacteriales, Methanospirillum, Methanoculleus, Methanocorpusculum in Dominanz sowie die ace-

trophen Methanosarcinen und Methanosaeta in deutlicher Unterzahl (KLOCKE *et al.* 2007, 2008). KRAUSE *et al.* (2008) fanden mit einer neuen Pyrosequenztechnik in einer Biogasanlage zur Vergärung von Maissilage die hydrogenotrophen Methanbildner ebenfalls dominant, wobei Methanoculleus (s. auch **Tabelle 3**) eine herausragende Rolle spielte. Auch CIRNE *et al.* (2007) detektierten Archaeen in NawaRo-Reaktoren, die aber leider nicht näher differenziert wurden.



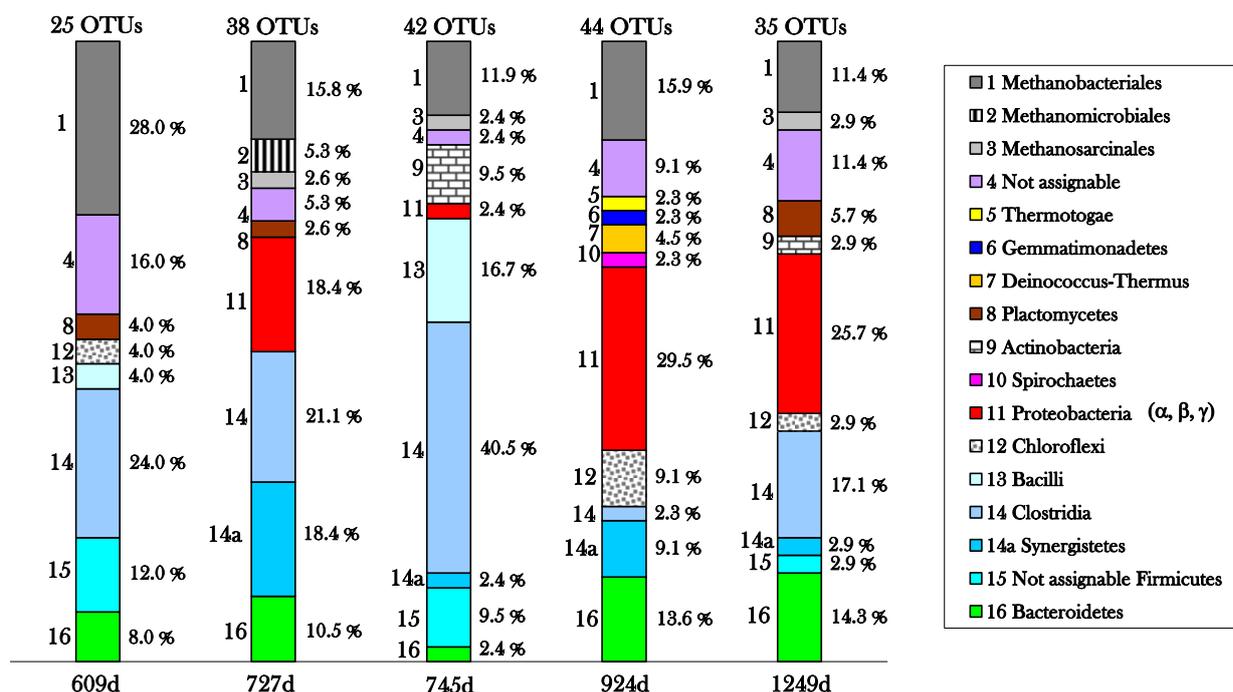
**Bild 3:** Biodiversität in einem mesophilen, intermittierend gerührten Biogasreaktor (41°C) mit Rübensilage als alleinigem Substrat, Beprobung an 6 ausgewählten Reaktortagen. Aufgrund der OTU-Zahlen lag der Anteil an Methanbildnern zwischen 19-25%

## 6 Bacteria mesophil bei der NawaRo-Vergärung

Die Ergebnisse zur bakteriellen Begleitflora des mesophilen, güllefreien, kontinuierlich betriebenen Biogasektors erbrachten die Phyla der Bacteroidetes, Firmicutes (inkl. Clostridia und Bacilli), Proteobacteria (α,β,γ), Spirochaetes, Chloroflexi, Actinobacteria, Planctomycetes, sowie die Thermotogae (vermutlich Mesotogae NESBø *et al.* 2006) Erysipelotrichi sowie Synergistites (ehemals Vertreter von Clostridia). Die meisten Gruppen konnten auch von H. Arab (TUM, BCN-Bericht, unveröff.) bei der Kovergärung von Rindergülle mit Maissilage gefunden werden, während KLOCKE *et al.* (2007) bei der Vergärung von Futterrübensilage ebenfalls diese Gruppen als hauptsächliche detektieren konnten, mit Ausnahme

der Phyla Planctomycetes, Chloroflexi, Thermotoga und Erysipelotrichi (nicht gefunden). Cirne *et al.* fanden während der Kovergärung von Zuckerrüben mit Rindergülle (ferner von Gras und Klee) ebenfalls Chloroflexi, ferner nur  $\alpha, \beta, \gamma$ -Proteobacteria sowie Bacteroidetes, Firmicutes und Actinobacteria. Auffällig war, dass KLOCKE *et al.* (2007) bei der Vergärung von Futterrübensilage nur die  $\delta$ -Proteobacteria detektierten, nicht jedoch die  $\alpha, \beta, \gamma$ -Proteobacteria, die in der AG Klocke (ATB) allerdings in Mais gefunden wurden, dafür dort wiederum nicht die  $\delta$ -Gruppe (SOUIDI *et al.* 2007). Als weitere Studie über Bacteria bei der Kovergärung von Energiepflanzen gibt es nur die kurze Arbeit von WANG *et al.* (2009), die kurioserweise die  $\delta$ -Proteobacteria als typisch für das Substrat Zuckerrübe erachteten (vgl. SOUIDI *et al.* 2007).  $\delta$ -Proteobacteria sind typischerweise Sulfat reduzierende Bakterien, können aber ohne Sulfat z.B. Ethanol zu  $H_2 + CO_2$  oxidieren und syntrophisch mit hydrogenen Methanbildnern leben, **Bild 3**. In einer weiteren Studie mit Mais wurden von Klocke *et al.* (BCN-Bericht, unveröff.) seltene Phyla gefunden, die hier nicht detektiert wurden, so die Verromicrobia, die Deferribacteria und  $\epsilon$ -Proteobacteria.

Allerdings sind alle zitierten Arbeiten im Hinblick auf die eigenen Ergebnisse vergleichsweise Kurzzeitexperimente gewesen, da bei Verweilzeiten von 20-30 Tagen die Beprobungsphase max. über 66 Tage reichte, während hier die die Beprobungen überhaupt erst nach 600 Tagen Gleichgewichtseinstellung begannen, als die Gülle vollkommen ausgewaschen war. Es wurde berichtet, dass auf einen Ackerboden ausgebrachte Rindergülle sogar als Inokulum für die Methanbildner Methanoculleus und Methanosarcina betrachtet werden konnte, die in ungedüngtem Boden nicht nachweisbar waren (GATTINGER *et al.* 2007). Von anderen Untersuchungen ist ebenfalls bekannt, dass Methanoculleus ein prominenter Vertreter des Kuhpansens ist (JANSSEN & KIRS 2008). Deshalb kann durch Kurzzeitexperimente der unmittelbare Einfluss der Bakterien in der Gülle als Inokulum nicht ausgeschlossen werden.



**Bild 4:** Biodiversität in einem thermophilen, intermittierend gerührten Biogasreaktor (55/60°C) mit Rübensilage als alleinigem Substrat, Beprobung an 5 ausgewählten Reaktortagen. Aufgrund der OTU-Zahlen lag der Anteil an Methanbildnern zwischen 14-28% der Gesamtpopulation

## 7 Bacteria thermophil bei der NawaRo-Vergärung

Molekularbiologische Untersuchungen zur Bacteria-Biodiversität bei der thermophilen Vergärung von Energiepflanzen wurden bisher nur von H. Arab (BCN-Bericht, unveröff., TUM) und an der HAW durchgeführt.

Als Besonderheit konnte bei der HAW im thermophilen Reaktor mit Rübensilage am Tag 924d nebst einem Vertreter des Phylums Thermotogae auch ein OTU der Gemmatimonadetes gefunden werden, wovon es bislang nur einen mesophilen (25-35°C), aeroben, proteolytischen Vertreter gibt ([www.dsmz.de](http://www.dsmz.de)). Es scheint, dass diese bisher in der Literatur nur einmal beschriebene Gruppe noch ganz andere, anaerobe Vertreter enthalten muss, **Bild 4**.

Ungewöhnlich am Reaktortag 924d war auch das Vorkommen des Phylums „Deinococcus-Thermus“, das in unüblicher Weise nach den beiden Gattungsvertretern Deinococcus und Thermus benannt ist. Der gängige *Deinococcus radiodurans* ist aerob, heterotroph und mesophil (30-37°C) und für seine Gammastrahlen-Verträglichkeit bekannt. Die Gattung *Thermus* ist ebenfalls normalerweise aerob und findet man ansonsten in heißen, vulkanischen, wenig nährstoffreichen Quellen bei 70-75°C (hier 60°C). Auch hier ist wieder zu beobachten, dass die gefundenen OTUs derart anders sind, so dass sie häufig nur einer Familie eines Phylums zugeteilt werden konnten. Ähnliche Beobachtungen, dass die

gefundenen Bakterien meist nicht das übliche Genmuster aufweisen, machte auch Klo-cke (BCN-Bericht, unveröff.).

Bemerkenswert sind auch die thermophil detektierten Chloroflexi oder „grünen Nichtschwefelbakterien“ (auch mesophil detektiert), die als Phylum und als Ordnung so bezeichnet werden. Es sind fädige, mesophile Bacteria (bis 45°C), die photoheterotroph sind und vielfach in Kläranlagen mit Belebtschlamm, aber auch in einer reinen Anaerobanlage mit Schlammbett gefunden wurden. Daneben konnte auch ein thermophiler Vertreter des Phylums der Spirochaeten (normalerweise mesophil) gefunden werden, Reaktortag 924d, s. **Bild 4**.

## 8 Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse verstärken die Sicht (DEMIREL & SCHERER 2008), dass bei der Vergärung organikreicher NawaRo wasserstoffverwertende, methanbildende Bakterien (*Methanobacteriales* und *Methanomicrobiales*) dominieren, während acetotrophe Methanbildner (*Methanosarcinales*) stark zurückgedrängt werden können, **Tabelle 2** und **3**.

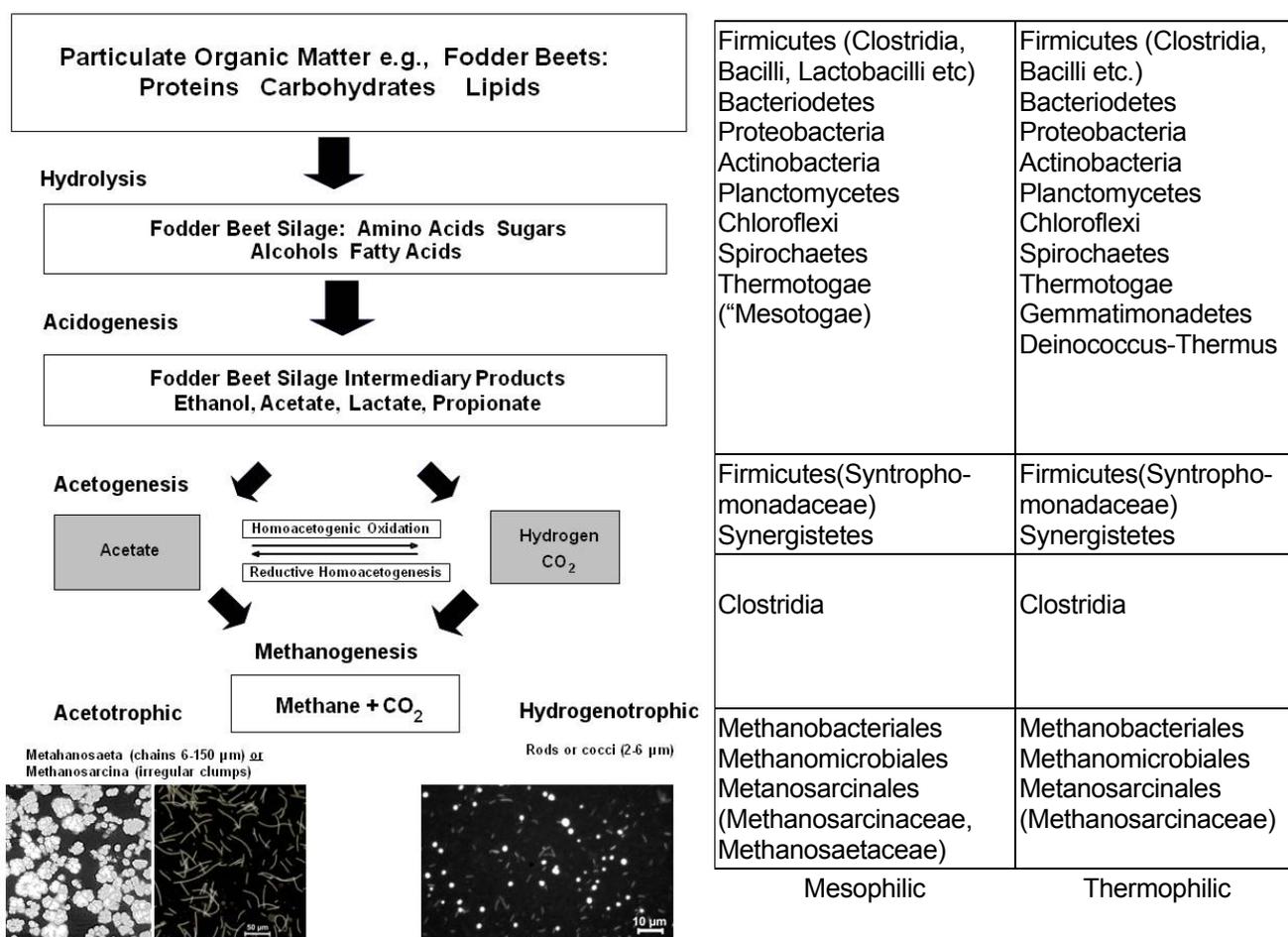
Dies widerspricht dem allgemein gängigen Modell der Methanbildung „Anaerobic Digestion Model No. 1“ (ADM1, BATSTONE et al. 2006). Darin wird die acetotrophe Methanbildung mit einem Anteil von 64% veranschlagt und die hydrogenotrophe nur zu 24%. Dieses Modell geht aber auf Klärschlammversuche der späten 70er Jahre von Kaspar und Wuhrmann zurück. Daher sollte aufgrund der Erkenntnisse der o.a. Arbeiten und der zitierten Literatur das bestehende Modell ADM1 zur Modellierung der Gaserträge von Biogasanlagen auf eine neue Basis gesetzt werden.

Es wurde auffällig beobachtet, dass der Spektrum der universell orientierten Bacteria-Kohlenstoffverwerter viel größer als das der methanbildenden Spezialisten war, wobei sich dieses Spektrum auch viel dynamischer änderte, was insbesondere die Langzeituntersuchungen zeigten konnten, **Bild 3, 4** und **5**.

Thermophile Bedingungen (55°C) scheinen besonders die hydrogenotrophen Methanbildner zu begünstigen. Besonders eklatant war dies bei dem Wechsel der Temperatur von 55°C auf 60°C („hyperthermophilic“) und wieder zurück zu beobachten, was zu fast 100% hydrogenotrophen Methanbildnern bzw. *Methanobacteriales* führte, **Tabelle 3**. Dies kann durch den unter thermophilen Bedingungen stark erhöhten Wasserstoffpartialdruck erklärt werden, der im geschlossenen System wiederum zu einer erhöhten Wasserstoffkonzentration führt, der damit offenbar die Energetik dieser Bakterien in solcher Weise begünstigt (Gibbsche freie Energie  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ , durch Temperaturterm der Entropie S wird  $\Delta G$  bei thermophiler Betriebsweise um ein Vielfaches größer, d.h. negativer), so dass die thermophile Methanbildung zuerst über eine nahezu komplette „kalte“ Vergasung“ der Biomasse zu  $H_2/CO_2$  abläuft, womit dieses Gasgemisch und nicht Acetat dann letztlich durch hydrogenotrophe Methanbildner zu  $CH_4/CO_2$  konvertiert wird. Versuche mit 60°C

reversibel (HAW) zeigten, dass sich gegenüber 55°C eine ganz andere Archaea-Population durchsetzte, **Tabelle 3**. 60°C schliesst danach die gegenüber Acetat, NH<sub>3</sub> und H<sub>2</sub>S empfindlichen, fädigen Methanosaeten aus.

Daraus leitet sich die Erkenntnis ab, dass für einen Hochdurchsatz die 60°C- der 55°C-Gärung vorzuziehen ist. Sie sollte von Anfang an durch geeignete Impfmaterien mit hoher Impfkraft etabliert werden, was hier der Fall war und durch die hohen OTU-Zahlen an Methanbildnern im Bereich von 19-35% (mesophil) und 14-28% (thermophil) deutlich unterlegt wird.



**Bild 5:** Überblick über das klassische Lehrbuchschemata zur anaeroben Nahrungskette (links, Fotos AG Scherer) und über die eigenen Ergebnisse hierzu im Überblick bei der Vergärung von Rübensilage (rechts). Sie bestätigen und ergänzen das bisherige Bild hiervon

## 9 Literatur

- BATSTONE D.J., KELLER J., STEYER J.P. (2006):** A review of ADM1 extensions, applications, and analysis: 2002-2005., *Wat. Sci. Tech.* 54: 1–10
- BAUER C., KORTHALS M., GRONAUER A., LEBUHN M. (2008):** Methanogens in biogas production from renewable resources – a novel molecular population analysis approach. *Wat. Sci. Tech.* 58: 1433-1439

- CIRNE D.G., LEHTOMÄKI A., BJÖRNSSON L., BLACKALL L.L. (2007):** Hydrolysis and microbial community analyses in two-stage anaerobic digestion of energy crops., *J Appl Microbiol* 103: 516–527
- DEMIREL B., SCHERER P. (2008):** The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: A review. *Rev Environ. Sci. Biotechnol.* 7: 173-190
- DEMIREL B., NEUMANN L., SCHERER P. (2008):** Microbial community dynamics of a continuous mesophilic anaerobic biogas digester fed with sugar beet silage. *Eng. Life Sci.* 8: 390–398
- DEMIREL B., ERGUN S., NEUMANN L., SCHERER P. (2009):** Performance and behaviour of the microbial community of an anaerobic biogas digester using Sugar Beet Silage as mono-substrate. *Biosystems Engineering* 102:442-452
- DOBLER S., ROHARDT S., SCHERER P.A. (2003):** Messdatenerfassung und automatische Dosiereinrichtung von Feststoffen unter LabVIEW für eine hochinstrumentierte Labor-Biogasanlage. In: D. Beckmann (ed.), *Technische Systeme für Biotechnologie und Umwelt*, Band 11, IBA e.V., Heiligenstadt, S. 297-313
- GATTINGER A., HÖFLE M. G., SCHLOTTER M., EMBACHER A., BÖHME F., MUNCH J.C., LABRENZ M. (2007):** Traditional cattle manure application determines abundance, diversity and activity of methanogenic Archaea in arable European soil. *Environ Microbiol* 9, 612–624
- JANSSEN P.H., KIRS M. (2008):** 'Structure of the archaeal community of the rumen., *Appl Environ Microbiol* 74: 3619–3625
- KARAKASHEV D., BATSTONE D.J., ANGELIDAKI I. (2005):** Influence of environmental conditions on methanogenic compositions in anaerobic biogas reactors. *Appl Environ Microbiol* 71: 331-338
- KLOCKE M., MÄHNERT P., MUNDT P., SOUIDIA K., LINKE B. (2007):** Microbial community analysis of a biogas producing completely stirred tank reactor fed continuously with fodder beet silage as mono-substrate. *Syst. Appl. Microbiol.* 30: 139-151
- KLOCKE M., NETTMANN E., BERGMANN I., MUNDT K., SOUIDI K., MUMME J., LINKE B. (2008):** Characterization of the methanogen Archaea within two-phase biogas reactor systems operated with plant biomass. *Syst. Appl. Microbiol.* 31: 190-205
- KRAKAT N., SCHERER P. (2007):** The methanogenic and bacterial diversity in a high throughput fuzzy controlled digester for renewable biomass. 11th World Congress on Anaerobic Digestion: Bioenergy for our future, Brisbane, Australia 23-27 September 2007
- KRAUSE L., DIAZ N.N., EDWARDS R.A., GARTEMANN K.-H., KRÖMEKE H., NEUWEGER H., PÜHLER A., RUNTE K.J., SCHLÜTER A., STOYE J., SZCZEPANOWSKI R., TAUCH A., GOESMANN A. (2008):** Taxonomic composition and gene content of a methane-producing microbial community isolated from a biogas reactor. *J Biotechnol* 136: 91–101
- NESBØ C.L., DLUTEK M., ZHAXYBAYEVA O., DOOLITTLE W.F. (2006):** Evidence for existence of "mesotogas," members of the order Thermotogales adapted to low-temperature environments., *Appl Environ Microbiol* 72: 5061–5068
- RHEIMS H., STACKEBRANDT E. (1999):** Application of nested polymerase chain reaction for the detection of as yet uncultured organisms of the class Actinobacteria in environmental samples. *Environ. Microbiol.* 1 (1999) 137-143
- SCHERER P. (1999):** Bestimmung des Gasbildungspotentials bei Vergärungen. *BiogasJournal* 3/99: 31
- SCHERER P.A., VOLLMER G.-R., FAKHOURI T., MARTENSEN S. (2000):** Development of a methanogenic process to degrade exhaustively municipal „grey waste“ under thermophilic and hyperthermophilic conditions. *Wat. Sci. Tech.* 41: 83-91

- SCHERER P., DOBLER S., ROHARDT S., LOOCK R., BÜTTNER B., NÖLDEKE P., BRETTSCUH A. (2003):** Continuous biogas production from fodder beet silage as sole substrate. *Wat. Sci. Tech.*, 48, 229-233
- SCHERER P., MÜLLER H., SCHMALE U. (2004):** Online Analyse von Gärversuchen bei Biogasanlagen und anaeroben Respirometern. GIT Labor 11/2004: 1034-1037
- SCHERER P., LEHMANN K. (2004):** Mehrjährige Versuche zur Vergärung von Energiepflanzen mittels Fuzzy-geregelter Intervallbelastung. In: D. Beckmann (ed.), *Technische Systeme für Biotechnologie und Umwelt*, Band 12 (ISBN 3-00-015042-0), IBA e.V., Heiligenstadt, S. 295-315
- SCHERER P.A., KLOCKE M., KRAKAT N., UNBEHAUEN M. (2005):** Anaerobic digestion of beet silage by non-aceticlastic methanogenesis. In: Ahring B.K., Hartmann H. (eds.), *Proceedings of the 4th International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Waste*, Technical University of Denmark, Copenhagen, p.106 - 111
- SCHERER P., ERGUN S., SCHMIDT O., LÖFFELHOLZ J., HENNING-JACOB J., VOLLMER G.-R. (2008):** Entwicklung einer Fuzzy-Logik-Regelung für eine Hochdurchsatzbiogasanlage: „Telefermentation“ zwischen Hamburg und Nordhausen In: *Gülzower Fachgespräche*, Druck FNR e.V, Gülzow, S. 146-171
- SCHERER P., LEHMANN K., SCHMIDT O., DEMIREL B. (2009A):** Application of a Fuzzy logic control system for continuous anaerobic digestion of low buffered, acidic energy crops as mono-substrate. *Biotechnol. Bioengin.* 102: 136-142
- SCHERER P., NEUMANN L., DEMIREL B., SCHMIDT O., UNBEHAUEN M. (2009B):** Long term fermentation studies about the nutritional requirements for biogasification of fodder beet silage as mono-substrate. *J. Biomass & Bioenergy*, Vol. 33, 873-881
- SOUIDI K., MUMME J., MUNDT K., NETTMANN E., BERGMANN I., LINKE B., KLOCKE M. (2007):** Microbial diversity in a biogas-producing co-fermentation of maize silage and bovine manure. *Agricultural Engineering Research* 13: 197-206
- SPIEGELMAN D., WHISELL G., GREER C.W. (2005):** A survey of the methods for the characterization of microbial consortia and communities. *Can. J. Microbiol.* 51: 355-386
- VDI 4630 (2006):** Vergärung organischer Stoffe/Digestion of Organic Matter (German & English, dual text). C. Beuth Verlag, Berlin oder VDI-Verlag, Düsseldorf
- WANG H., LEHTOMÄKI A., TOLVANEN K., PUHAKKA J., RINTALA J. (2009):** Impact of crop species on bacterial community structure during anaerobic co-digestion of crops and cow manure. *Biore-source Technol.* 100: 2311-2315
- WHITMAN W.B., BOONE D.R., KOGA Y., KESWANI J. (2001):** Taxonomy of methanogenic Archaea. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (D.R. Boone, R.W. Castenholz, eds.), Springer Publishers, pp. 211-294

## Einsatz von mathematischen Prozessmodellen zur Optimierung des anaeroben Abbauprozesses

### *Application of mathematical models for optimization of the anaerobic digestion process*

Tito Gehring<sup>1</sup>, Manfred Lübken<sup>2</sup>, Konrad Koch<sup>2</sup>, Harald Horn<sup>2</sup>, Marc Wichern<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft und Umwelttechnik, Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstraße 150, 44780 Bochum, Germany,

E-Mail: siwawi@ruhr-uni-bochum.de

<sup>2</sup>Lehrstuhl für Siedlungswasserwirtschaft, Technische Universität München, Am Coulombwall, 85748 Garching, Germany,

E-mail: wga@bv.tum.de

**Kurzfassung:** Die Veröffentlichung beschreibt Ergebnisse der Modellierung des meso- und thermophilen anaeroben Abbaus zweier landwirtschaftlicher Substrate (Grassilage und Roggenganzpflanzensilage) mit dem Anaerobic Digestion Model No. 1. Neben der Modellkalibrierung anhand von detaillierten Messdaten des Zulaufs, des Gärrests, der Gaszusammensetzung und des Gasflusses werden innovative Methoden zur Kalibrierung und Identifikation maßgebender biochemischer Modellparameter vorgestellt. Nach erfolgreicher Kalibrierung des Modells wird der Einsatz des ADM 1 für die Prozesssteuerung von Anlagen beschrieben. Für die Steuerung kam ein Algorithmus auf Basis der Fuzzy-Logic zur Anwendung.

**Schlüsselwörter:** Mathematische Modellierung, ADM1, Grassilage, Roggenganzpflanzensilage, Sensitivitätsanalyse, Parameteridentifikation, Genetischer Algorithmus, Prozesssteuerung, Fuzzy Logic

**Abstract:** *The paper describes the modeling results of mesophilic and thermophilic anaerobic degradation of two agricultural substrates (grass and rye silages) with the Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1). Linked with the model's calibration through detailed experimental measurements from input data, gas composition and gas production innovative methods for estimation and identification of key model parameters are presented. After successful model calibration the utilization of the ADM1 as process control tool is described. For control of anaerobic digestion a fuzzy-logic based algorithm was developed.*

**Keywords:** *Mathematical modeling, ADM1, grass silage, rye silage, sensitivity analysis, parameter identification, genetic algorithm, process control, fuzzy logic*

## 1 Einleitung

Seit dem Inkrafttreten des Erneuerbare Energien Gesetz (EEG) im Jahr 2000 erlebt die Biogasbranche einen starken Auftrieb, der sich insbesondere im Bau leistungsstarker Anlagen widerspiegelt. Aufgrund begrenzter Ressourcen im Bereich Rest- und Abfallstoffe, fiel der Fokus alsbald auf sogenannte Energiepflanzen, deren Kultivierung einzig der Biogasgewinnung dient. Daraus ergibt sich jedoch eine klare Konkurrenz zur Nahrungsmittelproduktion. Nach Aussagen des FACHVERBANDES BIOGAS E.V. (2008) ist mit Stand 2008 mit etwa 3900 Biogasanlagen in Deutschland zu rechnen, die eine elektrische Leistung von etwa 1400MW haben. Durch die staatliche Förderung der Energie aus pflanzlicher Biomasse sind derzeit von wissenschaftlicher Seite u.a. Fragen zum Abbau cellulosehaltiger Bestandteile aus Roggen, Mais und Grasschnitt, zum Einsatz von Mischsubstraten zur kostengünstigen und repräsentativen Messdatenerfassung, zur Prozesssteuerung, zum Einsatz von Spurenelementen sowie generell zur Steigerung des Gasertrages zu beantworten.

Bis jetzt sind Publikationen zur anaeroben Monovergärung von Energiepflanzen noch selten. Die Forschungsergebnisse wurden beispielsweise für die Kovergärung von Rinder- und Schweinegülle veröffentlicht. NORDBERG & EDSTRÖM (2005) untersuchten die Kovergärung von Klee mit pasteurisiertem städtischem Abfall und LINDORFER *et al.* (2007) betrachteten die Substrate Schweinegülle, Mais, Weizen und landwirtschaftliche Rückstände aus der Zucker und Gemüseverarbeitung nach. AMON *et al.* (2007) untersuchten die Methanproduktion bei der anaeroben Vergärung von verschiedenen Energiepflanzen. GERIN *et al.* (2008) erforschten die Vergärung von Mais und Gras, LEHTOMÄKI *et al.* (2008) den anaeroben Abbau von Gras in ein- und zweistufigen Systemen. Weitere Publikationen zur Vergärung reiner Energiepflanzen wie Mais, Gras und Zuckerrübensilage sind unter anderem von DEMIREL & SCHERER (2008), PREISSLER *et al.* (2007), SPECKMAIER *et al.* (2005) und WEILAND *et al.* (2007) zu finden. Bisher nur wenige Arbeiten sind zur Modellierung landwirtschaftlicher Biogasanlagen veröffentlicht worden. Analysen zur Behandlung und Modellierung von Rindergülle und Kohsubstraten sind von ANGELIDAKI *et al.* (1993, 1999), von AMON *et al.* (2007) für Gülle und Mais, von LÜBKEN *et al.* (2007) zu Gülle und landwirtschaftlichen Kosubstraten und von MYINT *et al.* (2008) für Rindergülle publiziert worden.

Neben der Kalibrierung des ADM 1 (BATSTONE *et al.* 2002) u.a. mit einem genetischen Algorithmus für Grassilage und Roggenganzpflanzensilage, werden nachfolgend zusätzliche Hinweise zur Sensitivität des ADM 1 und zur Identifizierbarkeit der biochemischen Parameter gegeben. Zudem werden verschiedene Szenarien vorgestellt, bei denen eine Prozesssteuerung mit Hilfe der Fuzzy Logic zur Anwendung kommt.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Untersuchte Anlagen

#### *Untersuchung der Fermentation von Grassilage*

Analysen der Grassilage und der Reaktorbiomasse wurden durch das Institut für Landtechnik und Tierhaltung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft in Freising (ILT) durchgeführt (siehe Andrade et al. im gleichen Tagungsband). Die 36-Liter-Reaktoren wurden täglich mit behandelter (heterofermentativ) und unbehandelter Silage gefüttert. Die Reaktoren wurden bei 38°C unter mesophilen Bedingungen betrieben. Die Raumbelastung der einzelnen Reaktoren schwankte zwischen 0,3 und 2,5 kgVS/(m<sup>3</sup> \*d) mit einer durchschnittlichen CSB-Last von 40 gCSB/d. Die maximale Gasproduktion war 35 L/d, mit einem Methangehalt zwischen 50-60% des trockenen Biogases. Durchschnittliche spezifische Gasproduktion war 600 L/kgVS; der pH-Wert wurde zu 8.0 gemessen.

#### *Untersuchung der Fermentation von Roggenganzpflanzensilage*

Die Anlage, die Grundlage für die vorgestellte Modellierung ist, wurde vom ATB in Bornim (siehe Klocke, Schönberg und Linke im gleichen Tagungsband) betrieben. Im Rahmen des Verfahrens wurde ein erster Hydrolysereaktor im Einstau und im Perkulationsverfahren betrieben. Nach Speicherung des Hydrolysats wird das flüssige Substrat dem Anaerobfilter zugeführt, der Schwerpunkt der beschriebenen Modellierung mit dem ADM 1 ist. Der Anaerobfilter mit einer Wasserphase von 32L ist mit dem Füllmaterial Bioflow40 gefüllt (390 Partikel). Das Material hat eine spezifische Oberfläche von 305 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>. Modelltechnisch wurden die Biofilmkörper mit der Software AQUASIM (REICHERT *et al.* 1998) abgebildet, so dass der Biofilmaustrag und die Diffusion der gelösten Substrate in den Film simuliert werden konnten. Es wurde von einer minimalen Biofilmdicke von 50 µm ausgegangen. Der Biomassenabtrag wurde mit nachfolgender Gleichung berechnet:

$$\frac{dL_F}{dt} = k_D \cdot \rho_F \cdot (L_F - L_{F,Base})^3$$

Wenn der Hydrolysereaktor thermophil betrieben wird, liefert der Anaerobfilter im mesophilen Betrieb Gaserträge von etwa 410L/kg<sub>OS</sub>. Der Methangehalt des Gases liegt im Filter bei 75-80%.

### 2.2 Anaerobic Digestion Model No. 1

Zur Vereinheitlichung der mathematischen Beschreibung des Anaerobprozesses wurde im Jahre 1997 die IWA-Task-Group on Mathematical Modelling of Anaerobic Digestion Processes gegründet, aus deren Arbeit das Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM 1) hervorging. Das ADM 1 ist ein hoch komplexes Modell, das durch 19 biochemische Stoffumwandlungsprozesse und 24 Stoffparameter charakterisiert wird. Zusätzlich zu den genannten Prozessen und Parametern sind 6 Prozesse berücksichtigt, die die Dissoziati-

ongleichgewichte der organischen Säuren, des Ammoniumstickstoffs und des Bikarbonats beschreiben. Drei weitere Prozesse beschreiben die Strippung von Methan, Kohlendioxid und Wasserstoff, aus denen der Gasfluss errechnet wird. Mit Hilfe einer Ladungsbilanz kann letztendlich der pH-Wert in der flüssigen Phase bestimmt werden.

Das ADM 1 zeichnet sich durch einen hohen Detailgrad besonders bei der Beschreibung der Umsatzprozesse organischer Säuren (Essig-, Propion-, Butter- und Valeriansäure) aus und kann, sofern Messdaten u.a. zu den organischen Säuren vorliegen, erfolgreich im Bereich einer Prozesssteuerung von Anlagen eingesetzt werden. Neben der CSB- und Stickstoffbilanz wird auch eine Kohlenstoffbilanz berücksichtigt, die u.a. maßgebend für die Berechnung der ausgestriipten Menge von CO<sub>2</sub> ist. Für die durchgeführten Berechnungen wurden die Programme AQUASIM (REICHERT 1998) und SIMBA 4.2 (2005) verwendet.

### 2.3 Zulauffraktionierung

Da bei landwirtschaftlichem Substrat in starkem Maße Frischmasse und organische Trockensubstanz gemessen werden, wurden diese Daten über Korrelationen in den CSB überführt. Zusätzlich kommt der korrekten CSB-Fraktionierung des Zulaufs erhebliche Bedeutung bei, da sie im Modell ganz erheblich den errechneten Gasertrag bestimmt. Es gelten die folgenden Gleichungen:

$$X_{Pr} = (FM \cdot TS \cdot i_{CSB/TS}) \cdot RP \quad [\text{kg}_{CSB}/\text{d}]$$

$$X_{Li} = (FM \cdot TS \cdot i_{CSB/TS}) \cdot RL \quad [\text{kg}_{CSB}/\text{d}]$$

Beide Parameter, Proteine  $X_{Pr}$  (kg<sub>CSB</sub>/d) und Fette  $X_{Li}$  (kg<sub>CSB</sub>/d), hängen von der Frischmasse FM (kgFM/d), dem TS (%) dem Rohproteingehalt RP (% TS) und dem Rohfettgehalt RL (% TS) ab. Die Berechnung der Kohlenhydrate  $X_{CH}$  (kg<sub>CSB</sub>/d) und inerten Materials  $X_I$  (kg<sub>CSB</sub>/d) ist komplexer und basiert auf zusätzlichen Informationen aus der Van-Soest-Analyse (VAN SOEST & WINE 1967).

$$X_I = (FM \cdot TS \cdot i_{CSB/TS}) \cdot (ADL + (ADF - ADL)_{\text{nicht\_abb}}) \quad [\text{kg}_{CSB}/\text{d}]$$

Um das inerte Material zu quantifizieren sind Messdaten zu ADL (Acid detergent lignin) und ADF (Acid detergent fibre) notwendig, die Lignin- und Cellulosegehalt beschreiben.

$$X_{CH} = (FM \cdot TS \cdot i_{CSB/TS}) \cdot [(RF + Nfe) - (ADL + (ADF - ADL)_{\text{nicht\_abb}})] \quad [\text{kg}_{CSB}/\text{d}]$$

Rohfasergehalt RF (% TS) und Nfe (% TS) repräsentieren die gesamten Kohlenhydrate, wohingegen der hintere Teil der Gleichung den inerten Teil und die nicht abbaubare Cellulose beschreibt (ADF-ADL). Die oben genannten Gleichungen beschreiben die Aufschlüsselung des partikulären CSB, wünschenswert sind weitere Messdaten zu eventuell gelöst vorliegenden Substanzen.

## 2.4 Sensitivitätsanalyse und genetischer Algorithmus

Im Rahmen dieser Veröffentlichung werden auch Ergebnisse verschiedener Sensitivitätsuntersuchungen zu dem Einfluss der biochemischen Parameter vorgestellt. Basierend auf der Arbeit von KIM et al. (2006) wird die sogenannte SVM-Slope-Technik für stationäre Bedingungen angewendet. Die in KIM et al. (2006) beschriebene Sensitivitätsanalyse bezieht sich auf das Belebtschlammverfahren. In dieser Arbeit wird das Verfahren für die Modellierung anaerober Verfahren umgewandelt, um deren sensitive Parameter zu ermitteln. Grundlage für die Auswertung der Sensitivität sind die folgenden zwei Gleichungen, bei denen EQ ein Qualitätsindex ist, der sich auf die kalibrierten biochemischen Parameter und ausgewählte Ablaufwerte des kalibrierten Modelles bezieht.

$$EQ = \beta_{x_1} \cdot X_{e,1} + \beta_{x_2} \cdot X_{e,2} + \dots + \beta_{x_n} \cdot X_{e,n},$$

wobei  $X_e$  die Ablaufkonzentrationen verschiedener Stoffe sind und  $\beta_x$  Gewichtungsfaktoren, die einzelne Ablaufkonzentrationen stärker gewichten als andere. Der Sensitivitätsindex  $\Delta EQ$  resultiert aus Berechnungen, bei denen jeder biochemische Modellparameter, dessen Sensitivität untersucht werden soll, schrittweise um 10% verändert wird (Ref: bezieht sich auf die kalibrierte Referenzsimulation, Var: auf den variierten Parameter).

$$\begin{aligned} \Delta EQ \cdot t = & \beta_{orgA} \frac{|orgA_{Ref,e} - orgA_{Var,e}|}{orgA_{Ref,e}} + \beta_{TS} \frac{|TS_{Ref,e} - TS_{Var,e}|}{TS_{Ref,e}} + \beta_{CH_4} \frac{|CH_4 \%_{Ref} - CH_4 \%_{Var}|}{CH_4 \%_{Ref}} \\ & + \beta_{CO_2} \frac{|CO_2 \%_{Ref} - CO_2 \%_{Var}|}{CO_2 \%_{Ref}} + \beta_{H_2} \frac{|H_{2Ref} - H_{2Var}|}{H_{2Ref}} + \beta_{gasflow} \frac{|q_{gasfluss,Ref} - q_{gasfluss,Var}|}{q_{gasfluss,Ref}} \end{aligned}$$

Im Rahmen der Kalibrierung biochemischer Parameter des ADM 1 für die Anwendung bei Grassilage wurde zudem ein genetischer Algorithmus verwendet. Auf die Ergebnisse wird hier nicht im Detail eingegangen. Genetische Algorithmen sind leistungsfähige Methoden, die Konzepte biologischer Entwicklungsprozesse, wie Vererbung, Mutation und Selektion auf die Lösung mathematischer Probleme anwenden. Für diese hier vorgestellte Arbeit, die einen genetischen Algorithmus aus der Toolbox 1.0.1 von Matlab 7.0 verwendet, wurden 5 kinetische Parameter des ADM 1 durch den GA optimiert. Jede mögliche einzelne Antwort des GA, ergab somit Werte für die 5 biochemischen Parameter, die dann verwendet wurden, um die einen Simulationslauf durchzuführen. Letztendlich sind 1000 Simulationsläufe für die Parameteroptimierung durchgeführt worden. Die Qualität der Simulation wurde mit nachfolgender Fitnessfunktion bewertet:

$$Fitness \text{ Funktion} = \text{Minimize} \left( \sum_{j=1}^N (\log(X_{ij,exp}) - \log(Y_{ij,sim}))^2 \right)$$

wobei N die Anzahl der gemessenen Datenpunkte eines jeden Parameters, X die Messdaten und Y die Simulationsergebnisse sind.

## 2.6 Fuzzy Logic

Die Implementierung der Prozesssteuerung erfolgte in derselben Softwareumgebung in der auch das ADM1 vorlag. Zur Anwendung kam ein Softwarepaket bestehend aus Matlab, Simulink und Simba.

Mit Hilfe der Fuzzy Logic wurden Regeln aufgestellt, die bei Eintreten des jeweiligen Ereignisses aktiviert werden. Im Rahmen dieser Untersuchung erfolgte die Implementierung der Fuzzy Logic Steuerung rein virtuell, das heißt innerhalb des Simulationsmodells. Die Regelung des anaeroben Prozesses erfolgte durch die Formulierung von Wenn-Dann-Bedingungen.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Zulauffraktionierung

Die richtige Zulauffraktionierung des CSB spielt im ADM 1 eine große Rolle. Sie hat beispielsweise maßgebenden Einfluss auf die Gaszusammensetzung bzw. die Freisetzung von Stickstoff im Zuge der Abbauprozesse. Wichtige Messdaten, die für die Zulauffraktionierung des CSB im ADM 1 herangezogen werden können, sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt:

**Tabelle 1:** Messwerte zur Charakterisierung der Zulaufsubstrate

Parameter	Einheit	Grassilage		Roggenganzpflanzensilage
		unbehandelt	heteroferment. behandelt	-
TS	[%]	25.9	23.2	34,7
CSB	[kg/m <sup>3</sup> ]	441	345	369
VFA <sub>total</sub>	[g/m <sup>3</sup> ]	11563	15671	8550
pH	[-]	4.6	4.9	4,0
NH <sub>4</sub> -N <sup>*</sup>	[g/m <sup>3</sup> ]	11191	8857	-
Rohprotein RP <sup>*</sup>	[% TS]	15.1 <sup>*</sup>	15.1 <sup>*</sup>	-
Rohfaser RF <sup>*</sup>	[% TS]	31.9 <sup>*</sup>	31.9 <sup>*</sup>	-
Rohfett RL <sup>*</sup>	[% TS]	1.5 <sup>*</sup>	1.5 <sup>*</sup>	-
NfE <sup>*</sup>	[% TS]	41.8 <sup>*</sup>	41.8 <sup>*</sup>	-
NDF <sup>*</sup>	[% TS]	62.9 <sup>*</sup>	62.9 <sup>*</sup>	58,2
ADF <sup>*</sup>	[% TS]	38.0 <sup>*</sup>	38.0 <sup>*</sup>	40,3
ADL <sup>*</sup>	[% TS]	34.2 <sup>*</sup>	34.2 <sup>*</sup>	7,1

<sup>\*</sup>SPECKMAIER *et al.* (2005)

Die Messwerte der **Tabelle 1** wurden genutzt, um die CSB-Zulauffraktionierung im ADM1 gemäß Kapitel 2.3 festzulegen. Für das Bioleaching-Verfahren wurde der Abbau des gelösten Substrats im Biofilmreaktor modelliert. U.a. wegen der Abbildung der Diffusionsprozesse von der Wassersphase in den Film, kam der gelösten Fraktion für diesen Prozess besondere Bedeutung zu. Die nachfolgende Tabelle fasst die gesamte sich ergebende CSB-Fraktionierung partikulären und gelösten organischen Materials zusammen.

**Tabelle 2:** Zulauffraktionierung der gesamten CSB-Fraktion im ADM 1 nach dem Desintegrations-schritt unter Berücksichtigung der Messdaten der gelösten CSB-Anteile für die untersuchten Substrate

Parameter	Beschreibung	Einheit	Grassilage		Roggenganz-
			unbeh.	heterof.	pflanzensilage
$f_{Si}$	Inerter gel. CSB	% CSB <sub>ges</sub>	2,4	2,4	1,2
$f_{Sac}$	Essigsäure	% CSB <sub>ges</sub>	2,6	3,9	25,4
$f_{Sfa}$	Langkettige Fettsäuren	% CSB <sub>ges</sub>	0,0	0,0	0,7
$f_{Ssu}$	Monosaccharide	% CSB <sub>ges</sub>	0,0	0,0	24,8
$f_{Saa}$	Aminosäuren	% CSB <sub>ges</sub>	0,0	0,0	6,3
$f_{Spro}$	Propionsäure	% CSB <sub>ges</sub>	0,0	1,0	3,5
$f_{Xi}$	Inerter partik. CSB	% CSB <sub>ges</sub>	30,9	30,1	15,3
$f_{Xpr}$	Proteine	% CSB <sub>ges</sub>	14,7	14,3	0
$f_{Xli}$	Fette	% CSB <sub>ges</sub>	1,5	1,4	0
$f_{Xch}$	Kohlenhydrate	% CSB <sub>ges</sub>	47,9	46,8	0
$f_{bu}$	Buttersäure	% CSB <sub>ges</sub>	-	-	1,5
$f_{va}$	Valeriansäure	% CSB <sub>ges</sub>	-	-	0,2

## 3.2 Modellkalibrierung

Nachfolgend sind die kalibrierten Parameter des ADM 1 zusammengefasst.

**Tabelle 3:** Kalibrierte Parameter des ADM 1 für landwirtschaftliches Substrat (Teil 1)

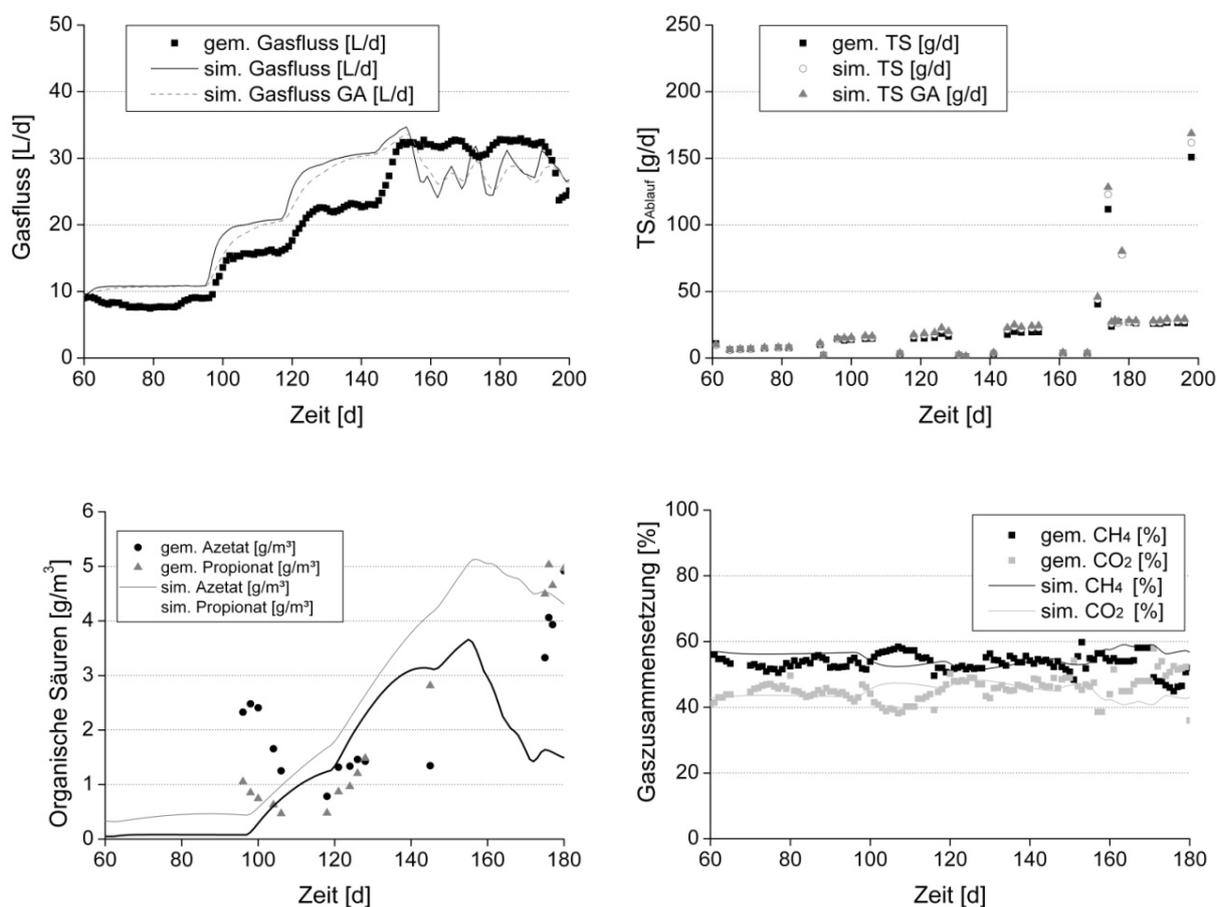
Parameter	Einheit	Roggen- silage	Grassilage meso.	Grassilage thermophil	Prozess
<b>Hydrolyse &amp; Desintegration</b>					
$k_{dis}$	$d^{-1}$	<b>0,5</b>	<b>0,26</b>	1,0	Desintegration
$k_{hyd,CH}$	$d^{-1}$	10	10	-	Hydrolyse Kohlenhydrate
$k_{hyd\_PR}$	$d^{-1}$	10	10	-	Hydrolyse Proteine
$k_{hyd\_LI}$	$d^{-1}$	10	10	-	Hydrolyse langk. Fettsäuren
<b>Sonstiges</b>					
$k_{dec}$	$d^{-1}$	0,02	0,02	0,04	Decayrate der Biomassen
$K_{S,IN}$	$kMol\ m^{-3}$	$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-4}$	Halbsättigungskonzentration $NH_3$
$pH_{ULacet/acid}$	-	8,5	8,5	8,5	Obere Grenze $pH_{Hemm,50\%}$
$pH_{LLacet/acid}$	-	4	4	4	Untere Grenze $pH_{Hemm,50\%}$
<b>Zuckerfermentation</b>					
$k_{m,su}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}d^{-1}$	30	30	70	Aufnahmerate
$K_{S,su}$	$kg_{CSB}\ m^{-3}$	0,5	0,5	1,0	Halbsättigungskonzentration
$Y_{su}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}$	0,10	0,10	0,10	Ertragskoeffizient
<b>Aminosäurefermentation</b>					
$k_{m,aa}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}d^{-1}$	50	50	70	Aufnahmerate
$K_{S,aa}$	$kg_{CSB}\ m^{-3}$	0,3	0,3	0,3	Halbsättigungskonzentration
$Y_{aa}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}$	0,08	0,08	0,08	Ertragskoeffizient
<b>Fettsäureoxidation</b>					
$k_{m,fa}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}d^{-1}$	6	6	10	Aufnahmerate
$K_{S,fa}$	$kg_{CSB}\ m^{-3}$	0,4	0,4	0,4	Halbsättigungskonzentration
$Y_{fa}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}$	0,06	0,06	0,06	Ertragskoeffizient
$K_{I,H2,fa}$	$kg_{CSB}\ m^{-3}$	$5 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-6}$	Inhibitionskonstante $H_2$
<b>Butters.-/Valerians.fermentation</b>					
$k_{m,c4+}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}d^{-1}$	35	20	30	Aufnahmerate
$K_{S,c4+}$	$kg_{CSB}\ m^{-3}$	0,3	0,3	0,3	Halbsättigungskonzentration
$Y_{c4+}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}$	0,06	0,06	0,06	Ertragskoeffizient
$K_{I,H2,c4+}$	$kg_{CSB}\ m^{-3}$	$1 \times 10^{-4}$	$0,54 \times 10^{-7}$	$1,56 \times 10^{-6}$	Inhibitionskonstante $H_2$
<b>Oxidation Propionsäure</b>					
$k_{m,pro}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}d^{-1}$	<b>3,8</b>	13	<b>23,3</b>	Aufnahmerate
$K_{S,pro}$	$kg_{CSB}\ m^{-3}$	0,1	0,1	0,3	Halbsättigungskonzentration
$Y_{pro}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}$	0,04	0,04	0,05	Ertragskoeffizient
$K_{I,H2,pro}$	$kg_{CSB}\ m^{-3}$	$3,5 \times 10^{-6}$	$0,48 \times 10^{-7}$	$1,1 \times 10^{-6}$	Inhibitionskonstante $H_2$
<b>Acetoclastische Methanogenese</b>					
$k_{m,ac}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}d^{-1}$	<b>17,9</b>	8	16	Aufnahmerate
$K_{S,ac}$	$kg_{CSB}\ m^{-3}$	<b>0,30</b>	0,15	<b>0,02</b>	Halbsättigungskonzentration
$Y_{ac}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}$	0,05	0,05	0,05	Ertragskoeffizient
$pH_{UL\ ac}$	-	8,5	8,5	8,5	Obere Grenze $pH_{Hemm,50\%}$
$pH_{LL\ ac}$	-	6	6	6	Untere Grenze $pH_{Hemm,50\%}$
$K_{I,NH3}$	$kMol\ m^{-3}$	<b>0,005</b>	<b>0,0084</b>	<b>0,0011</b>	Inhibitionskonstante $NH_3$
<b>Hydrogenotrophe Methanogenese</b>					
$k_{m,h2}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}d^{-1}$	<b>27,2</b>	35	35	Aufnahmerate
$K_{S,h2}$	$kg_{CSB}\ m^{-3}$	$3 \times 10^{-5}$	$4,2 \times 10^{-5}$	$7,75 \times 10^{-4}$	Halbsättigungskonzentration
$Y_{h2}$	$g_{CSB}g_{CSB}^{-1}$	0,06	0,06	0,06	Ertragskoeffizient
$pH_{UL\ h2}$	-	8,5	8,5	8,5	Obere Grenze $pH_{Hemm,50\%}$
$pH_{LL\ h2}$	-	5	5	5	Untere Grenze $pH_{Hemm,50\%}$

Tabelle 4: Kalibrierte Parameter des ADM 1 für landwirtschaftliches Substrat (Teil 2)

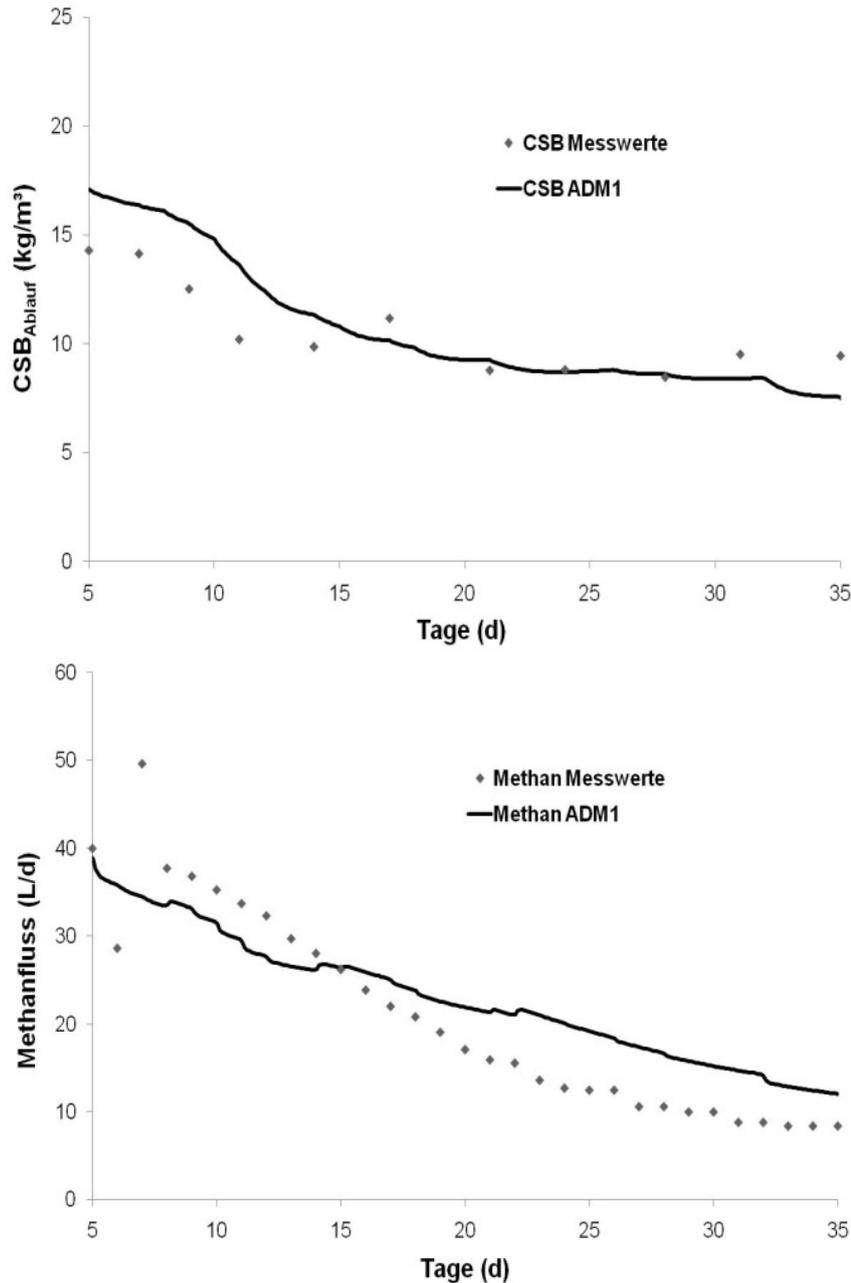
Parameter	Einheit	Roggen- silage	Grassilage mesophil	Grassilage thermophil	Beschreibung
<b>Stöchiometrische Faktoren</b>					
$f_{SI,xc}$	-	0,025	0,025	0,025	Gelöst inert aus Kompositmaterial
$f_{XI,xc}$	-	0,032	0,317	0,317	Partikulär inert Kompositmaterial
$f_{CH,xc}$	-	0,512	0,492	0,492	Kohlenhydrate aus Kompositmaterial
$f_{PR,xc}$	-	0,131	0,151	0,151	Proteine aus Kompositmaterial
$f_{LI,xc}$	-	0,015	0,015	0,015	Langk. Fetts. aus Kompositmaterial
$f_{FA,li}$	-	0,95	0,95	0,95	Kurzk. Fetts. aus langk. Fettsäuren
$f_{H2,su}$	-	0,19	0,19	0,19	Wasserstoff aus Zucker
$f_{BU,su}$	-	0,13	0,13	0,13	Buttersäure aus Zucker
$f_{PRO,su}$	-	0,27	0,27	0,27	Propionsäure aus Zucker
$f_{AC,su}$	-	0,41	0,41	0,41	Essigsäure aus Zucker
$f_{H2,aa}$	-	0,06	0,06	0,06	Wasserstoff aus Aminosäuren
$f_{VA,aa}$	-	0,23	0,23	0,23	Valeriansäure aus Aminosäuren
$f_{BU,aa}$	-	0,26	0,26	0,26	Buttersäure aus Aminosäuren
$f_{PRO,aa}$	-	0,05	0,05	0,05	Propionsäure aus Aminosäuren
$f_{AC,aa}$	-	0,04	0,04	0,04	Essigsäure aus Aminosäuren
$f_{H2,fa}$	-	0,30	0,30	0,30	Wasserstoff aus Zucker
$f_{AC,fa}$	-	0,70	0,70	0,70	Essigsäure aus Zucker
<b>Stickstoffgehalte</b>			<b>Stickstoff- gehalte</b>		
$N_{XC}$	Mol <sub>NgCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,0009	0,0011	0,0011	Kompositmaterial
$N_{XI}$	Mol <sub>NgCSB</sub> <sup>-1</sup>	0	0	0	Inertmaterial
$N_{AA}$	Mol <sub>NgCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,007	0,007	0,007	Aminosäuren und Proteine
$N_{XCH, XLI}$	Mol <sub>NgCSB</sub> <sup>-1</sup>	0	0	0	Kohlenhydrate und Fette
$N_{SI}$	Mol <sub>NgCSB</sub> <sup>-1</sup>	0	0,001	0,001	Gelöstes Inertmaterial
$N_{BM}$	Mol <sub>NgCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,00571	0,00625	0,00625	Biomasse
<b>Kohlenstoffgehalte</b>			<b>Kohlen- stoffgehalte</b>		
$C_{XC}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,0279	0,0279	0,0279	Kompositmaterial
$C_{XI}, C_{SI}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,03	0,03	0,03	Inertmaterial
$C_{AA}, C_{XPR}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,03	0,03	0,03	Aminosäuren und Protein
$C_{XCH}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,0313	0,0313	-	Kohlenhydrate
$C_{XLI}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,022	0,022	-	Langkettige Fettsäuren
$C_{SU}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,0313	0,0313	0,0313	Zucker
$C_{FA}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,0217	0,0217	0,0217	Kurzkettige Fettsäuren
$C_{PRO}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,0268	0,0268	-	Propionsäure
$C_{VA}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,024	0,024	-	Valeriansäure
$C_{BU}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,025	0,025	-	Buttersäure
$C_{AC}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,0213	0,0213	0,0213	Acetat
$C_{ME}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,0156	0,0156	0,0156	Methan
$C_{BM}$	Mol <sub>cGCSB</sub> <sup>-1</sup>	0,0305	0,0313	0,0313	Biomasse

Es wird deutlich, dass einige Parameter zentrale Größen bei der Kalibrierung des ADM 1 sind. Hierzu gehört die Desintegrationsrate, die maßgebend den Gasfluss und die Dynamik des Gasflusses bestimmt. Daneben spielen drei weitere Größen eine wichtige Rolle bei der modelltechnischen Nachbildung der Fermentation von landwirtschaftlichen Substraten. Die Inhibitionskonstante  $K_{I,NH_3}$  beeinflusst die Hemmung des Essigsäureabbaus

durch Ammoniak. Sie ist bei den untersuchten Substraten in vielen Fällen um den Faktor 3-5 höher als bei der Fermentation von Belebtschlamm. Ergebnisse ähnliche Größenordnung sind von ANGELIDAKI *et al.* (1993) bei der Fermentation von Rindergülle und von FENG *et al.* (2006) bei der Vergärung von Schwarzwasser zu finden. Die Hemmkonstanten für Wasserstoff beim Propion- und Buttersäureabbau sind um bis zu zwei Größenordnungen geringer als das bei Belebtschlamm der Fall ist. Allerdings sind Informationen zur Hemmung durch Wasserstoff beim Abbau organischer Säuren, die auch biochemische Parameter belegt sind, nur selten zu finden (z.B. SIEGRIST *et al.* 2002 sowie SCHMIDT & AHRING 1993).



**Bild 1:** Exemplarische Ergebnisse der mesophilen (oben) und thermophilen Vergärung (unten) von Grassilage



**Bild 2:** Exemplarische Ergebnisse der mesophilen Vergärung von Roggenganzpflanzensilage im anaeroben Filter

### 3.3 Genetischer Algorithmus

Für die Kalibrierung des ADM1 bei der mesophilen Vergärung von Grassilage kam ein genetischer Algorithmus zur Anwendung. Für die Bewertung der Simulationsergebnisse kam die in Abschnitt 2.4 beschriebene Fitnessfunktion zur Anwendung. Nach Anwendung des GA verbesserte sich der Qualitätsindex der Fitnessfunktion von 34,94 auf 28,30. Ein geringer Fitness-Faktor bedeutet, dass es nur geringe Abweichungen zwischen gemessenem und simuliertem Wert gibt. Die Verbesserung der Simulationsergebnisse bezog sich auf die Parameter Gasfluss, Wasserstoff, Essig-, Propion- und Buttersäure.

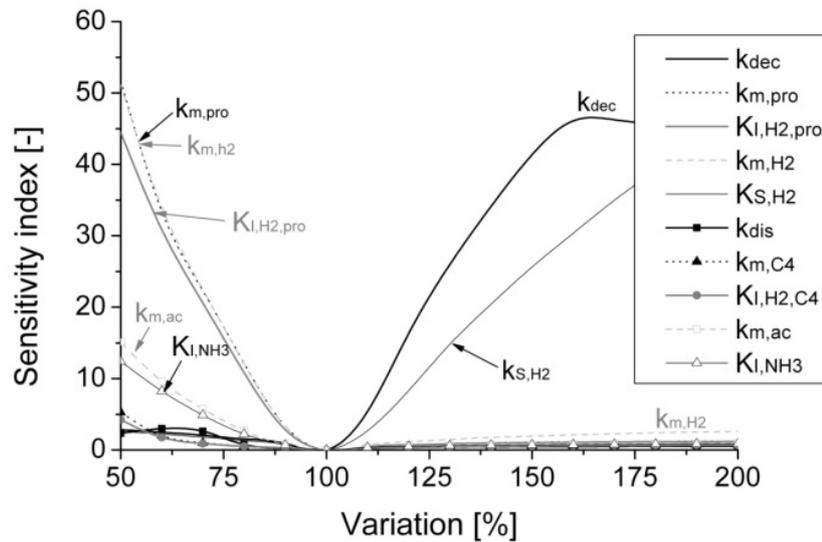
**Tabelle 5:** Summe der Fehlerquadrate [-], basierend auf dem Logarithmus der Messdaten und dem Logarithmus der Simulationsergebnisse

Parameter	Beschreibung	Manuelle Kalibrierung	GA
$Q_{\text{gas}}$	Gasfluss	1,59	1,21
$\text{CH}_4$	Methan	0,47	0,47
$\text{CO}_2$	Kohlendioxid	0,27	0,25
$S_{\text{ac}}$	Essigsäure	1,86	1,35
$S_{\text{pro}}$	Propionsäure	0,96	0,72
TS	Total Solids	0,15	0,22
$\text{HCO}_3^-$	Hydrogenkarbonat	0,17	0,16
$S_{\text{bu}}$	Buttersäure	0,03	0,01
$\text{H}_2$	Wasserstoff	29,62	23,91
Summe		34,94	28,30

Nur ein Parameter zeigte nach Anwendung des GA schlechtere Ergebnisse. Das war der Parameter TS, der rein visuell keine größere Veränderung zeigte, so dass die Modellergebnisse innerhalb der Messungenauigkeit der Parameter liegt. TS-Ablaufkonzentration und der Gasfluss sind umgekehrt abhängig von der Desintegrationskonstante  $k_{\text{DIS}}$ . Eine Verbesserung der Modellierung des Gasflusses führt so zu einer verminderten Genauigkeit bei der TS-Ablaufkonzentration. Dennoch kann die Anwendung des GA als sehr positiv bewertet werden, da auch die Abbildung der organischen Säuren besser gelang als mit der Handkalibrierung.

### 3.4 Sensitivitätsanalyse und Identifizierbarkeit

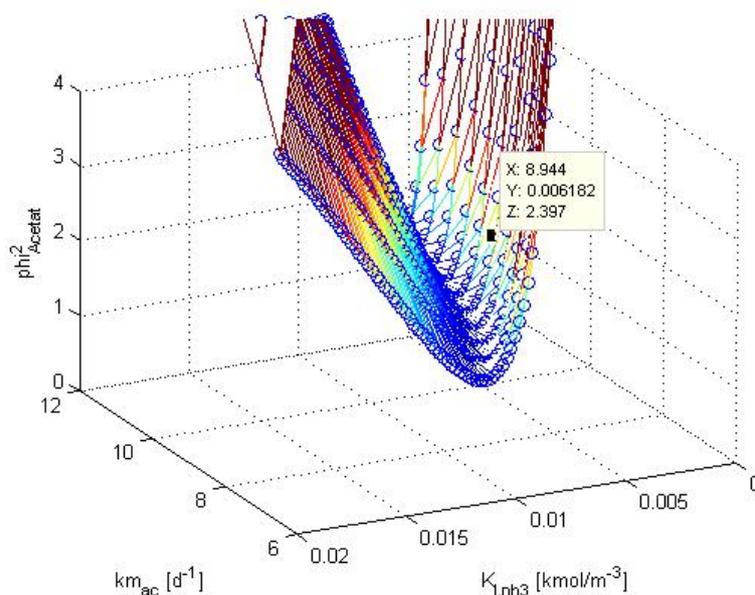
Sensitivitätsuntersuchungen sind bei mathematischen Modellen, die biochemische Abbauprozesse beschreiben sowohl für CSB-Zulauffraktionierung als auch für die biochemischen Parameter sinnvoll. Durch die Sensitivitätsuntersuchung kann die Kalibrierung des Modells erleichtert werden, aber was noch wichtiger ist, es gibt Hinweise darauf, welche Parameter und Einflüsse auch messtechnisch genauer bestimmt werden sollten. Exemplarisch werden einige Ergebnisse aus der Sensitivitätsanalyse für die mesophile und thermophile Fermentation von Grassilage dargestellt, für die 150 durchgeführte Simulationsläufe ausgewertet wurden.



**Bild 3:** Ergebnisse der Sensitivitätsanalyse nach der SVM-Slope-Technik für ausgewählte Parameter bei der anaeroben Vergärung von Grassilage

Besonders deutlich wird die starke Sensitivität der Sterberate der verschiedenen Biomassen  $k_{dec}$ , der Substrataufnahmeraten von Propionsäure und Wasserstoff, der Halbwertskonstante bei der Wasserstoffaufnahme  $K_{S,H_2}$  und der Konstante zur Beschreibung der Inhibierung des Propionsäureumsatzes durch Wasserstoff. Die den Essigsäureabbau beschreibenden Größen  $k_{m,ac}$  und  $K_{I,NH_3}$  haben eine mittlere Sensitivität.

Untersuchungen für die verschiedenen Substrate machen zudem deutlich, dass sich bei derzeitiger Messdatenlage viele biochemischen Modellparameter nicht eindeutig identifizieren lassen. Ursache hierfür ist die Tatsache, dass beispielsweise die Essigsäurekonzentrationen hauptsächlich von den Parametern Aufnahme rate, Halbwertskonstante und Ammoniakhemmkonstante abhängen. Tatsächlich lassen sich also immer nur Parametersätze angeben, die den Abbau einzelner Stoffgrößen mit ähnlicher Güte beschreiben. Die Aufgabe des Modellanwenders ist dann zu entscheiden, welche Wertebereiche der Parameter aus ingenieurwissenschaftlicher und mikrobiologischer Sicht sinnvoll sind. Das gilt in ähnlicher Weise auch für den Propion- und Buttersäureabbau. Das nachfolgende Diagramm macht die Problematik nochmals anschaulich deutlich.



**Bild 4:** Simulationsgüte des Essigsäureabbaus bezogen auf die Parameter der Essigsäureaufnahme  $k_{m,ac}$  und der  $\text{NH}_3$ -Inhibitionskonstante  $K_{I,\text{NH}_3}$  (basierend auf logarithmierten Fehlerquadraten, ermittelt mittels Brute-Force-Methode)

### 3.5 Prozessoptimierung mit Fuzzy Logic

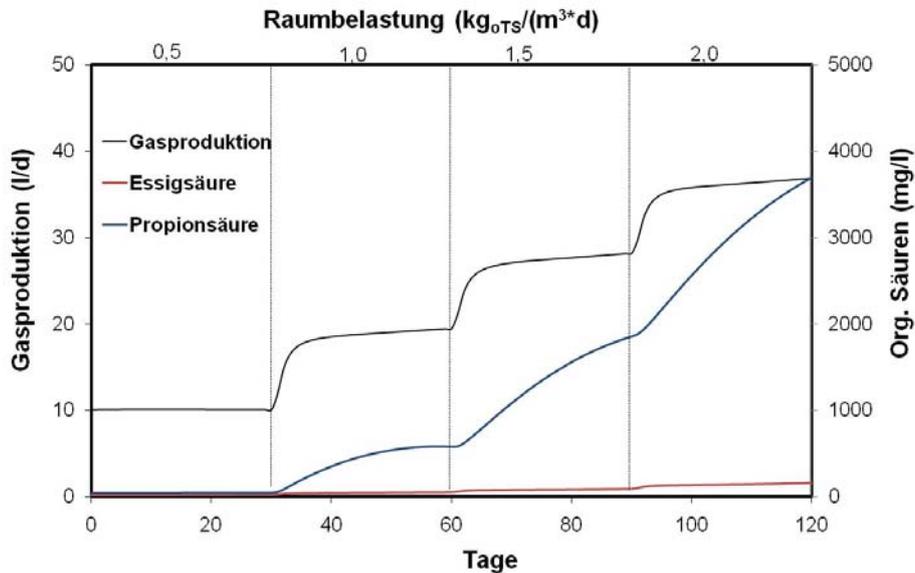
Basierend auf dem kalibrierten Modell wurde eine Fuzzy Logic Prozesssteuerung entwickelt. Die Anzahl der Steuerungsgrößen wurde auf 4 Parameter begrenzt: Essigsäure, Propionsäure, Methangaskonzentration und pH-Wert. Durch diese Begrenzung wird die Komplexität des Steuerungsmodells in Grenzen gehalten. Für jeden der 4 Parameter wurden Maximal- bzw. Minimalwerte definiert, bei denen ein stabiler Betrieb und eine maximale Prozessstabilität gewährleistet sind. Als Gegenmaßnahme bei Über- bzw. Unterschreiten der Grenzwerte erfolgt eine prozentuale Reduktion des Zulaufstroms. Der in das Simulationsmodell implementierte Steuerungsalgorithmus lässt sich folgendermaßen zusammenfassen:

WENN	Essigsäure	>	1000 mg/l	DANN	ZULAUF*95%
WENN	Propionsäure	>	1500 mg/l	DANN	ZULAUF*90%
WENN	$\text{CH}_4$ -Gas	<	50 %	DANN	ZULAUF*85%
WENN	pH	<	7	DANN	ZULAUF*80%

Die einzelnen WENN DANN Bedingungen werden im Simulationsmodell beliebig verknüpft. Ist z.B. folgende Bedingung WAHR: WENN Essigsäure > 1000 mg/l UND  $\text{CH}_4$ -GAS < 50%, wird der Zulauf um 80% reduziert ( $0.95 \cdot 0.85$ ).

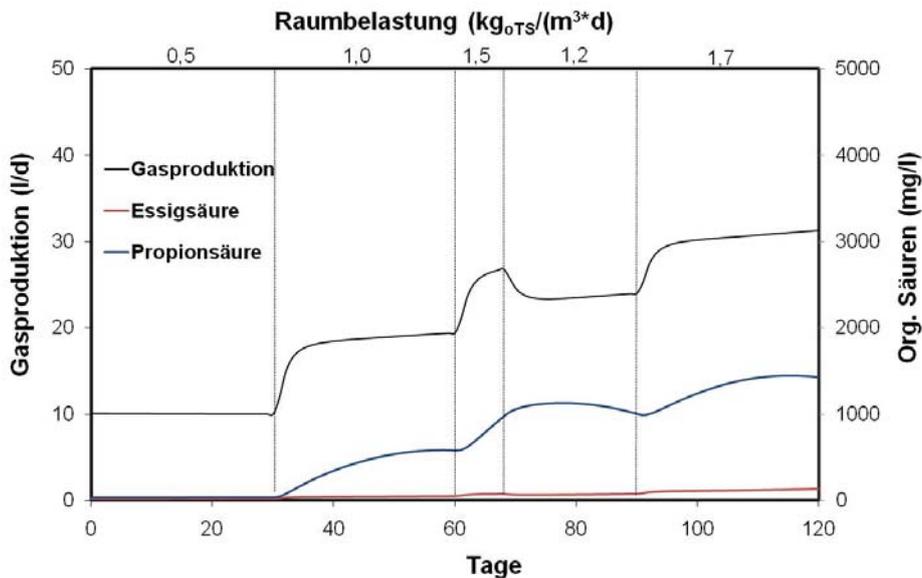
Anhand des Steuerungsmodells lässt sich die schrittweise Erhöhung der Fermenterbelastung bis zum Maximalwert optimieren. In einer Simulationsstudie wurde die Zulaufbelastung alle 30 Tage von 0,5 bis 2,0  $\text{kg}_{\text{OTS}}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$  gesteigert. Obwohl die Belastungssteigerung in einem relativ breiten Zeitraum vorgenommen wurde und die Gasproduktion kor-

respondierend anstieg, kam es im Simulationsmodell zu einem starken Anstieg der Propionsäure.



**Bild 5:** ADM1 Simulationsrechnungen zur schrittweisen Erhöhung der Raumbelastung im Simulationsmodell

Das Fuzzy-Logic-Steuerungsmodell hingegen kann die gewählte Fütterungsstrategie selbständig optimieren, so dass eine Übersäuerung im Fermenter vermieden werden kann.



**Bild 6:** Schrittweise Erhöhung der Raumbelastung im Simulationsmodell mit implementierter Fuzzy-Logic-Steuerung

## 4 Zusammenfassung

In der vorliegenden Veröffentlichung wurde die mathematische Modellierung der anaeroben Vergärung von Grassilage und Roggenganzpflanzensilage beschrieben. Für beide Substrate wurden detaillierte Hinweise zusammengestellt, wie die Zulauffraktionierung des CSBs anhand von Messdaten erfolgen sollte, mit welchen Parametern der Stoffabbau kalibriert werden kann und wie sich letztendlich eine erfolgreiche Modellierung des Gasflusses, der Gaszusammensetzung und der Abbildung der organischen Säuren Essig-, Propion- und Buttersäure erreichen lässt. Weitere Hinweise wurden zur Sensitivität und Identifizierbarkeit biochemischer Größen zusammengestellt. Nach erfolgreicher Kalibrierung des Modells, ermöglicht es das ADM 1 mit Hilfe der Fuzzy-Logic-Steuerung, konkrete Steuerungshinweise für den Betrieb von Anaerobanlagen bei verschiedenen Raumbelastungen abzuleiten.

## 5 Danksagung

Die beschriebene Forschung wurde durch das BMBF, Projektträger Jülich – Projektnummer 03SF0317L – gefördert. Die Autoren danken dem Institut für Landtechnik und Tierhaltung der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft in Freising (ILT), Dr. Gronauer und Dipl.-Ing. D. Andrade, sowie dem Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V., Prof. Linke und Dipl.-Ing. M. Schönberg, für die Bereitstellung der Messdaten. Teile dieses Manuskriptes wurden bereits in *Bioresource Technology*, *Biomass & Bioenergy* sowie in der Habilitationsschrift von Prof. Wichern veröffentlicht.

## 6 Literatur

- AMON T., AMON B., KRYVORUCHKO V., MACHMÜLLER A., HOPFNER-SIXT K., BODIROZA V., HRBEK R., FRIEDEL J., PÖTSCH E., WAGENTRISTL H., SCHREINER M., ZOLLITSCH W. (2007):** Methane production through anaerobic digestion of various energy crops grown in sustainable crop rotations. *Biores. Tech.* 98(17), 3204-3212
- ANDREWS J.F. (1969):** Dynamic model of the anaerobic digestion process. *Am. Soc. Civil Eng.* 95(1969), 95–116
- ANGELIDAKI I., ELLEGARD E., AHRING B.K. (1993):** A mathematical model for dynamic simulation of anaerobic digestion of complex substrates: focusing on ammonia inhibition. *Biotech. Bioeng.* 42, 159-166
- ANGELIDAKI I., ELLEGARD L., AHRING B.K. (1999):** A comprehensive model of anaerobic bioconversion of complex substrates to biogas. *Biotech. Bioeng.* 63(3), 363-372
- BATSTONE D.J., KELLER J., ANGELIDAKI I., KALYUZHNYI S.V., PAVLOVSTATHIS S.G., ROZZI A., SANDERS W.T.M., SIEGRIST H., VAVILIN V.A. (2002):** Anaerobic Digestion Model No. 1. IWA Task Group on Mathematical Modelling of Anaerobic Digestion Processes. IWA Scientific and Technical Report No. 13, ISBN – 1900222787

- DEMIREL B., SCHERER P. (2008):** Production of methane from sugar beet silage without manure addition by a single-stage anaerobic digestion process. *Biomass and Bioeng.* 32(3), 203-209
- FENG Y., BEHRENDT J., WENDLAND C., OTTERPOHL R. (2006)** Parameter analysis and discussion of the IWA ADM 1 for the anaerobic digestion of blackwater. *Wat. Sci. Tech.* 54(4), 139-148
- GERIN P.A., VLIEGEN F., JOSSART J.-M. (2008):** Energy and CO<sub>2</sub> balance of maize and grass as energy crops for anaerobic digestion. *Biores. Tech.* 99(7), 2620-2627
- KIM J.R., KO J.H., LEE J.J., KIM S.H., PARK T.J., KIM C.W., WOO H.J. (2006):** Parameter sensitivity analysis for activated sludge models No. 1 and 3 combined with one-dimensional settling model. *Wat.Sci.Tech.* 53(1), 129-138
- KLOCKE M., NETTMANN E., BERGMANN I., MUNDT K., SOUIDI K., MUMME J., LINKE B. (2008):** Characterization of the methanogenic archaea within two-phase biogas reactor systems operated with plant biomass. *Syst. and Appl. Mic.* 31(3), 190-205
- KOCH K., WICHERN M., HORN H. (2008):** Nachwachsende Rohstoffe in der Energieversorgung - ein Beitrag zum Klimaschutz, Lateinamerika-Seminar, 6.-11.10.08, Buenos Aires und Bariloche, Argentinien
- KOCH K., WICHERN M., HORN H. (2008):** Reproduce the stability criteria VFA/Alkalinity in ADM 1, eingereicht bei Biomass and Bioenergy
- NAUMANN C., BASSLER R. (1993):** Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. 3rd. edn. VDLUFAVerlag, Darmstadt
- LEHTOMÄKI A., HUTTUNEN S., LEHTINEN T.M., RINTALA J.A. (2008):** Anaerobic digestion of grass silage in batch leach bed processes for methane production. *Biores. Tech.* 99(8), 3267-3278
- LINDORFER H., PEREZ LOPEZ C., RESCH C., BRAUN R., KIRCHMAYR R. (2007):** The impact of increasing energy crop addition on process performance and residual methane potential in anaerobic digestion. *Wat.Sci.Tech.* 56(10), 55-63
- LÜBKEN M., WICHERN M., SCHLATTMANN M., GRONAUER A., HORN H. (2007):** Modeling the energy balance of an anaerobic digester fed with cattle manure and renewable energy crops. *Wat. Res.* 41 (18), 4085-4096
- MYINT M., NIRMALAKHANDAN N., SPEECE R.E. (2007):** Anaerobic fermentation of cattle manure: Modeling of hydrolysis and acidogenesis, *Wat. Res.* 41(2), 323-332
- NAUMANN C., BASSLER R. (1993):** Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. 3rd. edition, VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- NORDBERG A., EDSTRÖM M. (2005):** Co-digestion of energy crops and the source-sorted organic fraction of municipal solid waste. *Wat. Sci. Tech.* 52(1-2), 217-222
- PREISSLER D., LEMMER A., OECHSNER H., JUNGBLUTH T. (2007):** Anaerobic digestion of maize silage without manure addition. *VDI Berichte* 2007, 335-340
- REICHERT P. (1998):** AQUASIM 2.0 - Manual. Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology (EAWAG), CH-8600 Dübendorf, Schweiz, ISBN 3-906484-16-5
- SCHMIDT J.E., AHRING B. (1993):** Effects of hydrogen and formate on the degradation of propionate and butyrate in thermophilic granules from an Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor. *Appl. and Env. Mic.* 59(8), 2546-2551
- SIEGRIST H., VOGT D., GARCIA-HERAS J.L., GUJER W. (2002):** Mathematical model for meso- and thermophilic anaerobic sewage sludge digestion. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1113-23
- SIMBA 4.2 (2005):** Software for simulation of biological wastewater treatment, Institute for Automation and Communication e.V. (IFAK), Magdeburg

- SPECKMAIER M., SCHLATTMANN M., METZNER T., GRONAUER A. (2005):** Determination of the biogas yield from co-substrates in discontinuous flow-through processes (in German). Landtechnik 6/2005, 340-341
- VAN SOEST P.J., WINE R.H. (1967):** Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 50, 50-59
- WEILAND P., RIEGER C., SCHRÖDER J., KISSEL R., BACHMAIER H., PLOGSTIES V., VOGTHERR J. (2007):** State of the art with production and usage of biogas in energy crops treatment plants (in German). VDI-Berichte 2007, 89-101
- WICHERN M., LÜBKEN M., KOCH K., GEHRING T., FISCHER K., SCHLATTMANN M., GRONAUER A., HORN H. (2008):** Eignung des Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1) zur Prozesssteuerung landwirtschaftlicher Biogasanlagen, Buch entstanden aus dem Gülzower Fachgespräch am 15.11.08, „Messen-Steuern-Regeln in der Biogaserzeugung“, Band 27, S.172-194
- WICHERN M., GEHRING T., FISCHER K., LÜBKEN M., KOCH M., GRONAUER A., HORN H. (2008):** Monofeimentation of grass silage under mesophilic conditions: Measurements and mathematical modeling with ADM 1, Biores. Techn. 100(4), 1675-1681
- WICHERN M., BATSTONE D., GEHRING T., FISCHER K., ANDRADE D., LÜBKEN M., KOCH M., GRONAUER A., HORN H. (2008):** Calibration of ADM 1 to the thermophilic mono-fermentation of grass silage, in Vorbereitung für Bioresource Technology
- WICHERN M. (2009):** Simulation biochemischer Prozesse in der Siedlungswasserwirtschaft, Habilitationsschrift, Veröffentlichung beim Oldenbourg-Verlag, München, Sommer 2009, eingereicht 30.4.2009

## Vergärung von Roggen-Ganzpflanzensilage in einer zweiphasigen Prozessführung

### *Anaerobic digestion of rye silage in two-phase process*

Mandy Schönberg<sup>1</sup>, Bernd Linke<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB), Abteilung Bioverfahrenstechnik, Max-Eyth-Allee 100, D-14469 Potsdam

<sup>2</sup> Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Fachgebiet Biosystemtechnik, Unter den Linden 6, D-10099 Berlin

E-mail: mschoenberg@atb-potsdam.de

**Kurzfassung:** Im Rahmen des Verbundprojektes „Biogas-Crops-Network“ (BCN) wurden Erkenntnisse über die Temperaturführung sowie der offenen bzw. geschlossenen Fahrweise des ersten Reaktorsystems (Hydrolyse) einer zweiphasigen Feststoffvergärung von Roggen-Ganzpflanzensilage im Bioleaching-Verfahren gewonnen. Die Ergebnisse zeigen, dass es aufgrund der höheren Temperatur zu einer besseren mikrobiellen Verfügbarkeit des Substrates und damit zu einer höheren Methanausbeute kommt. Hinsichtlich der Fahrweise erzielte das offene System nur 35% der Methanausbeute gegenüber dem geschlossenen System. Durch das Eindringen von Luft in die Hydrolysestufe kommt es zu einer Pilzbildung auf der Silage und demzufolge zu einem aeroben Abbauprozess. In der Schlussfolgerung scheint die Untersuchung im hyperthermophilen Bereich, zum verbesserten Substratabbau, als sehr aussichtsreich.

**Schlüsselwörter:** Biogas, Feststoffvergärung, Bioleaching, zweiphasig, NawaRos

**Abstract:** *The joint research project “Biogas-Crops-Network” gained new insights into the two-phase leach bed anaerobic digestion system. The study focused on temperature effects and the use of a non-gastight hydrolysis reactor. In conclusion, it can be stated that higher temperatures can lead to higher substrate availability and, in consequence, to higher methane yields. Furthermore, it was revealed that the use of a non-gastight hydrolysis reactor instead of a gastight vessel can reduce the overall methane yield to as low as 35%. Because of passive aeration the open hydrolysis reactor system, was found to support the growth of fungi. For a more effective degradation of solid substrates further research on temperature effects, including hyperthermophilic conditions, seems highly prospective.*

**Keywords:** *biogas, solid state anaerobic digestion, leach bed, two-phase, energy crops*

## 1 Einleitung

Die in der Praxis betriebenen landwirtschaftlichen Anlagen zur Biogasgewinnung beruhen überwiegend auf einer kontinuierlichen Prozessfahrweise sowie einer Volldurchmischung des Reaktorinhalts. Durch die Zunahme des Einsatzes an organischen stapelfähigen Feststoffen steigt jedoch der energetische Aufwand für die Durchmischung, sowie die Gefahr einer biologischen Prozessüberlastung. Hinzu kommt, dass sich Schwimm- und Sink-schichten bilden können, in denen es zur Aufkonzentrierung der gebildeten Intermediate und einer daraus folgenden Hemmung des Vergärungsprozesses kommen kann.

Aus diesem Grund steigt das Interesse an den aus dem Bereich der biologischen Abfallbehandlung bekannten Verfahren (THOME-KOZMIENSKY 1995), die speziell für die Vergärung von Feststoffen entwickelt wurden. Hierzu gehört die diskontinuierliche Feststoffvergärung. Der Vorteil dieser Verfahren liegt in der einfachen Gestaltung des Reaktorsystems und dem daraus resultierenden geringeren Energiebedarf (WEILAND 2006). Der Stoffübergang im Fermenter erfolgt ausschließlich über die Umwälzung der Prozessflüssigkeit. Ein Nachteil dieser Verfahren ist die Rückführung von bis zu 70% Gärrest (KUSCH *et al.* 2005) als Impfmateriale. Dies führt dazu, dass der Fermenter deutlich größer dimensioniert werden muss, jedoch zu keiner signifikanten Steigerung der Biogasproduktion beiträgt.

Eine Alternative zur einfachen Feststoffvergärung ist die zweistufige Prozessführung. Durch die Integration eines separaten Methanreaktors in den Kreislauf der Prozessflüssigkeit, dient der Feststoffreaktor hierbei in erster Linie zur Hydrolyse und Versäuerung. Die gebildeten Intermediate werden in dem Methanreaktor mit immobilisierter Mikrobiozönose zu Biogas umgewandelt. Bei dieser Prozessvariante ist das Animpfen mit Gärrest nicht erforderlich. Zu diesen Verfahren sind derzeit nur wenige Daten hinsichtlich der Funktions- und Leistungsfähigkeit bekannt. Damit zeigt sich, dass ein hohes Maß an Forschungs- und Entwicklungsarbeit notwendig ist (LINKE 2004).

Das Ziel der Untersuchungen war die Bereitstellung von grundlegenden Erkenntnissen zum Einsatz von Roggen-Ganzpflanzensilage (Roggen-GPS) im Bioleaching-Verfahren in Kombination mit einem nachgeschalteten Methanreaktor. Speziell die prozesskinetische Analyse der Hydrolyse/Versäuerung von Roggen-GPS sowie die Optimierung der Fahr- und Betriebsweise wurden untersucht und hinsichtlich ihrer Funktions- und Leistungsfähigkeit nachgewiesen.

## 2 Versuchsanlage der zweiphasigen Prozessführung mit Bioleaching

Die im Rahmen dieser Studie verwendete Versuchsanlage bestand aus drei baugleichen Reaktorsystemen mit jeweils einem Hydrolysereaktor (HR) und einem Methanreaktor (AF) als separate Methanstufe (**Bild 1** und **2**).

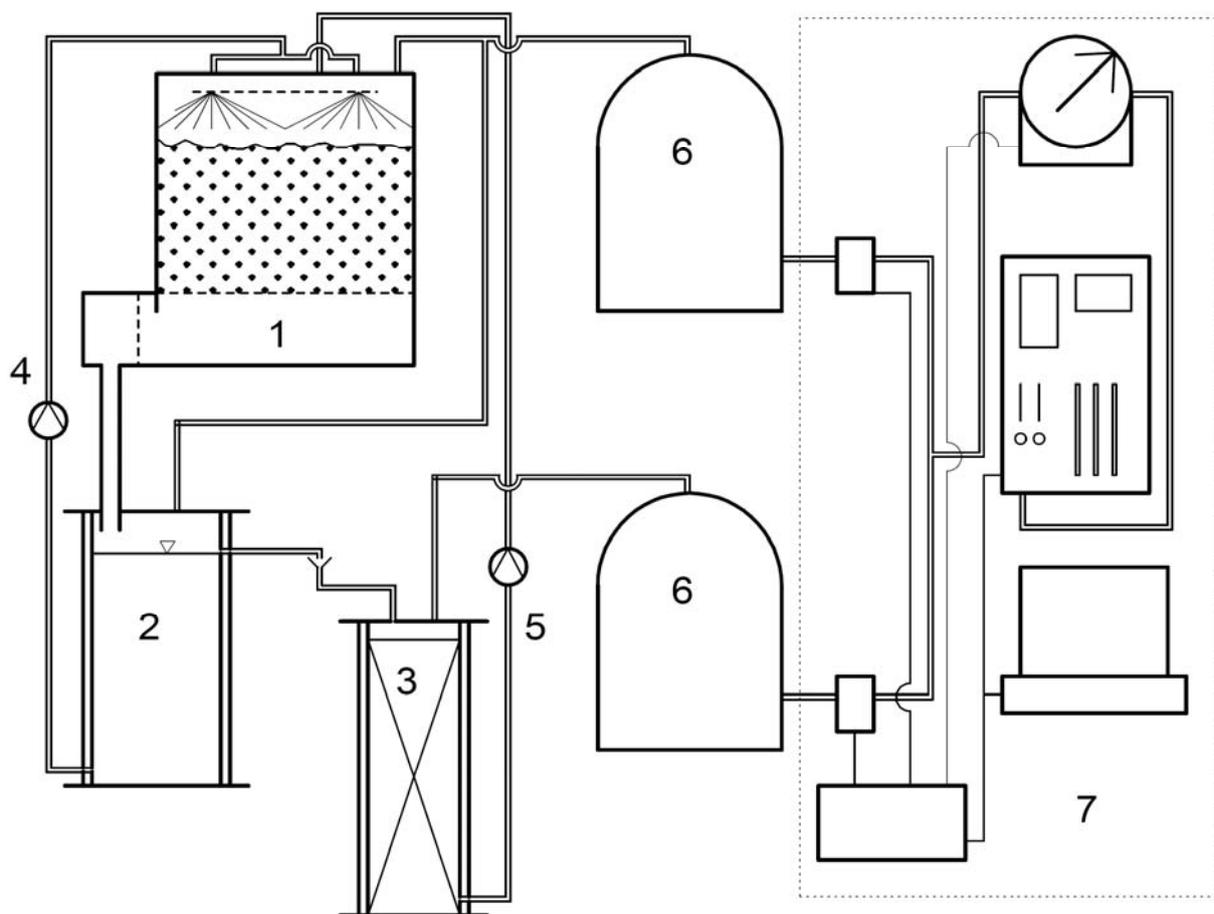


**Bild 1:** Versuchsanlage mit drei baugleichen Reaktorsystemen



**Bild 2:** Speicher für die Prozessflüssigkeit und Methanreaktor

Die Zugabe der Roggen-GPS in den Hydrolysereaktor – Material: PVC, Nutzvolumen: 100 Liter – [1] geschieht diskontinuierlich (**Bild 3**). Die Zirkulation der Prozessflüssigkeit erfolgt über zwei verschiedene Kreisläufe. Durch die Perkolation reichern sich die gelösten organischen Verbindungen in der Prozessflüssigkeit an und werden anschließend im Hydrolysatspeicher – Material: Acrylglas, Nutzvolumen: 60 Liter – [2] gesammelt. Durch eine am Lehrstuhl Abfallwirtschaft der BTU Cottbus entwickelten Technologie wird das Prozesswasser (60 l/h) in den Hydrolysereaktor zurückgefördert [4], zum einen zur Temperierung und Aufrechterhaltung des optimalen Feuchtegehaltes der organischen Feststoffe und zum anderen zum Rücktransport der am mikrobiellen Abbau beteiligten Biozönose. Ein kontinuierlicher Volumenstrom (1 l/h) gelangt aus dem Speicher der Prozessflüssigkeit in den Festbettmethanreaktor – Material: Acrylglas, Füllkörper Bioflow 40 in loser Schüttung, Nutzvolumen 30 Liter – [3]. Die von den organischen Verbindungen weitgehend entlastete Flüssigkeit aus dem Methanreaktor wird in den Hydrolysereaktor zurückgefördert (1 l/h) [5]. Die Versuchsanlage ist hinsichtlich der Hydrolysatrückflussrate und der Perkulationsrate individuell steuerbar.



**Bild 3:** Versuchsanlage zum zweiphasigen Bioleaching mit [1] Hydrolysereaktor (100 Liter), [2] Speicher für Prozessflüssigkeit (60 Liter), [3] Methanreaktor (30 Liter), [4] kleinem Prozessflüssigkeitskreislauf (60 L/h), [5] großem Prozessflüssigkeitskreislauf (1 L/h), [6] Gasspeicher und [7] automatisierter Gasanalyse

Das entstandene Hydrolyse- bzw. Biogas wird in separaten Gasspeichern – 100 Liter Gasbeutel der Fa. TECOBAG - [6] gesammelt. Einmal täglich wird eine automatisierte Gasmengenerfassung und Gasanalyse durchgeführt [7]. Dazu erfolgt eine Aktivierung des Magnetventils mittels Steuerungseinheit. Das Gas wird mit Hilfe einer Pumpe aus dem Gasanalysegerät - SSM 6000 der Fa. Pronova - durch einen Gaszähler - Trommelgaszähler der Fa. Ritter - gefördert und hinsichtlich der Zusammensetzung analysiert. In Abhängigkeit der Gasmenge sendet der Gaszähler Impulse an die Steuerungseinheit. Gleichzeitig misst ein Drucksensor die Differenz zwischen System- und Umgebungsdruck. Bei entleertem Gasspeicher sinkt die Druckdifferenz, wodurch es zum Spannungsabfall kommt, die Pumpe schaltet sich ab und das Magnetventil schließt sich. Die anfallenden Daten werden mittels PC-Einheit umgewandelt und protokolliert.

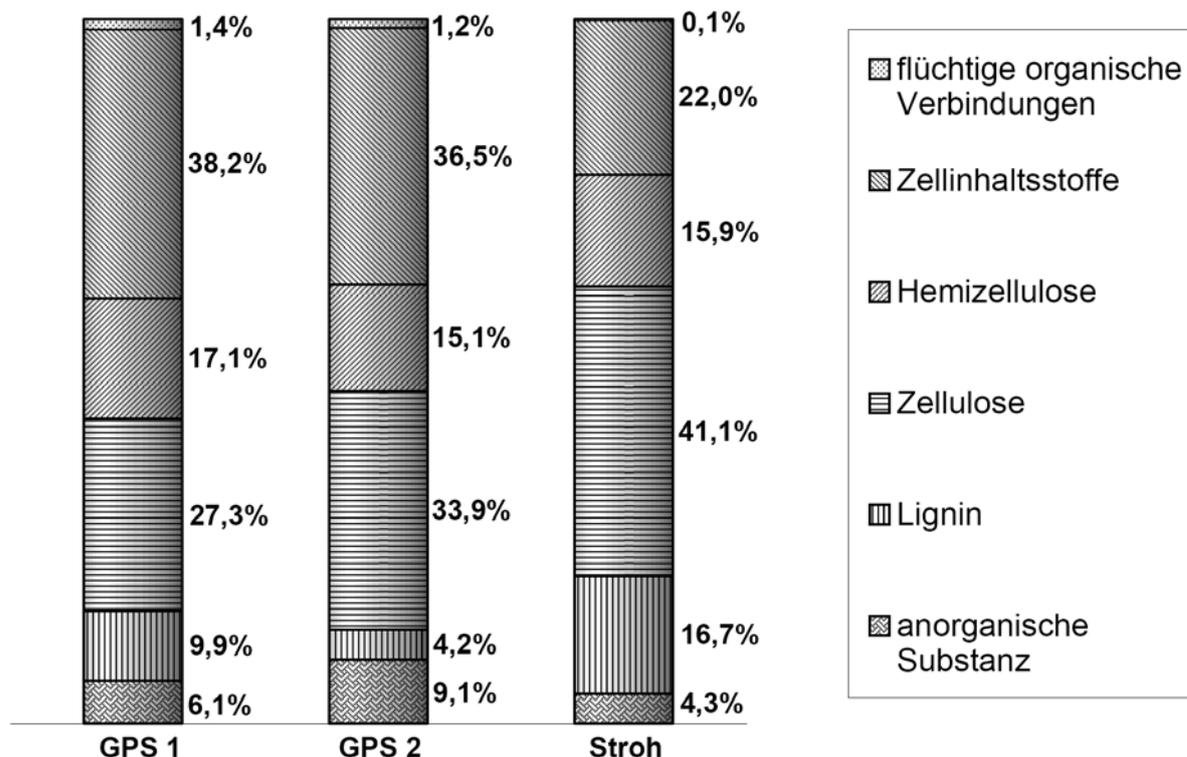
### 3 Art und Beschaffenheit der verwendeten Roggen-GPS

Für die Versuchsdurchführung wurden zwei verschiedene Silagen mit unterschiedlicher Herkunft verwendet. Die Roggen-GPS 1 wurde bezogen von dem Landwirtschaftsbetrieb Martin Schulze in Dolgelin (Märkisch-Oderland, Brandenburg). Die Roggen-GPS 2 stammt aus der Lehr- und Versuchsanstalt für Tierzucht und Tierhaltung in Groß Kreutz (Potsdam – Mittelmark, Brandenburg). Das Roggenstroh wurde bezogen vom Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (Brandenburg). Die Häcksellänge der beiden Silagen beträgt 2 cm. Die Roggen-GPS 1 und Roggen-GPS 2 unterscheiden sich in ihrer organischen Trockensubstanz, im Total-Kjeldahlstickstoff, im CSB und den flüchtigen Fettsäuren (**Tabelle 1**).

**Tabelle 1:** Analytische Parameter des Substrates Roggen-GPS

Substrat	pH-Wert	TS %	oTS % TS	TKN g/kg FM <sup>-1</sup>	Rohfett %TS	XF %TS	CSB g/kg FM <sup>-1</sup>	Milchsäure g/kg FM <sup>-1</sup>	FFS g/kg FM <sup>-1</sup>
Roggen-GPS 1	4,23	31,00	29,09	5,33	1,80	36,84	399,70	1,82	4,45
Roggen-GPS 2	4,19	24,47	22,21	3,95	3,62	38,15	258,20	2,6	2,89
Roggenstroh	7,51	89,31	85,48	8,42	0,54	46,31	926,50	0,0	0,55

Ein Vergleich des stoffspezifischen Aufschlusses nach van Soest (LENGERKEN 1991) im **Bild 4** hat ergeben, dass die Roggen-GPS 1 mit 6,1 Ma.-% einen geringeren Anteil anorganischer Substanz aufweist, als die Roggen-GPS 2 mit 9,1 Ma.-%. Die flüchtigen organischen Verbindungen (Fettsäuren C2-C6, Alkohole C2 und C3) machen bei beiden Substraten einen geringfügigen Anteil von 1,4 Ma.-% bzw. 1,2 Ma.-% aus. Der Gehalt an Hemizellulosen ist mit 17,1 Ma.-% für die Roggen-GPS 1 und 15,1 Ma.-% für die Roggen-GPS 2 annähernd gleich. Den Hauptanteil der organischen Verbindungen bilden die Zellinhaltsstoffe mit 38,2 Ma.-% für Roggen-GPS 1 und 36,5 Ma.-% für Roggen-GPS 2. Ein Unterschied ist beim zweitgrößten Silagebestandteil Zellulose zu verzeichnen. Deren Anteil in der Roggen-GPS 1 beträgt 27,3 Ma.-%, der Zelluloseanteil der Roggen-GPS 2 ist mit 33,9 Ma.-% deutlich höher. Beim Silagebestandteil Lignin ist ein gegenteiliges Resultat zu erkennen. Die Roggen-GPS 1 besitzt einen Ligninanteil von 9,9 Ma.-%, die Roggen-GPS 2 jedoch nur 4,2 Ma.-%. Es ist anzunehmen, dass der Reifeprozess bei der Roggen-GPS 1 weiter vorangeschritten war.



**Bild 4:** Stoffgruppenzusammensetzung der verwendeten Roggen-Ganzpflanzensilage (GPS 1 und GPS 2) und Roggenstroh

#### 4 Untersuchungen zur Temperaturführung

In Versuchen von jeweils 21 Tagen wurde die Prozesstemperatur des ersten Reaktionssystems (Hydrolyse) sowie die Gasbildung in beiden Anlagenteilen untersucht. Für die mesophile Temperaturführung wurden 30°C und 37°C, für die thermophile Temperaturführung 55°C gewählt. Die Festbettmethanreaktoren liefen im mesophilen Temperaturbereich von 37°C. Die drei Hydrolysefermenter wurden parallel mit jeweils 10 kg Frischmasse der Roggen-GPS 1 beschickt. Die Perkolation erfolgte in einer alternierenden Berieselung des Feststoffes mit der Prozessflüssigkeit aus dem Hydrolysatspeicher von 60 l/h. Nach 1 Minute Perkolation folgte eine Ruhephase von 29 Minuten. Dieser Vorgang wiederholte sich zyklisch.

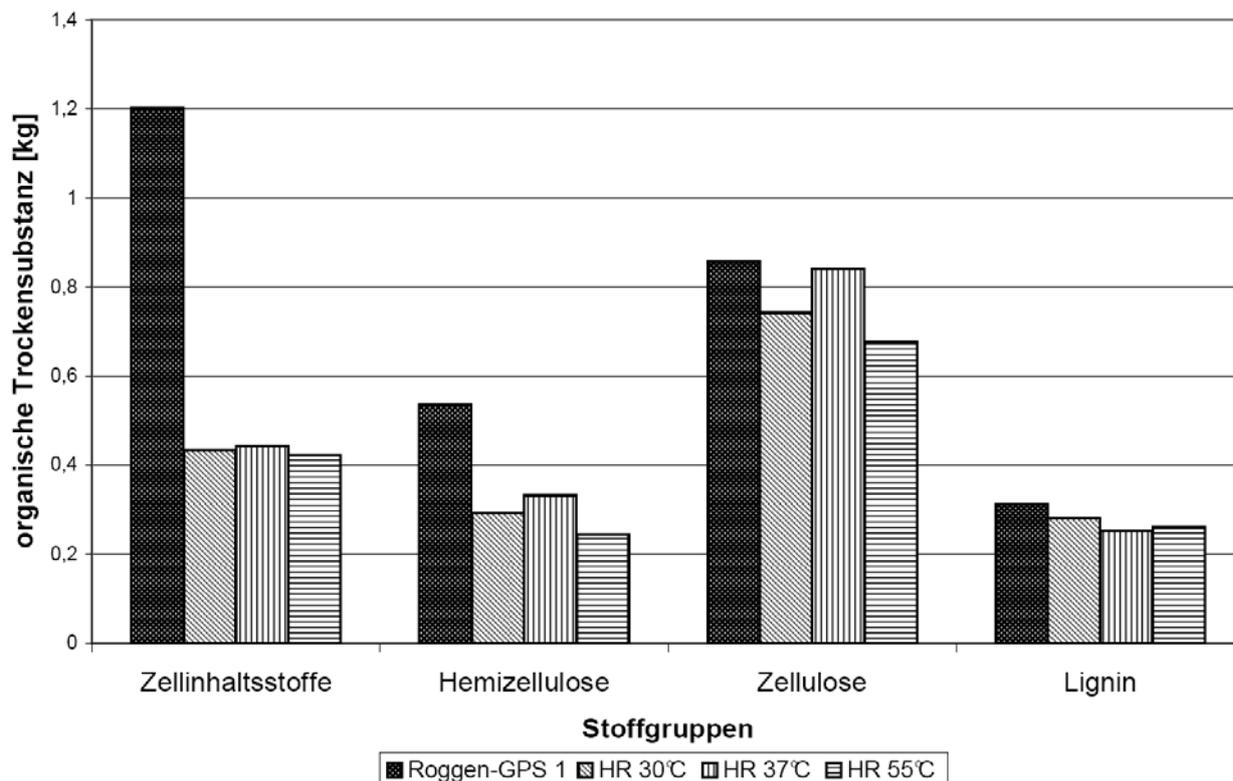
Am Ende der Versuchsdurchführung wiesen die Gärreste der drei Untersuchungsvarianten einen ähnlichen organischen Trockensubstanzgehalt um 13,2 Ma.-% auf. Dagegen war die Abbaurate der thermophilen Betriebsweise mit 45 Ma.-% am größten. Die mesophilen Temperaturführungen dagegen erzielten nur 80 bzw. 88% des Ergebnisses der thermophilen Fahrweise (**Tabelle 2**).

**Tabelle 2:** Biogas- und Methanausbeute der Untersuchungen der unterschiedlichen Temperaturführung im Hydrolyseprozess

Reaktorsystem	Roggen-GPS (kg oTS)	Gärrest (kg oTS)	Biogasaus- beute (NI/kg oS)	Methan- ausbeute (NI/kg oS)	Methan- gehalt (Vol.-%)
HR 1 (30°C)	2,91	1,75	132	21	16,0
AF 1 (37°C)	-	-	403	307	76,2
HR 2 (37°C)	2,91	1,78	116	14	12,3
AF 2 (37°C)	-	-	385	294	76,4
HR 3 (55°C)	2,91	1,60	222	21	9,6
AF 3 (37°C)	-	-	415	330	79,5

Im **Bild 5** sind die organischen Bestandteile des verwendeten Substrates und des Gärrests abgebildet. Bei allen drei Versuchsvarianten wurden etwa 65 Ma.-% der Zellinhaltsstoffe abgebaut. Bei den Hemizellulosen erzielte die thermophile Fahrweise den höchsten Abbaugrad. Hier wurde mehr als die Hälfte (54 Ma.-%) des pflanzlichen Bestandteils gelöst. Bei den mesophilen Versuchsvarianten erzielte das System mit der Prozesstemperatur von 30°C in der Hydrolysestufe den besseren Abbau der organischen Substanz von 45 Ma.-%. In dem System mit der Hydrolysetemperatur von 37°C wurden dagegen nur 38 Ma.-% der organischen Substanz gelöst. Dagegen wurde der Zelluloseanteil kaum umgewandelt. Lediglich 21 Ma.-% der Zellulose ist in der thermophilen Fahrweise und 13 Ma.-% in dem mesophilen System mit der Prozesstemperatur von 30°C gelöst worden. Ein Ligninabbau fand so gut wie gar nicht statt.

Die Ursache des unterschiedlichen Abbauverhaltens liegt im strukturellen Aufbau der Roggen-Ganzpflanzensilage. Zellinhaltsstoffe sind Bestandteile aus dem Zellsaft bzw. Zellkern, mit einer geringen Anzahl an Molekülen. Sie sind sehr reaktionsfreudig, da sie der Pflanze für biochemische Prozesse zur Verfügung stehen. Hemizellulose ist ein pflanzlicher Bestandteil aus der Zellmembran. Sie hat eine wesentlich kleinere Kettenlänge als Zellulose und kann somit leichter abgebaut werden. Zellulose hingegen setzt sich aus mehreren hunderten bis tausenden Glukosemolekülen zusammen, die eine Zellulosefaser bilden. In dieser Kette können sich andere Polysaccharide wie Hemizellulose und Lignin einlagern. Diese Ketten wiederum sind durch zwei Wasserstoffbrückenbindungen mit der benachbarten Kette verbunden und bilden Elementarfibrillen. So baut sich ein Körper mit dreidimensionaler, periodischer Struktureinheit auf, der eine mögliche Aufspaltung und das Eindringen von Wasser- und Enzymmolekülen erschwert (FRITSCH 1985).



**Bild 5:** Stoffgruppenanalyse nach van Soest der Roggen-GPS 1 und des Gärrestes der Hydrolysestufen bei unterschiedlicher Temperaturführung (HR=Hydrolysereaktor)

Der Abbaugrad der pflanzlichen Bestandteile spiegelt sich auch in der Methanausbeute wieder (**Tabelle 2**). Aufgrund der höheren Temperatur kommt es zu einer besseren mikrobiellen Verfügbarkeit des Substrates und damit zu einer höheren Methanausbeute von  $351 \text{ NI}_{\text{CH}_4}/\text{kg}_{\text{OS}}$ . Die mesophilen Versuchsvarianten erreichen lediglich 90% bzw. 93% der Methanausbeute der thermophilen Fahrweise. Anhand der Gaszusammensetzung war zu erkennen, dass die Trennung der Abbauprozesse Hydrolyse bzw. Versäuerung und Methanisierung bei dem thermophilen System besser vollzogen wurde als bei dem mesophilen System. Das Biogas der Hydrolysestufe bestand überwiegend aus Kohlendioxid und Wasserstoff. Die Biogasbildung setzte nach dem Versuchsbeginn sofort ein und erreichte in den ersten Tagen Werte von 100 Litern Biogas je Tag, wobei die Konzentration an Kohlendioxid 85 Vol% erreichte und die vom Wasserstoff deutlich über dem Messbereich des Gasanalysegerätes von 3,5 Vol% lag. Ab dem vierten Versuchstag sank die Biogasproduktion in der Hydrolysestufe, gleichzeitig setzte die Methanbildung ein. Im Durchschnitt lag der Methangehalt der thermophilen Fahrweise bei 9,6 Vol% und war damit geringer, als die Werte der mesophilen Temperaturführung. Eine gegenläufige Beobachtung war in der Methanstufe zu verzeichnen. Hier stieg die Konzentration des Methans auf bis zu 85 Vol% an. Der durchschnittliche Methangehalt der thermophilen Betriebsführung lag bei etwa 80 Vol% und war damit höher als die Werte der mesophilen Temperaturführung.

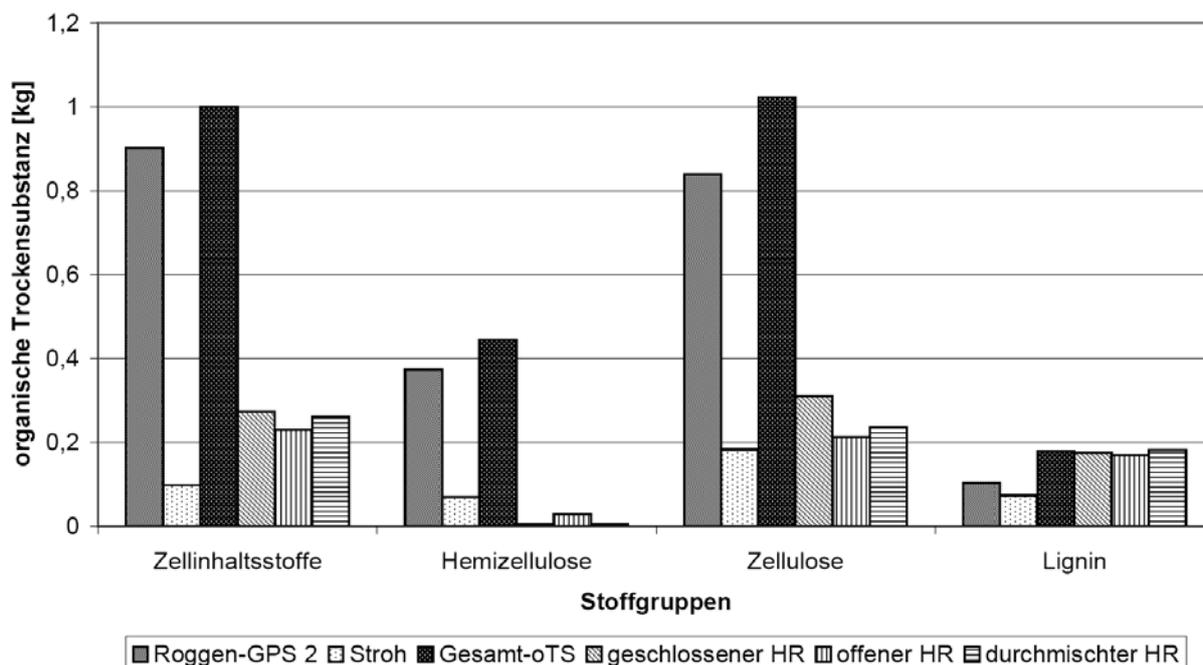
## 5 Untersuchungen zur offenen, geschlossenen und durchmischten Hydrolysestufe

In Versuchen von jeweils 21 Tagen wurde die offene, geschlossene oder durchmischte Fahrweise des ersten Reaktionssystems (Hydrolyse) sowie die Gasbildung in beiden Anlagenteilen untersucht. Für die Hydrolysereaktoren wurde der thermophile Temperaturbereich (55°C) und für die Festbettmethanreaktoren der mesophile Temperaturbereich (37°C) gewählt. Die drei Hydrolysefermenter wurden parallel mit jeweils 10 kg Frischmasse der Roggen-GPS 2 und 0,5 kg Roggenstroh (Strukturmaterial) beschickt. Beim geschlossenen System wurde die Hydrolysestufe luftdicht verschlossen. Beim offenen System wurde der Deckel des Hydrolysereaktors geschlossen, jedoch nicht verschraubt (siehe **Bild 3**). Der Gasspeicher wurde vom System getrennt, so dass über drei Öffnungen, mit je einem Durchmesser von 10 mm, die Umgebungsluft in das System eindringen konnte. Die Durchmischung des dritten Hydrolysesystems wurde im wöchentlichen Rhythmus vorgenommen. Die Perkolation erfolgte in allen drei Varianten ebenfalls in einer alternierenden Berieselung des Feststoffes mit der Prozessflüssigkeit aus dem Hydrolysatspeicher von 60 l/h. Nach 1 Minute Perkolation setzte eine Ruhephase von 29 Minuten ein. Dieser Vorgang wiederholte sich zyklisch.

**Tabelle 3:** Biogas- und Methanausbeute der Untersuchung der Fahrweise: Vergleich von offenen, geschlossenen und durchmischten Hydrolysestufe bei thermophiler Temperaturführung

Reaktorsystem	Abbau oTS (Ma.-%)	Abbau CSB (Ma.-%)	Biogasausbeute (NI/kg oS)	Methanausbeute (NI/kg oS)	Methan-gehalt (Vol.-%)
geschlossen: HR 1	71	68	190	39	21
AF 1	-	-	255	212	83
offen: HR 2	76	74	-	-	-
AF 2	-	-	99	87	88
durchmischt: HR 3	74	72	209	36	17
AF 3	-	-	243	208	86

Die Gärreste des geschlossenen und durchmischten Hydrolysesystems wiesen einen ähnlichen organischen Trockensubstanzgehalt um 10,5 Ma.-% auf. Lediglich der organische Trockensubstanzgehalt des offenen Systems war mit 9,2 Ma.-% etwas geringer. Der Abbau organischer Trockensubstanz der Roggen-GPS war bei allen drei Versuchsvarianten ähnlich und lag zwischen 71 Ma.-% und 76 Ma.-%. Der CSB-Abbau verhielt sich ähnlich und lag zwischen 68 Ma.-% und 74 Ma.-%. Den höchsten Abbaugrad erzielte das offene Reaktorsystem (**Tabelle 3**).

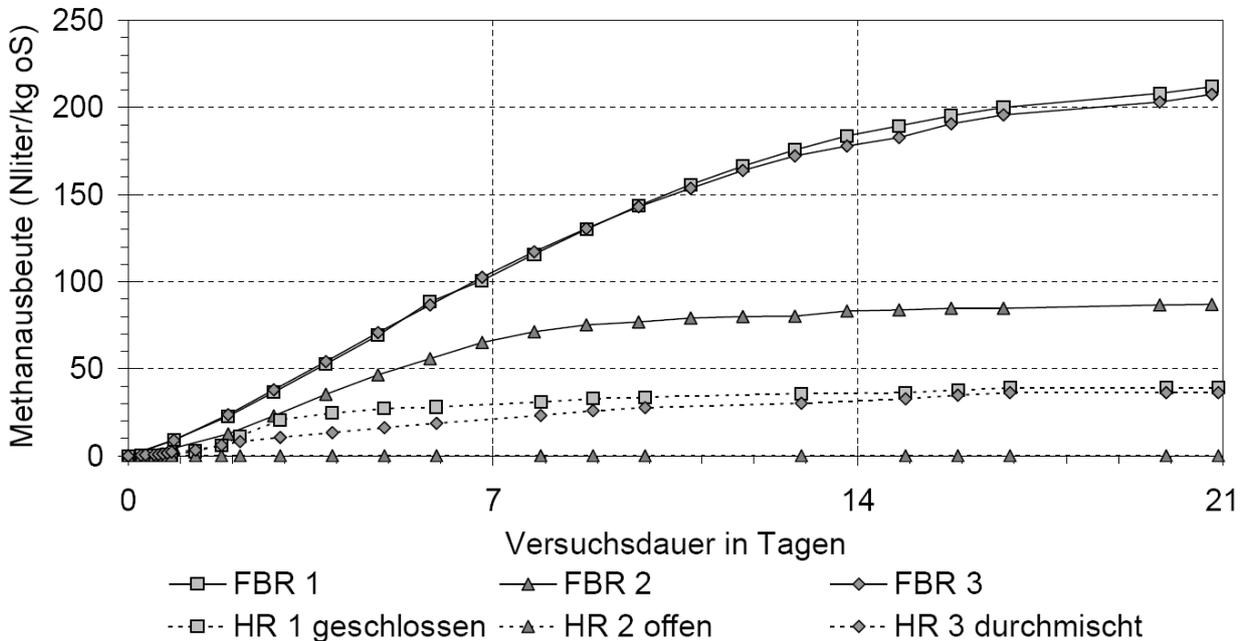


**Bild 6:** Stoffgruppenanalyse nach van Soest der Roggen-GPS 2, des Roggenstrohs und des Gärrestes der offenen, geschlossenen und durchmischten Hydrolysestufe (HR)

Im **Bild 6** sind die organischen Bestandteile des verwendeten Substrates und des Gärrestes abgebildet. Bei allen drei Versuchsvarianten wurden zwischen 73 Ma.-% (geschlossene Hydrolyse) und 77 Ma.-% (offene Hydrolyse) der Zellinhaltsstoffe abgebaut. Von den Hemizellulosen wurden nahezu alles, d.h. über 94 Ma.-% des pflanzlichen Bestandteils gelöst. Unterschiede gab es beim Abbau der Zellulose. Das durchmischte bzw. offene Reaktorsystem erzielte einen Zelluloseabbau von 77 Ma.-% bzw. 79 Ma.-%. Beim geschlossenen System hingegen wurde nur 70 Ma.-% des Zellulosebestandteils gelöst. Der Ligninanteil hingegen wurde kaum umgewandelt.

Die Ergebnisse der Versuche im Bezug auf die unterschiedlichen Fahrweisen der Hydrolysesysteme und deren Auswirkung auf die Methanausbeute zeigt **Bild 7**. Die Resultate des Feststoffabbaus können mit den Ergebnissen der Gasbildung nicht bestätigt werden (**Tabelle 3**). Die geschlossene Systemvariante erzielte mit 251  $\text{Nl}_{\text{CH}_4}/\text{kg}_{\text{oS}}$  die höchste Methanausbeute. Die durchmischte Variante lag mit 244  $\text{Nl}_{\text{CH}_4}/\text{kg}_{\text{oS}}$  etwas darunter. Bei der offenen Systemvariante hingegen wurden nur 87  $\text{Nl}_{\text{CH}_4}/\text{kg}_{\text{oS}}$  gebildet. Das entspricht 35% der Methanausbeute des geschlossenen Systems. Des Weiteren wurde die Gaszusammensetzung des Gasraumes des offenen Hydrolysereaktors gemessen. Es war zu beobachten, dass zu Beginn des Versuches, trotz offener Fahrweise, eine Methanbildung zu verzeichnen war. Weiterhin konnte beobachtet werden, dass der Sauerstoffgehalt im Laufe der Versuchsdurchführung anstieg und zum Ende hin einen Wert von 15 Vol% aufwies. Dies förderte die Schimmelpilzbildung am Deckel und an den Seitenwänden des Reaktorsystems. Zusätzlich gab es einen Pilzbewuchs über der gesamten Silage. Es kann davon ausgegangen werden, dass es bei dem offenen System zu einem aeroben Abbauprozess

kam. Unklar ist, ob sich Stoffwechselprodukte der Schimmelpilze toxisch auf den Vergärungsprozess ausgewirkt haben und dadurch die Methanbildung zum Erliegen kam.



**Bild 7:** Entwicklung der Methanausbeute von Hydrolysereaktor (HR) und Festbettmethanreaktors (FBR) in der Fahrweise der offenen, geschlossenen und durchmischten Hydrolysestufe

## 6 Schlussfolgerungen

Aus den Ergebnissen lässt sich schließen, dass es bei höheren Temperaturen zu einer besseren mikrobiellen Verfügbarkeit des Substrates und damit zu einer höheren Methanausbeute kommt. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass im Hydrolyseprozess hauptsächlich Kohlendioxid und Wasserstoff gebildet wurden, während in der Methanogenese im Festbettmethanreaktor ein Methangehalt von etwa 80 Vol.-% erreicht wurde. Zur Einspeisung in das Erdgasnetz ist dieser hohe Methangehalte vorteilhaft, da die Kosten der Aufbereitung des Biogases, im Vergleich zu einstufigen Verfahren, geringer ausfallen. Forschungsbedarf besteht noch hinsichtlich der Verwendung des hohen Wasserstoffgehaltes im Hydrolysegas. Weiterhin ist eine Untersuchung hinsichtlich der hyperthermophilen Temperaturführung im ersten Reaktorsystem zu überlegen, da es zu einem noch höheren Aufschluss der pflanzlichen Biomasse, besonders des hohen Zelluloseanteils kommen kann. Vorteilhaft wäre die Untersuchung des Einsatzes von Substraten, z.B. stickstoffhaltige Verbindungen, die eine hemmende Wirkung auf den Vergärungsprozess ausüben. Die Eliminierungsprozesse dieser Hemmstoffe verlaufen oft unter hohen Temperaturen ab, so dass diese Verfahren in den Hydrolyseprozess integriert werden können. Dies hat zur Folge, dass sich das Substratspektrum für Biogasgewinnung deutlich erweitern würde.

Aus den Ergebnissen der Fahrweise der Hydrolysestufe lässt sich schließen, dass die Verwendung eines offenen Systems im thermophilen Temperaturbereich als nicht zielführend erachtet wird. Die Kosten für eine gasdichte Hydrolysestufe sind zwar deutlich höher, jedoch wird in diesem Reaktorsystem 65% mehr Methan gebildet, als in der offenen Fahrweise. In das offene Reaktorsystem sind bis zu 15 Vol% Sauerstoff eingetreten, dass es zu einem aeroben Abbau des Feststoffes kam. Hinzu kommt, dass eine Schimmelpilzbildung an den Wänden des Reaktors und auf der Silage beobachtet wurde. Dieser könnte sich unter Umständen gesundheitsgefährdend auf das Betriebspersonal auswirken.

## 7 Literatur

- FRITSCH W. (1985):** Umwelt-Mikrobiologie. – Akademie-Verlag, Berlin
- KRETSCHMER S. (1997):** Untersuchungen zur Verkürzung der Verweilzeit bei der Hydrolyse von Cellulose und bei der anaeroben Fermentation lignocellulosehaltiger Lebensmittelreststoffe am Beispiel von Birtrebern – VDI-Verlag Reihe 17 Nr. 165
- KUSCH S., OECHSNER H., JUNGBLUTH T. (2005):** Vergärung landwirtschaftlicher Substrate in diskontinuierlichen Feststofffermentern. Agrartechnische Forschung 11, Heft 4, S. 81-91.
- LENGERKEN J. v., ZIMMERMANN K. (1991):** Handbuch Futtermittelprüfung. – Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin
- LINKE B. (2004):** Substrateinsatz bei der Trockenfermentation – Einschätzung des F+E-Bedarfs, In: Gülzower Fachgespräche: Band 23, Trockenfermentation – Evaluierung des Forschungs- und Entwicklungsbedarfs, Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V., 4./5. Februar 2004 in Gülzow, S. 36-48
- THOME-KOZMIENSKY K.J. (1995):** Biologische Abfallbehandlung. - EF-Verlag für Energie- und Umwelttechnik GmbH, Berlin
- WEILAND P. (2006):** Stand der Technik bei der Trockenfermentation – Aktuelle Entwicklungen, In: Gülzower Fachgespräche: Band 24, Trockenfermentation – Stand der Entwicklung und weiterer F+E-Bedarf, Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V., 4./5. Februar 2006 in Gülzow, S. 22-38

## Microbial community structures within a two-stage biogas reactor system with bioleaching of rye silage

### *Mikrobielle Lebensgemeinschaften in einem zweistufigen Biogasreaktor mit Bioleaching von Roggensilage*

Michael Klocke<sup>1</sup>, Kerstin Mundt<sup>1</sup>, Mario Sontag<sup>1</sup>, Mandy Schönberg<sup>1,2</sup>, Bernd Linke<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V., Abteilung Bioverfahrenstechnik, Max-Eyth-Allee 100, D-14469 Potsdam

<sup>2</sup> Brandenburgische Technische Universität Cottbus, Fakultät Umweltwissenschaften und Verfahrenstechnik, Lehrstuhl Abfallwirtschaft, Postfach 101344, D-03013 Cottbus

<sup>3</sup> Humboldt-Universität zu Berlin, Landwirtschaftlich-Gärtnerische Fakultät, Institut für Pflanzenbauwissenschaften, Fachgebiet Agrartechnik, Philippsstrasse 13, D-10115 Berlin  
E-Mail: mklocke@atb-potsdam.de

**Abstract:** The bioconversion of energy crops to biogas is conducted by a complex microbial community of fermentative Bacteria and methane-producing Archaea. In this study, the structure of the biocoenosis present in a two-stage biogas reactor during the bioleaching of rye silage was analyzed by a culture-independent 16S rDNA-based approach. To monitor the ongoing fermentation process, the biogas reactor was sampled after 2 d, 4 d and 14 d of silage hydrolysis.

Two Archaea specific 16S rDNA clone libraries were constructed comprising together 284 clones. In both libraries different members of the hydrogenotrophic genera *Methanocorpusculum* and *Methanoculleus* (both order Methanomicrobiales) were found as most abundant operational taxonomic units (OTUs). As acetoclastic methanogen *Methanosaeta* sp. (order Methanosarcinales) was detected. The acetoclastic methanogens comprise only 8% and 10% of clones in the 16S rDNA library indicating a prevalence of hydrogenotrophic methanogenesis from H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>. The archaeal community was comparatively stable during 14 d of fermentation.

The bacterial community was analyzed by three 16S rDNA libraries comprising 1446 clones grouped into 444 OTUs. 120 redundant OTUs were determined representing 71% - 79% of clones in the libraries. They were representative for most predominant occurring microorganisms in the sampled biogas reactor. In the phylogenetic analysis, most of them (> 90%) showed 16S rDNA sequences dissimilarities to closest related reference strains of up to 25% pointing to a very high level of recently unknown and yet not sufficiently described species participating in anaerobic hydrolysis of plant biomass. Most OTUs were detected for the phyla Firmicutes and Bacteroidetes. Also several members of Flavobacteria, Spirochaetes and  $\epsilon$ -Proteobacteria were found. The predominant Bacteria species remain constantly throughout the Bioleaching process.

**Keywords:** Two-stage biogas reactor, Bioleaching, 16S rDNA nucleotide sequence analysis, Amplified rDNA restriction analysis, Methanogenic Archaea, Microbial community structure.

**Kurzfassung:** Die Biokonversion von Energiepflanzen erfolgt durch eine komplexe Lebensgemeinschaft aus fermentativen Bacteria und Methan produzierenden Archaea. In dieser Studie wurde untersucht, wie diese mikrobielle Biozönose in einem zweistufigen Biogasreaktor bei der Vergärung von Roggensilage im Bioleaching-Verfahren strukturiert ist. Für diese Arbeit wurde ein kultivierungsunabhängiges Verfahren auf Basis der Analyse der 16S rDNA Nukleotidsequenz gewählt. Zur Verfolgung der Entwicklung der mikrobiellen Gemeinschaft während der Fermentation wurde der Biogasreaktor nach 2 d, 4 d und 14 d Hydrolyse beprobt.

Zur Analyse der Archaea wurden zwei 16S rDNA Klonbibliotheken mit zusammen 284 Klonen entwickelt. In beiden Bibliotheken wurden als häufigste taxonomische Gruppen (operational taxonomic units, OTUs) verschiedene Vertreter der hydrogenotrophen Methanbildner *Methanocorpusculum* sp. und *Methanoculleus* sp. (beide Ordnung Methanomicrobiales) gefunden. Als einziger Acetat verwertender Methanbildner wurde *Methanoseta* sp. (Ordnung Methanosarcinales) detektiert. Im Unterschied zu hydrogenotrophen Methanogenen waren acetotrophe Methanbildner nur mit 8% bis 10% der Klone in den 16S rDNA Bibliotheken vertreten. Diese Befunde weisen auf die hydrogenotrophe Methanogenese als vorrangigen Stoffwechselweg zur Bildung von Methan in dem untersuchten Reaktor hin. Während der fortgesetzten Fermentation wurde nur eine geringe Veränderung der Archaea Gemeinschaft beobachtet.

Weitere drei Klonbibliotheken wurden zur Charakterisierung der Bacteria Gemeinschaft entwickelt. Insgesamt wurden 1446 Klone dieser Bibliotheken untersucht, wobei 444 OTUs detektiert wurden. Von diesen waren 120 OTUs durch mehr als einen Klon in den Bibliotheken vertreten. Diese OTU repräsentierten zugleich die Mehrheit der Klone in den Bibliotheken i.e. 71% - 79%. In der phylogenetischen Auswertung zeigten die aus dem Biogasreaktor isolierten Nukleotidsequenzen in den meisten Fällen (> 90%) größere Abweichungen von den 16S rDNA Sequenzen bekannter Referenzarten, so dass auf einen hohen Anteil bislang unbekannter Arten in dem Bioleaching-Reaktor geschlossen werden kann.

Innerhalb der Domäne Bacteria konnten die meisten OTUs den Phyla Firmicutes und Bacteroidetes zugeordnet werden. Ebenfalls wurden verschiedene Vertreter der Flavobacteria, Spirochaetes und  $\epsilon$ -Proteobacteria nachgewiesen. Während des vierzehntägigen Bioleaching unterlag die Bacteria Gemeinschaft größeren Änderungen, innerhalb der häufig detektierten OTUs wurde allerdings eine wesentlich geringere Variabilität beobachtet.

**Schlüsselwörter:** Zweistufiger Biogasreaktor, Bioleaching, Analyse der 16S rDNA Nukleotidsequenz, Amplified rDNA restriction analysis, Methanogene Archaea, Struktur der mikrobiellen Gemeinschaft

## 1 Introduction

The microbial conversion of plant biomass to biogas relies on a broad range of very diverse microorganisms. Degradation of high molecular compounds to volatile fatty acids (VFA) and carbon dioxide is conducted by various members of the domain Bacteria, instead the final formation of methane, the methanogenesis, takes place by the activity of certain species of the domain Archaea. Fermentative Bacteria and methanogenic Archaea live together in a close spatial orientation, in some cases even in a syntrophic community, where two species shares a mutual metabolism (AHRING 2003, STAMS *et al.* 2003).

For analysis of the complex microbial biocoenosis expected in biogas reactors, classical microbiological techniques for studying microbial biodiversity are of limited use due to the specialized environmental requirements of certain Archaea and Bacteria species. These technical restrictions were overcome by cultivation-independent approaches based on the molecular analysis of the microbial DNA present in the biogas reactor (AMANN *et al.* 1995).

A usual target for molecular microbial analysis of environmental samples is the gene for a structural RNA within the small subunit of ribosomes (16S rDNA). This gene can be amplified out of a DNA pool by polymerase chain reaction (PCR) applying more or less universal primers specific for larger groups of microorganisms (LANE 1991, BAKER *et al.* 2003). By cloning, a comprehensive 16S rDNA library is obtained including actually all 16S rDNA genes representative for all microorganisms of a given preselected taxonomic level present in the original sample. Besides large-scale sequencing of 16S rDNA genes randomly selected from the library, a pre-screening with fingerprint techniques like amplified 16S rDNA analysis (ARDRA) allows a grouping of clones with similar 16S rDNA nucleotide sequences and, thus, a reduced sequencing effort. In conclusion, molecular approaches facilitate the characterization of microbial consortia as well as the monitoring of changes in microbial diversity. They are also well suited to uncovering new groups of microorganisms.

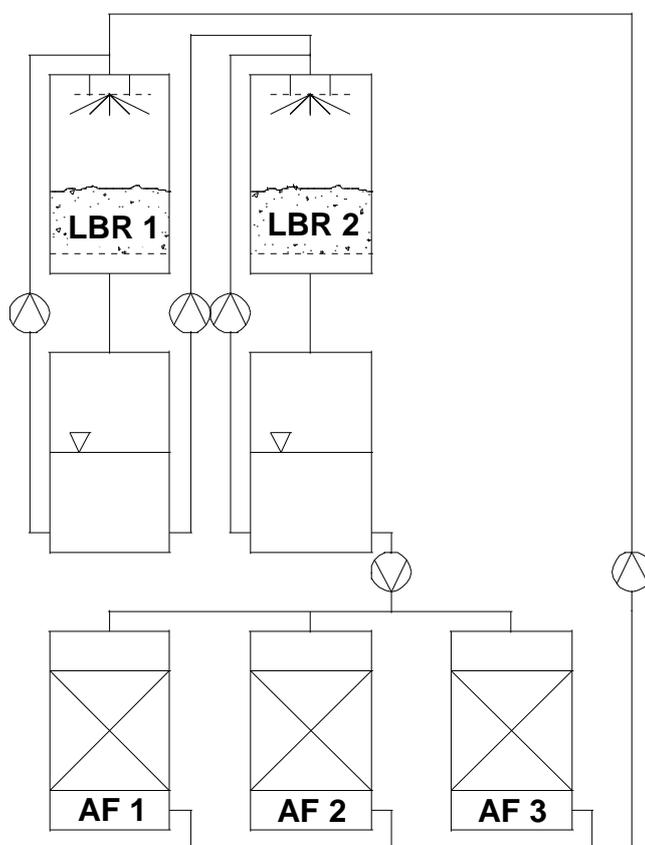
In this study, the 16S rDNA analysis was applied to analyze the microbial community structure within a two-phase biogas reactor consisting of leach bed reactors for bioleaching of rye silage and anaerobic filters for maintenance of methane producing microorganisms. In different approaches, the Archaea and Bacteria community structure was evaluated and monitored during an ongoing fermentation process.

## 2 Material and Methods

**Design and operation of the laboratory two-stage biogas reactor system.** The sampled reactor system consisted of two batch up-flow leach-bed reactors (LBR1, 2) and three down-flow anaerobic filter (AF1, 2, 3) (**Figure 1**). The LBRs had a volume of approximately 106 l each and were operated at 30°C. They were loaded with rye silage as sole substrate. LBRs were loaded with rye silage (dry substance 21.96% fresh mass (FM), total organic substance (OS) 20.18% FM) in 15 kg<sub>FM</sub> charges in time intervals of 7 d resulting in a retention time of 14 d for each charge. The theoretical organic loading rate was approximately 2 kg<sub>OS</sub> m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>. The silage filled in the LBRs was percolated with the effluents from the AFs.

Working volumes of AFs were 30 l each. They were packed randomly with plastic pall rings with a volume-specific surface area of 305 m<sup>2</sup> m<sup>-3</sup>. The AFs were operated at 37°C. The calculated retention time of process fluid was 1.4 d. Further details to reactor design and operation were published in a separate publication (SCHÖNBERG & LINKE 2009).

Samples for microbiological analysis were taken from the effluent of one LBR 2 d, 4 d and 14 d after loading with fresh silage. Additional samples were taken from the effluent of one AF after 2 d and 4 d. Samples were processed immediately after sampling.



**Figure 1:** Scheme of the sampled biogas reactor. LBR1 and LBR2 were filled with fresh silage in intervals of one week, thus, total retention time of silage was 14 d. LBR= leach bed reactor for bioleaching of rye silage, AF= anaerobic filter.

**Construction and analysis of 16S rDNA clone libraries.** From the biogas reactor samples, total microbial genomic DNA was extracted and purified as previously described by KLOCKE *et al.* (2008). Using the extracted microbial DNA as template, Archaea specific 16S rDNA clone libraries were constructed with the following primerset: forward primer 69Fmod 5'-YGAYTAAGCCATGCRAAGT-3', modified after DELONG (1992) and FERNANDEZ *et al.* (1999), complementary to nucleotide positions 15 to 32 of *Escherichia coli* rRNA, and reverse primer ARC934Rmod 5'-TGCTCCCCCGCCAATTCCT-3', modified after GIOVANNONI *et al.* (1990), DASARMA & FLEISCHMANN (1995) and FANG *et al.* (2002), corresponding to nucleotide positions 915 to 933 of *E. coli* rRNA. Amplicon length was approx. 830 bp. For Bacteria specific clone libraries the primers 27f 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' and 1492r 5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3' (LANE 1991) were used resulting in amplicons of approx. 1460 bp. Further details as published by KLOCKE *et al.* (2008).

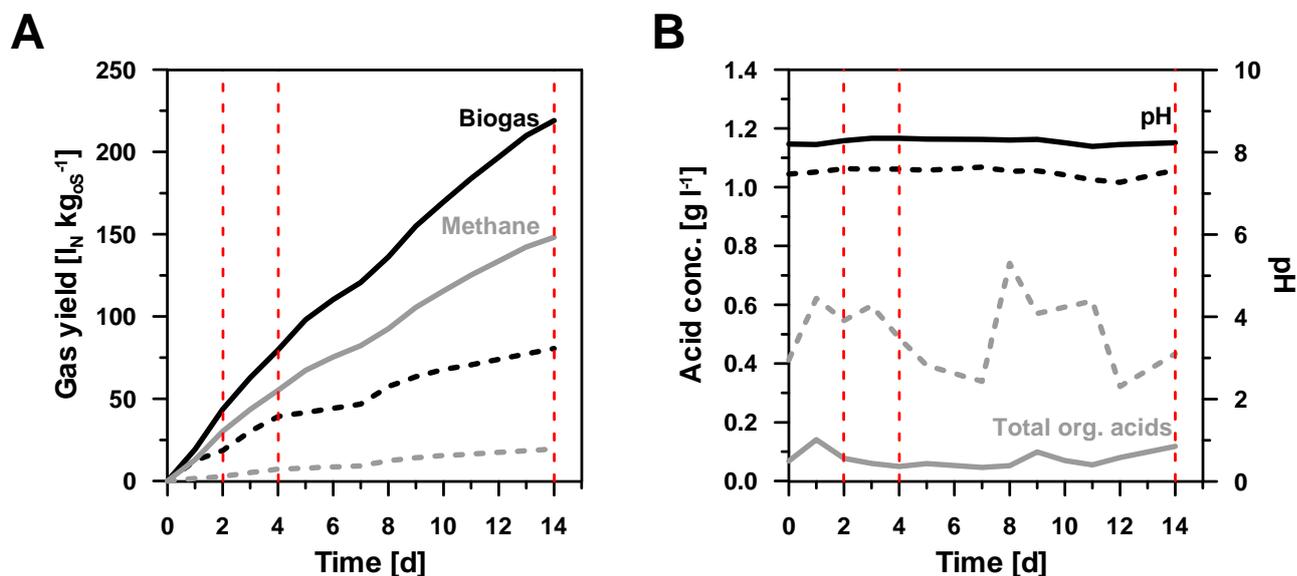
16S rDNA libraries were screened by amplified rDNA restriction analysis (ARDRA) according to KLOCKE *et al.* (2007). Individual ARDRA patterns were used as operational taxonomic units (OTUs).

**Statistical and phylogenetical analysis.** On base of OTU abundances, the diversity within the 16S rDNA libraries was analyzed by rarefaction analysis, applying the software Analytic rarefaction v1.3 (HOLLAND 2003), and by estimation of the Chao-1 richness estimator (CHAO 1987) using the software EstimateS v.8.0.0 (COLWELL 2006). Shannon diversity index and contributing values for evenness were calculated with the software PAST v1.72 (HAMMER *et al.* 2001). Similarity indices were calculated with the software EstimateS v.8.0.0, including a bootstrap resampling analysis for 1000 replicates (FELSENSTEIN 1985). The coverage of clone libraries was determined with the formula of GOOD (1953),  $[1-(n/N)]$  with n as the number of phylotypes (OTUs) represented by one single clone and N as the total number of clones.

16S rDNA fragments representative for individual ARDRA fingerprints were sequenced by MWG Biotech (Ebersberg, Germany) or GATC Biotech (Konstanz, Germany). Nucleotide sequences were examined for possible chimeric artefacts using the software tool Chimera Check (COLE *et al.* 2006). Phylogenetic trees of OTU sequences and GenBank (BENSON *et al.* 2006) reference sequences were constructed with the MEGA version 4.0 software (TAMURA *et al.* 2007). In case of bacterial 16S rDNA nucleotide sequences, additional phylogenetic analyses were conducted by using the ARB software package (LUDWIG *et al.* 2004).

### 3 Results and Discussion

**Biogas yield.** During 14 d of fermentation of rye silage,  $286 \text{ l}_N \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1}$  biogas were produced with a methane ( $\text{CH}_4$ ) content of 54% (**Figure 2**). Most of the biogas was produced in the AF; 74% of total produced biogas and 89% of total produced methane were derived from the three AFs.



**Figure 2:** Operation characteristics for the sampled biogas reactor: (A) yields of total biogas and methane; (B) total amounts of organic acids and resulting pH in the process fluid. Solid lines indicate values for the sampled anaerobic filter (AF); dashed lines indicate values for the sampled leach bed reactor (LBR). Vertical lines mark days of sampling of LBR for 16S rDNA analysis, *i.e.* after 2, 4 and 14 d of hydrolysis of rye silage. Values for accumulated gas yields referred to the organic substance (OS), *i.e.* sum of organic dry mass and free organic acids, filled in the reactor at the start-up of fermentation.

In the literature values of about  $664 \text{ l}_N \text{ kg}_{\text{ODM}}^{-1}$  were given as biogas yield for the fermentation of rye silage (Kuratorium für Technik in der Landwirtschaft 2005). The biogas yields obtained in this study are lower than this value, but with respect to varying retention times, reference values, loading times compared to this study, the different reactor system and the in general high variation of yields the biogas yield is high enough to assume a functional microbiology for both hydrolysis and methanogenesis. The low biogas yields were probably caused by the utilization of silage of low quality resulting from aerobic conditions during storage and thus beginning composting.

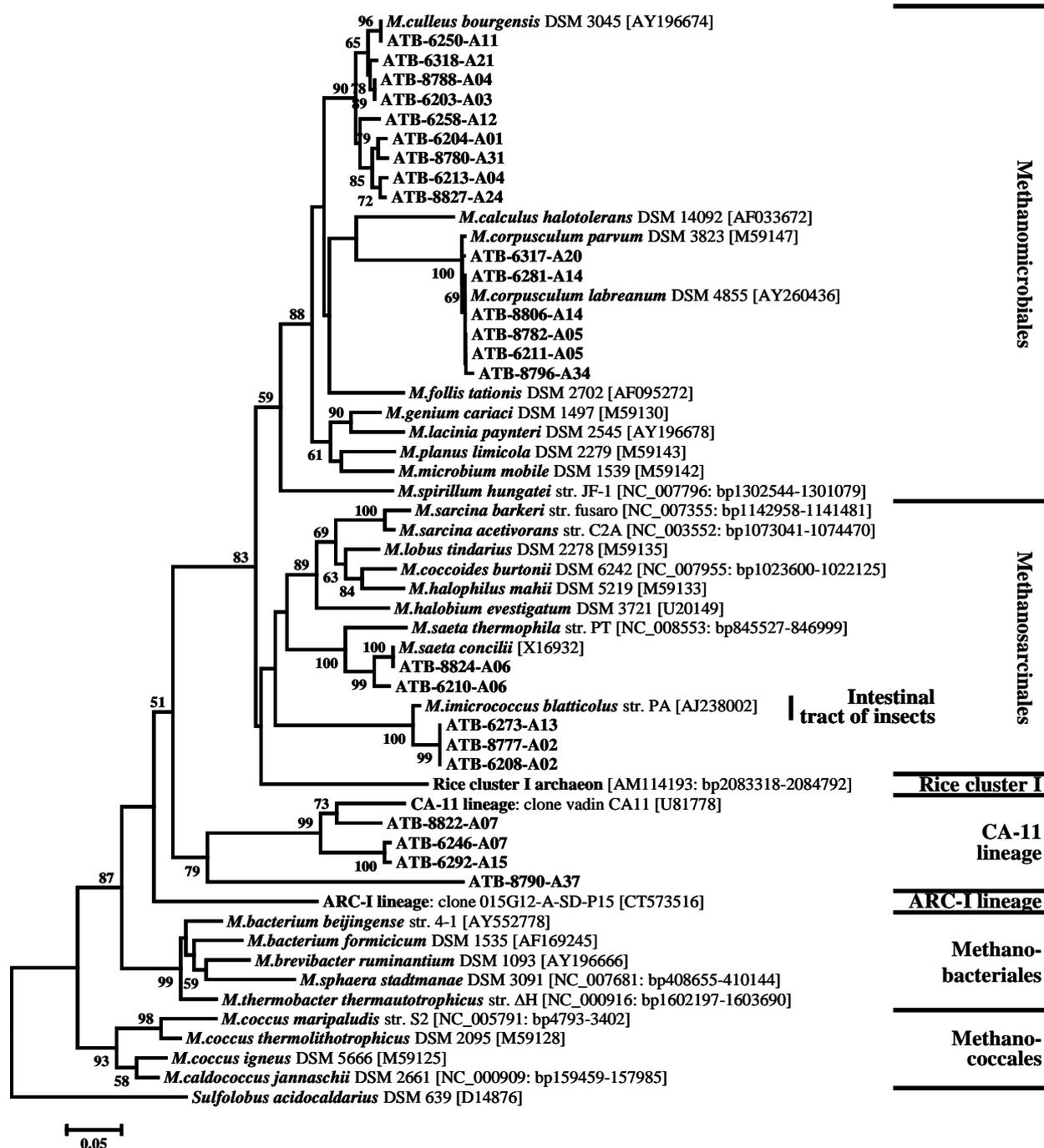
**Methanogenic Archaea community structure.** For determination of methane producing Archaea, the effluent of one AF was sampled at beginning (2d) and ending (14d) of silage bioleaching. Out of these samples two Archaea specific 16S rDNA clone libraries were constructed comprising together 284 clones (**Table 1**). As supported by richness estimators, the sample size of clone libraries is sufficient to detect nearly all archaeal OTUs present in reactor sample. With ARDRA, in total 24 OTUs were detected for po-

tential methane producing Euryarchaeota (**Figure 3, Table 1**). In both libraries most OTUs were found for the order Methanomicrobiales. Methanomicrobiales were also found to be most abundant in the clone libraries with 64% and 69% of all analyzed clones. The nucleotide sequences determined for these OTUs point to the presence of different members of the genera *Methanocorpusculum* and *Methanoculleus* (**Figure 3**). These microorganisms utilize exclusively molecular hydrogen (H<sub>2</sub>) as electron donor for the reduction of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) to methane.

**Table 1:** Methanogenic Euryarchaeota present in the effluent of anaerobic filter AF1 during hydrolysis of rye silage. Displayed are the numbers and percentages of clones and OTUs found in the analysis of two Archaea specific 16S rDNA clone libraries as well as the derived indices for richness, diversity and similarity between both libraries.

	Anaerobic filter							
	2 days after LBR loading				14 days after LBR loading			
	OTUs		Clones		OTUs		Clones	
<b>Total analyzed</b>			<b>138</b>				<b>146</b>	
Removed from analysis			5				11	
<b>Phylogenetic analysis</b>								
<b>Total Archaea</b>	<b>14</b>	<b>100%</b>	<b>133</b>	<b>100%</b>	<b>13</b>	<b>100%</b>	<b>135</b>	<b>100%</b>
<b>Methanosarcinales</b>	<b>3</b>	<b>21%</b>	<b>42</b>	<b>32%</b>	<b>2</b>	<b>15%</b>	<b>36</b>	<b>27%</b>
<i>Methanosaeta</i> sp.	1	7%	10	8%	1	8%	14	10%
<i>Methanimicrococcus</i> sp.	2	14%	32	24%	1	8%	22	16%
<b>Methanomicrobiales</b>	<b>9</b>	<b>64%</b>	<b>85</b>	<b>64%</b>	<b>9</b>	<b>69%</b>	<b>93</b>	<b>69%</b>
<i>Methanocorpusculum</i> sp.	3	21%	49	37%	3	23%	46	34%
<i>Methanoculleus</i> sp.	6	43%	36	27%	6	46%	47	35%
<b>Unclassified Euryarchaeota</b>	<b>2</b>	<b>14%</b>	<b>6</b>	<b>5%</b>	<b>2</b>	<b>15%</b>	<b>6</b>	<b>4%</b>
<b>Diversity indices</b>								
<b>Richness</b>								
Good Coverage			0,955				0,978	
Chao-I richness estimator			23				17	
(95% confidence intervals)			(16, 67)				(14, 72)	
<b>Diversity</b>								
Shannon diversity			1,951				1,819	
Evenness			0,503				0,475	
<b>Similarity</b>								
Jaccard, with Chao correction							0,921	
Soerensen, with Chao correction							0,955	
Bray-Curtis							0,731	

The only methanogenic Archaea able to convert acetic acid (CH<sub>3</sub>COOH) to methane present in the AF is *Methanosaeta* sp. (order Methanosarcinales). Other acetoclastic methanogens like *Methanosarcina* sp. (order Methanosarcinales) were not detected. *Methanosaeta* sp. was detected with two different OTUs present with 8% and 10% of clones in the 16S rDNA library.



**Figure 3:** Phylogenetic tree of the detected OTUs from the phylum Euryarchaeota of the domain Archaea based on neighbor-joining analysis of partial 16S rDNA nucleotide sequences. The genetic distances were computed using the Kimura-2-Parameter method and are represented by the units of the number of base substitutions per site. All positions containing gaps and missing data were eliminated from the dataset. In the final dataset, a total of 201 residues were used. The bar length represents a 5% evolutionary distance. The numbers at the nodes represent their percentage bootstrap values (1000 resampling analysis). Only bootstrap values above 50% are displayed. Numbers in brackets indicate NCBI GenBank or RefSeq accession numbers. The prefix ATB represents 16S rDNA sequences determined in this study. *Sulfolobus acidocaldarius* str. DSM639 was used as outgroup. The taxonomical classification was according to Bergey's Manual (BOONE *et al.* 2001), except for the ARC-I and CA-11 lineage.

Surprisingly, four OTUs were found with nucleotide sequences revealing higher dissimilarities to known archaeal strains (**Figure 3**, OTUs ATB-8822-A07, ATB-6246-A07, ATB-6292-A15, ATB-8790-A37). Hence, their taxonomic affiliation remained unclear as well as the type of their energy metabolism.

The prevalence of nucleotide sequences from hydrogenotrophic methanogens in the clone libraries points to a predomination of hydrogenotrophic methanogens in the AF and thus to a favoured methanogenesis from H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> instead of acetate oxidation.

During 14 d of fermentation, the archaeal community remains comparatively stable as indicated by the similarities indices (**Table 1**). As example, the Soerensen index with Chao correction was calculated with 0.955 indicating very low differences in diversity.

**Bacteria community structure.** The bacterial community responsible for the breakdown of plant biomass in LBRs to volatile fatty acids especially acetic acid and carbon dioxide was also analyzed by 16S rDNA nucleotide sequence analysis. Therefore, from the effluent of LBR after 2 d, 4 d and 14 d of silage bioleaching three 16S rDNA clone libraries were developed comprising 1446 clones (**Table 2**).

**Table 2:** Results of analysis of Bacteria specific 16S rDNA clone libraries analysis. The 16S rDNA libraries were constructed from samples out of the effluent of LBR1 after 2 d, 4 d and 14 d of bioleaching of rye silage.

	Leach bed reactor		
	2 days after loading	4 days after loading	14 days after loading
<b>Analyzed Bacteria clones</b>	<b>492</b>	<b>502</b>	<b>452</b>
Clone number for OTU with >1clone	358 (73%)	391 (79%)	319 (71%)
<b>Detected Bacteria OTUs</b>	<b>187</b>	<b>166</b>	<b>181</b>
Singulets	134 (72%)	111 (67%)	133 (73%)
OTU with >1 clone	53 (28%)	55 (33%)	48 (27%)
<b>Coverage [Good]</b>	<b>0,62</b>	<b>0,79</b>	<b>0,71</b>
<b>Diversity [Shannon]</b>	<b>4,476</b>	<b>4,321</b>	<b>4,417</b>
Eveness	0,470	0,454	0,458

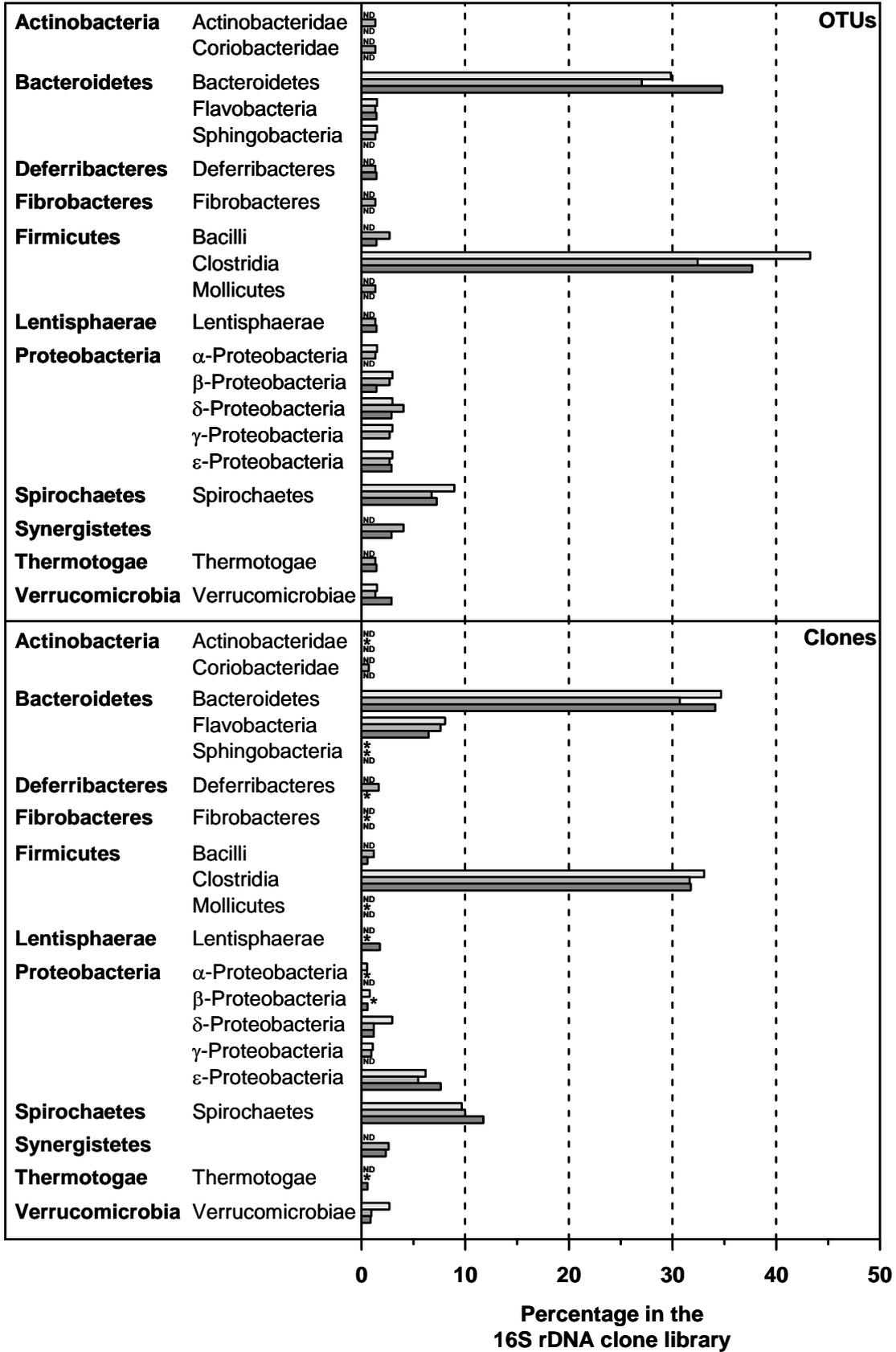
These clones were grouped by ARDRA into 444 bacterial OTUs. Despite of the huge number of clones analyzed by ARDRA, between 67% and 73% of the OTUs were detected by only one single clone. In consequence, the calculation of coverage indicators revealed coverage between 62% and 79% indicating an undersampling. Regarding the redundant detected OTUs, these OTUs were found by the majority of clones in the libraries: 71% - 79% of clones belonged to one of 120 redundant OTUs. Under assumption that 16S rDNA abundances in clone libraries reflect the abundances of corresponding microorganisms in the biogas reactor sample, redundant OTUs should represent the most abundant bacteria in the sample. Hence, further phylogenetic analysis was focus-

sed on redundant OTUs only. The phylogenetic analysis of 16S rDNA nucleotide sequences derived from redundant detected OTUs was conducted by assignment of the 16S rDNA sequences to reference sequences obtained by the databases NCBI GenBank, NCBI RefSeq and RDP (COLE *et al.* 2003, BENSON *et al.* 2006).

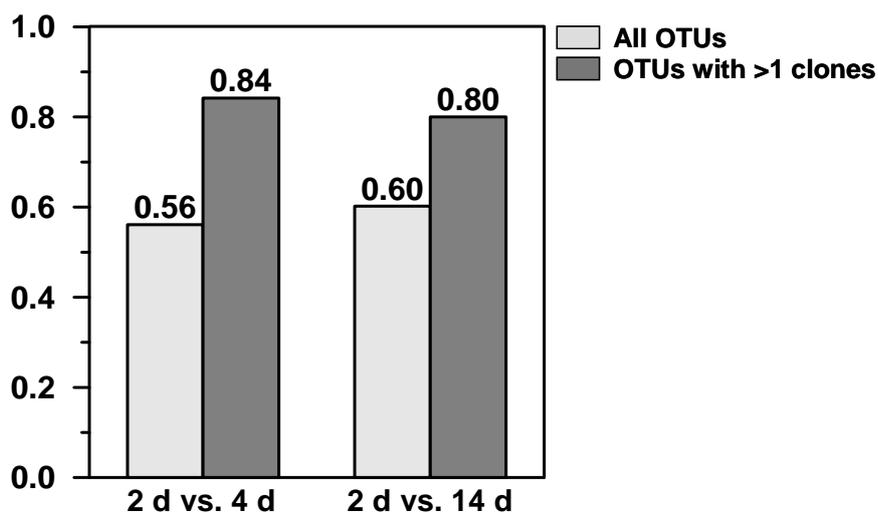
Only 9 of 120 redundant OTUs possessed dissimilarities (uncorrected  $p$ -distance) lower than 3% in the 16S rDNA nucleotide sequence to known and cultivated reference type species. For all other determined 16S rDNA sequences dissimilarities to closest related reference strains up to 25% were found. In recent literature, a dissimilarity of maximal 2% or 3% is discussed as value for intra-species 16S rDNA variance. Several examples are known, where intra-species 16S rDNA variance is much lower. In some cases, e.g. some Lactobacilli, intra-species 16S rDNA dissimilarities are nearly zero. In conclusion, a very high level of recently unknown and yet not sufficiently described species participating in anaerobic hydrolysis of plant biomass is evident. However, a further taxonomic classification of found 16S rDNA sequences is only feasible, if the original microorganisms are isolated in pure cultures.

Regarding the Bacteria community structure, the highest diversity was determined for the Firmicutes, and, within this group, in the class Clostridia (**Figure 4**). Additionally, many OTUs were detected for the phylum and class Bacteroidetes. Both Clostridia and Bacteroidetes were represented by more than 30% of clones in all three 16S rDNA libraries. With relative amounts of 5% to 10% of clones also several members of Flavobacteria (phylum Bacteroidetes), Spirochaetes and  $\epsilon$ -Proteobacteria were found.

On base of high-level taxonomic units, no obvious differences in the Bacteria communities of the three samples were observed (**Figure 4**). On base of OTU diversity, the calculation of pairwise similarity indices revealed a higher variability (**Figure 5**). Values between 0.56 and 0.60 indicate a comparatively low grade of conformity. In contrast, if non-redundant OTUs were excluded from similarity index calculation, values of 0.84 and 0.80, respectively, were obtained. Thus, it can be concluded that the predominant Bacteria species remain constantly throughout the ongoing bioleaching process.



**Figure 4:** Bacteria present in LBR1 during anaerobic bioleaching of rye silage. The percentage of OTUs and corresponding clone numbers is shown. The analysis based on redundant detected OTUs. The bars represent samples after 2 d, 4 d and 14 d bioleaching (shaded from light to dark grey). \*= relative abundance <1%; ND= not detected.



**Figure 5:** Comparison of diversities within the hydrolytic Bacteria communities in LBR during ongoing bioleaching of rye silage. The pairwise Jaccard similarity index with Chao correction is shown. Calculations were conducted on base of all OTUs (bars shaded in light grey) or on base of redundant detected OTUs (bars shaded in darker grey).

#### 4 Conclusions

The observed variations in the microbial community structures may reflect a dynamic biocoenosis during on-going biogas fermentation. Despite the variability of hydrolyzing Bacteria community, some groups of Bacteria like certain species of the classes Clostridia and Bacteroidetes remain comparatively stable throughout the total fermentation.

In contrast to the Bacteria community, the methanogenic Archaea community was found to be comparatively stable. This is most likely the result of the usage of anaerobic filters providing stable enrichment conditions for methanogenic Archaea. Further the results points to predominance of certain hydrogenotrophic methanogens indicating that CO<sub>2</sub> reduction might be the prevalent pathway for methane production in this system.

The molecular analysis revealed the presence of numerous recently unknown Bacteria species in the *bioleaching*-reactor. Thus, further microbiological studies are indispensable to unravel the metabolic characteristics of these strains and to determine the capacity of the total microbial system for biomass conversion.

Additionally, the influence of varying microbial community structures on process stability and biogas yield requires further efforts to be analyzed in detail. In this context, important tasks for further research are the impact of varying ratios within the methanogenic Archaea e.g. between hydrogenotrophic and acetoclastic methanogens but also of varying ratios between Archaea and syntrophic Bacteria.

## 5 Acknowledgement

This work was supported by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) / Project Management Jülich (PTJ) (grant 03SF0317M).

## 6 References

- AHRING B.K. (2003):** Perspectives for anaerobic digestion. *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology* 81, 1-30
- AMANN R.I., LUDWIG W., SCHLEIFER K.H. (1995):** Phylogenetic identification and in-situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews* 59, 143-169
- BAKER G.C., SMITH J.J., COWAN D.A. (2003):** Review and re-analysis of domain specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods* 55, 541-555
- BENSON D.A., KARSCH-MIZRACHI I., LIPMAN D.J., OSTELL J., WHEELER D.L. (2006):** GenBank. *Nucleic Acids Research* 34, D16-20
- BOONE D.R., CASTENHOLZ R.W., GARRITY G.M. (2001):** *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Second Edition, Volume 1. Springer, Berlin, 721 pp
- CHAO A. (1987):** Estimating the population size for capture-recapture data with unequal catchability. *Biometrics* 43, 783-791
- COLE J.R., CHAI B., MARSH T.L., FARRIS R.J., WANG Q., KULAM S.A., CHANDRA S., MCGARRELL D.M., SCHMIDT T.M., GARRITY G.M., TIEDJE J.M. (2003):** The Ribosomal Database Project (RDP-II): previewing a new autoaligner that allows regular updates and the new prokaryotic taxonomy. *Nucleic Acids Research* 31, 442-443
- COLWELL R.K. (2006):** EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples, Version 8, Persistent URL<[purl.oclc.org/estimates](http://purl.oclc.org/estimates)>. Posting date October 2006
- DASSARMA S., FLEISCHMANN E.F. (1995):** Halophiles. In: DasSarma S., Fleischmann E.M. (eds), *Archaea: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, p. 269-272
- DELONG E.F. (1992):** Archaea in coastal marine environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 89, 5685-5689
- FANG H.H.P., ZHANG T., LIU H. (2002):** Microbial diversity of a mesophilic hydrogen-producing sludge. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58, 112-118
- FELSENSTEIN J. (1985):** Confidence limits of phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783-791
- FERNANDEZ A., HUANG S.Y., SESTON S., XING J., HICKEY R., CRIDDLE C., TIEDJE J. (1999):** How stable is stable? Function versus community composition. *Applied and Environmental Microbiology* 65 3697-3704
- GIOVANNONI S.J., BRITSCHGI T.B., MOYER C.L., FIELD K.G. (1990):** Genetic diversity in Sargasso Sea bacterioplankton. *Nature* 345, 60-63
- GOOD I.J. (1953):** The population frequencies of species and the estimation of population parameters. *Biometrika* 40, 237-264
- HAMMER O., HARPER D.A.T., RYAN P.D. (2001):** PAST: palaeontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4, 9-11

- HOLLAND S. (2003):** Analytic Rarefaction 1.3, On-line publication, <ftp://3rdrock.gly.uga.edu/pub/stratum/aRarefactWin.exe>, Posting date October 2003
- KLOCKE M., MÄHNERT P., MUNDT K., SOUIDI K., LINKE B. (2007):** Microbial community analysis of a biogas-producing completely stirred tank reactor fed continuously with fodder beet silage as mono-substrate. *Systematic and Applied Microbiology* 30, 139-151
- KLOCKE M., NETTMANN E., BERGMANN I., MUNDT K., SOUIDI K., MUMME J., LINKE B. (2008):** Characterization of the methanogenic Archaea within two-phase biogas reactor systems operated with plant biomass. *Systematic and Applied Microbiology* 31, 190-205
- KURATORIUM FÜR TECHNIK IN DER LANDWIRTSCHAFT (2005):** Gasausbeute in landwirtschaftlichen Biogasanlagen. KTBL-Schrift Nr. 50. Landwirtschaftsverlag, Münster, 24 pp
- LANE D.J. (1991):** 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E., Goodfellow M. (eds.), *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. John Wiley & Sons, New York, p. 115-148
- LUDWIG W., et al. (2004):** ARB: a software environment for sequence data. *Nucleic Acids Research* 32, 1363-1371
- SCHÖNBERG M., LINKE B. (2009):** Vergärung von Roggen-Ganzpflanzensilage in einer zweiphasigen Prozessführung. *Bornimer Agrartechnische Berichte*, in press
- STAMS A.J.M., OUDE ELFERINK S.J.W.H., WESTERMANN P. (2003):** Metabolic interactions between methanogenic consortia and anaerobic respiring bacteria. *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology* 81, 31-56
- TAMURA K., DUDLEY J., NEI M., KUMAR S. (2007):** MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24, 1596-1599

# Vergärung von Grassilage in einer zweiphasigen Prozessführung

## *Digestion of grass silage in a two phase biogas process*

Simon Zielonka, Andreas Lemmer, Hans Oechsner, Thomas Jungbluth

Universität Hohenheim, Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie, Garbenstraße 9, 70599 Stuttgart

E-mail: zielonka@uni-hohenheim.de

**Kurzfassung:** In landwirtschaftlichen Biogasanlagen werden überwiegend nachwachsende Rohstoffe als Kosubstrate eingesetzt. Bei der Verwendung von Grassilage kam es dabei oft zu technischen Problemen. Dieser Rohstoff steht in Baden-Württemberg aber durch den Rückgang der Grünlandnutzung zur Futterproduktion in großen Mengen zur Verfügung. Im Rahmen dieses Forschungsprojektes wird ein Verfahren entwickelt, das die alleinige Vergärung von Grassilage ermöglichen soll. Dazu wird eine diskontinuierlich betriebene, zweiphasige Versuchsbiogasanlage verwendet, mit der bezüglich Abbaugrad und Methanertrag gute Ergebnisse erzielt werden konnten.

**Schlüsselwörter:** Batch-Fermenter, Biogas, Festbettreaktor, Grassilage, Hydrolyse, Methan, Perkolat, zweiphasig.

**Abstract:** *Currently renewable raw materials are being used in full scale biogas plants as co-substrates. Nevertheless the use of grass silage has, up to know caused, technical problems. Because of the decrees in the use of grassland for fodder production this raw material is available in big amounts in Baden-Württemberg. Within the framework of this project, a process allowing the digestion of grass silage as single substrate is being developed. An intermittently operating two-stage process is used. As far as the degree of degradation and methane yields are concerned, good and promising results have been achieved.*

**Keywords:** *Batch-Digester, biogas, fixed bed digester, grass silage, hydrolysis, methane, percolate, two-stage*

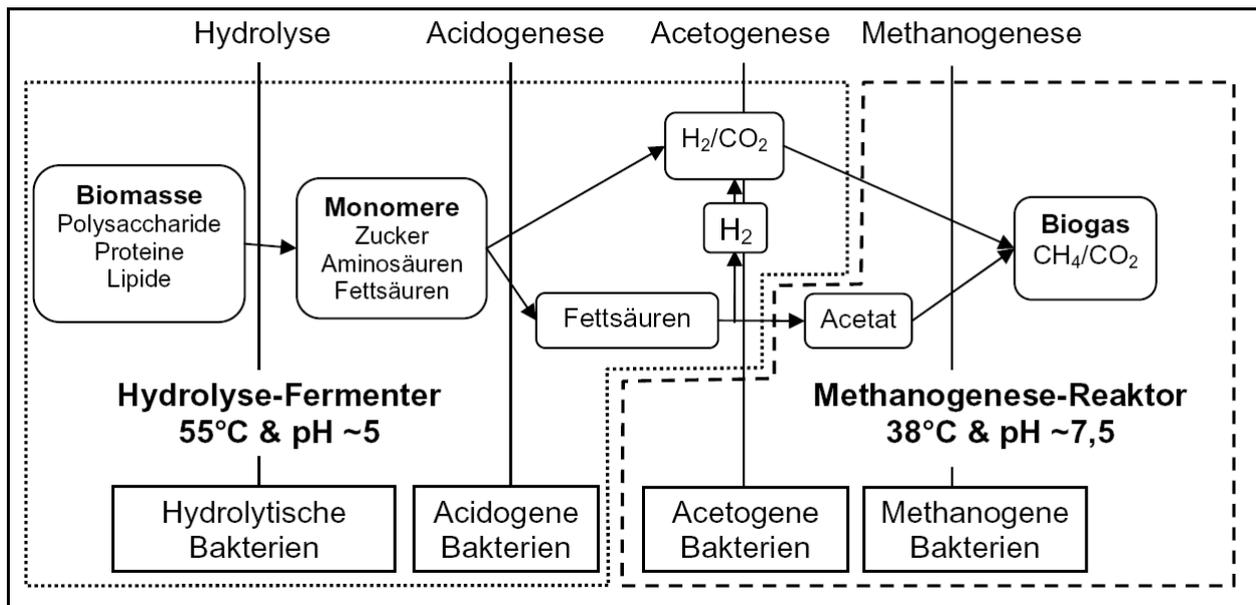
## 1 Einleitung und Problemstellung

Die Effizienzsteigerung in der Milchviehhaltung in Kombination mit den Milchquoten und den kleinräumigen landwirtschaftlichen Strukturen führt zu einem Rückgang in der Nutzung von Grünlandflächen, so dass in Baden-Württemberg bis zum Jahr 2015 ca. 26%

der Grünlandflächen nicht mehr nachhaltig zur Futterproduktion genutzt werden (RÖSCH 2007). Der Aufwuchs dieser Grünlandflächen steht potenziell (priziipiell) für die Biogasproduktion zur Verfügung. Der Einsatz als Kosubstrat in Biogasanlagen ist aber nicht möglich, da durch die fehlende Bewirtschaftung mit Vieh kein Flüssigmist als Basissubstrat zur Verfügung steht. Ein Verfahren zur alleinigen Vergärung von Grassilage ist daher von großem Interesse.

Derzeit werden in Deutschland hauptsächlich Biogasanlagen mit Flüssigmist als Basis-substrat betrieben. Seit der Einführung des EEG im Jahr 2004 dominieren neben den organischen Reststoffen nachwachsende Rohstoffe als Kosubstrate. Diese Kosubstrate, vor allem Mais, wurden bisher auf Ackerflächen angebaut. Der hohe Fasergehalt der Grünlandaufwüchse limitierte bisher deren Nutzung in einphasigen Biogasanlagen. Denn die Fasern dieser Aufwüchse bilden Schwimmdecken, die den Gasaustritt und das Rühren erschweren. Eine Verfahrenstechnik bei der auf die Durchmischung des Substrats verzichtet werden kann wäre also von Vorteil.

Organische Substrate werden in vier Schritten zu Methan umgesetzt (WELLINGER *et al.* 1991). An diesen Abbauprozessen sind eine Vielzahl verschiedener Mikroorganismen, mit ganz unterschiedlichen Ansprüchen an ihre Lebensbedingungen, beteiligt. Da in einer einstufigen Biogasanlage alle vier Schritte gleichzeitig in einem Biogasfermenter ablaufen sind die Lebensbedingungen nicht für alle beteiligten Mikroorganismen optimal. Durch eine zweiphasige Verfahrensführung soll den Lebensbedingungen der Mikroorganismen besser entsprochen werden. Der Prozess wird dabei in eine Hydrolysephase und eine Methanogenese phase unterteilt (**Bild 1**), wobei unter dem Begriff der Hydrolysephase neben der eigentlichen Hydrolyse auch die primäre und teilweise auch die sekundäre Gärung subsumiert werden. Substrate mit hohem Fasergehalt, wie zum Beispiel Grassilage, werden im Vergleich zu strukturarmen Substraten sehr langsam im Biogasprozess abgebaut. Die Trennung des Biogasprozesses in zwei Phasen soll durch die Optimierung der einzelnen Phasen die Umsetzrate der in der organischen Masse gespeicherten Energie zu Methan beschleunigen. Dazu erfolgt die Hydrolyse bei einem pH-Wert von 5. Aus Gründen der Prozessstabilität und der Aktivitätsoptima der methanogenen Bakterien (WELLINGER *et al.* 1991) wurde die Methanogenese auf 38°C und einen pH-Wert von 7,5 eingestellt.



**Bild 1:** Die vier Stufen des anaeroben Abbaus und ihre Trennung in zwei Phasen (Nach BRYANT 1979 und WEILAND 2003)

## 2 Zielsetzung der Untersuchung

Im Rahmen des Forschungsprojektes hat sich die Universität Hohenheim das Ziel gesetzt, ein Verfahren zur Vergärung von Grassilage zu entwickeln, das folgende Merkmale aufweist:

- Monofermentation von Grassilage
- Feststofffermentation zur Reduktion der verfahrenstechnischen Probleme
- stabiler Fermentationsprozess
- Batch-Betrieb
- zweiphasiger Verfahrensansatz

## 3 Material und Methode

Die Untersuchungen finden im Feststoff Biogaslabor der Universität Hohenheim statt. Hier wurde zur Beantwortung der auftretenden Fragestellungen eine Versuchsbioanlage zur zweiphasigen Vergärung von Biomasse aufgebaut (**Bild 2**). Die Anlage besteht aus fünf Fermenterpaaren mit einem Volumen von ca. 50 Litern je Fermenter. Dabei ist jeweils ein diskontinuierlich beschickter Hydrolysefermenter mit einem quasi-kontinuierlich beschickten Methanreaktor kombiniert. An der Anlage werden die in **Tabelle 1** genannten Parameter erfasst.

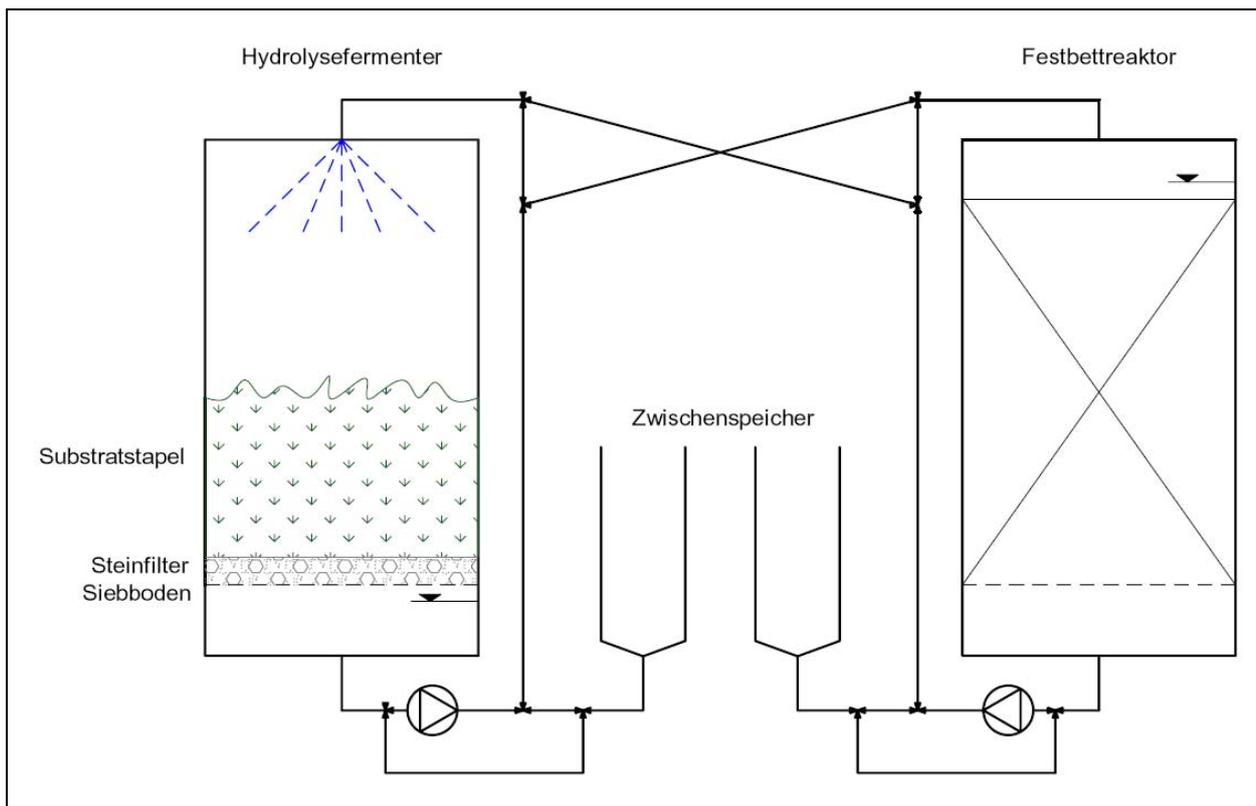


**Bild 2:** Versuchsbiogasanlage zur zweiphasigen Vergärung von Grassilage an der Universität Hohenheim

**Tabelle 1:** An der zweiphasigen Versuchs Biogasanlage erfasste Parameter

	Hydrolysephase	Methanogenese phase
Feststoff, frisch	Gasbildungspotential	
	Stoffgruppenanalyse	
	Gärproduktanalyse (zur Gär säurekorrektur)	
	TS & oTS - Gehalt	
	Brennwert	
Reststoff	Gasbildungspotential	
	Stoffgruppenanalyse	
	TS & oTS - Gehalt	
	Brennwert	
Flüssigkeit	pH	
	Temperatur	Temperatur
	Leitfähigkeit	Leitfähigkeit
	Salinität	Salinität
	Gehalt der org. Säuren (FFS)	Gehalt der org. Säuren (FFS)
	CSB	CSB
	NH <sub>4</sub> -N - Gehalt	NH <sub>4</sub> -N - Gehalt
	TS & oTS - Gehalt	TS & oTS - Gehalt
Gas	Volumen	Volumen
	Qualität	Qualität

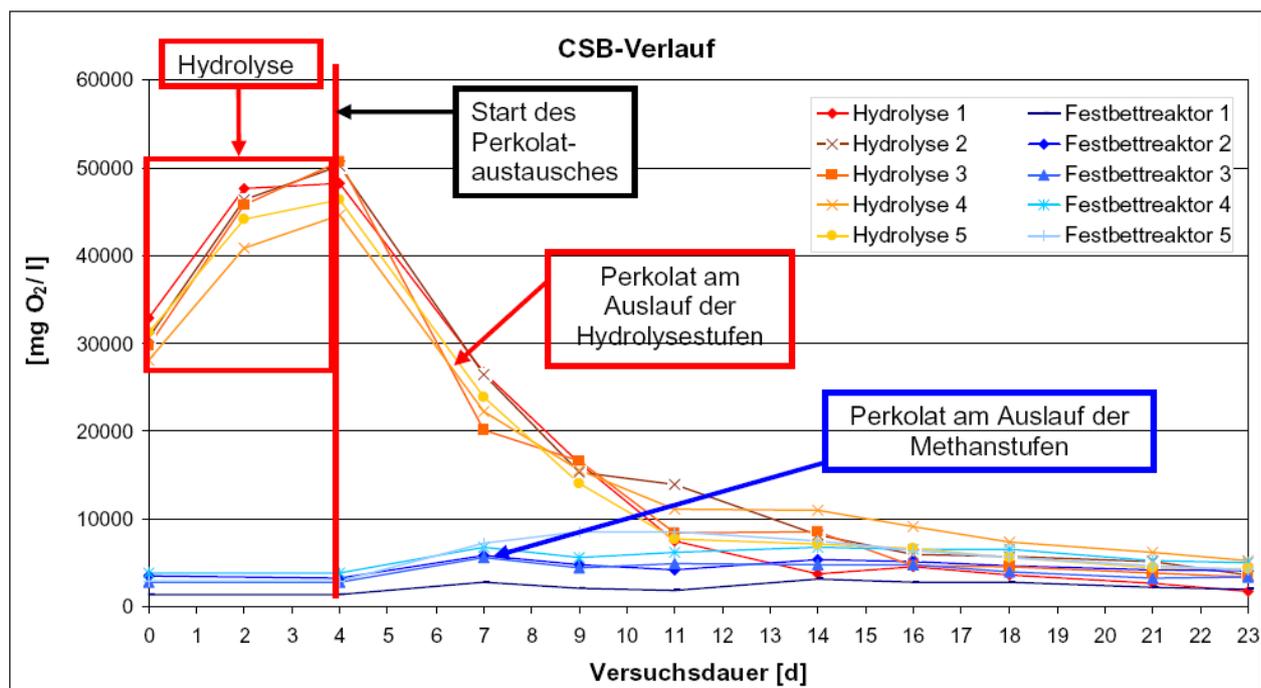
Die Hydrolysefermenter werden zu Versuchsstart mit etwa 1 kg organischer Trockensubstanz (oTS) einer Grassilage von einer vierschürigen Wiese (ca. 30% TS-Gehalt, erster Schnitt) und 10 kg Wasser gefüllt. Die Grassilage wird in den Hydrolysefermenter als Stapel eingefüllt. Die Häcksellänge beträgt etwa 10 cm. Mit der Berieselung des Substratstapels wird durch die einsetzende Gärung dieser Substratstapel in organische Säuren, lösliche Zuckerverbindungen und Alkohole überführt, die mit dem Perkolat aus dem Stapel ausgewaschen werden. Ein Kiesfilter auf einem Siebboden verhindert das Ausschwemmen von unabgebauten Strukturstoffen der Silage und gewährleistet somit einen störungsfreien Betrieb der Pumpen. Das mit organischen Säuren beladene Perkolat wird über einen Zwischenspeicher in den Festbettreaktor (Methanogenese-phase) überführt, wo die organischen Fraktionen des Perkolats zu Gas umgesetzt werden. Der Zwischenspeicher dient dabei zur Erfassung der Quantität und Qualität des überführten Perkolates. Die Festbettreaktoren sind mit Aufwuchskörpern für die Mikroorganismen des Typs Bioflow 40 der Firma Rauschert und 45 l Perkolat gefüllt. Eine schematische Darstellung der Anlage findet sich in **Bild 3**.



**Bild 3:** Schemazeichnung der Versuchsbio gasanlage für zweiphasige Prozessführung an der Universität Hohenheim

#### 4 Vorläufige Ergebnisse

Nach der Befüllung mit Wiesengrassilage folgt eine mehrtägige Phase, in der die Hydrolyse nur intern perkoliert wird. Es wird kein Perkolat zwischen den Phasen ausgetauscht. In dieser Zeit findet eine Aufkonzentration von organischem Material in dem Perkolat statt. Nach dem Austauschen des Perkolats zwischen den Phasen erfolgt ein rascher Abbau der organischen Substanz (**Bild 4**).



**Bild 4:** Verlauf des chemischen Sauerstoffbedarfs der Hydrolysefermenter und Methanogenese-Reaktoren

Im Rahmen des Forschungsprojektes wurden bisher die in **Tabelle 2** dargestellten Versuche durchgeführt. Von diesen werden im Folgenden die Versuche vier, sechs und neun näher erläutert.

**Tabelle 2:** Durchgeführte Versuche an der zweiphasigen Versuchsbiogasanlage der Universität Hohenheim

Nr.	Versuch	Beschreibung
1	Testlauf	"Normaler Betrieb" der Anlage zur Überprüfung der Betriebsfähigkeit und zur Feststellung von Vergleichswerten für spätere Versuche
2	Variation der ausgetauschten Perkolatmenge zwischen den Prozessstufen	Die Perkolatmenge, die täglich einmal zwischen den beiden Prozessstufen ausgetauscht wird, wurde variiert.
3	Variation der Dauer der Hydrolysephase	Die Hydrolysephase ist eine Startphase in dem Prozess, in der kein Perkolat zwischen den Prozessstufen ausgetauscht wird. Die Fermenter werden nur intern perkoliert. Diese Phase dient der ungestörten Hydrolyse.
4	Hydrolysetemperatur	Es wurde die Temperatur in der Hydrolysestufe variiert.
5	Variation der Perkolataustauschfrequenz	Es wurden die Zeiträume zwischen dem Perkolataustausch variiert
6	Fermenterbelastung	Es wurde die Belastung der Hydrolysestufen mit oTS variiert.
7	Perkolation/Einstau	Es wurden die Varianten der Prozessführung Perkolation und Einstau mit einander verglichen.
9	Vergleich verschiedener Substrate	Es wurden die Substrate Grassilage, Maisilage und Roggenganzpflanzensilage bezüglich ihres Gärverhaltens und Gasertrages untersucht.
10	Untersuchungen zur Auswirkung des Steinfilters auf den Gärprozess	Hiermit, soll ausgeschlossen werden, dass der eingesetzte Steinfilter in der Hydrolyse einen Einfluss auf den Gärprozess hat.

## 5 Einfluss der Hydrolysetemperatur

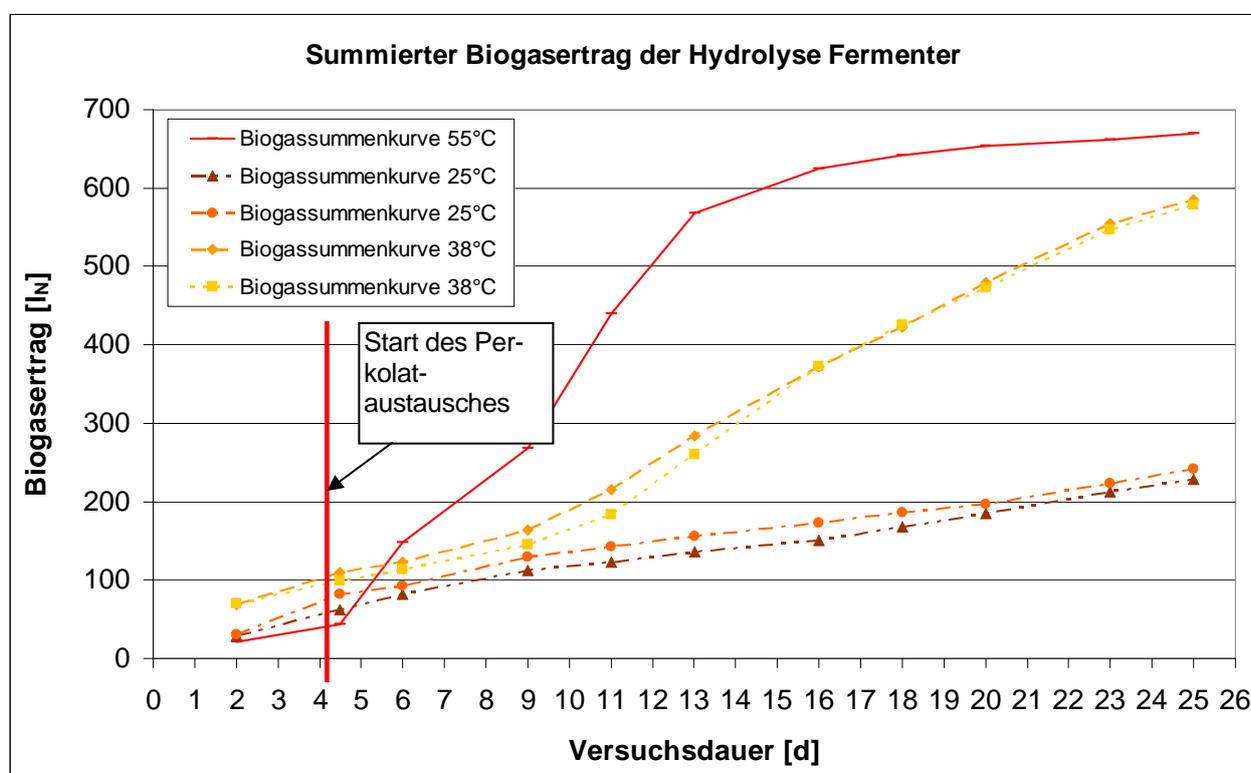
Im Rahmen des Forschungsprojektes wurden Untersuchungen zum Einfluss der Temperatur auf die Hydrolyseleistung durchgeführt. Die Hydrolysephase am Anfang des Versuchs, in der die Stufen nur intern perkoliert werden, dauerte vier Tage. Danach wurden täglich 4 kg Perkolat zwischen den Stufen ausgetauscht. Der Versuch wurde nach 26 Tagen beendet, als keine merkliche Gasbildung mehr zu verzeichnen war. Die Temperatur in der Hydrolyse wurde in den drei Varianten thermophil, mesophil und psychrophil variiert (**Tabelle 3**).

**Tabelle 3:** Varianten der Hydrolysetemperaturführung

Variation	1	2	3
	Thermophil	Mesophil	Psychrophil
Temperatur	55°C	38°C	25°C

Die schnellste und stärkste Gasbildung zeigt sich in der thermophilen Variante (**Bild 5**). Es wurde, sowohl in der Hydrolysestufe wie auch im gesamten System, in dieser Variante die größte Menge an Methan gebildet und auch die höchsten Abbaugrade der organischen Substanz erreicht. Mit der Temperatur sinken die Abbaugeschwindigkeit und dadurch auch die Abbaugrade. Diese liegen bei der psychrophilen Variante bei ca. 35 bis 40% der zugeführten oTS.

Die Variation der Hydrolysetemperatur hat auch Auswirkungen auf die Gasqualität. Mit dem Austausch des Perkolats steigt bei der gegebenen Prozesswasserführung der pH Wert in der Hydrolysestufe. Mit dem Überschreiten eines pH-Wertes von ca. 6,5 setzt auch im Hydrolysefermenter die Methanproduktion ein. Dieser Effekt ließ sich durch den mesophilen Betrieb verzögern. Beim psychrophilen Betrieb blieb dieser Effekt in der Versuchszeit nahezu aus (**Tabelle 4**).



**Bild 5:** Biogassummenkurven der Hydrolysefermenter bei unterschiedlicher Hydrolysetemperatur

**Tabelle 4:** Spezifische Biogas- und Methanerträge, sowie Abbaugrade der Varianten

Variante		Thermophil	Mesophil <sup>1)</sup>	Psychrophil <sup>1)</sup>
Spez. Biogasertrag <sup>2)</sup>	l <sub>N</sub> / kg oTS	792	705	492
Spez. Methanertrag <sup>2)</sup>	l <sub>N</sub> / kg oTS	406	350	255
Abbaugrad	% der oTS	76	66	38
Mittel des CO <sub>2</sub> -Gehaltes des Hydrolysegases	Vol. %	57	58	72
Mittel des CH <sub>4</sub> -Gehaltes des Hydrolysegases	Vol. %	36	34	10
Anteil des Hydrolysefermenters am Gesamtmethanertrag	%	42	39	7
Anteil des Methanreaktors am Gesamtmethanertrag	%	58	61	93

<sup>1)</sup>: Werte sind das Mittel der Wiederholungen; <sup>2)</sup>: Die Biogas- und Methanerträge sind nicht gärsäurekorrigiert

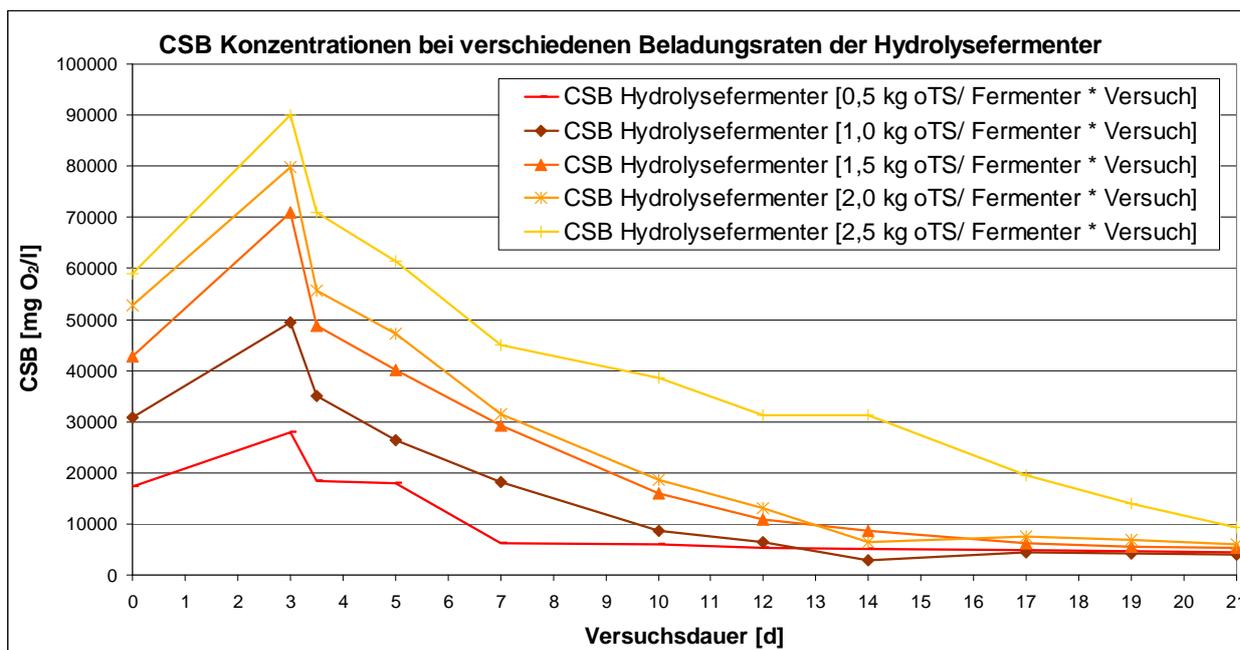
## 6 Einfluss der Fermenterbeladung

In weiteren Versuchen wurden die Hydrolysefermenter mit unterschiedlichen Mengen an organischem Material beladen (**Tabelle 5**). Die für den Start benutzte Flüssigkeitsmenge von 10 kg Wasser blieb bei allen Varianten gleich.

**Tabelle 5:** Varianten der unterschiedlichen Fermenterbeladungen

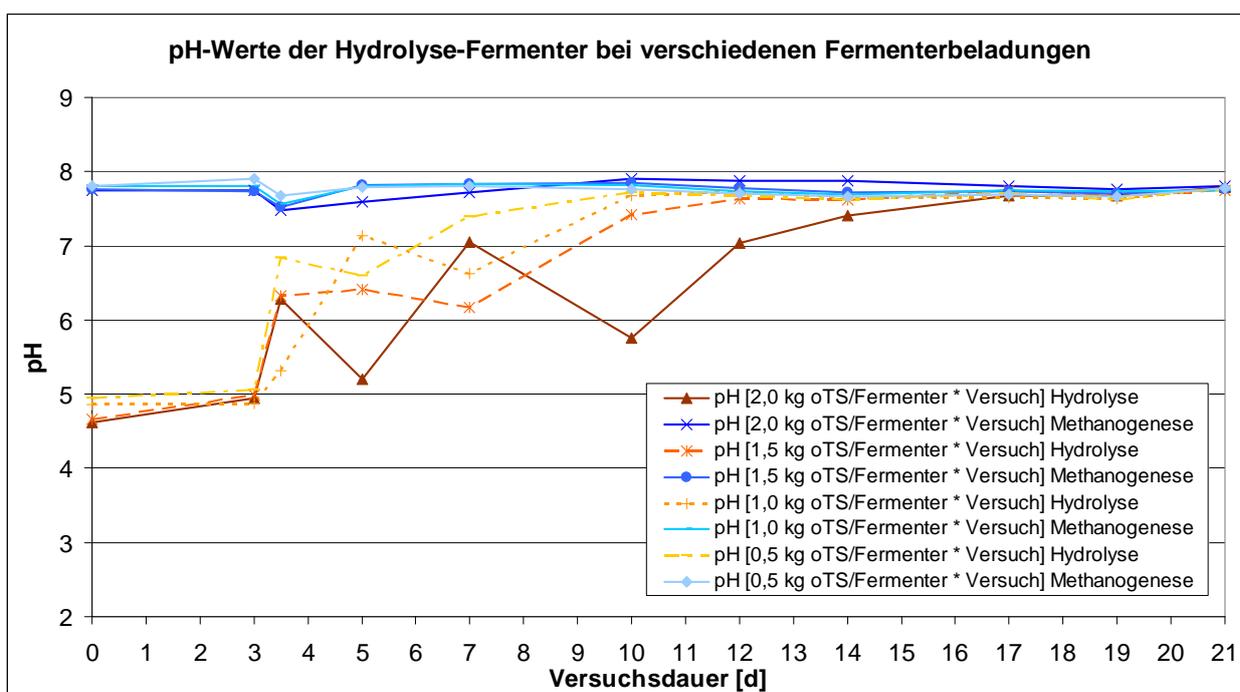
Variante	1	2	3	4	5
Fermenterbelastung [Kilogramm oTS/ Fermenter und Versuch]	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5

Durch diese Veränderung des Verhältnisses zwischen organischem Material und Wasser konnten die konzentrationsabhängigen Parameter, wie die flüchtigen Fettsäuren oder der chemische Sauerstoffbedarf, erhöht werden (**Bild 6**). Eine Destabilisierung des Prozesses dadurch konnte in keiner der beiden Prozessphasen beobachtet werden.



**Bild 6:** Die Konzentrationen des chemischen Sauerstoffbedarfs bei verschiedenen Beladungs-raten der Hydrolysefermenter

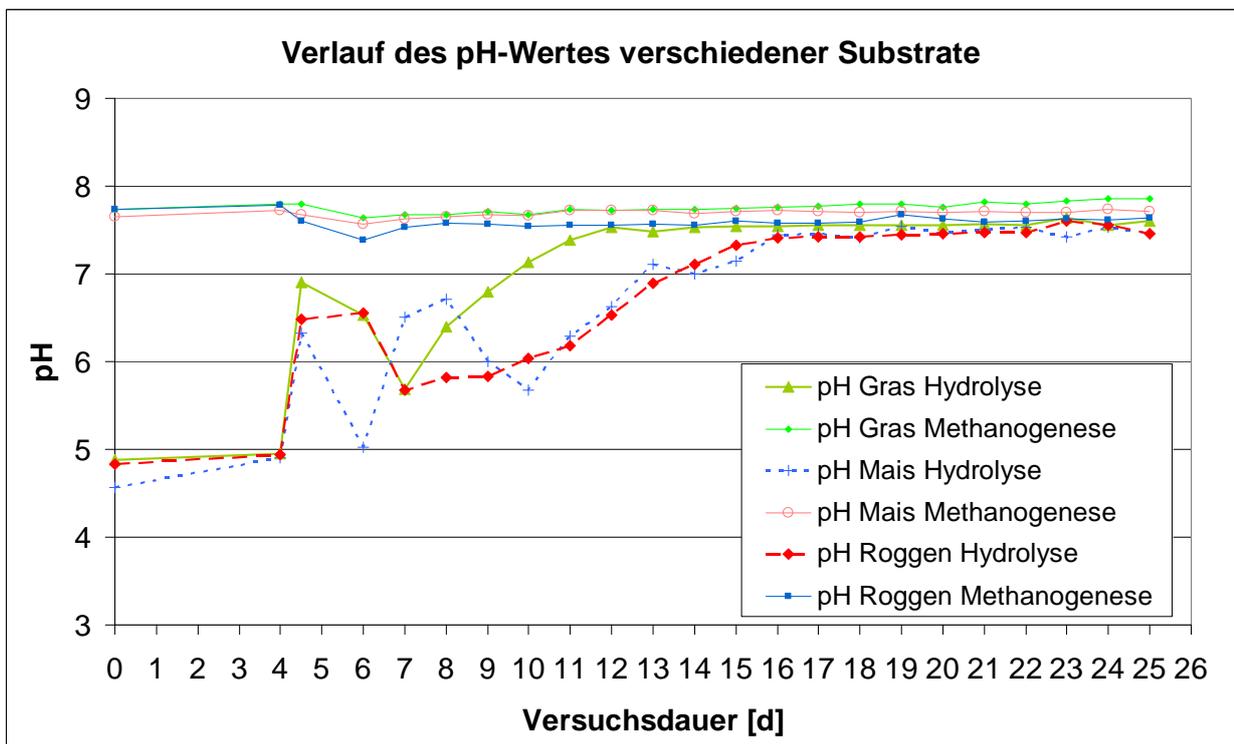
Es kam allerdings zu einem verzögerten Anstieg des pH-Wertes durch die verstärkte Säurennachlieferung aus dem Substrat (**Bild 7**). Dieser verzögerte pH-Anstieg führte zu einer Verlagerung der Methanproduktion in dem Methanreaktor, das heißt zu einer besseren Trennung der Phasen.



**Bild 7:** Der Verlauf des pH-Wertes der Hydrolyse Fermenter bei verschiedenen Fermenterbeladungen

## 7 Vergleich verschiedener Substrate

Um die Leistungen der Versuchsanlagen der beteiligten Institute besser beurteilen und vergleichen zu können wurden in diesem Versuchsansatz die in dem Forschungsnetzwerk verwendeten Substrate Maissilage, Roggenganzpflanzensilage und Grassilage miteinander verglichen. Die drei Substrate zeigten individuelles Verhalten im Gärverlauf. So war bei der Grassilage ein deutlich schnellerer Anstieg des pH-Wertes in den Hydrolyse Fermentern zu verzeichnen (**Bild 8**).



**Bild 8:** Der Verlauf des pH-Wertes der Substrate Grassilage, Maissilage und Roggenganzpflanzensilage in den Hydrolysefermentern

Der langsamere Anstieg des pH-Wertes in den Hydrolysefermentern bei den Substraten Maissilage und Roggenganzpflanzensilage verhindert die Methanbildung, wodurch ein prozentual höherer Anteil des Methans in den Methanreaktoren gebildet wird. Die spezifischen Gas- bzw. Methanerträge verhalten sich den Erwartungen entsprechend. Die Maissilage erbringt die höchsten Erträge mit 779 bzw. 362 l<sub>N</sub>/ kg oTS gefolgt von der Roggenganzpflanzensilage und der Grassilage (**Tabelle 6**).

**Tabelle 6:** Die spezifischen Gas- und Methanerträge verschiedener Substrate und deren Verteilung auf die Hydrolyse- und Methanogenese-phase

		Grassilage	Maissilage) <sup>1</sup>	Roggenganzpflanzensilage) <sup>1</sup>
Spezifischer Gasertrag) <sup>2</sup>	[l <sub>N</sub> / kg oTS]	645	779	665
Spezifischer Methanertrag) <sup>2</sup>	[l <sub>N</sub> / kg oTS]	334	363	347
Mittel des Methangehaltes des Hydrolysefermenters	Vol %	39	27	33
Mittel des Methangehaltes des Methanreaktors	Vol%	76	72	76
Anteil des Hydrolysefermenters am Gesamtmethanertrag	%	46	25	39
Anteil des Methanreaktors am Gesamtmethanertrag	%	54	75	61

)<sup>1</sup>: Werte sind das Mittel der Wiederholungen; )<sup>2</sup>: Die Biogas- und Methanerträge sind nicht gärsäurekorrigiert

## 8 Fazit

Im Rahmen des Forschungsprojektes wurde eine zweiphasige Anlage zur anaeroben Konversion nachwachsender Rohstoffe hinsichtlich ihrer Abbauleistung, Prozessstabilität und prozessbeeinflussenden Parameter untersucht. Prinzipiell erwies sich die zweiphasige Prozessführung, in der je ein diskontinuierlich beschickter Hydrolysefermenter mit einem quasi-kontinuierlich betriebenen Festbett-Methanreaktor kombiniert wurde, zur Vergärung der Testsubstrate (Grassilage, Maissilage, Roggen-Ganzpflanzensilage) als gut geeignet.

Im Rahmen der Untersuchungen wurden im Mittel aller Versuche etwa 60 % der Biogasmengen in der Hydrolysephase und 40 % in den Festbettreaktoren gebildet. Der durchschnittliche Methangehalt des in den Festbettreaktoren gebildeten Biogases lag bei 69 %. Die Methanproduktion der Festbettreaktoren machte 57 % der Gesamtmethanproduktion aus.

In den bisherigen Versuchen zeichneten sich gute Abbaugrade von durchschnittlich 79% der oTS ab. Auch die gebildete Methanmenge entspricht mit durchschnittlich 363 l<sub>N</sub>/ kg oTS dem Abbaugrad und ist dem Methanertrag vergleichbar, der mit diesen Substraten in einphasigen Nassvergärungsanlagen bei geringen Raumbelastungen realisiert werden kann. Die Grassilage erwies sich durch den substrateigenen pH-Wert von 5 als gut geeignet für die Hydrolyse.

In der thermophilen Hydrolyse wird trotz der hohen Methanbildung in der Hydrolysestufe der höchste Abbaugrad der oTS und die höchsten Gas- und Methanerträge im Gesamtsystem erreicht. Die Variation der Raumbelastung zeigt die Belastbarkeit und biologi-

sche Stabilität der zweiphasigen Vergärung. Der Vergleich verschiedener Substrate zeigt die Individualität dieser im Gärverhalten und deren Auswirkungen in einem zweiphasigen Biogasprozess.

## 9 Literatur

- RÖSCH C. (2007):** Abschätzung der verfügbaren Grünlandflächen in Baden-Württemberg und ihr Beitrag zur Energieversorgung. Vorstellung des Abschlussberichts und der Ergebnisse des Forschungsprojekts des MLR „Energie aus dem Grünland – eine nachhaltige Entwicklung?“, Stuttgart-Hohenheim
- WEILAND P. (2003):** Biologie der Biogaserzeugung. ZNR Biogastagung, Bad Sassendorf-Ostinghausen
- WELLINGER A., BASERGA U., EDELMANN W., EGGER K., SEILER B. (1991):** Biogas-Handbuch – Grundlagen-Planung-Betrieb landwirtschaftlicher Anlagen. Verlag Wirz Aarau, 2. Auflage

## Vergärung von Maissilage in einer zweiphasigen Prozessführung – Forschungsergebnisse und Erfahrungen bei der praktischen Umsetzung in technischen Anlagen

### *Double stage fermentation of maize silage – Research results and experiences in implementing of technical biogas plants*

Günter Busch, Jeannette Buschmann

Lehrstuhl Abfallwirtschaft, Brandenburgische Technische Universität Cottbus

Siemens-Halske-Ring 8, 03046 Cottbus

E-mail: busch@tu-cottbus.de, buschman@tu-cottbus.de

**Kurzfassung:** Im Rahmen des Biogas Crops Network wurden Untersuchungen zur Optimierung der zweiphasigen Feststoffvergärung mit Bioleaching anhand von Maissilage durchgeführt. Die prozesstechnischen Untersuchungen bezogen sich auf den Teilprozess der Hydrolyse, da diese als geschwindigkeitslimitierender Schritt ein hohes Optimierungspotenzial aufweist. Die Ermittlung und umfassende Analyse wesentlicher prozesstechnischer und substratspezifischer Parameter in der Prozesswasserführung, der Anlagenkonfiguration sowie der Prozesstemperatur waren Gegenstand der Untersuchungen.

Die Untersuchungen bezogen sich auf ein vom Lehrstuhl Abfallwirtschaft der BTU Cottbus entwickeltes Verfahren, das während der Laufzeit des Forschungsvorhabens patentiert wurde. Die technologische Weiterentwicklung erfolgt seit 2006 gemeinsam mit dem Ingenieurbüro GICON GmbH. GICON betreibt seit 2007 eine Pilotanlage zu dem Verfahren, deren Inbetriebnahme wissenschaftlich durch die BTU begleitet wurde. Neben der Darstellung und Diskussion von Laborergebnissen werden Erfahrungen aus der technischen Umsetzung nachfolgend diskutiert.

**Schlüsselwörter:** Biogas, Feststoffvergärung, zweistufige Vergärung, Energiepflanzen, erneuerbare Energien

**Abstract:** *According the framework of Biogas Crops Network the optimization of degradation maize silage through double stage dry-wet fermentation with leaching bed have been conducted. The double stage dry-wet anaerobic digestion technology, developed by The Brandenburg University of Technology (BTU), can realise a high efficient, safe and stable biogas production.*

*The separation of hydrolysis and methanation in this process can provide optimal conditions for the microorganisms in each phase due to the different nutrients needs, growth*

*requirements and ability to cope with environmental stress. The main aim of this project was to optimize the hydrolysis phase. The configuration of percolators, the effects of temperature as well as different parameters in circulation of process water were analysed.*

*In cooperation with the engineering and consulting company GICON, this technology was qualified further into an industrial scale. In 2007 a pilot plant was built by GICON based on this two stage technology. The start-up of the pilot plant was planned, controlled and monitored by our institution based on practical lab-scale fermentation plants experiences.*

**Keywords:** *biogas, solid-state fermentation, double stage digestion, energy crops, renewable energies*

## 1 Zielsetzung

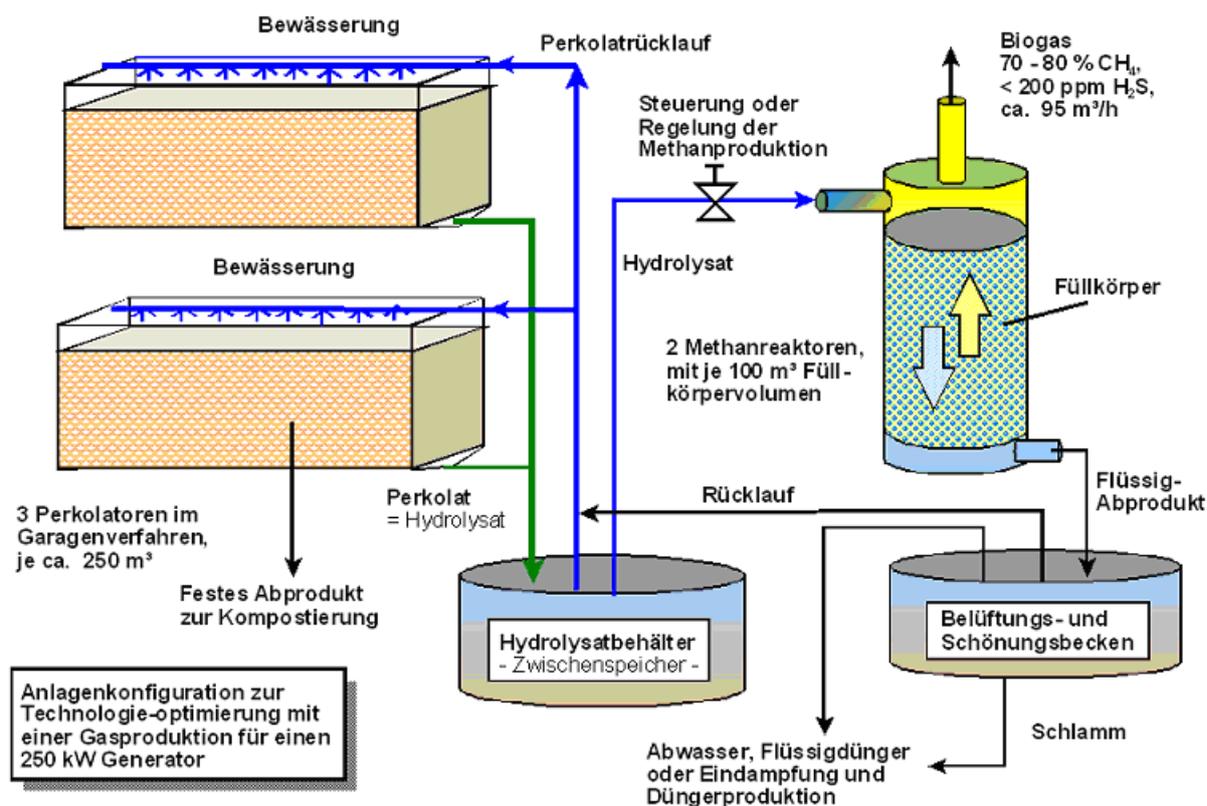
Die Zielstellung seitens der BTU im Rahmen dieses Projektes bestand in der Optimierung der Prozessführung und Prozesssteuerung unter Anwendung einer zweiphasigen Technologie mit Bioleaching. Die Trennung der Hydrolyse von der Methanisierung in der Verfahrensführung erlaubt eine separate Betrachtung der Teilprozesse. In der Biogaserzeugung, insbesondere aus festen strukturreichen Materialien, stellt sich die Hydrolyse als geschwindigkeitslimitierender Teilprozess dar. Ein entsprechend hohes Optimierungspotenzial bzgl. der Erhöhung der Prozessintensität, des Abbaus der organischen Substanz sowie der Verminderung der Gesamtverweilzeit besteht im Hydrolyseprozess. Gegenstand der Forschungen war die Ermittlung und Untersuchung wesentlicher prozesstechnischer und die Hydrolyse beeinflussender Parameter anhand des Substrats Maissilage. Zur Bewertung der Prozessoptimierung wurden der Abbaugrad, die Produktausbeuten, die Prozessintensität und die Verweilzeit als Parameter herangezogen. Ergänzend zur Prozessoptimierung wurden Untersuchungen zur Prozessstabilität durchgeführt.

## 2 Verfahrenstechnische Beschreibung

Die im Rahmen des Vorhabens durchzuführenden Untersuchungen zur Feststoffvergärung erfolgten unter Nutzung eines zweistufigen Biogasverfahrens. Das Verfahren wurde bereits 2002 vom Lehrstuhl Abfallwirtschaft der BTU Cottbus entwickelt.

Der zweistufige Fest-Flüssig-Vergärungsprozess ist durch eine offene Hydrolyse und eine separierte Methanisierung charakterisiert. Die Hydrolyse erfolgt bei ca. 25 bis 30°C im Perkolationsverfahren, wobei die festen biogenen Stoffe von der im Kreislauf gefahrenen Perkolationsflüssigkeit berieselt und durchströmt werden. Die abbaubaren Sub-

stanzen werden durch die extrazellulären Enzyme der Hydrolysebakterien in eine wasserlösliche Form überführt und biochemisch zu Aminosäuren, Alkoholen, Zucker und niederen Fettsäuren umgesetzt. Das so entstandene Hydrolysat wird über einen Zwischenspeicher kontinuierlich dem Methanreaktor zugegeben. Die nach der Hydrolyse verbleibenden festen Reste enthalten nur noch biologisch schwer abbaubare Stoffe wie Zellulose, Hemizellulose, Lignin und ligninkrustierte Zellulose. Der Methanreaktor ist mit Füllkörpern als Festbett ausgeführt, das der Immobilisierung der Methanbakterien dient. Mit der Immobilisierung der methanproduzierenden Bakterien wird die Verweilzeit des Hydrolysats von der Verweilzeit der Bakterien entkoppelt. Somit ist eine erhebliche Reduzierung der hydraulischen Verweilzeit im Methanreaktor möglich. Diese setzen die umwandelbaren Bestandteile des Hydrolysats im mesophilen Bereich (ca. 37°C) in Methan um. Die verbleibende Restflüssigkeit enthält im wesentlichen Mineralstoffe und nicht abbaubare organische Verbindungen. Sie wird zur Reduzierung der darin befindlichen Methanbakterien belüftet und anschließend als Kreislaufflüssigkeit wieder der Hydrolyse zugeführt.



**Bild1:** Prinzipskizze des zweistufigen Fest-Flüssig-Vergärungsverfahrens

Durch die zweistufige Anordnung der beiden Hauptprozesse ist eine optimale Prozessführung für jeden Teilprozess und für verschiedene Eingangsstoffe möglich. Die Trennung der Hydrolyse und der Methanstufe ermöglicht die Einstellung optimaler Prozessbedingungen. Damit wird eine beträchtliche Verkürzung der Verweilzeit in den Haupt-

prozessen erreicht, welche substratspezifisch variiert werden kann. Die gute Steuerbarkeit der Teilprozesse und des Gesamtprozesses bedingt die hohe Stabilität des Verfahrens. Die Biogasproduktion kann durch die Zugabe des Hydrolysats zum Methanreaktor gesteuert werden.

Während der Laufzeit des Vorhabens wurde das Verfahren patentiert (2005), und seit dem Jahr 2006 gemeinsam mit dem Ingenieurbüro GICON GmbH technologisch, als GICON-Verfahren, weiterentwickelt. 2007 erfolgte die Errichtung einer Pilotanlage durch GICON. Die Inbetriebnahme der Pilotanlage wurde durch den LS Abfallwirtschaft der BTU Cottbus wissenschaftlich begleitet.

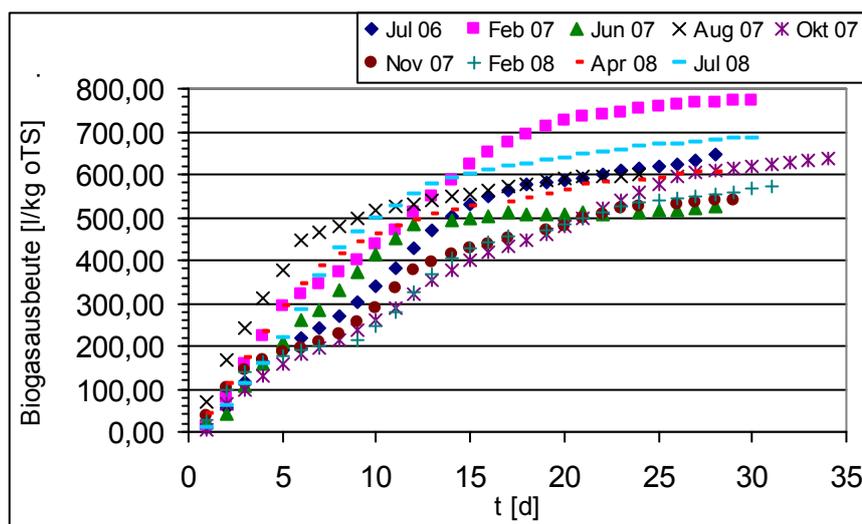
### 3 Material und Methoden

Für die Durchführung der Untersuchungen wurde eine kleintechnische Biogasanlage, entsprechend des beschriebenen Verfahrensprinzips (**Bild 1**), in dreifach baugleicher Ausführung errichtet.

Die Perkolatoren wurden zu Versuchsstart mit je 15 kg FM Maissilage befüllt. Die Verweilzeit in der Hydrolyse lag zwischen 14d und 21d.

Die Maissilagen wiesen durchschnittliche oTS-Gehalte von ca. 34 Ma.-% auf, wobei diese z.T. erheblich, zwischen 21 und 41 Ma.-%, variierten. Zur Beurteilung der Substratqualität wurden neben dem oTS-Anteil die Stoffgruppenanalyse nach van Soest und das Biogaspotential als Referenzwert herangezogen.

Die Spannweite der ermittelten Biogaspotentiale der eingesetzten Maissilagen, zwischen 530 und 770 l/kg<sub>oTS</sub>, verdeutlichte die qualitativen Unterschiede der Substrate.



**Diagramm 1:** Biogaspotentiale der Maissilagen, Versuchszeitraum 07/2006 – 07/2008 (Standardgärverfahren nach VDI 4630)

Durchschnittlich enthielten die Maissilagen (Input) in der Trockensubstanz 51 Ma.-% an leicht abbaubaren Zellinhaltsstoffen, wobei entsprechend der Differenzen in den oTS-Anteilen und den potentiellen Gaserträgen deutliche Variationen zwischen 41 Ma.-% und 60 Ma.-% zu verzeichnen waren. Der Anteil an Hemizellulosen wurde im Durchschnitt mit 27 Ma.-% TS ermittelt, die schwer umsetzbaren Substratkomponenten Zellulose und Lignin lagen zu 18 und 3 Ma.-% TS in der Maissilage vor.

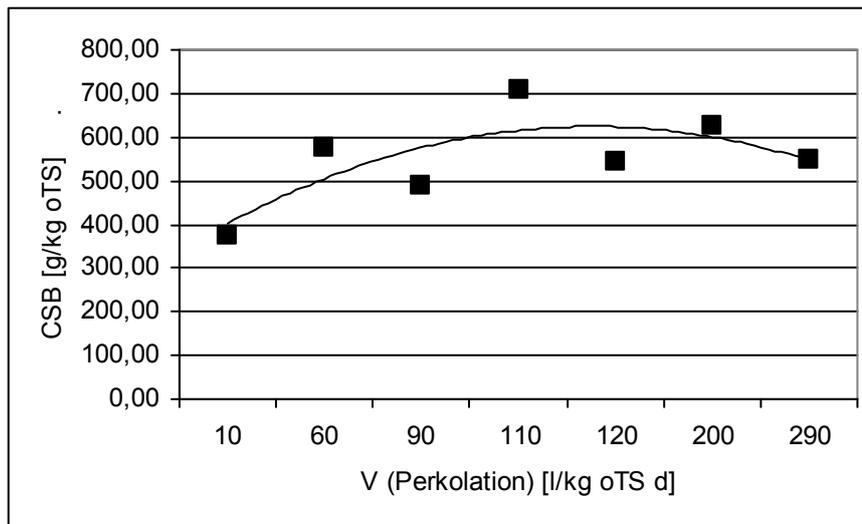
## 4 Ergebnisse

### *Prozesswasserführung: Perkolationsrate*

In dem beschriebenen zweiphasigen Prozess wird Ablauf aus der Methanisierung in die Perkolationsphase rückgeführt (= Rücklauf) und des weiteren ein Teilstrom des gewonnenen Hydrolysats zur Perkolationsphase genutzt. Die Untersuchungen zur Prozesswasserführung bezogen sich zunächst auf die Kreislaufführung des Hydrolysats unter Einstellung einer konstanten Rücklaufquote. Zur Verifikation wurden anschließend Versuche anhand ausgewählter Perkolationsraten für höhere Rücklaufquoten durchgeführt. Weiterhin wurde der Einfluss einer Substratvorbehandlung durch eine prozessvorgelagerte Hydrolyse ermittelt.

Die Perkolationsrate des im Kreislauf geführten Hydrolysats wurde im Bereich zwischen 10 und 300 l/(kg<sub>oTS</sub>·d) variiert. Die Untersuchungen wurden unter einer konstanten Rücklaufquote von ca. 7 l/(kg<sub>oTS</sub>·d) durchgeführt.

Das Optimum der Perkolationsrate (Kreislaufführung Hydrolysats) wurde um ca. 100 l/(kg<sub>oTS</sub>·d) ermittelt. Eine wesentliche Steigerung sowie Minderung der Perkolationsrate hatte einen Rückgang der Produktausbeuten der Hydrolyse und eine entsprechend reduzierte Gasproduktion zur Folge. Der Abbau an oTS sowie der einzelnen Stoffgruppen zeigte einen ähnlichen Verlauf, so dass entsprechend der höchsten CSB-Produktion die Festsubstanz unter einer Perkolationsrate von 100 l/(kg<sub>oTS</sub>·d) maximal umgesetzt wurde. Nach einer Hydrolysedauer von 14d wurde unter dem ermittelten Optimum ein Abbau an organischer Substanz von 60 Ma.-% erzielt.



**Diagramm 2:** Abhängigkeit des CSB-Ertrages von der Perkulationsrate (Hydrolysedauer: 14d)

Das ermittelte Optimum in der Perkulationsrate von  $100 \text{ l}/(\text{kg}_{\text{oTS}} \cdot \text{d})$  gewährt einen zureichenden Austrag der Hydrolysespaltprodukte und Säuren. Hohe punktuelle Konzentrationen im Substratkörper, welche eine Hemmung der hydrolytisch wirksamen Bakterien bewirken könnten, werden vermieden. Weiterhin bedingt das ermittelte optimale Prozesswasservolumen zur Perkolation eine zureichende Animpfung des Festsubstrats mit relevanten Bakterien. Mit dieser Perkulationsrate werden ein hoher Feuchtegrad und somit günstige Milieubedingungen für die beteiligten Mikroorganismen gewährt. Dadurch werden das Wachstum von Populationen und eine entsprechend hohe Aktivität in der Hydrolyse begünstigt.

In einer großtechnischen Anwendung ist der ermittelte optimale sehr hohe Volumenstrom zur Perkolation von ca.  $100 \text{ l}/(\text{kg}_{\text{oTS}} \cdot \text{d})$  nicht realisierbar, da enorme Pumpenleistungen gestellt werden müssten. Vor diesem Hintergrund wurde nochmals die Perkulationsrate untersucht unter Variation der Rücklauftrate. Es wurde untersucht, inwiefern durch eine Erhöhung des Rücklaufs eine Verringerung der Perkulationsrate (Hydrolysatkreislauf) ermöglicht werden kann. In den Untersuchungen wurden die optimale Perkulationsrate von  $100 \text{ l}/(\text{kg}_{\text{oTS}} \cdot \text{d})$  vergleichend zu einer um 50% reduzierten Perkulationsrate betrachtet.

Vergleichend zu einer Rücklauftrate von  $7 \text{ l}/(\text{kg}_{\text{oTS}} \cdot \text{d})$  wurde der Einfluss der Perkulationsrate (Kreislauf Hydrolysat) auf die Produktbildung unter einem erhöhten Rücklauf von 10,1 und  $12,5 \text{ l}/(\text{kg}_{\text{oTS}} \cdot \text{d})$  ermittelt. Die kumulativen CSB-Erträge bestätigten die Ergebnisse der bei Rücklauftraten von ca.  $7 \text{ l}/(\text{kg}_{\text{oTS}} \cdot \text{d})$  durchgeführten Untersuchungen. Mit der höheren Perkulationsrate von  $100 \text{ l}/(\text{kg}_{\text{oTS}} \cdot \text{d})$  wurde eine deutliche Steigerung gegenüber der um 50% reduzierten Rate erzielt. Die Erhöhung der Rücklauftrate führte zu verminderten Produktausbeuten gegenüber dem Betrieb unter optimalen Bedingungen, wobei höhere CSB-Erträge unter dem höheren Rücklauf von  $12,5 \text{ l}/(\text{kg}_{\text{oTS}} \cdot \text{d})$  erreicht wurden. Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass eine verminderte

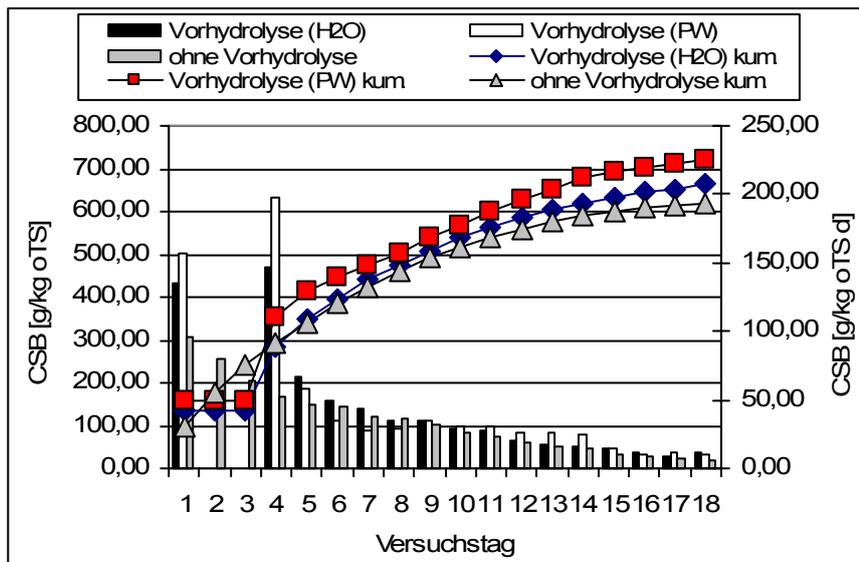
Produktion in der Hydrolyse aufgrund einer Reduzierung der Perkulationsrate durch eine Steigerung des Rücklaufs nicht ausgeglichen werden kann.

#### *Prozesswasserführung: Vorhydrolyse*

Entsprechend der regulären Verfahrensweise erfolgte in den ersten 4 Versuchstagen eine Perkolation des Substrats (Kreislaufführung Hydrolysat). Eine Produktabführung sowie eine Rücklaufführung wurden während der Vorhydrolyse nicht vorgenommen. Als Flüssigkeiten zur Perkolation in der Vorhydrolyse wurden Wasser und vergleichend Prozesswasser (PW) verwendet. Das in der Vorhydrolyse eingesetzte spezifische Flüssigkeitsvolumen zur Perkolation lag bei 8 l/kg<sub>oTS</sub>. Zum Abgleich erfolgte parallel eine Versuchsdurchführung ohne vorangestellte Hydrolyse.

Die Untersuchungen bestätigten eine verstärkte hydrolytische Substratumsetzung der Maissilage und somit eine positive Beeinflussung der Produktbildung durch eine prozessvorgelagerte Hydrolyse. Ein eindeutiger Effekt, ermittelt in den CSB- und den FOS-Ausbeuten, zeigte sich unter Nutzung von Prozesswasser zur Kreislaufführung. Mit dieser Variante konnte eine Erhöhung der kumulativen Erträge um 15 – 20% gegenüber der Prozessführung ohne Vorhydrolyse erzielt werden.

Die Kreislaufführung und Perkolation der Flüssigphase ohne Abführung der produzierten niedermolekularen Komponenten (hauptsächlich organische Säuren) bedingt die Einstellung eines sauren Milieus, welches bei Aufrechterhaltung eines pH-Wertes > 4 die Aktivität hydrolytisch wirksamer Bakterien begünstigt. Zudem kann das Vorliegen hoher Säurenkonzentrationen die Spaltung komplexer Verbindungen positiv beeinflussen. Der höhere Substratumsatz bei der Nutzung von Prozesswasser zur Vorhydrolyse lässt sich auf die direkte Substratanimpfung mit, in der Prozessflüssigkeit enthaltenen, prozessspezifischen Mikroorganismen zurückführen. Somit wird das unmittelbare Einsetzen der Hydrolyse sowie eine hohe Umsatzrate gewährleistet.

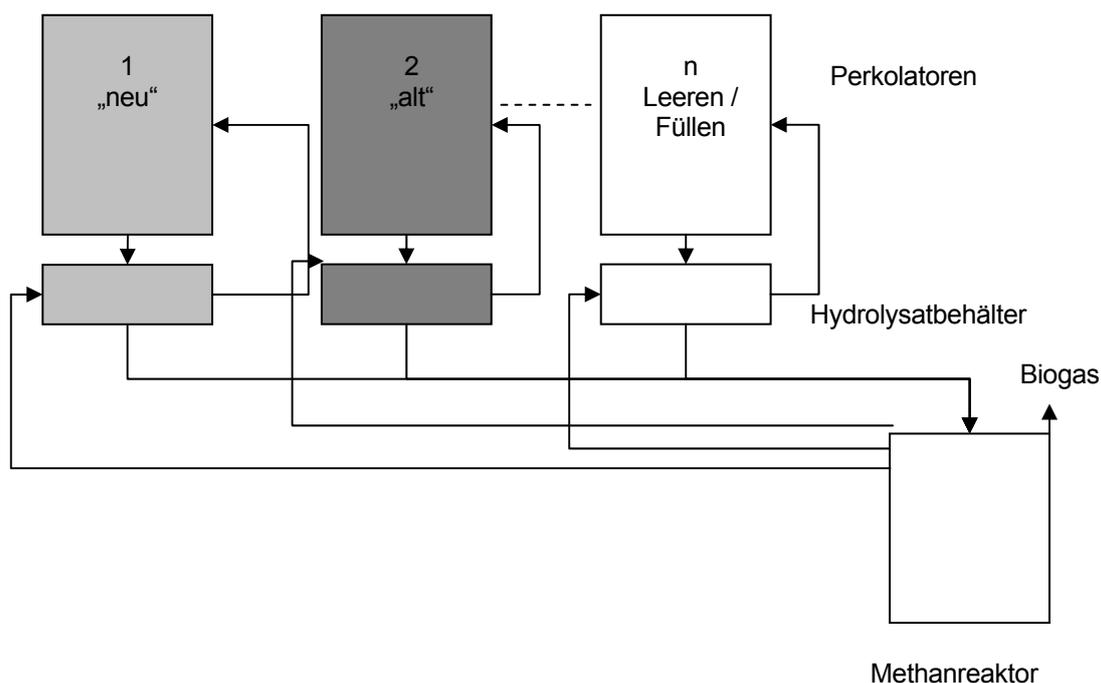


**Diagramm 3:** CSB-Ausbeuten unter Anwendung einer 4tägigen Vorhydrolyse

### Schaltungsvarianten

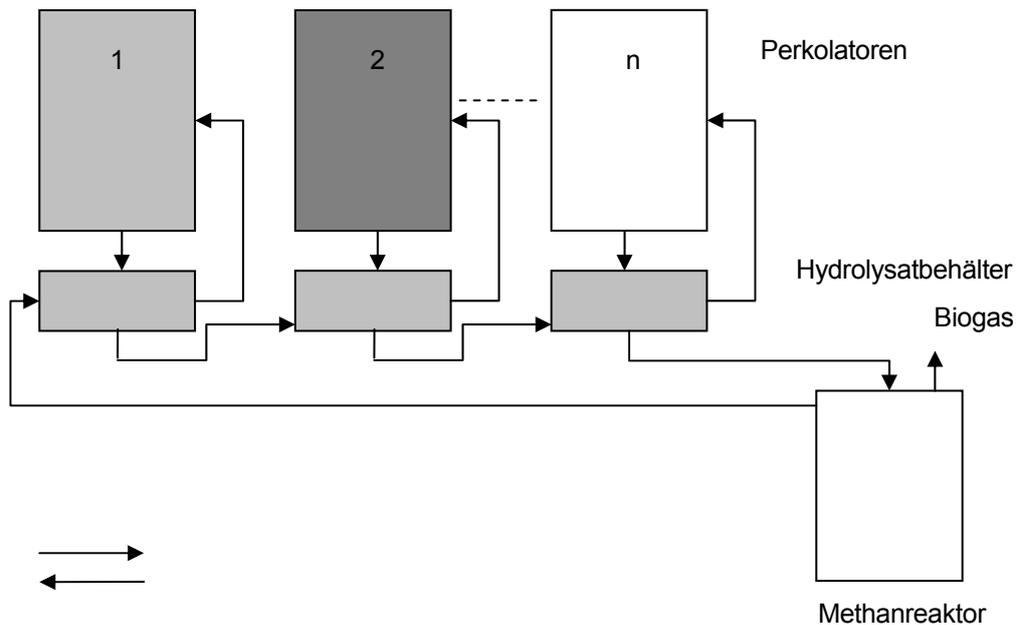
Die Ausführung des Hydrolyseprozesses unter Nutzung mehrerer Perkolatoren kann bzgl. der Prozesswasserführung zur Perkolatation unterschiedlich gestaltet werden. Das Optimierungspotenzial durch die Konfiguration der Perkolatoren sollte in diesen Untersuchungen ermittelt werden. In vorangegangenen Untersuchungen wurden die Perkolatoren parallel (**Bild 2**) und somit unabhängig voneinander betrieben. Vor der Hypothese mit einer Schaltung der Perkolatoren in Reihe einen verbesserten Abbaugrad in der Hydrolyse zu erzielen, wurde diese Variante vergleichend zur bisher genutzten Konfiguration analytisch betrachtet. Mit dem Betrieb der Perkolatoren in Reihe werden beispielsweise für insbesondere eine Hydrolysephase spezifische Mikroorganismen und Enzyme den weiteren Hydrolysephasen zugeführt. Insbesondere in den Phasen fortgeschrittener Hydrolyse könnte eine Erhöhung der Organismenvielfalt und Populationsdichte erzielt werden und somit der Abbau schwer umsetzbarer Komponenten begünstigt werden.

Beim Parallelbetrieb erfolgt die Kreislaufführung des Hydrolysats innerhalb einer Perkolatationseinheit (Perkolator + Zwischenspeicher) sowie eine direkte Abführung von Hydrolysat in die Methanstufe. Die Rückführung von Methanisierungsablauf erfolgt entsprechend in jeden einzelnen Perkolator. Der Parallelbetrieb mehrerer Perkolatoren zur Beschickung eines Methanreaktors gewährleistet bei Realisierung abweichender Beschickungsrhythmen eine weitgehende Konstanz in der bereitgestellten Hydrolysatkonzentration und somit in der Raumbelastung des Methanreaktors.



**Bild 2:** Parallelbetrieb der Perkolatoren

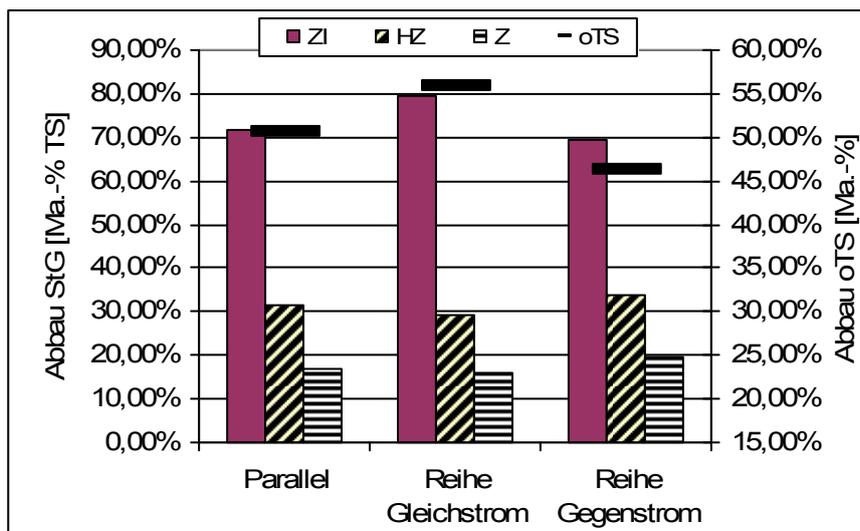
In der Schaltung der Perkolatoren in Reihe (**Bild 3**) wird zusätzlich zur Kreislaufführung von Hydrolysat innerhalb einer Perkolationsseinheit ein Teilstrom des produzierten Hydrolyсата in die nächste Perkolationsseinheit überführt und somit in den Prozesswasserkreislauf mit aufgenommen. Alle weiteren installierten Perkolatoren werden in dieses Verfahren mit einbezogen. Erst nach Durchlaufen der gesamten Perkolatorenreihe gelangt das Hydrolysat in die Methanisierung. Der Methanisierungsablauf wird ausschließlich in den ersten Perkolator der Reihe rückgeführt. In der Ausführung des Gleichstrom-Reihenbetriebs erfolgt der Transport der Prozessflüssigkeit vom frischen zum älteren Substrat. Die Umkehrrichtung wird beim Gegenstromverfahren realisiert.



**Bild 3:** Reihenbetrieb der Perkolatoren; ausführbar im Gleich- (Substrat „neu“ → Substrat „alt“) und Gegenstromverfahren (Substrat „alt“ → Substrat „neu“)

In den Versuchsdurchführungen wurden 3 Perkolatoren mit Zwischenspeichern genutzt, wobei das Hydrolysat für die Methanisierung in einem separaten Speicher bereitgestellt wurde. Die Methanisierung erfolgte bei diesen Untersuchungen in nur einem Reaktor. Die Neubeschickung eines Perkolators wurde im 5-Tages-Rhythmus vorgenommen, so dass mit dem Durchlaufen der 3 Hydrolysephasen eine Gesamtverweilzeit von 15 Tagen vorlag.

Im Vergleich der verschiedenen Perkolatorenkonfigurationen wurde der höchste Umsatz an organischer Substanz im Gleichstrom-Reihenbetrieb der Perkolatoren erzielt (**Diagramm 4**). Der Substratabbau lag in 15tägiger Hydrolyse zwischen 46 Ma.-% im Gegenstromverfahren und 56 Ma.-% im Gleichstrom-Reihenbetrieb. Entsprechend des erhöhten Feststoffumsatzes wurde ein deutlich erhöhter CSB-Ertrag von 645 g/kg<sub>oTS</sub> im Gleichstrom-Reihenbetrieb ermittelt. Mit der Parallelvariante sowie im Gegenstrom wurden um ca. 15% geringere CSB-Erträge bestimmt.



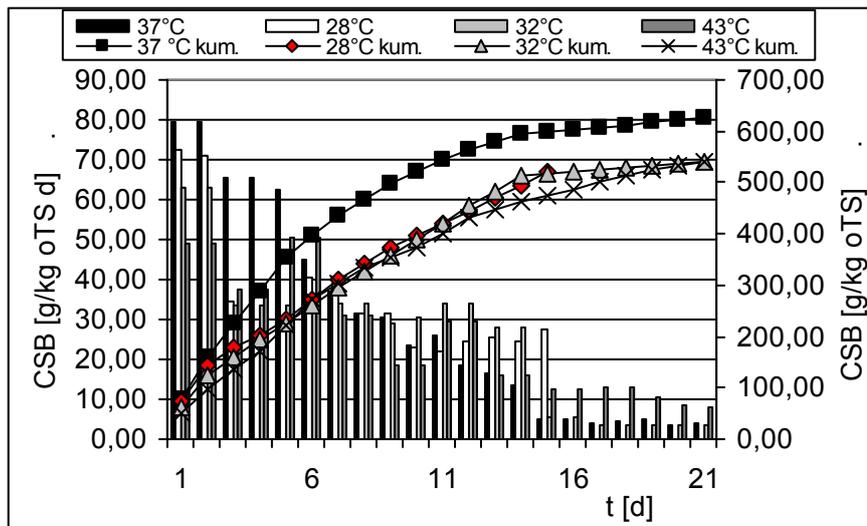
**Diagramm 4:** Umsatz an oTS und der Stoffgruppen bei unterschiedlichen Varianten der Perkolatorschaltung (Hydrolyseverweilzeit: 15 d)

Die Differenzen im oTS-Abbau bei Anwendung der verschiedenen Verfahren zur Perkolatorschaltung resultieren aus dem unterschiedlich stark ausgeprägten Umsatz der Stoffgruppe der Zellinhalte (ZI). Die Zufuhr von Hydrolysat der 1. Phase, welches durch Bakterien charakterisiert ist, die vornehmlich zu dem Umsatz leicht abbaubarer Substanz befähigt sind, in die weiteren Prozessphasen, ermöglicht so eine Hydrolyse noch vorhandener Zellinhaltsstoffe. Neben der Erhöhung der mikrobiellen Vielfalt in den Phasen fortgeschrittener Hydrolyse, lässt sich der positive Effekt auf eine Erhöhung der Bakterienaktivität aufgrund günstiger pH-Bedingungen zurückführen. Schlussfolgernd aus dem annähernd vergleichbaren Umsatz an Hemizellulosen (HZ) und Zellulosen (Z) in den 3 erprobten Verfahrensvarianten wurde eine Erhöhung der Populationsdichte bzw. Aktivität von Bakterien und entsprechenden wirksamen Enzymen, die auf Komponenten mit erhöhtem Abbauschweregrad spezialisiert sind, in der Gleichstrom-Reihenführung nicht ermittelt.

### *Hydrolysetemperatur*

Die Hydrolysetemperatur wurde im mesophilen Temperaturbereich optimiert. Die Untersuchungen zur Hydrolyse erfolgten unter Temperaturen von 28°C, 32°C, 37°C und 43°C.

Die Einstellung des mesophilen Temperaturoptimums für die Hydrolyse pflanzlicher Substrate lässt eine Erhöhung des mikrobiellen Abbaus und der Prozessintensität aufgrund der erhöhten Enzymaktivitäten erwarten.



**Diagramm 5:** CSB-Ausbeuten bei unterschiedlichen Prozesstemperaturen in der Hydrolyse

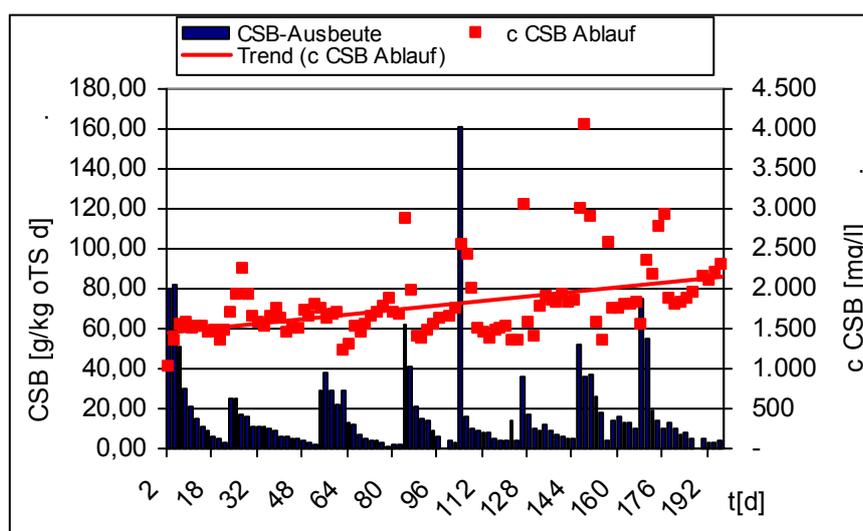
Die Entwicklungen in den CSB-Ausbeuten lassen einen optimalen Substratumsatz bei einer Prozesstemperatur in der Hydrolyse von 37°C erkennen. Unter dieser Betriebstemperatur konnte eine deutlich erhöhte Prozessgeschwindigkeit sowie eine verstärkte CSB-Extraktion mit einer Steigerung der nach 21d kumulativ erzielten Ausbeute von ca. 15% im Vergleich zu den weiteren Versuchsreihen ermittelt werden. Aus dem Kurvenverlauf geht der weitgehende Abschluss des Hydrolyseprozesses nach bereits 15d hervor. Die Durchführungen der Hydrolyse unter geringeren sowie unter höheren Temperaturen zeigten kaum Differenzen in den CSB-Erträgen. Aufgrund der verminderten Hydrolysegeschwindigkeit war ein Substratumsatz über die gesamte Hydrolysedauer von 21d zu verzeichnen. Die Graphen verdeutlichen oberhalb des ermittelten Temperaturoptimums eine geringere Aktivität der hydrolytisch wirksamen Bakterien im Vergleich zur Hydrolyse im mesophilen Bereich < 37°C. Die Durchführung der Hydrolysephase unter 43°C zeigte einen gesteigerten Umsatz der Zellulosefraktion, welcher mit einer erhöhten CSB-Produktion in der letzten Versuchsphase einherging.

### Langzeitbetrachtungen

Abschließend wurde über einen Zeitraum von 6 Monaten ein Langzeitversuch durchgeführt. In dieser Versuchsreihe sollten eventuell auftretende Langzeiteffekte, wie beispielsweise Prozessinhibierungen infolge eines Mangels bzw. der Akkumulation bestimmter Elemente, ermittelt werden. Die Versuchsdurchführung erfolgte unter nahezu konstanten Einstellungen der wesentlichen Prozessparameter (Masse Input, Hydrolyseverweilzeit, Temperatur, Perkolationsraten).

Während der 6monatigen Versuchsdurchführung lagen die CSB-Ausbeuten auf ähnlichem Niveau zwischen 400 und 500 g/ kg<sub>oTS</sub>. Unter Betrachtung eines längeren Zeitraums von 16 Monaten wurde jedoch eine abnehmende Tendenz in den CSB-Erträgen verzeichnet. Die Versuchsdurchführungen bis Mitte 2007 erbrachten im Mittel deutlich

höhere CSB-Ausbeuten. Eine Hydrolyseverweilzeit von 14d führte in dieser ersten Projektphase zu CSB-Freisetzungen zwischen 600 und 800 g/kg<sub>oTS</sub>. Die Differenzen in den CSB-Erträgen liegen u.a. in den Qualitäten der Maissilagen begründet. Die im Referenzverfahren ermittelten Biogaspotentiale von ca. 780 l/kg<sub>oTS</sub> (**Diagramm 1**) verdeutlichen die hohe Qualität der im Zeitraum Februar bis Juni 2007 eingesetzten Maissilagen. Die Biogaspotentiale nachfolgender verwendeter Silagen waren z.T. deutlich geringer. Die Abnahme in den Ausbeuten mit zunehmender Betriebsdauer der Versuchsanlage bestätigt jedoch auch den häufig in der Literatur beschriebenen Nährstoffmangel bei der Monofermentation von nachwachsenden Rohstoffen. Ein Nähr- und Spurenelementeintrag erfolgte über den gesamten Versuchszeitraum ausschließlich über das Substrat Maissilage. Um dauerhaft einen hohen Stoffumsatz zu gewährleisten, ist eine ausreichende Versorgung der beteiligten Mikroorganismen mit Nähr- und Spurenelementen unabdingbar. Die Entwicklungen in den Hydrolysatkonzentrationen bestätigten, dass insbesondere der Einsatz von Monosubstraten zur Biogaserzeugung einen Zusatz bestimmter Elemente erfordert.

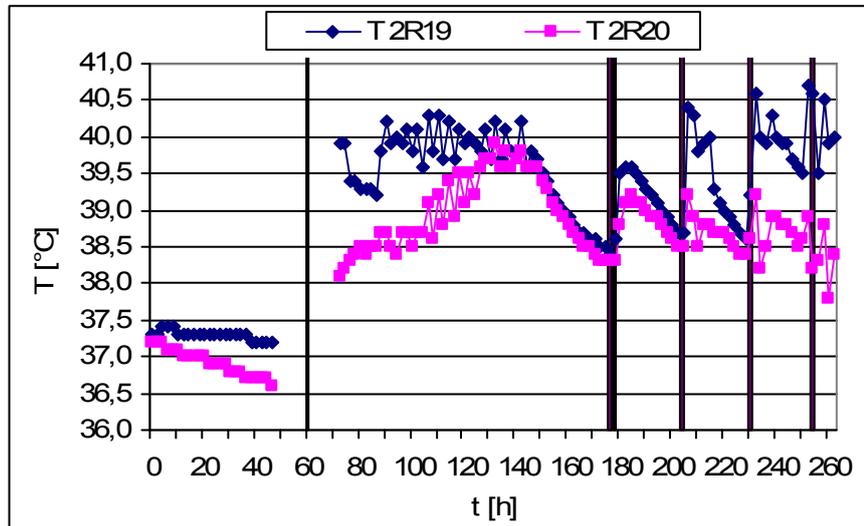


**Diagramm 6:** CSB-Ausbeuten und Entwicklung der CSB-Konzentrationen im Methanisierungsablauf

Ein deutlicher Effekt zeigte sich in den Methanreaktoren der Pilotanlagen mit der Zugabe einer Nähr- und Spurenelementlösung. Die Supplementierung führte zu einem unmittelbaren Anstieg der Reaktortemperatur um bis zu 3K infolge der Erhöhung der mikrobiellen Aktivität (**Diagramm 7**). Mit einer regelmäßigen Zugabe des Präparates und der so erzielten zureichenden Nähr- und Spurenelementversorgung konnte die Produktausbeute um etwa 35% erhöht werden.

Ein verfahrensspezifischer Langzeiteffekt wurde in der stetigen Erhöhung der CSB-Konzentration im Methanisierungsablauf ermittelt (**Diagramm 6**). Die allmähliche Erhöhung des CSB-Anteils resultiert aus der Kreislaufführung der Prozessflüssigkeit, wo-

durch eine Akkumulation nicht bzw. schwer umsetzbarer organischer Komponenten (vermutlich Lignin, Huminstoffe) sowie oxidierbarer anorganischer Bestandteile auftritt. Die Zusammensetzung des inerten CSB-Anteils und die Ermittlung einer eventuell prozesshemmenden Konzentration werden Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.



**Diagramm 7:** Einfluss einer Spurenelementzugabe (Balken senkrecht) auf die Reaktortemperatur (Methanreaktoren Pilotanlage: 2R19, 2R20)

Ausgeprägt zeigte sich der Effekt der stetigen Erhöhung des inerten CSB-Anteils im Betrieb der Pilotanlage. In einem Zeitraum von 10 Monaten wurde eine Erhöhung des inerten CSB-Anteils von 2 g/l auf 8 g/l ermittelt. Eine Prozesshemmung infolge der Akkumulation CSB-wirksamer Verbindungen wurde in diesem Konzentrationsbereich nicht festgestellt. Im Langzeitbetrieb sollten Maßnahmen vorgesehen werden, die eine Senkung der Konzentration bedingen und somit eine Inhibierung durch hohe inerte CSB-Anteile verhindern. Eine Senkung des nicht bzw. schwer umsetzbaren CSB kann durch einen regelmäßigen Schlammaustrag bzw. durch einen Wassereintrag in das System erzielt werden. Weiterhin können Möglichkeiten zur Erhöhung der Verfügbarkeit der inerten Komponenten, wie der Eintrag von Sauerstoff sowie die Animpfung mit aeroben Mikroorganismen, genutzt werden.

## 5 Zusammenfassung und Ausblick

In den Versuchsdurchführungen zur Optimierung der Hydrolyse in einer zweiphasigen Prozessführung wurde ein erheblicher Einfluss der Prozesswasserführung auf den Verlauf und die Intensität der Feststoffhydrolyse ermittelt. Die Untersuchungsergebnisse ließen ein deutliches Optimierungspotenzial in der Perkulationsrate sowie mit Anwendung einer Vorhydrolyse erkennen. Der maximale Stoffumsatz wird unter einer Perkulationsrate von 100 l/(kg<sub>oTS</sub>·d) erreicht.

Die Nutzung einer 4tägigen Vorhydrolyse wirkte sich begünstigend auf den Prozess aus. Unter Verwendung von Prozesswasser zur Vorhydrolyse kann eine Steigerung der spezifischen Erträge an CSB und FOS um 15 % erzielt werden. Zukünftige Untersuchungen werden weiterhin auf die Hydrolyse der schwer abbaubaren Substratkomponenten gerichtet sein. U.a. wird die Einstellung günstiger Bedingungen für die enzymatische Aktivität mittels einer Steuerung des pH-Wertes erprobt.

Eine Optimierung des Hydrolyseprozesses wurde des weiteren durch eine Konfiguration der Perkolatoren in Reihe erzielt. Die Reihenschaltung der Perkolatoren im Gleichstrom ermöglicht eine Steigerung des Abbaus an organischer Substanz um bis zu 15%. Neben der Erhöhung der mikrobiellen Vielfalt, lässt sich der positive Effekt auf eine Erhöhung der Bakterienaktivität aufgrund der Bereitstellung eines günstigen pH-Milieus zurückführen.

Für den Einsatz von Maissilage im zweistufigen Vergärungsverfahren wurde das Optimum in der mesophilen Hydrolyse bei einer Temperatur von 37°C ermittelt. Unter dieser Temperatur im betrachteten mesophilen Bereich wurden die Prozessintensität und der Abbau an organischem Material deutlich erhöht. Aufgrund der hier ermittelten positiven Effekte mit Einstellung günstiger Temperaturbedingungen wird die Prozesstemperatur in der Hydrolyse, insbesondere im thermophilen Bereich, auch Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

Die Entwicklungen der Produktausbeuten während der Projektlaufzeit ließen eine unzureichende Nähr- und Spurenstoffversorgung der Bakterien und einen zunehmenden Mangel an bestimmten essentiellen Elementen vermuten. Um einer Verarmung des Systems an bestimmten Spurenstoffen entgegenzuwirken, erfordert insbesondere der langfristige Einsatz von Monosubstraten in der Vergärung eine Supplementierung essentieller Elemente.

Ein verfahrensspezifischer Langzeiteffekt wurde in der stetigen Erhöhung der CSB-Konzentration im Methanisierungsablauf infolge der Akkumulation schwer bzw. nicht abbaubare Stoffe ermittelt. Die Analyse der Zusammensetzung des inerten CSB sowie die Entwicklung von Methoden zur Erhöhung der Verfügbarkeit dieser Komponenten werden Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

## 6 Literatur

**BISCHOFBERGER W. et al. (2005):** Anaerobtechnik. Springer, Berlin

**BUSCH G., SIEBER M. (2006):** Zweistufiges Fest-Flüssig-Biogasverfahren mit offener Hydrolyse – ein neues technologisches Konzept für die Biogasgewinnung aus nachwachsenden Rohstoffen und bioverfügbaren Abfällen; Eigenverlag BTU Cottbus, Forum der Forschung, p. 63-68

**BUSCH G. et al. (2008):** Zweistufige Trocken-Nass-Vergärung – Überführung vom Labor in die Praxis als GICON-Verfahren, Internationales Fachsymposium Trockenfermentation

- LANGHANS G. (2006):** Die Schadstoffproblematik in Biogasanlagen. In: Anaerobe biologische Abfallbehandlung; Eigenverlag Forum vor Abfallwirtschaften und Altlasten e.V., Dresden
- LEATHAM G.F., HIMMEL M.E. (1991):** Enzymes in Biomass Conversion, ACS Symposium Series, Washington
- PREIBLER D. et al. (2007):** Güllefreie Vergärung von nachwachsenden Rohstoffen; Tagungsband: Progress in Biogas, Stuttgart
- SCHEPER T., AHRING B.K. (2003):** Biomethanation; Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology; Springer, Berlin

**In der Reihe  
Bornimer Agrartechnische Berichte**

sind bisher erschienen:

Heft 1	Technik und Verfahren der Landschaftspflege	1992
Heft 2	Beiträge zur Lagerung und Verarbeitung pflanzenbaulicher Produkte	1993
Heft 3	Technik und Verfahren in der Tierhaltung	1993
Heft 4	Technik und Verfahren der Landschaftspflege und für die Verwendung der anfallenden Materialien	1994
Heft 5	Verfahrenstechnik der Aufbereitung, Lagerung und Qualitätserhaltung pflanzlicher Produkte	1994
Heft 6	Biokonversion nachwachsender Rohstoffe und Verfahren für Reststoffbehandlung	1994
Heft 7	Preußische Versuchs- und Forschungsanstalt für Landarbeit und Schlepperprüffeld in Bornim 1927 bis 1945	1995
Heft 8	Qualitätssicherung und Direktvermarktung	1996
Heft 9	Konservierende Bodenbearbeitung auf Sandböden	1996
Heft 10	Anwendung wärme- und strömungstechnischer Grundlagen in der Landwirtschaft	1996
Heft 11	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 1996	1996
Heft 12	Aufbereitung und Verwertung organischer Reststoffe im ländlichen Raum	1996
Heft 13	Wege zur Verbesserung der Kartoffelqualität durch Verminderung der mechanischen Beanspruchung	1997
Heft 14	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 1997	1997
Heft 15	Technische und ökonomische Aspekte der Nutztierhaltung in großen Beständen	1997
Heft 16	11. Arbeitswissenschaftliches Seminar	1997
Heft 17	Nachwachsende Rohstoffe im Land Brandenburg Stand Aktivitäten und Perspektiven einer zukunftsfähigen und umweltgerechten Entwicklung	1998
Heft 18	Qualität von Agrarprodukten	1998
Heft 19	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 1998	1998
Heft 20	Beiträge zur teilflächenspezifischen Bewirtschaftung	1998
Heft 21	Landnutzung im Spiegel der Technikbewertung – Methoden Indikatoren, Fallbeispiele	1998

---

Heft 22	Kriterien der Nachhaltigkeit in der Verfahrensentwicklung für die Nutztierhaltung	1999
Heft 23	Situation und Trends in der Landtechnik / Erneuerbare Energien in der Landwirtschaft	1999
Heft 24	Institut für Landtechnik der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin 1951 bis 1965	1999
Heft 25	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 1999 / 2000	2000
Heft 26	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2001	2001
Heft 27	Approaching Agricultural technology and Economic Development of Central and Eastern Europe	2001
Heft 28	6 <sup>th</sup> International Symposium on Fruit, Nut, and Vegetable Production Engineering	2001
Heft 29	Measurement Systems for Animal Data and their Importance for Herd Management on Dairy Cow Farms	2002
Heft 30	Produktion, Verarbeitung und Anwendung von Naturfasern	2002
Heft 31	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2002	2002
Heft 32	Biogas und Energielandwirtschaft - Potenzial, Nutzung, Grünes Gas <sup>TM</sup> , Ökologie und Ökonomie	2003
Heft 33	Sozioökonomische Aspekte zu Perspektiven des Offenlandmanagements	2003
Heft 34	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2003	2003
Heft 35	Energieholzproduktion in der Landwirtschaft Potenzial, Anbau, Technologie, Ökologie und Ökonomie	2004
Heft 36	High-Tech Innovationen für Verfahrensketten der Agrarproduktion. Statusseminar 2003	2004
Heft 37	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2004	2004
Heft 38	Die Landmaschinenprüfung in der DDR 1951-1991 und ihre Vorgeschichte	2004
Heft 39	Energieverlust und Schimmelpilzentwicklung bei der Lagerung von Feldholz-Hackgut	2005
Heft 40	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2005	2005
Heft 41	Demonstration der Langzeitwirkung bedarfsorientierter Fungizidbehandlung mit dem CROP-Meter	2005

---

Heft 42	Biochemicals and Energy from Sustainable Utilization of herbaceous Biomass (BESUB)	2005
Heft 43	Ozontes Waschwasser zur Qualitätssicherung leichtverderblicher Produkte - Entwicklung einer <i>Fuzzy-Logic</i> -Steuerung des Waschprozesses	2005
Heft 44	Messsystem zur Bewertung des Unkrautvorkommens	2005
Heft 45	Anwendung der Thermographie zur Optimierung der Belüftungssteuerung bei der Lagerhaltung landwirtschaftlicher Produkte	2005
Heft 46	Membranbioreaktor zur Aufbereitung von Schlachthofabwässern	
	Prozesssteuerung von Biogasanlagen mit Kofermentation	2005
Heft 47	Verschleißeinfluss auf das Förderverhalten von Drehkolbenpumpen	2005
Heft 48	Qualitätserhaltung und Qualitätssicherung von Bioobst und Biogemüse in der Nachernte	2005
Heft 49	Miniaturisiertes Datenerfassungs-System zum Implantieren in Früchte und zur Messung ihrer mechanischen Belastung durch Ernte- und Nachernteverfahren	2005
Heft 50	Prozesskontrolle der Qualität von frischem Obst und Gemüse mit Hilfe eines Multigas-Sensors	2005
Heft 51	Entwicklung eines Echtzeitsensors für die Stärkebestimmung bei Kartoffeln als funktionaler Bestandteil eines optoelektronischen Verleseautomaten	2005
Heft 52	Optimierte Steuerung von Getreide-Schachttrocknern	2005
Heft 53	Möglichkeiten und Grenzen der energetischen Nutzung von Rizinusöl	2005
Heft 54	Non-Destructive Methods for Detecting Health-Promoting Compounds COST Action 924 Working Group Meeting	2005
Heft 55	4 <sup>th</sup> IFAC / CIGR Workshop Control Applications in Post - Harvest and Processing Technology (CAPPT 2006) 26th - 29th March 2006, Potsdam, GERMANY	2006
Heft 56	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2006	2006
Heft 57	Kontrolle der Frische in der Nacherntekette von Ökogemüse	2006
Heft 58	Entwicklung eines innovativen Dekontaminationsverfahrens als Technologieantwort auf zukünftiges Qualitätsmanagement im Nacherntebereich	2006

Heft 59	Experimental Studies and Mathematical Modelling of Solar Drying System for Production of High Quality Dried Tomato	2007
Heft 60	13. Workshop Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft & 4. Workshop Precision Farming	2007
Heft 61	Energiepflanzen im Aufwind Wissenschaftliche Ergebnisse und praktische Erfahrungen zur Produktion von Biogaspflanzen und Feldholz	2007
Heft 62	14. Workshop Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft	2008
Heft 63	Experten-Workshop Lagerung von Holzhackschnitzeln	2008
Heft 64	Postharvest unlimited 2008	2008
Heft 65	Vom Agrarrohstoff zu neuen Produkten – Verfahrenstechnische Forschung im Nacherntebereich	2009
Heft 66	16. Arbeitswissenschaftliches Kolloquium des VDI-MEG Arbeitskreises Arbeitswissenschaften im Landbau	2009
Heft 67	Monitoring der methanbildenden Mikroflora in Praxis-Biogasanlagen im ländlichen Raum: Analyse des Ist-Zustandes und Entwicklung eines quantitativen Nachweissystems	2009
Heft 68	Wieviel Biogas steckt in Pflanzen Symposium des "Biogas-Crops-Network" (BCN) 7. Mai 2009 Potsdam	2009

Interessenten wenden sich an:

Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V.  
Max-Eyth-Allee 100  
14469 Potsdam

Tel.: (0331) 5699-820  
Fax.: (0331) 5699-849  
E-Mail: atb@atb-potsdam.de

Schutzgebühr: 13,- €