

Enzymatische Behandlung von Biomassegärresten zur Steigerung der Wertschöpfung bei der Biogasproduktion

I. Aibel¹, T. Pöschel¹, B. Simbach^{2} und M. Bertau¹*

*¹TU Bergakademie Freiberg/Deutschland, ²POLL Umwelt- und Verfahrenstechnik
Selm/ Deutschland*

Die wachsende Anzahl an Biogasanlagen in Deutschland ermöglicht auf der einen Seite einen ökoeffizienten Zugang zu Biogas, birgt aber auf der anderen Seite Verarbeitungs- bzw. Entsorgungsprobleme hinsichtlich der anfallenden Gärrestmengen. Klassischerweise werden Gärreste als Dünger auf Anbauflächen ausgebracht; dieser Vorgang ist aber durch spezielle Sperrfristen bzw. festgelegte Ausbringungszeiträume stark reguliert. Zusätzlich hängt die Ausbringbarkeit von der Art und Qualität der Gärreste (z.B. Schwermetallbelastung), den Biogas-inputmaterialien (nachwachsende Rohstoffe, industrielle Abfälle), der Verfügbarkeit von Flächen sowie den angebauten Kulturen und dem daraus folgendem Nährstoffbedarf ab. Um eine Alternative zu bieten oder auch eine flexiblere Nutzung des Gärrestes zu ermöglichen, wird der Weg der Gärrestaufbereitung und damit eine Fest-Flüssig-Trennung unumgänglich.

Gewonnene flüssige Gärreste, vor allem aus NawaRo-Anlagen, weisen in der Regel einen hohen Trockensubstanzanteil auf, wodurch eine Entsorgung über das Abwassersystem aus wirtschaftlicher und ökologischer Sicht nicht sinnvoll ist. So sollte der organische Anteil der flüssigen Gärrestfraktion (Lignin, Hemicellulosen, Cellulosen) für weitere Prozesse zugänglich gemacht werden. Durch die Behandlung des flüssigen Gärrestes durch den Enzymkomplex aus *Penicillium verruculosum* ist es möglich, die Polysaccharide (im Besonderen die Cellulosen) zu spalten, was eine weitere fermentative Anwendung erleichtert. Die gewonnenen zuckerhaltigen Lösungen können im Anschluss zum Anmaischen der Fermentationssubstrate bei der Biogasproduktion verwendet werden oder in eine nachfolgende biologische Abwasserreinigungsstufe als Nährstoffquelle für Mikroorganismen des Belebtschlammes eingeleitet werden. Somit ist eine höhere Wertschöpfung aus Biomassegärresten bei gleicher bzw. sogar gesteigerter Umweltverträglichkeit möglich.

Stoffliche und energetische Nutzung von Weizenstroh zur Herstellung von Biopolymeren

Patrick Ballmann¹, E. Gasser², S. Dröge¹, B. Pacan¹ und H. König² ;

1.) Prüf- und Forschungsinstitut Pirmasens e.V., Pirmasens/Deutschland

2.) Institut für Mikrobiologie und Weinforschung, Universität Mainz/ Mainz

Angesichts des stetig steigenden Energiebedarfs und der Verknappung fossiler Rohstoffe spielen die nachwachsenden Rohstoffe eine immer wichtigere Rolle. Seit Jahren wächst die Bedeutung von lignocellulosehaltiger Biomasse als nachwachsender Rohstoff.

Die Verwertung dieser Biomassen ist allerdings mit verschiedenen verfahrenstechnischen Problemen verbunden. Insbesondere gilt es geeignete Aufschlussverfahren zu entwickeln um Lignocellulose für eine stoffliche Nutzung verfügbar zu machen.

Im Rahmen eines gemeinsamen Forschungsprojektes des PFI und der Universität Mainz soll ein Verfahren für eine Produktion des Biopolymers PHB auf der Basis von Weizenstroh entwickelt werden.

Die einzelnen Prozessschritte umfassen einen thermohydrolytischen Aufschluss (TDH) zwischen 120 und 150 °C mit einer geringen Menge an mineralischer Säure als Katalysator. Anschließend erfolgt der enzymatische Aufschluss des behandelten Weizenstrohs. Die freigesetzten Zucker werden durch spezifische Mikroorganismen fermentativ in PHB umgesetzt. Die bei den Prozessschritten anfallenden Reststoffe sollen im letzten Schritt in Biogas umgesetzt werden. Die Energie aus der Biogasproduktion wird für die TDH und die Fermentation genutzt.

Aus der Kombination von TDH und enzymatischen Aufschluss können bis zu 90 % der Zucker aus dem Weizenstroh gewonnen werden. Die Glucose und Xylose liegen dabei zum größten Teil in zwei getrennten Fraktionen vor und können somit auch getrennt genutzt werden.

Eine solche Gesamtbetrachtungsweise ist sehr wichtig im Hinblick auf die Nutzung von nachwachsenden Rohstoffen wie lignocellulosehaltiger Biomassen in einer Bioraffinerie.

Biokatalytische Umsetzung von Lignocellulose: Einfluss von Esterasen und Peroxidasen auf die Hydrolysierbarkeit von Lignocellulose

A. Duwe¹, N. Tippkötter¹, S. Wiesen¹, A. Imam², C. Lauber², H. Zorn², R. Ulber¹

*¹Bioverfahrenstechnik, Technische Universität Kaiserslautern,
Kaiserslautern, Deutschland*

²Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen, Deutschland

Kommerziell erhältliche cellulolytische Enzyme stoßen bei der Hydrolyse von technischer Lignocellulose bei hohen Feststoffkonzentrationen (≥ 10 % w/v) an ihre Grenzen. Mit steigendem Feststoffgehalt nehmen die Hydrolyseausbeuten trotz gleichbleibendem Enzym-Feststoff-Verhältnis ab. Ein Ansatz zur Steigerung der Effizienz des Abbaus von Lignocellulose ist der Einsatz von ligninolytischen Enzymen, die das komplexe makromolekulare Ligningerüst aufschließen können. Eine partielle Lignin-Degradation und damit die Verbesserung der Zugänglichkeit der cellulolytischen Enzyme an technische Cellulose, wurde durch die Supplementierung von Kulturüberständen verschiedener ligninolytischer Pilze während des Hydrolyseschrittes erreicht.

Es konnte gezeigt werden, dass bei enzymatischen Hydrolysen von Organosolv-vorbehandelter Buchenholz-Cellulose unter Addition von Kulturüberständen von *Stereum* sp. Steigerungen der Glucoseausbeuten um bis zu 30 % möglich sind. Der Weißfäulepilz produziert extrazelluläre Biokatalysatoren, welche vorherrschend Esteraseaktivität zeigen. Ferner lassen sich in Kulturüberständen von *Trichoderma reesei* neben Esterasen heterolog exprimierte Peroxidasen finden. Zurzeit werden mittels statistischer Versuchsplanung für diesen Kulturüberstand Einflussfaktoren der Prozessparameter auf die Hydrolyse ermittelt und deren Einstellung optimiert. Chromatographische Methoden finden Anwendung zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung von Lignin-Degradationsprodukten.

Diese Arbeiten werden durch das Ministerium für Landwirtschaft, Ernährung und Verbraucherschutz im Rahmen des Projekts „Lignocellulose-Bioraffinerie - Aufschluss lignocellulosehaltiger Rohstoffe und vollständige stoffliche Nutzung der Komponenten (Phase 2)“ (FKZ 22019409) gefördert.

Der Einfluss verschiedener Trocknungsparameter auf die Lagerung sowie enzymatische Hydrolysierbarkeit lignocellulosehaltiger Biomasse

S. Möhring, M. Flüggen, J. Roth, N. Tippkötter

Nachwuchsgruppe „BioSats“, Lehrgebiet Bioverfahrenstechnik, Technische Universität Kaiserslautern, Deutschland

Im Rahmen der Arbeiten der BMELV-geförderten Nachwuchsgruppe „BioSats“ werden lokale Vorbehandlungsstrategien für die weitere Verwendung nachwachsender Rohstoffe in Bioraffinerien untersucht. Einer der Forschungsschwerpunkte liegt in der Evaluierung verschiedener landwirtschaftlicher Ernterückstände hinsichtlich ihrer Verfügbarkeit im Jahresverlauf, sowie ihrer Eignung für die fermentative Biobutanolgewinnung.

Oftmals zeichnen sich diese landwirtschaftlichen Reststoffe einerseits durch hohe Diversität, sowie andererseits durch hohe Verderblichkeit aus. Auch ist der Anteil der verwertbaren Strukturpolysaccharide, wie Cellulose und Hemicellulose, unterschiedlich, sodass für einen ökonomisch sinnvollen Betrieb einer Bioraffinerie definierte Stoffströme generiert werden müssen. Diese können, abhängig von lokalen Anbauswerpunkten und damit abhängig von den anfallenden Rohstoffarten, variieren. Um sowohl die Lagerungsfähigkeit zu erhöhen als auch die Schüttdichte und damit das Transport- und Lagervolumen der Agrarreststoffe zu verringern, kann sich eine Trocknung der Biomasse als sinnvoll erweisen. Diese kann direkt auf dem Feld erfolgen, oder bei erhöhten Temperaturen.

Es werden Versuchsergebnisse zum Einfluss verschiedener Trocknungsverfahren auf die nachfolgende enzymatische Hydrolyse vorgestellt. Bei der verwendeten Biomasse handelt es sich um typische landwirtschaftliche Abfallprodukte, wie Gras- und Heckschnitt. Frisch weisen diese einen Wassergehalt von mehr als 50 % auf, was insbesondere beim Grasschnitt zu schnellem Verderb führen kann. Die untersuchten Parameter sind hierbei die Trocknungstemperatur, die Trocknungszeit und die in der Biomasse verbleibende Restfeuchtigkeit, bzw. deren Einfluss auf die weitere Verwertbarkeit in Bioraffinerien. Die Bewertung der Verfahren findet anhand der jeweiligen Ausbeuten an Monosacchariden nach der Hydrolyse statt, wobei auch morphologische Veränderungen der Zellwandstruktur, sowie die Bildung fermentationshemmender Substanzen berücksichtigt werden. Zusätzlich wird die Lagerungsfähigkeit der getrockneten und ungetrockneten Proben unter definierter Luftfeuchtigkeit, Temperatur und Beleuchtung verglichen.

Diese Arbeit wird durch das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verkehr unter dem Projektnamen „Lokale Vorbehandlung nachwachsender Rohstoffe für Bioraffinerien“ gefördert (FKZ 22028411).

Monitoring functions in managed biogas systems by cytometric bar coding

Christin Koch¹, Ingo Fetzer², Thomas Schmidt³, Hauke Harms² Susann Müller²

¹UFZ – Helmholtz Centre for Environmental Research, Department of Bioenergy,
Leipzig, Germany

²UFZ – Helmholtz Centre for Environmental Research, Department of Environmental
Microbiology, Leipzig, Germany

³DBFZ – German Biomass Research Centre, Department Biochemical Conversion,
Leipzig, Germany

Cytometric monitoring of microbial community dynamics can be used to estimate stability of technical microbial processes like biogas production by analysis of segregated cell abundance changes. In this study, structure variations of a biogas community were cytometrically recorded over 9 months and found to be of diagnostic value for process details. The reactor regime was intentionally disturbed with regard to substrate overload or H₂S accumulation. A single-cell based approach called cytometric bar coding (CyBar) for fast identification of reactive sub-communities was developed. Functional information on specific sub-communities' activities was included by processing CyBar data with abiotic reactor parameters using Spearman correlation coefficient. Twenty sub-communities showed a discrete and divergent behaviour. For example, a fourfold substrate overload increased the cell numbers of acidogenic index sub-communities to 176 and 193 % within three days. Changes in the process regime were shown to result rather in changes of cell abundances in sub-communities than in variation of overall phylogenetic composition. The provided workflow and the developed macros are ready-to-use tools and allow on-site monitoring and interpretation of variation in microbial community functions within a few hours.

Dynamik der mikrobiellen Gemeinschaft einer landwirtschaftlichen Biogasanlage nach in Betriebnahme

Maria Naumann, Ruth Freitag, Universität Bayreuth, Deutschland

Für die Produktion von Biogas in technischen Anlagen spielen mikrobielle Gemeinschaften eine entscheidende Rolle. Diese werden in Ihrer Zusammensetzung und Funktion von den angelegten Prozessparametern beeinflusst. In technischen Anlagen wird die Biogasausbeute gern als Funktion von Substrataufbereitung und –zusammensetzung, Temperatur und Prozessführung betrachtet. Die Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften wird dabei oft vernachlässigt. Sie ist für einzelne, etablierte Anlagen mit verschiedenen Methoden unterschiedlich detailliert beschrieben. Die Dynamik und das Zusammenwirken der Gemeinschaften und deren Bedeutung für die Biogasausbeute sind jedoch nur unzureichend verstanden. Diese werden hier am Beispiel einer Biogasanlage bei Inbetriebnahme genauer untersucht.

In landwirtschaftlichen Biogasanlagen werden mikrobielle Gemeinschaften bei Inbetriebnahme üblicherweise mittels Ferment oder Gärresten, aus anderen bereits etablierten Anlagen, eingebracht und anschließend die Prozessparameter angepasst. Wir gehen davon aus, dass:

- a) sich nur Mikroorganismen in der in Betrieb zunehmenden Anlage etablieren können, die bereits im Impfgut vorhanden sind;
- b) die Dynamik der mikrobiellen Gemeinschaft nach Anpassung der Prozessparameter bis zur Etablierung der Anlage besonders ausgeprägt ist.

Um dies zu untersuchen werden wöchentlich Proben aus der Anlage entnommen, die DNA extrahiert und die Methanogenen mittels qPCR quantifiziert. Des Weiteren wird zu verschiedenen Zeitpunkten die Diversität der mikrobiellen Gemeinschaft mittels PCR, Klonierung, RFLP und anschließender Sequenzierung verglichen um Veränderungen zu erfassen. Parallel dazu wird der Zustand der anaeroben Abbauprozesse mittels FOS/TAC Wert ermittelt und die Gaszusammensetzung und –ausbeute bestimmt. Die Beobachtungen der Gemeinschaft über den Zeitraum eines halben Jahres hinweg werden dazu beitragen die Zusammenhänge zwischen Prozessparametern und der mikrobiellen Dynamik besser zu verstehen.

Herstellung von Folien aus Rohkollagen

*Kristin Riedel, Markus Pietzsch, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,
Naturwissenschaftliche Fakultät I, Institut für Pharmazie, Abteilung Aufarbeitung
biotechnologischer Produkte, D-06099 Halle/Saale*

Die Entwicklung von innovativen Materialien aus nachwachsenden Rohstoffen zum Ersatz erdölbasierender Polymere ist durch eine strengere Gesetzgebung, Erdölverknappung und einem verstärktem Umweltbewusstsein der Verbraucher zur wichtigen Herausforderung geworden. Im Besonderen bieten Biopolymere aus Proteinen aufgrund deren Funktionsvielfalt wie vollständiger biologische Abbaubarkeit, Kompostierbarkeit und selektiver Permeabilität ein großes Potenzial und sind für den Einsatz in der Landwirtschaft, Medizin und Verpackungsindustrie von Interesse. Andererseits limitieren unzureichende funktionale Eigenschaften (geringe mechanische Stabilität, schwache Wasserresistenz) eine weitere Ausschöpfung vorhandener Marktpotenziale.

Rohkollagen, ein bei der Tierschlachtung in großen Mengen anfallendes Koppelprodukt, konnte als erneuerbarer Rohstoff für die Herstellung von Folien auf Proteinbasis ermittelt werden. Ohne Zusatz eines externen Weichmachers wurden durch ein Gießverfahren mechanisch stabile, witterungsbeständige und biologisch abbaubare Folien produziert. Mit einer Zugfestigkeit von 55 N/mm^2 waren die Folien deutlich fester als konventionelle, erdölbasierende Folien ($10\text{-}30 \text{ N/mm}^2$). Die Dehnbarkeit war mit maximal 4 % stark limitiert. Durch eine enzymatische Vernetzung des Proteins mittels mikrobieller Transglutaminase (MTG) konnten die Folieneigenschaften optimiert werden. So wurde z.B. die Wasserlöslichkeit der Kollagenfolien bei Temperaturen größer als 40 °C durch die Vernetzung deutlich reduziert. Dabei erwies sich eine rekombinante MTG gegenüber der kommerziellen MTG Activa[®]WM (1 % Enzym, 99 % Maltodextrin) als vorteilhaft, da das Dextrin eine Versprödung der Folien bewirkte. Die Oberfläche der Kollagenfolien war unabhängig vom Vernetzungsgrad sehr hydrophob ($\theta > 90 \text{ °}$).

Mit einem Rohstoffpreis von $\sim 1 \text{ €/kg}$ stellt Rohkollagen für die Herstellung von Biokunststoffen im Vergleich zu anderen Proteinen (Gelatine: $\sim 13 \text{ €/kg}$) eine preisgünstige Alternative dar.

Konzepte zur enzymatischen Hydrolyse von Lignocellulose

Roth J., Eiche P., Möhring S., Ulber R., Tippkötter N.

Technische Universität Kaiserslautern, Lehrgebiet Bioverfahrenstechnik,

Nachwuchsgruppe BioSats, Kaiserslautern

Der Einbezug nachwachsender Rohstoffe als Quelle der stofflichen und energetischen Supplementierung endlicher Ressourcen ist in den vergangenen Jahren deutlich erweitert worden. In Hinblick auf die fortwährende Gewährleistung des absehbaren hohen Produktions- bzw. Lieferbedarfs nachwachsender Rohstoffe durch landwirtschaftliche Betriebe, erscheinen dezentrale regionale Vorbehandlungs- und Wertschöpfungsanlagen unerlässlich.

Zielsetzung der hier vorgestellten Arbeiten ist die Ermittlung ökonomisch sinnvoller Vorverarbeitungsschritte für verschiedenartige Pflanzenreststoffe (u. a. Gras, Grünschnitt, Stroh sowie Holzreste) zum Zweck des Transports in Bioraffinerien. Dabei wird der Einfluss unterschiedlicher Verarbeitungsstufen, wie mechanische (Mahlen, Pressen) und thermische (Trocknen) Grundoperationen, als auch mikrobieller Vorkonditionierung von Pflanzen, auf deren enzymatischen Umsetzbarkeit in Monosaccharide, überprüft.

In Folge dessen, soll auch die Zugänglichkeit der hydrolytischen Enzyme weiter gesteigert werden, weshalb nachfolgende Ansätze gewählt wurden. Vornämlich werden Ergebnisse zur Hydrolyse von Lignocellulose mit Hilfe eines statischen und dynamischen Systems verglichen. Zum einen kommt ein Reaktor mit Substratrückhaltung zum Einsatz welcher höhere Feststoffkonzentrationen und gesteigerte Produkt-Konzentrationen ermöglicht. Des Weiteren soll vergleichend dazu, der Effekt der Durchmischung während der Hydrolyse mit Hilfe verschiedener Rührelemente dargelegt werden, welche einen verbesserten Leistungseintrag ermöglichen. Die so gewonnenen Pflanzenreststoff-Hydrolysate werden im Anschluss auf deren Potential zur weiteren fermentativen Gewinnung des Modellprodukts Butanol untersucht.

Diese Arbeiten werden vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), im Rahmen des Projekts „Lokale Vorbehandlung nachwachsender Rohstoffe für Bioraffinerien“ (FKZ 22028411), gefördert.

Charakterisierung der Hydrolyse von Lignocellulose durch den Enzymkomplex aus *Penicillium verruculosum*

D. Steffien, M.Bertau, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg/Deutschland

Die Nutzung lignocellulosehaltiger Rohstoffe, wie zum Beispiel Agrarabfälle, Schilf, Papier oder Steppengräser, ermöglicht die Produktion einer Reihe von Plattformchemikalien ohne lebensmittelrelevante Pflanzen zu verwenden. Derartige Produktionsprozesse sind aufgrund hoher Kosten, insbesondere durch hohe Enzymkosten, bis jetzt noch nicht konkurrenzfähig, sodass momentan auf zuckerbeziehungsweise stärkehaltige Rohstoffe zurückgegriffen wird. Für die Optimierung der Prozessparameter und damit verbunden die Senkung der Produktionskosten, ist die genaue Kenntnis der ablaufenden Prozesse essentiell.

Sowohl die Verwendung eines alternativen Enzymkomplexes aus *Penicillium verruculosum* wie auch die Charakterisierung der enzymatischen Hydrolyse wurde als Schlüssel zur effektiven Prozessoptimierung erkannt. Am Beispiel Weizenstroh wurden daher Untersuchungen zur Hydrolysekinetik (insbesondere geschwindigkeitsbestimmende Schritte), zu auftretenden Adsorptionsprozessen und zur Abhängigkeit des Hydrolyse-Ergebnisses von der eingesetzten Vorbehandlungsmethode durchgeführt. Im Mittelpunkt aller Untersuchungen stand der Enzymkomplex aus *Penicillium verruculosum*, welcher gegenüber dem herkömmlichen Enzymkomplex aus *Trichoderma reesei* eine höhere β -Glucosidaseaktivität aufweist.

Auf Basis der erhaltenen Daten kann sowohl die Vorbehandlung als auch die enzymatische Hydrolyse optimiert werden, was unter anderen zur Reduktion der Enzymbeladungsmenge führt. Dadurch kann die Gesamtökonomie des Prozesses verbessert werden, wodurch man dem Ziel einer kostengünstigen Produktion von Treib- und Rohstoffen aus Biomasse einen Schritt näher kommt.

Flüssig-flüssig-Extraktion von Sinapin und Sinapinsäure aus Rapsschrotextrakten

A. Thiel, N. Tippkötter, K. Muffler, R. Ulber

*Lehrgebiet Bioverfahrenstechnik, Technische Universität Kaiserslautern,
Kaiserslautern, Deutschland*

Im Rahmen des SynRg-Projektes wird die Herstellung hochwertiger Kunststoffe aus Fettsäuren, Polyphenolen und Polyolen aus dem nachwachsenden Rohstoff Raps untersucht, wobei eine ganzheitliche Nutzung des Rohstoffs zu Grunde liegt. Raps ist in großen Mengen verfügbar und eine interessante Quelle für Biomoleküle, die ein hohes Wertschöpfungspotential aufweisen. Anfang diesen Jahres wurde eine Winterrapsfläche zur Ernte von rund 1,43 Millionen Hektar in Deutschland ausgesät und im Januar 2013 erzielte eine Tonne Rapsschrot einen Marktwert von 273 € [1]. Im Teilvorhaben 6 des Projektes, in dem der Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik angesiedelt ist, wird unter anderem die Gewinnung von Sinapin, Sinapinsäure, Phytinsäure und Proteinen aus Rapsschrot untersucht.

Für die Aufreinigung der Polyphenole aus Rapsschrotextrakten stehen adsorptive sowie extraktive Prozesse zur Wahl. Derzeit wird an einem extraktiven Prozess zur Isolierung gearbeitet, da eine adsorptive Aufarbeitung eine vorherige Hydrolyse des Sinapins in Sinapinsäure erfordert, um quantitative Ergebnisse zu erzielen. Erste Ergebnisse zeigen bereits, dass eine Extraktion durchgeführt werden kann, wobei wie zu erwarten eine gegenläufige Tendenz der Extraktionseffizienz bzgl. Sinapin und Sinapinsäure in Abhängigkeit von der Polarität des Lösemittels zu beobachten ist. Durch die Wahl der Polarität kann daher eine gezielte Extraktion der einzelnen Komponenten erfolgen. Bei einem gleichen Lösemittel zu Extrakt Verhältnis konnte bereits in nur einem Extraktionsschritt mit Ethylacetat ca. 80 % Sinapinsäure und mit Octanol ca. 80 % Sinapin extrahiert werden. Im Projekt wird parallel auch der Verbleib weiterer Rapsinhaltsstoffe analysiert und untersucht, ob deren Fraktionierung erreicht werden kann.

Dieses Vorhaben wird aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) durch seinen Projektträger der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) unter der Projektnummer 22023008 gefördert.

[1] Agrarmarkt Informations-Gesellschaft mbH, Kommentar KW01 2013, Stand Januar 2013, <http://www.proteinmarkt.de/markt/marktberichte>

Neue Energieträger: Bioethanol aus teilentzuckertem Molkenkonzentrat

C. Wagner¹, S. Beutel¹, H. Buchholz², R. Finke³, L. Wilkening³, T. Scheper¹

1) Institut für Technische Chemie, Callinstr. 5, 30167 Hannover

2) Biolac GmbH & Co. KG, Am Bahnhof 1, 31097 Harbarnsen

3) Kraul & Wilkening u. Stelling GmbH, Lohweg 39, 30559 Hannover

Stand der Technik der der heutigen nachhaltigen und wertschöpfenden Nutzung von Molke ist die Rückgewinnung von Proteinen, Milchzucker und Salzen. Die Herausforderung liegt in der Verminderung der Abwasserlast der molkenverarbeitenden Industrie. Das teilentzuckerte Molkenkonzentrat (TEM) enthält etwa 20 % Milchzucker und geringe Mengen an Protein (1 %). Dies führt zu einem hohen Entsorgungsaufwand aufgrund des hohen chemischen Sauerstoff-Bedarfs (CSB). Alternativ kann eine Vergärung des Milchzuckers zu Ethanol mittels Hefen der Spezies *Kluyveromyces* erreicht werden. Auf diese Weise lässt sich Bioethanol gewinnen und die Abwasserbelastung verringern. Die biotechnologische Verwertung von Molkereiabwässern findet deutschlandweit jedoch noch keine weitverbreitete Anwendung und ist zudem nur dezentral sinnvoll.

Der biotechnologische Prozess besteht aus zwei Stufen: der Hefeanzucht und der Fermentation. Hierfür müssen die verwendeten Hefen sowohl gute Wachstumseigenschaften unter aeroben als auch gute Gäreigenschaften unter anaeroben Bedingungen aufweisen. Die Ethanolausbeute und die Ethanolbildungsrate sind dabei stark abhängig von der Verdünnung des TEM. Eine weitere Optimierung des Prozesses ist durch die Rückgewinnung der Biomasse erreichbar. Durch diesen *repeated-batch* Modus kann eine erneute langwierige Anzucht vermieden werden.

Simultane Verzuckerung und Fermentation (SSF) von Organosolv Birkenholz Faserstoff zu ABE-Lösungsmitteln im halbkontinuierlichen Zulaufverfahren

Wiesen S., Duwe A., Tippkötter N., Ulber R.

TU Kaiserslautern, Lehrgebiet Bioverfahrenstechnik, TU Kaiserslautern

Die enzymatische Hydrolyse von lignocellulosehaltigem Material zu fermentationsfähigen Substraten erlaubt die Nutzung nicht essbarer nachwachsenden Rohstoffen zur Herstellung von Basischemikalien sowie Treibstoffen. Bei den hierfür notwendigen hohen Zuckerkonzentrationen kommt es jedoch zu einer enzymatischen Inhibierung und damit zum Stillstand der Hydrolyse. Des Weiteren ist die Mischbarkeit der Rohstoffe bei hohen Feststoffkonzentrationen über 15 % (w/v) gering. Beiden Problemen lässt sich durch einen integrierten Ansatz von simultaner Fermentation und Hydrolyse im Zulaufverfahren begegnen (Fed-SSF).

Aufgrund der vorteilhaften Eigenschaften von Butanol als Treibstoff gegenüber Ethanol ist die klassische ABE Fermentation erneut in den Blickpunkt von Forschung und Industrie gerückt. Der weithin etablierte Butanol-Produzent *Clostridium acetobutylicum* eignet sich aufgrund seiner Robustheit gegenüber Nebenprodukten der Holzhydrolyse und seiner Fähigkeit sowohl Glucose als auch Xylose zu verstoffwechseln in hohem Maß zur Fermentation von Lignocellulosehydrolysat.

Unter Verwendung von enzymatischem Holzhydrolysat als Glucosequelle können ohne weitere Vorbehandlung des Substrats Butanolkonzentrationen von bis zu 9 g/L erreicht werden. Diese sequentielle Butanolherstellung wird durch hohe Essigsäuregehalte von bis zu 30 g/L im Hydrolysat limitiert, die zum sogenannten „Säurecrash“ führen, sobald der pH-Wert unter 5,2 fällt. Eine simultane Verzuckerung und Fermentation ist bei einer Faserstoffkonzentration von 100 g/L mit vergleichbaren Butanolkonzentrationen möglich und nicht durch den Säurecrash limitiert. Jedoch muss zur Regelung des pH-Werts eine geringe Mischzeit der Suspension gewährleistet sein. Aus diesem Grund bietet sich ein Zulaufverfahren an, bei dem neuer Lignocellulosefaserstoff in mehreren Stufen bis zu einer Gesamtkonzentration von 200 g/L zugegeben wird. Hierdurch findet eine fortlaufende Degradierung der Fasern statt und die mittlere scheinbare Viskosität der Suspension ist vergleichsweise gering.

TREEFORJOULES: Improving eucalypt and poplar wood properties for bioenergy

Petra Schönicke, Robert Shahab, Birgit Kamm

Research Institute Bioactive Polymer Systems (Biopos) e.V. and BTU Cottbus,
Research Center Teltow-Seehof, Kantstraße 55, 14513 Teltow

In the frame of Plant-KBBE III project TreeForJoules (BMBF FKZ: 0315914B) the Research Institute Biopos e.V. has been checked the wood plant *Populus* and *Eucalyptus* for utilization as feedstock in the lignocellulosic biorefinery. This work is part of whole project aims to uncover processes/genes regulating relevant wood cell wall properties in poplar and eucalyptus.

The Biopos specific aims in the project are:

- (1) Characterization of precursors carbohydrates, lignin, minerals
- (2) Detail characterization of Klason Lignin (Acid Insoluble Lignin, AIL) and Soluble Lignin (ASL)
- (3) Detail characterization of C-5 and C-6 sugars
- (4) Test of different samples for saccharification and bio-ethanol potential.
- (5) Test of different samples for simultaneous saccharification and fermentation for production of Ethanol

Thereby, extract free wood samples were investigated regarding dry mass (NREL/TP-510-42621, ash (NREL/TP-510-42622) as well as the organic composition lignin, glucan, xylan (NREL/TP-510-42621). The results are presented from *Eucalyptus globulus*, milled < 0,5 mm, *Populus nigra* (12 year old), milled < 1 mm and *Eucalyptus urophylla*, milled < 1 mm.

The recently work is focused on the investigation of simultaneous saccharification and fermentation of carbohydrates for production of biofuel and the substantial utilization of lignin. Enzymatic cellulose degradation was studied using steam-treated samples of poplar wood as starting material delivered from project partner vTi (see partner List). Sugar solutions were obtained in a first step by different enzyme mixtures. Final sugar concentrations were measured by method of HPLC. The further work envelop the investigation of simultaneous saccharification and fermentation of carbohydrates by using of in-situ gas analysis for fermentation.

References:

Kamm, B.; Gruber, P.R.; Kamm, M.; Biorefineries- Industrial Processes and Products, ULLMANN'S ENCYCLOPEDIA OF INDUSTRIAL CHEMISTRY, 7th ed. WILEY-VCH, 2011, ISBN: 978-3-527-32943-4

Partners:

- Fladung, M.; Johann Heinrich von Thünen Institute (vTI), Institute of Forest Genetics, 22927 Großhansdorf, Germany
- Bodo Saake, Hamburg University, Department for Wood Technology and Wood Biology, Germany
- Dietrich Meier, Thünen Institute of Wood Technology and Wood Biology Research, 21031 Hamburg, Germany
- Grima-Pettenati J., LRSV, 5546 Université Toulouse III /CNRS, BP 42617, Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan, France (Coordinator)
- Leple J.C., INRA - Centre d'Orléans AGPF, 45075 Orleans, France
- Gion J.M., CIRAD. BIOS Department, UPR39, Diversité génétique et amélioration des espèces forestières. TA A-39/C. Campus international de Baillarguet. 34398 Montpellier Cedex 5, France
- Harvengt L., FCBA, Lab. Biotechnologie Domaine de l'Etancon, 77370 Nangis, France
- Araujo C., Silvicaima, Head Office: Av. Conde Valbom, nº 30 – 5º, em Lisboa, Portugal
- Pinto Paiva J., IBET Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica Ap 12 2781-901 Oeiras, Portugal
- Rodriguez J., ICT Centro de Florestas e Produtos Florestais, ISA-DEF Tapada da Ajuda 1349-017 Lisboa, Portugal
- Lopez G., ENCE - Centro de Investigación Forestal. Ctra. A-5000 km. 7.5 - 21007 Huelva, Spain

- Canton F., Universidad de Málaga, Dpto. Biología Molecular y Bioquímica E-29071 Málaga, Spain
- Allona I., Universidad Politécnica de Madrid CBGP UPM-INIA E-28223 Madrid, Spain
- Sixo-Blanco H, CIFOR-INIA Centro de Investigación Forestal, Car/ Coruña km. 7, 5, 28040 Madrid, Spain