Member of PFI Group

Abschlussbericht zum Forschungsprojekt:

Stoffliche und energetische Nutzung von Stroh

Datum: 2010-04-30
Geschäftszeichen: 8407-6536-08/1

Zuwendungsempfänger:
Prüf- und Forschungsinstitut Pirmasens
Marie-Curie-Str. 19
66953 Pirmasens

Berichtsverfasser:
Dipl. Ing. (FH) Benjamin Pacan,
Dr. Stefan Dröge
benjamin.pacan@pfi-biotechnology.de
stefan.droege@pfi-biotechnology.de

Projektlaufzeit: 01.08.2008 – 31.12.2009
Berichtszeitraum: 01.08.2008 – 31.12.2009

Das Forschungsprojekt wurde mit finanzieller Unterstützung des Europäischen Fonds für regionale Entwicklung – EFRE – und des Ministeriums für Wirtschaft, Verkehr, Landwirtschaft und Weinbau in Rheinland-Pfalz durchgeführt.

Inhaltsverzeichnis

1. Darstellung des Vorhabens und Aufgabenstellung 4
1.1 Zusammenfassung 4
1.2 Stand des Wissens und der Technik 4
1.2.1 Stroh als landwirtschaftliches Koppelprodukt 4
1.2.2 Hydrothermaler Aufschluss von Biomassen 7
1.2.3 Enzymatische Hydrolyse von Cellulose 9
1.2.4 Biotechnologische Konversionen auf der Basis von Hydrolysaten 11
1.2.5 Chromatographische Trennverfahren 13
1.3 Aufgabenstellung 14
1.4 Planung und Ablauf des Vorhabens 15

2. Darstellung der erzielten Ergebnisse 16
2.3 Untersuchungen zur Vergärbarkeit von Stroh 16
2.4 Biotechnologische Konversionen in Strohhydrolysaten 20
2.5 Trennung und Aufreinigung von Zuckern 26
2.6 Planungen einer Großtechnikumsanlage 35
2.7 Wirtschaftlichkeitsbetrachtung 37
2.8 Umweltbetrachtung 40

3. Zusammenfassung und Diskussion 42

Literatur 46

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Konzentration der Zuckermonomere im Hydrolysat von Biertreber in Abhängigkeit von der Behandlungstemperatur. Seite 9
Abbildung 2: Funktionsweise eines annularen Chromatographen (Ringspaltchromatograph). Seite 14
Abbildung 3: Summe der organischen Säuren der Vergleichsansätze bei der Vorhydrolyse. Seite 16
Abbildung 4: 100 l Pfropfenstrom-Durchflussfermenter im PFI. Seite 17
Abbildung 5: Vergleichender dynamischer Gärtest mit TDH- und unbehandeltem Weizenstroh. Seite 18
Abbildung 6: Vergleichender statischer Gärtest mit TDH- und unbehandeltem Weizenstroh. Seite 20
Abbildung 7: Einfluss von externen Stickstoffquellen auf die Xylitolfermentation in Strohhydrolysaten mit Candida guillerimondii FTI 20037. Seite 22
Abbildung 8: Einfluss des pH-Wertes auf die Xylitolfermentation in Strohhydrolysaten mit Candida guillerimondii FTI 20037. Seite 24
Abbildung 9: Xylitolfermentation in Strohhydrolysaten unter optimierten Bedingungen mit Candida guillerimondii FTI 20037. Seite 25
Abbildung 10: Kontinuierliche Aufgabe des Gemisches (violett) und räumliche Trennung der Komponenten (rot / blau). Seite 26
Abbildung 11: Ionenaustauscherharz Purolite PCR631. Seite 27
Abbildung 12: Trennung von Xylose und Xylitol auf der präparativen Säule. Seite 27
Abbildung 13: HETP gegen Fluss Diagramm für die präparative Säule . Seite 28
Abbildung 14: Trennung von Xylitol und Xylose auf der CAC bei einmaliger Zugabe und stehendem Ringspalt. Seite 29
Abbildung 15: Versuche mit stehender CAC und einmaliger Aufgabe durch Feedleitung. Seite 30
Abbildung 16: Übersicht innere Ausgänge (B1 bis B15). Seite 31
Abbildung 17: Übersicht äußere Ausgänge (A1 bis A15). Seite 32
Abbildung 18: Übersicht aller Ausgänge (A1 bis A15 und B1 bis B15). Seite 33

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Technische Potenziale der Ernterückstände (2000) Seite 6
Tabelle 2: Landkreise in Rheinland-Pfalz mit höherem verfügbarem Strohaufkommen. Seite 7
Tabelle 4: Ergebnisse der Versuche zur Drehgeschwindigkeit. Seite 34

1. Darstellung des Vorhabens und Aufgabenstellung

1.1 Zusammenfassung

Gegenstand des vorliegenden Forschungsvorhabens war eine Verfahrensentwicklung für eine gekoppelte stoffliche und energetische Nutzung von Stroh. Im Rahmen des Projektes wurden zunächst die Parameter für einen effizienten hydrothermalen Aufschluss von Strohs mittels Thermodruckhydrolyse (TDH) ermittelt. Ziel war hierbei die Hemicellulosefraktion des Strohs weitgehend in Monosaccharide zu überführen sowie die Cellulosefraktion für einen nachfolgenden enzymatischen vorzubereiten. Die mittels TDH gewonnenen Hydrolysate enthielten als Hauptzuckerfraktion den Pentosezucker Xylose, dieser diente als Ausgangssubstrat für eine fermentative Herstellung des Zuckerersatzstoffes Xylitol. Als Produktionsorganismus wurde hierbei die Hefe *Candida guillierimondii* eingesetzt. Zur Abtrennung und Aufreinigung des Zielproduktes wurde das Verfahren der kontinuierlichen annularen Chromatographie (CAC) eingesetzt. Im Hinblick auf eine weitergehende stoffliche Nutzung des Substrates wurden die Reste des TDH-Aufschlusses, welche im Wesentlichen aus der Lignin- und Cellulosefraktion bestanden, einem enzymatischen Aufschluss unterzogen.

Parallel zu den Untersuchungen zu einer stofflichen Nutzung des Substrates, wurden die verfahrenstechnischen und prozessbiologischen Grundlagen für eine energetische Nutzung von hydrothermal aufgeschlossenem Stroh durch eine Biogasproduktion untersucht.

1.2 Stand des Wissens und der Technik

1.2.1. Stroh als landwirtschaftliches Koppelprodukt

Die Studie „Energienutzung aus Biomasse“ des Leipziger Instituts für Energetik und Umwelt gGmbH [IEU2002], durchgeführt im Auftrag des „Wissenschaftlichen Beirates der Bundesregierung Globale Umweltveränderungen“, hat eine Abschätzung des für die energetische oder stoffliche Verwertung nutzbaren Anteils an Stroh verschiedener Herkunft vorgenommen. Strohliefernde Kulturarten wie Getreide, Mais und Ölsaaten werden in Deutschland auf schätzungsweise 7,7 – 8,1 Mio. ha angebaut (im Jahr 2000 etwa 8,1 Mio. ha). Auf Basis dieser Flächen schätzen die Autoren der Studie das bundesweite Gesamtstrohaufkommen auf ca. 49 Mio t/a, wovon rund 20 % für die

energetische oder stoffliche Verwertung genutzt werden könnten. Im Bundesland Rheinland-Pfalz liegt das jährliche Strohaufkommen laut aktuellen Schätzungen bei ca. 1,3 Mio t/a. Unter Berücksichtigung anderweitiger Nutzungsanforderungen wie der Erhaltung des Nährstoffkreislaufes des Bodens, des Einstreubedarfs bei der Tierhaltung sowie des Gärtnereibedarfs stehen hiervon ca. 0,23 Mio t/a zur stofflichen und energetischen Nutzung zur Verfügung. Derzeit beschränkt sich die energetische Verwertung in erster Linie auf die Verbrennung von Stroh, die allerdings aufgrund der hohen Emissionen mit einigen Schwierigkeiten verbunden ist. Eine Alternative zur direkten Strohverfeuerung stellt die Strohvergasung und anschließende Verfeuerung dar. In Wiesenburg bei Zwickau (Sachsen) hat 2003 nach einjähriger Versuchsphase eine solche Anlage mit einer Leistung von 140 kW den Dauerbetrieb aufgenommen. Ein völlig neues Konzept für die Nutzung von Stroh wurde vom Forschungszentrum Karlsruhe und dem BFH-Institut für Holzchemie in Hamburg ausgearbeitet. Dabei soll die Biomasse in regionalen Anlagen durch Schnellpyrolyse verflüssigt werden. Das entstehende Pyrolysegas wird verbrannt und für den Betrieb der Anlagen genutzt. Die kondensierten Pyrolyseöle und der gemahlene Pyrolysekoks werden zu einem sogenannten *Slurry* vermischt, dieser wird mit Bahnkesselwagen zu einer zentralen Flugstrom-Druckvergasungsanlage gebracht und dort zu Synthesegas verarbeitet. Dieses Synthesegas kann zu Methanol verarbeitet werden, das entweder direkt als Treibstoff genutzt wird, durch katalytische Spaltung mit Wasser als Wasserstoffspeicher dienen kann oder aber über Zeolith-Katalysatoren in Grundchemikalien umgewandelt wird. Wirtschaftlich umsetzbar erscheint dieses Konzept allerdings nur auf der Grundlage von Großanlagen was einen erheblichen Investitionsbedarf (~ 1,3 Mrd. € Basisinvestitionen) und darüber hinaus einen enormen Flächenbedarf erfordert. Eine andere Form der energetischen Nutzung von Stroh ist die Vergärung in Biogasanlagen. Wie aus Tab. 1 ersichtlich ist, haben in Deutschland Stroh, Gras, Rübenblatt und Kartoffelkraut die höchsten Biogaspotentiale aus Ernterückständen.

Tabelle 1: Technische Potenziale der Ernterückstände (2000) in Deutschland*.

Rückstandsart	Anbaufläche	Anfallende Rückstands menge	Energetisch nutzbare Menge	Energetisch nutzbare Trocken-substanz	Biogas-potenzial	Technisches Energieträger Potenzial
	Mio. ha	Mio tFM/a	Mio tFM/a	Mio. t TS/a	Mio. m3/a	PJ/a
Stroh (Vergärung als Ko-Fermentat)	8,1	48,9	9,3	7,6	1800 - 3100	38,5 – 66,4
Gras aus Dauergrünland, Wiesen, Weiden	5,3 (davon 4,1 Wiesen und Weiden)	32,8	2,6 – 4,0	0,9 – 1,4	750 - 1100	16,0 – 24,0
Rübenblatt	0,46	23,0	5,8 – 11,5	0,6 – 1,1	280 - 550	5,9 – 11,8
Kartoffelkraut	0,3	4,4	0,75 – 1,5	0,15 – 0,3	190 - 380	4,1 – 8,2
Gemüse- und Zierpflanzenproduktion	0,1	1,4	0,13 – 0,26	0,01 – 0,03	7 - 13	0,1 – 0,2
Wein u. Hopfen	Hopfen: 0,02 Wein: 0,1	0,75	0,25 – 0,5	0,05 – 0,1	36 - 72	0,8 – 1,6
Summe Ernterückstände der Landwirtschaft (gerundet)			19 - 27	9,3 – 10,5	3100 - 5200	65 – 113

*Quelle: Kaltschmitt, M., Merten, D., Frohlich, N. und Nill, M: „Energiegewinnung aus Biomasse“. Berlin, Heidelberg (2003)

Da die Vergasung oder Verbrennung von Stroh zunächst nicht flächendeckend realisierbar ist, könnte Stroh als Kosubstrat in Biogasanlagen verwendet werden. Die Angaben zum spezifischen Biogasertrag aus Getreidestroh variieren in der Literatur zwischen 0,17 und 0,5 m^3/kg oTS. Die Probleme bei der Strohvergärung liegen darin begründet, dass Lignin und lignininkrustierte Cellulose nicht oder nur bei sehr langen Verweilzeiten und dann auch nur unvollständig vergärt werden können. Das lässt vermuten, dass der Biogasertrag aus Getreidestroh bei geeigneter Vorbehandlung wie z.B. des hydrothermalen Aufschlusses enorm gesteigert werden kann. Aufgrund der einfachen Lagerfähigkeit von Stroh wäre es ein ideales Substrat für die vegetationsarme Jahreszeit.

Tabelle 2: Landkreise in Rheinland-Pfalz mit höherem verfügbaren Strohaufkommen*.

Gebiets-körper-schaft	Strohauf-kommen in t/a	Stroh-düngung in t/a	Einstreu-bedarf in t/a	Stroh-nutzungen in t/a	Verfügbares Strohpotential
Bad Kreuznach	65.544	32.772	12.734	45.506	20.038
Mayen-Koblenz	133.278	43.982	37.356	81.338	51.940
Rhein-Hunsrück	102.859	33.943	26.874	60.817	42.042
Rhein-Lahn	72.291	23.856	26.034	49.890	22.401
Alzey-Worms	116.725	58.363	2.550	60.913	55.813
Donners-bergkreis	90.112	45.056	20.713	65.769	24.343
Mainz-Bingen	73.371	36.686	4.715	41.401	31.971
Südliche Weinstraße	32.333	16.167	3.241	19.408	12.926
Bad Dürkheim	25.434	12.717	2.489	15.206	10.228
Rheinland-Pfalz	1.302.147	527.788	546.761	1.074.549	227.589
		bei Verzicht auf Strohdüngung:			755.377

*Quelle: Studie zur Weiterentwicklung der energetischen Verwertung von Biomasse in Rheinland-Pfalz, IfaS Birkenfeld

1.2.2 Hydrothermaler Aufschluss von Biomassen

Die Thermodruckhydrolyse kann zum Aufschluss von Biomasse vor der Vergärung in Biogasanlagen eingesetzt werden. Dabei fungiert Wasser unter subkritischen Bedingungen (120 – 220 °C und 2 – 20 bar) als Lösungsmittel, unterstützt durch die natürlichen Inhaltsstoffe der verwendeten Biomasse (z.B. organische Säuren, v. a. Essigsäure) [4]. Die mit dem Temperaturanstieg sinkende Oberflächenspannung, eng gekoppelt an die Benetzungseigenschaften, und die stark verringerte Dielektrizitätskonstante sind verantwortlich dafür, dass subkritisches Wasser als Lösungsmittel für organische Stoffe verwendet werden kann. Untersuchungen am Fraunhofer-Institut für Chemische Technologie in Pfinztal haben außerdem gezeigt, dass Lignin bei Temperaturen von 180 - 200 °C aus dem pflanzlichen Gewebe herausgelöst werden kann. Daneben wird aber auch bei den auftretenden hohen

Temperaturen und Drücken die Hydrolyse von Lipiden, Proteinen und Kohlehydraten, insbesondere der Hemicellulosen, beschleunigt.

Die Thermohydrolyse bewirkt beim Aufschluss des Strohs zweierlei:

1) Xylan und andere Hemicellulosebestandteile werden hydrolytisch gespalten:
   R1-O-R2 + H2O → R1OH + R2OH
   R1 vornehmlich Xylose, aber auch Arabinose, und R2 Poly- und Disaccharide, die wiederum weiter hydrolysiert werden.
2) Ca. 50 % des in der Cellulose inkrustierten Lignins werden gelöst.

Damit wird der nachfolgende enzymatische Abbau der Cellulose zu Glucose vereinfacht und beschleunigt.

Eigene entsprechende Untersuchungen an Biertreber haben gezeigt, dass sich durch eine optimierte TDH-Behandlung Hydrolysate mit Xylosekonzentrationen von ca. 12 % /kg TM erzielen lassen.

Es bestätigten sich die Untersuchungen des Fraunhofer ICT in Pfinztal, dass durch den hydrothermalen Aufschluss bei Temperaturen unterhalb von 200 °C die Cellulose nicht im nennenswerten Umfang in monomere Zucker (Glucose) aufgespalten werden kann [19]. Da die Konzentration von Pentosen ab 170 °C wieder deutlich abnimmt (z. B. durch Furfural- und Essigsäurebildung) ist eine höhere Behandlungstemperatur aufgrund der sinkenden Ausbeute an Xylose und der Bildung von Hemmstoffen für die Xylitolfermentation nicht sinnvoll. Ähnliche Beobachtungen machte das ATZ im FNR-Fördervorhaben FKZ 22005503, wobei dort auf den hydrothermalen Celluloseabbau spekuliert wurde, der bei Temperaturen unter 200 °C jedoch nicht effizient ist und bei Temperaturen über 200 °C aufgrund der starken Karamellisierung von Zuckern zu niedrigen Ausbeuten führt. Im nachfolgenden Diagramm wird die Konzentration von verschiedenen Zuckern in der Aufschlusslösung nach einem Aufschluss von Biertreber im 5L Versuchsautoklav (mit anschließender Fest-Flüssig-Trennung und Aufkonzentrierung mit Vakuum-Destillation bei ca. 80 °C und 300mbar) in Abhängigkeit von der Temperatur dargestellt.

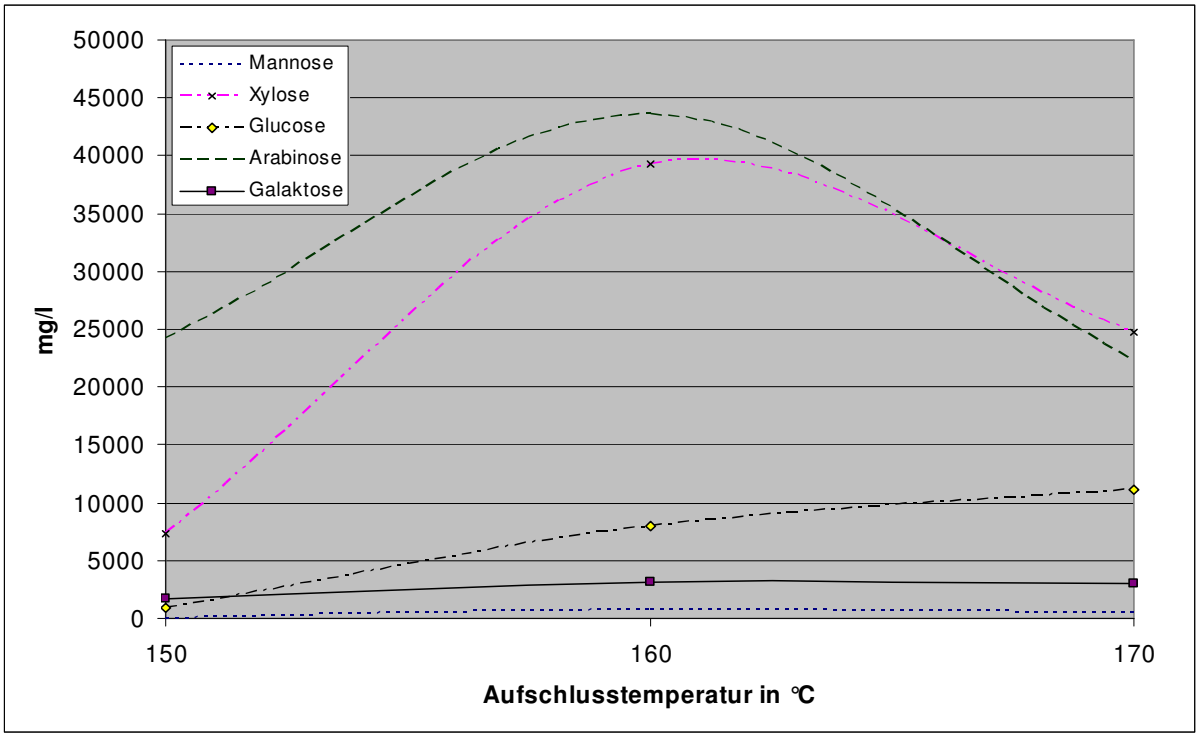

Abbildung 1: Konzentration der Zuckermonomere im Hydrolysat von Biertreber in Abhängigkeit von der Behandlungstemperatur.

1.2.3 Enzymatische Hydrolyse von Cellulose

Um eine möglichst weitgehende Verwertung des Ausgangssubstrats Stroh zu erreichen soll die Effizienz einer enzymatischen Hydrolyse der Cellulosefraktion untersucht werden. Voraussetzung ist hierbei eine geeignete Vorbehandlung des Strohs, da eine enzymatische Behandlung strukturell intakter Lignocellulose wenig effizient ist [7]. Durch den vorgeschalteten hydrothermalen Aufschluss (siehe 2.1) wird die Hemicellulosefraktion weitgehend entpolymerisiert und ein Teil des inkrustierten Lignins entfernt wodurch sich Angriffpunkte für cellulolytische Enzyme ergeben. Für den vollständigen Abbau von Cellulose zu Glucose werden drei Typen von Cellulasen benötigt welche von verschiedenen cellulolytischen Bakterien und Pilzen produziert werden:

- Endo- β -1,4-glucanase (Endocellulase, Endoglucanase):
  Hydrolytische Spaltung des Polymers in seinen amorphen Bereichen.
- Exo- β -1,4-glucanase (Exocellulase, Exoglucanase, Cellobiohydrolase):
  Hydrolytische Abspaltung von Cellobiose (Disaccharid) am nicht reduzierenden Ende des Cellulosepolymers.

- β-1,4-Glucosidase (Cellobiase):
  Hydrolyse der Cellobiose unter Bildung von Glucose.

Cellulasen werden oftmals in Kombination mit Amylasen, Xylanasen und Hemicellulasen verwendet. Sie finden vor allem Verwendung in der Fruchtsaft- und Getränkeherstellung, bei der Spirituosenproduktion und in Kombination mit anderen Enzymen auch bei der Weinherstellung, wo sie die Extraktion von erwünschten Substanzen wie Tanninen und Aromen aus den Traubenschalen unterstützen.

Der Einsatz kommerziell erhältlicher Enzyme zum Biomasseaufschluss sowie die Produktion angepasster Enzymgemische für spezifische Einsatzfelder sind Gegenstand zahlreicher Forschungsaktivitäten. Am ATZ-Entwicklungszentrum wurde die Effizienz verschiedener Enzyme bei unterschiedlichen TDH-behandelten Biomassen untersucht [2]. Hierbei zeigte sich die deutliche Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Inkubationstemperatur im Bereich zwischen 35 – 50 °C. Während beim Einsatz bei 35 °C im SSF-Verfahren (***S**ilmultaneous **S**accharification and **F**ermantation*) keine signifikante Aktivität nachweisbar war, konnte bei einer Temperatur von 50 °C eine teilweise Hydrolyse der Cellulose gezeigt werden. Ähnliche Ergebnisse ergaben vergleichende Untersuchungen verschiedener Enzympräparate im Rahmen einer am PFI durchgeführten Diplomarbeit [11]. So ergab eine Erhöhung der Inkubationstemperatur von 37 °C auf 52 °C bei verschiedenen Präparaten eine Steigerung der spezifischen Enzymaktivität von rund 80 %. Maßgeblich ist zudem die Berücksichtigung des pH-Optimums welcher bei Cellulasen typischerweise zwischen 4 und 5 liegt.

Weiterhin war der Einsatz von Enzymen und Enzymmischungen in Biogasanlagen Gegenstand aktueller Forschungsprojekte [1,3]. In diesen Projekten wurde die Wirksamkeit von pilzlichen Enzymen auf verschiedene Einsatzsubstrate untersucht. Hier könnten in Batchgärversuchen positive Wirkungen der Enzyme auf die Biogasbildung und Viskosität gezeigt werden. Allerdings erbrachten kontinuierliche Gärversuche uneinheitliche Resultate. Unklar blieb auch der konkrete Wirkmechanismus von Enzymen, welche zum Teil positive Effekte zeigten, die aber nicht zu den Cellulasen / Hemicellulasen gehören. Vor diesem Hintergrund ist ein vertiefendes Verbundprojekt geplant das auf die vorherigen Untersuchungen aufsetzt und an dem u.a. auch das PFI beteiligt ist (FNR; FKZ 22027908).

1.2.4 Biotechnologische Konversionen auf der Basis von Hydrolysaten

Durch den Einsatz von hydrothermalen und enzymatischen Aufschlussverfahren können aus verschiedenen Biomassen zuckerangereicherte Hydrolysate gewonnen werden. Mit geeigneten Produktionsorganismen lassen sich hierbei verschiedene Zuckerfraktionen zu Zielmolekülen fermentieren. Untersuchungen in dieser Richtung wurden bereits am ATZ-Entwicklungszentrum durchgeführt [2]. Hierbei sollten verschiedene alternative Biomassen durch hydrothermale Behandlung für eine Ethanolfermentation in landwirtschaftlichen Brennereien verfügbar gemacht werden. Im Hinblick auf eine direkte Fermentation von Hydrolysaten ergibt sich allerdings das Problem, dass typische Produktionsstämme zwar Hexosen zu Ethanol fermentieren aber keine Pentosen. Zwar sind entsprechend optimierte bzw. gentechnisch veränderte Stämme Gegenstand von Forschung und Entwicklung, ausreichend leistungsfähige Organismen für eine großtechnische Produktion sind allerdings derzeit nicht verfügbar [10]. Eine signifikante Hydrolyse der Cellulosefraktion pflanzlicher Biomassen mittels hydrothermalen Aufschlusses, und damit die Bereitstellung eines Hydrolysats mit einer hohen Konzentration an Hexosen, erfolgt allerdings erst bei Temperaturen von deutlich über 220 °C. Das vorliegende Forschungsprojekt verfolgt daher schwerpunktmäßig das Ziel der Nutzung von Pentosen für alternative Fermtationen. Bei Biomassen mit einem hohen Xylananteil, wie beispielsweise Stroh, lassen sich bereits bei Temperaturen zwischen 130 – 180 °C Hydrolysate mit einen hohen Xyloseanteil erzeugen. Eine Möglichkeit zur biotechnologischen Konversion von Xylose ist die Produktion des Zuckeralkohols Xylitol. Verschiedene Hefestämme der Gattung *Candida* sind in der Lage den Pentosezucker Xylose als Wachstumssubstrat zu nutzen. Im Stoffwechsel der Hefen entsteht hierbei als Zwischenprodukt der Zuckeralkohol Xylitol. Durch die Einstellung geeigneter Bedingungen lässt sich der Fermentationsprozess in Richtung einer biotechnologischen Produktion von Xylitol steuern [13]. Bei Fermentationsexperimenten mit definierten Medien konnten hierbei Konversions-raten von ca. 90 % demonstriert werden [12]. Auch bei der direkten Fermentation in Hydrolysaten wurden hohe Konversionsraten von über 60 % erzielt [6]. Häufig ist bei der direkten Fermentation in Hydrolysaten eine, im Vergleich zu synthetischen Medien, deutlich niedrigere Produktivität zu beobachten was auf das Vorhandensein verschiedener toxischer Substanzen in den Hydrolysaten zurückgeführt wird [16]. Allerdings konnte bei verschiedenen Hydrolysaten gezeigt werden das die schrittweise

Adaption der Hefen auf die jeweiligen Medien ein signifikantes Steigerungspotential für die Produktivität und die Konversionsrate bringt [15,17]. Im Rahmen des Projekts „Höherwertige Verwertung von xylanhaltiger Biomasse am Beispiel von Biertreber“ wurden am PFI bereits umfangreiche Untersuchungen zur biotechnologischen Produktion von Xylitol aus Hydrolysaten durchgeführt. Bei einem Screening nach geeigneten Produktionsorganismen erwies sich der Stamm C*andida guilliermondii* FTI 20037 (=ATCC 201935) als besonders leistungsfähig. Bei der Fermentation von mittels TDH hergestellten Biertreberhydrolysaten wurden mit diesem Produktionsstamm bei einer Produktivität von ca. 1 g/l/h Konversionsraten von über 65 % erzielt. In Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen konnte hierbei eine signifikante Steigerung der Konversionsrate durch die Erhöhung der Ausgangskonzentration der Xylose erreicht werden [17]. Als eine geeignete Methode zur Aufkonzentrierung von Hydrolysaten erwies sich die Einengung über einen Fallstromverdampfer da hierbei eine parallele Aufkonzentrierung verschiedener toxischer Substanzen, welche die nachfolgende Fermentation beeinträchtigen (z.B. Essigsäure), weitgehend vermieden wird. Bezüglich der Fermentation von Strohhydrolysaten zeigen frühere Untersuchungen dass verschiedene Hefestämme, insbesondere auch der Stamm C*andida guilliermondii* FTI 20037, für eine Xylitolproduktion auf der Basis dieses Substrats in Frage kommen [5]. Auf dieser Grundlage stellt die biotechnologische Produktion von Xylitol auf der Basis von Strohhydrolysaten eine vielversprechende Alternative zu dem bisherigen technischen Prozess dar. Dieser beruht auf der Säurehydrolyse von Birkenholzschnitzeln, die rund 20 % Xylan enthalten. Nach einer aufwendigen Reinigung und Kristallisation der Xylose - sie muss von Arabinose, Glukose, Glukuronsäure und Galacturonsäure getrennt werden - unterwirft man diesen Zucker einer katalytischen Hydrierung in Gegenwart von Raney-Nickel, mit dem Risiko, dass Spuren des allergenen Nickels im Xylitol verbleiben.

1.2.5. Chromatographische Trennverfahren

Chromatographische Trennverfahren gewinnen vor allem im Bereich der Pharmazie und der Biotechnologie zunehmend an Bedeutung. Dies liegt vor allem an der sehr produktschonenden Art der Trennung und der Möglichkeit, auch sehr schwierige Trennungen durchführen zu können [18]. Im Labormaßstab wird die Chromatographie seit Jahrzehnten als Analysemethode im klassischen Batch-Modus betrieben. Dies ist für präparative Zwecke in der Regel unerwünscht und so wurden im Laufe der Jahre mehrere kontinuierliche Verfahren entwickelt [9]. Bei der annularen Chromatographie wird ein zylindrischer Spalt mit einem porösen Feststoff (Adsorbens) gefüllt und um die vertikale Achse rotiert. Das Probengemisch wird über einen fixen Tubus von oben auf die rotierende Säule gegeben und fließt, wie in der konventionellen Chromatographie, allmählich nach unten. Durch die Rotation des Feststoffes und dessen selektive Trennwirkung kommt es zur Ausbildung von spiralförmigen Banden als Konzentrationsprofile, die die Säule bei verschiedenen Winkellagen relativ zur unbeweglichen Zuführposition verlassen. Darin besteht der Unterschied gegenüber der konventionellen Chromatographie in diskontinuierlicher Betriebsweise wo die Komponenten die Kolonne zu verschiedenen Elutionszeiten verlassen. Während im Chargenbetrieb (Batchverfahren) jeweils nur eine bestimmte Stoffmenge auf einmal in den Apparat gelangt und die zu trennenden Komponenten durch das durchgepumpte Laufmittel zeitabhängig nacheinander austreten, erfolgt in der CAC die Umwandlung der zeitabhängigen Trennung in eine ortsabhängige Trennung, so dass alle zu trennenden Komponenten gleichzeitig, aber jeweils in unterschiedlichen Rotationswinkeln anfallen [8]. Die Trennung von Zielprodukten aus Fermentationslösungen mittels CAC war bereits ein Teilaspekt eines Forschungsprojektes welches das PFI in Zusammenarbeit mit der TU Kaiserslautern durchgeführt hat [14]. Hierbei konnte erfolgreich die Abtrennung des Fermentationsproduktes Xylitol von den übrigen Medienbestandteilen demonstriert werden. Da Strohhydrolysate weniger komplexe Stoffgemische darstellen als die in dem angeführten Projekt verwendeten Biertreberhydrolysate, ist zu erwarten, dass diese Technik auf Fermentationslösungen auf der Basis von Strohydrolysaten adaptierbar ist.

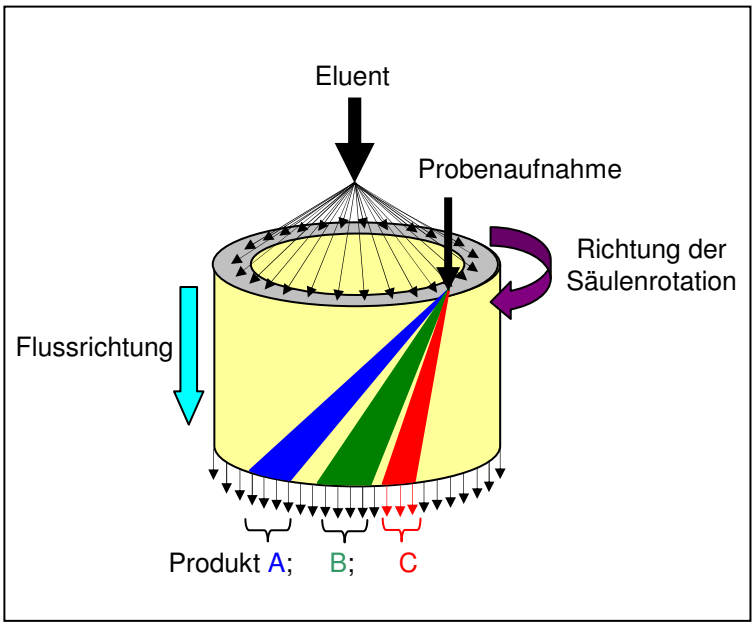

Abbildung 2: Funktionsweise eines annularen Chromatographen (Ringspaltchromatograph)

1.3 Aufgabenstellung

Mit dem geplanten Projekt sollten die verfahrenstechnischen Grundlagen zu einer stofflichen und energetischen Nutzung des landwirtschaftlichen Koppelproduktes Stroh erarbeitet werden. Die Zielsetzung der stofflichen Nutzung war die fermentative Produktion des Zuckerersatzstoffes Xylitol aus der hydrothermal aufgeschlossenen Hemicellulosefraktion des Strohs. Parallel hierzu wurde eine energetische Nutzung in Form einer Biogasproduktion untersucht. Auf der Grundlage der ermittelten Ergebnisse der im Labor- und Technikumsmaßstab durchgeführten Untersuchungen sollte in der letzten Phase des Projektes die technische Ausführung und Dimensionierung eine Großtechnikumsanlage zum hydrothermalen Aufschluss von Stroh abgeleitet werden.

Im Einzelnen wurden folgende Teilziele verfolgt:

- Überführung der Hemicellulosefraktion des Strohs in Monosaccharide mittels Thermodruckhydrolyse bei Temperaturen von maximal 160 °C
- Enzymtische Hydrolyse der Cellulosefraktion im Anschluss an den hydrothermalen Aufschluss
- Effiziente mikrobiologische Reduktion der im Hydrolysat vorliegenden Xylose zu Xylitol
- Abtrennung des Xylitols von der Fermentationsflüssigkeit mittels annularer Chromatographie
- Vergleichende dynamische und statische Gärtests von unbehandelten und hydrothermal aufgeschlossenen Stroh zur Ermittlung des Biogaspotentials

1.4 Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Umsetzung des Vorhabens erfolgte in zwei Phasen. In der 1. Projektphase wurden die vorgesehenen hydrothermalen und enzymatischen Aufschlussverfahren an das Substrat Stroh angepasst und optimiert. Bezüglich des hydrothermalen Aufschlusses wurden hierzu zunächst die optimalen Aufschlusstemperaturen sowie die Steigerung der Aufschlusseffizienz durch Zugabe einer mineralischen Säure (Salpetersäure) als Katalysator untersucht. Die einleitenden Untersuchungen wurden hierbei in einer am PFI vorhandenen Druckmikrowelle durchgeführt. Auf Basis der ermittelten Ergebnisse erfolgt anschließend das Upscaling auf den Technikumsmaßstab (100 l TDH-Anlage). Hinsichtlich des enzymatischen Aufschlusses wurde eine begrenzte Anzahl von kommerziell erhältlichen Enzymen bzw. Enzymmischungen auf Ihre cellulolytische und hemicellulolytische Leistungsfähigkeit untersucht. Im weiteren Verlauf wurden die Präparate hinsichtlich pH-Wert, Inkubationstemperatur und Einsatzmenge weiter optimiert. Parallel zu der Optimierung der Aufschlussverfahren wurden in der ersten Projektphase Untersuchungen zur Vergärbarkeit von behandelten und unbehandelten Stroh durchgeführt. Einleitende Untersuchungen wurden zunächst mittels Versäuerungstests von hydrothermal aufgeschlossenen sowie unbehandelten Stroh durchgeführt. Weiterhin wurden dynamische Gärtests in 100 l Pilotbiogasanlagen durchgeführt.

Auf der Basis der in der ersten Projektphase gewonnenen Erkenntnisse erfolgte in der 2. Phase die Planung einer Großtechnikumsanlage zum hydrothermalen Strohaufschluss. Parallel hierzu wurden Untersuchungen zur direkten Biokonversion von Strohydrolysaten sowie zur chromatographischen Abtrennung von Zielprodukten aus Fermentationslösungen durchgeführt. Zielprodukt der Biokonversion war der Zuckerersatzstoff Xylitol welcher fermentativ mit dem Produktionsstamm *Candida guilliermondii* (FTI 20037) aus Xylose gewonnen wurde. Die chromatographische Abtrennung des Zielproduktes erfolgte mittels kontinuierlicher annularer Chromatographie mit einem Ringspaltchromatographen.

2. Darstellung der erzielten Ergebnisse

2.1 Untersuchungen zur Vergärbarkeit von Stroh

Zur vergleichenden Untersuchung der Vergärbarkeit von TDH-behandelten und unbehandelten Stroh können verschiedene Versuchsansätze angewandt werden. Beim Versäuerungs- oder Hydrolyseansatz werden die zu untersuchenden Substrate bei sauren Bedingungen (Start pH-Wert <6) über mehrere Tage bei Sauerstoffabschluss inkubiert. Das über den Versuchszeitraum mittels HPLC aufgenommene Versäuerungsspektrum sowie die Summe der gebildeten Säuren geben einen Aufschluss über die Vergärbarkeit des jeweiligen Substrats. Die in Abbildung 18 dargestellte Säurebildung der Vergleichsansätze (Weizenstroh unbehandelt, Weizenstroh TDH-behandelt) zeigt das die Versäuerung im TDH-Ansatz schneller und in einen deutlich stärkeren Umfang stattfindet.

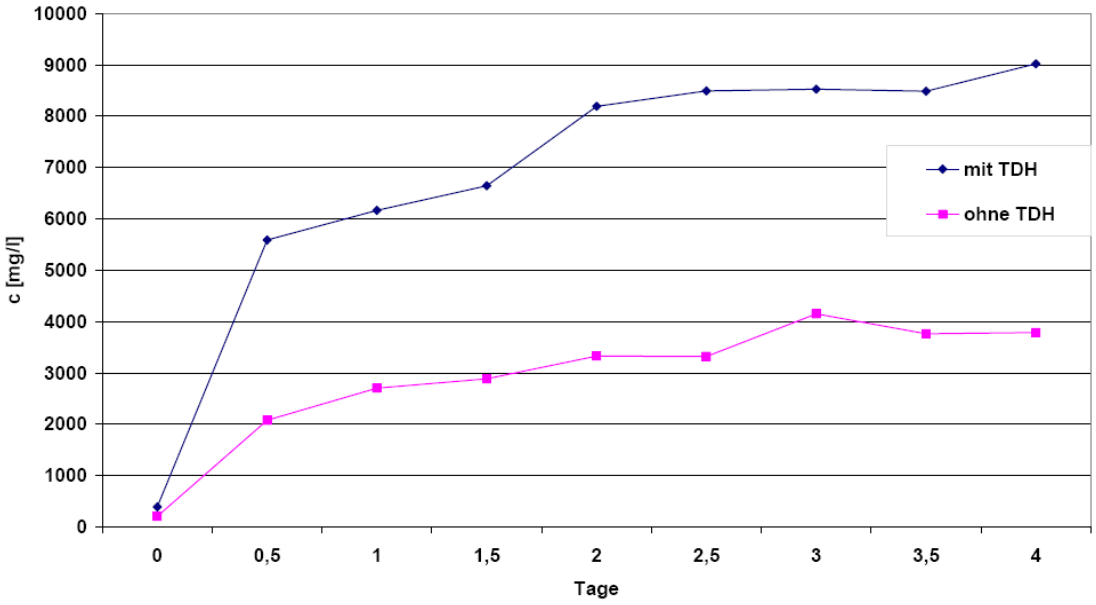

Abbildung 3: Summe der organischen Säuren der Vergleichsansätze bei der Vorhydrolyse.

Zum Ende des Inkubationszeitraums lag die Summe der organischen Säuren im TDH-Ansatz um mehr als 100 % über dem unbehandelten Vergleichsansatz. Weiterhin war ein differierendes Versäuerungsspektrum zu beobachten. Während im TDH-Ansatz als Hauptsäurefraktionen Milchsäure und in einen geringeren Umfang Essigsäure vorlagen war im unbehandelten Ansatz eine verstärkte Buttersäuregärung zu beobachten.

In weiteren Versuchsansätzen konnten die Ergebnisse bezüglich der Gesamtsäurebildung bestätigt werden, hinsichtlich der gebildeten Hauptsäurefraktionen traten allerdings auch abweichende Versäuerungs-spektren auf so dass hier keine eindeutige Tendenz feststellbar war. Die im Rahmen der Untersuchungen festgestellte schnellere und insbesondere wesentlich stärkere Versäuerung der TDH-behandelten Ansätze deutet auf eine signifikant verbesserte Vergärbarkeit infolge der hydrothermalen Behandlung hin. Im Anschluss an die Versäuerungsexperimente wurden vergleichende dynamische Gärtest durchgeführt um den Effekt der hydrothermalen Behandlung auf den spezifischen Biogasertrag des Substrats zu überprüfen. Die Untersuchungen wurden mit Pilot-Biogasfermentern (100 l Durchflussfermenter; Siehe Abb. 19) durchgeführt welche eine praxisnahe Untersuchung von Substraten für den Biogasprozess erlauben.

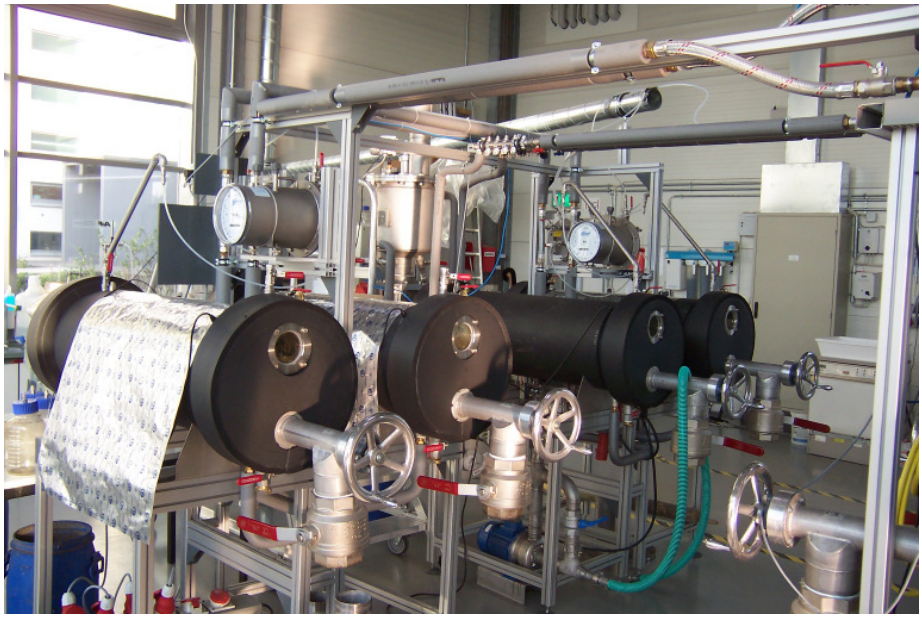

Abbildung 4: 100 l Pfropfenstrom-Durchflussfermenter im Technikum des PFI.

In einem Parallelansatz mit zwei baugleichen Fermentern wurde die Biogasproduktion von TDH-behandelten Weizenstroh (1h bei 140 °C) im Vergleich zu unbehandelten Stroh über einen Zeitraum von 5 Wochen verfolgt (siehe Abb. 20).

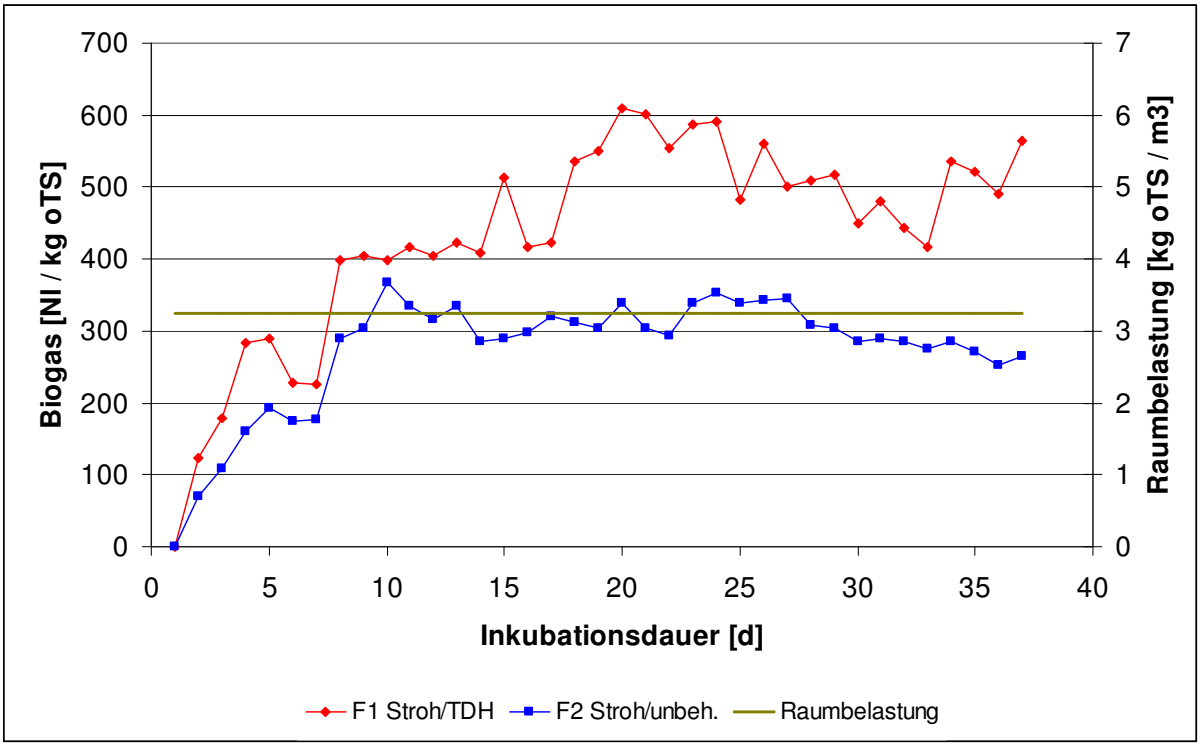

Abbildung 5: Vergleichender dynamischer Gärtest mit TDH- und unbehandelten Weizenstroh.

Nach Abschluss der Anfahrphase (Tag 7) erreichte der mit unbehandeltem Stroh betriebene Fermenter (F2) im Durchschnitt eine Biogasproduktion von 308 Nl / kg oTS bei einem mittleren Methangehalt von 50 %. Beim mit TDH-Stroh betriebenen Vergleichsfermenter (F1) lag die durchschnittliche Produktion im Betrachtungs-zeitraum bei 490 Nl / kg oTS bei einem Methangehalt von ebenfalls ca. 50 %. Somit konnte auf Basis des dynamischen Gärtests eine Steigerung des spezifischen Biogasertrags infolge des hydrothermalen Aufschlusses um ca. 60 % demonstriert werden. Als eine kritische Größe bei der Monovergärung von Stroh erwies sich in beiden Versuchsansätzen der pH-Wert. Aufgrund des Stickstoffdefizits von Stroh liegen in den Fermentern niedrige Ammonium-konzentrationen und damit eine geringe Pufferkapazität vor. Daraus resultiert bei einer Monofermentation von Stroh ein erhöhtes Risiko einer Versäuerung mit deutlichem pH-Abfall. In der Praxis ließe sich dieses Problem durch den Einsatz eines stickstoffreichen Co-Substrats (z.B. Gülle) beheben. Neben der erheblichen Steigerung des spezifischen Biogasertrags ergeben sich durch die hydrothermale Behandlung weitere verfahrenstechnische Vorteile. Zum einen bringt der Einsatz von unbehandeltem Stroh erhebliche Förderprobleme mit sich da das Substrat dazu neigt sich um die Förderschnecke zu wickeln. Weiterhin kommt es im Fermenter sehr schnell zu einer ausgeprägten Schwimmdeckenbildung. Beide Probleme treten bei hydrothermal behandelten Stroh nicht auf.

Um den Einfluss unterschiedlicher Behandlungstemperaturen auf das Ausgasungsverhalten näher zu untersuchen wurden im Anschluss statische Gärtests mit einer vom PFI entwickelten Testanlage (PFI Biogasmonitor) durchgeführt. Hierbei wurde mit Temperaturen zwischen 130 °C und 150 °C behandeltes TDH-Stroh mit unbehandeltem Stroh verglichen. Der Ansatz mit unbehandelten Stroh zeigte einen langsamen zweistufigen Anstieg der Gassummenkurve. Nach einem steileren Anstieg innerhalb der ersten 200 h Inkubationsdauer zeigte sich zunächst ein Abflachen, im Anschluss war ein erneuter Anstieg feststellbar bis die Summenkurve ab ca. 700 h zunehmend in den Sättigungsbereich überging. Insgesamt wurde eine Biogasmenge von 386 Nl / kg oTS für das unbehandelte Weizenstroh ermittelt. Dieser Ertrag lag damit deutlich oberhalb der Produktion die im Rahmen des dynamischen Gärtests ermittelt wurde (308 Nl / kg oTS). Allerdings wurde dieser erst nach einer Inkubationszeit von 840 h erreicht, innerhalb der ersten 240 h Inkubationszeit waren

hiervon erst rund 41 % gebildet und nach 480 h ca. 65 %. Im Vergleich hierzu zeigte sich bei dem TDH-behandelten Stroh ein deutlich steilerer und kontinuierlicher Verlauf der Gassummenkurven (siehe Abb. 21). Der insgesamt erzielte Mehrertrag im Vergleich zum unbehandelten Stroh lag zwischen 13 und 36 %. Deutlicher wird der Unterschied beim Vergleich der relativ zur Gesamtproduktion erreichten Werte nach den Inkubationszeiten 240 h und 480 h. Der Ansatz TDH 130 °C hatte hier bereits rund 68 % bzw. 87 % der Gesamtmenge produziert. Einen noch höheren Anteil wiesen die Ansätze mit 150 °C und 160 °C Behandlungstemperatur auf, hier waren nach 240 h 73 und 76 % sowie nach 480 h bereits 92 bzw. 94 % der gesamten Gasmenge gebildet. Diese Werte zeigen den deutlich schnelleren Abbau des TDH behandelten Materials.

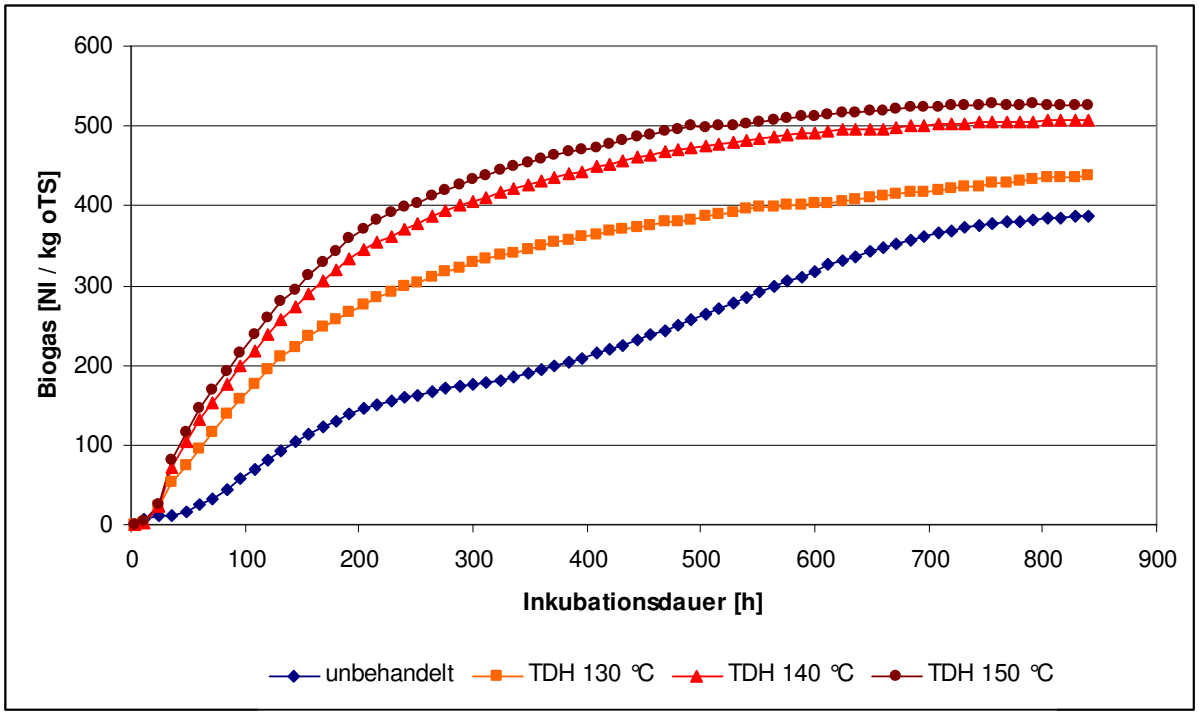

Abbildung 6: Vergleichender statischer Gärtest mit TDH- und unbehandelten Weizenstroh.

2.2 Biotechnologische Konversionen in Strohhydrolysaten

Ziel der im Rahmen des Arbeitspaketes 4 vorgesehenen Arbeiten ist die biotechnologische Produktion des Zuckerersatzstoffes Xylitol auf der der Basis von Strohhydrolysaten. Der Beginn der Untersuchungen ist gemäß dem Projektzeitplan für Mai 2009 vorgesehen. Im Vorfeld der eigentlichen Untersuchungen wurde überprüft ob der Stamm Candida guillerimondii FTI 20037 als Produktionsorganismus geeignet ist.

Im Rahmen des Forschungsprojektes „Höherwertige Verwertung von xylanhaltiger Biomasse am Beispiel von Biertreber“ wurden am PFI bereits umfangreiche Erfahrungen im Bereich der Xylitolfermentation gesammelt. Hierbei hatte sich Candida guillerimondii FTI 20037 als besonders leistungsfähiger Produktionsstamm gezeigt. Die Voruntersuchungen sollten zeigen ob Strohydrolysate ein geeignetes Wachstumsmedium für diesen Stamm darstellen. Hierbei galt es in es insbesondere auch ein mögliches Stickstoffdefizit der Hydrolysate zu berücksichtigen da Stroh typischerweise ein hohes C/N-Verhältnis aufweist. Vor diesem Hintergrund wurden drei mittels hydrothermalen Aufschlusses hergestellte Strohydrolysate mit dem Stamm FTI 20037 beimpft und für 70 h bei 35 °C inkubiert. Die Xylosekonzentration in den Hydrolysaten wurde jeweils auf 50 g/l eingestellt. Zwei Ansätzen wurde in Form von Hefeextrakt bzw. Ammoniumsulfat (jeweils 3 g/l) eine Stickstoffquelle zugesetzt während der Kontrollansatz ohne Zugabe inkubiert wurde. Nach Abschluss der Inkubation war sowohl im Ansatz mit Hefeextrakt als auch mit Ammoniumsulfat die Xylose vollständig abgebaut und erhebliche Mengen Xylitol nachweisbar (siehe Abb. 22). Beim Ansatz mit Hefeextrakt lag die erreichte Konversionsrate (g Xylitol / g Xylose) bei ca. 54 % während beim Ansatz mit Ammoniumsulfat über 60 % erreicht wurden. Beim Kontrollansatz ohne Zusatz verlief die Fermentation dagegen unvollständig und es waren nach Ende der Inkubation noch erhebliche Mengen Xylose vorhanden (> 20 g/l). Weiterhin war nur eine geringe Xylitolbildung festzustellen. Die Untersuchungsergebnisse deuten auf eine Wachstumshemmung infolge eines Stickstoffmangels hin, dies wird auch durch die ermittelten Zellmassen zum Abschluss der Inkubation unterstützt. So lag die Zellmasse (Frischmasse) im Ansatz ohne externe Stickstoffquelle bei ca. 25 g/l während bei den Ansätzen mit Hefeextrakt bzw. Ammoniumsulfat jeweils über 40 g/l erreicht wurden. In einem weitern Vorversuch zeigte sich das eine Reduktion der Zugabe von Ammoniumsulfat auf 1 g/l keinen nachteiligen Effekt auf die Fermentation hat. In weiteren Vorversuchen wurde ein möglicher wachstumshemmender Effekt von Essigsäure, Furfural sowie Hydroxymethylfurfural (HMF) auf den Stamm untersucht. Hintergrund ist das diese Substanzen bei der hydrothermalen Behandlung cellulose- und hemicellulosehaltiger Biomasse in erhöhten Konzentrationen in den gewonnenen Hydrolysaten vorliegen können.

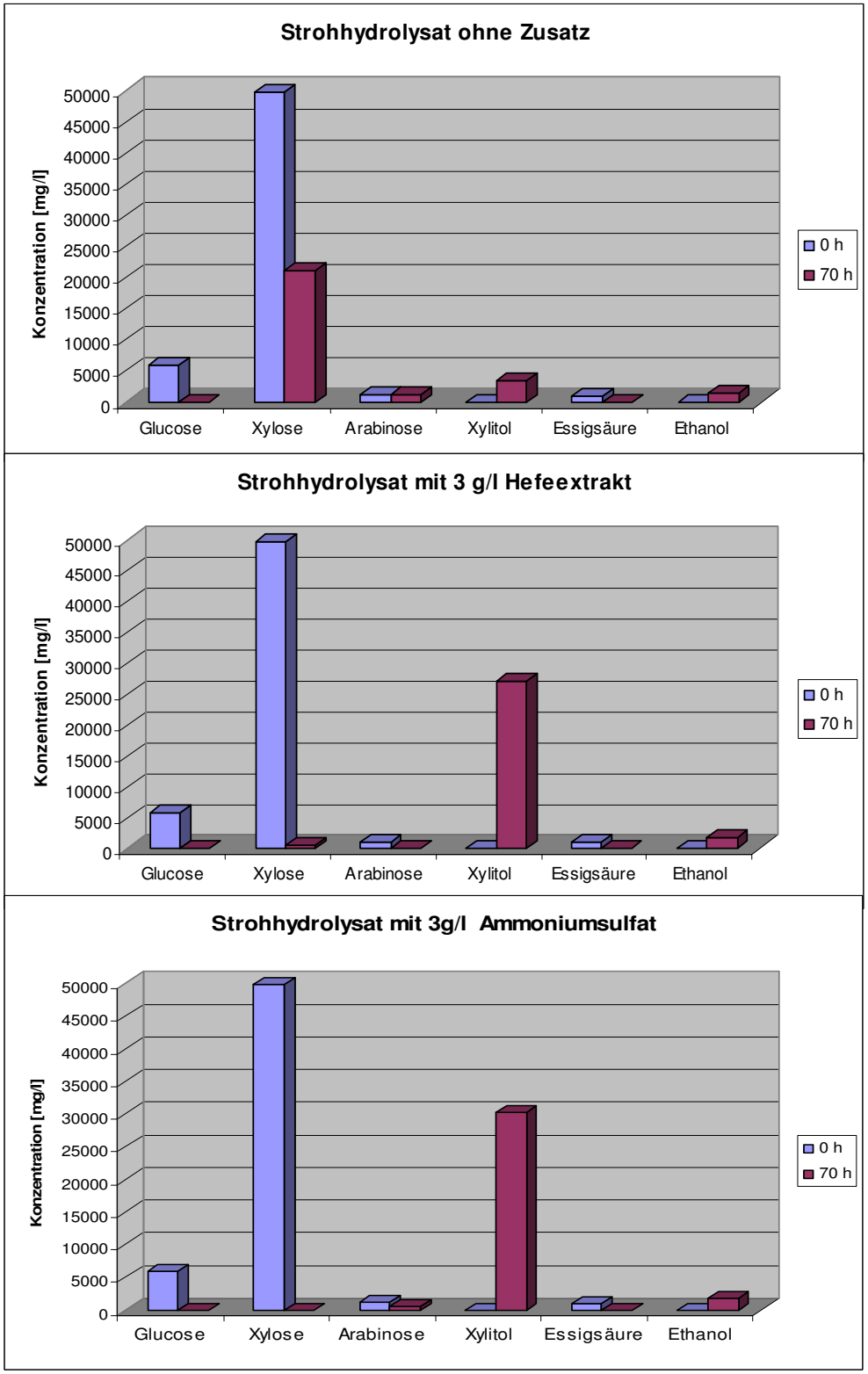

Abbildung 7: Einfluss von externen Stickstoffquellen auf die Xylitolfermentation in Strohhydrolysaten mit *Candida guillerimondii* FTI 20037.

Hierzu wurden synthetische Nährmedien mit ansteigenden Konzentrationen der jeweiligen Substanzen dotiert und anschließend mit Candida guillerimondii angeimpft und anschließend für 48 h inkubiert (35 °C, pH 5,5, 200 rpm). Im Verlauf der Inkubation wurden regelmäßig die Gesamtzellzahlen der jeweiligen Ansätze ermittelt. Bei der Essigsäure zeigte sich bis einschließlich einer Konzentration von 1000 mg/l im Vergleich zum Kontrollansatz kein signifikanter Unterschied, zwischen 1000 und 2000 mg/l zeigte sich eine geringfügig reduzierte Wachstumsgeschwindigkeit ohne signifikanten Einfluss auf den Zellertrag zum Endpunkt der Fermentation. Bei Konzentrationen oberhalb 2500 mg/l zeigte sich schließlich eine ausgeprägte bis vollständige Hemmung des Wachstums. Beim Furfural war bei Konzentration oberhalb 500 mg/l eine signifikante Wachstumsverzögerung feststellbar, oberhalb 1000 mg/l zeigte sich schließlich eine deutliche Hemmung. HMF hatte in einem Konzentrationsbereich bis einschließlich 2000 mg/l keinen Einfluss auf das Wachstum, eine deutliche Hemmwirkung war erst im Bereich von mehr als 3000 mg/l feststellbar. Die ermittelten Grenzwerte lagen damit oberhalb der Konzentrationen die in den aufkonzentrierten Hydrolysaten vorliegen.

Auf der Basis der durchgeführten Vorversuche hatte sich der Stamm *Candida guillerimondii* FTI 20037 als geeigneter Organismus für die weiteren geplanten Arbeiten erwiesen. Das Stickstoffdefizit der Strohhydrolysate lässt sich durch eine geringe Menge eines einfachen Ammoniumsalzes ausgleichen, weitere Mangelerscheinungen oder wachstumshemmende Effekte waren nicht feststellbar.

Im Anschluss wurde der Einfluss des pH-Wertes auf die Fermentationsgeschwindigkeit und die Umsatzrate untersucht. Die mittels TDH-Aufschluss produzierten Hydrolysate wiesen je nach Aufschlussbedingungen pH-Werte zwischen 2,7 und 3,3 auf, bereits frühere Untersuchungen im Rahmen des Forschungsprojektes „Höherwertige Verwertung von xylanhaltiger Biomasse am Beispiel von Biertreber“ hatten gezeigt das bei diesen niedrigen pH-Werten die Fermentationseffizienz deutlich beeinträchtigt ist. Zur Ermittlung des optimalen pH-Wertes wurden daher ein pH-Spektrum zwischen 4 und 6 untersucht. Als Substrat dienten Hydrolysate aus Weizenstroh (1 h, 150 °C), die vorliegenden Zuckerkonzentrationen wurden mittels Eindampfung bis auf einen Wert von ca. 50 g/l Xylose aufkonzentriert. Anschließend wurden die Ansätze mit gewaschenen Zellen einer Übernachtkultur angeimpft und für 64 h bei 35 °C im

Schüttelkolben inkubiert (175 rpm). Es zeigte sich das bei pH-Werten <5 die Fermentationsgeschwindigkeit signifikant absinkt, anderseits wird die Umsatzrate nur wenig beeinflusst. Exemplarisch ist in Abb. 23 der Fermentationsverlauf der Ansätze pH 4,5 und pH 5,5 dargestellt.

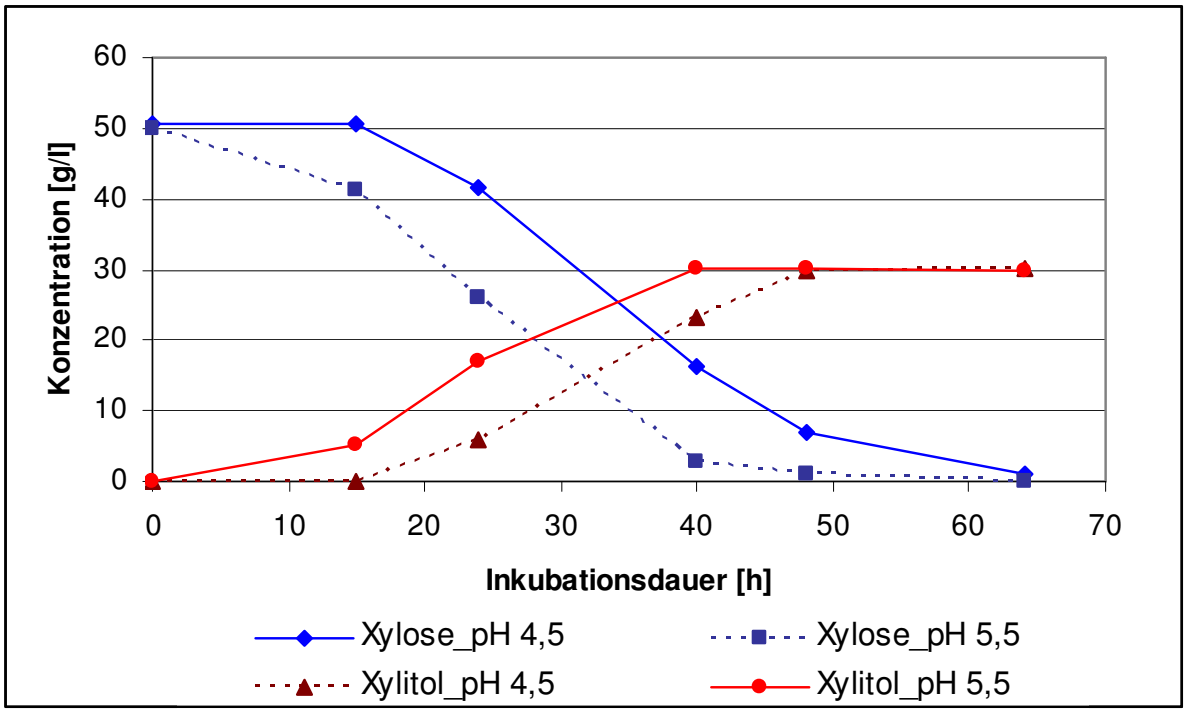

Abbildung 8: Einfluss des pH-Wertes auf die Xylitolfermentation in Strohhydrolysaten mit *Candida guillerimondii* FTI 20037.

Wie anhand der Abbildung deutlich wird ist die insgesamt verringerte Umsatzgeschwindigkeit bei pH 4,5 in erster Linie auf eine ausgeprägte Adaptionsphase (lag-Phase) innerhalb der ersten 15 h zurückzuführen. Die Konversionsrate zum jeweiligen Endpunkt der Fermentation lag bei beiden Ansätzen bei ca. 60 % (g/g Xylitol/Xylose). Im Hinblick auf eine weitere Verfahrensoptimierung wurden im Anschluss Fermentationen mit unterschiedlichen Ausgangs-konzentrationen von Xylose sowie variierenden Belüftungsraten in einen Laborfermenter (Satorius Biostat B, 10 l) durchgeführt. Das Optimum bezüglich Konversionsrate und Umsatzgeschwindigkeit wurde bei einer Ausgangskonzentration von ca. 70 g/l Xylose und einer Belüftungsrate von 0,8 vvm erzielt. Unter diesen Bedingungen konnte eine Konversionsrate von 72,7 % (g/g Xylitol/Xylose) bei einer Xylitol-Produktionsrate von 1,02 g/l/h und einer Xylose Abbaurate von 1,37 g/l/h (siehe Abb. 24).

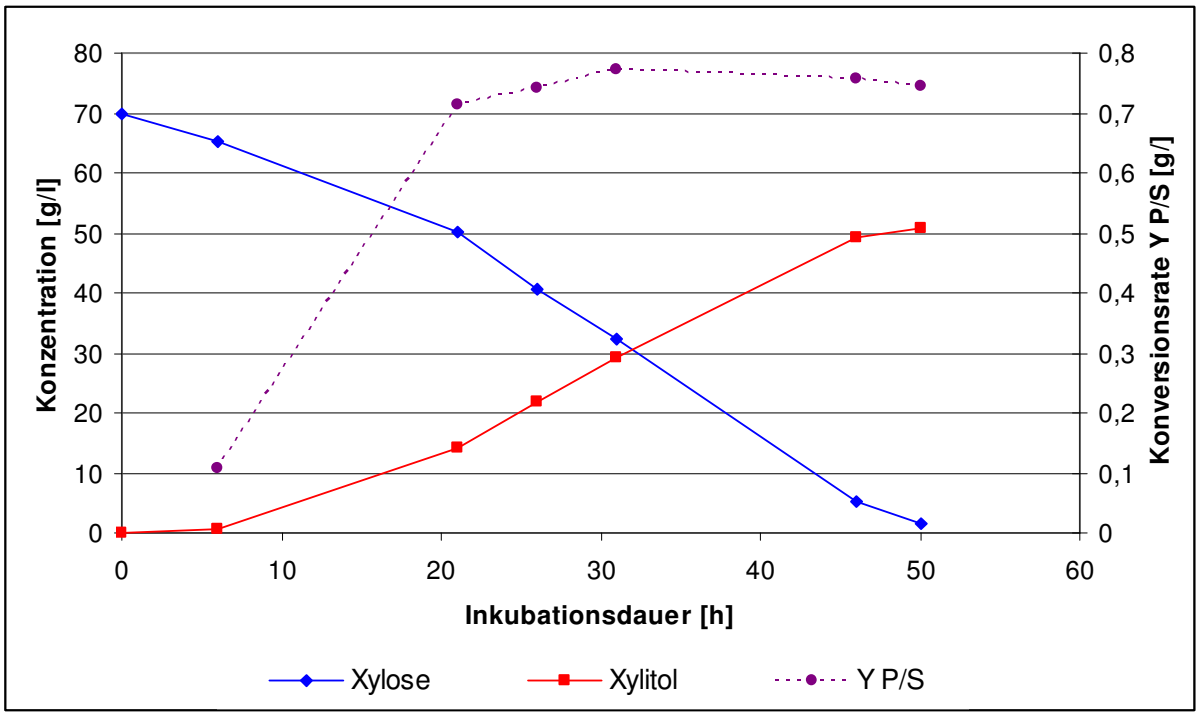

Abbildung 9: Xylitolfermentation in Strohhydrolysaten unter optimierten Bedingungen mit *Candida guillerimondii* FTI 20037.

2.3 Trennung und Aufreinigung von Zuckern

Ziel der im Rahmen des Arbeitspaketes 5 vorgesehenen Arbeiten ist die Trennung des Produktes der biotechnologischen Konversion – Xylitol – von den Begleitstoffen, insbesondere Resten der Xylose, durch kontinuierliche annulare Chromatographie (Continuous Annular Chromatographie – CAC).

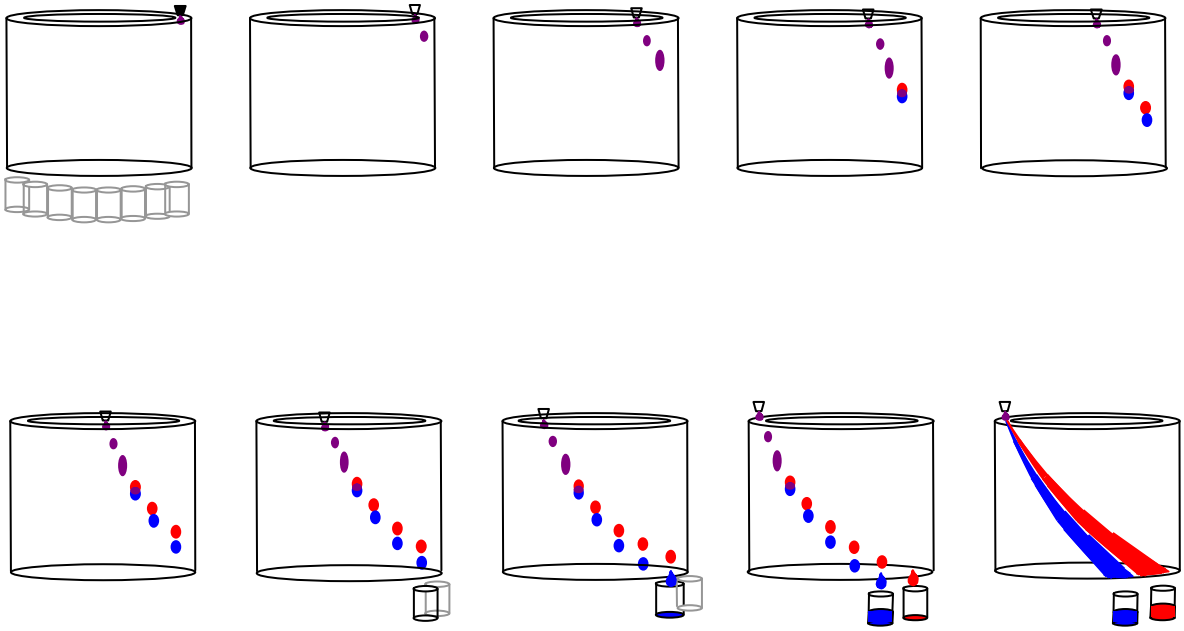

Abbildung 10: Kontinuierliche Aufgabe des Gemisches (violett) und räumliche Trennung der Komponenten (rot / blau).

Bei der CAC wird die zeitliche Trennung der klassischen präpratativen Chromatographie in eine räumliche umgesetzt. Ein Ringspalt ist mit einem geeigneten Säulenmaterial gefüllt. Über dem Ringspalt bewegt sich die Probenaufgabe (Zugabe / Feed), unter dem Auslassringspalt bewegen sich synchron Auffangbehälter. Die in der Zugabe (Feed) kontinuierlich aufgegebenen Substanzen brauchen unterschiedlich lang, um durch die Packung nach unten zu wandern. Während der Zeit, die Komponente 2 länger braucht, haben sich jedoch die Auffangbehälter weiter gedreht, so dass Komponente 2 in einem anderen Gefäß aufgefangen wird als Komponente 1, beide Komponenten sind also aufgrund Ihrer unterschiedlichen Retentionszeiten räumlich getrennt worden (siehe Abb. 25).

Als Säulenmaterial kommen insbesondere Polystyrolharze, die mit Divinylbenzol vernetzt sind, in Frage. An dieses PS/DVB Gerüst werden stark saure Sulfonsäuregruppen angebracht, wobei mehrere Gegenionen zur Auswahl stehen: Protonen (freie Sulfonsäure-gruppe), Calcium und Blei (siehe Abb. 26).

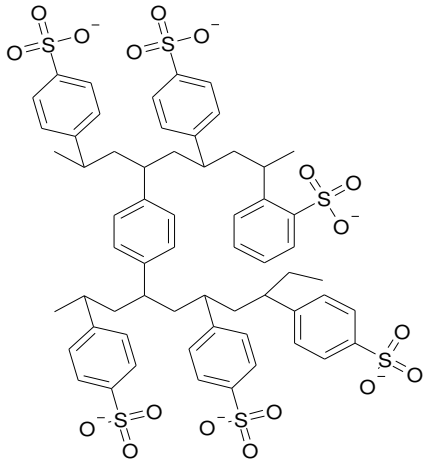

Abb. 11: Ionenaustauscherharz Purolite PCR631.

Aus Erfahrungen mit der analytischen Chromatographie (HPLC) ist bekannt, dass die „Bleisäulen“ (Gegenion Blei) nicht sehr robust sind, insbesondere können Anionen wie Sulfat die Säule inaktivieren. Außerdem könnten Spuren von Blei im Produkt zu Schwierigkeiten führen. Für die Versuche zur Trennung wurde daher eine „Calciumphase“ (Gegenion Calcium) verwendet (Purolite® PCR 631 Ca), dabei handelt es sich um sphärisches Material mit einem Durchmesser von 210 bis 230 µm. Als Eluent kam destilliertes Wasser zum Einsatz.

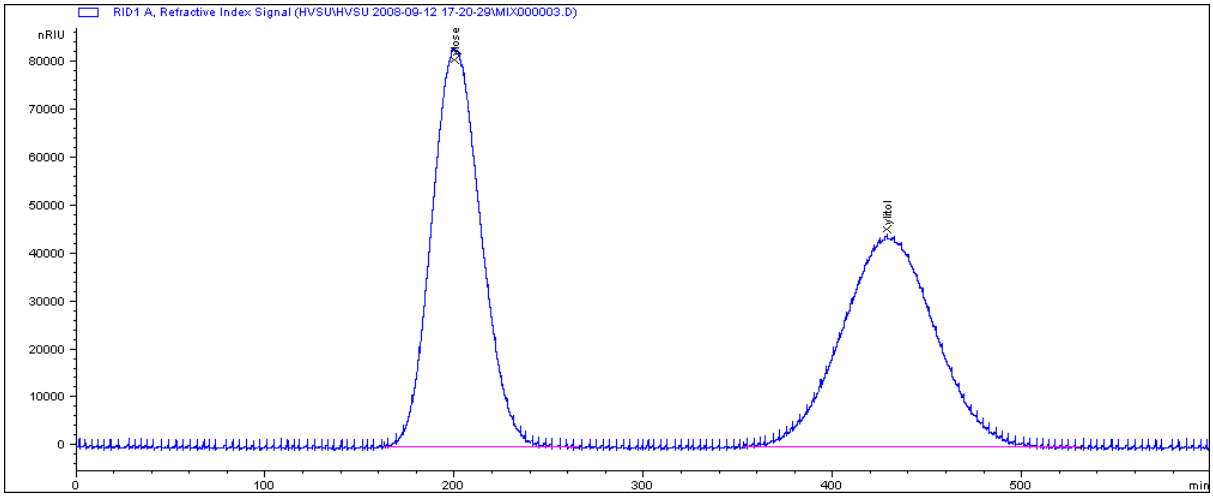

Abbildung 12: Trennung von Xylose und Xylitol auf der präparativen Säule gefüllt mit Purolite PCR 631, 0,3 ml/min Fluss.

In Vorversuchen mit einer präparativen Säule (VARIAN Leersäule aus Edelstahl 250 x 21 mm gefüllt mit 73 g Purolite PCR 631 Ca) wurde zunächst die optimale Fließgeschwindigkeit für die Trennung ermittelt. Ein Beispiel für die Trennung von Xylose und Xylitol zeigt Abbildung 27.

Mithilfe der Retentionszeiten und Halbwertsbreiten aus den Chromatogrammen wurden die Anzahl der theoretischen Böden bzw. deren Höhe nach den Gleichungen (1) und (2) bestimmt.

(1) $$N = 5{,}55 \cdot \frac{t_R^2}{b_{0,5}}$$ mit N = Anzahl theoretischer Böden, t_R = Retentionszeit [s], $b_{0,5}$ = Halbwertsbreite [s].

(2) $$HETP = \frac{L}{N}$$ mit $HETP$ = Höhe des theoretischen Bodens [µm], L = Säulenlänge [µm].

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung im HETP gegen Fluss Diagramm zusammengefasst. Der optimale Säulenfluss liegt demnach bei etwa 0,20 bis 0,35 ml/min.

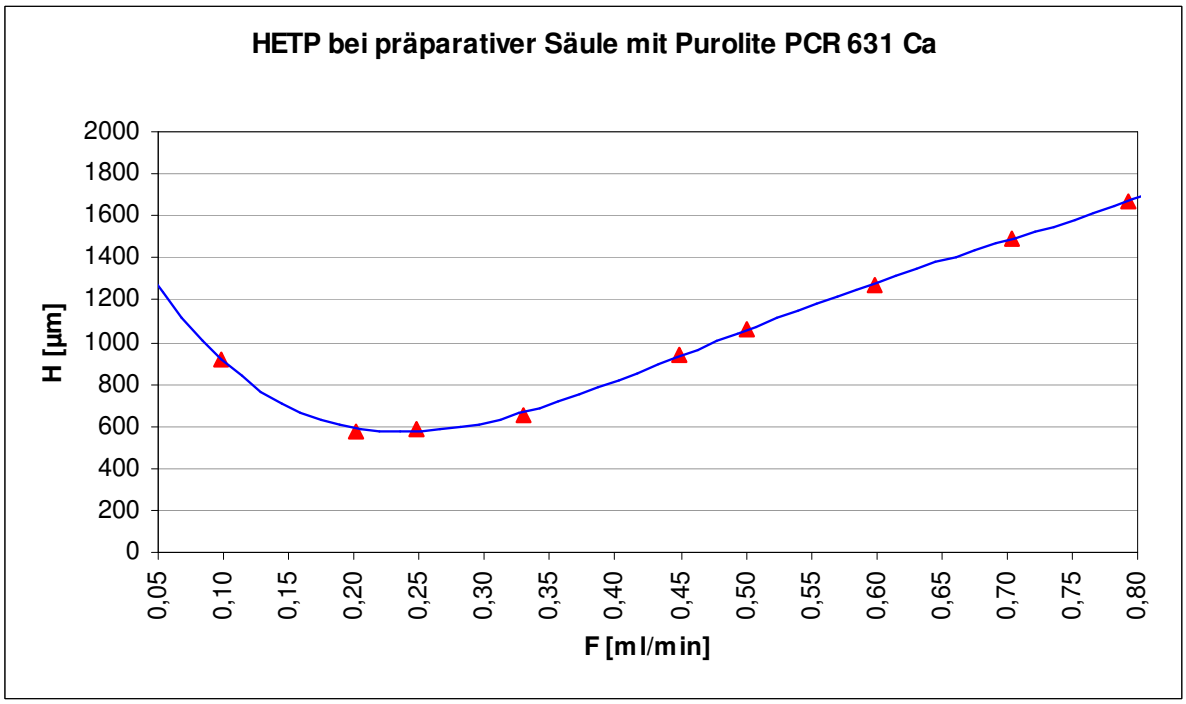

Abbildung 13: HETP gegen Fluss Diagramm für die präparative Säule

Die Ergebnisse der Vorversuche müssen jetzt auf die CAC übertragen werden. Erste Vorstudien mit diskontinuierlicher Probenaufgabe und stehendem Ringspalt zeigten vielversprechende Ergebnisse, weil auch hier die zeitliche Trennung der Komponenten Xylose und Xylitol gelang. Um die Übertragbarkeit der mit der präparativen Säule erzielten Ergebnisse auf die CAC zu prüfen, sollte die CAC zunächst ebenfalls wie eine präparative Säule betrieben werden. Die Rotationsgeschwindigkeit von Feedaufgabe

und Fraktionssammlern wurde daher auf 0 gesetzt, und die zu trennende Lösung wurde auch nicht kontinuierlich zugegeben. Es sollte bei diesem Versuch wie in der HPLC eine zeitliche und keine räumliche Trennung der Komponenten erfolgen.

Die Aufgabe der Probe erfolgte daher mit einer Spritze mit speziellem Adapter, an dem sich ein Schlauch mit Gewindeschraube befestigen ließ. Das freie Ende des Schlauches wurde ebenfalls mit einer Gewindeschraube mit einen der Feed-Anschlüsse verbunden. In die Spritze wurden 10 ml des Standards mit je 50 g/l Xylose und Xylitol aufgezogen, in den Feed injiziert und anschließend mit Wasser nachgespült. Danach wurde der Feed dicht verschlossen. Wie aus Abbildung 29 ersichtlich ist, konnten mit diesen Einstellungen Xylose und Xylitol vollständig getrennt werden. Der für die CAC relativ niedrige Fluss von 3 bis 5 ml/min führte zu keinen Problemen, insbesondere trocknete das Harz an keiner Stelle. Die extrem breiten Peaks und die im Vergleich zur präparativen Säule schlechtere Trennung lassen jedoch vermuten, dass die Säule überladen ist.

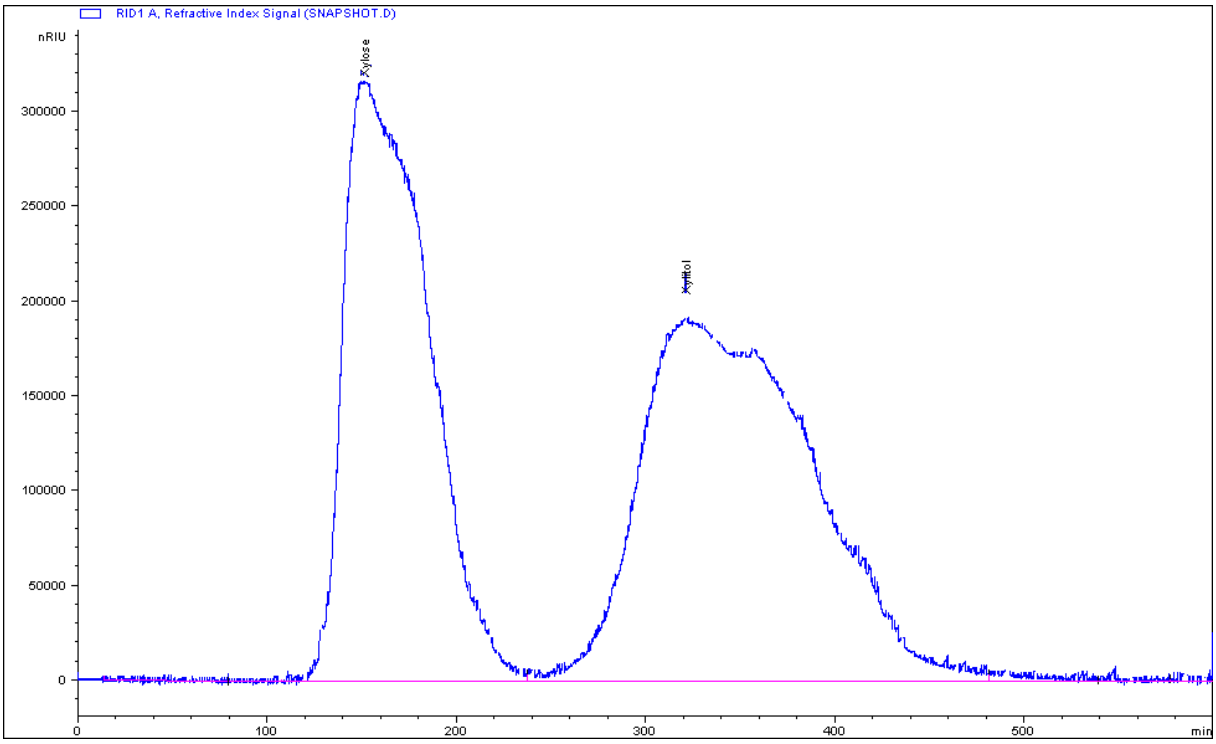

Abbildung 14: Trennung von Xylitol und Xylose auf der CAC bei einmaliger Zugabe und stehendem Ringspalt.

Im Anschluss wurden Untersuchungen zur Trennung von synthetischen Fermentationslösungen durchgeführt. Für die Versuche wurde der Eluent mit 10 U/min und einem 3,2 mm Schlauch zugegeben, was ca. 12 ml/min entspricht. Die zu trennende synthetische Lösung – 50 g/l Xylitol, 10 g/l Xylose, 10 g/l Arabinose - wurde über eine Feedleitung zugeführt.

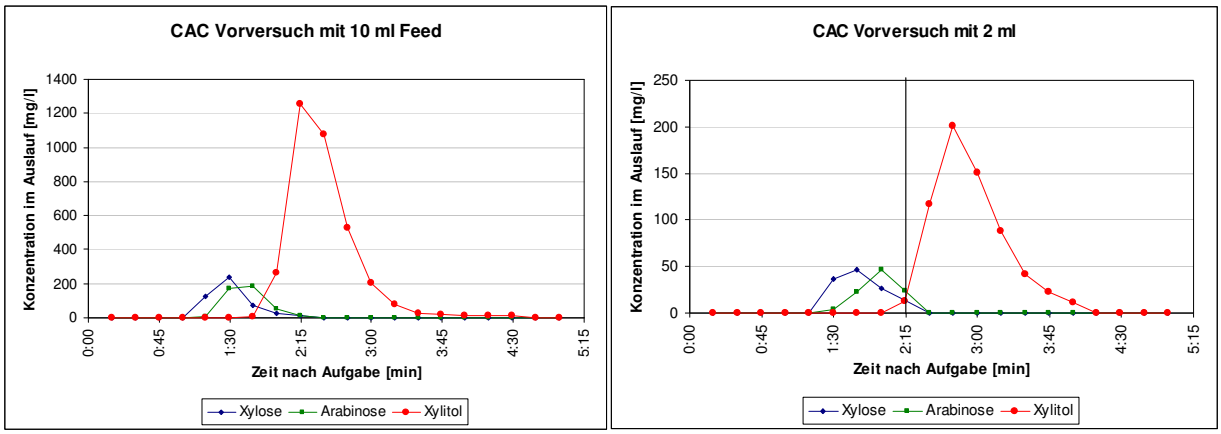

Abbildung 15: Versuche mit stehender CAC und einmaliger Aufgabe durch Feedleitung.

Die Versuche wurden durchgeführt mit 10 ml und 2 ml Aufgabe. Die Ergebnisse sind gut reproduzierbar und lassen vermuten, dass sich im kontinuierlichen Betrieb eine hohe Ausbeute bei hoher Reinheit zu erzielen sein müsste (siehe Abb. 30).

Im Anschluss wurden entsprechende Versuche mit drehender CAC durchgeführt. Die folgenden Abbildungen (siehe Abb. 31 - 33) zeigen den Einfluss der Drehgeschwindigkeit auf die Trennung der drei Komponenten Xylose, Arabinose und Xylitol, jeweils separat für die inneren Bohrungen (B1 bis B15), die äußeren Bohrungen (A1 bis A15) sowie alle Bohrungen. Um die Auswirkungen der Drehgeschwindigkeit quantifizieren zu können, wurde unter der Annahme, dass der Fluss durch alle Bohrungen identisch ist berechnet, welche Ausbeute bei welcher Reinheit durch Auswahl des Bereiches der zu berücksichtigenden Bohrungen möglich ist. Für die Berechnung der Ausbeute wurden zunächst die Xylitol-Konzentrationswerte aller Bohrungen aufsummiert (gesamte Xylitolmenge). Dem gegenübergestellt wurde die Summe aller Konzentrationswerte aus den Bohrungen, die für die Entnahme des Produktes geeignet schienen. Dies waren B14 bis A5 (12 Bohrungen) im Versuch mit der langsamsten Drehung (5 Hz, ca. 0,125 U/h), B5 bis A14 (18 Bohrungen) bei der mittleren Geschwindigkeit (10 Hz, ca. 0,25 U/h) und schließlich B4 bis A11 (14 Bohrungen) für die höchste Geschwindigkeit (15 Hz, ca. 0,375 U/h).

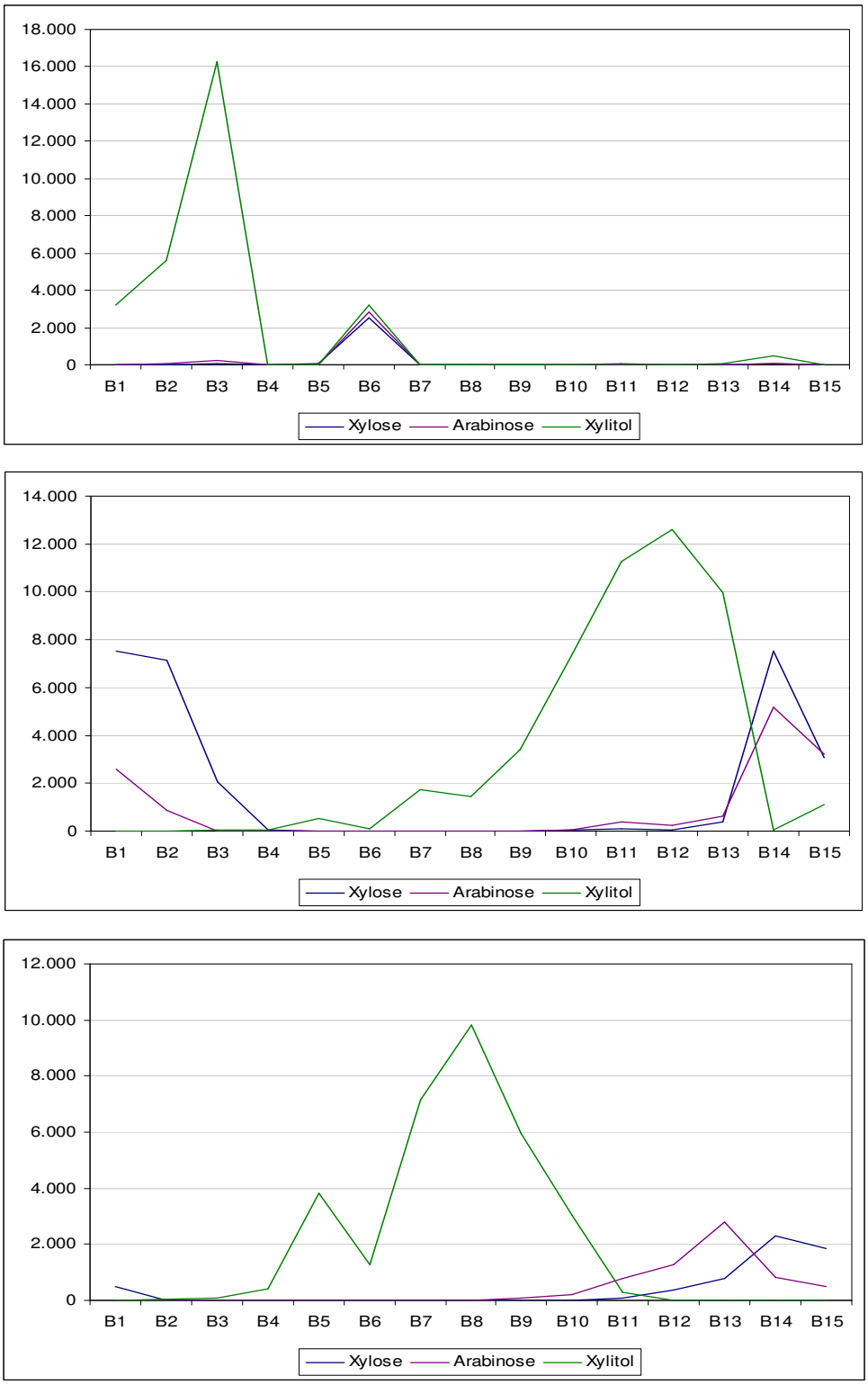

Abbildung 16: Übersicht innere Ausgänge (B1 bis B15): Oben: bei 5 Hz (0,125 U/h), Mitte: bei 10 Hz (0,25 U/h), Unten: bei 15 Hz (0,375 U/h).

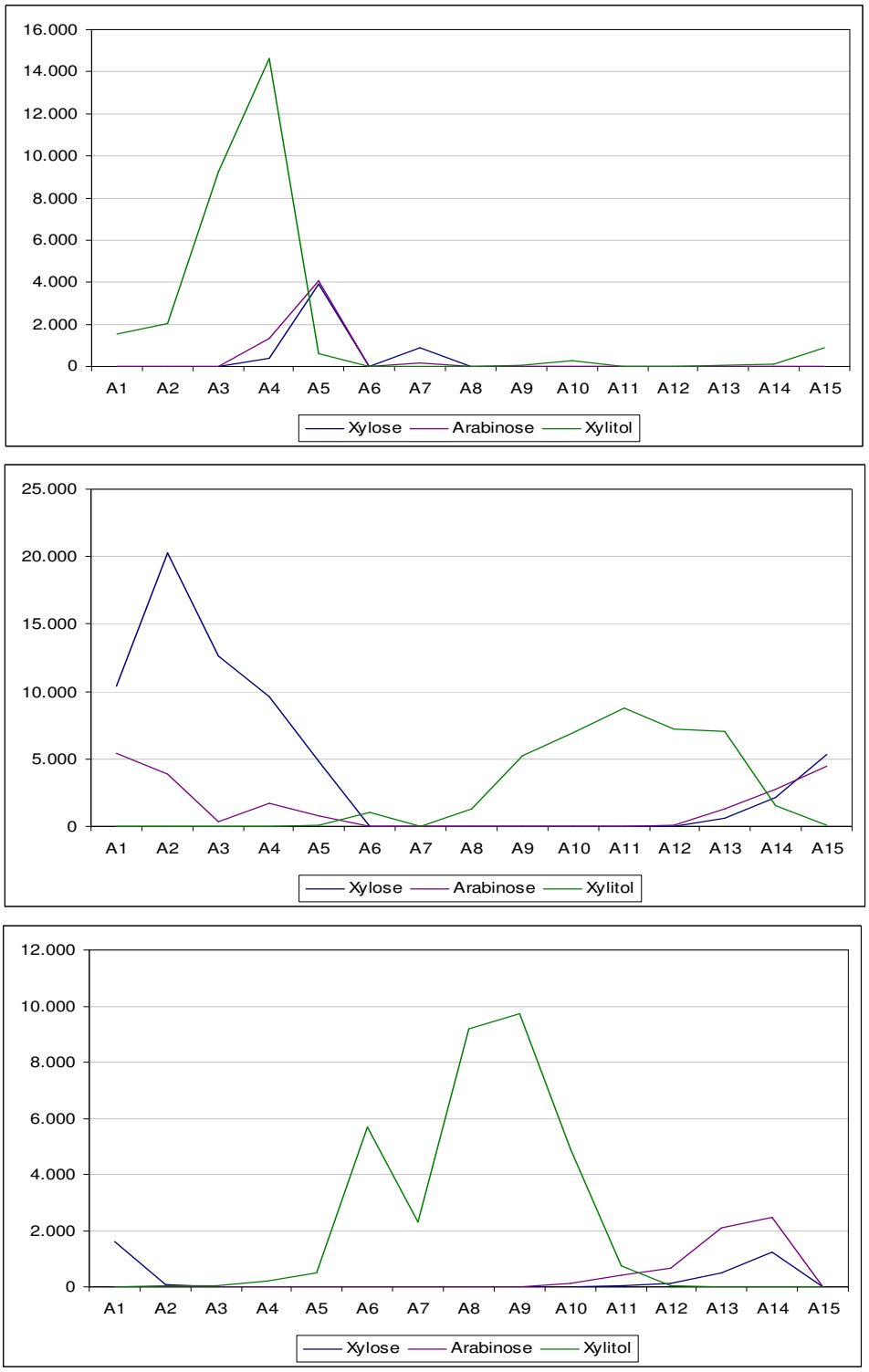

Abbildung 17: Übersicht äußere Ausgänge (A1 bis A15): Oben: bei 5 Hz (0,125 U/h), Mitte: bei 10 Hz (0,25 U/h), Unten: bei 15 Hz (0,375 U/h).

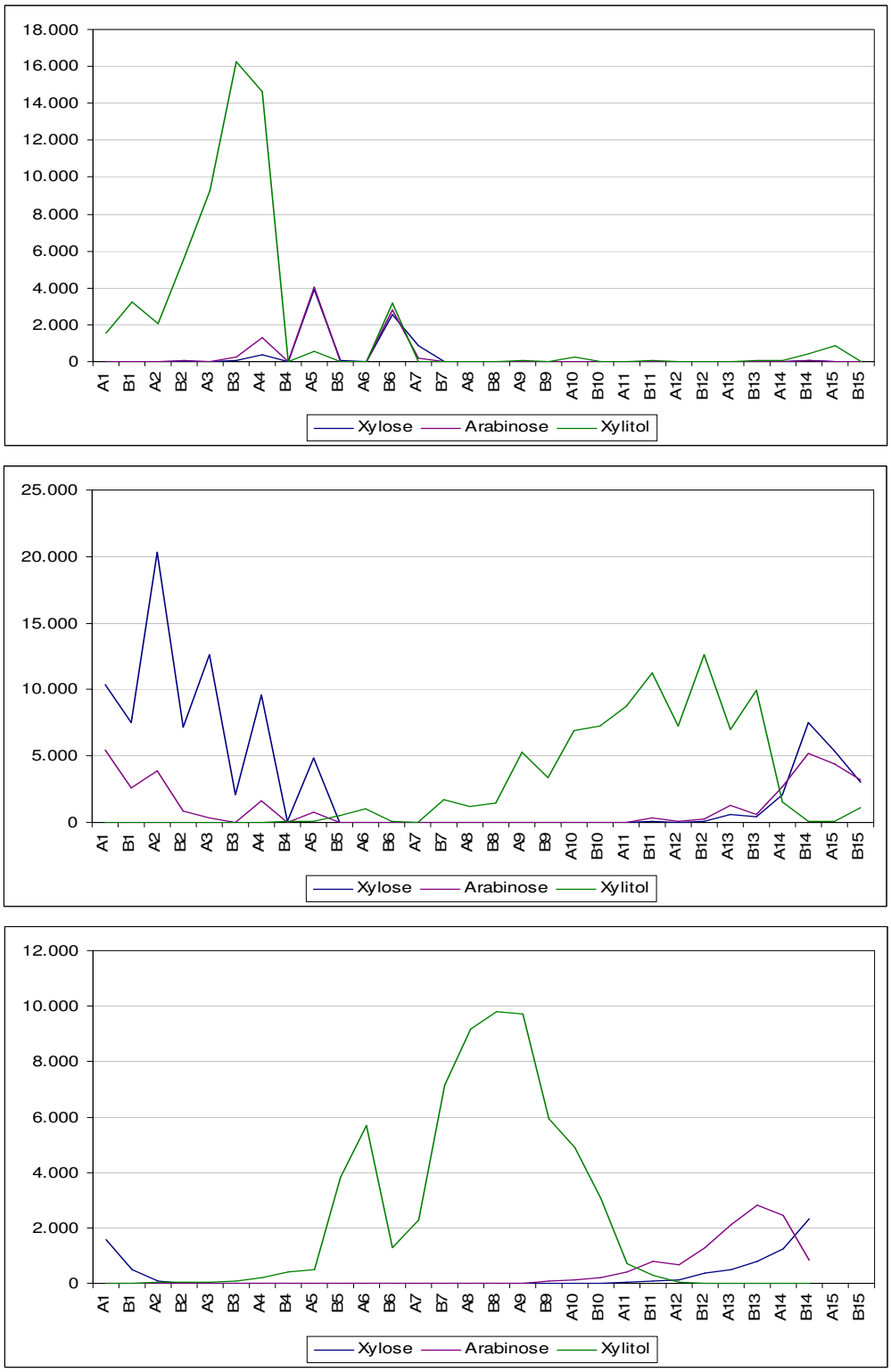

Abbildung 18: Übersicht aller Ausgänge (A1 bis A15 und B1 bis B15): Oben: bei 5 Hz (0,125 U/h), Mitte: bei 10 Hz (0,25 U/h), Unten: bei 15 Hz (0,375 U/h).

Die ausummierten Xylitol-Konzentrationen der jeweils berücksichtigten Auslässe geteilt durch die entsprechende Gesamtsumme der Konzentrationen aller Auslässe wurden

mit der Ausbeute des Reinigungsschrittes gleich gesetzt. Diese Ausbeute wuchs mit der Drehgeschwindigkeit von 93,5 % bei 5 Hz über 98,4 % bei 10 Hz bis auf 98,7 % bei 15 Hz an (siehe Tab. 4). In gleicher Weise stieg auch der Reinheitsgrad der Xylitolfraktion an. Die Verunreinigung wurde bestimmt, in dem die Konzentrationswerte für Arabinose und Xylose für den Bereich der Auslässe, die zur Gewinnung von Xylitol berücksichtigt wurden, aufsummiert und durch die Summe der Konzentrationen von Arabinose, Xylose und Xylitol geteilt wurden. Der Reinheitsgrad ergibt sich dann durch Subtraktion der Verunreinigung von 1.

Tabelle 4: Ergebnisse der Versuche zur Drehgeschwindigkeit

Parameter	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3
Einstellung Frequenz	5 Hz	10 Hz	15 Hz
Drehgeschwindigkeit	ca. 0,125 U/h	ca. 0,25 U/h	ca. 0,375 U/h
Einstellung Pumpe	10 U/min	10 U/min	10 U/min
Schlauch Eluent	3,2 mm ID	3,2 mm ID	3,2 mm ID
Schlauch Feed	0,8 mm ID	0,8 mm ID	0,8 mm ID
Eluent	Wasser	Wasser	Wasser
Feedlösung	50 g/l Xylitol 10 g/l Arabinose 10 g/l Xylose	50 g/l Xylitol 10 g/l Arabinose 10 g/l Xylose	50 g/l Xylitol 10 g/l Arabinose 10 g/l Xylose
Berücksichtigte Auslässe	B 14 bis A 5	B 5 bis A 14	B 4 bis A 11
Anzahl der berücksichtigten Auslässe	12 / 30	18 / 30	14 / 30
Höchste Xylitolkonzentration	16,3 g/l	12,6 g/l	9,8 g/l
Gesamtsumme Xylitolkonzentraion	58.307 mg/l	88.805 mg/l	65.352 mg/l
Berücksichtigte Xylitolkonzentraion	54.524 mg/l	87.369 mg/l	64.514 mg/l
Berücksichtigte Verunreinigungen	10.224 mg/l	8.834 mg/l	926 mg/l
Ausbeute	93,5 %	98,4 %	98,7 %
Reinheitsgrad	85,1 %	91,0 %	98,6 %

Der Reinheitsgrad nahm zu von 85,1 % über 91,0 % bis auf 98,6 % bei der schnellsten Drehung. Die Zunahme der Ausbeute und der Reinheit lässt sich dadurch erklären, dass es aufgrund der Verteilung des Produktes auf mehr Auslässe bei höherer Drehgeschwindigkeit leichter fällt, diejenigen Auslässe weg zu lassen, in denen sich Xylitol mit Arabinose und Xylose vermischt, weil dies die Ausbeute nicht so stark

schmälert, was dann auch gleichzeitig den Reinheitsgrad erhöht. Der Nachteil einer höheren Drehgeschwindigkeit ist hingegen die stärkere Verdünnung des Produktes Xylitol. Es ist ohne weiteres einsichtig, dass bei der geringsten Drehgeschwindigkeit auch das Produkt Xylitol sich auf wenige Ausgänge verteilt und die Konzentrationen dadurch höher sind. Die Spitzenkonzentration für Xylitol lag bei der langsamsten Drehgeschwindigkeit bei 16 g/l (Aufgabe: 50 g/l), bei der mittleren bei 13 g/l und bei der schnellsten bei 10 g/l. Der Vorteil einer langsamen Drehgeschwindigkeit wäre also der, dass für die Gewinnung des reinen Produktes Xylitol weniger Wasser verdampft oder sonst auf geeignete Weise entzogen werden müsste.

2.4 Planung einer Großtechnikumsanlage

Auf der Grundlage der gewonnenen Ergebnisse wurde gemeinsam mit der Fa. Reiner Schmitt ein Konzept für eine großtechnische Anlage zur stofflichen und energetischen Nutzung von Stroh konzipiert. In dieser Anlage soll zunächst neben dem Biogas ein Xylitolkonzentrat als Nebenprodukt hergestellt werden. Später können auch andere Zielprodukte, wie z. B. Polyhydroxibuttersäure (PHB) nach dem Strohaufschluss durch Fermentation gewonnen werden. Die Prozessschritte der Großtechnikumsanlage zum Strohaufschluss werden nachfolgend näher erläutert:

Das aufzukonzentrierende Hydrolysat wir der Eindampfanlage mittels der Feed-Pumpe [P-1601] aus dem Vorlagebehälter [T-1602] zugeführt. Das Hydrolysat wird zusammen mit der Umlaufflüssigkeit aus dem Abscheider [T-1602] durch den vom BHKW beheizten Plattenwärmeaustauscher [W-1601] gefördert und nimmt die zur Verdampfung notwendige Energie auf. Die Strömungsgeschwindigkeit ist so hoch, das im Wärmeaustauscher keine Verdampfung stattfindet. Diese erfolgt erst nach der Entspannung im Dampf-Flüssigkeitsabscheider [T-1602] unter Vakuum. Die separierte Flüssigkeit fließt zum überwiegenden Teil zur Feed- und Umlaufpumpe [P-1601]. Ein Teil der vorkonzentrierten Flüssigkeit wird mittels der Vorkonzentratpumpe [P-1602] in die nächste Verdampfungsstufe eingespeist und dort weiter aufkonzentriert.

Die dem Abscheider [T-1602] entweichenden Brüden heizen die zweite Verdampfungsstufe. Die zweite Verdampferstufe besteht aus dem Fallstromverdampfer[W-1602], dem Dampf- Flüssigkeitsabscheider [T-1603], der Zirkulationspumpe [P-1603] und der Produktaustragspumpe [P-1604].

Die Flüssigkeit wird dem Wärmeaustauscher mittels der Zirkulationspumpe [P-1603] am Kopf zudosiert und im Wärmetauscher [W-1602] abwärtsströmend verdampft. Im Abscheider [T-1603] erfolgt die Trennung in Dampf- und Flüssigphase. Die separierte Flüssigkeit fließt zum überwiegenden Teil zur Zirkulationspumpe [P-1603]. Ein Teil der konzentrierten Flüssigkeit wird mittels der Produktaustragspumpe [P-1604] zur Xylose Fermentation gepumpt.

Die dem Abscheider entweichenden Brüden werden im Schlußkondensator [W-1603] niedergeschlagen und gelangen zusammen mit dem im Fallstromverdampfer [W-1602] anfallendem Brüdenkondensat in den Kondensat Sammelbehälter [T-1001]. Von dort wird das heiße Kondensat mittels der Kondensatpumpe [P-1004], zur Nachspeisung des Prozesswassers, in den Aufheizbehälter [T-1101] gepumpt.
Der Kondensator [W-1603] wird mittels im Kreislauf geführten Wassers gekühlt. Die Kühlung des heißen Kühlwassers erfolgt mittels Luftkühlung im Tischkühler [TK-1101] im geschlossenen Kühlkreislauf.

2.5 Wirtschaftlichkeitsbetrachtung

Aus der technischen Auslegung der Strohaufschlussanlage für 5.400 t/h und der Fermentationstechnik zur Herstellung von ca. 600 t/a an Xylitol wurden folgende Investitionskosten ermittelt:

2 Aufschlussreaktoren für Stroh R-1301 Liegender Druckbehälter aus Edelstahl für 7 barü mit Ø 180 cm und 1000 cm Länge	328.000,00 €
Pufferbehälter T-1601 Stehender Druckbehälter aus Edelstahl für 7 barü mit Ø 200 cm und 600 cm Höhe, Nutzinhalt 20 m^3	40.200,00 €
Aufheizbehälter T-1102 Stehender Druckbehälter aus Edelstahl, drucklos mit Ø 250 cm und 500 cm Höhe, Nutzinhalt 20 m^3	27.750,00 €
Eindampfbehälterbehälter T-1102 Stehender Druckbehälter aus Edelstahl, drucklos mit Ø 250 cm und 500 cm Höhe, Nutzinhalt 20 m^3	13.500,00 €
Wärmetauscher W-1001 Thermoölwärmetauscher des BHKW aus Edelstahl, 400 kW Leistung	28.000,00 €
Wärmetauscher W-1301 Heisswasserdoppelrohrwärmetauscher aus Edelstahl, 600 kW Leistung	55.000,00 €
Wärmetauscher W-1601 Heisswasserdoppelrohrwärmetauscher aus Edelstahl, 280 kW Leistung	5.480,00 €
Fallstromverdampfer T-1602 aus Edelstahl mit Rohrbündel-Verdampfer W-1602 zum Entspannen des Mediums von 85 °C auf 55 °C	83.200,00 €
Fallstromverdampfer T-1603 aus Edelstahl mit Wärmetauscher W-1603 zum Aufheizen des Mediums auf 55 °C	70.520,00 €
2 Luftkühler für die Verdampferanlage	36.000,00 €
Vakuumanlage mit Kondensatabscheider	25.900,00 €
Säurelagerung mit Fundament und Auffangwanne (30 m^3)	35.000,00 €
Sicherheitsventile- und vorgaben nach TÜV-Konzept	15.000,00 €
Rohrleitungen, Pumpen, Dosiereinrichtungen inkl. Montage	116.000,00 €
Isolierung der Gesamtanlage	38.000,00 €
2 Gärtanks zur Xylitolfermentation Stehender Druckbehälter aus Edelstahl, drucklos mit Ø 250 cm und 250 cm Höhe, Nutzinhalt 10 m^3	55.500,00 €
Hefeanzuchtbehälter Stehender Druckbehälter aus Edelstahl, drucklos mit Ø 50 cm und 250 cm Höhe, Nutzinhalt 2 m^3	9.250,00 €
Mess- und Regeltechnik inkl. Inbetriebnahme	94.000,00 €
Gebäude und Container für die Anlagentechnik, anteilig	250.000,00 €
Halle zur Strohlagerung, anteilig	120.000,00 €
Gesamtinvestitionssumme:	**1.446.300,00 €**

Die nachfolgende Wirtschaftlichkeitsbetrachtung geht davon aus, dass die Strohaufschluss- und Fermentationsanlage zur Herstellung von Xylitol in Verbindung mit einer Nawaro-Biogasanlage betrieben wird. Die Gesamtanlage wurde für eine Leistung von 1 $MW_{elektrisch}$ und 1,2 $MW_{thermisch}$ ausgelegt. Für den Strohaufschlussprozess sollen 400 kW thermischer Leistung aus dem Abgas des BHKW auf hohem Temperaturniveau gewonnen werden. Ungefähr die Hälfte des Biogaspotentials stammt aus dem Stroh, während die andere Hälfte aus Nawaros (Mais, Zuckerrübe, etc.) gewonnen wird. In der unten dargestellten Wirtschaftlichkeitsbetrachtung werden die Erträge und Ausgaben der Biogasanlage nicht dargestellt. Es werden jedoch Synergien der beiden Anlagen berücksichtigt.

Anlagendaten

Strohinput	5.400 t/a
Xylitoloutput 112 kg / t Stroh (90 % des ermittelten Potenials)	604,8 t/a

Jährliche Einnahmen/Ausgaben

Kostenarten		Einnahmen	Ausgaben
Xylitolgewinnung	2000,00 €/t	1.209.600,00 €	
Einkauf Stroh	70,00 €/t		378.000,00 €
Personalkosten Betriebspersonal (anteilig mit Biogasanlage)			80.000,00 €
Verwaltungs- und Vertriebskosten			105.000,00 €
Wissenschaftlich-technische Beratung / Analysekosten			30.000,00 €
Verbrauchsmaterial zur Xylitolgewinnung			92.000,00 €
Versicherung 0,5 % der Investitionskosten			7.231,50 €
Wartung / Instandhaltung Gesamtanlage			43.389,00 €
Bedarf an elektrischer Energie	0,15 €/kWh		48.600,00 €
Summe der Einnahmen / Ausgaben		**1.209.600,00 €**	**784.220,50 €**
Jährlicher Deckungsbeitrag		425.379,50 €	

Gesamtwirtschaftlichkeit und Refinanzierung

Investitionskosten Produktionsanlage mit TDH	1.446.300,00 €
Mittlere Nutzungsdauer für langlebige Anlagenteile (z.B. drucklose Behälter, Rohrleitungen, bauliche Anlagen) in Jahren	20
Mittlere Nutzungsdauer für Anlagenteile mit stärkeren Verschleiß- und Ermüdungserscheinungen (die nicht in der jährlichen Instandhaltung berücksichtigt sind) in Jahren	10
Jahrliche Darlehnsrückzahlung bei einem eff. Jahreszins von 4,5 %	109.800,10 €
Jährliche Abschreibung der langlebigen Anlagenteile 5 % (bez. 50 % Invest)	36.157,50 €
Jährliche Abschreibung kurzlebigerer Anlagenteile 10 % (bez. 50 % Invest)	72.315,00 €
Jährlicher Deckungsbeitrag	425.379,50 €
Jährlicher Betreibergewinn vor Steuern	**279.421,90 €**

Als Anlageninput sind 5.400 t/a an Stroh vorgesehen. Das Stroh soll in einem Umkreis von 20 km um sie Anlage eingesammelt werden. Dies dürfte in Ackerbauregionen mit ausgeprägtem Getreideanbau kein Problem darstellen. Für das Xylitolkonzentrat wurde mit Einnahmen von 2000 €/t kalkuliert. Das entspricht weniger als der Hälfte des derzeitigen Weltmarktpreises für Xylitol (4000 – 5000 €/t). Als Betriebspersonal wurden zwei Personen vorgesehen (Früh- und Mittagsschicht). Zusätzlich kann bei Bedarf noch Personal der Biogasanlage für Wartungs- und Instandhaltungsarbeiten genutzt werden. Die Verwaltungs- und Betriebskosten setzen sich hauptsächlich aus einer Betriebsleiterstelle und einer Halbtagsstelle einer Bürokraft zusammen. Wissenschaftliche Beratung zur Optimierung der Fermentation und die Durchführung von Analysen zur Überwachung der Prozess- und Produktqualität werden extern beauftragt. Als Betriebsmittel gelten hauptsächlich die Salpetersäure (ca. 100 t/a) und Betriebswasser (16.000 m^3), dass nicht mehr zurückgewonnen werden kann. Aus dem Betrieb der elektrischen Aggregate wurde eine durchschnittliche Leistung von 45 kW_{el} ermittelt und in Ansatz gebracht. Die benötigte Wärmeenergie wird der Anlage zur Xylitolherstellung von der Biogasanlage kostenlos überlassen, da diese nach EEG einen KWK Bonus von 3 ct/kWh und zudem den Hydrolyserest in Form von aufgeschlossener Strohcellulose erhält.

Die dargestellte Wirtschaftlichkeitsbetrachtung ist auf die Xylitolproduktionsanlage fokussiert. Aus Sicht des EEG und der Betriebsführung kann jedoch der gemeinsame Betrieb mit der Biogasanlage in einer Gesellschaft sinnvoll sein. Die Ergebnisse der Wirtschaftlichkeitsbetrachtung zeigen jedoch allein schon für die Xylitolproduktion ein gutes Ertragspotential. Obwohl die Entwicklung der Weltmarktpreise für Xylitol in den nächsten Jahren nicht absehbar ist, stellt Stroh durch die in diesem Projekt entwickelte Aufschlusstechnologie ein interessantes Kosubstrat für Biogasanlagen dar, das über das EEG für 20 Jahre eine gesicherte Einnahmequelle darstellt. Je nach Konfiguration der Biogasanlage (Gülle-, KWK-, Technologiebonus) können Vergütung von 18 – 22 ct /kWh erzielt werden. Im Durchschnitt hätte das in der Wirtschaftlichkeitsbetrachtung eingesetzte Stroh ein jährliches Ertragspotential von ca. 800.000 €.

2.6 Umweltbetrachtung

In die Umweltbetrachtung ist die Bedeutung des Rohstoffes Stroh für die Nährstoff- und Mineralstoffkreisläufe ebenso zu Berücksichtigen wie die Belastungen durch den Transport der benötigten Mengen. Darüber hinaus ist der Bedarf an Prozesswasser und an Chemikalien zu bewerten.

Stroh ist ein wichtiger Lieferant von Humus und Mineralstoffen für landwirtschaftlich genutzte Böden. Auf der Basis verschiedener Studien und Berechnungen sind maximal 30 % des Strohaufkommens für stoffliche und/oder energetische Zwecke nutzbar wenn eine mittel- bis langfristige Beeinträchtigung wichtiger Stoffkreisläufe vermieden werden soll. Dies gilt uneingeschränkt dann wenn das Stroh im Rahmen der Nutzung vollständig verbraucht wird (z.B. Strohverbrennung). Im Rahmen des vorliegenden Forschungsprojektes ist allerdings kein vollständiger Verbrauch des Rohstoffes vorgesehen. Durch die Einbeziehung einer Biogasanlage zur Nutzung der Reststoffe verbleiben der Lignin- sowie der Mineralstoffanteil im Prozess und werden über den Gärrest der Biogasanlage wieder den Böden zugeführt. Somit bleiben wesentliche Stoffkreisläufe geschlossen und eine nachhaltige Nutzung des Strohaufkommens ist sichergestellt.

Ein weiterer wichtiger Punkt der Strohnutzung sind der zu berücksichtigende Flächenbedarf sowie das damit verbundene Transportaufkommen. Je Hektar Getreideanbaufläche kann mit einem Strohaufkommen von ca. 5 Tonnen gerechnet werden. Für den Bedarf der konzipierten Anlage von 5.400 Tonnen pro Jahr ist somit eine Fläche von 1000 – 1100 ha zu berücksichtigen. Um eine zu starke Verkehrsbelastung und zu lange Transportwege zu vermeiden sollten die benötigten Flächen in einem Umkreis von maximal 20 km um einen Anlagenstandort liegen. Beim Einsatz einer angepassten Transportlogistik (18 t/Fahrzeug) wären ca. 300 Fahrten zur Anlieferung erforderlich. In Rheinland-Pfalz bieten sich verschiedene Regionen mit ausgeprägten Getreideanbau und relativ geringen Viehbeständen an. Ein Beispiel hierfür wäre der Kreis Alzey-Worms mit einem Strohaufkommen von rund 116.000 t/a von dem, je nachdem ob eine Strohdüngung mit einbezogen wird, zwischen 55.000 – 100.000 t/a verfügbar wären.

Wie die Untersuchungen im Technikumsmaßstab gezeigt hatten werden für effiziente Strohaufschlüsse erhebliche Mengen an Prozesswasser benötigt. Der zunächst ermittelte Bedarf liegt bei rund 10 m^3 Wasser je Tonne Stroh. Es konnte allerdings gezeigt werden das gewonnene Hydrolysate für Folgeaufschlüsse verwendet werden können ohne das die Aufschlusseffizienz signifikant sinkt. Somit ließe sich eine Reduktion des Wasserbedarfs auf 5 – 6 m^3 je Tonne realisieren. Hiervon lassen sich rund 50 % im Prozessverlauf zurückgewinnen. Der zu veranschlagende Nettowasserbedarf liegt damit bei rund 3 m^3 je Tonne Stroh. Bezogen auf die konzipierte Anlage mit einem Strohbedarf von 5.400 t/a ergibt sich ein Gesamtbedarf an Frischwasser von rund 16.000 m^3.

Der Einsatz von Chemikalien bzw. mineralischer Säuren ist ein weiter Punkt der hinsichtlich der Umweltbetrachtung zu beachten ist. Die Untersuchungen hatten gezeigt dass der Einsatz von mineralischen Säuren den hydrothermalen Aufschluss deutlich verbessern kann. In einem Praxismaßstab wäre im Besonderen auf eine sichere Handhabung und Lagerung der vorzuhaltenden Säuremengen zu achten. Von einer direkten Umweltbelastung im Rahmen des Prozesses ist allerdings nicht auszugehen, da die Reste der hydrothermalen Aufschlüsse und der Fermentationen als Substrat für eine Biogasanlage vorgesehen sind.

3 Zusammenfassung und Diskussion

In dem vorliegenden Forschungsprojekt wurde der gesamte Verfahrensprozess zu einer Produktion des Zuckerersatzstoffes Xylitol aus Stroh untersucht. Parallel hierzu wurden Untersuchungen zu einer energetischen Nutzung des Ausgangssubstrates in Form einer Biogasproduktion untersucht.

Die im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen ermittelten Ergebnisse zeigen, dass sich mittels eines hydrothermalen Aufschlusses die Xylanfraktion des Strohs zum überwiegenden Anteil in Monosaccharide überführen lässt. Beim Weizenstroh kann man, ausgehend vom Hemicellulosegehalt des Substrates und dem unteroptimierten Bedingungen erzielten Xyloseertrag, von einen Aufschlussgrad von > 90 % ausgehen. Entsprechend der Zielsetzung des Projektes konnte dies bei relativ moderaten Behandlungstemperaturen von 140 bis 160 °C erreicht werden. Damit ist davon auszugehen das die benötigte thermische Energie für den Prozess aus der BHW-Abwärme einer dem Prozess angeschlossenen Biogasanlage bereitgestellt werden kann. Vorraussetzung für einen entsprechend weitreichenden Aufschluss ist allerdings der ausreichende Zusatz einer mineralischen Säure. Die Einsatzmenge hängt vom TS, OTS und Ligningehalt des Strohs ab. Daneben ergibt sich aus den Untersuchungen im Technikumsmaßstab ein Frischwasserbedarf von rund 10 bis 12 m^3 je Tonne Stroh welcher sich durch eine Rückführung und Wiederverwendung der Hydrolysate auf 5 – 6 m^3 halbieren lässt.

Im Hinblick auf einen weitergehenden Aufschluss des Strohs wurden Voruntersuchungen zu einer enzymatischen Hydrolyse der Cellulosefraktion durchgeführt. Im Rahmen der thermischen Aufschlüsse zeigte sich erwartungsgemäß, dass bis zu Temperaturen von 160 ° keine signifikante Hydrolyse der Cellulosefasern stattfindet. Allerdings hatte die thermische Behandlung zur Folge, dass eine anschließende enzymatische Hydrolyse einen im Vergleich zum unbehandelten Stroh deutlich erhöhten Abbaugrad erbrachte. Der durch den Einsatz cellulolytischer Enzyme erzielte Verzuckerungsgrad des TDH-behandelten Strohs lag um das 2 bis 4-fache oberhalb des unbehandelten Strohs. Mit einem Gesamtverzuckerungsgrad von bis zu 20 % (bezogen auf die Trockenmasse) konnte

ein zudem ein erheblicher Anteil der Cellulosefraktion mittels enzymtischer Hydrolyse aufgeschlossen werden.

Im Rahmen der Untersuchungen zur Biogasproduktion aus thermisch behandeltem Stroh konnte eine signifikante Verbesserung der Vergärbarkeit infolge des hydrothermalen Aufschlusses demonstriert werden. Bereits die Ergebnisse der Voruntersuchungen zur Versäuerung deuteten auf eine erhebliche gesteigerte Hydrolyse des hydrothermal aufgeschlossenen Strohs hin. Dies konnte sowohl im Rahmen von dynamischen Gärtests, als auch durch statische Ausgasungsversuche bestätigt werden. Hieraus ergibt sich ein Steigerungspotential bezüglich des Biogaspotentials gegenüber unbehandeltem Stroh in der Größenordnung von 60 %. Auf der Grundlage der ermittelten spezifischen Erträge für Weizenstroh von 490 Nl / kg oTS und einer Nutzung des produzierten Biogases mittels eines Blockheizkraftwerkes (BHKW) ergibt sich ein energetischer Ertrag von rund 750 $KWh_{el.}$ sowie ca. 900 $KWh_{th.}$ je Tonne Frischmasse (unter der Annahme eines elektrischen Wirkungsgrades 38 % und eines thermischen von 45 %). Darüber hinaus konnte demonstriert werden, dass durch die hydrothermale Behandlung wesentliche verfahrentechnische Vorraussetzungen geschaffen werden um Stroh für eine Biogasproduktion zu nutzten. Die Probleme beim Einsatz von unbehandeltem Stroh in einer Biogasanlage liegen hier in der Einbringung des Substrates über Schnecken (insbesondere hoher Verschleiß durch starke Reibungskräfte) sowie in der Tatsache das sich strukturell intaktes Stroh im Fermenter kaum unterrühren lässt (ausgeprägte Schwimmdeckenbildung). Durch die TDH-Behandlung wird die sehr stabile Lignocellolulose-Struktur partiell aufgelöst und darüber hinaus nimmt das Substrat erhebliche Mengen Wasser auf. Infolge dessen lässt sich das behandelte Stroh zum einen sehr gut fördern und zudem problemlos einrühren.

Die Fermentationsversuche zur biotechnologischen Konversion der gewonnenen Xylosefraktion zu dem Zuckerersatz Xylitol mit der Hefe *Candida guilliermondii* ergaben Umsatzraten von knapp 73 % (Xylose/Xylitol [g/g]). Dieser Wert lag noch signifikant oberhalb der im Rahmen eines früheren Projektes mit Biertreberhydrolysaten erzielten maximalen Umsatzrate (67 % [14]). Auch konnte die Xylitolproduktionsrate mit rund 1 $g/l*h^{-1}$ um ca. 30 % gesteigert werden. Die mittels

hydrothermalen Aufschluss gewonnenen Hydrolysate erwiesen sich somit als gut geeignetes Wachstumssubstrat für den gewählten Produktionsstamm. Eine Supplementierung der Hydrolysate war nur im Hinblick auf eine ausreichende Stickstoffquelle notwendig. Stroh stellt generell ein sehr stickstoffarmes Substrat dar (CN-Verhältnis ~ 100), um dieses Defizit zu beheben eignen sich verschiedene Ammoniumverbindungen wie Ammoniumsulfat oder Ammoniumphosphat. Zwar wurde im Rahmen des TDH-Aufschlusses über den Einsatz von Salpetersäure bereits eine Stickstoffquelle ins Medium eingebracht, allerdings können die meisten Hefen Nitrat nicht als Alternative zu Ammonium oder Aminosäuren nutzten. Potentielle Hemmstoffe die Rahmen der hydrothermalen Behandlung von Stroh auftreten können, insbesondere Essigsäure, Furfural und Hydroxymethylfurfural (HMF), erwiesen sich für die Fermentation als unproblematisch da die entsprechenden Konzentrationen unterhalb kritischer Grenzwerte blieben. Hierbei stellte auch eine thermische Einengung der Hydrolysate kein Problem dar da Essigsäure und Furfural aufgrund Ihrer Flüchtigkeit nicht wesentlich aufkonzentriert werden. HMF wiederum lag generell nur in sehr geringen Ausgangskonzentrationen vor so das, auch nach einer starken Einengung des Hydrolysats, die ermittelten Grenzwerte deutlich unterschritten wurden. Auf der Grundlage der erzielten Xyloseerträge im Rahmen der hydrothermalen Aufschlüsse von bis zu 170 kg je Tonne Stroh (Frischmasse) sowie einer Umsatzrate im Verlauf der Fermentation von 73 % ergibt sich ein Ertragspotential von rund 124 kg Xylitol je Tonne Ausgangssubstrat.

Im Rahmen des Arbeitspaketes 5 wurden Untersuchungen zur chromatographischen Abtrennung und Aufreinigung des Zielproduktes Xylitol durchgeführt. Das spezielle Verfahren der annularen Chromatographie mit einem Ringspaltchromatographen wurde gewählt da es einen kontinuierlichen Betrieb ermöglicht. Aufgrund von Vorversuche auf präparativen Säulen war ein Säulenmaterial mit Calcium-Phase (Purolite PCR 631 Ca) ausgewählt worden da hiermit die beste Trennleistung zwischen dem Zuckeralkohol Xylitol und den Pentosen Arabinose und Xylose zu erzielen war. Die Ergebnisse der präparativen Chromatographie mit diskontinuierlicher Probenaufgabe konnten im Anschluss sukzessive auf die CAC im kontinuierlichen Betrieb übertragen werden. Durch weitergehende Optimierung der

zentralen Prozessparameter (Flussrate, Drehgeschwindigkeit) konnte ein Reinheitsgrad des abgetrennten Xylitols von 98,6 % bei einer Ausbeute von 98,7 % erzielt werden.

Das Arbeitspaket 6 beinhaltete die Planung einer Großtechnikumsanlage zum hydrothermalen Aufschluss von Stroh. Auf der Grundlage der gewonnenen Ergebnisse konnte eine komplette Anlage zur stofflichen und energetischen Nutzung von Stroh konzipiert werden. Das Konzept umfasst das gesamte Verfahren bis hin zur Bereitstellung einer konzentrierten Xylitollösung einschließlich aller notwendigen Anlagenkomponenten.

Die sich anschließende Wirtschaftlichkeitsbetrachtung ergab einen Investitionsbedarf für die Anlage in der Größenordnung von 1,45 Mio. €. Die Anlage ist hierbei für eine Verarbeitung von 5.400 t Stroh pro Jahr ausgelegt. Legt man 90 % des ermittelten Potentials an, ließen sich jährlich rund 600 t Xylitol produzieren. Unter Berücksichtigung der Rohstoff- und Energiekosten sowie notwendiger Betriebs-, Wartungs- und Personalkosten und eines Xylitolpreises von 2 €/kg (ca. 50 % des aktuellen Marktpreises für reines Xylitol) ergibt sich ein jährlicher Deckungsbeitrag von ca. 425.000 € bzw. 280.000 € (vor bzw. nach Refinanzierungskosten). Alternativ ließe sich auch ein rein energetischer Anlagenbetrieb realisieren bei dem das aufgeschlossene Stroh vollständig zur Produktion von Biogas verwendet würde.

Literatur:

[1] ASA Spezialenzyme GmbH / Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung / UFL Umweltanalytik- und Forschungs GmbH [2006]: Verbundvorhaben: Entwicklung eines enzymatischen Verfahrens zur Verbesserung von Ausbeute und Qualität bei der Biogaserzeugung aus pflanzlicher und tierischer Biomasse – Teilvorhaben 1-3. FNR; FKZ 22011504 / 22010505 / 22010605.

[2] ATZ-Entwicklungszentrum [2007]: Optimierter Betrieb einer dezentralen landwirtschaftlichen Brennerei durch Einbezug neuer Rohstoffe und Integration einer Biogasanlage. Abschlussbericht Projektstufe 1 (FNR; FKZ 22005503).

[3] Bioreact GmbH / Universität Bonn [2006]: Verbundvorhaben: Wertschöpfung aus nachwachsenden Rohstoffen: Untersuchungen zur Wirkung optimierter Enzympräparate auf die Effizienzsteigerung der Biogasproduktion – Teilvorhaben 1-3. FNR; FKZ 22012503 / 22017003 / 22017103.

[4] Bobleter, O. [1998]: Hydrothermal Degradation and Fractionating of Saccharides and Polysaccharides, Polysaccharides, Structural Diversity and Functional Versatility. Marcel Dekker; Inc. pp. 775-833.

[5] Canilha, L.,Almeida e Silva, J.B., Felipe, M.G.A. & Carvalho W. [2003]: Batch xylitol production from wheat straw hemicellulosic hydrolysate using Candida guilliermondii in a stirred tank reactor. Biotechnol. Letters 21, 1811-1814.

[6] Carvalho, W., Silva, S. S., Vitolo, M., Felipe, M. G. A., & Mancilha, I. M. [2002]: Improvement in xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate achieved by the use of a repeated-batch immobilized cell system. Z. Naturforsch. 57c, 109-112.

[7] Claassen, P.A.M., van Lier, J.B., Lopez Contreras, A.M., van Niel, E.W.J., Sijtsma, L., Stams, A.J.M., de Vries, S.S., Weusthuis, R.A. [1999]: Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. Appl. Microbiol. Biotechnol. 52, 741–755.

[8] Facius, D.: P-CAC Chromatographie für sterile Prozesse

[9] Hilbrig, F. & Freitag, R. [2003]: Continuous annular chromatography. J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 790, 1-15.

[10] Matsushika, A., Watanabe, S., Kodaki, T., Makino, K. & Sawayama, S. [2008]: Bioethanol produktion from xylose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae* expressing xylose reductase, $NADP^+$-dependent xylitol dehydrogenase, and xylulokinase. Journal of Bioscience and Bioengineering. 105, 296-299.

[11] Müller, M. [2007]: Optimierung der Biogasproduktion – Vergleich verschiedener Hydrolyseverfahren. Diplomarbeit, FH Bingen Fachbereich 1 – Life Sciences and Engineering.

[12] Oh, D.-K. & Kim, S.-Y. [1998] Increase of xylitol yield by feeding xylose and glucose in Candida tropicalis. Appl. Microbiol. Biotechnol. 50, 419-425.

[13] Parajo, J.C., Dominguez, H., & Dominguez, J.M. (1998): Biotechnological production of xylitol. Part 1: Interest of xylitol and fundamentals of its biosynthesis. Bioresource Technology 65, 191-201.

[14] Prüf- und Forschungsinstitut Pirmasens e.V. / Technische Universität Kaiserslautern [2007]: Höherwertige Verwertung von xylanhaltiger Biomasse am Beispiel von Biertreber. MWVLW des Landes Rheinland-Pfalz.

[15] Rodrigues, R.C., Sene, L., Matos, G.S., Roberto, I.C., Pessoa, A. Jr. & Felipe, M.G. [2006]: Enhanced xylitol production by precultivation of Candida guilliermondii cells in sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate. Curr. Microbiol. 53, 53-59.

[16] Saha, B.C. [2003]: Hemicellulose bioconversion. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 30, 279-291.

[17] Silva, C.J. & Roberto, I.C. [2001]: Improvement of xylitol production by Candida guilliermondii FTI 20037 previously adapted to rice straw hemicellulosic hydrolysate. Lett. Appl. Microbiol. 32, 248-252.

[18] Wolfgang, J, and Prios, A.: [1997]: Continuous Separation of Carbohydrates by Ion-Exchange Chromatography. Separation Science and Technologie 32, 71-82.

[19] ORBIT 2001 International Conference on “Biological processing of waste: a product-oriented perspective”, Seville 9Th to 12Th May 2001

[20] Pacan, B., Simon R. [2006] Abschlussbericht zur Vorstudie: „Thermodruckhydrolyse zur Verbesserung der Biogasausbeute bei Traubentrester“