



BIO
RAFFINERIE *2021*

Bioraffinerie der Zukunft

Abschlussbericht

**Energie aus Biomasse – Neue Wege zur integrierten Bioraffinerie –
„BIORAFFINERIE2021“**

BMBF-Forschungsvorhaben im Förderprogramm
„BioEnergie 2021 – Forschung für die Nutzung von Biomasse“

Förderkennzeichen

TUHH	0315559 A
DBFZ	0315559 B
CropEnergies	0315559 C
Linde	0315559 D
Clariant	0315559 E
Südzucker	0315559 F
Evonik	0315559 G
Agraferm	0315559 H
Uni Frankfurt	0315559 I
vTI	0315559 J

Inhalt

Modul I

Verfahrenstechnische Optimierung	1
AP I.1 Grundlagen: Untersuchungen zur mikrobiellen Biogaserzeugung	4
AP I.2 Optimierte Biogasproduktion: Verfahrenstechnische Optimierung und Umsetzung	20

Modul II

Erweiterung der nutzbaren Biomasseressourcen „Bioethanol aus Lignocellulose“	33
AP II.1 Thermische Hydrolyse.....	41
AP II.3 Fermentation	65
AP II.4 Wertstoffe, Bilanzierung und Scale up	82

Modul III

Weitere Wertprodukte	88
TAP III.1.1 Energetische Optimierung der Lignin-Pyrolyse zur Gewinnung von Aromaten.....	90
TAP III.1.2 Thermo-chemische Ligninvergasung	104
AP III.2 Erzeugung von Plattformchemikalien	115

Modul IV

Entwicklung und Bewertung integrierter Bioraffineriekonzepte „Neue Konzepte“	126
AP IV.1 Konzeptentwicklung	131
AP IV.2 Konzeptbewertung	154

Modul I

Verfahrenstechnische Optimierung

Agraferm Technologies AG (Förderkennzeichen 0315559 H)
CropEnergies AG (Förderkennzeichen 0315559 C)
Deutsches BiomasseForschungsZentrum gemeinnützige GmbH (Förderkennzeichen 0315559 B)
Südzucker AG (Förderkennzeichen 0315559 F)
TUHH – Institut für Bioprozess- und Biosystemtechnik/AG Zeng (Förderkennzeichen 0315559 A)
TUHH – Institut für Technische Mikrobiologie/AG Antranikian (Förderkennzeichen 0315559 A)
TUHH – Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft/AG Kuchta
(Förderkennzeichen 0315559 A)

Autoren

Prof. Dr.-Ing Kerstin Kuchta, Dipl.-Ing. Thomas Voss, TUHH – Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft

Dr. Wolfgang Wach, Südzucker AG

Dr. Kerstin Sahm, Dipl.-Biol. Immo Röske, TUHH – Institut für Technische Mikrobiologie

Prof. Dr. An-Ping Zeng, Dr. Wael Sabra, TUHH – Institut für Bioprozess- und Biosystemtechnik

Dr. Jürgen Pröter, M. Sc. Thomas Schmidt, Deutsches BiomasseForschungsZentrum

Dipl.-Biol. Johannes Ellenrieder, Agraferm Technologies AG

I. Kurze Darstellung

1. Aufgabenstellung Modul 1 Verfahrenstechnische Optimierung

Das Modul 1 beinhaltet Aspekte zur Verbesserung der technischen, ökonomischen und ökologischen Effizienz von Anlagen zur Bioethanolproduktion wie z. B. die Entwicklung einer optimierten Schlempevergärung mit dem Ziel der Bereitstellung von Prozessenergie und eines Wertprodukts (z. B. Düngemittel, Futtermittel). Hierzu werden die mikrobiellen Grundlagen der Biogasproduktion mit modernen molekularbiologischen Methoden und kinetischen Modellierungen gezielt untersucht und hinsichtlich eines technischen Einsatzes optimiert.

Aus dem Vergärungsschritt der Bioethanolherstellung fällt jeden Tag eine große Menge heißen Reststoffes, die sogenannte Schlempe, an. Um die Gesamtwertschöpfung und die Ökobilanz der Bioethanolanlage zu optimieren, soll der anfallende Reststoff zu Biogas umgesetzt werden. Der anaerobe Abbau der Schlempe stellt durch die komplexen Bestandteile (Lignocellulosefasern und Hefezellen) eine große Herausforderung dar. Die vorhandenen Fasern können zu Ablagerungen in den Biogasreaktoren führen und die Vergärung ist entsprechend bislang nur unzureichend untersucht. Das zentrale Ziel von AP I.1 bestand in der mikrobiologischen und metabolischen Untersuchung Schlempe-vergärender Systeme, um auf diese Weise die Entwicklung eines effizienten Gärprozesses zu ermöglichen.

Ziel des AP I.2 „Optimierte Biogasproduktion“ war die Entwicklung eines effizienten Prozesses zur Biogaserzeugung durch Vergärung von Schlempe am Beispiel der Bioethanolanlage der CropEnergies AG in Zeitz. Es sollte gezeigt werden, dass die im Labor erarbeiteten Ergebnisse auch unter praxisnahen Bedingungen realisiert werden können.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Vor dem Hintergrund der großen Mengenströme, allein in Deutschland wurden 2011 insgesamt 576.828 Tonnen Ethanol produziert, was einem Schlempeaufkommen von ca. 5 Mio. m³ entspricht, sind bei der Optimierung von bereits bestehenden Bioethanolanlagen vor allem die Energieerzeugung aus der anfallenden Schlempe bei minimaler Behandlungszeit und eine rückstandsfreie Nutzung der Reststoffe von zentraler Bedeutung.

Auf diese Weise kann die Energiebilanz des gesamten Verfahrens verbessert, Methan als umweltfreundlicher Energieträger bereitgestellt, Prozesswasser rezirkuliert und organischer Dünger produziert werden.

Die heute konventionell betriebenen Bioethanolanlagen haben das primäre Ziel, aus zucker- oder stärkehaltigen Pflanzenkomponenten Bioethanol für den Kraftstoffmarkt zu erzeugen. Vor dem Hintergrund deutlich steigender Preise für die dafür benötigten landwirtschaftlichen Ausgangsprodukte und die notwendige Energie sowie die nur eingeschränkt steigerbaren Preise für die erzeugten Produkte (d.h. Bioethanol, „Dried Distillers Grains with Solubles“ (DDGS)) nimmt der ökonomische Druck zu, die vorhandenen Bioethanolanlagen zu optimieren und in weiteren Schritten zu integrierten Bioraffinerien weiterzuentwickeln. Bei der Optimierung von bereits bestehenden Bioethanolanlagen spielt die Vergärung der anfallenden Schlempe eine wichtige Rolle. Im vorliegenden Modul soll daher die Schlempevergärung im Detail untersucht werden mit dem Ziel, durch Verfahrensoptimierungen Vorteile in der Gesamtwertschöpfung von Bioethanolanlagen zu erreichen.

Bei der Umsetzung von Schlempe zu Biogas treten bislang eine Reihe von Problemen auf. Zunächst bedeuten die vergleichsweise großen Schlempe Massen, dass eine konventionelle Vergärung im Rührkesselreaktor schwierig zu realisieren ist. Rührkesselreaktoren mit einer gängigen Verweilzeiten von 30–80 Tagen und eine Raumbelastung von typischerweise ca. 1,0 bis 4,5 kgTS/m³d bedeuten für eine typische Ethanolanlage (100.000 Mg/a) mit einem Schlempestrom von etwa 3300 Tonnen pro Tag ein Reaktorvolumen von mehr als 130.000 m³. Die Konsequenz daraus ist, dass die wirtschaftliche Vergärung von Schlempe nur in einem Hochlastreaktor mit Aufenthaltszeiten von unter einer Woche, vorzugsweise nur einigen Stunden realisiert werden kann. Hochlastreaktoren zeichnen sich gegenüber Rührkesselreaktoren durch ein Biomasserückhaltungssystem aus. Die Anwesenheit von thermisch inaktivierten Hefen und Restfasern, also suspendierten Feststoffen, stellt eine große Herausforderung dar. Der (gelöste) Feststoff- und CSB-Gehalt der Dünnschlempe ist niedrig genug für die Verwendung eines typischen Hochlast-Biogasreaktors aus der Abwasserbranche, wie zum Beispiel einem UASB-, EGSB-, eines Festbett- oder IC-Reaktors. Die suspendierten Feststoffe jedoch verhindern den Einsatz solcher Hochlastreaktoren, da die Feststofffasern zur Ablagerung im Festbett führen oder die granuläre Biomasse im UASB-Reaktor und seinen Weiterentwicklungen nicht in der Lage ist, die Fasern aufzuschließen. Außerdem würden suspendierte Feststoffe in den Schlammbetten akkumulieren.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Um die gesetzten Ziele zu erreichen, wurde die Vergärung von Weizenschlempe sowohl im Labor- als auch im Technikumsmaßstab untersucht und eine umfassende Charakterisierung der beteiligten Mikroorganismen im Biogasreaktor durchgeführt. Dabei wurde die Dynamik der Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft untersucht. Die Isolierung und Charakterisierung der Schlüsselorganismen diente außerdem der Gewinnung neuer Enzyme für industrielle Anwendungen. Durch die exakte metabolische Charakterisierung des Schlempeabbaus in Reaktoren mit erhöhter Belastungsrate sollten sowohl Stoffwechselintermediate als auch Indikatoren und Inhibitoren identifiziert werden.

Zur Erhöhung der Methangasausbeute sollte das natürliche Konsortium durch Reinkulturen ergänzt bzw. sollten neu etablierte Mischkulturen eingesetzt werden. Die Dynamik und die Regulationsmechanismen der definierten und der ursprünglichen mikrobiellen Konsortien sollten dann verglichen werden. Die gewonnenen Ergebnisse wurden zur Auslegung und Optimierung der von den Industriepartnern zu konstruierenden Biogasanlage herangezogen.

Ein weiteres Ziel dieses Moduls war es, die Biogasbildung zu simulieren. Hierbei sollte auch die Populationsdynamik und die daraus folgende Veränderung der Biogasproduktion bei nichtidealer Durchmischung berücksichtigt werden. Als Parameter für das Modell sollten die in den anderen Teilprojekten des Arbeitspaketes I.1 ermittelten Werte dienen. Sobald Messdaten aus einem realen Prozess im Pilotmaßstab vorlagen, konnte die Simulation mit diesen Daten optimiert werden. Somit sollte ermöglicht werden, die Biogasproduktion aus Schlempe zu steigern. Dies diente dem Ziel, die Bioethanolproduktion ökologisch und ökonomisch effizienter zu gestalten und somit die Klimabilanz der Bioethanolproduktion nachhaltig zu verbessern.

Aktuell wird die bei der Ethanolproduktion anfallende Schlempe als Dünger und proteinreiches Futtermittel verwertet. Für die Produktion von Futtermitteln aus Schlempe werden verschiedene Aufbereitungsarten angewandt. In der Regel wird Dünnschlempe in einem ersten Arbeitsschritt dekantiert (Separieren von Fest- und Flüssigphase). Danach wird die Flüssigphase in einem Verdampfer bis zu einem Trockensubstanzgehalt von 30% eingedickt. Das dabei anfallende Kondensat wird in der Regel als Abwasser entsorgt. Die konzentrierte Dünnschlempe und die Dickphase aus dem Dekanter werden gemischt, getrocknet und pelletiert. Dieses hoch proteinhaltige Produkt stellt ein wertvolles Futtermittel dar. Die Vergärung von Schlempe aus der Ethanolproduktion wurde und wird bislang nur von wenigen Firmen (z.B. Verbio) in Deutschland eingesetzt.

Das Projekt diente der Optimierung und Weiterentwicklung der Reststoffnutzung, so dass eine effiziente Monovergärung der bei der Bioethanolproduktion anfallenden Schlempe bei minimalen Behandlungszeiten realisiert und gleichzeitig die weitgehende Nutzung der Reststoffe ermöglicht wird.

4. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die beteiligten Arbeitsgruppen und Unternehmen haben wie geplant umfassend zusammengearbeitet:

Die TUHH ITM hat sich zunächst der mikrobiellen Diversität gewidmet, die zur Hydrolyse der Schlempefeststoffe und zur Bildung von Biogas benötigt wird. Hierzu wurden Proben der Industriepartner untersucht.

In TUHH-IBB wurde die kinetische und metabolische Charakterisierung der Schlempevergärung in einem Laborbiogasreaktor untersucht, wobei der umgesetzte Pilot-Biogasreaktor berücksichtigt und eine adaptierte Biozönose bereitgestellt wurde. Diese diente vor allem den Untersuchungen der TUHH Partner.

Die gewonnenen Erkenntnisse werden in der Pilotanlage mit Schlempe in Zeit umgesetzt. Dadurch soll zum einen gezeigt werden, dass die im Labor und im Technikum erarbeiteten Ergebnisse auch unter praxisnahen Bedingungen zu nutzen sind. Die verfahrenstechnische Umsetzung der Produktion von vermarktungsfähigen Produkten (TUHH-IUE) aus der vergorenen Schlempe wurde vorwiegend mit der in der Pilotanlage (CropEnergies) anfallenden vergorenen Schlempe durchgeführt.

Zusätzlich flossen die Ergebnisse des Moduls I umfassend in das Modul IV, AP 1 Erarbeitung von neuen Bioaffineriekonzepten, Logistikkonzepten und AP 2 Bewertung der integrierten Konzepte, ein.

II. Eingehende Darstellung

AP I.1 Grundlagen: Untersuchungen zur mikrobiellen Biogaserzeugung

Die Untersuchung der potenziellen Impfmaterialeien für die Biogasreaktoren wurden auf verschiedene Quellen und Betriebsbedingungen (mesophil/thermophil) ausgeweitet und die Ergebnisse jeweils verglichen. Das Impfmateriale stammt zum einen aus einem Laborreaktor des Projektpartners DBFZ, Leipzig (Betriebstemperatur 42°C), der mit Klärschlamm einer kommunalen Abwasseranlage angeimpft wurde, und zum anderen aus der Biogasanlage BENAS bei Bremen (Betriebstemperatur 51°C), die mit Mais, Getreidemehl und Hühnertrockenkot als Substrat betrieben wird.

Da Schlempe aus der Bioethanolproduktion bei Temperaturen von 70-75°C anfällt, wäre es ökonomisch sinnvoll, die anschließende Biogasproduktion ebenfalls bei einer hohen Temperatur durchzuführen. Inwieweit ein solcher Prozess vergleichbare Leistungen zu einem bei 37°C betriebenen Biogasreaktor bringen kann, ist ein Untersuchungsgegenstand, dem sich vor allem die Projektpartner der TUHH des Moduls zugewendet haben. Dabei konzentrierten sich die Partner des Arbeitspakets I.1. auf die Untersuchungen bei hohen Betriebstemperaturen. Alle Reaktoren wurden zu diesem Zweck nach anfänglicher Adaptationsphase (Temperaturerhöhung: 1-2°C/Woche) bei 55°C mit Weizenschlempe als Substrat betrieben.

Da die Biogasausbeute, die mit dem thermophilen Inokulum aus der Bremer Biogas-Anlage erzielt wurde, deutlich höher war als die des adaptierten Bioreaktors, wurde dieses als Impfmateriale für einen Modellreaktor im 5-Liter-Maßstab eingesetzt. Der Modellreaktor wurde anschließend kontinuierlich bei 55°C mit Weizenschlempe als Substrat betrieben und diente als Grundlage für alle nachfolgenden Analysen.

Des Weiteren wurde die Betriebsführung der Testsysteme (z.B. einstufig, zweistufig) und Betriebsbedingungen (z.B. Raumbelastung, Verweilzeit) untersucht und die Betriebsparameter für die Pilotanlagen (AP I.2) daraus abgeleitet.

TAP I.1.1 Identifizierung der mikrobiellen Diversität

Die Identifizierung der am Schlempeabbau beteiligten Mikroorganismen erfolgte zunächst über die Analyse von 16S rRNA-Genbanken. Zur Aufklärung der bakteriellen Diversität wurden ca. 900 bp lange Fragmente der 16S rRNA-Gene (Position 5-907 im *E. coli* 16S rRNA-Gen) amplifiziert und sequenziert. Die Amplifizierung der 16S rRNA-Gene der Archaeen führte zu ca. 600 bp großen Fragmenten (Position 344-915 im *E. coli* 16S-Gen). Die sequenzierten Gensegmente beinhalten die variablen Bereiche der 16S rRNA-Gene. Zusätzlich konnten anhand von Isolierungen (TAP I.1.2) weitere Organismen im Reaktor identifiziert werden.

Die Ergebnisse der Datenbankanalysen sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Analyse der Genbanken lässt einen hohen Anteil von Clostridien vermuten. Zusätzlich zu den aufgelisteten Organismen konnte ein hoher Prozentsatz der Sequenzen den bisher nicht kultivierten *Firmicutes* zugeordnet werden. Da es sich hierbei um Sequenzen bislang nicht kultivierbarer Organismen handelt, ist

eine Klassifizierung über das Phylum hinaus nicht möglich. Die hohe Anzahl unbekannter Organismen weist ein hohes Potenzial zur Isolierung neuer Arten auf.

In Ergänzung zu den 16S rRNA-Genbanken wurde zur Analyse der in dem Modellreaktor präsenten Mikroorganismen eine Pyrosequenzierung durchgeführt. Die zu sequenzierenden Fragmente wurden aus der variablen V2/V3 Region der 16S rRNA-Gene amplifiziert und wiesen eine Länge von ~400 bp auf.

Vorteil dieser Methodik ist die parallele Erfassung vieler Sequenzdaten und die damit verbundene Möglichkeit, die vorkommenden Organismengruppen zu quantifizieren. Durch diese Analyse konnte ein umfassender Einblick in die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft gewonnen werden, wodurch neue mikrobielle Gruppen adressiert werden (Abbildung 1).

Tabelle 1: Ergebnisse der Sequenzanalysen von 16S rRNA-Genbanken

Phylum	Nächster verwandter Organismus	Sequenzhomologie
Firmicutes	<i>Clostridium stercorearium</i>	96%
	<i>Clostridium thermosuccinogenes</i>	99%
	<i>Clostridium thermopalmarium</i>	99%
	<i>Lutispora thermophila</i>	100%
	<i>Pelotomaculum thermopropionicum</i>	99%
	<i>Syntrophothermus lipocalidus</i>	93%
	<i>Sporanaerobacter acetigenes</i>	99%
	<i>Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum</i>	99%
	<i>Tepidanaerobacter syntrophicus</i>	99%
	<i>Tepidimicrobium ferriphilum</i>	99%
Nitrospira	<i>Thermodesulfovibrio thiophilus</i>	98%
Proteobacteria	<i>Alcaligenes sp.</i>	99%
	<i>Acinetobacter sp.</i>	98%
Euryarchaeota	<i>Methanoculleus bourgensis</i>	99%
	<i>Methanosarcina thermophila</i>	99%
	<i>Methanobacterium formicicum</i>	98%
	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i>	100%

Insgesamt wurden 17.400 16S rRNA-Gentags analysiert. Basierend auf 3.100 Sequenzen konnten zwei dominante Familien der Archaeen im Reaktor (Modellreaktor) nachgewiesen werden. Acetoklastische *Methanosaetaceae* traten mit einer Häufigkeit von 65% als dominante Familie auf. Hydrogenotrophe Archaeen der Familie *Methanobacteriaceae* bildeten mit knapp 34% die zweitgrößte Gruppe. Unter den Bakterien (17.300 Sequenzen) zeigte sich eine überwiegende Dominanz der Familie *Thermotogaceae* (50%), gefolgt von Organismen aus den Familien *Elusimicrobiaceae*, *Anaerolineaceae*, *Ruminococcaceae* und *Synergistaceae*. Der größte Anteil (99%) der *Thermotogaceae* lässt sich der Gattung *Defluviitoga* zuordnen. Bisher konnten Reinulturen aus den Familien *Clostridiaceae*, *Gracilibacteraceae*, *Synergistaceae*, *Incertae Sedis III* und *Methanobacteriaceae* gewonnen werden.

Die Ergebnisse der Genbankanalyse stammen vom Winter 2010/11, die Pyrosequenzierung wurde im Frühjahr 2011 durchgeführt. In dieser Zeit kam es zu einer signifikanten Umstellung der Biodiversität als Anpassung an das Schlempe-Substrat und die gegebenen Prozessbedingungen (TAP I.1.5, Abbildung 8). Dadurch lassen sich die Unterschiede in den Ergebnissen der 16S rRNA-Genanalysen erklären, wonach im Reaktor derzeit überwiegend Vertreter der *Thermotogaceae* (Phylum Thermotogae) zu finden sind, während die Genbankanalyse auf einen hohen Anteil an Familien des Phylum *Firmicutes* hinweist.

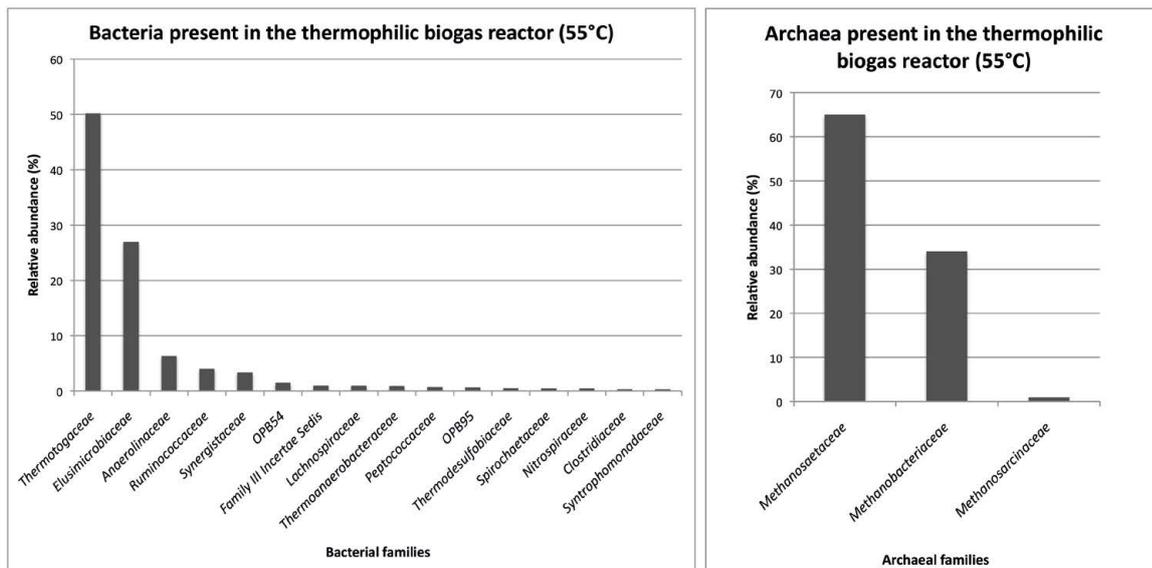


Abbildung 1: Übersichtsdiagramm zu der im Modellbiogasreaktor vorkommenden Biozönose. Die Daten basieren auf der Pyrosequenzierung der 16S rRNA-Gentags. Die Analyse der Bacteria wurde mit einem Datensatz von 20.000 16S rRNA-Gensequenzen erstellt. Der Datensatz der Archaea beläuft sich auf 3.000 16S rRNA-Gensequenzen.

TAP I.1.2 Isolierung der Schlüsselorganismen und ausgewählter Enzyme

Isolierung der Schlüsselorganismen

Als Ausgangsmaterial für die Isolierung von Mikroorganismen dienten Proben des Modellreaktors (AG Zeng). Um eine möglichst große Vielfalt an Bakterien und Archaeen zu gewinnen, wurden Anreicherungsmedien mit unterschiedlichen Kohlenstoffquellen verwendet. Die Isolierung erfolgte anhand verschiedener mikrobiologischer Techniken, wie Reihenverdünnung, Agarstichttechnik und Plattenausstrichverfahren, welche unter anaeroben Bedingungen durchgeführt wurden.

Die Identifizierung der Reinkulturen erfolgte anhand von Sequenzierungen der 16S rRNA-Gene und anschließender bioinformatischer Auswertung. Tabelle 2 zeigt eine Übersicht der isolierten und identifizierten Organismen aus dem Modelreaktor:

Tabelle 2: Isolierte und identifizierte Mikroorganismen aus dem Bioreaktor / den Bioreaktoren

Phylum	Nächster verwandter Organismus	Sequenzhomologie
Firmicutes	<i>Clostridium thermosuccinogenes</i> *	99%
	<i>Lutispora thermophila</i> *	100%
	<i>Bacillus thermoamylovorans</i>	99%
	<i>Bacillus smithii</i>	100%
	<i>Anoxybacillus rupiensis</i>	99%
	<i>Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum</i> *	99%
Synergistetes	<i>Anaerobaculum mobile</i>	99%
Euryarchaeota	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i> *	100%

*Organismen, die auch über die Genbankanalyse detektiert wurden

Bislang konnten ausschließlich bekannte Bakterien und Archaeen isoliert werden. Es finden weitere Anreicherungen und Isolierungen spezifisch für *Methanosaeta*-Stämme statt, da diese eine vorherrschende Stellung im Biogasreaktor einnehmen (Abbildung 1). Es konnte eine bakterienfreie Anreicherungskultur eines bislang unbekanntes acetoklastischen *Methanosaeta*-Stamms gemeinsam mit dem bekannten mixotrophen Stamm *Methanosarcina thermophila* gewonnen werden. Wachstumsversuche dieser Anreicherungskultur unter verschiedenen Bedingungen wurden durchgeführt und dienten zunächst der Vorcharakterisierung des unbekanntes acetoklastischen methanogenen Stammes gemeinsam mit *Methanosarcina thermophila*. Hierbei wurden die Kulturen in einem Acetat-basierten Medium bei 45°C für mehrere Wochen inkubiert und der entstehende Methangehalt mittels Gaschromatographen analysiert.

Die höchste tägliche Methanproduktion konnte bei einem pH-Wert von 6,5 bis 7,0 und einer NaCl-Konzentration von 2,0g/L nach 12 bis 14 Tagen erreicht werden (Abbildung 2). Für den Betrieb von Biogasanlagen die eine Dominanz dieser beiden methanogenen Stämme aufweisen, sollten diese optimalen Wachstumsparameter diskutiert und gegebenenfalls in den Prozessbedingungen berücksichtigt werden.

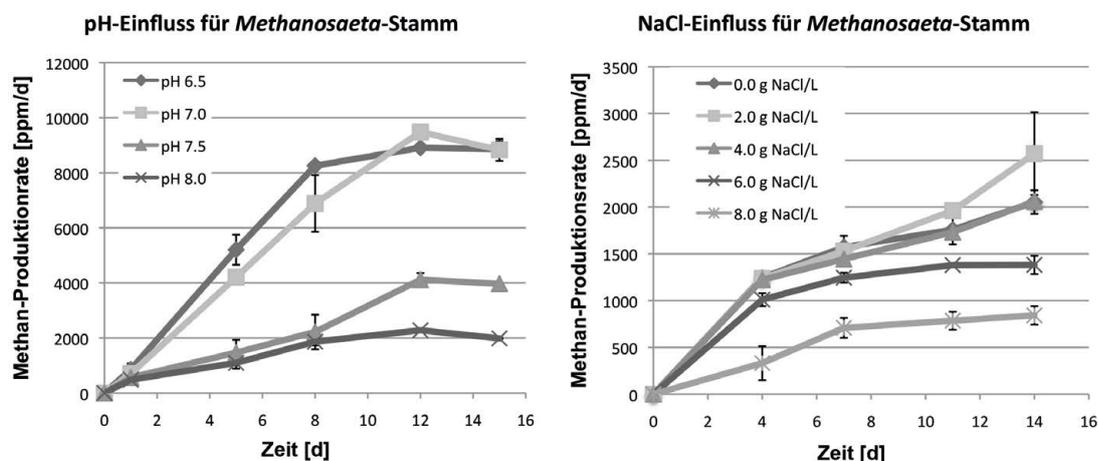


Abbildung 2: Tägliche Methanproduktionsrate unter verschiedenen pH-Wert- und NaCl-Bedingungen der acetoklastischen/mixotrophen Mischkultur mit einem bislang unbekanntes *Methanosaeta*-Stamm und *Methanosarcina thermophila*.

Identifizierung der am Schlempeabbau beteiligten Hydrolasen

Um einen Überblick zu bekommen, welche Enzyme am Abbau der Weizenschlempe beteiligt sein könnten, wurden zunächst Enzymassays mit Proben des Modellreaktors durchgeführt. Hierfür wurde der Abbau verschiedener Azurine crosslinked-Substrate (Glycosidhydrolasen und Proteasen) und Tributyrin (Lipasen) bei 37°C und 55°C getestet (Tabelle 3).

Nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden bei 37°C konnte ein Abbau von Amylose, Xylan (aus Birke und Haferspelzen) und Arabinoxylan beobachtet werden. Dem gegenüber wurde nach der Inkubation über 48 Stunden bei 55°C ein Abbau der Substrate Amylose, Xylan (aus Haferspelzen), Casein und Collagen beobachtet. Eine Lipaseaktivität konnte anhand dieses Verfahrens nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 3: Enzymassays mit verschiedenen Substraten bei 37-55°C

	37°C	55°C
Amylose	+	++
Xylan (Birke)	+++	-
Xylan (Haferspelzen)	+	+
Arabinoxylan	++	-
Galactomannan	-	-
Cellulose (löslich)	-	-
(Cellulose (unlöslich)	-	-
Curdlan (Beta-1,3-Glucan)	-	-
Beta-Glucan	-	-
Casein	-	+
Collagen	-	++
Tributyrin	-	-

-: keine Aktivität; +/++/+++ : schwache, mäßige, starke Aktivität

Für weitere Untersuchungen wurde aus einer Probe des Modellreaktors eine Metagenombank hergestellt und nach Hydrolasen durchgemustert. Hierbei konnte bereits eine unbekanntes α -Amylase (Amy13A) identifiziert werden. Amy13A zeigt die höchste Sequenzübereinstimmung zu einer putativen α -Amylase von *Petrotoga mobilis* (75%) und einer Amylase AmyB von *Halo-thermothrix orenii* (67%). Das Temperaturoptimum liegt bei 80°C, und das Enzym toleriert eine Salzkonzentration von bis zu 25% NaCl (w/v) (Abbildung 3). Bisher sind nur wenige α -Amylasen bekannt, die sowohl thermoaktiv als auch salztolerant sind. Daher ist Amy13A ein interessanter Kandidat für den industriellen Einsatz. Diese Ergebnisse konnten bereits in einem Fachjournal veröffentlicht werden (Jabbour et al., 2013)

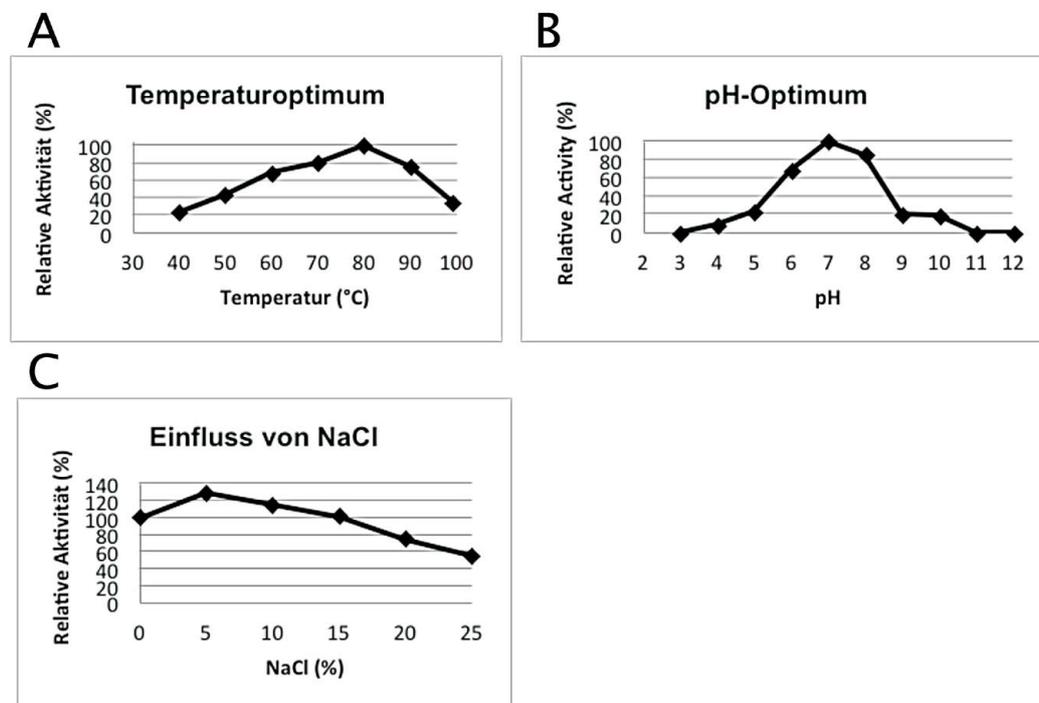


Abbildung 3: Einfluss von Temperatur und NaCl-Konzentration auf die Aktivität der α -Amylase; A: Zur Untersuchung des Temperaturoptimums wurde das rekombinante Enzym für 5 Minuten in Tris-HCl (50 mM, pH 7,0) bei verschiedenen Temperaturen (40-100°C) inkubiert. Als Substrat diente lösliche Stärke. B: Zur Ermittlung des pH-Optimums erfolgte eine Inkubation des rekombinanten Enzyms für 5 Minuten bei 80°C in Universalpuffer (pH 3.0-12.0) mit löslicher Stärke als Substrat; C: Die Untersuchung des Einflusses von NaCl (0-25% (w/v)) erfolgte durch Inkubation mit 0,5% löslicher Stärke in Tris-HCl (50 mM, pH 7,0) bei 80°C für 5 Minuten.

TAP I.1.3 Einsatz definierter Mischkulturen

Um die Biogasproduktion im hochtemperierten Biogasreaktor zu erhöhen, wurden der natürlichen Biozönose ausgewählte Bakterienstämme als Reinkulturen zugesetzt (Bioaugmentation). Der anaerobe Abbau von Schlempe zu Stoffwechselprodukten wie Acetat, Wasserstoff und Kohlendioxid durch den gezielten Einsatz von speziellen Bakterien soll hierbei genutzt werden, um den methanproduzierenden Archaeen diese Stoffwechselprodukte zur Biogassynthese bereitzustellen. Hierfür wurden thermophile cellulolytische und proteolytische Bakterien der Ordnung *Clostridiales* und *Thermotogales* (*Caldicellulosiruptor saccharolyticus*, *Fervidobacterium gondwanense*, *Thermotoga elfii* und *Clostridium thermoaceticum*) in einem entsprechenden Optimalmedium angezogen und bis zu der logarithmischen Wachstumsphase inkubiert. Aus den entsprechenden Zellkulturen wurden 15 mL steril und anaerob entnommen und dem natürlich vorkommenden Konsortium des Biogasreaktors (bereits mit Schlempe als Substrat versetzt) zugegeben. Die Versuche wurden in Batch-Ansätzen mit einem Gesamtvolumen von 250 ml bei 55°C und über eine Versuchsdauer von bis zu 21 Tagen durchgeführt. Nach einem anfänglich positivem Bioaugmentationseffekt durch die Zugabe von *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* auf die Biogasausbeute, zeigte sich jedoch in Folgeversuchen bei diesem und weiteren getesteten Bakterien keine signifikante Produktionssteigerung.

TAP I.1.4 Untersuchungen zur Verteilung der Biozönose

Da das untersuchte System eine weitgehend homogene Durchmischung aufwies, bestand keine Notwendigkeit zur Analyse der räumlichen Verteilung. Mit der in diesem Projekt etablierten FiSH-Analyse (Fluoreszenz *in-situ* Hybridisierung) steht eine Methode zur Verfügung, mit der solche Untersuchungen bei Bedarf möglich sind.

Die FISH-Technik wurde verwendet, um die zeitliche Dynamik der mikrobiellen Population zu untersuchen (TAP I.1.5.)

TAP I.1.5 Metabolische Charakterisierung des Schlempeabbaus

Die AG Zeng hatte bis zu vier Modell-Biogasreaktoren, die mit Schlempe gefüttert und teilweise bis zu 2,5 Jahren ununterbrochen in kontinuierlichen Versuchen bei 55°C betrieben wurden. Drei Reaktoren wurden ohne Zusatzstoffe (hier Ferrosorp zur Entschwefelung) oder Spurenelementen betrieben; bei dem zuletzt in Betrieb genommenen Reaktor wurde Ferrosorp eingesetzt, um auftretende Effekte näher zu untersuchen.

Für die Metaboliten-Analyse des Schlempeabbaus wurden Proben aus dem kontinuierlich betriebenen Biogasreaktor und aus Batch-Ansätzen entnommen und untersucht. Ein Teil der Metabolite wurde mittels HPLC-Methode analysiert. Jedoch erfasst diese Methode nicht die fetthaltige Schicht, die sich während der Zentrifugation der Proben bildet. Daher wurde eine GC-MS-MS Methode für die Erfassung von Metaboliten etabliert, die sich sowohl in der wässrigen als auch in der hydrophoben Schicht befinden können.

Zur Vereinfachung wurden zuerst alle festen Bestandteile der Schlempe durch Zentrifugation abgetrennt. Die Metabolite wurden nur im Überstand mittels HPLC oder GC-MS gemessen. Die Proben wurden dabei bei -20°C mittels Gefriertrocknung entwässert, in Ethoxyamin-Hydrochlorid und organischen Lösungen derivatisiert und mit N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide silyliert. Durch Anwendung dieser Methode konnten mehr als 50 verschiedene Substanzen im Substrat (Schlempe) detektiert werden. Dazu gehören Glycerin und Bernsteinsäure als Nebenprodukte der alkoholischen Gärung, Aminosäuren, organische Säuren, wie Milchsäure, oder pflanzliche Komponenten, wie Arabinofuranose, Xylitol-Glycopyranose-Glucitol, C₅₋₆-Zuckermoleküle und phenolische Stoffe. Durch diese Methode konnten nicht-lösliche Komponenten, wie Fasern, Cellulose, Lignin und ungelöste Eiweiße nicht detektiert werden.

Wie erwartet, nahm die Anzahl der Metabolite während der Vergärung in den Biogasreaktoren ab. Es wurden aber in allen drei Reaktoren, die ohne Zusatzstoffe und mit unterschiedlichen Belastungsraten betrieben wurden, akkumulierende Komponenten entdeckt: Phenylelessigsäure, Hydroxyphenylelessigsäure, Indolessigsäure oder langkettige Fettsäuren, wie Palmitinsäure, Stearinsäure oder Stearinamid wurden festgestellt. Phenylelessigsäure, Indolessigsäure und Hydroxyphenylelessigsäure sind anaerobe Abbauprodukte von aromatischen Aminosäuren, die durch den hohen Proteinanteil des Substrats zu erklären sind (mehr als 30%). In Bioreaktoren ohne Zusatzstoffe und mit variiertem Raumbelastung, konnte außerdem festgestellt werden, dass Komponenten wie Phenylelessigsäure mit zunehmender Belastungsrate ständig ansteigen (Abbildung 4). Es soll hier auch erwähnt werden, dass bei Reaktoren ohne Zusatz von Spurenelementen eine Raumbelastung von 2,3 g_{OTS}/L*d nicht überschritten werden konnte. Die erhöhte Akkumulation von nicht abgebauten Zwischenprodukten als Hinweis auf instabile Prozesse, wurde hier deutlich gezeigt.

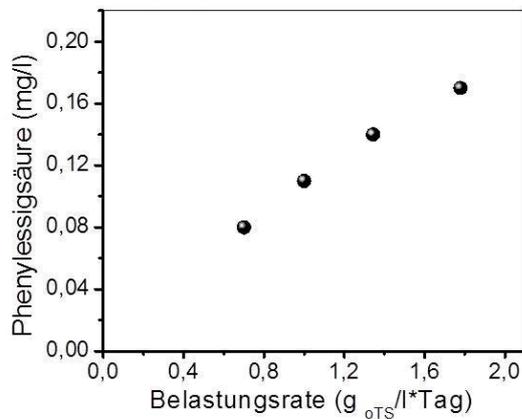


Abbildung 4: Konzentrationen von Phenyllessigsäure bei unterschiedlicher Belastungsrate im Schlempe vergärenden Biogasreaktor ohne Zusatzstoffe.

Zur Klärung inwiefern solche Komponenten Störsubstanzen sind und/oder einen Indikator für einen überlasteten Reaktoren darstellen, wurden in Batchansätzen die oben genannten akkumulierenden Metabolite mit verschiedenen Konzentrationen untersucht. Die ersten Ergebnisse weisen bei einer sehr hohen Konzentration von Phenyllessig- und Indollessigsäure (mit geringerer Wirkung) auf eine Hemmung der Biogasproduktion hin (Abbildung 5).

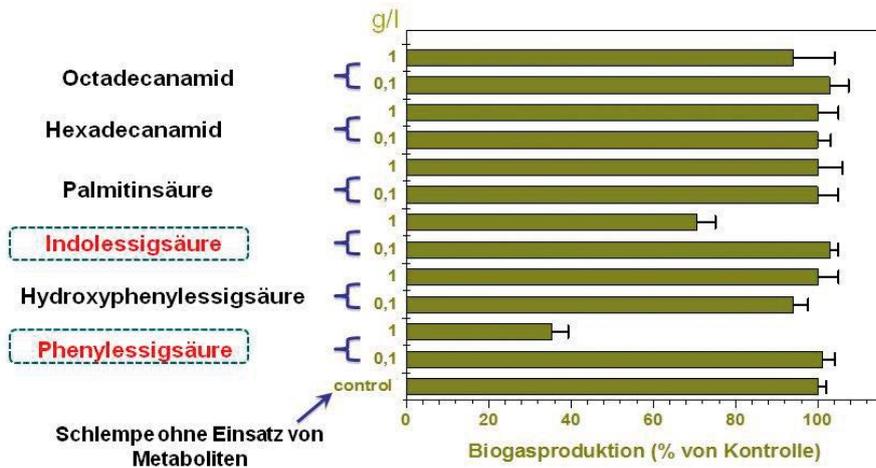


Abbildung 5: Biogasbildungspotential in Batchansätzen mit 0, 0,1 und 1 g/L eingesetzter Metabolitenkonzentration.

Da die Konzentration von Phenyllessigsäure in thermophil betriebenen Biogasreaktoren ohne Zusatzstoffe bei niedriger Belastungsrate den Wert 0,19g/L nicht überstieg, stellte sich die Frage, ob mit erhöhter Raumbelastung auch im thermophilen Bereich, bzw. mit Zusatzstoffen und Spurenelementen eine Konzentration von Phenyllessigsäure detektiert werden würde, die ihrerseits zur Inhibierung der Biogasproduktion führt.

Ähnlich wie im mesophilen Bereich konnte durch die Zugabe von Eisen für die chemische Entschwefelung, die Raumbelastung in thermophilen Bereich weiter erhöht werden. Es konnte festgestellt werden, dass bei einer konstanten Belastungsrate, die VFA und Phenyllessigsäure-Konzentration mit der Zugabe von Eisen abnimmt (Abbildung 6).

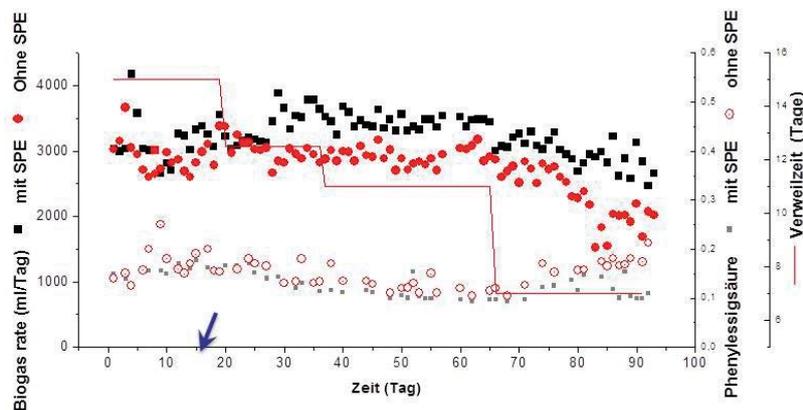


Abbildung 6: Einfluss der Zugabe von Spurenelementen und Verkürzung der Verweilzeit auf die PES-Konzentration. Der Pfeil zeigt den Zeitpunkt der kontinuierlichen Zugabe von Spurenelementen.

Daher wurde die Konzentration von Phenyllessigsäure bei verschiedenen erhöhten Belastungsraten im thermophilen Bereich mit Zusatzstoffen detektiert. Zusätzlich wurden Proben aus den mesophilen Biogasreaktoren genommen und analysiert, die mit Hochraumbelastung (Reaktoren des DBFZ-Leipzig und der AG Kaltschmitt mit einer Raumbelastung von 10 und 12 $\text{g}_{\text{OTS}}/\text{L} \cdot \text{d}$ und Verweilzeit von 6 Tagen) und dem Zusatz von Spurenelementen durchgeführt wurden. Es zeigte sich, dass unter beiden Bedingungen bei höheren Belastungsraten, die Konzentration von Phenyllessigsäure bei 0,2 g/l liegt (Abbildung 7).

Obwohl im thermophilen und im mesophilen Bereich die Phenyllessigsäure-Konzentration 0,2 g/L nicht überschritten hat, zeigt sich dennoch, dass Phenyllessigsäure eine Indikatormolekül ist, die während einer frühen Phase der Instabilität im Biogasreaktor auftritt und zwar früher noch als kurzkettige Fettsäuren, wie die bekannten Indikatoren Acetat und Propionat (Abbildung 7). Übereinstimmend konnten auch in thermophilen Biogasreaktoren bis zu einer Raumbelastung von 1,9 $\text{g}_{\text{OTS}}/\text{L} \cdot \text{d}$ keine VFA detektiert werden, wohl aber zunehmende Konzentrationen von Phenyllessigsäure. Dementsprechend steigt im Reaktor mit der Grenz-Raumbelastung von 12 $\text{g}_{\text{OTS}}/\text{L} \cdot \text{d}$ und einer Verweilzeit von 6 Tagen die Phenyllessigsäure-Konzentration auf 0,6 g/l. In diesem Reaktor wurden auch erhöhte VFA-Konzentrationen festgestellt; ein Indiz für einen ineffizienten Gärungs-Prozess in überlasteten Reaktoren.

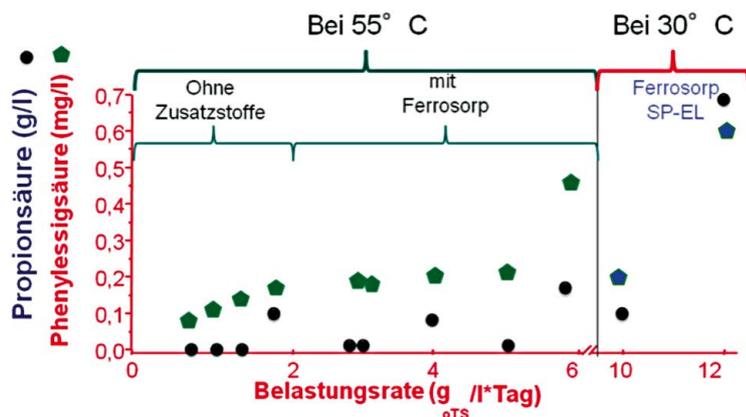


Abbildung 7: Phenyllessigsäure als Funktion der Zugabe von Zusatzstoffen und Spurenelementen

Die Aufklärung der Mikrobiologie in den Versuchsreaktoren fand in der AG Antranikian mit Hilfe der DGGE (Denaturierenden Gradientengelelektrophorese)- und FiSH-Analyse statt. Hiermit konnte die Populationsdynamik der natürlichen Reaktorbiozönose verfolgt und quantifiziert werden. Die Ergebnisse sind in Abbildung 8 dargestellt. Jede Spur (1-10) repräsentiert hierbei einen Zeitpunkt der Probenahme; jede Bande wiederum steht stellvertretend für die Präsenz einer spezifischen Art im Reaktor. Mittels PCR-Technik konnten diese Banden reamplifiziert und sequenziert werden. Rückschlüsse über die auftretenden Mikroorganismen lassen sich so schnell und übersichtlich ziehen.

Wie die DGGE-Analyse zeigt, bleibt sowohl die Biodiversität der Archaeen (A) als auch der Bakterien (B) im Kontrollreaktor (konstante Prozessparameter) über den Versuchszeitraum stabil, während in den Vergleichsreaktoren durch Veränderung der Prozessparameter leichte Veränderungen zu beobachten sind.

Mit Hilfe der FiSH-Analyse (siehe Tabelle 4) konnte gezeigt werden, dass die Zugabe von Phenyllessigsäure, trotz Inhibierungseffekt auf die Biogassynthese, zu einem deutlichen Anstieg der Archaeenanzahl führt (Tabelle 4, Spur 7). Speziell die Acetat-verwertenden Archaeen der Gattung *Methanosaeta* steigen mit einem Gesamtanteil von sieben auf acht Prozent der Organismen leicht an.

Die Verringerung der Verweildauer von 23 auf 20 Tage in Reaktor 3 führt zu einer Abnahme des Archaeenanteils auf 16% (Tabelle 4, Spur 10). Die Quantifizierung der Gattung *Methanosaeta* ergab eine geringe Abnahme nach der Verweildauerkürzung. Dieser Effekt könnte sich mit der einhergehenden Auswaschung dieser sehr langsam wachsenden Organismengruppe erklären lassen. Gegen Versuchsende trat in Reaktor 3 eine zusätzliche Bande (Abbildung 8, Spur 10) auf, die nach Auswertung der Sequenzanalyse die mixotrophe (acetoklastisch und hydrogenotroph) Archaeengattung *Methanosarcina* repräsentiert. Diese vergleichsweise schnell wachsenden Mikroorganismen sind bekannt für das Auftreten in Biogasreaktoren mit geringen Acetat- und erhöhten VFA-Konzentrationen. Inwiefern die Veränderungen der Prozessparameter mit den Ergebnissen der Diversitätsanalysen reproduzierbar korrelieren, muss künftig weiter untersucht werden.

Dass sich trotz dieser geringen Verschiebungen dennoch ein robustes Konsortium adaptiert hat, lässt sich nachvollziehen, wenn man die DGGE-Analysen der Ausgangsprobe (3 Monate nach Adaptation auf Schlempemedium; Abbildung 8, Spur 1) und die Proben des Kontrollreaktors (12 Monate nach Adaptation auf Schlempemedium; Abbildung 8, Spur 2) vergleicht.

Die Diversität sowohl der Bakterien als auch der Archaeen nahm in der Adaptationsphase nicht nur erheblich ab, sondern verschob sich bis sich ein stabiles Konsortium gebildet hatte. Dieses spiegelte sich in einem stabilen Gärprozess wider.

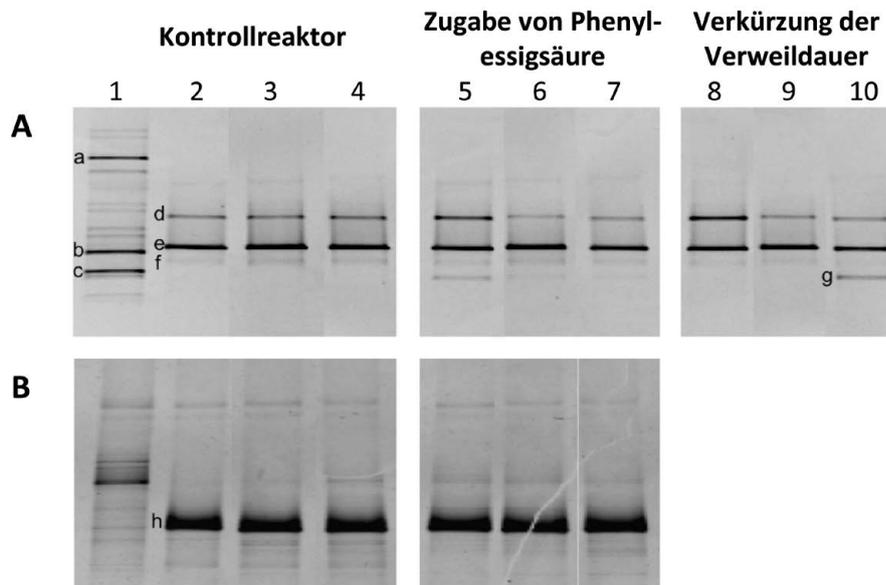


Abbildung 8: DGGE-Analyse zur Untersuchung der Biodiversität bei Prozessparameteränderung. Die genomische DNA aus den entsprechenden Versuchsreaktoren wurde isoliert und mit archaeen-spezifischen (A) und bakterienspezifischen (B) Primern für das 16S rRNA-Gen amplifiziert. Die entstandenen PCR-Produkte konnten anschließend über ein Gradientengel aufgetrennt und die einzelnen Banden sequenziert werden. a: *Methanobrevibacter*, b/e/f: *Methanosaeta*, c: *Methanolinea*, d: *Methanothermobacter*, g: *Methanosarcina*, h: *Petrotoga* sp. Spur 1: Ausgangsprobe; Spur 2-4: Kontrollreaktor; Spur 5: Reaktor 1, Versuchsbeginn; Spur 6: Reaktor 1, Zugabe von Phenylessigsäure; Spur 7: Reaktor 1, 14 Tage nach Zugabe von Phenylessigsäure; Spur 8: Reaktor 3, Versuchsbeginn; Spur 9: Verkürzung der Verweildauer; Spur 10: 14 Tage nach Verkürzung der Verweildauer.

Tabelle 4: Ergebnisse der FiSH-Analyse zur Quantifizierung der Archaeen in den Versuchsreaktoren

	Kontrollreaktor			Zugabe von Phenylessigsäure			Verkürzung der Verweildauer		
	2	3	4	5	6	7	8	9	10
DAPI	100	/	100	100	/	100	100	/	100
Archaea	17,6	/	15,8	20,3	/	24,6	19,2	/	16,1
<i>Methanosaeta</i>	6,4	/	5,9	6,7	/	7,9	3,8	/	3,4

Die Spuren entsprechen der Aufteilung, wie in Abbildung 8. Die ermittelten Werte sind in Prozent angegeben und beziehen sich auf die Gesamtzahl aller DNA-enthaltenden Zellen (Färbung mittels DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol)). Die Quantifizierung wurde jeweils zu Beginn und 14 Tage nach Parameteränderung durchgeführt.

Analyse der Populationsdynamik während einer Reaktorüberlastung:

Zur Simulation einer Reaktorüberlastung wurde die Belastungsrate eines stabil thermophil betriebenen Modellreaktors kurzfristig von $1,5 \text{ g}_{\text{OTS}}/\text{L} \cdot \text{d}$ auf $3,5 \text{ g}_{\text{OTS}}/\text{L} \cdot \text{d}$ erhöht (Abbildung 9a). Korrelierend stieg die Biogasproduktion von etwa 6000 mL auf bis zu 9000 mL pro Tag an.

Nach etwa 8 Tagen erfolgte eine abrupte Abnahme der Gasproduktion – der Reaktor versauerte durch den zu hohen Substrateintrag zunehmend. Um diesem prozessschädlichen Effekt entgegenzuwirken, wurde die Substratzufuhr für mehrere Tage ausgesetzt, bis eine Stabilisierung des Prozesses eintrat (etwa ab Tag 20–23). In diesem Zeitraum konnte der Abbau organischer Säuren (Propionsäure, Buttersäure, Essigsäure u. a.) stattfinden und ein neutraler pH-Wert im System wiederhergestellt werden. Mit der erneuten Zufuhr des Schlempe substrates mit einer Belastungsrate von $1,5 \text{ g}_{\text{OTS}}/\text{L} \cdot \text{d}$ stabilisierte sich der Prozess bei einer Biogasausbeute von ungefähr 4000 mL pro Tag.

Die Analyse der Populationsdynamik in diesem simulierten Reaktorzusammenbruch durch Substratüberlastung, zeigte zunächst eine stabile mikrobiologische Gemeinschaft. Die dominierenden Archaeen sind hierbei vertreten durch die hydrogenotrophe Gattung *Methanothermobacter* sowie die acetoklastischen *Methanosaeta* (Abbildung 9b, Bande d und e).

Nach der Überlastung des Reaktors, tritt die mixotrophe Archaeengattung *Methanosarcina* (siehe Abbildung 9b, Bande f) auf und bleibt über mehrere Tage hinweg im Reaktor präsent. Die anfängliche Präsenz der *Methanosaeta* lässt sich durch die niedrige Belastungsrate und der damit verbundenen geringen Fettsäure- und Ammoniumkonzentration erklären. Diese stiegen mit der Überbelastung vermutlich deutlich an, sodass sich *Methanosarcina* zunehmend durchsetzen konnte, bis anschließend wieder eine Abnahme der beschriebenen Substanzen stattfand.

Verfolgt man den Anteil der Zellen, die mit Hilfe der FiSH detektierbar sind, so erkennt man im Verlauf des Versuchs eine deutliche Abnahme von 87% der Gesamtpopulation (detektierbar mit dem DNA-interkalierenden Farbstoff DAPI) auf 75% (Abbildung 9c). Das Signal der Fluoreszenz *in-situ* Hybridisierung korreliert mit der intrazellulären rRNA-Konzentration, die wiederum mit der metabolischen Aktivität der Zellen in Zusammenhang steht. Die Abnahme der mit FiSH-detektierbaren Zellzahl deutet an, dass die mikrobiellen Populationen durch die widrigen Umstände in ihrer Stoffwechselaktivität inhibiert wurde.

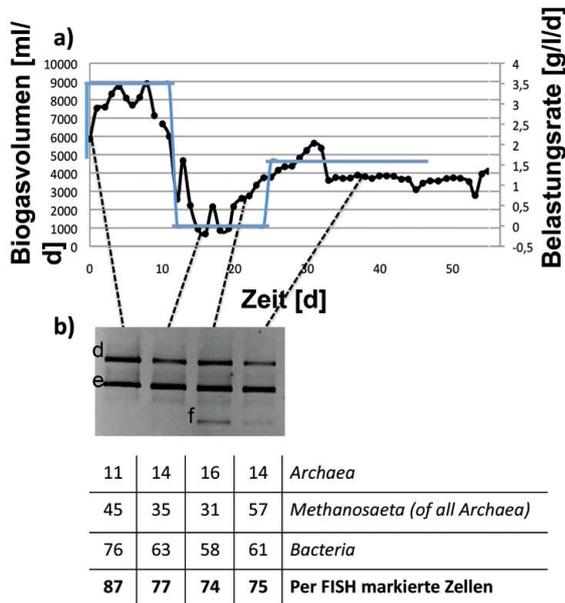


Abbildung 9: a) Tägliche Biogasproduktionsrate (schwarze Linie) und Belastungsrate (blaue Linie) des Modelreaktors (55°C). Die Gasproduktion wurde mittels Milligascounter® gemessen. Substratzufuhr erfolgte täglich mit einer Verweildauer von 25 Tagen. Die unterbrochenen Linien markieren die Probenahmezeitpunkte und verweisen auf die entsprechende DGGE-Analyse. b) DGGE-Bandenmuster (negative invertiert) der im Biogasreaktor vorherrschenden Archaeen. Genomische DNA wurde isoliert und mit spezifischen Primern für methanogene Archaeen amplifiziert. Die einzelnen Banden wurden ausgeschnitten, reamplifiziert und per 16S rRNA-Sequenzierung ausgewertet: d: *Methanothermobacter* sp., e: *Methanosaeta* sp., f: *Methanosarcina* sp. c) Ergebnisse der Fluoreszenz in-situ Hybridisierung. Bakterien wurden mit der Sonde EUB338, Archaeen und *Methanosaeta* mit den Sonden Arc915r, bzw. MX825 quantifiziert. Die Werte beziehen sich auf den prozentualen Anteil aller DAPI-markierten Zellen.

Analyse der Populationsdynamik während der Anlaufphase des Pilotreaktors aus Zeit:

Die Populationsdynamik der mikrobiellen Gemeinschaft in der mesophil betriebenen Pilotanlage wurde während der Anlaufphase über mehrere Wochen hinweg mittels DGGE verfolgt. Hierbei zeigt sich in den ersten sieben Wochen ein deutlicher Adaptierungsprozess entsprechender Mikroorganismen. Mikroorganismen des Inokulats, die sich nicht an die Bedingungen in dem Pilotreaktor anpassen können, werden verdrängt (siehe Abbildung 10, Bande g, h und o). Andere Mikroorganismen wiederum können sich gerade unter den neuen Bedingungen durchsetzen und eine dominierende Stellung in der Anlage einnehmen (siehe Abbildung 10, Bande a, b, i und j). Während der 12 Wochen wurde die Raumbelastung der Anlage erhöht (von 6 g/L*d auf 7 g/L*d), bei einer Steigerung der OLR auf 7 g/L*d kam es zu Prozessstörungen. Zur Prozessstabilisierung wurde die Beladung für mehrere Tage eingestellt. In der mikrobiologischen Analyse zeigt sich deutlich, dass die Diversität der Bakterien erhalten bleibt, die Archaeen jedoch erheblich sensibler auf eine solche Prozessänderung reagieren (siehe Abbildung 10, Bande a). Dieses Archaeon der hydrogenotrophen Familie *Methanobacteriaceae* lässt sich sogar zwei Wochen nach der regulären Wiederaufnahme des Betriebes nicht mehr nachweisen. Einen Schlüsselorganismus der Archaeen jedoch stellt *Methanosaeta concilii* dar, nimmt es doch im Laufe der Betriebszeit nach und nach eine vorherrschende Stellung als Methanproduzent ein.

Diese Analyse zeigt sehr anschaulich, wie wichtig eine stabile und kontrollierbare Betriebsweise für einen optimalen Gärprozess einer realen Biogasanlage ist.

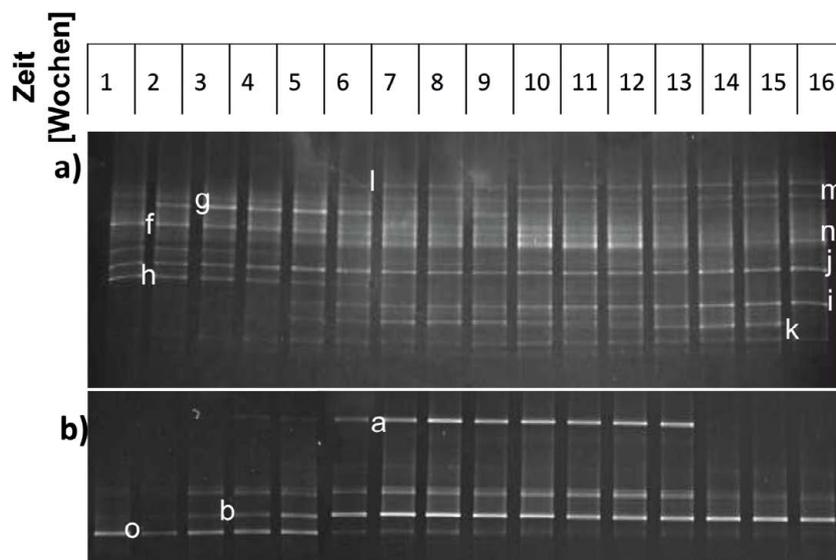


Abbildung 10: Wöchentliche Analyse der Pilotanlage während der Anfahrphase. a) Der Überstand des Reaktorschlammes zeigt eine deutliche Veränderung. Mittels DGGE können die Diversitätsänderungen b) bakterieller und c) archaealer Organismen visuell dargestellt werden. Die Banden wurden ausgeschnitten und per 16S rRNA Gensequenzanalyse ausgewertet: a: unklassifizierte Methanobacteriaceae, b: *Methanosaeta concilii*, f-n: unklassifizierte Bakterien, o: unklassifiziertes methanogenes Archaeon.

TAP I.1.6 Kinetik und Modellierung des Schlempeabbaus und der Biogasbildung

Als Basis für die Simulation der Biogasproduktion aus Schlempe in einem realen, nicht ideal durchmischten Reaktor wurde die ADM1 Implementierung nach Rosen und Jeppsson (*“Aspects on ADM1 implementation within the BSM2 framework,” Technical Report No. LUTEDX/(TEIE-7224)/1-35/(2006). Lund University, Lund, Sweden.*) zu Grunde gelegt. Das allgemein anerkannte „IWA Anaerobic Digestion Model No. 1“ (ADM1) wurde von der IWA Anaerobic Digestion Task Group, einem Zusammenschluss von Experten, entwickelt, um aus der Vielzahl an vorhandenen Modellen ein allgemeingültiges Modell zur Simulation der Biogasproduktion zu schaffen. Das ADM1 Modell berücksichtigt den Abbau von Kohlenhydraten, Fetten und Eiweißen durch sieben verschiedene Bakteriengruppen. Deren Wachstum wird über Monodkinetiken erweitert mit mehreren Inhibierungen beschrieben. Abgestorbene Biomasse wird als Substratquelle berücksichtigt. Darüber hinaus werden pH-abhängige Assoziation/Dissoziation (Ionenungleichgewichte) und die Phasengleichgewichte beachtet.

In diesem TAP wurde die Implementierung des ADM1 Modells als DAE System von Rosen und Jeppsson (2006) übernommen, da sie eine gute Stabilität und Ressourceneffizienz aufweist. Das fluiddynamische Verhalten eines realen Reaktors, in dem es zu Kurzschlussströmungen, Toträumen, Rezirkulation und mehreren Wirbeln kommen kann, lässt sich durch die Verschaltung ideal durchmischter Bereiche und Bereiche mit Rohrströmungsverhalten beschreiben (Abbildung 11).

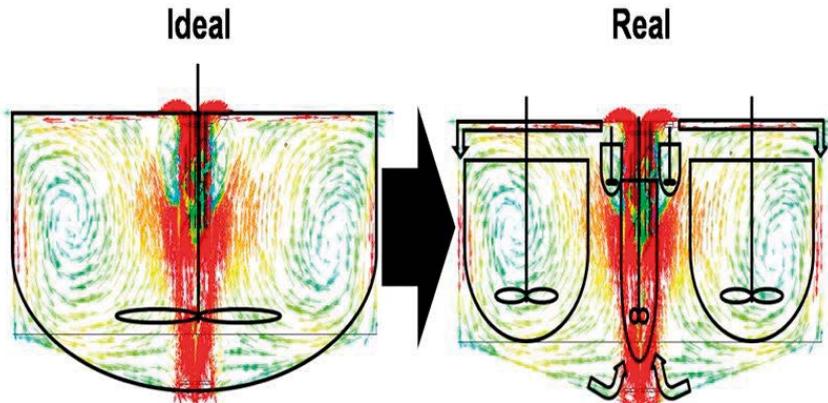


Abbildung 11: Wenn ein Reaktor ein komplexes Strömungsprofil aufweist, lässt sich dies häufig nicht mit der Annahme einer idealen Durchmischung beschreiben (links). Das reale Mischverhalten kann durch eine Verschaltung ideal durchmischter Bereiche und Bereiche mit Pfropfenströmung beschrieben werden (rechts).

Durch dieses Vorgehen lässt sich unter Anwendung der ADM 1 Modellierung ein beliebiges Verweilzeitverhalten eines realen Reaktors approximieren (Abbildung 12).

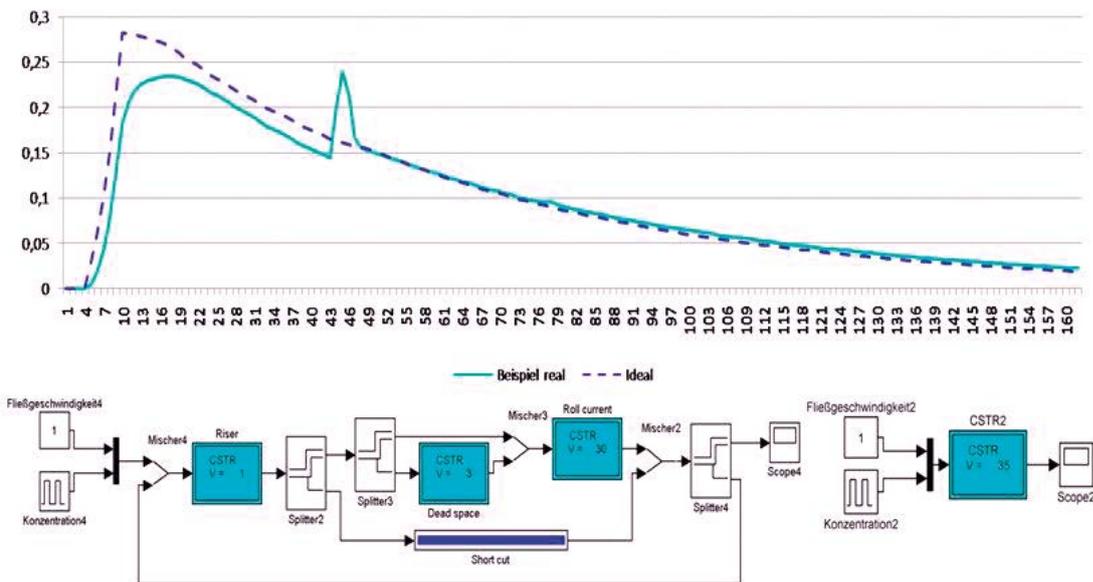


Abbildung 12: Beispiel: Vergleich des Verweilzeitverhaltens eines realen Reaktors approximiert durch die Verschaltung verschieden durchströmter Bereiche (links/voll) mit dem Verweilzeitverhalten eines ideal durchmischten Reaktors (rechts/gestrichelt).

Um die Simulation eines realen Verweilzeitverhaltens zu ermöglichen, wurde das ADM 1 Modell so angepasst, dass eine Verschaltung mehrerer ADM 1 Modelle möglich ist.

Insgesamt ist die kinetische Modellierung des Abbauprozesses und dessen Populationsdynamik für sieben verschiedene Bakteriengruppen etabliert worden. Der Einfluss der nichtidealen Durchmischung, wie sie in realen Reaktoren auftritt, kann berücksichtigt werden. Die vorhandenen Daten aus dem realen Prozess in dieser Projektphase reichten jedoch nicht, um die Simulation der Abhängigkeit der Biogasproduktion von der nichtidealen Durchmischung zu überprüfen.

Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit, voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses AP I.1

Die geleistete Arbeit des Arbeitspakets I.1. war, unter der Betrachtung der im Antrag gestellten Ziele – die Entwicklung integrierter Bioraffinerien – notwendig und angemessen. Hierbei sind Personal- sowie Sachmittelkosten im Rahmen der zur Verfügung stehenden finanziellen Mittel in Anspruch genommen worden.

Die gewonnenen Erkenntnisse geben einen umfangreichen Einblick in die Mikrobiologie und die Metabolik Schlempe-verwertender Biogasreaktoren unter verschiedenen Prozessbedingungen und sollen dabei helfen, Prozessabläufe besser verstehen und voraussagen zu können, um einen optimalen Biogasbetrieb mit dem Destillationsrückstand als Substrat zu gewährleisten. Ziel ist dabei durch Verfahrensoptimierungen Vorteile in der Gesamtwertschöpfung von Bioethanolanlagen zu erreichen. Da Schlempe aus der Bioethanolproduktion bei Temperaturen von 70-75°C anfällt, wurde auch untersucht, ob die anschließende Biogasproduktion ebenfalls bei einer hohen Temperatur durchgeführt werden kann. Die Ergebnisse zeigen, dass beide Temperaturbereiche möglich sind.

Die Vergärung von Schlempe zu Biogas stellte bislang unter mikrobiologischer und metabolischer Betrachtungsweise eine Blackbox dar, in der die Schlüsselorganismen und die Stoffwechselwege nur unzureichend aufgedeckt worden sind. Zum Verständnis der einzelnen Abläufe und der Nachvollziehbarkeit prozessrelevanter Veränderungen sollten in diesem Arbeitspaket die beiden beteiligten Institute der Technischen Universität Hamburg-Harburg dem Modul I mit den ihnen zur Verfügung stehenden Expertisen unter Modelreaktorbedingungen erste verwertbare Ergebnisse liefern. Der konkrete Schwerpunkt dieses Arbeitspakets bestand in der populationsdynamischen Analyse bestimmter Schlüsselorganismen in Schlempe-verwertenden Biogasanlagen sowie in der Bewertung acetoklastischer methanogener Archaeen in einem solchen System. Die Betrachtung möglicher inhibitorischer Metabolite oder Indikatoren für belastete Biogas-Reaktoren stellte einen weiteren Analysepunkt des Arbeitspakets dar.

An vermarktbareren Ergebnissen sollten sowohl die Industriepartner als auch die Forschungspartner partizipieren können. Eine interessante α -Amylase, die sowohl thermostabil als auch salztolerant ist, konnte identifiziert und charakterisiert werden und steht für den Einsatz in biotechnologischen Prozessen zur Verfügung.

Der Versuch, durch Bioaugmentation die Biogasausbeute signifikant zu erhöhen, führte nicht zu dem gewünschten Effekt. Ausreichend Daten aus einem realen Prozess lagen nicht vor, um die Simulation der Abhängigkeit der Biogasproduktion von der nichtidealen Durchmischung zu überprüfen.

Eine Analysenausweitung im Pilotmaßstab war Bestandteil des Projekt-Antrags und konnte mit der Anschaffung einer solchen Anlage im Jahr 2012 realisiert werden.

II. Eingehende Darstellung

AP I.2 Optimierte Biogasproduktion: Verfahrenstechnische Optimierung und Umsetzung

Ziel des AP I.2 „Optimierte Biogasproduktion“ war die Entwicklung eines effizienten Prozesses zur Biogaserzeugung durch Vergärung von Schlempe am Beispiel der Bioethanolanlage der CropEnergies AG in Zeitz. Es sollte gezeigt werden, dass die im Labor erarbeiteten Ergebnisse auch unter praxisnahen Bedingungen realisiert werden können.

TAP I.2.1 Literaturrecherche; TAP I.2.2 Analyse verschiedener Schlempen

Zur Erreichung dieses Ziels wurden unterschiedliche Schlempen in Bezug auf chemisch-physikalische Parameter und Biogaspotenzial im Rahmen einer Literaturrecherche und von Probenahmen an verschiedenen Anlagen charakterisiert. Aus Tabelle 5 wird ersichtlich, dass es deutliche Unterschiede zwischen den Proben in Bezug auf Trockensubstanz und Rohfaser gab, gleichzeitig alle Proben einen hohen Proteingehalt aufwiesen.

Tabelle 5: Ergebnisse der Weender Futtermittelanalyse, pH-Werte sowie Gehalte an Trockensubstanz und organischer Trockensubstanz verschiedener Schlempen bzw. Schlempefraktionen der Bioethanolanlage der CropEnergies

Substrat	pH	TS [% FM]	oTS [% TS]	Rohprotein [g kg _{TS} ⁻¹]	Rohfaser [g kg _{TS} ⁻¹]	Rohfett [g kg _{TS} ⁻¹]
Dünnschlempe	3,8	12,8	91,6	320	91	80
Klarschlempe	4	7,8	90,5	280	28	76
Dekanterkuchen	-	32,4	96,1	383	153	92
Protigrain	-	89,8	93,9	326,6	101,3	82,5
Vinasse	5,1	38,6	72,1	227,2	45,8	41
ProtiWanze	3,9	27,6	95,4	281,8	92,5	68,9

Ein weiteres wichtiges Kriterium zur Einordnung von Substraten ist deren Gehalt an essentiellen Spurenelementen (Fe, Ni, Co, Mo, Se, W), die Bestandteil von Enzymen und Co-Faktoren (Methyltransferase, Cobalamin, Dehydrogenasen, etc.) anaerober Mikroorganismen sind. Alle Substrate liegen im unteren Bereich der in der Literatur gegebenen Empfehlungen oder unterschreiten diese sogar deutlich, wie aus Tabelle 6 ersichtlich wird. Diese Ergebnisse begründeten die Bedeutung der Spurenelementedosierung für die weiteren Arbeiten.

Tabelle 6: Empfohlene (Kayhanian und Rich, 1995) und gemessene Konzentrationen ausgewählter Spurenelemente verschiedener Schlempen in [mg kg_{TS}⁻¹]

	Empfehlung	Dünnschlempe	Klarschlempe	Dekanterkuchen	Protigrain	Vinasse	Proti Wanze
Fe	100-5000	130,3	102,7	71,8	70,0	47,9	56,4
Ni	5-20	0,9	1,1	0,6	0,9	6,9	0,8
Co	1-5	0,1	0,1	0,0	0,2	1,9	0,1
Mo	1-5	1,2	1,1	1,4	0,8	0,4	2,0

TAP I.2.3 Biogasbildungspotenzial und Laborgärversuche

Die ermittelten Biogaspotenziale und Methangehalte zeigen ein hohes Potenzial auch wenn die zum Teil sehr hohen Wassergehalte kurze Verweilzeiten und hohe Raumbelastungen, wie sie bisher nur aus der anaeroben Abwasserbehandlung bekannt sind, erfordern (s. folgende Tabelle). Alle betrachteten Schlempe würden sich unter diesem Gesichtspunkt wirtschaftlich verwerten lassen.

Tabelle 7: Gemessene Biogaspotenziale und Methangehalte der organischen Reststoffe des Bioethanolprozesses (TUHH IUE; DBFZ)

Substrat	Biogaspotenzial [L kg ⁻¹ oTS]	Biogaspotenzial [L kg ⁻¹ FM]	Methangehalt [%]
Dünnschlempe	690-710	80-83	55-60
Klarschlempe	600-650	37-48	55-60
Dekanterkuchen	520-560	39-42	50-60
DDGS	600-620	-	55-60
Vinasse	735-750	205-209	55-60
ProtiWanze	735-745	185-198	50-60

In kontinuierlichen Gärversuchen wurden verschiedene Reaktorsysteme (Rührkessel-Reaktor, Festbett-Reaktor, Anaerobic Sequencing Batch-Reaktor, Internal Circulation-Reaktor) in Bezug auf ihre Eignung für die anaerobe Vergärung von Schlempe verglichen. In den untersuchten Reaktorsystemen konnten Raumbelastungen von 10 g_{oTS} L⁻¹d⁻¹ und Verweilzeiten von 6 Tagen erreicht und über mehrere Verweilzeiten hinweg aufrechterhalten werden. Durch eine Zudosierung der Spurenelemente Ni, Co, Mo und Zn in Kombination mit einem Eisenpräparat wurde ein stabiler Prozess realisiert (siehe folgende Abbildung).

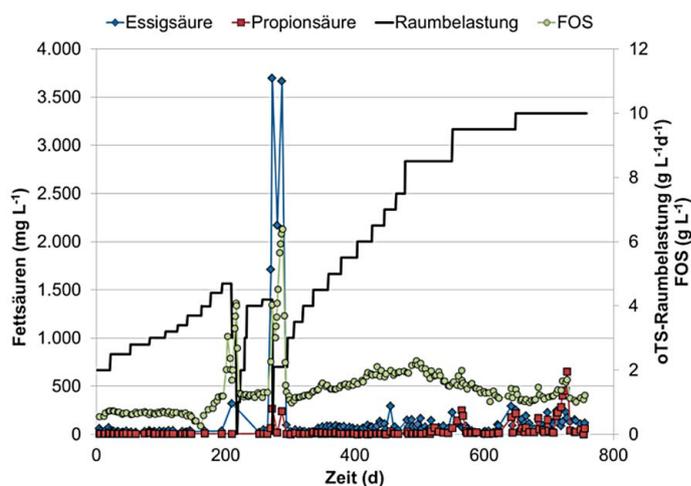


Abbildung 13: Indikatoren für Prozessstabilität und die organische Raumbelastung im Rührkessel-Reaktor. Ab Tag 288 wurden täglich Spurenelemente ergänzt.

Bei den Verfahren, welche eine Immobilisierung der Mikroorganismen beinhalten, ließen sich keine prozessbiologischen Vorteile feststellen. Darüber hinaus kann die Bildung von Struvit und Metallsulfiden in solchen Systemen zu unerwünschten Ablagerungen und damit zu einer Beeinträchtigung der Funktionalität führen. Im Rührkessel-Reaktor konnte die Raumbelastung bis auf $16 \text{ g}_{\text{OTS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei einer Verweilzeit von 4 Tagen gesteigert werden.

In Bezug auf den Abbau organischer Substanz wurden Werte zwischen 60 und 70% erreicht und der Methangehalt des Biogases betrug zwischen 55 und 60%. Die Gehalte an Schwefelwasserstoff waren von der Dosierung an Eisen abhängig. Ohne eine Eisenzugabe wurde der Messbereich von 5000 ppm überschritten und durch eine Zugabe konnte eine effiziente Entschwefelung auf Gehalte unter 400 ppm erreicht werden. Die nicht erwartete Möglichkeit einer Vergärung von Schlempe im Rührkessel-Reaktor bei extrem kurzen Verweilzeiten ohne Biomasserückhaltung stellt für eine weitere technische Nutzung des Verfahrens eine wesentliche Grundlage dar.

Die o.g. Spurenelementedosierung birgt zusätzlich ein erhebliches Optimierungspotenzial für das Verfahren. Für eine wirtschaftliche Gestaltung des Prozesses ist es notwendig die eingesetzten Mengen zu senken.

TAP I.2.4 Verfahrens- und Substratauswahl

Als bevorzugte Variante zur Umwandlung von Schlempe in Biogas wurde eine Vergärung der Klarschlempe bei Raumbelastungen von $8\text{-}10 \text{ g}_{\text{OTS}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und Verweilzeiten von 7 bis 9 Tagen im mesophilen Temperaturbereich unter Zugabe von Spurenelementen festgelegt.

Auf Grundlage der Analyse der Schlempen, der Gärversuche sowie verfahrenstechnischer und wirtschaftlicher Randbedingungen der Bioethanolanlagen von CropEnergies wurde ein Konzept für eine Pilotanlage und deren Betrieb erstellt, welches folgende Eckpunkte umfasst:

- Kontinuierlicher Betrieb im volldurchmischten Reaktor ohne Immobilisierung von Mikroorganismen
- kontinuierliche Substratzufuhr
- Verweilzeiten von 24 h bis 5 Tagen realisierbar
- Betrieb mit Klarschlempe (flüssiger Dekanterablauf) (Feststoffphase wird als hochwertiges Futtermittel verwertet).
- Arbeitstemperatur des Fermenters mesophil
- Zugabe von Eisen und Spurenelementen

TAP I.2.5-8 Pilotanlage

Zur Überführung des Konzepts in einen technischen Maßstab wurde eine mobile Pilotanlage mit 5 m^3 Arbeitsvolumen bei der CropEnergies AG am Standort Zeitz installiert und für den Zeitraum des Projekts betrieben. Das zugehörige Fließschema ist in Abbildung 14 dargestellt.

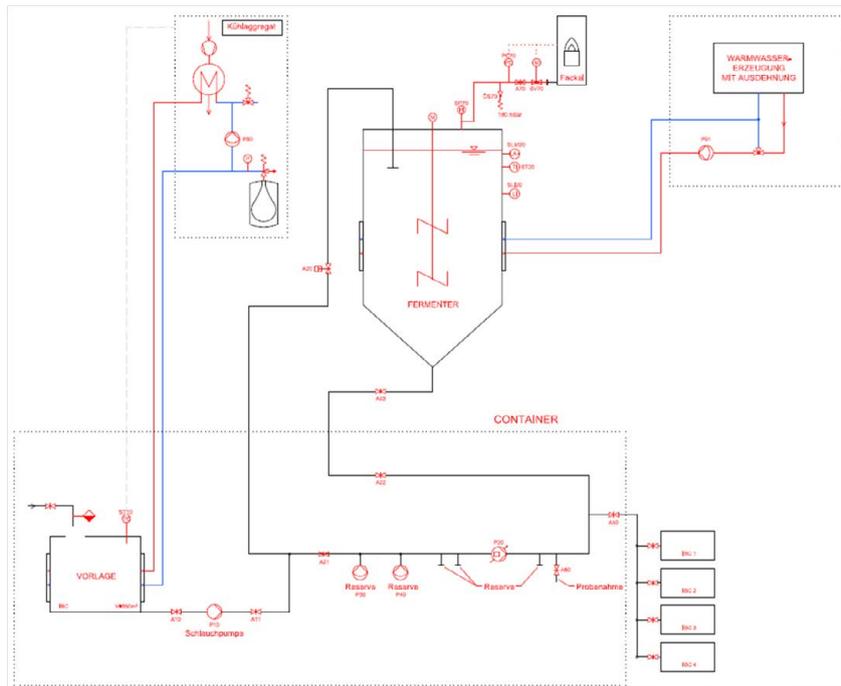


Abbildung 14: Fließschema der Pilotanlage

Diese Pilotanlage wurde von der Fa. Agrafarm Technologies in einem mobilen Anlagenkonzept auf dem Gelände der Crop Energies AG realisiert und über einen Zeitraum von ca. 9 Monaten betrieben. Ziel des Teilvorhabens war es, aus dem Reststoff Klarschlempe mittels anaerober Fermentation Biogas zu gewinnen und den Gärrest aufzubereiten (s. TAP I.2.15 und TAP I.2.16). Hierzu sollte eine stabile Mono-Fermentation für Schlempe bei möglichst geringen Verweilzeiten und gleichzeitig hohem Abbaugrad etabliert sowie die CSB-Facht im Gärrest signifikant reduziert werden. Betriebsparameter aus dem Labor-Maßstab sollten hierfür in den Pilot-Maßstab übertragen und ein stabiler Prozess realisiert werden, damit ausreichend Gärrest für die Untersuchungen zur Weiterbehandlung zur Verfügung gestellt werden konnte.

Die Pilotanlage bestand aus einem isolierten und beheizten Edelstahl-Fermenter, temperierbar auf eine mesophile Betriebstemperatur von 40°C sowie einem Technikcontainer, der sämtliche Baugruppen, Pumpen und Armaturen beinhaltete (s. Abbildung 15). Der Fermenter war mit dem Technikcontainer über eine Substratzufuhr- sowie eine Substratentnahme-Leitung verbunden. Zusätzlich war eine entsprechende Mischbatterie mit Zuführ-, Probenahme- und Reservestutzen in diese Ringleitung integriert. Dadurch waren Modifikationen unterschiedlicher Förderströme beispielsweise für Probenahme, Zudosierung einer Nährstofflösung etc. möglich.

Der Gärrest wurde in Standard IBC-Container (1 m³) abgepumpt und bis zur Weiterverarbeitung bei den jeweiligen Projektpartnern gelagert. Als Substrat wurde Klarschlempe von der CropEnergies AG bereitgestellt, welche ebenfalls über eine Ringleitung dem Fermenter zugefüttert werden konnte. Die Klarschlempe (ca. 70°C, pH3,5-4,5) wurde in einem gerührten 650 L-Behälter auf 40°C gekühlt und bis zur Fütterung zwischengelagert. Der Arbeitsdruck im Kopfraum des Fermenters konnte zwischen 0 und 80 mbar variiert werden. Gebildetes Biogas konnte dadurch intermittierend aus dem Kopfraum entweichen und einer Verbrennungseinrichtung zugeführt werden.

Während des rund 200-tägigen Betriebs der Pilot-Biogasanlage wurde die Schlempezufuhr kontinuierlich gesteigert, sodass nach ca. 3–4 Monaten der verfahrenstechnisch mögliche Vollastbetrieb mit einer Verweilzeit von ca. 10 Tagen und einer Raumbelastungen von bis zu 7 kg oTS/m³*d erreicht wurde (s. Abbildung 16). Zwischen dem 176 und 206. Versuchstag musste die Fütterung vorübergehend eingestellt werden.

Einen Überblick über den Fermentationsverlauf geben relevante Parameter, welche in den Ganglinien der Abbildung 16 dargestellt sind. Hierfür wurde eine umfangreiche, begleitende Analytik sowohl im Labor vor Ort, am DBFZ in Leipzig als auch am IUE und in einem externen Labor durchgeführt. Diese Analytik ermöglichte einerseits die Bilanzierung des Abbaus als auch die Überwachung der Prozessstabilität.



Abbildung 15: Pilot-Biogasanlage auf dem Gelände der Crop Energies AG. Links: 6 m³-Fermenter, Technikcontainer sowie Gärrest-IBCs. Rechts: Innenansicht des Technikcontainers mit Substratdosierung, Armaturen, Rohrleitungen und Additiven.

Die Betriebsweise der Pilot-Biogasanlage wurde in enger Zusammenarbeit mit den Partnern abgestimmt, und auf diese Weise die Laborergebnisse in den Pilotmaßstab der Schlempe-Fermentation übertragen und verifiziert. Eine unabhängige Analytik des Pilot-Prozesses ergab stets übereinstimmende Ergebnisse, sodass während der gesamten Fermentationsphase eine stabile Prozessbiologie beobachtet werden konnte. Obwohl der Abbaugrad mit einer Steigerung der Schlempezufütterung tendenziell abnahm, wurde die Biologie im Verlauf nicht nachteilig beeinflusst. In Laborversuchen am DBFZ wurde die Verweilzeit zusätzlich reduziert und - daran gekoppelt - die Raumbelastung erhöht. Selbst bei 12–15 kg oTS/m³*d konnte in diesen Versuchen eine stabile Fermentation mit konstant hohen Abbauraten erreicht werden.

Insgesamt konnte im Verlauf des Projekts die Mono-Fermentation von Klarschlempe vom Labor- in den Pilotmaßstab erfolgreich übertragen werden. Dabei konnte fortwährend ein stabiler Abbaugrad des chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB) von 70–80% realisiert und Schlempe für die Gärrestaufbereitung zur Verfügung gestellt werden. Begleitend zum Betrieb der Pilotanlage wurden Inokula entnommen und für weiterführende Versuchsreihen ans DBFZ und die TUHH überführt.

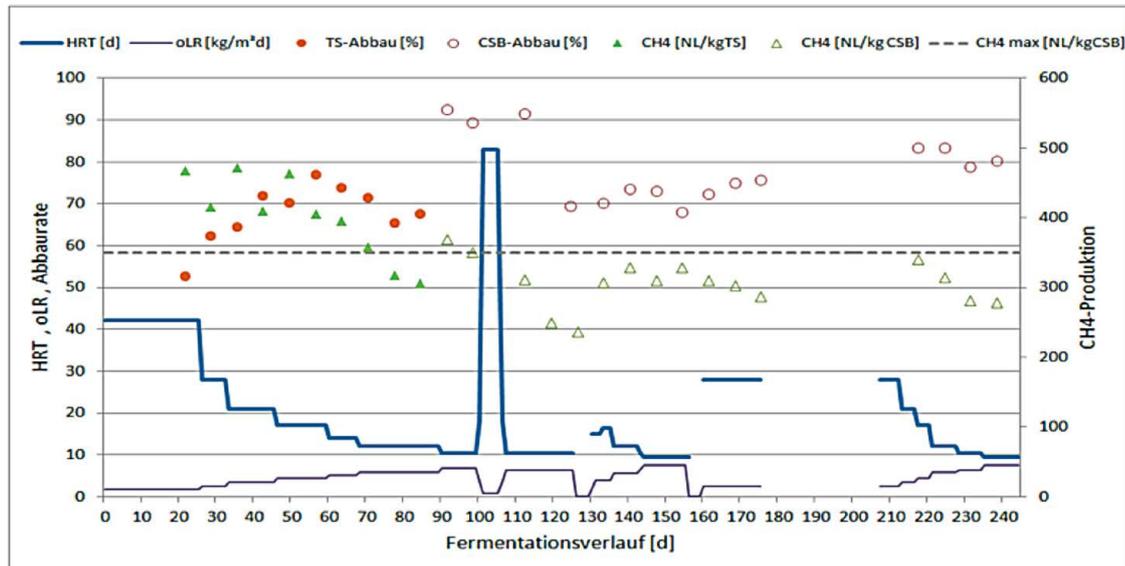


Abbildung 16: Prozessparameter der anaeroben Schlempe-Fermentation in der Pilot-Biogasanlage. Die vertikale Gerade markiert den Zeitpunkt, ab dem für die Bilanzierung des Abbaus eine CSB-Messung etabliert wurde. Bis dahin wurde der Abbau der Trockensubstanz gemessen. Tag 176 bis Tag 206: keine Zufütterung von Klarschlempe.

Das Ziel des AP I.2: „Optimierte Biogasproduktion“, die Entwicklung eines effizienten Prozesses zur Biogaserzeugung durch Vergärung von Schlempe, wurde erreicht. Durch den im Rahmen dieses Projektes entwickelten Prozesses könnten zukünftige Biogasanlagen für die Schlempevergärung von heutigen Verweilzeiten von 30–40 Tagen, um den Faktor 2–3 geringer dimensioniert und somit die Wirtschaftlichkeit deutlich verbessert werden. Die Ergebnisse des DBFZ lassen erwarten, dass die Leistung der Pilotanlage in einem langfristigen Betrieb noch weiter gesteigert werden kann.

TAB I.2.10 Laborversuche zur Gärrestaufbereitung

In Anknüpfung an vorherige Untersuchungen zur Stickstoffelimination und Rückgewinnung aus Gärresten wurde die bestehende Versuchsanlage des IUE an Schlempe als Einsatzstoff angepasst und verschiedene Parameter variiert. Ziel war es, die gesetzlichen Rahmenbedingungen zur Entsorgung über das kommunale Abwassersystem zu erreichen.

Die bestehende Versuchsanlage ist in der folgenden Abbildung dargestellt. Sie besteht aus zwei baugleichen Strängen. Als Strippmedium wird Luft durch einen Kompressor (1) zur Verfügung gestellt und mittels Durchflussmengenregler (2) auf einen Volumenstrom von 0 bis 250 L/h geregelt. Um ein Zurücklaufen des Gärrests in den Durchflussmengenregler zu vermeiden, ist in jedem Strang ein Absperrventil (3) integriert. Das Strippmedium wird durch ein Gasverteilungsrohr (4) in das Strippgefäß (5) befördert. Das Gasverteilungsrohr erhöht die Kontaktfläche zwischen Gärrest und Strippmedium, indem die Luft durch den Quarzfilter in Blasen mit einem Durchmesser von 40–250 μm verteilt wird. Um zu vermeiden, dass Schaum in die weitere Anlage ausgetragen wird, ist ein grobes Gitter am oberen Ende des Strippgefäßes angebracht. Möglicher Materialaustrag wird im Kondensatabscheider I (6) aufgefangen und eine Reaktion des basischen Gärrests mit der Schwefelsäure in den Gaswäschern verhindert. Anschließend wird die Luft in den Gaswäscher a (7) und anschließend in den Gaswäscher b (8) geleitet.

Die Gaswäscher sind mit 0,5 molarer Schwefelsäure gefüllt. Zur Vergrößerung der Kontaktfläche zwischen Stripplmedium und Schwefelsäure wird ein Diffusor zur Blasenbildung eingesetzt. Der Gaswäscher a absorbiert den im Stripplmedium enthaltenen Stickstoff in Form von Ammoniak (NH_3). Zur Absicherung wird ein weiterer Gaswäscher b eingesetzt. Kondensatabscheider II (9) fängt vom Stripplmedium mitgerissene Schwefelsäure auf. Das gewaschene Stripplmedium wird an die Umwelt (10) abgegeben.

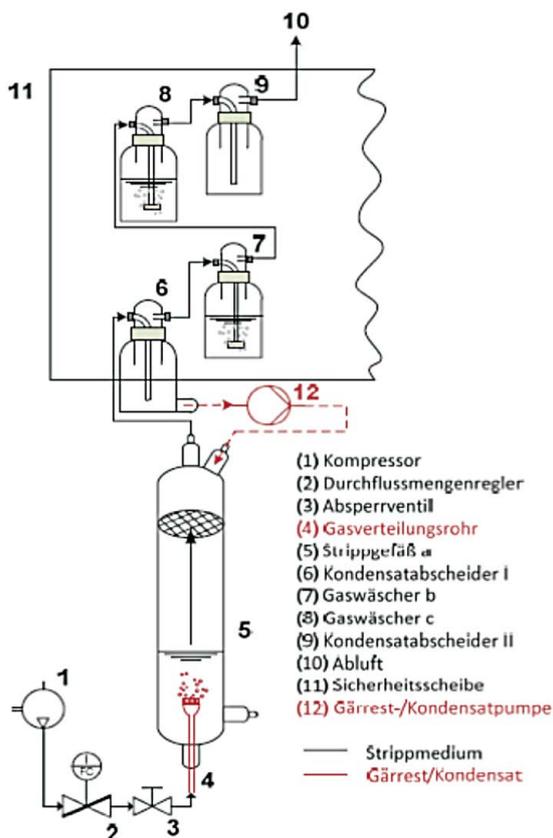


Abbildung 17: Anlagenschaubild zur Stickstoffrückgewinnung aus Gärrest

Im Folgenden sind exemplarisch die Ergebnisse der Stickstoffstrippung von Gärresten der Schlempe-Vergärung dargestellt. Zu Beginn der Versuche 2 und 3 (vgl. Abbildung 18 und 19) wurde im Gärrest ein pH-Wert von 9,5 bzw. 12,0 durch NaOH Zugabe eingestellt. Versuch 1 wurde mit unbehandeltem Gärrest durchgeführt.

Im Verlauf des Versuchs 1 stieg der pH Wert im Gärrest von 7,26 auf 9,19 (vgl. Abbildung 18). Es zeigt sich, dass der pH-Wert in den ersten drei Stunden um 1,74 auf über 9,0 ansteigt und in den darauffolgenden 6,5 Stunden um 0,19. Im Verlauf des Versuchs 3 sank der pH-Wert dementsgegen kontinuierlich von 11,91 auf 9,82.

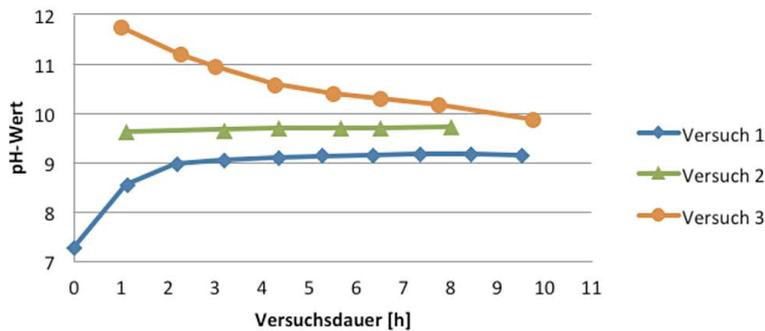


Abbildung 18: Verlauf des pH-Werts im Gärrest über die Versuchsdauer

Die folgende Abbildung zeigt die Anfangs- und Endkonzentrationen von Stickstoff und Ammonium im Gärrest. Es zeigt sich hier, dass mit steigendem pH-Wert eine steigende Effizienz der Strippung zu verzeichnen ist.

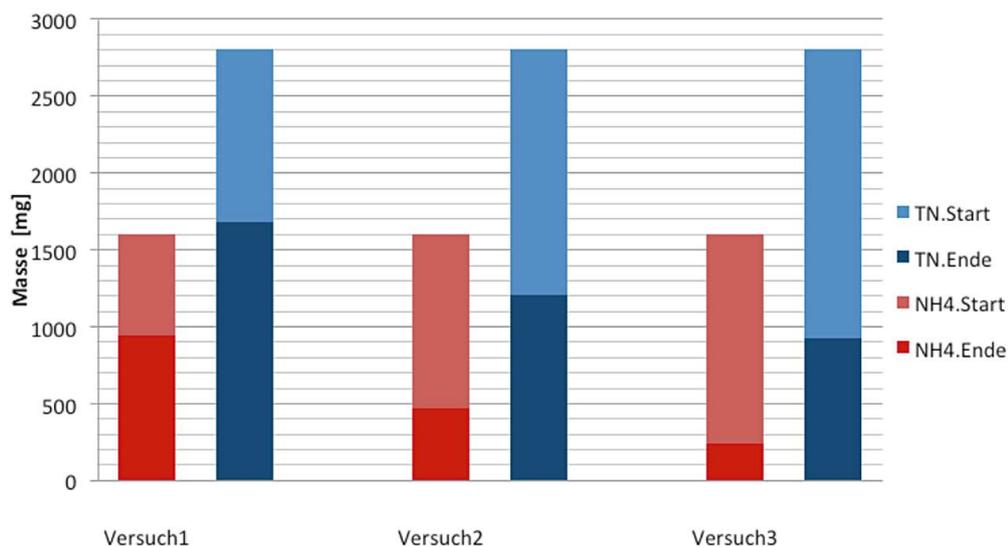


Abbildung 19: Konzentration von Stickstoff und Ammonium vor und nach der Strippung

TAP I.2.11 Apparative Ansätze zur Wertschöpfung und Entsorgung von Gärresten Schlempevergärung

Vor dem Hintergrund einer Minimierung von Entsorgungskosten bei gleichzeitiger Erschließung von potenziellen Absatzmärkten ist es das Ziel dieses TAPs, Szenarien zur Gärrestverwertung (vgl. folgende Abbildung) einzugrenzen und auf Relevanz und Effekt zu bewerten. Abschließend sollen auf Basis von gesetzlichen Rahmenbedingungen, Analysen und Versuchen im Technikkonzeptmaßstab ein Anlagenkonzept mit Empfehlungen für Parameter der jeweiligen verfahrenstechnischen Grundoperationen entworfen werden.

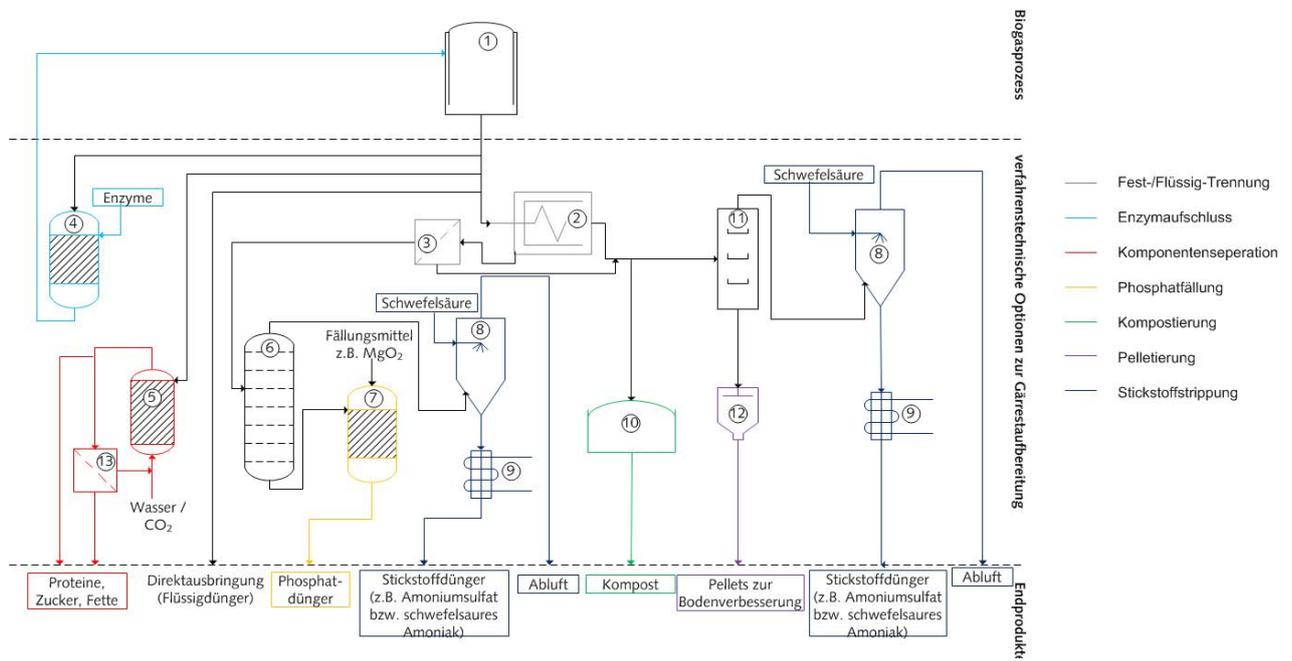


Abbildung 20: Szenarien zur Gärrestaufbereitung

Die in Abbildung 20 dargestellten Verfahren und deren In- bzw. Outputströme sind in Tabelle 8 verzeichnet.

Tabelle 8: Stückliste

Lfd. Nr	Bezeichnung	Funktion	Input	Output
1	Hochleistungs Biogasfermenter	Biogaserzeugung	Schlempe	Gärrest (500l/d)
2	Dekanter	Fest-/Flüssigtrennung	Gärrest	Fest-/Flüssigphase
3	Feinfilter	Abscheidung von Kleinspartikeln	Flüssigphase	aufgereinigte Flüssigphase/ Filtrat
4	Enzymaufschluss	Erhöhung von verfügbarem org. Material	Gärrest	Gärrest mit erhöhtem abbaubarem Anteil
5	Festbettautoklave	Sterilisation des Gärrests	Gärrest	sterilisierter Gärrest
6	Strip-Kolonne	Ammoniakgewinnung	aufgereinigte Flüssigphase	Ammoniak beladene Luft/ Sumpfpfprodukt (Phosphathaltig)
7	Fällungsreaktor	Phosphatgewinnung	Sumpfpfprodukt (NH ₃ -Stripfung)	Phosphate
8	Säurewäscher	Amoniumsulfatherstellung Abluftreinigung	Schwefelsäure, Ammoniak beladene Luft	Abluft, schwefelsaures Ammoniak
9	Verdampfer	Aufkonzentration des schwefelsauren Ammoniaks	schwefelsaures Ammoniak	Stickstoffdünger
10	Kompostlager	Kompostierung der Festphase	Festphase des Gärrests	Kompost
11	Trockner	weitere Trocknung der Festphase	Festphase des Gärrests	Ammoniak beladene Luft/ getrocknete Festphase
12	Pelletpresse	Pelletierung der getrockneten Festphase	getrocknete Festphase	Pellets zur Bodenverbesserung
13	Ultrafiltration	Aufreinigung der Autoklaven-Produkte	sterilisierter Gärrest	Einzelkomponenten des Gärrests (Proteine, Fette...)

Aus der Pilotanlage wurden insgesamt 50L Probe aus Ein- und Ausgang der Pilotanlage genommen, auf entsorgungs- und düngerelevante Werte analysiert und in Kontext mit dem bereits vorhandenen Konzept zur Gärrestverwertung gesetzt.

Input- und Outputstrom der Pilotanlage wurden im Labor des IUE auf Stickstoffverbindungen, Ortho-Phosphatgehalt, gelösten sowie gesamten organischen Kohlenstoff, Feststoffgehalt, pH-Wert und chemischen Sauerstoffbedarf untersucht. Die folgende Tabelle zeigt die gemessenen Werte in einer Gegenüberstellung mit Grenzwerten für die Entsorgung über das kommunale Abwassersystem oder die Direkteinleitung in fließende Gewässer (vgl. Tabelle 9).

Tabelle 9: Gemessene Konzentrationen in Klarschlempe und Gärrest und Grenzwerte für die Einleitung

Analyse	Einheit	Input	Output	direkt	indirekt
NH ₄ -N	mg/L	509	1635	10	100
NO ₂ -N	mg/L	-	-	1	10
NO ₃ -N	mg/L	-	-		
TN	mg/L	2869	2863	50	-
CSB	g/L	102,78	22,68	0,09	(min 85%)
TR	%	7,09	2,05	30 mg/L	150 mg/L
oTS	%	90,83	70,79		
DOC	g/L	22,8	2,13		
FOS/TAC	-	0	0,2		
TOC	g/L	32,84	7,05	0,03	
pH	-	3,86	7,61	6,5-8,5	6-10
PO ₄ -P	mg/L	481	340 (167,27 ges. P)	2 mg/L (ges. P)	-

Die düngerelevanten Stickstoff- und Ortho-Phosphat-Gehalte liegen mit 2863 mg/L bzw. 340 mg/L über den zugelassenen Grenzwerten für die Indirekt- und Direkteinleitung. Ebenfalls scheint anhand des gemessenen TOC-Wertes ein im Vergleich zum Grenzwert für Kohlenwasserstoffe erhöhter Wert vorzuliegen. Der Feststoffgehalt im Gärrest beträgt 2,05%.

TAP I.2.12 Modellierung Schlempevergärung

Die Modellierung der Schlempevergärung wurde mittels des DBFZ-Prozessmodells zur Prozesssimulation von Biogasanlagen am Beispiel eines Rührkesselreaktors durchgeführt. Das im Rahmen mehrerer Forschungsprojekte und der Grundförderung des DBFZ entwickelte Prozessmodell hat die Zielstellung, unter Nutzung einfach zu messender Parameter wie z.B. pH-Wert, Säurekonzentration, Charakterisierung des Substratinputs und Gärrestuntersuchungen, die Stabilität des Biogasbildungsprozesses durch mathematische Simulation vorausschauend zu berechnen. Das Modell stellt dabei einen Kompromiss aus möglichst einfacher Parametrierung bzw. Identifizierbarkeit des Modelles und andererseits möglichst genauen Simulationsergebnissen mit einer hohen Prognosefähigkeit praxisrelevanter Zustände dar.

Die kinetischen Parameter des Prozessmodells konnten entsprechend der im TAP I.2.11 geplanten Arbeiten erfolgreich an den Prozess der Schlempevergärung angepasst werden. Dafür ist am DBFZ ein Algorithmus verfügbar, welcher anhand von Messdaten das Modell automatisch kalibriert. Um einen möglichst langen Versuchszeitraum mit unterschiedlichen Parameteränderungen betrachten zu können, wurde auf den am DBFZ verfügbaren Datenpool zurückgegriffen. In Abbildung 21 ist der Verlauf der gemessenen und simulierten Biogasproduktion in Abhängigkeit von Verweilzeit und Raumbelastung abgebildet.

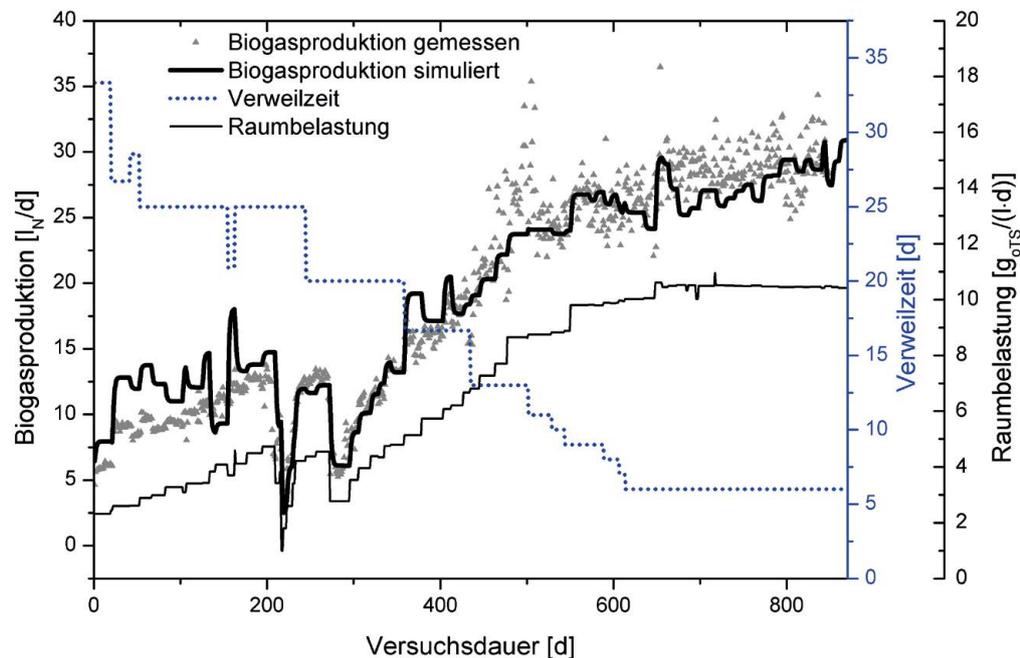


Abbildung 21: Verlauf der gemessenen und simulierten Biogasproduktion in Abhängigkeit von Verweilzeit und Raumbelastung

Sowohl die Biogasproduktion, als auch weitere als prozessbeeinflussend geltende Größen wie die Ammoniumstickstoffkonzentration konnten mit ausreichender Genauigkeit modelliert werden. Auf Grundlage dieser Modellierung kann eine spätere Prozessoptimierung ggf. auch Steuerung erfolgen.

Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit, voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses AP I.2

Die geleistete Arbeit des Arbeitspakets I.2. war, unter der Betrachtung der im Antrag gestellten Ziele – die Entwicklung integrierter Bioraffinerien – notwendig und angemessen. Hierbei sind Personal- sowie Sachmittelkosten im Rahmen der zur Verfügung stehenden finanziellen Mittel in Anspruch genommen worden.

Die gewonnenen Erkenntnisse geben wesentliche Erkenntnisse für den Betrieb Schlempe-verwertender Biogasreaktoren unter verschiedenen Prozessbedingungen und sollen dabei helfen, Prozessabläufe besser verstehen und voraussagen zu können, um einen optimalen Biogasbetrieb mit dem Destillationsrückstand als Substrat zu gewährleisten. Ziel ist dabei, durch Verfahrensoptimierungen Vorteile in der Gesamtwertschöpfung von Bioethanolanlagen zu erreichen.

An vermarktbareren Ergebnissen sollten sowohl die Industriepartner als auch die Forschungspartner partizipieren können.

Eine Analysenausweitung im Pilotmaßstab war Bestandteil des Projekt-Antrags und konnte mit der Anschaffung einer solchen Anlage im Jahr 2012 begonnen werden.

Publikationsliste

- D. Jabbour, A. Sorger, K. Sahm, G. Antranikian (2013) A highly thermoactive and salt-tolerant α -amylase isolated from a pilot-plant biogas reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 2971-2978
- W. Sabra, A.-P. Zeng (2011). Prozessentwicklung und metabolische Analyse der Schlempe Vergärung zur Biogasbildung. Workshop des FSP' Integrierte Biotechnologie und Prozesstechnik' 15 Dezember. TuTech Innovation GmbH, Hamburg, Germany
- I. Röske, A. Sorger, K. Sahm and G. Antranikian (2011). Thermophilic microbial community for methane production at high temperatures. Vereinigung für Angewandte und Allgemeine Mikrobiologie, Karlsruhe, Germany March 03-06, 2011
- I. Röske, A. Sorger, W. Sabra, K. Sahm, A.-P. Zeng and G. Antranikian (2011). Microbial analysis and optimization of biogas production from industrial waste at elevated temperature. I. International Conference on Biogas Microbiology Leipzig, Germany, September 14-16, 2011
- W. Sabra, D. Dietz, D. Tjahjajari, A.-P. Zeng (2010). Biosystems analysis and engineering of microbial consortia for industrial biotechnology. *Eng. Life Sci.* 10(5), 1–15
- Voss T, Alberts A, Kuchta K: Aufbau einer Technikumsanlage im Trockenfermentationsverfahren. Deutsche Gesellschaft für Abfallwirtschaft DGAW, Tagungsband 2. Wissenschaftskongress Abfall- und Ressourcenwirtschaft am 29. und 30. März 2012 in Rostock
- Oldenburg, S.; Kaltschmitt, M: Techniksysteme und Entwicklungstendenzen; Kapitel 3.3, Böttcher, J. (Hrsg.): *Biogas*; Springer, Heidelberg, 2012,
- Oldenburg, S.; Kaltschmitt, M: *Bioenergie – Strom und Wärme aus Biogas*, Lektion 6, Euroforum-Lehrgang in 8 schriftlichen Lektionen, euroforum Verlag, 2011
- Saskia Oldenburg; L. Westphal, H. Adwiraah, I. Körner: Energetische Verwertung von Mischgrün, DGAW – Deutsche Gesellschaft für Abfallwirtschaft e.V., Wissenschaftskongress DGAW 2011 (Juni 2011), 03.2011
- Maxfield, T.: *Anaerobic Digestion of Residuals from the Bioethanol Industry – A Review*, Bioconversion & Emission Control Group, Institute of Environmental Technology & Energy Economics, TUHH, February 2010
- Schmidt T., 2011. Optimized Continuous Anaerobic Digestion of Bioethanol Grain Stillage: Results from Long Term Laboratory Continuous Digestion Experiments. Vortrag BIT's 1st Annual World Congress of Bioenergy April 25-30 2011, Dalian, China
- Schmidt T., 2011. Vergärung von Getreideschlempe bei hohen Raumbelastungen in drei unterschiedlichen Reaktorsystemen. Vortrag Doktorandenkolloquium Universität Rostock Juli 15 2011, Rostock
- Schmidt et al. 2013. Anaerobic digestion of grain stillage at high organic loading rates in three different reactor systems. *Biomass and Bioenergy* <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.02.010>
- Zeng, A.-P. 2009. Integrated biogas production and use in bioproduction of bulk-chemicals. Vortrag, International Energy Farming Congress, Papenburg, Germany.
- Zeng, A.-P. 2011. New Bioproduction Systems for Commodities and Fuels. Oral presentation at "Workshop New Bioproduction Systems", Frankfurt/Main, Germany
- Zeng, A.-P. 2011. New biology and engineering tools for next generation bioproduction systems. Invited lecture, Tsinghua University, China.

Modul II

Erweiterung der nutzbaren Biomasseressourcen „Bioethanol aus Lignocellulose“

Clariant Produkte (Deutschland) GmbH/ehemals Süd-Chemie AG (Förderkennzeichen 0315559 E)
CropEnergies AG (Förderkennzeichen 0315559 C)

Johann Heinrich von Thünen-Institut – Institut für Holztechnologie und Holzbiologie
(Förderkennzeichen 0315559 J)

Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt – Institut für Molekulare Biowissenschaften
(Förderkennzeichen 0315559 I)

Linde Engineering Dresden GmbH/ehemals Linde-KCA-Dresden GmbH
(Förderkennzeichen 0315559 D)

Südzucker AG (Förderkennzeichen 0315559 F)

TUHH – Institut für Technische Mikrobiologie/AG Antranikian (Förderkennzeichen 0315559 A)

TUHH – Institut für Thermische Verfahrenstechnik/AG Smirnova (Förderkennzeichen 0315559 A)

Autoren

AP II.1: „Thermische Hydrolyse“: Prof. Irina Smirnova, Dr. Carsten Zetzl
(beide TUHH – Institut für Thermische Verfahrenstechnik)

AP II.2: „Enzymatische Hydrolyse“: Prof. Garabed Antranikian, Saskia Blank,
Carola Schröder, Dr. Vera Haye (alle TUHH – Institut für Technische Mikrobiologie),
Dr. Georg Schirmmacher (Clariant)

AP II.3: „Fermentation“: Prof. Eckhard Boles (Universität Frankfurt – Institut für Molekulare
Biowissenschaften), Dr. Michael Klingenberg (Südzucker)

AP II.4: „Wertstoffe, Bilanzierung und Scale-up“: Dr. Georg Schirmmacher (Clariant)

I. Kurze Darstellung

Das Modul II „Erweiterung der nutzbaren Biomasseressourcen – Bioethanol aus Lignocellulose“ hat als Hauptaufgabe, eine rentable Wertschöpfung aus lignocellulosehaltiger Biomasse zu etablieren, und geht somit über die Bioraffinerie-Ansätze der 1. Generation (Ethanolherzeugung aus stärke- und zuckerhaltigen Pflanzen) hinaus. Motivation ist die Gewinnung von Ethanol als Endprodukt. Diese Produktionslinie soll jedoch aus Rentabilitätsgründen auf weitere Wertstoffe und Nebenprodukte erweitert werden.

Es ist hierbei ein aus 4 Teilprojekten bestehender Arbeitsrahmen entstanden, wobei die untersuchten Grundoperationen durch die entstehenden Produktströme sequentiell miteinander verknüpft sind.

- Eine neuartige, nachhaltige Vorbehandlung auf Hochdruck- und Heißwasserbasis (LHW-Pre-Treatment) der Biomasse zum Aufschluss in die zuckerhaltigen Oligomere und weitere Wertstoffe
- Die enzymatische Hydrolyse zur weiteren Aufspaltung der Oligomere und die Rückführung der Enzyme; hierfür ist die Entwicklung und Anpassung spezieller Enzyme erforderlich
- Die Vergärung der C5- und C6 Zucker zu Ethanol und weiteren Feinchemikalien wie Malat und Fumarat; hierfür ist die Entwicklung und Anpassung spezieller Hefen erforderlich
- Die verfahrenstechnische und wirtschaftliche Bewertung dieses Ansatzes (II.4).

Bioraffinerie der 2. Generation : Der Ansatz im Modul II

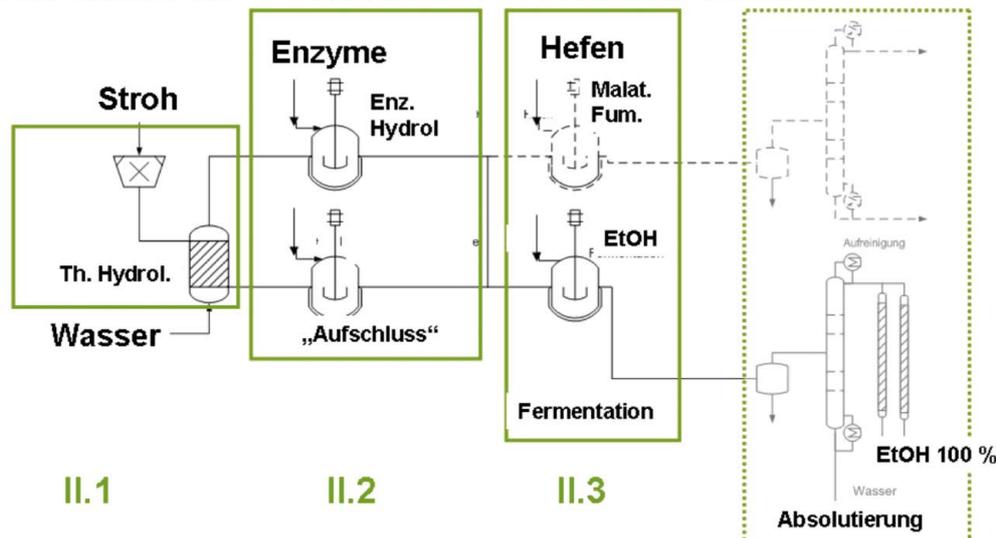


Abbildung I.1: Schematisierte Verschaltung der Unit Operations

I.1 Aufgabenstellung

Das Ziel in Modul II war zum einen, die Biomasse-Basis auf Lignocellulose zu erweitern und zum anderen die Wertschöpfung aus den Nebenprodukten zu erhöhen.

Dieser Ansatz verlangt ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Technologien:

- ➔ die passende thermo-physikalische Vorbehandlung der Lignocellulose
- ➔ der auf die Lignocellulose angepasste Einsatz von speziellen Enzymen
- ➔ der Einsatz von auf Lignocellulose angepassten speziellen Hefen
- ➔ die Wertschöpfung der Nebenprodukte, speziell der Extraktion der Proteinphase

Die oben genannten Verfahren sind unabhängig voneinander in der Grundlagenforschung bereits recht weit fortgeschritten, es fehlt jedoch die Integration in ein Gesamtverfahren und die Anpassung der Einzelschritte an die Schnittstellen. Durch dieses Modul soll ein Verfahrensablauf entwickelt werden, der die Verwertungsmöglichkeiten auf lignocellulosehaltige Biomasseressourcen erweitert.

I.2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Modul war eingebettet in das Gesamtvorhaben „BIORAFFINERIE2021“, und konnte im dortigen Netzwerk zwischen Modul I „Verfahrenstechnischen Optimierung“ und Modul III „Weitere Wertprodukte“ positioniert werden. Die Ergebnisse werden an Modul IV „Neue Konzepte“ übermittelt.

Das Alleinstellungsmerkmal dieses Moduls bestand nun aus der Verwendung einer alternativen Biomassequelle (Bioraffinerie der 2. Generation) und der Verfahrensentwicklung, wodurch ein optimierter Weg energetischer und stofflicher Nutzung erzielt werden sollte.

Aufgrund der prinzipiell verschiedenen Substratqualität (Lignocellulose im Vergleich zu Stärke) war die Vorgehensweise näher an der Grundlagenforschung angesiedelt.

Die Biomassevorbehandlung musste optimiert werden, sowie neue Enzyme und Hefen identifiziert und auf ihre Komplementarität mit den Substraten und den Prozessbedingungen getestet werden.

Desweiteren war zu erwarten, dass bei ligninreichen Substraten neben den Zielprodukten Ethanol, Fumarat und Malat weitere Zwischen- oder Endprodukte mit Wertschöpfungspotential identifiziert werden konnten.

Eine Herausforderung war schließlich das Zusammenwirken von verfahrenstechnischer Forschung im Pilotmaßstab mit der mikrobiologischen Forschung. Die Untersuchungsergebnisse mussten auf einen Industriemaßstab zusammengefasst und umgerechnet werden, und letztlich hinsichtlich der Wirtschaftlichkeit abgeschätzt werden.

Im Institut für Technische Mikrobiologie (TUHH) wird vor allem mit Extremophilen und Extremozymen gearbeitet. Das Institut verfügt über diverse Gen- und Metagenombanken, erstellt aus isolierter DNA aus extremen Mikroorganismen und extremen Standorten. Das Wissen über erfolgreiche Genbankkonstruktionen und weiteren Sequenz- und Aktivitäts-basierten Screenings, sowie das Vorhandensein von automatisierten Robotern für ein Hochdurchsatzscreening sind optimale Ausgangsvoraussetzungen für die Suche nach neuen Cellulose- und Hemicellulose-abbauenden Enzymen.

Am Institut für Molekulare Biowissenschaften der Goethe-Universität Frankfurt wird am Genetic Engineering von Hefen gearbeitet. Es sind Technologien vorhanden, Hefen zu konstruieren, die neben den Hexose-Zuckern auch Pentose-Zucker wie Xylose und Arabinose fermentieren. Daneben existieren sehr gute Erfahrungen, rekombinante Hefen zu entwickeln, die neuartige Produkte wie Isobutanol, Muconsäure oder Lipide produzieren. Das Institut ist mit allen dazu notwendigen Gerätschaften und Methoden sehr gut ausgestattet.

I.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Der Vorhabensablauf lässt sich anhand der im Antrag dargestellten Skizze wie folgt beschreiben:

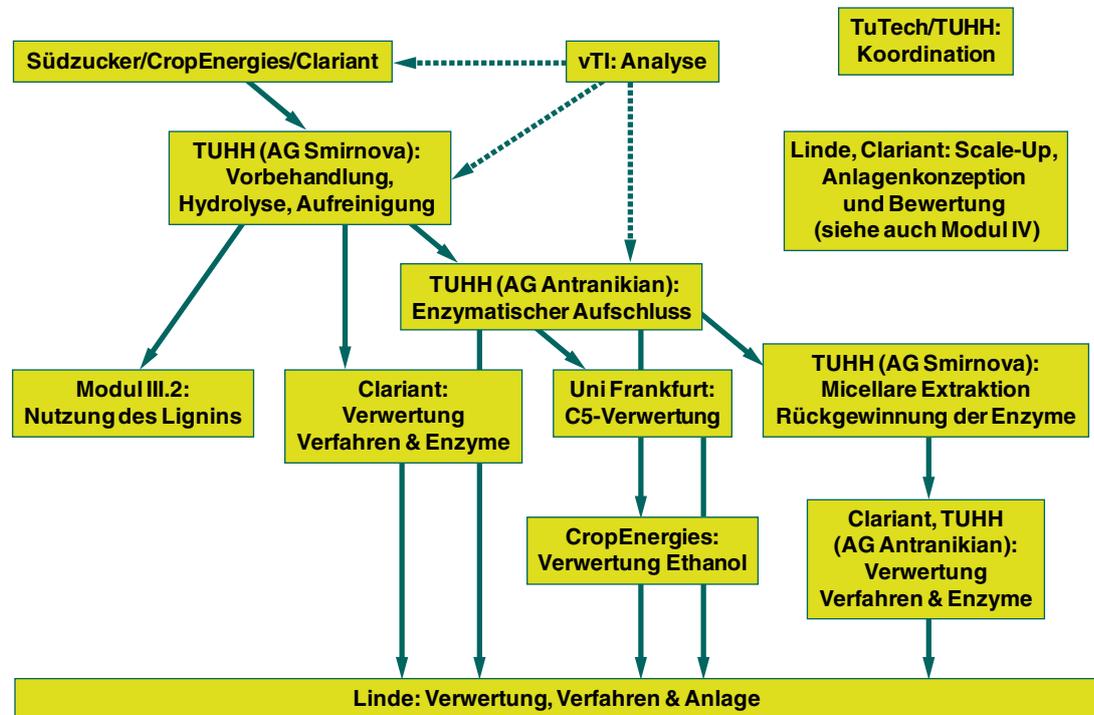


Abbildung I.2: Zuordnung der Zuständigkeiten im Vorhabensablauf

Ausgangspunkt: Von den Industrie- bzw. Erzeugerpartnern wird ein Wertschöpfungspotential an zwei „Leuchtturm-Ressourcen“ dargestellt

Erste Prozesseinheit: Das Institut für Thermische Verfahrenstechnik (TUHH) untersucht die Vorbehandlungsmethoden für die beschriebene Lignocellulose-Masse mit Haupt-Augenmerk auf dem nachhaltigen Einsatz der Heißwasserhydrolyse. Analysen können im Institut oder im Unterauftrag am vTI durchgeführt werden.

Zweite Prozesseinheit: Nebenprodukte der Heißwasserhydrolyse (Ligin, diverse Proteine), werden im Netzwerk des Gesamtprojektes zur weiteren Verwendung als Muster abgegeben.

Dritte Prozesseinheit: Das Hydrolysat ist die Vorlage für den enzymatischen Aufschluss. Das Institut für Technische Mikrobiologie (TUHH) screent nach neuen Lignocellulose-abbauenden thermostabilen Enzymen, produziert und charakterisiert diese. Am Institut für Thermische Verfahrenstechnik wird eine Option getestet, die ggf. hochpreisigen Enzyme über mizellare Extraktion zurückzugewinnen.

Vierte Prozesseinheit: Das enzymatisch aufgeschlossene Hydrolysat wird für die Fermentation eingesetzt. Das Institut für molekulare Biowissenschaften (Uni Frankfurt) entwickelt geeignete Hefekulturen, mit dem Hauptaugenmerk Bioethanol aus C5-Zuckern (Xylose) sowie Malat und Fumarat herzustellen.

Abschließend wird die Kostenstruktur und Rentabilität des Verfahrens ermittelt.

Die Anforderungen, die an die Enzyme gestellt wurden, wie Thermoaktivität und -stabilität, sowie ein pH-Wert im leicht sauren bis neutralen Bereich ließen sich auf die Wachstumsbedingungen der Produzenten übertragen. Somit wurde die institutsinterne Stammsammlung auf entsprechende Mikroorganismen geprüft, sowie Umweltproben, die ein entsprechendes Milieu aufwiesen wurden angereichert. Hierfür wurden Kompostproben, Dungproben und Proben aus verschiedenen heißen Quellen auf den Azoren gewählt. Zusätzlich wurde ein Sequenz-basierter Ansatz verfolgt, wobei degenerierte Primer aufgrund von Sequenzähnlichkeiten in konservierten Bereichen der entsprechenden Gene abgeleitet wurden und mittels PCR-Techniken versucht wurde Bereiche von neuen Genen zu amplifizieren.

I.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand des Wissens zu Beginn der Arbeiten

Es existieren bereits mehrere nationale und europäische Projektansätze (BioLiq–KIT Karlsruhe, sunliquid®–Clariant Straubing, Lignocellulose–FhG-CBP Leuna, Inbicon–DONG Kalundborg), die bereits großtechnische Demonstrationsversuche erlauben. Ein inzwischen insolventes Vorhaben wurde von Choren Industries verfolgt. Das als SunFuel bezeichnete Produkt wurde über Verschmelzung und Fischer-Tropsch-Synthese aus dem Grundstoff Holz gewonnen.

Der im Modul II dargestellte Ansatz einer Bioethanol-Produktion unter Einbeziehung der Xylose und unter Verzicht auf alkalische und saure Hydrolysebegleitstoffe hat zwar aufgrund seiner Prozessführung (Festbett) und der absoluten Nachhaltigkeit ein Alleinstellungsmerkmal, erfordert aber jedoch noch einen Beweis für eine hinreichende Konkurrenzfähigkeit zu importiertem 1 G Bioethanol (Mais, Zuckerrohr). Eine tabellarische Aufstellung der bis dato bekannten Projekte findet sich nachfolgend:

Tabelle II.1: Stand des Wissens, bestehende 2 G Bioethanolkonzepte und Anlagen

	Dieses Projekt	Lignocellulose	BioLiq	sunliquid®	Proesa	Inbicon
Standort Betreiber	TUHH/ Uni Frankfurt	Leuna FNR	Karlsruhe KIT	Straubing Clariant	Crescentino (I)	Kalundborg (DK) DONG
Rohstoff	Stroh/Kleie	Holz	Stroh	Lignocellulose z.B. Stroh	Stroh	Stroh
Vorbehandlung	Sequentielle Heißwasserhydrolyse	Organosolv	Pyrolyse	Dampfexplosion	Hydrolyse	Heißdampf/ Organosolv
Ziel-Produkte	Ethanol und C5-derivate	Gesamtes Spektrum, u. a. Lignin	Syn-Gas, SynFuel	Ethanol	Ethanol	Ethanol
Betriebsweise	Festbett	Rührkessel- kaskade	Fischer-Tropsch	n.a.	Rührkessel	Rührkessel
Nebenprodukte	Xylose, Glukose, Lignin	Lignin	BtL	Ligninhaltiger Reststoff	Lignin, C5, C6	Lignin

Die Identifizierung neuer Cellulose und Hemicellulose-abbauender Enzyme (Glykosidhydrolasen) erfolgte hauptsächlich mit Hilfe von aktivitätsbasierten, kolorimetrischen Testverfahren, welche am Institut für Technische Mikrobiologie bereits erfolgreich zur Detektion zahlreicher Biokatalysatoren eingesetzt wurden. Besonders bei molekularbiologischen und biochemischen Arbeiten,

wie der Erstellung von Genbanken und der Charakterisierung von Proteinen kann auf fundierte Erfahrungen zurückgegriffen werden, welche für das bestehende Projekt genutzt wurden.

Als Fachliteratur dienten sowohl Fachbücher, veröffentlichte Doktorarbeiten, wissenschaftliche Artikel, sowie Herstellerangaben der verwendeten Kits und Geräte.

I.4.1 AP II.1

Für die Heißwasserhydrolyse, die überkritische Fluid-Extraktion und die mizellare Extraktion konnte auf eine umfangreiche, öffentlich bekannte Expertise des Instituts für Thermische Verfahrenstechnik (TUHH) zurückgegriffen werden. Heißwasserhydrolyse-Verfahren und deren Anlagen wurden unter anderem in den Dissertationen von Misch (2000), Rogalinski (2008), Doncheva (2008) beschrieben. Eine Übersicht befindet sich in Brunner (2012). Die aktuellen Arbeiten des Instituts zur Hochdruck-Extraktion mit verdichteten Gasen wurden von Danielski (2008) und Chang (2008) beschrieben. Zusammenfassungen und Anlagenbeschreibungen des Instituts zur Bioraffinerie finden sich u. a. in Brunner, Schacht und Zetzl (2006). Die Expertisen zur Option der mizellaren Extraktion wurden von Smirnova et. al. beigetragen (2010). Während des Bearbeitungsfortschritts wurde auf einschlägigen Fachveranstaltungen und Messen, u. a. Achema 2009 und 2012, ProcessNet Jahrestagung Hochdruckverfahrenstechnik (Aachen 2010; Maribor, 2011; Hamburg, 2012) Informationsaustausch unternommen. Als Literaturquelle zur Verfolgung des Stands der Forschung dienten insbesondere die Fachzeitschriften Chemie-Ingenieur-Technik, Journal of Supercritical Fluids, Journal of Membrane Science, sowie Journal of Biotechnology.

I.4.2 AP II.2

Lignocellulose als Bestandteil pflanzlicher Zellwände besteht aus Cellulose, Hemicellulose und Lignin. Die in großen Mengen anfallenden Reststoffe aus Forst- und Landwirtschaft, wie z. B. Weizenstroh, können durch geeignete Vorbehandlungsmethoden (meist thermisch) in die drei Komponenten fraktioniert werden. Nachfolgend kann die Cellulose- und Hemicellulosefraktion durch geeignete Enzyme zu Zuckermonomeren hydrolysiert werden.

Ziel des Arbeitspaketes II.2 „Enzymatische Hydrolyse“ ist die Verbesserung der Effizienz des enzymatischen Abbaus der vorbehandelten Lignocellulose und somit die Steigerung der Ausbeute an C6- und C5-Zuckern, die anschließend in AP II.3 vergoren werden sollen. Hierfür sollen neue thermostabile Cellulasen und Hemicellulasen identifiziert werden, die als robuste Biokatalysatoren in großtechnischem Maßstab eingesetzt werden können.

Der Abbau von Cellulose wird durch einen Enzymkomplex bewirkt, der sich aus drei Enzymklassen zusammensetzt: Endoglukanasen spalten das langkettige Rückgrat der Cellulose in Oligomere, Cellobiohydrolasen (Exoglukanasen) spalten von den Kettenenden Cellobioseeinheiten ab, die schließlich von β -Glukosidasen in Glukosemonomere gespalten werden (Abbildung I.3):

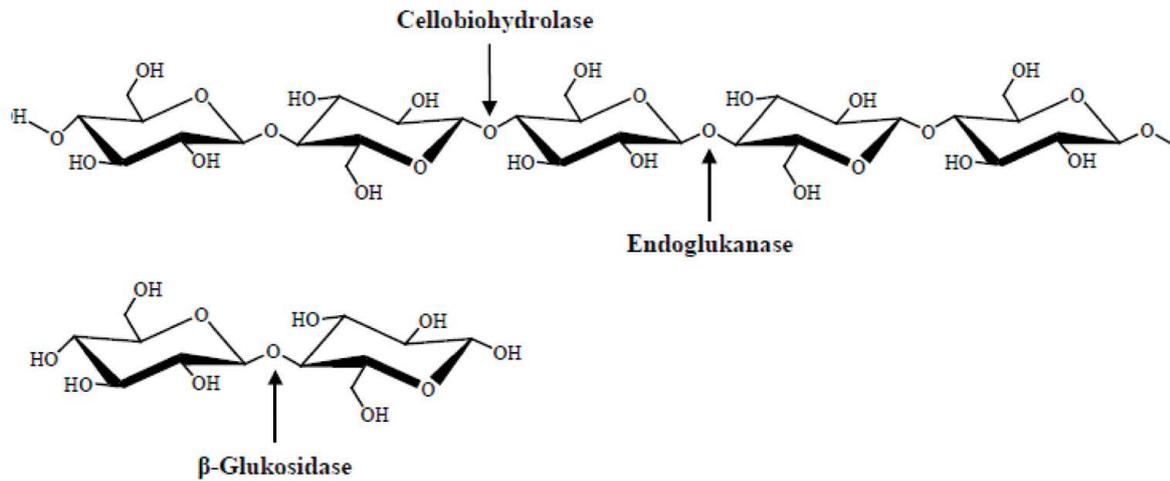


Abbildung I.3: Struktur des Homopolymers Cellulose und die am Abbau beteiligten Cellulasen

Hemicellulose ist verzweigt und aus verschiedenen Zuckermonomeren zusammengesetzt. Der Hauptanteil der Hemicellulose in Weizenstroh ist Xylan, das wie folgt abgebaut wird: Endoxylanasen spalten das Xylanrückgrat und produzieren dabei Xylobiose, die wiederum von β -Xylosidasen in zwei Xyloseeinheiten gespalten wird (Abbildung I.4).

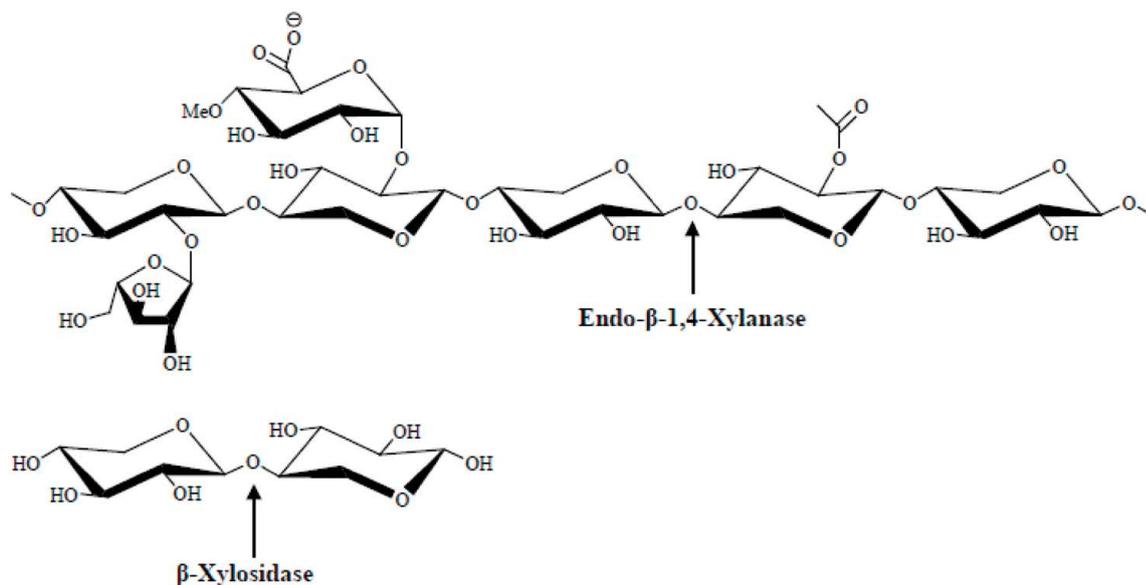


Abbildung I.4: Mögliche Zusammensetzung des Heteropolymers Xylan und am Abbau beteiligte Xylanasen

Für eine erfolgreiche Kombination der im Projekt entwickelten thermischen und enzymatischen Hydrolyse müssen daher thermostabilen Cellulasen und Hemicellulasen aus Bakterien und Archaeen gefunden werden, die als robuste Biokatalysatoren im großtechnischen Maßstab eingesetzt werden können. Im Vergleich zu den bisher am Markt verfügbaren Enzymen

(siehe Projektantrag) weisen diese robusten Biokatalysatoren neben der Thermostabilität auch eine erhöhte Toleranz gegenüber Lösungsmitteln, Detergenzien und hohen Substratkonzentrationen auf. Die Vorteile von Prozessen bei erhöhten Temperaturen sind u. a. eine erhöhte Umsatzrate, ein erhöhter Stoffaustausch, bessere Löslichkeit des Substrats, geringere Viskosität und eine geringere Kontaminationsgefahr.

I.4.3 AP II.3

Für die biotechnologische Herstellung von Ethanol der ersten Generation stellt die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* weltweit den bevorzugten Organismus dar. Der Grund für ihre bevorzugte Verwendung ist ihre Vielzahl an vorteilhaften Eigenschaften, die robuste industrielle Produktionsprozesse gewährleisten. Jedoch hat diese Hefe einen entscheidenden Nachteil bei der Verwertung von Lignocellulose – der Herstellung von Ethanol der zweiten Generation – da sie nicht in der Lage ist die Zucker Arabinose und Xylose zu verwerten. Diese Zucker stellen einen wesentlichen Bestandteil der Lignocellulose dar. Erst deren effiziente Verwertung würde zu einem Kosten-kompetitiven Produktionsprozess führen. Daher wird als vielversprechendste Lösung angesehen, die Hefe *S. cerevisiae* gentechnisch zu verändern, um sie zur Xylose- und Arabinose-Verwertung zu befähigen.

I.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Im Rahmen der EU-Kooperation FP 7 „BrewPack“ (2009–2011) konnten eigene Erkenntnisse zur Extraktion und Isolierung von pflanzlichen Proteinen gebildet werden. Im Rahmen des DBU-Förderschwerpunktes Biotechnologie „Optimierung der Prozessführung zur Gewinnung werthaltiger Zucker und naturbelassenen Lignins aus Roggenstroh-Lignocellulose“ (2009–2010) wurden Informationen zum physikalisch-chemischen Verhalten des Roggenstrohs bei diversen Hydrolyseverfahren gesammelt.

Modulintern entwickelte sich im Rahmen der Projektbearbeitung eine intensive Zusammenarbeit mit den o. g. Projektpartnern. Im Arbeitspaket II.2 konnten trotz der verkürzten Gesamtlaufzeit des Projekts (ursprünglich geplant war eine Laufzeit von 5 Jahren) sehr gute Ergebnisse erzielt werden. Ein Grund hierfür war sicherlich das hierfür spezifische Projektmanagement, das von beiden Partnern SCA und TMB in diesem Arbeitspaket erfolgreich eingesetzt wurde. Die Zusammenarbeit verschiedener Module des Projektes und der Industriepartner sollte zur Etablierung einer integrierten Bioraffinerie beitragen. Dabei bestand eine enge Zusammenarbeit zwischen dem Institut für Thermische Verfahrenstechnik und dem Institut für Technische Mikrobiologie, welches das hydrothermisch vorbehandelte Weizenstroh als Substrat zur Detektion neuer Biokatalysatoren erhielt.

II. Eingehende Darstellung

AP II.1 Thermische Hydrolyse

Partner

TUHH–Institut für Thermische Verfahrenstechnik

Südzucker AG/CropEnergies AG

Clariant Produkte (Deutschland) GmbH

Johann Heinrich von Thünen-Institut–Institut für Holztechnologie und Holzbiologie

II.1.1 Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

Hauptziel des AP II.1 ist die Beschreibung des Hydrolyseverlaufes und des Einflusses der Prozessparameter Konzentration, Druck, Temperatur, Verweilzeit, Probenvorbehandlung (z. B. Partikelgröße), Reaktionsbegleitstoffe. Von besonderer Wichtigkeit für die Berechnung der Reaktionskonstanten ist auch eine möglichst hohe Wiederfindungsrate der Hydrolyseprodukte. Es ist hierbei naheliegend, anstelle der – bei hohen Temperaturen möglichen-unmittelbaren Totalzersetzung der Lignocellulose in ein unüberschaubares Spektrum von C2-C5-Molekülen die Option der Modulierbarkeit der Heißwasserhydrolyse zu auszunutzen. Dies bedeutet, dass selektiv in hintereinandergeschalteten Schritten durch Variation von Druck, (ansteigender) Temperatur und Verweilzeit die Biomasse in definierte Produktgruppen aufgespaltet werden kann.

Schliesslich ist die thermische und ggf. mechanische Abtrennung der Hydrolyseprodukte von den Reaktionsbegleitstoffen zu optimieren. Hierbei bieten sich zum einen die klassischen Extraktions- und Destillationsmethoden, die Zentrifugierung und Filterung und gegebenenfalls die umweltfreundliche CO₂- und Heißwasser-Extraktion an. Ebenso wird die mizellare Extraktion zur Abtrennung von Produkten der Hydrolyse eingesetzt. Auch dafür werden Verteilungskoeffizienten berechnet und das passende Tensid ausgewählt. Hier ist keine Erweiterung der Modellierung notwendig, da nur niedermolekulare Produkte erwartet werden.

Die angestrebten Ergebnisse sind

- funktionierende Pilotanlagen nach Monat 3
- theoretische Beschreibungen der Heißwasserhydrolyse von Weizenstroh und Weizenkleie nach Monat 9 bzw. 15

Die Verfahren sollten nachfolgend für die Teilprodukte Hemicellulose- und Cellulose, Lignin optimiert werden (Monat 18, 24, 30)

Abschließend soll die Auswahl der mechanisch-thermischen Methoden optimiert werden, um die jeweiligen Reaktionsprodukte zu isolieren, im einzelnen

- Monat 9: Kenntnis zum Einsatzpunkt und Verfahren zur mechanischen Abtrennung
- Monat 9: Kenntnis zum Einsatzpunkt und Verfahren zur thermische Aufkonzentration
- Monat 15: Kenntnis zum Einsatzpunkt und Verfahren für eine umweltfreundliche Fettabsplaltung
- Monat 24: Kenntnis zum Einsatzpunkt und Verfahren für eine umweltfreundliche Proteinabscheidung

Hinsichtlich der Proteinabspaltung/Enzymabspaltung wird ein Screening verschiedener Tenside und Prozessbedingungen (Tensidkonzentration, Temperatur) durchgeführt. Anschließend sollen die Verteilungskoeffizienten mit Hilfe der Mizellen Chromatographie experimentell bestätigt werden.

1) Hydrolyse von Weizenstroh

Der Hydrolysegrad der Weizenstrohvorlage erhöht sich ab einem Temperaturbereich von 170–185°C sprunghaft. Bei einer festgelegten Verweilzeit wurde die Freisetzung von Xylose und Xylan bei Temperaturen über 180°C analytisch nachgewiesen. Von besonderem Interesse ist die Xylosefraktion als Zwischenprodukt für den Einsatz mit C5-spezifischen Hefen (AP II.3).

Abbildung II.1.1 fasst die Parametervariation hinsichtlich Xyloseausbeute und Partikelgrößen einfluss zusammen.

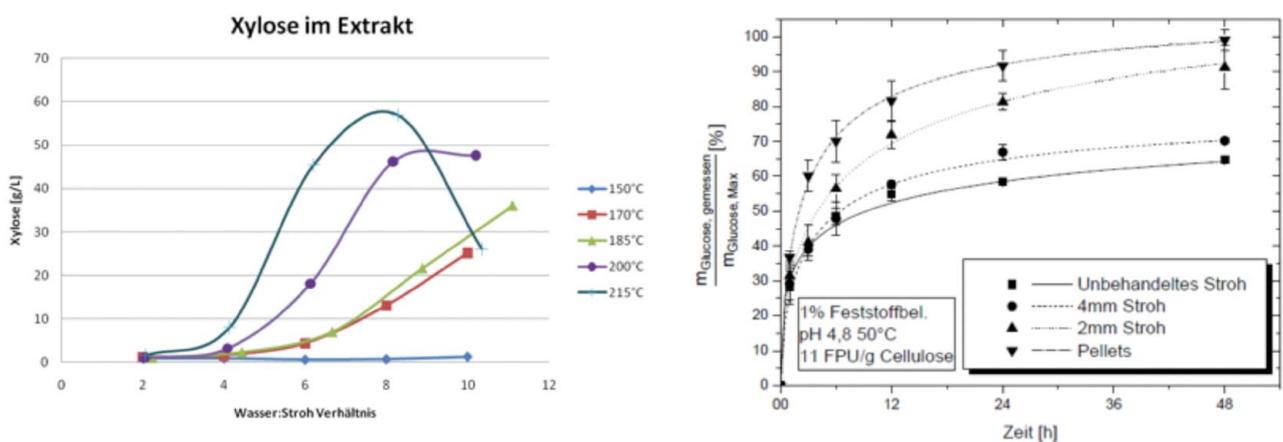


Abbildung II.1.1: Konzentration der Xylose im Extrakt, und Einfluss der Partikelgröße

Die mit Strohpellets vermessenen Daten zeigen einen deutlichen positiven Einfluss auf die Ausbeute der enzymatischen Hydrolyse. Erwartungsgemäß steigt die Ausbeute mit sinkender Korngröße, aufgrund der damit implizierten vergrößerten spezifischen Oberfläche.

Am Institut wurde schliesslich eine Kinetik erster Ordnung für die Beschreibung der Hydrolyse von Biomasse bestimmt (Abbildung II.1.2)

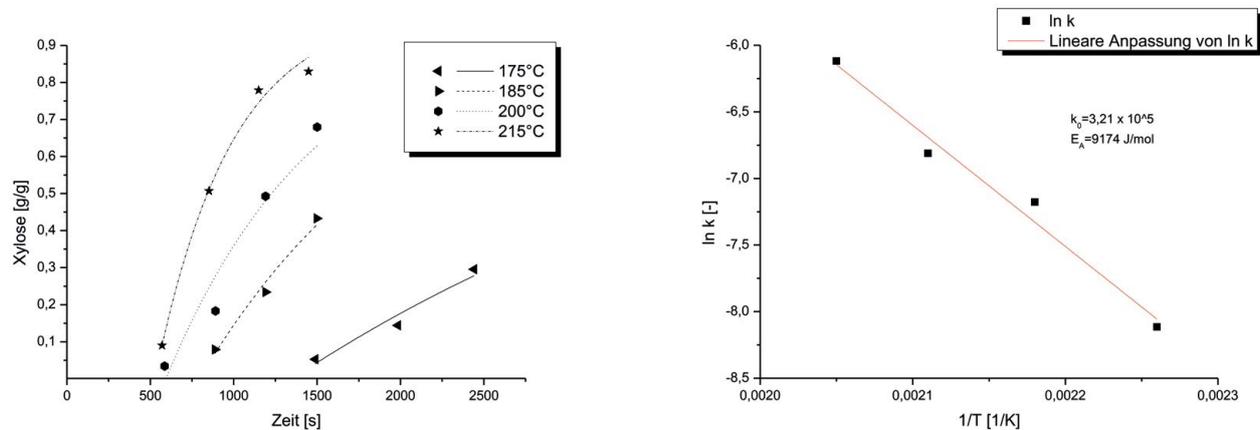


Abbildung II.1.2: Zeitlicher Verlauf der Glucosekonzentration bei verschiedenen Temperaturen, angepasst mit Reaktionskinetik erster Ordnung, und Arrhenius-Plot

Analog wurde eine Parametervariation der thermischen Hydrolyse von Weizenkleie bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt. Es zeigte sich, dass die Hydrolysereaktion ab einer Temperatur von ca. 160°C beginnt, jedoch mehrere Komponenten (Xylose, Glucose und Proteine) parallel extrahiert werden.

In der R&D-Abteilung der Südzucker erfolgten Analysen von Weizenkleie, welche der TU Hamburg Harburg, Institut für thermische Verfahrenstechnik in größeren Mengen für Aufschlussversuche zur Verfügung gestellt wurde. Die durchschnittliche Zusammensetzung lässt sich der Tabelle 1 entnehmen

Tabelle II.1.1 Zusammensetzung von lignocellulosehaltiger Weizenkleie

Parameter	Ergebnis
Trockensubstanzgehalt	87%
Protein	13,8g/100g
Stärke	20,0g/100g
Rohfaser	7,6g/100g
Asche	4,8g/100g
Natrium	< 2 mg/100g
Kalium	1450 mg/100g

Wie aus Tabelle 1 zu erkennen ist, waren in der Weizenkleie bezogen auf die Trockensubstanz mehr als 8% Faserbestandteile nachweisbar (Mix aus Hemicellulose und Cellulose), die nach deren Hydrolyse zu Ethanol weiterverarbeitet werden könnten. Zudem zeigt die Analyse, dass auch die Weizenkleie noch 20% Stärke enthält. Bei der Vorbehandlung der Weizenkleie wird Stärke ebenfalls aufgeschlossen. Bei der späteren Zusammenführung der Produktströme aus stärkehaltiger Biomasse (Bioethanolanlage der ersten Generation) und aufgeschlossener Lignocellulose kann die Stärke durch die in den herkömmlichen Anlagen verwendeten α -Amylase und Glucoamylase zu Glucose hydrolysiert werden. Die Glucose steht dann der Hefe für die Fermentation zu Ethanol zur Verfügung.

Die maximale Ausbeute dieser Stoffe wird bei festgelegter Verweilzeit des Reaktionsmediums Wasser bei ca. 170–180°C erreicht. Dabei ist es möglich, bis zu 80% der C6- und C5-Zucker und bis 50% der Proteine zu extrahieren (Abbildung II.1.3).

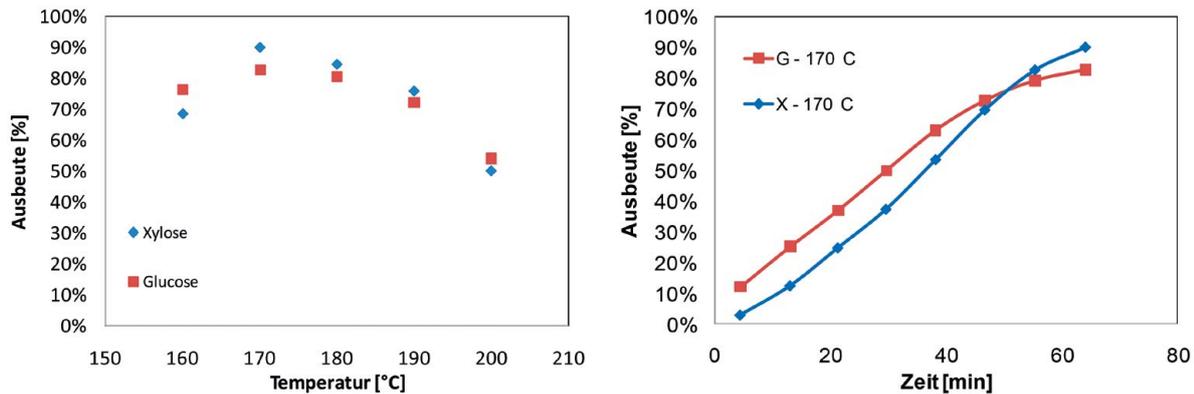


Abbildung II.1.3: Maximale Ausbeute bei der Heißwasserhydrolyse der Weizenkleie, und zeitlicher Verlauf der Ausbeute von Glukose und Xylose bei gegebener Temperatur

Es zeigte sich, dass bei der Weizenkleie ein großer Anteil der C6-Zucker als Stärke gebunden ist, der dabei verzeichnete spontane Aufschluss macht eine direkte selektive Gewinnung o.g. Fraktionen auf Heißwasserbasis unmöglich. Dieses Ziel kann nur durch eine enzymatische Vorbehandlung erreicht werden.

Das beobachtete Konzentrations-maximum der Wertstoffe deutet auf einen Abbau der Polysaccharide in der Lösung an, dies entspricht einer Folgereaktion.

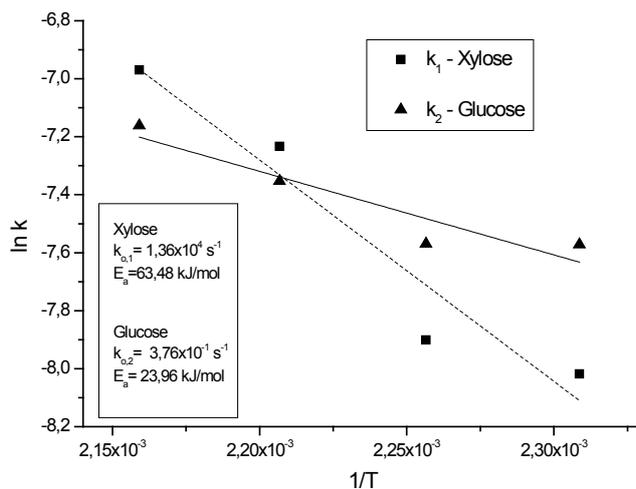


Abbildung II.1.4: Arrheniusplot der thermischen Hydrolyse der Weizenkleie

Durch eine Anpassung der Zeitverläufe mit einer Kinetik erster Ordnung konnten die kinetischen Parameter der thermischen Hydrolyse von Weizenkleie bestimmt werden. In Abbildung II.1.4 ist das entsprechende Arrhenius-Diagramm dargestellt. Dabei ist zu erkennen, dass bei niedrigen Temperaturen die Extraktion der Glucose schneller verläuft. Dies ist auf den hohen Stärkeanteil zurückzuführen.

2. Sequentielle Hydrolyse

Die einzelnen Teilschritte der Sequentielle Hydrolyse wurden vorab in einer Laboranlage (50 ml) optimiert und im folgenden zu einem Gesamtprozess vereint. Nach erfolgter Optimierung wurden die Schritte auf eine 2L-Anlage angewandt, um so die Skalierbarkeit zu testen und eine ausreichende Profuktionskapazität für die Projektpartner zu bieten.

Erster Schritt: Optimierung der Auftrennung der Lignocellulose

Zunächst wurde anhand der oben bereits vorgestellten Kinetik die Extraktion der Hemicellulose im Laborfestbettreaktor (50 ml) optimiert. Dabei wurde eine möglichst hohe Wiederfindung der Xyloseoligomere und eine möglichst geringe Produktion von Abbauprodukten angestrebt. Hierfür ergab sich ein Temperaturbereich von 190–210°C bei einem Druck von 30 bar und einer durchschnittlichen Querschnittströmungsgeschwindigkeit von 0,43 mm/s.

Durch die bisherige Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Auftrennung von Cellulose mittels Heißwasserhydrolyse nicht vorteilhaft ist, da unter diesen Bedingungen ($T > 230^\circ\text{C}$) der thermische Abbau zu HMF verstärkt abläuft. Aus diesem Grund wurde thermische Hydrolyse allein zum Abbau der Hemicellulose verwendet. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die thermische Hydrolyse bei ca 200°C und 30 bar eine gute Vorbehandlung für einen späteren enzymatischen Schritt darstellt und dabei wenig bis nicht nachweisbare Mengen an Zucker-Abbauprodukten erzeugt.

Zweiter Schritt: Konversion von Cellulose und Hemicellulose zu Oligo- und Monomeren

Zur Gewinnung von niedermolekularen Produkten aus dem Hydrolysatstrom wurde der Einsatz einer keramischen Membran untersucht. Es zeigte sich eine gute Rückhaltung der Oligomere bei guter Permeabilität der Monomere (Trennfaktor 26). Ein Einbau der Membran in die Technikumsanlage steht bevor. Damit soll eine gezielte Auftrennung der Hydrolysate nach dem thermischen Aufschluss der Lignocellulose ermöglicht werden.

Desweiteren wurde die *In situ*-Abtrennung von Furfural durch überkritisches CO_2 während der thermischen Zersetzung von gelösten Pentosen untersucht. Es konnte eine Ausbeute von 55 mol% verglichen mit 45 mol% bei einer Reaktion ohne CO_2 -Abtrennung gezeigt werden. Dabei wurde das entstandene Furfural zu 98% aus der Lösung entfernt, wodurch eine mögliche Inhibierung durch Furfural in nachfolgenden biologischen Prozessen reduziert werden kann.

Dritter Schritt: Produktion von Lignin

Im Rahmen der sequentiellen Hydrolyse wurde der Nebenproduktstrom des Lignins eingehender untersucht. 20% des vorhandenen Lignins wird während der Heißwasserhydrolyse ausgezogen (lösliches Lignin AL-Lignin).

Es zeichnete sich eine beschleunigte Auslösung dieses Lignins bei höheren Aufschlussstemperaturen ab. Das AL-Lignin fällt bei niedrigeren Temperaturen im Downstream-Bereich wieder aus.

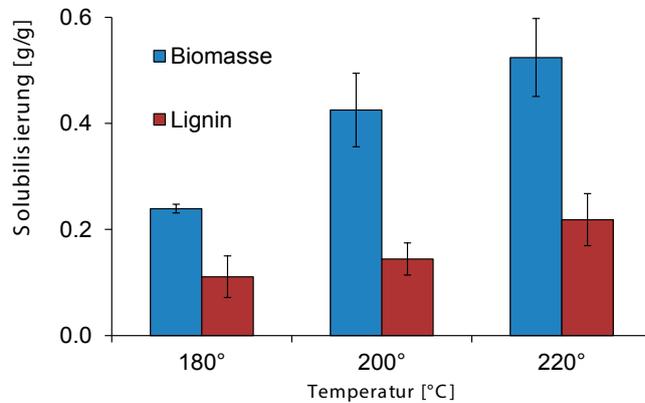


Abbildung II.1.5: Extraktion der Biomasse und Lignin

Die Eliminierung bzw. Entfernung des löslichen Lignins aus der Biomasse hat einen positiven Einfluss auf die nachfolgende enzymatische Hydrolyse des verbliebenen Cellulosehaltigen Rückstands, in die gleiche Optimierungsrichtung weist die Qualität (Reinheit) des verbliebenen (AS-)Lignins nach der enzymatischen Behandlung.

Die lösliche Fraktion wurde von Tesa hinsichtlich der Klebe- und Kneteigenschaften mit einem Standard verglichen und zeigen ähnliche Eigenschaften. Somit wäre ein Potential zu einem Komponentenaustausch vorhanden.

Vierter Schritt: Protein- und Enzymrückgewinnung

Vorversuche zur Charakterisierung und Abtrennung der Proteine sind am Institut bereits erfolgt. So konnten Proteine aus Hydrolysaten ähnlicher Biomassen durch Säure-, Ethanol- oder Acetonzusatz gefällt und abgetrennt werden. Desweiteren wurde eine Abtrennung der Proteinfraction mit Ultrafiltrationsmembranen untersucht. Die gewonnen Erkenntnisse wurden auf ihre Anwendbarkeit auf die Proteine in Weizenkleie untersucht.

Die Proteine liessen sich nicht selektiv durch eine Heißwasser-Behandlung extrahieren. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass eine Extraktion der Proteine mit Natronlauge bei niedrigeren Temperaturen und hohem pH-Wert möglich ist. Durch ein Neutralisieren des Extraktes können die Proteine ausgefällt und abgetrennt werden

3. Option Mizellare Extraktion

Erste Vorversuche mit dem Protein Bovine Serum Albumin (BSA), das eine ähnliche Größe wie die Proteine in der Enzymmischung Celluclast 1.5L und auch einen ähnlichen isoelektrischen Punkt aufweist, wurden zu Beginn des Projektes erfolgreich durchgeführt. Dabei konnte bestätigt werden, dass pH-Werte nahe bzw. unterhalb des isoelektrischen Punktes des Proteins zu einer verbesserten Extraktion durch die reversen Mizellen führt. Ebenso wurde beobachtet, dass NaCl in moderaten Konzentrationen, die Extraktion begünstigt.

Die positiven Ergebnisse bei der mizellaren Extraktion von BSA wurden dann dazu herangezogen, um das System auf die Extraktion der Enzymmischung Celluclast 1.5L und Novozyme 188 zu übertragen. Diese Enzymmischungen werden meistens bei der enzymatischen Hydrolyse verwendet und sind daher von großer Bedeutung. Dabei bildet Celluclast 1.5L den Hauptanteil.

Zur genaueren Charakterisierung wurde zunächst eine Größenbestimmung der Enzyme von Celluclast 1.5L mittels SDS-Page am Institut von Prof. Antranikian durchgeführt. Anhand der Ergebnisse kann darauf geschlossen werden, dass die Enzyme eine Masse im Bereich zwischen 50 und 85 kDa aufweisen und die meisten bei 70 bis 85 kDa vorliegen. Daher ist eine ausreichende Größe der Mizellen während der Extraktion zu gewährleisten.

Die Ergebnisse der Extraktion (siehe Abbildung II.1.6) deuten darauf hin, dass das System AOT/Isooctane/Wasser prinzipiell sehr gut auch auf die Enzymmischungen Celluclast 1.5L und Novozyme 188 anwendbar ist. In der Abbildung ist dargestellt wie bei kleineren pH-Werten als der isoelektrische Punkt der Enzyme ca. 50 wt% der Enzyme extrahiert werden kann. Ebenfalls wurden die Aktivitäten der Enzyme vor und nach der Extraktion untersucht, wobei allgemein festgestellt werden konnte, dass die Aktivität mit sinkendem pH-Wert abnimmt. Jedoch ist eine fast 100% ige Reaktivierung der Enzyme bei erneuter Einstellung des optimalen pH-Bereichs zu beobachten. Dies weist auf ein hohes Potential der mizellaren Extraktion zur Rezyklierung der Enzyme hin.

Die Ergebnisse wurden bereits auf Fachtagungen präsentiert und eine Veröffentlichung ist entsprechend in Vorbereitung (siehe II.1.6).

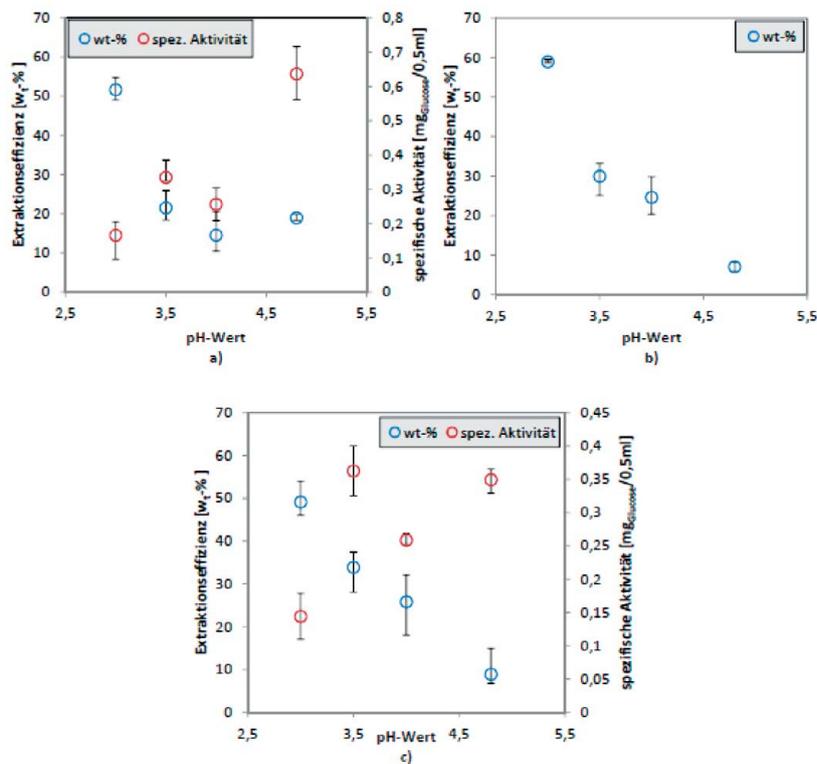


Abbildung II.1.6: Extrahierte Enzymmenge in Abhängigkeit des pH-Wertes: a) Celluclast 1.5L b) Novozyme 188 c) Mischung aus Celluclast 1.5L und Novozyme 188

4. Pre-Treatment und Aufreinigung

Eine überkritische Fluidextraktion der Lipidfraktion VOR Durchführung der Hydrolyse lässt erwarten, dass unerwünschte Nebenreaktionen zwischen Fetten, Proteinen und Lignocellulosebestandteilen vermieden werden.

Die Entfernung der Ölfraction bietet sich beim Substrat Weizenkleie an, der ursprüngliche Fettgehalt liegt bei 4–5%. Bei Anwendung etablierter Batch-Hochdruck-Extraktionsverfahren (Lösemittel CO₂, Verdichtung auf 450 bar, Temperatur 45°C, 80-facher Lösemitteldurchsatz im Verhältnis zur eingesetzten Batchmasse) konnte die Ölfraction nahezu vollständig abgeschieden werden. Das extrahierte Öl ist analog zum Weizenkeimöl reich an Vitamin E sowie dem Fettsäurebaustein Linolsäure.

II.1.3 Gegenüberstellung Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Das AP II.1 ist der Ausgangspunkt für weiterzuverarbeitende Zwischenprodukte (Hydrolyisate, Proteine, Lipide, Lignin), und durchläuft somit noch mehrere Schnittstellen/Kontrollinstanzen zu den nachfolgenden Projektpartnern. In einer redundanten Kette wurde zwischen dem „Erstversorger“ (AP II.1) und den APs II.2, II.3 die jeweils optimale Eingangsqualität angestrebt. Dies erfolgte häufig eine mehrmalige Wiederholung von Extraktionsversuchen, sowie die Anpassung (z. B. Erhöhung/Erniedrigung) von Prozessparametern wie Druck, Temperatur und Verweilzeiten.

Die Analytik von Lignocellulose-Hydrolysaten biologischen Ursprungs ist naturgemäß sehr aufwändig, diverse in der Biomasse auftretende Moleküle zeigen ein nahezu identisches Detektionsverhalten.

II.1.4 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die Projektpartner haben bisher – im Labormaßstab – die Prozesslinie zur Optimierung der Bioethanolherstellung auf Basis von Weizenstroh und Weizenkleie durchgeführt. Die Produktion des Bioethanols aus Lignocellulose ist im europäischen Raum ein kostenintensives Vorhaben. Stroh besteht in der Regel zu 65% aus Cellulose und Hemicellulose, diese Molekülnetzwerke sind aus Glucose und Xylose aufgebaut und somit alternative Vorläuferprodukte für die Ethanolherstellung, in Konkurrenz zur etablierten Verwertung von Stärkepflanzen (Bioraffinerie 1. Generation). Laut Empfehlung der Nationalen Akademie Leopoldina (2012) ist allerdings „eine Produktion von Bioethanol aus Lignocellulose ... nur dann zu empfehlen, wenn im Gesamtprozess ... netto deutlich weniger Treibhausgase emittiert werden, als dies bei der Verbrennung einer Energie-äquivalenten Menge fossiler Brennstoffe der Fall ist“. Dieser Nachweis kann bisher nicht erbracht werden, und ist insbesondere aufgrund der niedrigen Energiedichte des Strohs und potentiell ungünstiger Logistikklage in Mitteleuropa fraglich

Eine Patentrecherche machte demzufolge auch deutlich, dass nahezu sämtliche Hochdruckanwendungen an sich und auch deren Kombinationen als bekannt vorausgesetzt werden. Daher werden keine weiteren Bemühungen unternommen, um die Verfahrenssequenz patentrechtlich zu schützen.

Von großem Interesse ist jedoch die Möglichkeit, durch dieses Verfahren im Prinzip lösemittelfrei neue und innovative Produkte herzustellen, dies betrifft speziell die Endprodukte der Kaskade wie Feinchemikalien, Naturstoffextrakte, komplexe Moleküle wie Lignin oder Biokohle. Deren artefaktfreie Gewinnung hat in manchen Fällen direkten messbaren materiellen Mehrwert zur Folge, z. B. die Reproduzierbarkeit für Biokohle oder die Vernetzungseigenschaften im Lignin. Es besteht somit die Motivation, weitere mit diesem Verfahren hergestellte Substanzen als Produktpatent zu schützen.

Ein besonderes Augenmerk gilt in dieser Konsequenz der Ligninfraktion, welche durch die bereits vorgestellte Heißwasserhydrolyse und den enzymatischen Aufschluss nicht oder nur geringfügig strukturell beansprucht wird. Die beiden gewonnenen Ligninfraktionen (ein wasserlöslicher Teil und ein fester Rückstand) haben vielversprechende Eigenschaften und Spezifikationen beim Einsatz als Füllstoff in der Klebmassenproduktion aufgezeigt, und können dort wertschöpfend eingesetzt werden.

Zu dem Kontext der Ligninherstellung konnte in einem Nachfolgeprojekt eine Kooperation mit einem Klebmittelhersteller gestartet werden. Die ersten ermutigenden Screening-Ergebnisse damit verbundenen neuartigen Eigenschaften des Produkts sollen deswegen in diesem Projekt zur Anwendungsreife entwickelt und gegebenenfalls geschützt werden. Die erwarteten Ergebnisse dieses Projektes sind (1) eine nachhaltige Technologie zur Verwendung des Lignins und/oder seine Pyrolyseprodukte für die Klebmassebasisprodukte, und (2) eine integrierte Anlage, in der verschiedene Varianten eines Bioraffinerieprozesses in einem Technikum-Maßstab durchgeführt werden können.

II.1.5 Bekannt gewordener Fortschritt bei anderen Stellen

Die Hydrolyse von Biomasse ist ein aktuell intensiv verfolgtes Forschungsgebiet in der Bioraffinerie 2. Generation, wichtige Großprojekte wurden bereits in Kap. 1.4 vorgestellt. Erwähnenswert sind die Fortschritte insbesondere im Up-scaling (Eröffnung der Fraunhofer-Lignocellulose-Forschungsanlage in Leuna 2012). In der Regel erfolgt aber die Hydrolyse mit organischen und organisch/wässrigen Lösemitteln, desweiteren wird das Verfahren batchweise durchgeführt.

Zum Thema der hier konzentriert behandelten Festbett-Heißwasserhydrolyse wurde an anderen Stellen kein Fortschritt beobachtet. Das Alleinstellungsmerkmal bleibt somit erhalten.

II.1.6 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

- Storm S., Smirnova I. Reverse Mizellare Extraktion von biologischen Molekülen: Optimierung des pH-Wertes und der Ionenstärke Jahrestreffen der Fachgruppe „Extraktion“ – ProcessNet Annual Meeting, Clausthal-Zellerfeld (2012)
- Kirsch C., Wörmeyer K., Zetzl C., Smirnova I. Enzymatic hydrolysis of lignocellulose in a fixed bed reactor. *Chemie-Ingenieur-Technik*. 2011; 83(6): 867-73.
- Zetzl C., Gairola K., Kirsch C., Perez-Cantu L., Smirnova I. High Pressure Processes in Biorefineries *Chemie Ingenieur Technik*. 2011, 83(7): 1016–1025.
- Kirsch C., Zetzl C., Smirnova I. Development of an integrated thermal and enzymatic hydrolysis for lignocellulosic biomass in fixed-bed reactors. *Holzforschung*. 2011; 65(4):483-9.
- Zetzl C., Gairola K., Kirsch C., Perez-Cantu L., Smirnova I. Ein-Reaktor-Konzept zur Hochdruckfraktionierung lignocellulosehaltiger Biomasse. *Chemie Ingenieur Technik* 2012; 84(1-2):1-10.

- Kirsch C., Dahms J., Kostko A., McHugh M., Smirnova I. Pressure assisted stabilization of biocatalysts at elevated temperatures: characterization by dynamic light scattering. Biotechnology and Bioengineering accepted
- Storm S., Ingram T., Mehling T., Smirnova I. Reverse micellar extraction of amino acids: prediction of partition coefficients 8th European Congress of Chemical Engineering/ ProcessNet-Annual Meeting, Berlin (2011)
- Gairola K., Perez-Cantu L., Kirsch C., Zetzl C., Smirnova I. Fractionation Strategies for Protein and Carbohydrate containing biomass hydrolysates (Presentation) 19th European Biomass Conference and Exhibition, Berlin, Germany (2011)
- Gairola K., Perez-Cantu L., Kirsch C., Zetzl C., Smirnova I. Fractionation strategies for protein and carbohydrate containing biomass hydrolysates (Poster) 7th International Conference on Renewable Resources and Biorefineries (RRB7), Brugge, Belgium (2011)
- Gairola K., Spremberg G., Smirnova I. Reaktivextraktion von Furfural mit CO₂ während des hydrothermalen Pentose-Abbaus (Poster) Fachausschusses Hochdruckverfahrenstechnik, Maribor, Slowenia (2011)

AP II.2 Enzymatische Hydrolyse

Partner

TUHH–Institut für Technische Mikrobiologie
Clariant Produkte (Deutschland) GmbH

Ziel des Arbeitspaketes II.2 „Enzymatische Hydrolyse“ ist die Verbesserung der Effizienz des enzymatischen Abbaus vorbehandelter Lignocellulose.

II.2.1 Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

Das Arbeitspaket II.2 befasst sich mit der Suche nach thermostabilen Proteinen, die als robuste Biokatalysatoren in großtechnischem Maßstab eingesetzt werden können. Für das Screening Cellulase- und Xylanase-produzierender Bakterien sollen aus Umweltproben Kulturen mit vorbehandeltem Weizenstroh als einziger C-Quelle gewonnen werden. Ziel ist es, Anreicherungskulturen zu gewinnen, die das Substrat effizient umsetzen. Weiterhin sollen aus der TMB institutsinternen Stammsammlung weitere Organismen identifiziert und deren Enzyme charakterisiert werden. Begleitend sollen Genbanken aus den neu isolierten Reinenzymen hergestellt werden.

Um neue, geeignete Glykosidhydrolasen zum Abbau von Lignocellulose zu identifizieren, wurden verschiedene Ansätze verfolgt:

Screening-Ansatz 1: Umweltproben als Quelle neuartiger Cellulasen und Xylanasen

Die Herstellung von mikrobiellen thermophilen Anreicherungskulturen zur Isolierung lignocelluloseabbauender Mikroorganismen wurde als vielversprechender Ansatz definiert und sollte laut Projektantrag die ersten 18 Monate umfassen.

Dafür wurden die feste Cellulosefraktion und die flüssige Hemicellulosefraktion nach dem hydrothermischen Aufschluss des Weizenstrohs als Substrat (einzige Kohlenstoff-Quelle) verwendet. Als Inokulum dienten dabei Umweltproben von dauerhaft heißen Standorten wie Kompost, Pferdedung und Wasser bzw. Sediment aus heißen Quellen von den Azoren, die ein natürliches

Konsortium von thermophilen Mikroorganismen enthielten. Nach mehrwöchiger Kultivierung bei 70°C und einem pH-Wert von 6 konnten drei stabile Anreicherungskulturen (Inokulum: Kompost) hergestellt werden, die die feste Cellulosefraktion effektiv abbauten und als Kohlenstoffquelle nutzten. Die Kulturen wiesen gegenüber AZCL-Cellulose Cellulase-aktivität auf.

Screening-Ansatz 2: *Thermus* sp. als Quelle neuartiger Cellulasen und Xylanasen
Wachstumsversuche mit der flüssigen xylanhaltigen Fraktion des hydrothermisch aufgeschlossenen Weizenstrohs als einzige Kohlenstoffquelle bei 70°C zeigten, dass vier Stämme der thermophilen Gattung *Thermus* der institutsinterne Stammsammlung des Instituts für Technische Mikrobiologie in der Lage waren, dieses Substrat zu verwerten. Die Stämme zeigten Aktivität gegenüber AZCL-Xylan, nachdem sie auf dem Weizenstrohydrolysat kultiviert wurden. Sie sind somit in der Lage, thermostabile Enzyme zu produzieren, die diese Biomasse effizient abbauen.

Herstellung von Genbanken als Quelle neuer Lignocellulasen:

Aus der isolierten DNA der Mikroorganismen aus jeder der drei erfolgreich hergestellten Anreicherungskulturen von Screening-Ansatz 1 wurden drei *E. coli*-Metagenombanken konstruiert. Des Weiteren wurden *E. coli*-Metagenombanken aus direkt isolierter DNA der Umweltproben hergestellt. Dies erfolgte mit drei Proben, die aus heißen Quellen von den Azoren stammten, und mit einer Probe aus einem Heißkomposter. Die isolierte DNA der Xylanase-positiven *Thermus*-Stämme diente ebenfalls zur Konstruktion von 4 Genbanken.

Alle Gen- und Metagenombanken wurden auf das Vorhandensein von Cellulase- und Xylanase-kodierenden Genen gescreent. Hierfür wurden verschiedene AZCL-Substrate (für Xylanasen und Cellulasen), sowie Esculin (für β -Glykosidasen) verwendet. Durch das umfassende Screening konnten mehrerer Cellulase- und Xylanase-produzierende *E. coli*-Genbankklone isoliert werden (s. Abbildung II.2.1).

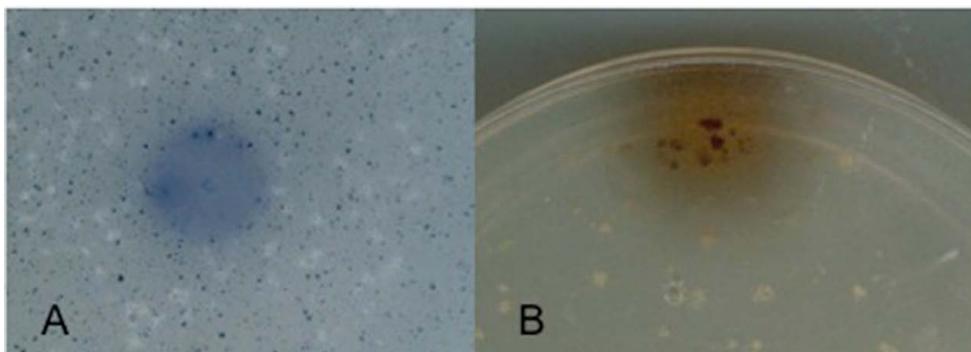


Abbildung II.2.1: Kolorimetrischer Aktivitätsnachweis auf Agarplatten Detektion von positiven *E. coli*-Genbankklonen beim kolorimetrischen Screening von Gen- und Metagenombanken mit AZCL-Xylan für den Nachweis von Xylanasen (A) und Esculin für den Nachweis von β -Glykosidasen (B).

Aus den aus Umweltproben konstruierten Genbanken ließen sich zwei putative β -Glukosidase-kodierende Gene (*bga1*, *bga2*) identifiziert werden, deren abgeleitete Aminosäuresequenzen Identität unter 85% zu nicht charakterisierten β -Galaktosidasen aufwiesen.

Im Screening der *Thermus*-Genbanken konnten zwei putative β -Glukosidase-kodierende Gene (*bgIT16*, *bgIT22*) identifiziert werden, die auf Aminosäure-Ebene Identitäten von 82% und 98% zu uncharakterisierten Enzymen aus *Thermus* sp. aufwiesen.

Ein Xylanase-kodierendes Gen (*xynT17*) wurde ebenfalls aus einer *Thermus*-Genbank identifiziert. Des Weiteren wurden insgesamt 5 Gene detektiert, welche für bereits charakterisierte Cellulasen und Xylanasen kodierten und im Rahmen des Projektes nicht weiter bearbeitet wurden.

Screening-Ansatz 3: PCR-Techniken zur Identifizierung neuer Glykosidhydrolasen

Um Glykosidhydrolyse-kodierende Gene zu identifizieren, welche in den vorhandenen Screening-wirten nicht funktionell übersetzt werden können, wurde ein PCR-basierter Ansatz verfolgt.

Anhand von konservierten Bereichen in Enzym-kodierenden Genen konnten degenerierte Primer für Endoxylanase-, Endoglukanase- und Cellobiohydrolase-kodierende Gene abgeleitet werden. Diese Primer wurden in verschiedenen PCR-Ansätzen eingesetzt, um Teilstücke der entsprechenden Enzym-kodierenden Gene zu amplifizieren. Als Templates wurde isolierte DNA von *Thermus*-Stämmen aus der Stammsammlung des Instituts für Technische Mikrobiologie, DNA aus Kompost und aus heißen Quellen von den Azoren verwendet. Ausgehend von diesen Teilstücken kann mit Hilfe von PCR-Techniken der komplette Open-Reading-Frame (ORF) detektiert werden.

Mit Hilfe dieses Ansatzes konnten leider keine kompletten ORFs identifiziert werden.

Screening-Ansatz 4: Metagenomdatenbank als Quelle neuartiger Glykosidhydrolasen

Die DNA einer Probe aus einer heißen Quelle auf den Azoren (Wasser und Sediment) wurde sequenziert und es wurde eine Metagenomdatenbank angelegt.

Cellulase- und Xylanase-kodierende Sequenzen können in dieser Datenbank anhand von konservierten Bereichen identifiziert werden. Es konnte jeweils ein putatives Endoxylanase- (*xyn10*), Endoglukanase- (*cel5*) und β -Xylosidase (*xy143*)-kodierendes Gen identifiziert werden. Das resultierende Protein Xyn10 weist eine Identität von 76% zu einer Xylanase aus *Thermotoga* sp. auf, Cel5 und Xyl43 88% bzw. 93% zu einer Cellulase bzw. einer putativen Xylanase aus *Fervidobacterium* sp..

Herstellung rekombinanter Glykosidhydrolasen:

Während des aktivitätsbasierten Screenings von erstellten Genbanken aus Umweltproben und Reinkulturen der institutsinternen Stammsammlung konnten insgesamt 5 neue Glykosidhydrolyse-kodierende Gene (*bga1*, *bga2*, *bglT16*, *bglT22*, *xynT17*) identifiziert werden. Bei der Auswertung der Metagenomsequenzierung ließen sich 3 Gensequenzen putativer Glykosidhydrolasen (*xyn10*, *cel5*, *xy143*) identifizieren. Alle Gene sollten in einem geeigneten Wirt überexprimiert werden, um die Proteine für eine anschließende Reinigung und Charakterisierung hinsichtlich ihrer Eignung für den Einsatz in der Bioraffinerie zu produzieren. Dafür wurde ein *E. coli*-Expressionssystem mit dem IPTG-induzierbaren Vektor pQE-80L gewählt. Durch eine im Vektor kodierende Sequenz wird dem Protein ein N-terminaler Hexahistidinrest angefügt, wodurch eine Reinigung des Proteins mittels Nickel-Trinitriooessigsäure (Ni-NTA)-Affinitätschromatographie ermöglicht wird. Alle Glykosidhydrolyse-kodierenden Gene konnten erfolgreich in *E. coli* exprimiert und mit Hilfe der Ni-NTA-Affinitätschromatographie gereinigt werden. Die Proteine Bga1, Bga2, BglT16, BglT22, und XynT17 zeigten hohe β -Glukosidase-, bzw. Endoxylanase-Aktivitäten, was entsprechend der Vorhersage durch Sequenzvergleiche den Erwartungen entsprach. Das Protein Cel5 konnte nicht in aktiver Form produziert werden, während die Proteine Xyn10 und Xyl43 schwache β -Glukosidase-Aktivitäten, aber entgegengesetzt ihrer Vorhersagen als Xylanasen keine Xylanase-Aktivitäten aufwiesen, weshalb sie innerhalb des Projektes nicht weiter bearbeitet wurden.

Die Genexpression und Proteinreinigung, sowie der Aktivitätsnachweis im SDS-Gel (Zymogramm) sind in Abbildung II.2.2 exemplarisch für die Proteine Bga2 und XynT17 dargestellt. Bga2 zeigt die errechnete Größe von 57,2 kDa, tritt aber in nativer Form als Tetramer (ca. 230 kDa) auf und zeigt nur in dieser Form Aktivität gegenüber X-Gal und Esculin (Abb II.2.2B).

Die Größe von XynT17 beträgt 38 kDa, auf dieser Höhe ist auch die Aktivitätsbande im Zymogramm zu erkennen (Abb II.2.2C).

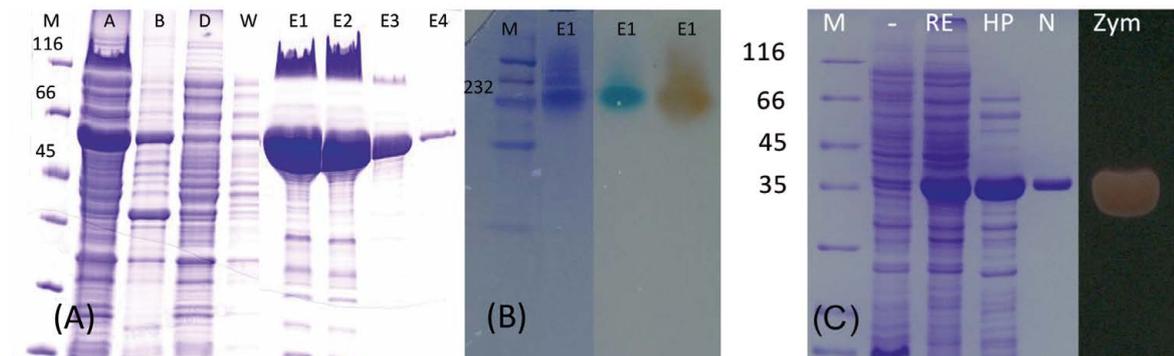


Abbildung II.2.2: Nachweis von Bga2 und XynT17 mittels Polyacrylamidgelelektrophorese (PAGE)
 (A) SDS-PAGE des flüssigen Rohextrakts [A] und des Pellets [B] der Kultur C43:pQE80L:bga2, sowie der Fraktionen nach einer Ni-NTA Reinigung mit Durchfluss [D], Waschschrift [W], und vier Elutionsschritten [E1-4]. (B) Native PAGE der ersten Elutionsfraktion [E1] und Zymogramm mit X-Gal und Esculin; [M] Größenstandard (Marker), (C) SDS-PAGE des Reinigungsverlaufes von XynT17, -: Negativkontrolle (Rohextrakt der Kultur BL21:pQE80L), RE: Rohextrakt der Kultur BL21:pQE80L:xynT17, HP: Hitzefällung, N: Ni-NTA-Affinitätschromatographie, Zym: Zymogramm

Biochemische Charakterisierung rekombinanter Glykosidhydrolasen:

Die Proteine Bga1, Bga2, BglT16, BglT22, und XynT17 ließen sich erfolgreich produzieren und zeigten nach der Reinigung β -Glukosidase-, bzw. Endoxylanase-Aktivitäten. Zur Identifizierung der optimalen Reaktionsparameter, sowie möglicher Aktivatoren, bzw. Inhibitoren wurde eine umfassende Charakterisierung der Proteine Bga1, Bga2, BglT22 und XynT17 durchgeführt. Das Enzym BglT16 wurde vorcharakterisiert und zeigte folgende Eigenschaften: Temperaturoptimum 90°C, pH-Optimum 6,5, optimales Substrat: pNP- β -D-Galaktopyranosid.

Die Ergebnisse der Charakterisierung sind in Tabelle II.2.1 zusammengefasst. Alle detektierten Enzyme zeigten maximale Aktivitäten bei 90–95°C im leicht sauren Bereich (pH 6,5), womit das Ziel, thermoaktive Glykosidhydrolasen zu identifizieren, erfüllt werden konnte. Aktivitätssteigerungen ließen sich für Bga1 durch Aluminium, Chrom, Kalium, Magnesium, Natrium, Rubidium und Strontium, für Bga2 durch Aluminium und für BglT22 durch BSA verzeichnen. Die Proteine zeigten Produkthemmnungen ab Produktkonzentrationen von 0,075 M (BglT22) bis 0,5 M (Bga2).

Tabelle II.2.1: Zusammenfassung der Eigenschaften der Glykosidhydrolasen

	Temp-Optimum	pH-Optimum	Optimaler Puffer	Optimales Substrat	Einfluss von Metallionen	Einfluss von Lösungsmitteln	Einfluss von Agenzien	Produktthemmung – 50% Restaktivität
Bga1	90°C	6,5	Maleat-Puffer	pNP-β-D-Glukopyranosid	Inhibierung durch AgNO ₃ , CuCl ₂ und ZnCl ₂ Aktivierung durch AlCl ₃ , CrCl ₃ , KCl, MgCl ₂ , NaCl, RbCl und SrCl ₂	Inhibierung durch alle getesteten LM, mit Restaktivität von ca. 70% in Anwesenheit von Ethanol, Methanol und Aceton (10%)	Inhibierung durch SDS, CTAB und Pefabloc Aktivierung durch DTT	β-Glukosidase-Aktivität: 0,1 M Glukose β-Galaktosidase-Aktivität: 0,3 M Galaktose
Bga2	90°C	6,5	Maleat-Puffer	pNP-β-D-Fucopyranosid	Inhibierung durch AgNO ₃ , CuCl ₂ und ZnCl ₂ Aktivierung durch AlCl ₃ und CrCl ₃	Inhibierung durch alle getesteten LM	Inhibierung durch SDS und CTAB Aktivierung durch β-Mercaptoethanol und Iodacetat	β-Glukosidase-Aktivität: 0,5 M Glukose β-Galaktosidase-Aktivität: 0,5 M Galaktose
BglT22	95°C	6,5	Citrat-Puffer	pNP-β-D-Glukopyranosid	Inhibierung durch AgNO ₃	Inhibierung durch alle getesteten LM	Inhibierung durch SDS, CTAB und Pefabloc	β-Glukosidase-Aktivität: 0,075 M Glukose
XynT17	95°C	6	Maleat-Puffer	Haferspelzen-xylan	Inhibierung durch AgNO ₃ , CuCl ₂ und ZnCl ₂	Inhibierung durch alle getesteten LM	Inhibierung durch SDS und CTAB	β-Xylosidase-Aktivität: 0,4 M Xylose

Eine essentielle Eigenschaft für die Eignung der Proteine hinsichtlich der Anwendung in der Bio Raffinerie ist die Temperaturstabilität. Diese wurde in Anwesenheit von 5 mg/ml BSA für einen Temperaturbereich von 50–90°C und einen Zeitraum von bis zu 24 h ermittelt. In Abbildung II.2.3 und II.2.4 sieht man, dass Bga2, BglT22 und XynT17 nach einer Vorinkubation bei 60°C für 24 h 100% der Aktivität bewahren, Bga1 weist hier sogar eine Restaktivität von ca. 200% auf. Für BglT22 konnte nach einer Inkubation bei 90°C für 3 h 100% Aktivität gemessen werden.

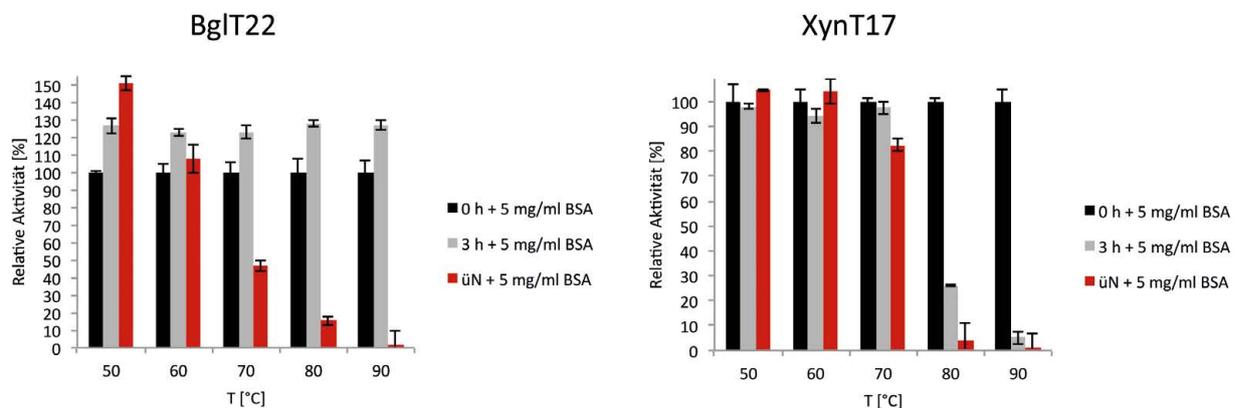


Abbildung II.2.3: Messung der Temperaturstabilität von BglT22 und XynT17

Nach der Vorinkubation für 3 bzw. 24 h der Enzyme bei den jeweiligen Temperaturen wurden die Restaktivitäten bestimmt. Die Aktivitätsbestimmung von BglT22 erfolgte mit dem Substrat 4-Nitrophenyl-β-D-Glukopyranosid in 20 mM Citratpuffer (pH 6,5) für 10 Minuten bei 95°C. Die Xylanaseaktivität wurde gegenüber dem Substrat Haferspelzenxylan mit Hilfe des DNS-Tests ermittelt.

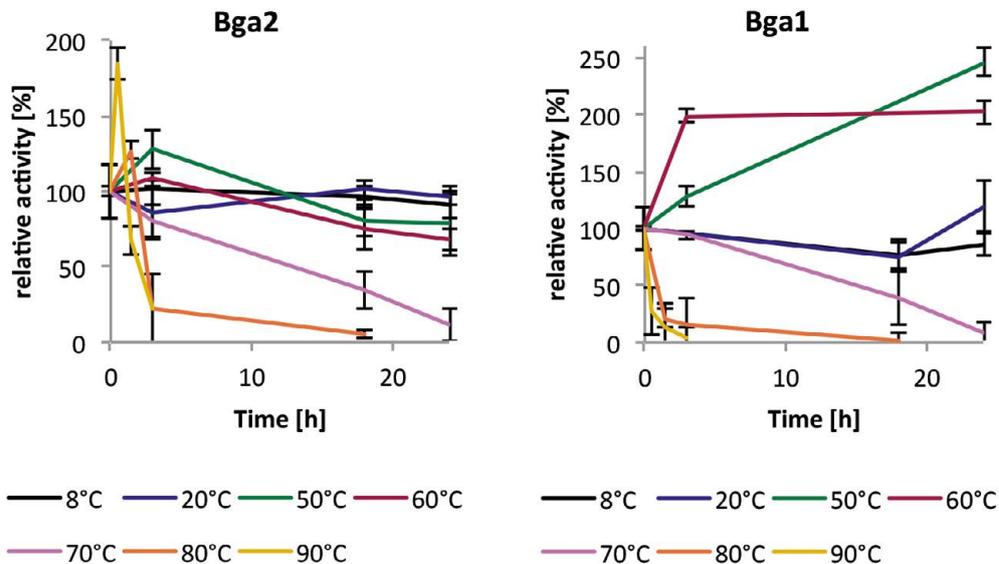


Abbildung II.2.4: Messung der Temperaturstabilität von Bga1 und Bga2

Nach der Vorinkubation für 0,5 bis 24 h der Enzyme bei den jeweiligen Temperaturen wurden die Restaktivitäten bestimmt. Die Aktivitätsbestimmung erfolgte mit dem Substrat 4-Nitrophenyl- β -D-Glukopyranosid in 20 mM Maleatpuffer (pH 6,5) für 10 Minuten bei 90°C.

Um den Abbau von realen Substraten zu testen, wurden HPLC-Analysen durchgeführt. Die β -Glukosidasen Bga2 und BglT22 zeigten Aktivität gegenüber dem Disaccharid Cellobiose (s. Abbildung II.2.5) und zusätzlich auch gegenüber dem Trisaccharid Cellotriose. Die Xylanase XynT17 hydrolysierte neben löslichen (Birken- und Buchenholz) und unlöslichen (Haferspelzen) Xylanen auch das Xylan im Weizenstrohydrolysat (s. Abbildung II.2.6). Die Analyse der β -Galaktosidase BglT16 zeigte β -Glukosidase-Nebenaktivität auf Cellobiose und darüber hinaus konnte für dieses Enzym während der HPLC-Analyse keine Endprodukthemmung anhand des Chromatogramms verzeichnet werden, d.h. die Cellobiose wurde in diesem Versuch komplett zu Glukose abgebaut (s. Abbildung II.2.7).

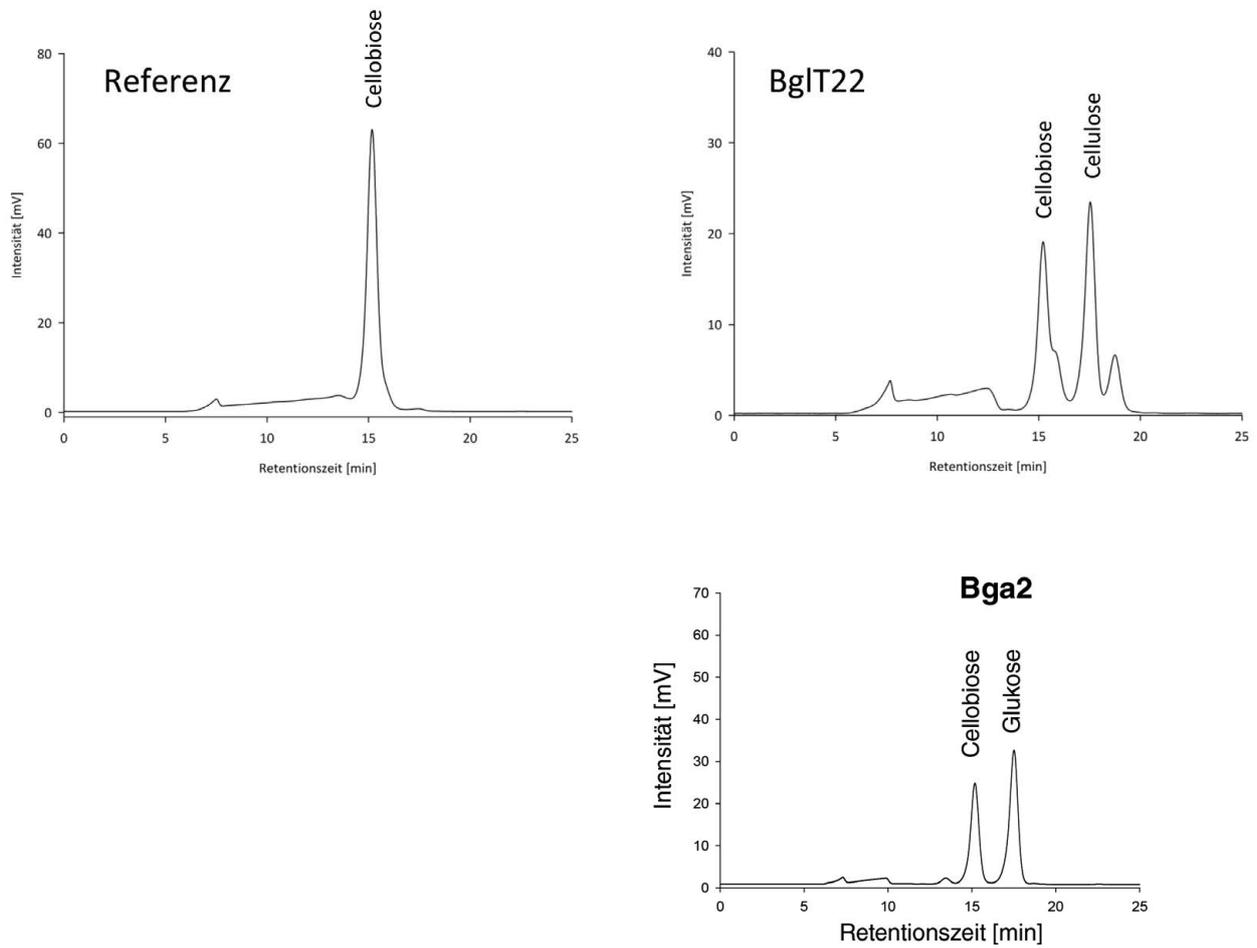


Abbildung II.2.5: HPLC-Analysen des Cellobioseabbaus durch die β -Glukosidasen BglT22 und Bga2
 Die β -Glukosidasen BglT22 und Bga2 wurden in 20 mM Citrat- (pH 6,5) oder Maleatpuffer (pH 6,5) in Anwesenheit von 1% Cellobiose für 4 h bei 70°C inkubiert und nachfolgend mittels HPLC analysiert. Eine HPX42A HPLC-Säule wurde verwendet mit Reinstwasser als Laufmittel und einer Flussrate von 0,6 ml/min.

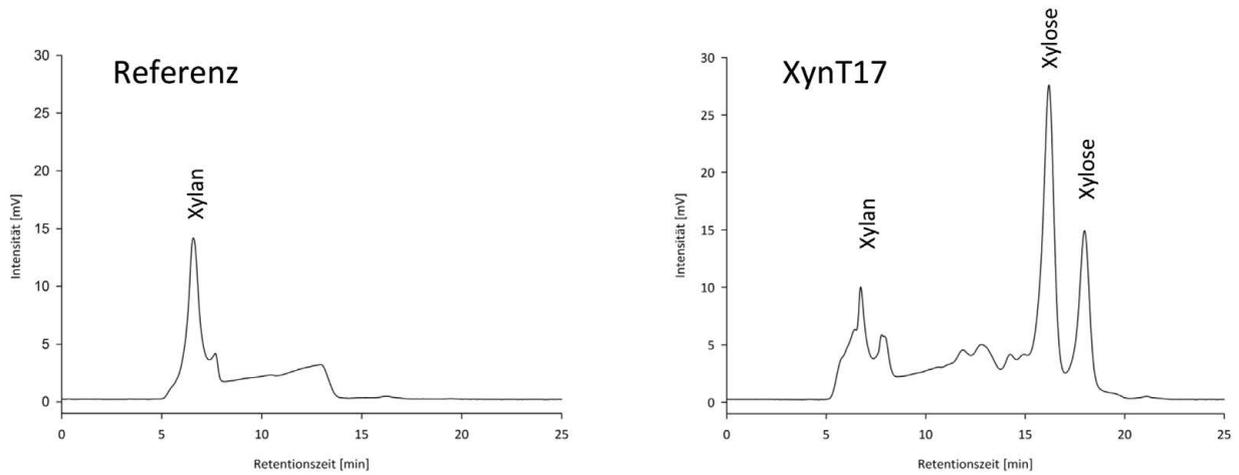


Abbildung II.2.6: HPLC-Analyse des Xylanabbaus durch die Xylanase XynT17
 Die Xylanase XynT17 wurden in 20mM Citrat-(pH 6) in Anwesenheit von 1% Weizenstrohhydrolysat für 4 h bei 70°C inkubiert und nachfolgend mittels HPLC analysiert. Eine HPX42A HPLC-Säule wurde verwendet mit dem Reinstwasser als Laufmittel und einer Flussrate von 0,6 ml/min.

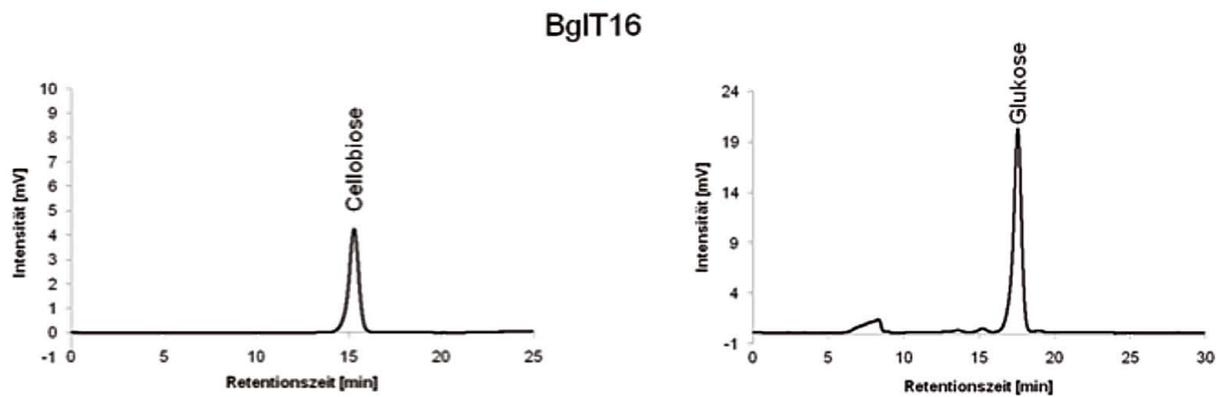


Abbildung II.2.7: HPLC-Analysen des Cellobioseabbaus durch die β -Galaktosidase BgIT16
 Die β -Galaktosidase BgIT16 wurde in 20 mM Citratpuffer (pH 6,5) in Anwesenheit von 1% Cellobiose für 4 h bei 70°C inkubiert und nachfolgend mittels HPLC analysiert. Eine HPX42A HPLC-Säule wurde verwendet mit Reinstwasser als Laufmittel und einer Flussrate von 0,6 ml/min.

Die hohen Temperaturoptima der charakterisierten Enzyme, sowie die teilweise hohen Temperaturstabilitäten, als auch der nachweisliche Cellobioseabbau für BglT22 und Bga2 und der Xylanabbau der Xylanase XynT17 zeigen, dass diese Enzyme geeignete Kandidaten für einen industriellen Einsatz im Rahmen von Lignocellulose-Bioraffinerien darstellen. Eine Herstellung im großen Maßstab sowie der Vergleich zu kommerziell erhältlichen Enzymen könnten Aufschluss über die Wirtschaftlichkeit der Anwendung der neu identifizierten Enzyme geben.

Bei Clariant/Süd-Chemie wurden vorhandene Gene einer Expressionsanalyse unterzogen. Für weiterführende Untersuchungen bezüglich ihrer Exprimierbarkeit in *E. coli* und *B. subtilis* wurden Klonierungen der besagten Gene in verschiedene Plasmidvektoren durchgeführt (Abbildung II.2.8).

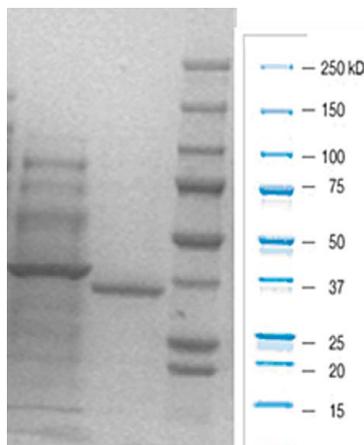


Abbildung II.2.8: SDS-PAGE Analyse von *E. coli*-Kulturüberständen entsprechender Expressionskonstrukte

Für die Expression aus *E. coli* konnte in einigen Fällen eine gute Proteinausbeute erzielt werden. Die Evaluierung der Exprimierbarkeit aus *B. subtilis* erfolgte nach Abschluss der molekularbiologischen Arbeiten. Literatur-Recherchen und Analysen zur Aufbereitung der Datenlage und möglichen Patentierung von Enzymen wurden durchgeführt.

Die Konstrukte wurden SCA von TMB zur Verfügung gestellt. Die Konstrukte wurden in die Planung für die weiteren Untersuchungen mit aufgenommen.

Die Arbeiten zu den Expressionstests für die sekretorische Produktion von Enzymen aus *E. coli* und *B. subtilis* wurden seitens der Süd-Chemie AG (SCA) fortgesetzt. Gene, welche SCA aus Anreicherungskulturen und Screeningprozeduren von TMB zur Verfügung gestellt wurden, sind auf ihre sekretorische Produzierbarkeit aus *E. coli* und *B. subtilis* hin untersucht worden. Eines bzw. zwei der Gene konnten mit guter Ausbeute erhalten werden.

Die Aktivität der Enzyme in den jeweiligen Überständen wurde in zwei Varianten mittels pNP-Substraten bestimmt (siehe Abbildung II.2.9).

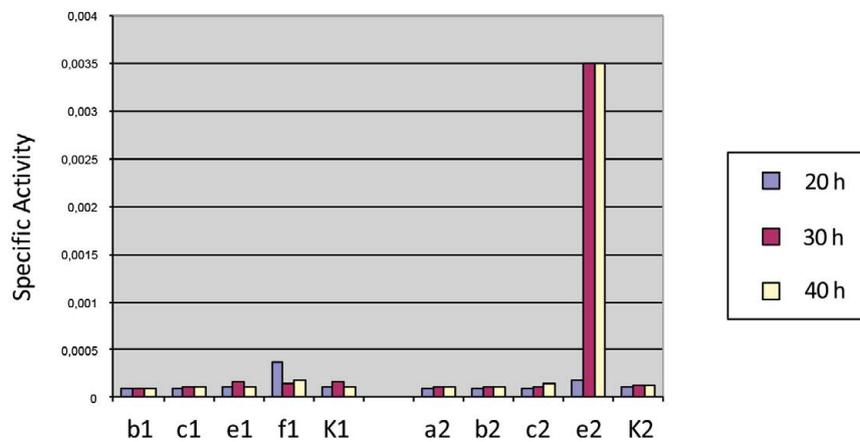


Abbildung II.2.9: Aktivität von getesteten *E. coli* Überständen (K: neg. Kontrolle)

Der Vorteil der sekretorischen Produktion liegt neben dem Wegfall von sonst notwendigen Aufschlussprozeduren der Zellpellets in der größeren Reinheit der gebildeten Proteine (siehe Abbildung II.2.10 SDS-PAGE von e2). Das Protein E ist in Lane 1 zu sehen, auf Bahn 2 ist eine Positiv- und auf Bahn 3 eine Negativkontrolle mit aufgetragen.

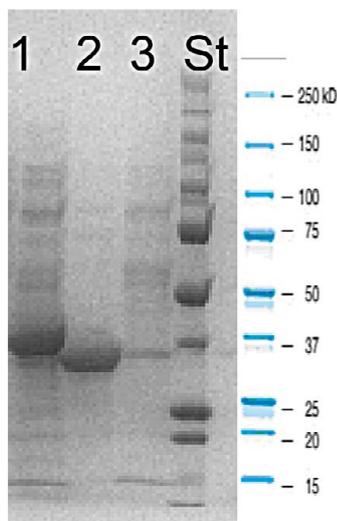


Abbildung II.2.10: SDS-PAGE von Kulturüberstand von Protein E

Die ersten Systeme für die Produktion von aktiven Enzymen lagen damit vor und einzelne Überstände wurden anschließend hinsichtlich Ihrer Enzymproduktion intensiv getestet. Es wurden z. B. erfolgreich Hemicellulasen hergestellt und hinterher definierte Enzymaktivitäten kombiniert. Diese Kombinationen wurden von SCA unter nicht optimierten, Enzym-limitierten Bedingungen eingesetzt, um die oben beschriebene Weizenstroh-Flüssigphase enzymatisch zu charakterisieren (Abbildung II.2.11).

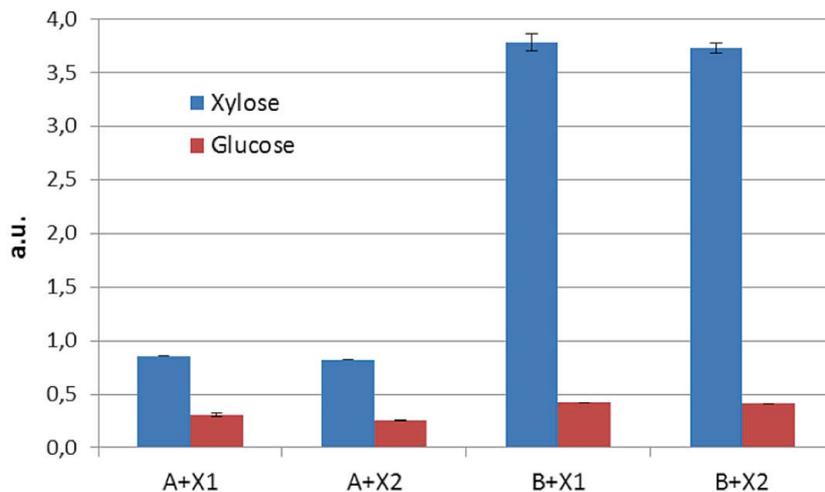


Abbildung II.2.11: Xylosetreisetzung aus Weizenstroh-Flüssigphase

Es ist deutlich zu erkennen, dass Kombinationen mit Komponente B zu einer höheren Xylosefreisetzung aus der Weizenstroh-Flüssigphase führen.

Unter anderen Bedingungen konnte mit einer definierten Enzymaktivität ca. 85% des Xylans als Xylose umgesetzt werden. 81% der Cellulose wurden in diesem Experiment als Glucose freigesetzt.

Zu den Hauptbestandteilen pflanzlicher Biomasse gehören die Cellulose und die Hemicellulose. Bis vor einigen Jahren lag der Fokus bei der Verwertung pflanzlicher Biomasse auf der effizienten Verwertung der Cellulose. In letzter Zeit haben die Hemicellulosen eine gesteigerte Aufmerksamkeit erhalten, da mit der Verwertung der darin gebundenen Pentosen und Hexosen höhere Ausbeuten in den Folgeanwendungen erzielt werden können. Dazu zählt insbesondere die Verwertung der pflanzlichen Biomasse als Biokraftstoff oder als Plattformchemikalie.

Enzymatische Hydrolysen unter industriellen Prozessbedingungen stellen besondere Anforderungen an die verwendeten Biokatalysatoren. Die industriell einsetzbaren Enzyme sind z. B. hohen Temperaturen während der Reaktion ausgesetzt (siehe oben). Aus diesem Grund standen bei SCA im letzten Projektjahr auch Untersuchungen zur Bestimmung der Thermostabilität von Hemicellulasen im Fokus.

Der Abbau von Hemicellulose erfolgt enzymatisch durch sogenannte Hemicellulasen. Es müssen Hemicellulasen identifiziert werden, die unter industriellen Prozessbedingungen die gewünschte Reaktion effizient katalysieren können. Abbildung II.2.12 zeigt exemplarisch die Temperaturstabilität einer Hemicellulase A (HcA).

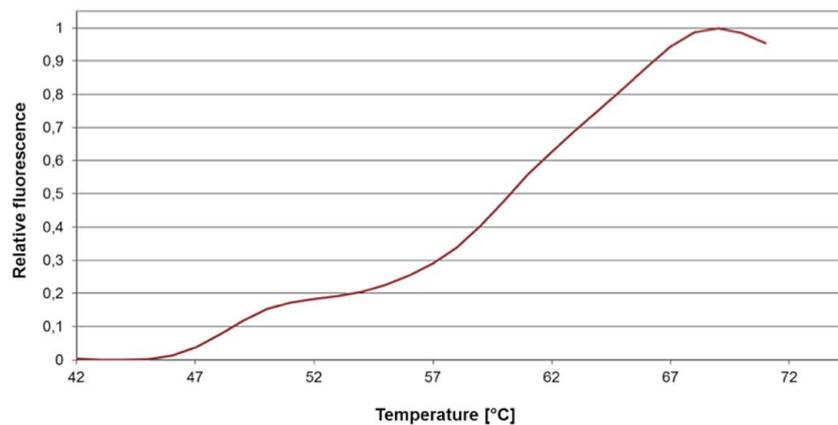


Abbildung II.2.12: Thermostabilität der Hemicellulase HcA

Die Analyse der Thermostabilität der HcA hat ergeben, dass der Schmelzpunkt (T_m) bei 60°C liegt. Damit ist HcA für industrielle Prozesse, die bei 60°C ablaufen sollen ungeeignet, da HcA bei dieser Temperatur bereits zu 50% denaturiert vorliegt. Auf diesem Ergebnis basierend stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung:

- a) Suche nach einem Enzym gleicher Funktion aus einem anderen Organismus (sog. homologe Enzyme)
- b) HcA-Enzymoptimierung mittels gerichteter Evolution oder rationalem Design zur Verbesserung der Stabilitätseigenschaften

Da eine Enzymoptimierung zeit- und kostenintensiv sein kann, wurde zunächst versucht, ein homologes Enzym mit besseren Thermostabilitätseigenschaften als HcA aus einem anderen Organismus zu identifizieren. Ein geeigneter Kandidat wurde mit HcB gefunden (Abbildung II.2.13).

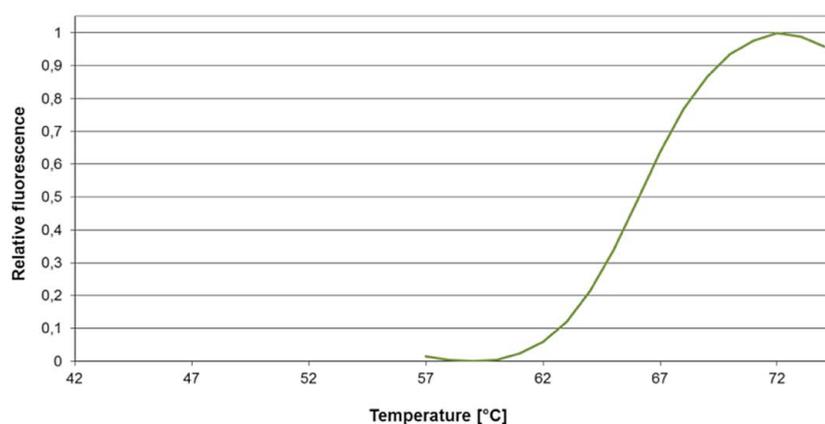


Abbildung II.2.13: Thermostabilität der Hemicellulase HcB

Abbildung II.2.13 zeigt die Thermostabilität der neu identifizierten Hemicellulase HcB. HcB besitzt einen T_m-Wert von 66°C, welcher damit 6°C höher liegt als der T_m-Wert von HcA. Zusätzlich deuten weitere Untersuchungen auf eine kompaktere und stabilere Enzymstruktur hin. Mit HcB wurde ein geeigneter Kandidat für den Abbau von Hemicellulosen unter industriellen Bedingungen identifiziert.

Ein weiterer Bestandteil der Untersuchungen bei SCA im Bereich enzymatische Hydrolyse waren Versuche zur Fusion einer bakteriellen Cellulose-Bindedomäne (CBD) an Glukoseoxidase (GOX) und Expression in *Pichia pastoris*. Die Fusion einer Glukoseoxidase an die Cellulose-Bindedomäne einer Endoglucanase wurde mittels OE-PCR durchgeführt und das entstehende Fusionskonstrukt in eine entsprechende Expressionskassette kloniert. Die Transformanten wurden anschließend angezüchtet und die Überstände mittels SDS-PAGE analysiert (Abbildung II.2.14). Es konnte eine Sekretion des entsprechenden Zielproteins festgestellt werden.

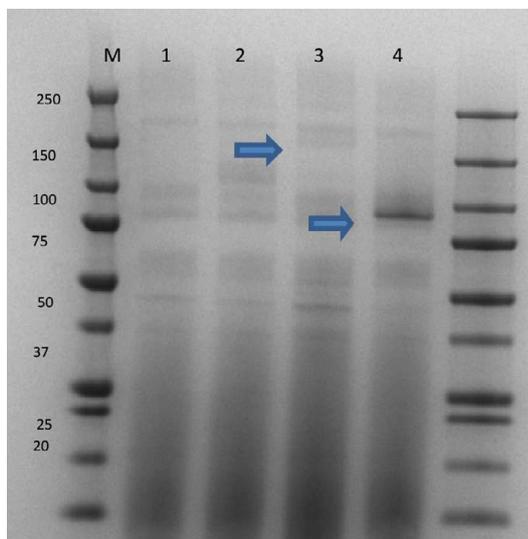


Abbildung II.2.14: Expression eines Fusionsproteins Glucoseoxidase (GOX) und einer CBD Endoglucanase (Lane 3). Als Referenz wurde die Expression der nativen GOX durchgeführt (Lane 4).

Seitens TMB wurden identifizierte Zielgene in Expressionsplasmide kloniert und auf Funktionalität getestet. Die in ihrer Aktivität bestätigten Konstrukte wurden SCA als Plasmide zur Verfügung gestellt und dort in die reguläre Stammsammlung aufgenommen. Tabelle II.2.2 zeigt die Übersicht über die vom Projektpartner TMB zur Verfügung gestellten Plasmide

Tabelle II.2.2: Transferierte Plasmide

	Plasmidbezeichnung	Spenderorganismus	Enzymfunktion
1	pQE80-Ta_bgl2A	<i>Thermus</i> sp.	β-Glucosidase (GH-Familie 2)
2	pQE80-Tb_bga1A	<i>Thermus</i> sp.	β-Galactosidase (GH-Familie 1)
3	pQE80-bga2	Azorenprobe	Putative β-Galactosidase

Tests der nun bei SCA zur Verfügung stehenden Proteine bezüglich der Einsetzbarkeit hinsichtlich hydrolytischer Einsatzgebiete (z. B. Lignocellulose-Abbau) sowie anderer Anwendungen erfolgten im letzten Projekthalbjahr.

Zum Ende der Projektlaufzeit wurde eine Mehrzahl der aus natürlichen Habitaten identifizierten enzymkodierenden Gene von TMB erfolgreich zu SCA transferiert. Die Liste der zu Projektabschluss nochmals empfangenen Plasmide ist in Tabelle II.2.3 zu sehen. Die erhaltenen Plasmide wurden durch SCA in der lokalen Sammlung eingegliedert und konserviert.

Tabelle II.2.3.: Transferierte Plasmide und kodierte Aktivitäten.

Plasmid-Bezeichnung	Spenderorganismus	Aktivität	Vektor-Backbone
pQE80L-Xyl43	<i>Thermus</i> sp.	beta-Xylosidase	pQE80L
pQE80L-XynT17 (no SP)	<i>Thermus</i> sp.	endo-xylanase	pQE80L
pCRXL-XynT17	<i>Thermus</i> sp.	endoxylanase	pCR-XL-Topo
pQE80L-Bga1	metagenomic DNA (compost)	beta-glucosidase	pQE80L

Insbesondere XynT17 wurde seitens SCA für eine weitere Bearbeitung näherer Betrachtungen unterzogen, da die sekretionsfähige Xylanase für die Anwendung interessante biochemische Eckdaten aufweist. Für die Überprüfung der Proteinausbeute aus der methylotrophen Hefe *Pichia pastoris* wurden verschiedene Varianten von Primer für den Transfer in einen Integrationsvektor zur methanolinduzierten Expression designt. Die Molekularbiologischen Arbeiten diesbezüglich werden seitens SCA nach Projektende fortgeführt.

Im AP II.2 konnten zur Erreichung der im Antrag definierten Projektziele erfolgreich neue Enzyme aus extremen Habitaten identifiziert und ausreichend biochemisch charakterisiert werden. Eine Mehrzahl der aus diesen Habitaten identifizierten enzymkodierenden Gene wurde von TMB erfolgreich zu SCA transferiert. Kombinationen verschiedener Enzyme und deren Test mit Substrat aus der Lignocellulose-Hydrolyse konnten ebenfalls erfolgreich durchgeführt werden.

II.2.3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Ein limitierender Faktor in bestehenden Bioraffinerie-Anlagen stellt die Verfügbarkeit geeigneter Enzyme zur Hydrolyse der komplexen pflanzlichen Biomasse dar. Käuflich verfügbare Glykosidhydrolasen weisen oft Temperaturoptima unter 70°C auf, was sie für den Einsatz direkt nach einem hydrothermischen Aufschluss als ungeeignet erscheinen lässt. Die Suche nach thermoaktiven Enzymen mit hohen Aktivitäten gegenüber dem abzubauenen Substrat, beschreibt somit einen notwendigen Schritt in Richtung gesteigerter Umsatzraten in der Lignocellulose-Bioraffinerie. Durch die biochemische Charakterisierung ließen sich die optimalen Reaktionsbedingungen der identifizierten Enzyme ermittelt, was für spätere Anwendungen von Nutzen ist.

II.2.4 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die identifizierten Glykosidhydrolasen zeichnen sich durch sehr hohe Temperaturoptima und gute Temperaturstabilitäten, sowie hohe spezifische Aktivitäten gegenüber den abzubauenen Substraten aus, was sie für den Einsatz in der Bioraffinerie verwertbar macht. Für den großtechnischen Einsatz müsste die Produktion der Enzyme in großem Maßstab optimiert werden,

was durch andere Expressionssysteme, bzw. Fermentation in dem geeigneten Expressionswirt gewährleistet werden könnte.

II.2.5 Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Während der Durchführung des Vorhabens kam es zu 2 wichtige Ereignissen hinsichtlich des Fortschrittes der Erzeugung von Biokraftstoffen der 2. Generation. Die Firma Clariant, welche Industriepartner des Institutes für Technische Mikrobiologie ist, hat im Juli 2012 in Straubing die größte Demonstrationsanlage in Deutschland zur Herstellung von Ethanol aus Weizenstroh mit Hilfe der sunliquid® Technologie eingeweiht. Ebenfalls aus Weizenstroh wird in der „Inbicon Biomass refinery“ in Dänemark (Kalundborg) Bioethanol produziert.

II.2.6 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr.11.

Es wurden 2 Poster auf der VAAM 2012 präsentiert:

1. Screening for thermostable cellulases for lignocellulosic biomass degradation
C. Schröder, V. Bockemühl and G. Antranikian, Institute of Technical Microbiology, Hamburg University of Technology
2. New thermostable glycoside hydrolases derived from thermophilic bacteria of the genus *Thermus*
S. Blank¹, V. Bockemühl¹, A. Angelov², W. Liebl² and G. Antranikian,₁; Institute of Technical Microbiology, Hamburg University of Technology¹; Department of Microbiology, Technical University of Munich²

Es wurden 2 Poster auf der Biocat 2012 präsentiert:

1. Novel thermostable cellulases for lignocellulosic biomass degradation
C. Schröder and G. Antranikian, Institute of Technical Microbiology, Hamburg University of Technology (TUHH)
2. New thermostable glycoside hydrolases derived from thermophilic bacteria of the genus *Thermus*
S. Blank and G. Antranikian, Institute of Technical Microbiology, Hamburg University of Technology (TUHH)

Auf der VAAM 2013 sollen erneut 2 Poster präsentiert werden:

1. Novel thermoactive and -stable cellulases for improved lignocellulosic biomass degradation
C. Schröder and G. Antranikian, Institute of Technical Microbiology, Hamburg University of Technology (TUHH)
2. More than just Taq polymerase – New glycoside hydrolases from *Thermus* for the application in biorefineries
S. Blank and G. Antranikian, Institute of Technical Microbiology, Hamburg University of Technology (TUHH)

Des Weiteren werden die Ergebnisse 2013 in Form von 2 Doktorarbeiten, sowie weiteren wissenschaftlicher Artikel veröffentlicht.

AP II.3 Fermentation

Partner

Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt – Institut für Molekulare Biowissenschaften
Südzucker AG/CropEnergies AG



Trübstoffe

Abbildung II.3.1: Fraktion eines bei 200°C mit Wasser vorbehandelten Weizenstrohs

Am Institut für Thermische Verfahrenstechnik (TUHH) erfolgte ein fraktionierter Aufschluss des Weizenstrohs. Im ersten Schritt wurde bei 200°C zunächst die Hemicellulose aus der Biomasse herausgelöst, während im zweiten Schritt nach einer Temperaturerhöhung die Cellulose aufgeschlossen wurde. Südzucker erhielt die bei niedrigerer Temperatur erhaltende Fraktion. Wie aus Abbildung II.3.1 zu erkennen ist, handelte es sich dabei um eine Lösung, in der noch Trübstoffe vorhanden waren, die sich nach Aufschütteln und stehen lassen der Lösung am Boden des Gefäßes wieder absetzten:

Da die projektinterne Enzymproduktion erst für die letzte Projektphase vorgesehen war, wurde für Hydrolyseversuche zunächst auf die Enzyme eines kommerziellen Enzymherstellers zurückgegriffen – Cellic® CTec2 und Cellic® HTec2 der Firma Novozymes. Der Ansatz enthielt einen Trockensubstanzgehalt von etwa 5%. Je Gramm Trockensubstanz wurden 45 mg Cellic® CTec2 und 5 mg Cellic HTec2 appliziert und der Ansatz bei pH 5,0-5,5 für 72 h bei 50°C inkubiert. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Zusammensetzung der Aufschlusslösung vor und nach Hydrolyse:

Tabelle III.2.1: Lösliche Fraktion von Weizenstroh nach dessen Aufschluss und enzymatischer Hydrolyse

Komponente	Nach Aufschluss	Nach Aufschluss und enzymatischer Hydrolyse
Glucose	0,4 g/L	2,7 g/L
Xylose	2,1 g/L	16,8 g/L (19,1 g/L)**
Arabinose	1,1 g/L	1,3 g/L
Essigsäure	2,0 g/L	3,2 g/L
Hydroxymethylfurfural (HMF)	16,1 mg/kg	13,5 mg/kg
Furfural	471 mg/kg	347 mg/kg
5-Methylfurfural	13,9 mg/kg	21,1 mg/kg
Furfurylalkohol	3,5 mg/kg	3,1 mg/kg
Trockensubstanz	5,5%	5,3%

** Der Gehalt an Xylose ließ sich durch den Zusatz von 10% der ursprünglich dosierten Menge an Enzym und Inkubation für weitere vier Tage um 13% erhöhen

Tabelle 1 zeigt, dass der Xylosegehalt nach enzymatischer Hydrolyse signifikant anstieg, während die Zunahme der Glucose (aus Cellulose) mit 2,3 g/L deutlich geringer war. Somit setzte sich die lösliche Fraktion des Weizenstrohaufschlusses vornehmlich aus Hemicellulose zusammen. Zu erkennen ist auch, dass sich während des Aufschlusses Hydroxymethylfurfural (HMF) und Furfural im Hydrolysat gebildet hatten. Diese Substanzen werden in Expertenkreisen als Fermentationsinhibitoren bezeichnet.

Zielsetzung des Arbeitspaketes II.3. war es, industriell einsetzbare Hefen über gentechnische Modifikation zu erhalten, die in der Lage sind, C5-Zucker (Arabinose, Xylose) neben Glucose zu vergären und somit für die Verwertung von Lignocellulose-Hydrolysaten verwendet werden können. Zielsetzung des Arbeitspaketes II.3.2 war es, Hefen zu konstruieren, die anstelle von Ethanol die Plattformchemikalien Malat und Fumarat produzieren, die als Funktionsbausteine in chemischen Synthesen Verwendung finden können (Abbildung II.3.1).

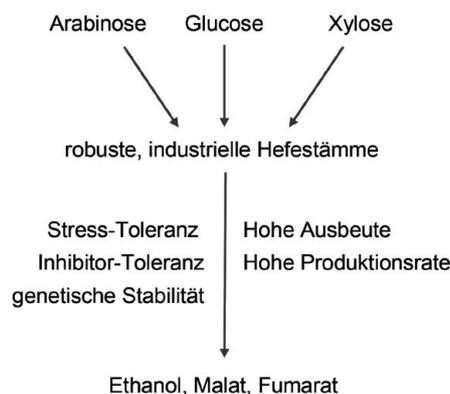


Abbildung II.3.1: Zielsetzung: Herstellung von rekombinanten industriellen C5-Zucker-verwertenden oder Malat- und Fumarat-produzierenden Hefen.

II.3.1 a) Vergärung von C5-Zuckern

Hintergrund und Zielsetzung

Für die biotechnologische Herstellung von Ethanol der ersten Generation stellt die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* weltweit den bevorzugten Organismus dar. Der Grund für ihre bevorzugte Verwendung ist ihre Vielzahl an vorteilhaften Eigenschaften, die robuste industrielle Produktionsprozesse gewährleisten. Jedoch hat diese Hefe einen entscheidenden Nachteil bei der Verwertung von Lignocellulose – der Herstellung von Ethanol der zweiten Generation – da sie nicht in der Lage ist die Zucker Arabinose und Xylose zu verwerten. Diese Zucker stellen einen wesentlichen Bestandteil der Lignocellulose dar. Erst deren effiziente Verwertung würde zu einem Kosten-kompetitiven Produktionsprozess führen. Daher wird als vielversprechendste Lösung angesehen, die Hefe *S. cerevisiae* gentechnisch zu verändern, um sie zur Xylose- und Arabinose-Verwertung zu befähigen.

In den vergangenen Jahren wurden im Labormaßstab maßgebliche Durchbrüche auf dem Gebiet der Pentose-Verwertung durch Hefen erzielt. Die wesentlichen Herausforderungen bestehen jedoch darin diese Technologien und das Know-How auf industrielle Hefen zu übertragen (Abbildung II.3.2). Dabei gilt es nicht nur die genetischen Modifikationen vorzunehmen, die zur Ausprägung der gewünschten enzymatischen Reaktionen führen, sondern insbesondere bedarf es einer Feinabstimmung aller enzymatischen Reaktionen, die dann erst die effiziente Pentose-Verwertung ermöglicht. Eine Vielzahl von Forschergruppen und industriellen Unternehmen beschäftigen sich intensiv mit dieser Fragestellung. Zu Beginn des Vorhabens existierte jedoch noch kein geeigneter industrieller Hefestamm, der in kommerziellen Prozessen zum Einsatz kommen könnte. Somit stellten die Hefen noch einen wesentlichen Engpass in der gesamten Wertschöpfungskette dar. Ziel dieses Arbeitspaketes war es, unter Anwendung der im Labormaßstab etablierten Technologien einen C5-Zucker-vergärenden Industriehefestamm zu entwickeln, der in industriellen Prozessen Einzug halten könnte.

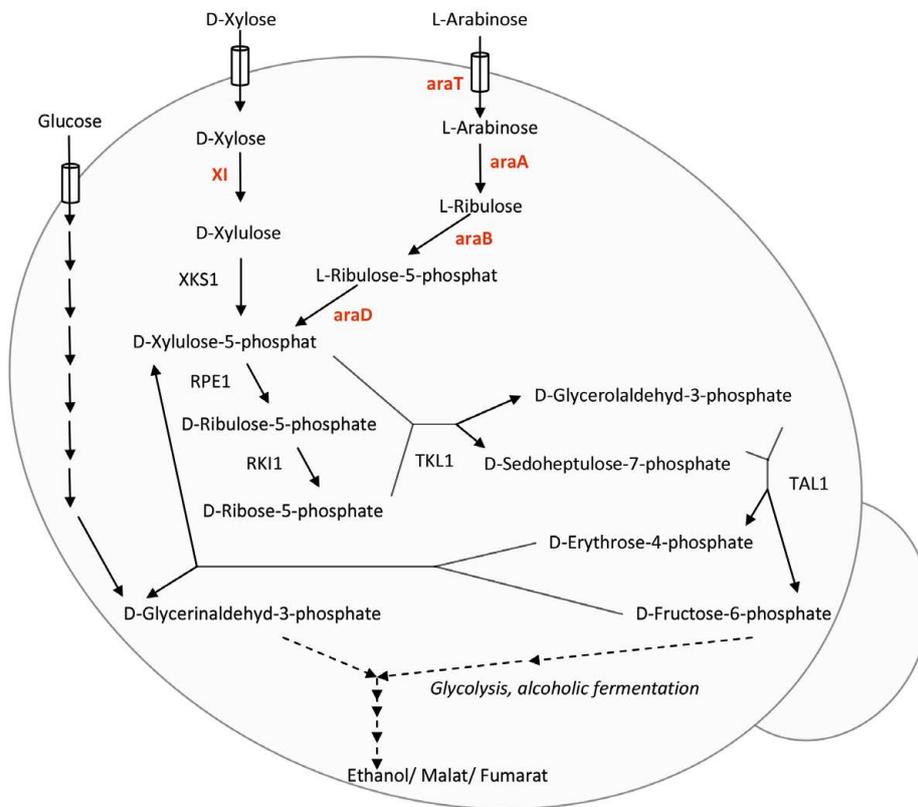


Abbildung II.3.2: Stoffwechselprozesse in Hefe zur Verwertung von Lignocellulose-Hydrolysaten. Schwarz dargestellte und skizzierte Enzymschritte stellen hefe-eigene Stoffwechselprozesse dar, die z.T. optimiert werden müssen. Rot dargestellte Enzymschritte stellen Reaktionen dar, die heterolog durch genetische Modifikation in die Hefen eingebracht werden müssen.

Ergebnisse

Meilensteine

- geeignete Industriehefen testen und identifizieren (Monat 6/erfolgreich abgeschlossen)
- genetische Werkzeuge für die Modifikation von Industriehefen herstellen (Monat 9/erfolgreich abgeschlossen)
- genetische Konstrukte für die Xylose-Vergärung genomisch in die Industriehefen integrieren (Monat 21/erfolgreich abgeschlossen)
- genetische Konstrukte für die Arabinose-Vergärung genomisch in die Industriehefen integrieren (Monat 29/erfolgreich abgeschlossen)
- Pentose-Vergärung durch Evolutionary Engineering optimieren (Monat 39/erfolgreich abgeschlossen)
- Genetische Stabilisierung der Pentose-vergärenden Hefen (Monat 41/erfolgreich abgeschlossen)

Die erste Aufgabe dieses Arbeitspaketes bestand darin, geeignete Industriehefen zu identifizieren und auf ihre Toleranz gegenüber den in Hydrolysaten befindlichen Inhibitoren zu testen. Für die Analysen wurden vier kommerziell erhältliche Industriehefestämme getestet, die z.T. von Südzucker zur Verfügung gestellt wurden: Ethanol Red (Fermentis, Frankreich), Thermo Tol (Angel Yeast Co., China), ein Stamm von AB Mauri (Associated British Foods (ABF), Großbritannien) und Superstart™ (Lallemand, USA). Bei diesen wurde zunächst das Wachstum in Lignocellulose-Hydrolysaten mittels einfachen Wachstumstests auf Nähragarplatten, die verschiedene Anteile der Hydrolysate aufwiesen, getestet.

Die Stämme Ethanol Red und der Stamm von Angel Yeast Co. zeigten die höchste Toleranz gegenüber den Hydrolysaten. Da der Ethanol Red Stamm bereits intensiv für die Herstellung von Ethanol der ersten Generation eingesetzt wird und somit eine hohe Akzeptanz bei den Produzenten genießt, wurden die weiteren Arbeiten mit diesem Stamm durchgeführt. Um diese Ergebnisse nochmals zu bestätigen, wurde der Ethanol Red Stamm einem weiteren Toxizitätstest unterzogen, der durch die Südzucker AG durchgeführt wurde. Zunächst wurde Hydroxymethyl-furfural (HMF), das Abbauprodukt von C5-Zuckern alleine in Konzentrationen bis zu 1,5 g/L zu einem Nährmedium auf Dicksaftbasis (Substrat Saccharose) gegeben und eine Fermentation durchgeführt. Es wurde aber keine Hemmung der Fermentation zu Ethanol beobachtet. Als Nebenreaktion erfolgte die partielle Reduktion des HMF zu Furfurylalkohol. Auch deutlich höhere Konzentration an HMF (bis zu 5 g/L), Furfural (bis 5 g/L) oder die Kombination beider Substanzen ergab keine signifikante Hemmung der Fermentation. Erst der Zusatz von jeweils 5 g/L beider Substanzen ergab eine Reduktion der Fermentationsgeschwindigkeit, die Endkonzentration an Ethanol war im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle jedoch gleich. Somit bestätigte sich, dass die Hefe sich für den Einsatz in Hydrolysaten eignet.

Allgemein ist es sehr schwierig Industriehefestämme genetisch zu modifizieren. Daher war es zunächst nötig eine auf den Ethanol Red zugeschnittene Transformationsmethode zu entwickeln. Hierzu wurden detaillierte Versuche durchgeführt anhand derer die optimalen Parameter für eine optimale Transformation ermittelt werden konnten. Die erlangte Transformationseffizienz ermöglichte nun genetische Veränderungen an dem Ethanol Red Stamm vorzunehmen.

Parallel zu der Etablierung der neuen Transformations-Technologien wurden genetische Werkzeuge zur Einbringung eines Xylose- und Arabinosestoffwechsels entwickelt (Abbildung II.3.3).

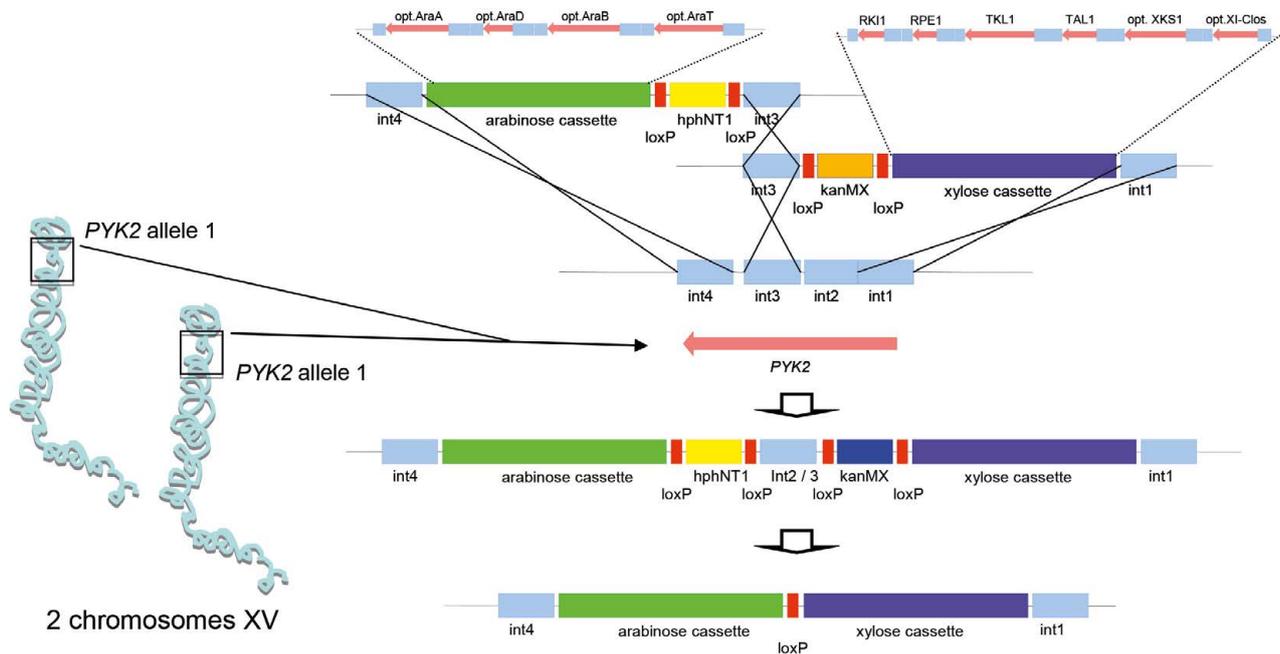


Abbildung II.3.3: Genetische Modifikation des Industriestammes Ethanol Red zur Etablierung der Xylose- und Arabinose-Stoffwechselprozesse. Die genetischen Konstrukte kodieren für essentielle Enzyme des Xylose- und Arabinose-Stoffwechsels und führen zu deren Überexpression. Nach Transformation in die Industriehefe integrieren die Konstrukte jeweils einmal in die beiden *PYK2*-Loci auf den beiden Chromosomen XV.

Diese bestehen aus Expressionskassetten aller benötigter heterologen Enzyme aus Bakterien sowie Überexpressionskonstrukten aller Enzyme des Hefe-eigenen Pentosephosphatweges. Die jeweiligen Konstrukte wurden anschließend in den Hefestamm Ethanol Red mehrfach transformiert, so dass je eine Kopie der Xylose-Stoffwechsel-Expressionskassette und der Arabinose-Stoffwechsel-Expressionskassette in das Genom von dem Hefestamm Ethanol Red in beide Allele der *PYK2* Loci nebeneinander integriert wurden. Die erfolgreiche Integration der jeweiligen Expressionskassetten wurde über detaillierte Analysen bestätigt. Der neue Hefestamm wurde daraufhin auf seine Fähigkeit getestet, Xylose und Arabinose zu verwerten. In ersten Versuchen zeigte sich allerdings erwartungsgemäß nur minimales Wachstum auf Xylose- bzw. Arabinose-Medium, das auf Limitierungen im Stoffwechsel der Hefe zurückzuführen war und somit weiterer Optimierung bedurfte. Dabei wurde jedoch der Fokus zunächst auf den Xylose-Stoffwechsel gerichtet. Zunächst wurden hierzu detaillierte Analysen der wichtigsten Enzyme des Xylose-Stoffwechselweges untersucht. Die Analysen ergaben, dass die Aktivität der Xyloseisomerase sehr niedrig war. Daher wurde nun ein zusätzliches Überexpressionskonstrukt (p426-i-optXI-K) für eine weitere Überexpression der Xyloseisomerase auf einem Multicopy-Plasmid eingebracht. Danach wurde der Hefestamm mittels „Classical Strain Improvement“ (Evolvierung) optimiert, die auf der Anhäufung von zufälligen und für die Xylose-Verwertung vorteilhaften Mutationen beruht.

Mit dieser Methode konnte der entscheidende Durchbruch bei der Entwicklung von Xylose-verwertenden Industriehefen erreicht werden. Bereits nach ungefähr sechs Wochen evolutiver Optimierung wurde eine Mischkultur (HDY.BRF5) erhalten, die die Fähigkeit hatte effizient auf Xylose-Medium zu wachsen. Eine Reinkultur, HDY.BRF6-K3, zeigte gegenüber der Mischkultur noch bessere Produktionsraten (0,841g/g Hefe/h) und eine kürzere Verwertungszeit (~16h)

(Abbildung II.3.4A). Darüber hinaus produziert dieser Stamm nur äußerst geringe Mengen an unerwünschten Nebenprodukten wie Xylitol und Glycerin. Die gemessenen und hervorragenden Produktionsraten liegen bereits in industriell relevanten Bereichen. Obwohl an dieser Stelle nach wie vor Optimierungsbedarf bestand, wurde zunächst überprüft, ob diese Fermentationseigenschaften auch in Hydrolysaten erzielt werden können, wie sie später auch in industriellen Prozessen zum Einsatz kommen würden. Die Arbeiten hierzu wurden von der Südzucker AG durchgeführt. Bei den Analysen der Südzucker AG kamen enzymatisch hydrolysierte Weizenstrohhydrolysate der Technischen Universität Hamburg-Harburg (Institut für Thermische Verfahrenstechnik V8) zum Einsatz. Zum Vergleich wurde der Ausgangsstamm Ethanol Red (Daten nicht gezeigt) herangezogen. Während der nicht modifizierte Ethanol Red nur die Glucose aus den Hydrolysaten verbrauchen konnte, verwertete der HDY.BRF6-K3 die Glucose und Xylose. Die Fermentation wurde unter anaeroben Bedingungen durchgeführt. Die Fermentationsanalysen ergaben für den gentechnisch veränderten Hefestamm ebenfalls sehr gute Produktionsraten für alle Zucker (Abbildung II.3.4B). Die Analysen zeigten auch, dass die in geringem Anteil vorhandene Arabinose ebenfalls verwertet werden kann, obwohl der verwendete Stamm noch nicht daraufhin optimiert wurde.

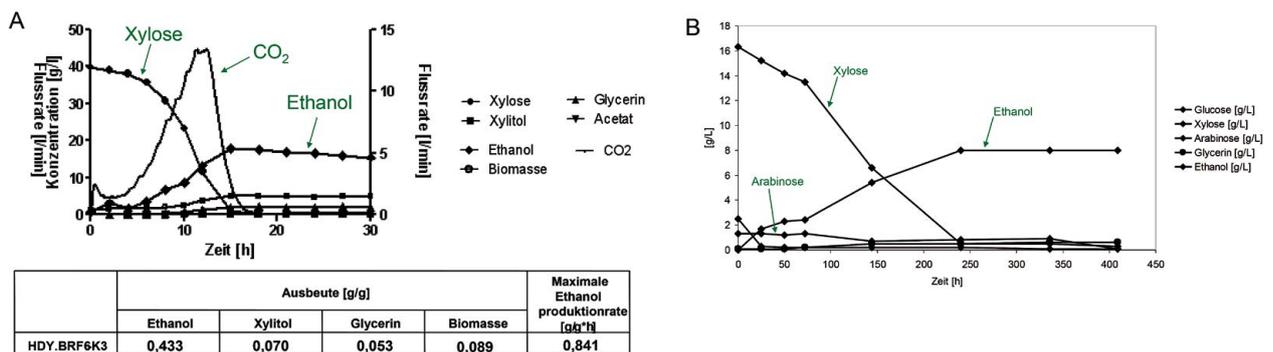


Abbildung II.3.4 (A): Fermentation mit der Hefereinkultur HDY.BRF6-K3 in synthetischem Medium mit Xylose als einziger Kohlenstoffquelle unter anaeroben Bedingungen. Das Medium wurde mit 10^8 Zellen angeimpft und Proben zu verschiedenen Zeitpunkten für die Metaboliten Analyse entnommen. (B) Ergebnisse der Fermentationsanalysen von der Südzucker AG. Fermentation mit der Hefereinkultur HDY.BRF6-K3 in enzymatisch hydrolysierten Weizenstrohhydrolysaten der Technische Universität Hamburg-Harburg (Institut für Thermische Verfahrenstechnik V8 unter anaeroben Bedingungen. Das Medium wurde mit 10^7 Zellen angeimpft und Proben zu verschiedenen Zeitpunkten für die Metaboliten Analyse entnommen. Anmerkung: Da hierbei mit einer geringeren Zahl von Hefen angeimpft wurde, kam es zu einer langsameren Xylose Verwertung im Vergleich zum Versuch im synthetischen Medium. Aber entscheidend ist, dass die Produktionsraten nahezu identisch waren.

Der Stamm enthielt jedoch noch ein Plasmid. Da eine plasmidbasierte Überexpression in einem industriellen Prozess nachteilig sein kann, wurde nun ein Stamm konstruiert, der die heterologen Gene des Xylose- und Arabinose-Stoffwechsels in weiteren Kopien stabil genomisch integriert hat und zusätzlich den Zuckertransporter Gal2 überexprimiert. Der Stamm wurde weiter durch „Evolutionary Engineering“ und rationale genetische Methoden für die Umsetzung von Pentosen optimiert werden. Daraus resultierte letztendlich der Stamm HDY.BRF10. Dieser zeigte in Fermentationen hervorragende Eigenschaften (Abbildung II.3.5).

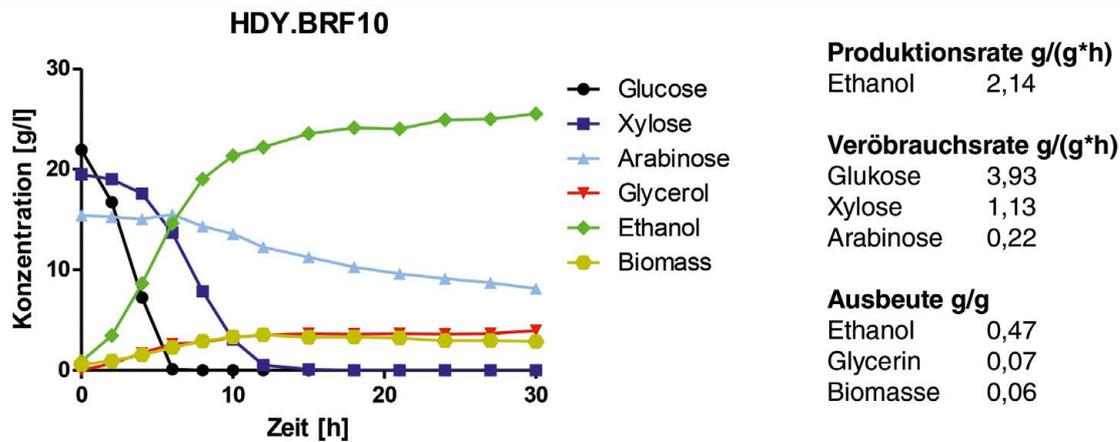


Abbildung II.3.5: Fermentation von HDY.BRF10 in synthetischem Minimalmedium

Es wurde bisher in der Literatur kein stabiler, industrieller Hefestamm beschrieben, der eine derart hohe Xylose-Verbrauchsrate aufweist. Auch die Ethanolausbeute ist nahezu optimal.

II.3.1 b) – Malat/Fumarat-Produktion mit Hefen

Hintergrund und Zielsetzung

Malat und Fumarat stellen interessante chemische Verbindungen dar. In der Industrie könnten sie für eine Vielzahl von chemischen Synthesen als Funktionsbausteine (Building Blocks) verwendet werden. Für die biotechnologische Herstellung dieser Chemikalien ist die Hefe besonders geeignet, da sie vor allem bei niedrigen pH-Werten fermentiert. Dies führt dazu, dass Malat und Fumarat in ihrer undissoziierten Säureform vorliegen und ermöglicht eine einfache Aufreinigung. Ein weiterer Vorteil der Hefe besteht darin, dass sie bereits über eigene Stoffwechselwege für die Herstellung von Malat und Fumarat verfügt. Damit die Hefe in biotechnologischen Prozessen zur Malatproduktion zum Einsatz kommen könnte, bedarf es jedoch mehrerer gentechnischer Modifikationen, um die Produktionsraten und Erträge zu erhöhen. Die wesentlichen Herausforderungen dabei sind, die mit Malat und Fumarat konkurrierenden Stoffwechselprozesse zu eliminieren und den Malat- und Fumarat-produzierenden Prozess zu verstärken (Abbildung II.3.6). Ziel dieses Arbeitspaketes war es, die grundlegenden Technologien für die Erstellung von Malat- und Fumarat-produzierenden Hefen zu entwickeln und zu optimieren.

Ergebnisse

Meilensteine

- Proof-of-Principle Malat/Fumarat-Produktion mit Hefe erbracht (Monat 27/erfolgreich abgeschlossen)
- Produktivität der Malat/Fumarat-Produktion optimieren (Monat 41/teilweise erfolgreich abgeschlossen)

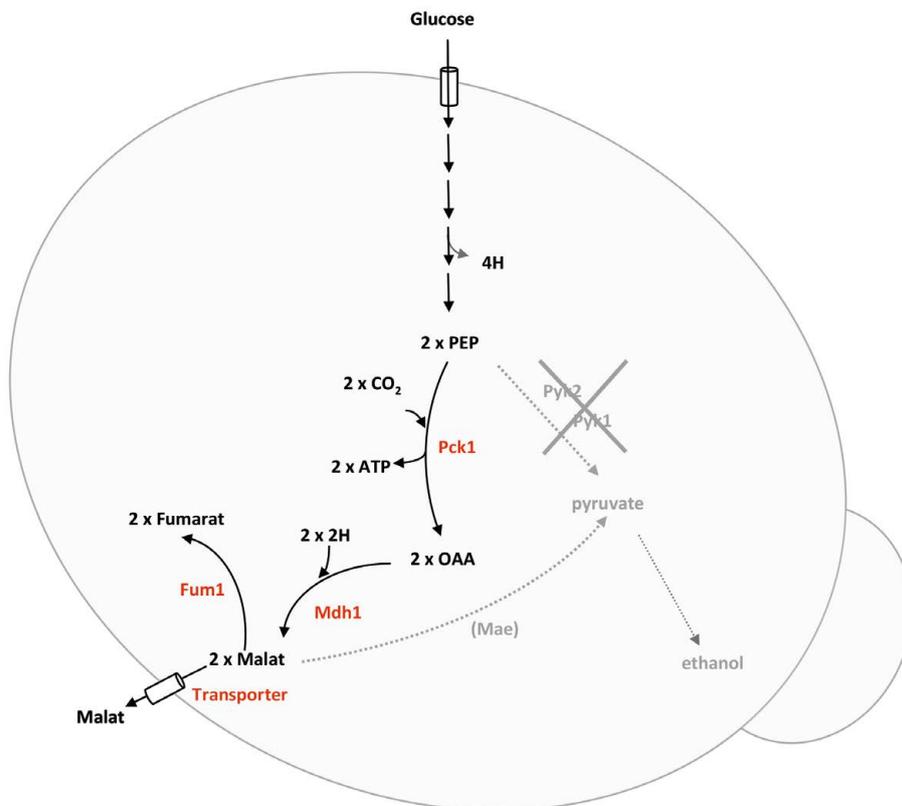


Abbildung II.3.6: Stoffwechselprozess zur Herstellung von Malat in Hefe. Rot dargestellt sind die Prozesse, die mittels gentechnischer Modifikation optimiert werden mußten. Die mit der Malatproduktion konkurrierenden Stoffwechselprozesse mußten eliminiert werden (grau dargestellt). Die Produktion von Fumarat ist durch die Optimierung eines weiteren Enzymschrittes möglich.

Im Rahmen dieses Projektes ging es zunächst darum die Technologien im Labormaßstab zu etablieren, da hierzu bisher kaum Vorarbeiten existierten bzw. keine Arbeiten in der Fachliteratur bekannt sind. Die wichtigste Fragestellung war zunächst, ob es grundsätzlich möglich ist, mit der angestrebten Strategie einen Malat-produzierenden Hefestamm zu erstellen. Daher sollte zunächst mit den ersten Experimenten ein Proof-of-Principle erbracht werden. Hierzu wurden die benötigten genetischen Konstrukte als auch Testsysteme entwickelt. Die Strategie war, den Kohlenstofffluss der Glycolyse auf der Höhe des Phosphoenolpyruvats (PEP) zu blockieren, so dass keine Ethanol synthese mehr stattfinden kann und sich gleichzeitig PEP anhäuft (Abbildung II.3.6). Dies wurde erreicht, indem Deletionskonstrukte erstellt wurden, mit denen die Gene *PYK1* und *PYK2*, welche beide für die Pyruvatkinase kodieren, über homologe Rekombination deletiert wurden. Das angestaute PEP sollte dann durch PEP-Carboxykinasen (PCK) zu Oxalacetat und weiter zu Malat vergoren werden. Dazu wurden verschiedene PCKs aus *S. cerevisiae* und aus Bakterien in Multicopy-Expressionsvektoren kloniert. Darüber hinaus wurde auch das Gen für die endogene peroxisomale Malatdehydrogenase MDH3 ohne das Peroxisomen-Targeting-Signal (ohne SKL Sequenz = MDH3-SKL) in einen Expressionvektor kloniert. Die jeweiligen Expressionsvektoren wurden anschließend zusammen mit dem MDH3-SKL in den *pyk1/pyk2*-Stamm transformiert. Es wurde zunächst untersucht, ob die transformierten Zellen auf synthetischem Medium mit Ethanol als Kohlenstoffquelle durch steigende Glucosekonzentrationen weiterhin gehemmt wurden. Es zeigte sich, dass Zellen mit den Vektoren für die Expression von PCKs auf

Ethanol-Glucose Medium wachsen können. Dieses zeigte an, dass der neue Stoffwechselweg aktiv ist und das sich anstauende PEP abbauen kann. Allerdings waren die Ausbeuten an Malat sehr niedrig. In den nachfolgenden Arbeiten wurde der Stoffwechselweg weiter etabliert und optimiert. Dazu wurden zunächst detaillierte Analysen durchgeführt, um die Engpässe zu identifizieren. Die Analysen zeigten, dass Limitierungen in dem gesamten Stoffwechselweg vorliegen. Auf Basis dieser Analysen und Erkenntnisse wurden zahlreiche Ansätze parallel verfolgt bzw. Technologien entwickelt, um diese Limitierungen zu beheben. Diese Entwicklungen umfassten u.a. die Optimierung der Umsetzung von PEP zu Oxalacetat durch verschiedene Strategien, den Export des gebildeten Malats, die Aufnahme von CO₂, die Beeinflussung des Gleichgewichtes zwischen H₂CO₃ und CO₂ in der Zelle, Blockade der weiteren Malat-Verstoffwechslung. Parallel zu diesen Ansätzen und Analysen wurden auch evolutive Methoden angewandt. Die vielversprechendsten Ansätze wurden in einem Hefestamm vereint. Wachstumstests auf Nähragarplatten (Abbildung II.3.7) zeigten schließlich eine optimierte Funktion des Malatproduktionsweges in der Anwesenheit von CO₂, allerdings konnte in Flüssigmedien aufgrund von Wachstumsproblemen der rekombinanten Hefen keine gesteigerte Malatbildung beobachtet werden. Das größte Problem scheint dabei die für die PCK benötigte hohe intrazelluläre Konzentration an CO₂ zu sein.

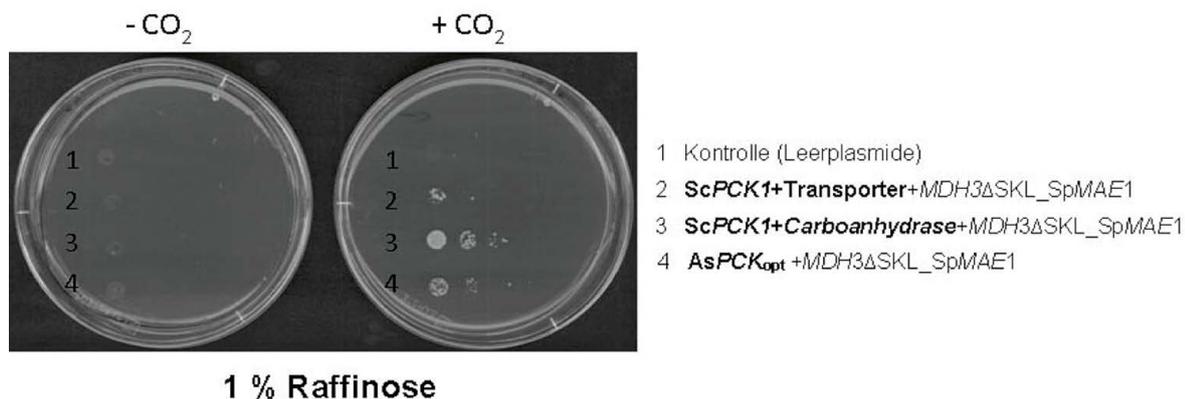


Abbildung II.3.7: Wachstumstest mit transformiertem *pyk1/pyk2*-Deletionsstamm. Der *pyk1/pyk2*-Stamm wurde mit verschiedenen Kombinationen der Expressionsvektoren transformiert. Die Zellen wurden anschließend in unterschiedlichen Konzentrationen auf Nähragarplatten mit 1% Raffinose aufgetropft und mehrere Tage ohne oder mit CO₂-Begasung bei 30°C inkubiert. Wachstum deutet eine erfolgreiche Malatfermentation an.

II.3.1 c) Untersuchungen zum Einfluss der potentiellen Inhibitoren Hydroxymethylfurfural (HMF) und Furfural auf das Wachstum und die Fermentation der Industriehefe Ethanol Red®

Die Untersuchungen beinhalten die folgenden Versuche mit Zuckerrübensaft, der in der Bioethanolanlage in Zeitz (erste Generation) als Nährstoff verwendet wird:

- Zusatz von HMF in Konzentrationen von 0-1500 mg/L zu einem Zuckerrübensaft enthaltenden Nährmedium und anaerobe Fermentation zu Ethanol
- Zusatz eines Gemisches aus HMF (bis zu 5 g/L) und Furfural (bis zu 5 g/L) zu einem Zuckerrübensaft enthaltenden Nährmedium und anaerobe Fermentation zu Ethanol
- Zusatz eines Gemisches aus HMF (bis zu 5 g/L) und Furfural (bis zu 5 g/L) zu einem Zuckerrübensaft enthaltenden Nährmedium und aerobe Fermentation zur Gewinnung von Biomasse

Einfluss von HMF auf die anaerobe Fermentation der Hefe Ethanol Red®

HMF wurde in Konzentrationen von 0-1500 mg/L zu einem Nährmedium zugesetzt, das 286 g/L Zuckerrübensaft (entsprechend 180 g/L Saccharose), 0,4 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 0,2 g/L Harnstoff und 0,05 g/L MgSO_4 enthielt. Der pH-Wert wurde auf 4,3 eingestellt, die jeweiligen Fermentationsansätze mit 5 g/L Trockenhefe Ethanol Red® beimpft und für 75 h bei 30°C inkubiert. Zu unterschiedlichen Zeitpunkten wurden die Ansätze gewogen, um den CO_2 -Verlust zu erfassen. Die kumulierte Freisetzung des Fermentationsgases CO_2 wurde in Abbildung II.3.8 dargestellt.

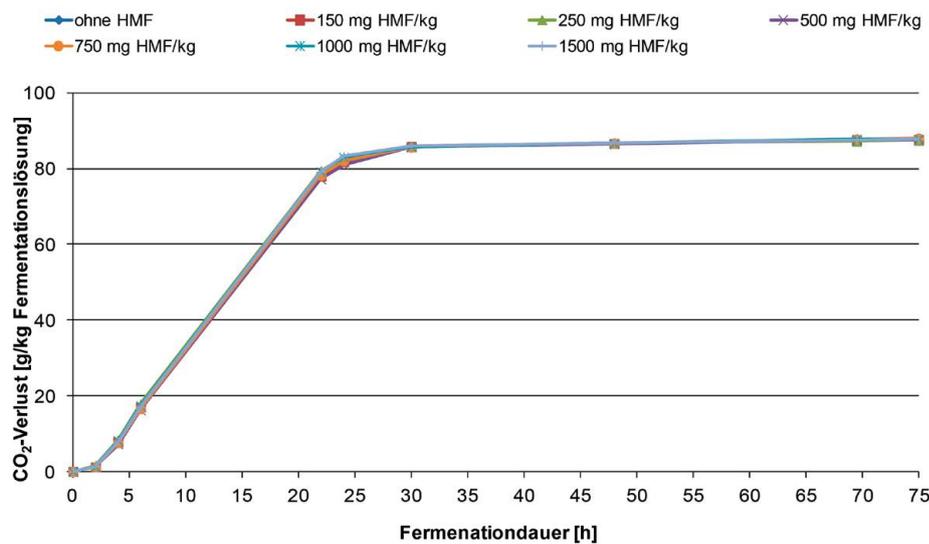
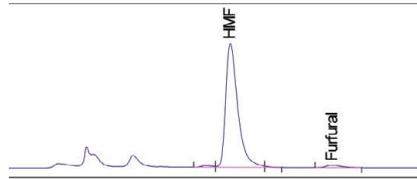


Abbildung II.3.8: Freisetzung von CO_2 während der Fermentation von Dicksaft unter anaeroben Bedingungen in Abhängigkeit der HMF-Konzentration

Daraus wird ersichtlich, dass unter anaeroben Bedingungen der Zusatz bis zu 1500 mg/L HMF keinen inhibierenden Einfluss hat. Zudem ergaben HPLC-Analysen, dass die Konzentration an HMF während der Fermentation abnahm (s. Abbildung II.3.2). Dieses würde Untersuchungen von LIU et al (2004)¹ bestätigen, dass Hefen unter anaeroben Bedingungen in der Lage sind, HMF zu 2,5-Dihydro-methylfuran zu reduzieren.

¹ Liu ZL et al (2004) Adaptive response of yeasts to furfural and 5-hydroxymethylfurfural and new chemical evidence for HMF conversion to 2,5-bis-hydroxyfuran. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 31: 345-352



150 mg/L HMF, 0 h Fermentationszeit



Kontrolle: 0 mg/L HMF, 0 h Fermentationszeit



150 mg/L HMF, 48 h Fermentationszeit

Abbildung II.3.9: Chromatogramme der HPLC-Analysen von Fermentationsüberständen vor und nach anaerober Fermentation

Es lässt sich zusammenfassen, dass Konzentrationen von bis zu 1,5g/L HMF die anaerobe Fermentation nicht signifikant hemmen. Daher wurden in einem weiteren Experiment folgende Mischung von HMF und Furfural dem Zuckerrübensaft-Nährmedium (s.o.) hinzugesetzt:

- Kontrolle ohne jeglichen Zusatz
- 0,75g/L HMF + 0,75g/L Furfural
- 1,5g/L HMF
- 1,5g/L Furfural
- 1,5g/L HMF + 1,5g/L Furfural
- 5,0g/L HMF
- 5,0g/L Furfural
- 5,0g/L HMF + 5,0g/L Furfural

Die Konzentrationen wurden bewusst so hoch eingestellt, um einen Effekt auf die Hefe beobachten zu können. Diese Mengen sind unrealistisch hoch und kommen in diesen Konzentrationen in aufgeschlossenen und hydrolysierten Lösungen nicht vor.

Der pH-Wert wurde auf 4,3 eingestellt, mit 2,5g Trockenhefe/L beimpft und dieses unter anaeroben Bedingungen bei 30°C inkubiert. Am Ende der Fermentation konnte gezeigt werden, dass die Konzentration des gebildeten Ethanol nahezu identisch war. Die Fermentationsgeschwindigkeit sank jedoch mit Anstieg der HMF bzw. Furfuralkonzentration, was in Abbildung II.3.9 dargestellt wurde.

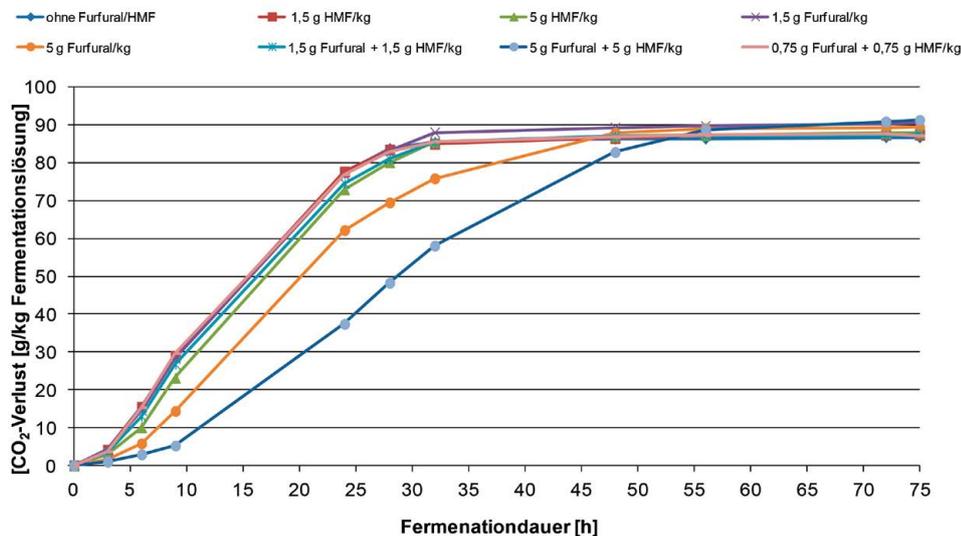


Abbildung II.3.10: Freisetzung von CO₂ während der Fermentation von Dicksaft unter anaeroben Bedingungen in Abhängigkeit von der HMF/Furfural-Konzentration

Auch hier wird deutlich, dass so unrealistisch hohe Konzentrationen von je 1,5g/kg HMF und Furfural die Fermentationsgeschwindigkeit zwar reduzieren, nicht aber die Endkonzentration an Ethanol. Vor dem Hintergrund dieser Analysen kann davon ausgegangen werden, dass HMF und/oder Furfural bei der Fermentation hydrolysiertes Biomasse keine Hemmung hervorrufen.

Einfluss von HMF und Furfural auf die aerobe Fermentation der Hefe Ethanol Red®

Potentiell könnte hydrolysierte Lignocellulose auch für die Anzucht von Hefen verwendet werden. Aus diesem Grund wurde untersucht, in wie weit HMF und Furfural das aerobe Wachstum der Industriehefe Ethanol Red® hemmt. Als Medium wurde das Zuckerrübensaft-Medium der vorherigen Versuche verwendet, dem jedoch nur 90g/L Saccharose und eine Vitaminlösung bestehend aus Biotin; Folsäure, Pyridoxine-HCl, Thiamine-HCl, Riboflavin; Nikotinsäure, D-Ca-Pantothenat; Vitamin B12, p-Aminobenzoessäure und Liponsäure zugesetzt worden waren. Zum Beimpfen wurde die Trockenhefe in MgSO₄-haltigem Wasser bei 38°C und pH 2,5 für 1 h rehydratisiert und die Fermenter damit beimpft. Die Kultivierung erfolgte über 24 h bei 30°C unter Zusatz von 0,33 VVm Luft. Die folgenden sechs Fermentationen wurden durchgeführt:

- Kontrolle ohne Zusatz
- 1,5g/L HMF
- 5,0g/L HMF
- 1,5g/L Furfural
- 5,0g/L Furfural
- 0,75g/L HMF + 0,75g/L Furfural

Die Güte der Fermentation wurde durch Bestimmung der Lebendzellzahl bzw. Gesamtzellzahl ermittelt. Dieses erfolgte mit Hilfe eines Schnellbestimmungsgeräts, dem sog. Nucleocounter. Wie aus der folgenden Abbildung II.3.10 hervorgeht, konnte eine signifikante Hemmung des Wachstum der Hefen unter aeroben Bedingungen nachgewiesen werden.

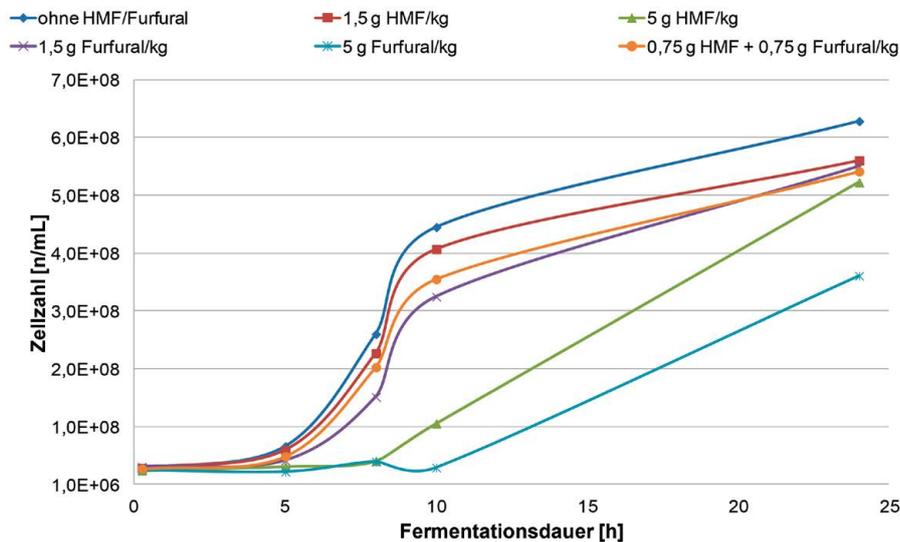


Abbildung II.3.11: Zunahme der Lebendzellzahl der Hefe Ethanol Red® über die Fermentationszeit von 24 h in Abhängigkeit von der HMF- und/oder Furfuralkonzentration

Alle Fermentationen wurden mit etwa 10^7 Zellen/mL beimpft. Ohne Zusatz von Hemmstoffen lag nach 24 h die Lebendzellzahl bei $6,2 \times 10^8$ Zellen/mL, nach Zusatz von 5 g/L Furfural wurden nur etwa $3,5 \times 10^8$ Zellen/mL erzielt. Nach Zusatz von 5 g/L HMF wurden am Ende der Fermentation zwar 5×10^8 Zellen/mL gebildet, die Abbildung II.3.10 zeigt aber deutlich, dass die Fermentationsgeschwindigkeit gegenüber der Kontrolle deutlich reduziert war. Zudem wird ersichtlich, dass bei Applikation von HMF bzw. Furfural als alleinige Substanz Furfural immer den etwas stärkeren Hemmeffekt verursachte.

Somit kann festgehalten werden, dass HMF und/oder Furfural unter aeroben Bedingungen auf die Hefe Ethanol Red® einen signifikant stärkeren Hemmeffekt als unter anaeroben Bedingungen ausüben. Ziel ist jedoch, dass die aufgeschlossene und hydrolysierte Biomasse unter anaeroben Bedingungen zu Ethanol fermentiert werden soll. Zudem enthielt die Fermentationslösung eine unrealistisch hohe Konzentration an HMF und Furfural, die in Lösungen hydrolysiertes Biomasse nicht vorkommen.

Fermentationsversuche mit dem gentechnisch veränderten Hefestamm HYD.BRF6-K3

Zu Beginn des Projekts lag in der der Arbeitsgruppe von Prof. Boles an der Universität Frankfurt bereits eine gentechnisch veränderte Hefe vor, die in der Lage ist C6 und C5 Zucker zu fermentieren. Dabei handelte es sich jedoch um einen Laborstamm, der in industriellen Prozessen nur unzureichende Aktivität und Resistenz gegenüber Hemmstoffen aufweist. Ziel des Projekts war die gentechnische Modifikation einer Industriehefe.

Der Ursprung des gentechnisch modifizierten Hefestamms HYD.BRF6-K3, war die Industriehefe Ethanol Red®. Mit dieser wurde die C5-Zucker haltige Fraktion des Weizenstrohaufschlusses (s. Tabelle II.3.1) fermentiert. Die Hefe Ethanol Red® wurde als Referenz mitgeführt. Die folgende Tabelle 3 zeigt, dass der Abbau der Xylose nur sehr langsam erfolgte, die als Referenz mitgeführte Hefe Ethanol Red® verstoffwechselte lediglich die ihr angebotene Glucose. Die Konzentration an Xylose nahm zwar über die Zeit auch ab, vermutlich wird diese als Nebenreaktion mit dem Glucosetransporter in die Zelle gebracht, dort aber nicht weiter abgebaut.

Hefe Ethanol Red												
LIMS Nr.	Dauer	Glucose HPLC-H	Fructose HPLC-H	Xylose HPLC-H	Arabinose HPLC-H	Bernsteins HPLC-H	Glycerin HPLC-H	Ameisens. HPLC-H	Essigs. HPLC-H	Ethanol HPLC-H	Butters. HPLC-H	Rest HPLC-H
	[h]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]
201118291	0	2,6	<0,1	16,2	1,4	0,2	0,1	0,4	3,1	<0,1	<0,1	12,0
201118292	5	0,2	<0,1	16,2	1,3	0,3	0,1	0,2	3,0	1,3	<0,1	11,3
201118293	25,5	0,2	<0,1	16,2	1,3	0,3	0,1	0,2	2,8	1,3	<0,1	11,2
201118294	50	0,2	<0,1	16,3	1,3	0,3	0,1	0,2	2,7	1,5	<0,1	11,0
201118295	72	0,1	<0,1	15,7	0,7	0,4	0,1	0,3	2,8	1,3	<0,1	10,5
201118729	144	0,2	<0,1	15,4	0,9	0,4	0,2	0,4	3,5	1,4	<0,1	9,7
201118730	240	0,1	<0,1	14,6	1,1	0,5	0,1	0,4	4,3	1,2	<0,1	7,5
201118951	336	0,1	<0,1	13,6	1,2	0,4	0,1	0,3	5,0	1,0	<0,1	6,8
201119179	409	0,1	<0,1	13,2	0,1	0,4	<0,1	0,4	5,9	0,9	<0,1	8,1
201119460	550	0,1	<0,1	11,9	0,1	0,4	0,1	0,4	7	0,9	<0,1	7,7

GVO-Hefe HYD.BRF6-K3												
LIMS Nr.	Dauer	Glucose HPLC-H	Fructose HPLC-H	Xylose HPLC-H	Arabinose HPLC-H	Bernsteins HPLC-H	Glycerin HPLC-H	Ameisens. HPLC-H	Essigs. HPLC-H	Ethanol HPLC-H	Butters. HPLC-H	Rest HPLC-H
	[h]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]	[g/L]
201118296	0	2,5	<0,1	16,3	1,3	0,2	0,1	0,3	3,1	<0,1	<0,1	11,5
201118297	5	0,3	<0,1	16,1	1,3	0,3	0,1	0,3	3,1	1,2	<0,1	11,3
201118298	25,5	0,2	<0,1	15,2	1,3	0,2	0,1	0,3	3,2	1,7	<0,1	11,3
201118299	50	0,2	<0,1	14,2	1,2	0,2	0,1	0,2	3,2	2,3	<0,1	10,9
201118300	72	0,2	<0,1	13,5	1,3	0,2	0,2	0,2	3,3	2,4	<0,1	10,8
201118731	144	0,2	<0,1	6,6	0,7	0,4	0,5	0,4	3,3	5,4	<0,1	10,7
201118732	240	0,2	<0,1	0,5	0,8	0,5	0,5	0,4	3,8	8,0	<0,1	8,5
201118952	336	0,1	<0,1	0,5	0,9	0,6	0,6	0,4	4,5	8,0	<0,1	7,6
201119180	409	0,1	<0,1	0,3	0,1	0,6	0,6	0,5	4,6	8,0	<0,1	7,5
201119461	550	0,1	<0,1	0,3	0,1	0,5	0,5	0,6	4,9	7,6	<0,1	6,9

Tabelle II.3.1 Chemische Analyse der vergleichenden Fermentation der nicht gentechnisch veränderten Hefe Ethanol Red® vs. der GVO Hefe HYD.BRF6-K3 auf aufgeschlossenen und hydrolysiertem Weizenstroh

Die Ursache für die langsame Fermentationszeit könnte der hohe Gehalt an Essigsäure sein, die in der Nullprobe bereits zu 3,0 g/L vorlag.

Weitere Fermentationen wurden mit einer anderen Fraktion aufgeschlossenen und hydrolysierten Weizenstrohs eines Projekts durchgeführt, welches nicht zum Projekt BIORAFFINERIE2021 zugehörig ist. Das daraus verwendete Hydrolysat enthielt mehr Glucose und weniger Essigsäure als das der TU Hamburg-Harburg. Bei vergleichenden Fermentationsversuchen blieb im Ansatz mit Ethanol Red® die Xylosekonzentration bei konstant 28-30 g/L; lediglich die Glucose (78 g/L zu Beginn der Fermentation) wurde innerhalb von 25h nahezu vollständig verstoffwechselt. Insgesamt wurden 35 g/L Ethanol gebildet. Die gentechnisch veränderte Hefe HYD.BRF6-K3 hingegen war in der Lage, die ihr angebotene Xylose innerhalb von 144 h zu Ethanol umzusetzen. Der Ethanolgehalt am Ende der Fermentation lag bei 52 g/L.

Diese Untersuchungen zeigen, dass es weiterer Optimierungen bedarf was das Fermentationsverhalten der gentechnisch modifizierten Hefe HYD.BRF6-K3 angeht. Grundsätzlich konnte aber gezeigt werden, dass der C5-Zucker Xylose in Lignocellulosehydrolysaten zu Ethanol vergoren wird, obwohl diese Hemmstoffe enthalten.

Fazit

Im Laufe des Projekts wurde eine Industriehefe dahingehend gentechnisch modifiziert, dass sie gleichzeitig C5- als auch C6-Zucker verstoffwechseln kann. Die Hefe wurde Südzucker zur Verfügung gestellt, um damit zu testen, ob der Stamm in der Lage ist, in Lösungen aufgeschlossener und hydrolysierter Biomasse Monosaccharide zu Ethanol zu fermentieren. Dieses konnte sowohl mit projekteigenen Substraten als auch mit solchen bestätigt werden, die nicht im Rahmen dieses Projekts hergestellt wurden.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Fermentationsgeschwindigkeit der Industriehefe selbst durch hohe Konzentrationen an HMF und/oder Furfural kaum gehemmt wird. Erst unrealistisch hohe Konzentrationen führten zu einer Reduktion der Ethanolbildungsrate. Somit steht ein Hefestamm zur Verfügung, der im industriellen Maßstab verwendet werden könnte.

Erfindungen bzw. Schutzrechtsanmeldungen wurden von Seiten Südzucker im Laufe des Projekts nicht getätigt.

II.3.3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Bei Beginn der Arbeiten waren keine industriell einsetzbaren Hefen verfügbar, die neben Glucose auch Pentosen, wie Xylose und Arabinose, vergären können. Diese sind jedoch für eine wirtschaftliche Vergärung von Lignocellulose Hydrolysaten unverzichtbar. Durch unsere Arbeit konnte nun ein industrieller Hefestamm bereitgestellt werden, der auch Pentosen, vor allem Xylose, effektiv zu Bioethanol fermentiert. Zudem konnte das Proof-of-Principle erbracht werden, dass Hefen auch zur Produktion von Malat/Äpfelsäure eingesetzt werden könnten. Insofern haben unsere Arbeiten einen großen wissenschaftlichen als auch potentiell wirtschaftlichen Nutzen ergeben.

II.3.4 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Es haben bereits mehrere Firmen angefragt, ob sie den entwickelten Pentose-vergärenden Hefestamm für ihre Zwecke testen können. Der Stamm soll solchen Firmen zur Verfügung gestellt werden. Daraus könnte sich letztendlich sein Einsatz in industriellen Prozessen ergeben. Die Arbeiten zur Malatproduktion sollen weiter geführt werden, sodass das Problem der CO₂-Verfügbarmachung gelöst werden kann. Daraus könnten sich noch interessante Patentanmeldungen ergeben.

II.3.5 Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt Pentose-Vergärung:

Von der Firma DSM, Niederlande, wurde auf verschiedenen Kongressen ein industrieller rekombinanter Hefestamm vorgestellt, der ähnliche Eigenschaften aufweist wie der von uns konstruierte, und der ebenfalls effektiv Pentosen vergären kann. Ähnliches gilt für die Firmen Mascoma, Cargill und Süd-Chemie/Clariant sowie einige andere Firmen in diversen Presseerklärungen, wobei über die Herkunft und die Eigenschaften der meisten Stämme nichts Genaueres bekannt ist. Daneben gibt es verschiedene neuere Publikationen über Pentose-vergärende rekombinante Hefen, wobei diese jedoch entweder den wenig-versprechenden zweistufigen Weg der Xylose-Vergärung exprimieren, keine Industriehefen darstellen oder Plasmide enthalten und somit für industrielle Fermentationen nicht stabil genug sind. Z. B.:

Zhou et al. 2012 Metab Eng. 14:611-22; Erdei et al. 2012 J Biotechnol. doi:pii: S0168-1656(12)00751-1. 10.1016/j.jbiotec.2012.12.003; Tanino et al. 2012 J Biosci Bioeng. 114:209-11.

Malatproduktion:

In der Zwischenzeit ist eine Patentanmeldung von dem Unternehmen DSM zum Thema Malat und Fumaratproduktion veröffentlicht worden: (WO 2009/065780) DICARBOXYLIC ACID PRODUCTION IN EUKARYOTES, DSM IP ASSETS B.V. Die Patentanmeldung ist insofern nicht von großer Bedeutung als wir keine heterologe PCK einsetzen müssen sondern die Hefe-eigene PCK überexprimieren können. Dass diese in ihren Eigenschaften den heterologen Enzymen nicht nachsteht, konnte neben unserer Arbeit auch in Zelle et al. (2010) Appl Environ Microbiol. 76:5383-9 gezeigt werden.

II.3.6 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr.11.

Fachzeitschriften

Oreb M, Dietz H, Farwick A and Boles E (2012), **Novel strategies to improve co-fermentation of pentoses with D-glucose by recombinant yeast strains in lignocellulosic hydrolysates.** Bioengineered 3, 347-351

Dietz H, **Weber C and Boles E (in preparation) Construction of a highly efficient, pentose fermenting industrial *S. cerevisiae* strain.**

Zimmet S, **Weber C and Boles E (in preparation) Malate fermentation by pyruvate kinase mutants of *S. cerevisiae* – a proof-of-principle.**

Vorträge

Boles E. (2012) ICY 2012 Congress, 26.-30. August 2012, Madison, USA, **Vortrag: Efficient Production of 2nd Generation Biofuels (Ethanol) and Biobased Chemicals (Phytosphingosine) by Novel Recombinant Industrial *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia ciferrii* Yeast Strains**

Boles E. (2012) 3rd CLIB-GC student symposium, 20th of August 2012, University of Düsseldorf, **Vortrag: Genetic Engineering of Industrial Yeast Strains for the Production of Bioethanol and Biobutanol from C5 and C6 sugars**

Boles E. (2012) Symposium Microbial Stress: from Molecules to Systems, May 10th-13th, 2012, Belgirate (VB) Maggiore Lake, Italy, **Vortrag: Bioethanol from Biomass: Simultaneous Fermentation of C6- and C5-Sugars under Very Harsh Conditions**

Boles E. (2011) 87. Darmstädter Seminar Abfalltechnik, 08. Dezember 2011, IWAR TU Darmstadt, Biobasierte Produkte und Energie aus Biomasse, **Vortrag: Pentose-Vergärung mit rekombinanten Hefen**

Boles E. (2011) 1st European Congress of Applied Biotechnology together with 29th DECHEMA's Biotechnology Annual Meeting, September 25-29, 2011, ICC Berlin, **Vortrag: Bioconversion of renewable raw materials**

Boles E. (2011) IBN 2011, Internationales Symposium & Verleihung des IBN Award, Neue Technologien für eine BioÖkonomie – Nachhaltigkeit bei Rohstoffen, Prozessen und Produkten, 15. Juni in Hamburg, **Vortrag: Konstruktion von industriellen Hefen zur Produktion von Bioethanol und biobasierten Grundchemikalien aus pflanzlichen Reststoffen.**

Boles E. (2011) Workshop „Effiziente Biokatalysatoren für die Weiße Biotechnologie“, Deutsche Bundesstiftung Umwelt (DBU)/Allianz Industrie Forschung (AIF), 02./03. Mai 2011, Osnabrück, **Vortrag: Neue Ansätze zum Metabolic Engineering von Hefen zur Produktion von Grund- und Spezialchemikalien**

Boles E. (2010) ESF-BU-CeBiTec Conference, Microbes and Industrial Biotechnology 2010, 21-24 November 2010, Bielefeld, **Vortrag: Genetic engineering of industrial yeast strains for the production of Bioethanol and Biobutanol from C5 and C6 sugar.**

AP II.4 Wertstoffe, Bilanzierung und Scale up

Partner

Clariant Produkte (Deutschland) GmbH

(Wichtiger Hinweis: Weiterführende Informationen zu diesem Teilarbeitspaket befinden sich auch im Abschlussbericht zu Modul IV)

Die Arbeiten zu diesem Arbeitspaket konnten trotz der verkürzten Laufzeit (ursprünglich im Antrag geplante Laufzeit 5 Jahre) des Gesamtprojekts, wie im Antrag vorgesehen, zu Beginn des dritten Projektjahrs bei SCA begonnen werden. AP II.4 stellt eine Schnittstellenfunktion bei der Überleitung zu einer integrierten Bioraffinerie unter Ausnutzung mehrerer Produktströme dar. Der Schwerpunkt seitens SCA wird dabei auf der Umsetzung der Hemicellulose (Pentose haltige Polymere) zu Wertstoffen liegen. Innerhalb dieses Arbeitspakets wurden von SCA deshalb intensive Untersuchungen zur Identifikation von Wertprodukten durchgeführt. Im Fokus stehen hier technologische Bewertungen der Herstellung von Wertprodukten aus Pentosen, wie z. B. Xylose und deren evtl. Zuckerfolgeprodukten.

Aus Lignocellulose (z. B. Stroh) kann durch Vorbehandlung und enzymatische Hydrolyse der C5-Zucker Xylose gewonnen werden. Wird die entstandene Xylose hydriert resultiert Xylitol als Produkt (Abbildung II.4.1):

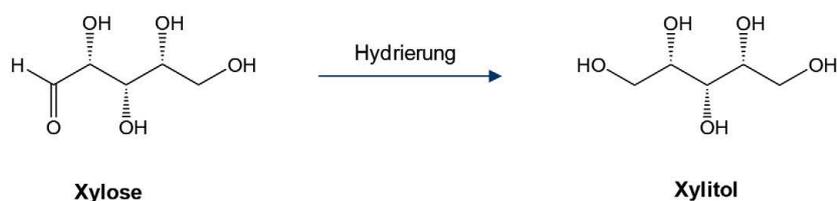


Abbildung II.4.1: Hydrierung von Xylose

In einem späteren technologischen Prozess kann Xylose mit entsprechenden Katalysatoren zu Xylitol umgesetzt werden. Anwendungsbereich ist hier das Gebiet der Nahrungsmittelindustrie. Xylitol kann als Zuckeraustauschstoff Anwendung finden.

Durch eine Dehydratisierung der Xylose kann auch Furfural als entsprechendes Zwischenprodukt resultieren. Wird dieses Furfural hydriert entsteht Furfurylalkohol (Abbildung II.4.2).

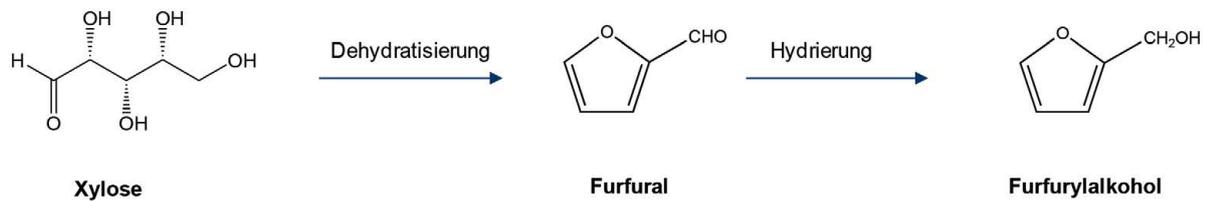


Abbildung II.4.2: Bildung von Furfurylalkohol

In einem späteren technologischen Prozess kann Xylose mit entsprechenden Katalysatoren schrittweise zu Furfurylalkohol umgesetzt werden. Anwendungsbereich ist hier die Herstellung von Furanharzen.

Nach der Identifizierung der Referenzprodukte mit den betreffenden chemischen Umsetzungsreaktionen wurden seitens SCA Laboruntersuchungen zur Umsetzung von Xylose durchgeführt. Abbildung II.4.3 zeigt das Ergebnis einer Umsetzungsreaktion eines bestimmten Katalysators (Kat. #1) von Xylose zu Xylitol.

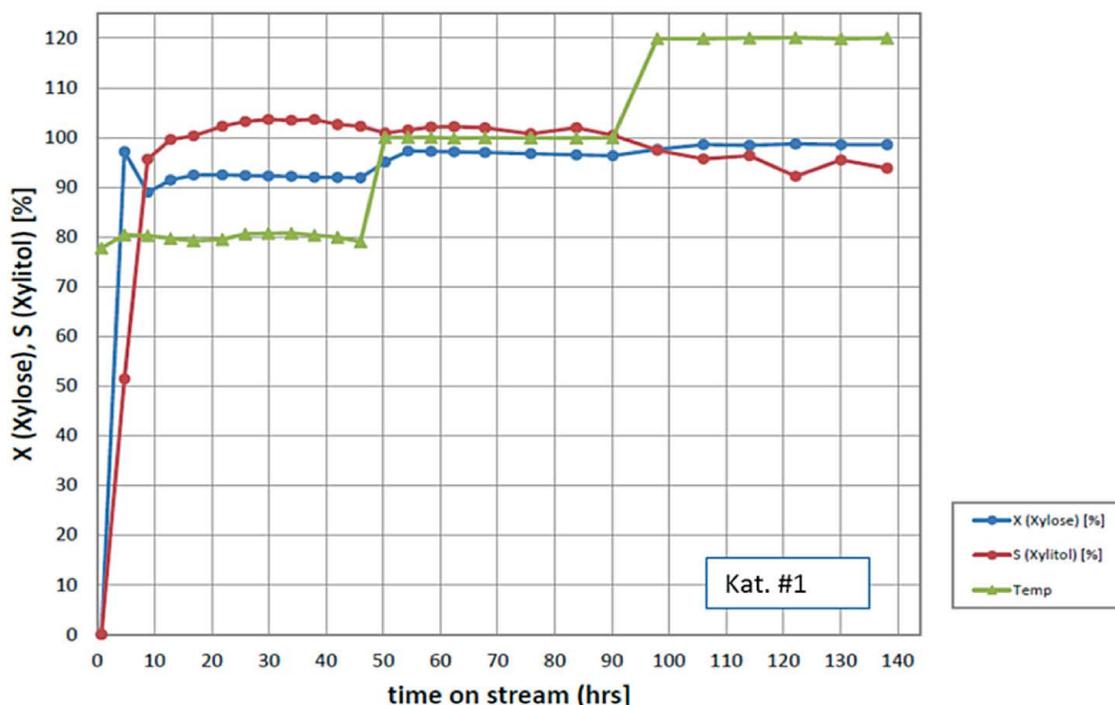


Abbildung II.4.3: Umsetzungsreaktion mit Kat. #1

Es ist zu sehen, dass in diesem Experiment eine Umsatzrate X der Xylose von 97% bei einer Selektivität S zu Xylitol von bis zu 100% erreicht wird. Es ist über die Versuchszeit keine Deaktivierung des Kat. #1 zu sehen.

In einem nächsten Schritt wurden Verfahrensfliessbilder entworfen. Abbildung II.4.4 zeigt ein erstes Verfahrensfliessbild zu Herstellung von Xylitol aus Xylose mit entsprechenden Annahmen zu einer ersten Massenbilanz.

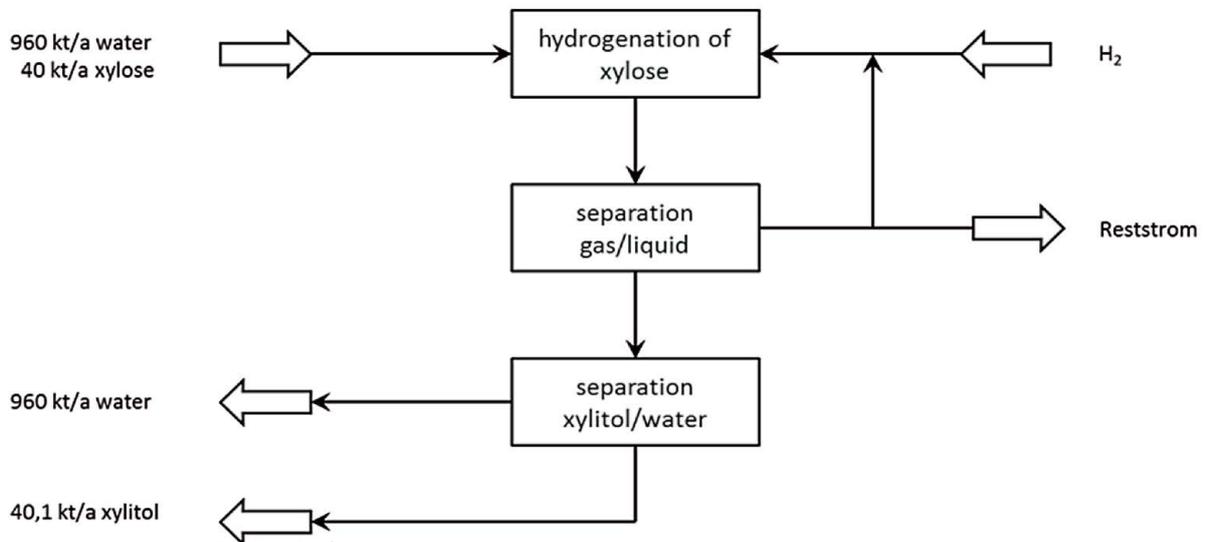


Abbildung II.4.4: Verfahrensfließbild zu Herstellung von Xylitol aus Xylose

Parallel hierzu wurden seitens SCA Überlegungen zur Herstellung von Furfurylalkohol über Furfural aus Xylose angestellt. Abbildung II.4.5 zeigt das resultierende Grundfließbild.

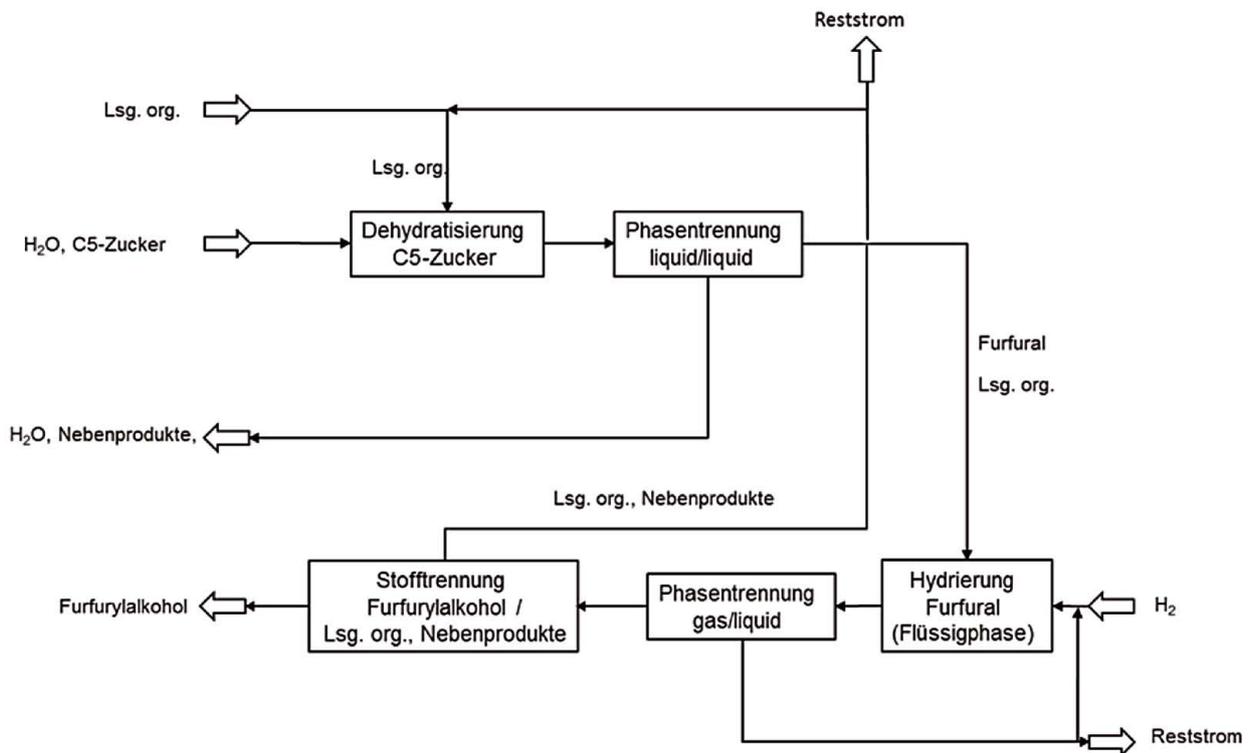


Abbildung II.4.5: Grundfließbild zur Herstellung von Furfurylalkohol aus Xylose

Die Untersuchungen zu den chemischen Umsetzungsreaktionen von Xylose wurden seitens SCA fortgeführt. Im Fokus stand hier die Hydrierung von Xylose zu Xylitol. In der industriellen Praxis wird Xylose im Batch-Verfahren mit heterogenen Katalysatoren in hoher Ausbeute zu Xylitol hydriert. Ziel ist die Entwicklung eines kontinuierlichen Verfahrens im Festbettreaktor.

Die Aktivität und Stabilität verschiedener Katalysatoren wurde mit erhöhter Konzentration Xylose (25%) untersucht. Für eine ausreichend hohe Reaktivität und Selektivität musste hier vor allem der Wasserstoffdruck erhöht werden, um möglichst viel Wasserstoff in der wässrigen Phase gelöst zu bekommen. Abbildung II.4.6 stellt die Hydrierung von Xylose zu Xylitol in einem Festbettreaktor dar. Die getesteten Katalysatoren stammen aus dem Produktportfolio der SCA, wobei es sich bei #3 um eine Neuentwicklung handelt, die unter den Reaktionsbedingungen eine erhöhte Wasserstabilität aufweisen soll.

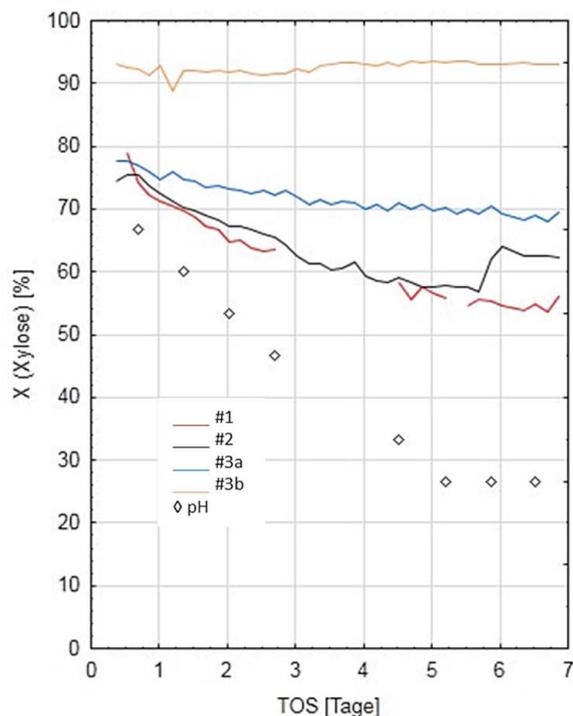


Abbildung II.4.6: Hydrierung von Xylose zu Xylitol im Festbettreaktor

Abbildung II.4.6 zeigt, dass die Aktivität aller drei Katalysatoren über den Verlauf von 1 Woche Time-on-stream (TOS) abnimmt, wobei der Umsatzverlust (X) von Katalysator #3 gegenüber den anderen beiden Katalysatoren am geringsten ist. Hinzu kommt, dass dieser Katalysator bzw. das verwendete Trägermaterial als deutlich stabiler eingestuft werden. Die Abnahme der Aktivität kann durch eine Erhöhung der Katalysatormenge kompensiert werden. Die Selektivität zu Xylitol liegt bei allen getesteten Katalysatoren im Bereich von 95–100%. Die Kontrolle des pH-Wertes in einem Festbettreaktor ist aufgrund der Reaktionstechnik schwierig. Entscheidend ist deshalb die Entwicklung eines Trägermaterials, das unter den Reaktionsbedingungen die Katalysatoren ausreichend stabilisieren kann. Entsprechende Materialien sind bei SCA in der Entwicklung.

Ein erstes Katalysator-Screening aus dem CLA Produktportfolio zur Xylose-Hydrierung konnte während der Projektlaufzeit abgeschlossen werden. Die oben beschriebenen Ergebnisse sind die Grundlage für die notwendigen Weiterentwicklungen. Diese sollen nach Abschluss des Projektes in Zusammenarbeit mit den betreffenden Business Units der CLA durchgeführt werden. Ein potentieller Anwender für definierte Hydrierkatalysatoren konnte bereits identifiziert werden.

Im Rahmen der technologischen Bewertungen zur Herstellung von Wertprodukten aus Pentosen wurden mögliche Aufarbeitungstechnologien für die Aufreinigung von Xylose-Stoffströmen zur weiteren chemischen Umsetzung zu Xylitol untersucht. Dabei wurde sowohl die Entfernung potentieller Katalysatorgifte aus dem Stoffstrom als auch die Isolierung von Xylose resp. Xylitol von den anderen anwesenden Stoffen untersucht.

In Versuchen zur Entfernung potentieller Katalysatorgifte wurden verschiedene Aktivkohlen und Bentonite untersucht. Ziel ist es, so wenig wie möglich Xylose aus der Ausgangslösung zu adsorbieren und gleichzeitig jedoch so viel wie möglich andere Komponenten aus dem Stoffstrom zu entfernen. Alle getesteten Aktivkohlen führten zu einer kompletten Klärung der Lösung im Vergleich zur Anfangslösung: Nach Inkubation mit Aktivkohle, war die anfangs bräunliche Lösung farblos und klar. Dies deutet bereits auf die Entfernung einiger Substanzen aus dem Stoffstrom hin. Ob sich darunter auch Katalysatorgifte befinden wird in weiteren Versuchen geklärt.

Wie in Abbildung II.4.7 gezeigt, wird jedoch auch ein Teil des Substrats (Xylose) bei der Klärung mit Aktivkohle adsorbiert. Dieser Teil steht für die darauf folgende chemische Umsetzung nicht mehr zur Verfügung und würde so die Produktivität des Prozesses senken. In Zukunft soll evaluiert werden, ob ein solcher Verlust für den Prozess tragbar wäre oder nicht.

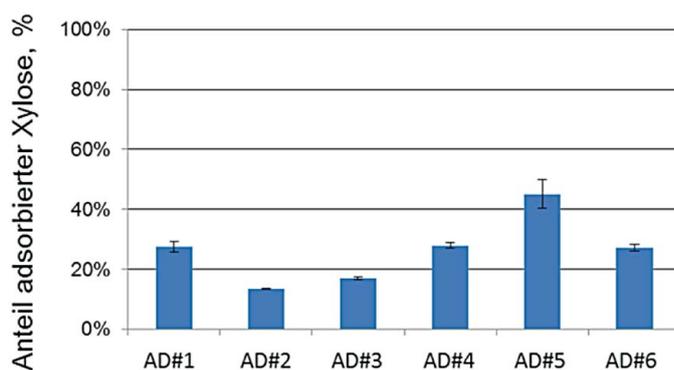


Abbildung II.4.7: Anteil der Xylose, die während des Kontaktes mit der Aktivkohle aus der Lösung adsorbiert wurde.

Eine komplementäre Versuchsreihe mit Bentoniten zeigte auch eine merkliche Klärung der Lösung nach Inkubation. Die Lösungen wurden merklich heller und klar, jedoch nicht farblos. Im Gegenzug hat keines der getesteten Materialien Xylose adsorbiert (Daten nicht dargestellt). Durch eine Klärung mit Bentoniten erfolgt also kein Verlust an Xylose.

Im Zuge der Überlegungen zu Kosten und Wirtschaftlichkeit eines potentiellen Prozesses zur Herstellung von Xylitol wurde zu Projektschluss eine umfangreiche Literaturrecherche zum

Stand der Technik durchgeführt. Auf Basis dieser Recherche wurden verschiedene Prozessrouten für die Produktion von Xylitol evaluiert.

Die möglichen Prozessvarianten zur Produktion von Xylitol unterscheiden sich z. B. in der vorgeschalteten Hydrolyse des Lignocellulosesubstrats und in der Hydrierung der Xylose zu Xylitol. Wenn z. B. eine thermische Hydrolyse des Lignocellulosesubstrats notwendig ist, spielt hier vor allem die Xyloseausbeute eine große Rolle. Hinzu kommen Heizleistung, Druck und Säuregehalt bei einer potentiellen Säurehydrolyse. Bei den in der Literatur beschriebenen Prozessen, in denen die Xylose schon frei vorliegt, erfolgt die Aufreinigung des Hydrolysats chromatographisch. Der größte Kostenpunkt ist dann das Säulenmaterial mit gegebener Stabilität und Kapazität. Die Xylose haltige Fraktion am Ende entsprechender Aufreinigungsprozesses kann dann bis zu 85–90% (w/w) Xylose enthalten.

Bei einzusetzenden chemischen Katalysatoren kann die Umsetzung in den meisten Fällen bis zur Vollständigkeit, z. B. mit Umsätzen > 99%, erfolgen. Bei einer Kostenschätzung müssen hier vor allem der Katalysator, die Ausbeute und die Produktivität betrachtet werden. Falls die Xylose nicht im Voraus von den anderen Komponenten abgetrennt wurde, entsteht aus der Hydrierung eine Mischung aus verschiedenen Polyolen. Deren Auftrennung kann auch chromatographisch erfolgen und wird durch die Trennleistung des jeweils angewendeten Verfahrens charakterisiert. Der gereinigte Xylitolstrom kann danach konzentriert und das Xylitol kristallisiert werden. Die Kosten dieses Schrittes werden durch die benötigte Heiz- und Kühlleistung, die Ausbeute des Prozesses, sowie die benötigte Reinheit des Endprodukts bestimmt.

Trotz der verkürzten Projektlaufzeit von 5 auf 3 Jahre konnten seitens SCA die im Projektantrag formulierten Ziele für AP II.4 weitestgehend erfolgreich bearbeitet werden. So wurden Referenzprodukte identifiziert und die entsprechenden Ergebnisse reproduziert. Eine erste Massenbilanz und ein Verfahrensbild konnte in AP II.4 erstellt werden. Eine erste Abschätzung der Kosten konnte wie oben beschrieben durchgeführt werden. Das Design einer Pilotanlage und eine korrespondierende Energiebilanz konnten im Rahmen des dargestellten Arbeitspakets II.4 nicht erstellt werden. Auf diese Punkte konnte jedoch im Modul IV durch das DBFZ und die Linde KCA erfolgreich näher eingegangen werden (siehe Modul IV). Ähnliches gilt für den ursprünglich im Jahr 5 geplanten Punkt der Anlagengröße und deren Rentabilität.

Modul III

Weitere Wertprodukte

AP III.1 „Nutzung des Lignins“

Projektpartner mit Förderkennzeichen

Evonik Industries AG (Förderkennzeichen 0315559 G)

Johann Heinrich von Thünen-Institut – Institut für Holztechnologie und Holzbiologie (Förderkennzeichen 0315559 J)

TUHH – Institut für Feststoffverfahrenstechnik und Partikeltechnologie/AG Heinrich (Förderkennzeichen 0315559 A)

TUHH – Institut für Technische Biokatalyse/AG Liese (Förderkennzeichen 0315559 A)

TUHH – Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft/AG Kaltschmitt (Förderkennzeichen 0315559 A)

Autoren

TAP III.1.1 Prof. Stefan Heinrich, Dr. Ernst-Ulrich Hartge, Dipl.-Ing. Miika Franck (alle TUHH – Institut für Feststoffverfahrenstechnik und Partikeltechnologie), Dr. Dietrich Meier (von Thünen-Institut)

TAP III.1.2 Prof. Martin Kaltschmitt, Dipl.-Ing. Hannes Wagner (beide TUHH – Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft)

AP III.2: Dr. Marrit Eckstein, Dr. Martin Schilling (beide Evonik), Prof. Andreas Liese, Dipl.-Ing. Britta Lämmerhirt, Dipl.-Ing. Bastian Kannengiesser (alle TUHH – Institut für Technische Biokatalyse)

I. Kurze Darstellung

Aufgabenstellung

Um dem durch die ökonomischen Rahmenbedingungen zunehmenden Druck hin zu einer integrierten Bioraffinerie adäquat Rechnung zu tragen, ist es das Ziel dieses Moduls, Prozesse, Verfahren und Konzepte zu erarbeiten, um neben Bioethanol und Futtermitteln zusätzlich weitere Produkte zu erzeugen, die zur additiven Wertschöpfung des Prozesses beitragen können. Hierzu wird zum einen die Überführung des als Rückstand aus dem Lignocellulose-Aufschluss verbleibenden Lignins, das heute zum größten Teil zur Energiebereitstellung durch Verbrennung genutzt wird, in höherwertige Produkte untersucht. Im Rahmen dieses Projektes wird die Erzeugung von Phenolen als Basischemikalien durch Pyrolyse untersucht, werden die thermo-chemische Vergasung von Bioraffinerie-Rückständen und die Bereitstellung von flüssigen und gasförmigen Energieträgern sowie die Versorgung der Bioraffinerie mit Strom und Wärme über geeignete Kraft-Wärme-Kopplungs-Optionen untersucht. In diesem Zusammenhang sollen mögliche Konzepte – bestehend aus Biomassevorbehandlung, Biomassevergasung, Rohgasreinigung und Gasnutzung (z. B. Gasmotor) bzw. Biomassevorbehandlung, Biomassevergasung, Rohgasreinigung, Synthese und Rohproduktaufbereitung – erstellt sowie in Bezug auf Stoff- und Energieströme bilanziert werden.

Das zweite Arbeitspaket in diesem Modul beschäftigt sich mit der alternativen Nutzung der Cellulose als Basis zur Synthese von Cellulose-Estern. In diesem Arbeitspaket wird hierzu die

biokatalytische Fraktionierung von Cellulose zu Bruchstücken durch Hydrolyse in wässrigen Medien und die enzymatische Acylierung von Cellulose in ionischen Lösungsmitteln untersucht. Weiterhin sollen geeignete Reaktorkonzepte entwickelt sowie die erhaltenen Produkte anwendungstechnisch untersucht werden.

Planung und Ablauf des Vorhabens

Im TAP III.1.1 hat es sich als notwendig erwiesen, die Versuchsanlage von Grund auf neu zu bauen, anstatt die bestehende Anlage wie ursprünglich geplant, nur um den Verbrennungsreaktor zu erweitern. Es hat sich bereits zu Beginn der Projektlaufzeit bei den ersten Serienmessungen erwiesen, dass sich die kleine, bestehende Anlage nicht stabil im Dauerbetrieb betreiben lässt und aufgrund des kleinen Durchmessers auch von der Strömungsmechanik her Probleme bereitet. Da insbesondere für den Kreislaufbetrieb mit der Rezirkulation des Bettmaterials durch den Abbrandreaktor ein stabiler stationärer Versuchsbetrieb zwingend erforderlich ist, um belastbare Ergebnisse zu erhalten, wurde entschieden, die Versuchsanlage, zum Großteil aus Institutsmitteln finanziert, vollständig neu zu bauen. Diese Neuplanung und der Neubau der Anlage waren deutlich zeitaufwändiger als der geplante Umbau. Hieraus ergaben sich gegenüber dem ursprünglichen Zeitplan Verzögerungen, die eine kostenneutrale Verlängerung notwendig machten. Die anderen Arbeitspakete im Modul III.1.1 wurden entsprechend dem Zeitplan bearbeitet bzw. sind früher als geplant fertig gestellt worden.

Leider ist nach Inbetriebnahme und ersten Versuchen an der neu erstellten Technikumsanlage die Nachbrennkammer, die als nachgeschalteter Apparat für die Pyrolyseanlage genutzt wurde und ohne die kein sicherer Betrieb der Pyrolyseanlage möglich ist, beschädigt, sodass während der Projektlaufzeit keine Versuche zur Zugabe von Wasserstoff, wie sie im WP 6 geplant waren, durchgeführt werden konnten.

Das TAP III.1.2 Thermo-chemische Ligninvergasung wurde ursprünglich für den Zeitraum 01.08.2009 – 31.07.2012 geplant. Die wissenschaftlichen Arbeiten wurden mit der Einstellung eines wissenschaftlichen Mitarbeiters zum 16.10.2009 begonnen. Aufgrund von 2 Monaten Elternzeit ergab sich eine weitere Projektverzögerung, so dass das Vorhaben bis zum 31.12.2012 kostenneutral verlängert wurde.

Auch im TAP III.2.1 gab es Abweichungen im Ablauf gegenüber der ursprünglichen Planung. Die Arbeiten zur *in-situ*-Prozessanalytik mit der FTIR-Technologie wurden vorgezogen. Die Arbeiten zur reaktionstechnischen Untersuchung der Acylierung von Cellulose wurden deshalb zeitlich etwas später begonnen. Die Untersuchungen mit ionischen Flüssigkeiten wurden eingestellt und durch die Fraktionierung von Cellulose zu Bruchstücken durch enzymatische Hydrolyse ergänzt.

Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

TAP III.1.1 Bei der Pyrolyse wird Lignin bei Temperaturen von ca. 500 bis 700°C bei Abwesenheit von Sauerstoff zu flüssigen (Bio-Öl) und gasförmigen Kohlenwasserstoffen und festem Koks zersetzt. Der Anteil des Bio-Öls wird hierbei durch möglichst hohe Aufheizraten (Flashpyrolyse) maximiert und kann bis zu 60% der eingesetzten Ligninmasse erreichen (Faaij, 2006). Bestimmend für die Ausbeute und die Produktzusammensetzung sind neben der Aufheizrate im Wesentlichen das Verweilzeitspektrum und die Pyrolysetemperatur (Park and Dong, 2008). Als Reaktoren werden Zyklonreaktoren (Lédé et al., 2007), Transportreaktoren (Snell, 1983) und

Wirbelschichtreaktoren (Asadullah and Rahman, 2007) eingesetzt, die alle spezifische Vor- und Nachteile hinsichtlich der Aufheizrate, des Verweilzeitenspektrum oder auch der Skalierbarkeit haben.

Das TAP III.1.2 vergleicht Verfahren und Prozesse, die bereits für andere Biomassen eingesetzt werden und für die entsprechende Daten in der Literatur vorliegen. Hier ist die vergleichende Bewertung der Verfahren für den Einsatz mit Lignin Ziel des Projektes. Das Projekt baut daher auf den im Abschnitt II „Eingehende Darstellung“ angegebenen Literaturstellen auf.

TAP III. 2 Das Interesse an der Verwendung von Biomasse zur Gewinnung von Chemikalien hat dazu geführt, dass geeignete Lösungsmittel für verschiedene Kohlenhydrate wie Zucker, Stärke oder Cellulose gefunden werden mussten, mit dem Ergebnis einer großen Anzahl von Studien (s. Reviews: Lu 2007 und Zhu 2006). Speziell die ionischen Lösungsmittel (IL) bieten ein großes Potential um Cellulose und Stärke zu lösen (Zhao 2008). Ein Nachteil einiger ionischer Lösungsmittel ist jedoch ihr starker Einfluss auf Enzyme, der zu einer Deaktivierung des Biokatalysators führen kann. Daher wurden neue ionische Lösungsmittel entwickelt, die nicht zu einer solchen Deaktivierung führen. Diese ILs bestehen z.B. aus Glycol-substituierten Kationen und Acetat-Anionen (Zhao 2008). Derartige ILs sind in der Lage bis zu 10 Gew.-% Cellulose zu lösen und als Medium für Biokatalysen zu dienen. Es stehen somit ionische Lösungsmittel zur Verfügung, die sowohl in der Lage sind Cellulose zu lösen als auch eine geringe Tendenz zur Deaktivierung von Enzymen zeigen.

Hydrolasen wie Glycosidasen, Amidasen oder Lipasen hydrolysieren in wässriger Umgebung glykosidische bzw. Esterbindungen. Diese Reaktionen können in Medien mit geringem Wassergehalt umgekehrt werden und in Kondensationsreaktionen genutzt werden. ILs können als ein solches Medium mit einem extrem geringen Wassergehalt dienen und somit für z.B. Acylierungsreaktion verwendet werden (Kaftzik 2003).

Barthel (2006) hat bereits gezeigt, dass eine chemische Acylierung von Cellulose in verschiedenen ILs möglich ist.

Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Eine enge Zusammenarbeit erfolgte insbesondere mit dem Modul IV bezüglich der Integration der Projektergebnisse in das Gesamtkonzept einer Bioraffinerieanlage. Weiterhin wurde im AP III.2 mit dem AP II.1 bezüglich der thermischen Vorbehandlung von Cellulose-Substraten für enzymatische Transformationen zusammen gearbeitet und mit dem AP II.2 bei der Entwicklung neuartiger Biokatalysatoren.

II. Eingehende Darstellung

TAP III.1.1 Energetische Optimierung der Lignin-Pyrolyse zur Gewinnung von Aromaten

Zielsetzung

Die Pyrolyse von Lignin zur Gewinnung von Aromaten, welche als Plattformchemikalien für die chemische Industrie dienen können, steht im Fokus dieses Arbeitspakets. Ein wichtiger Aspekt hierbei ist die Bereitstellung der für die endotherme Pyrolyse benötigten Energie. Im vorlie-

genden Projekt soll hierzu ein System von gekoppelten Wirbelschichten untersucht werden, bei dem die benötigte Energie durch Verbrennung des entstehenden Pyrolysekokes und ggf. die Verbrennung der bei der Pyrolyse entstehenden Permanentgase bereitgestellt werden soll (Abbildung 1). Der Wärmetransport erfolgt hierbei durch das Bettmaterial, das zwischen den beiden Wirbelschichten zirkuliert. Dadurch können Wärmeverluste minimiert und so der Prozess energetisch optimiert werden.

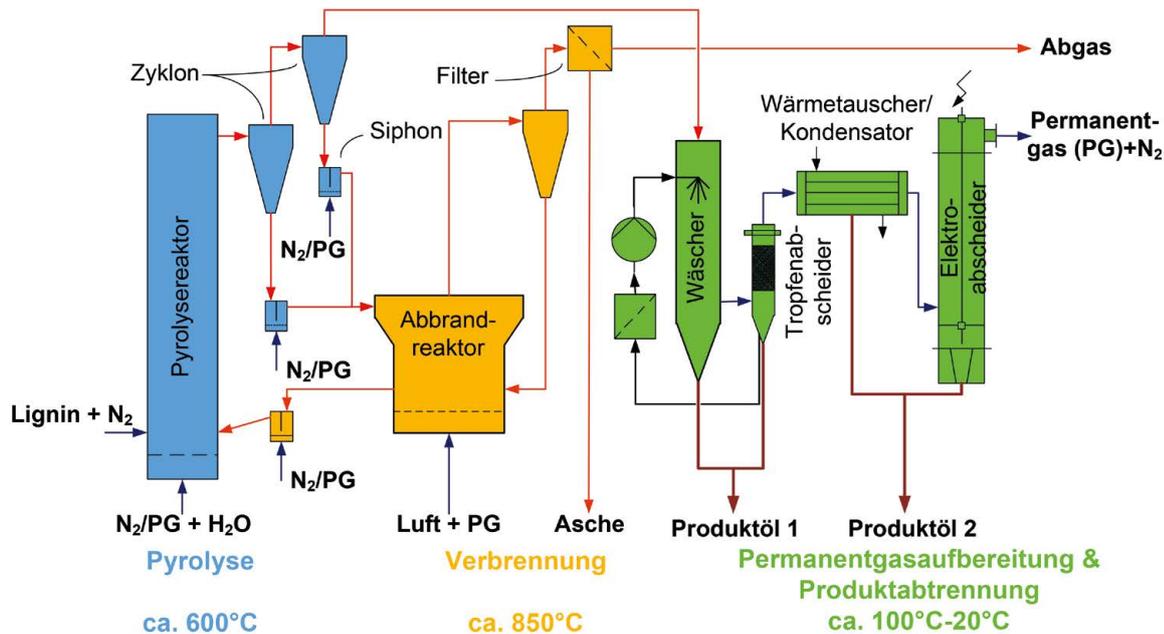


Abbildung 1: Fließschema der gekoppelten Pyrolyseanlage

Außerdem wird hierbei die Koksschicht von den Bettmaterialpartikeln abgebrannt und so katalytisch aktives Bettmaterial kontinuierlich regeneriert. Die Arbeiten im TAP sollen dazu führen, dass das Lignin ohne externe Energiezufuhr und mit einer resultierenden hohen Aromatenausbeute pyrolysiert werden kann. Aus den durch den Betrieb der Versuchsanlage gewonnenen Erfahrungen soll ein Scale-up auf den industriellen Maßstab erfolgen.

Pyrolyseversuchsanlage

Zur Durchführung der Pyrolyseversuche wurde die am SPE vorhandene Versuchsanlage verwendet. Die Anlage entspricht dem in Abbildung 1 dargestellten Fließschema, nur die in Abbildung 1 orange dargestellte Verbrennungsstufe fehlt. Hauptkomponente der Pyrolyseanlage ist eine Zirkulierende Wirbelschicht (ZWS) mit einem Steigrohrdurchmesser von 80 mm und einer Höhe von 2 m, einem Zyklon und einer Rückführung mit Siphon als Druckabschluss. Die ZWS ist in einen elektrisch beheizten Ofen eingebaut und kann so auf bis zu 950°C aufgeheizt werden. Außerhalb des Ofens folgt ein Sekundärzyklon zur weiteren Abscheidung von ausgetragenen Feststoffen. Der hier abgeschiedene Feststoff wird in einem Behälter gesammelt. Das Gas gelangt nach dem Sekundärzyklon in einen Wäscher, in welchem es schlagartig durch einsprühen und Verdampfung von Waschlösung auf Temperaturen unter 100°C und schließlich auf ca. 70–90°C abgekühlt wird. Dadurch werden weitere Reaktionen verhindert und höher siedende Pyrolyseöle auskondensiert. Über einen Tropfenabscheider strömt das Gas in einen Kühler, in

dem es auf ca. 25–30°C gekühlt wird, so dass die niedrig siedenden Pyrolyseöle auskondensiert werden. Abschließend passiert das Gas einen Elektroabscheider, in dem verbliebene Aerosole abgeschieden werden. Die verbliebenden Permanentgase werden in der Versuchsanlage in einer Nachbrennkammer verbrannt.

Analyse der Pyrolyseprodukte

Nach Abschluss des jeweiligen Versuches wird das Wirbelgut vollständig abgelassen und aufgefangen. Weiterhin wird der während des Versuches im Sekundärzyklon abgeschiedene Feststoff gesammelt. Diese beiden Feststoffproben werden gewogen und auf ihren Koksgehalt analysiert. Aus diesen Messungen wird die während des Versuches produzierte Koks menge bestimmt.

Zur Untersuchung der Pyrolyseölszusammensetzung wird ein Teil des Gas-/Dampfgemisches hinter dem Sekundärzyklon abgezweigt. Das Gemisch wird durch eine mit Isopropanol gefüllte Waschflaschenbatterie geleitet, in der die Pyrolyseöle im Isopropanol gelöst werden. Die mit Pyrolyseöl angereicherten Isopropanollösungen werden dann am von Thünen Institut (vTI) untersucht. Hierbei werden die Ölzusammensetzung (Phenole, Catechole, BTXE, usw.) und die Gesamtausbeute bestimmt.

Die Zusammensetzung der bei der Pyrolyse entstehenden Gase (CO, CO₂ und CmHn) wird einerseits online hinter dem Elektroabscheider gemessen, andererseits wird ein Teil des Gases hinter der Waschflaschenbatterie in einem Gasbeutel aufgefangen und durch Gaschromatografie analysiert, die Abgasmenge wird über eine Normblende hinter dem Elektroabscheider bestimmt.

Zur Überprüfung der Probenahme- und Analysenmethoden und zur Verbesserung der Bilanzierung wurden Vorversuche durchgeführt, bei denen die Pyrolyseanlage heiß, ohne Ligninförderung, betrieben wurde. Als Tracergasbestandteile wurden bekannte Massenströme an Wasser und CO₂ dem Fluidisationsgasstrom beigemischt. Über die Messung des CO₂-Gehaltes hinter der Waschflaschenbatterie und die Messung des Wassergehaltes in der Isopropanollösung mittels Karl-Fischer-Titration wurde die Bilanzierung validiert.

Untersuchung der Reaktionskinetik des Pyrolysekokes, Verbrennungsversuche mit Pyrolysekoks (WP1)

Zur Auslegung des Abbrandreaktors der gekoppelten Pyrolyseanlage und für das Scale-Up sind Kenntnisse über die Struktur des erzeugten Kokes, das Verbrennungsverhalten und die Verbrennungskinetik erforderlich.

Zur Bestimmung der Abbrandkinetik wurde eine weitere Versuchsanlage (Abbildung 2: Laborwirbelschicht zur Messung der Abbrandkinetikg 2) aufgebaut. Es handelt sich im Wesentlichen um eine elektrisch beheizte Wirbelschicht in der einzelne Batches des mit Koks beladenen Bettmaterials verbrannt werden. Im Abgas werden O₂, CO₂, CO und Corg gemessen.

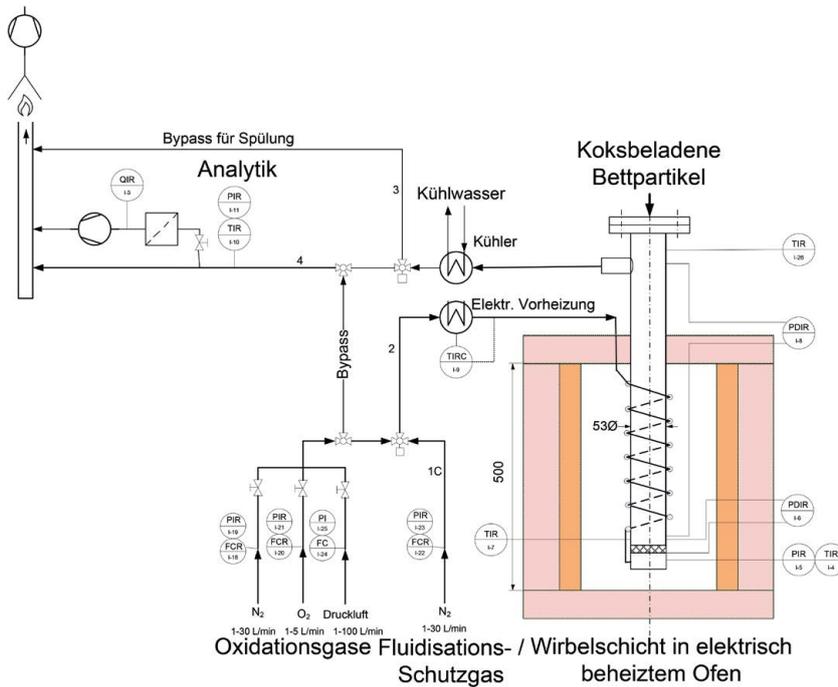


Abbildung 2: Laborwirbelschicht zur Messung der Abbrandkinetik

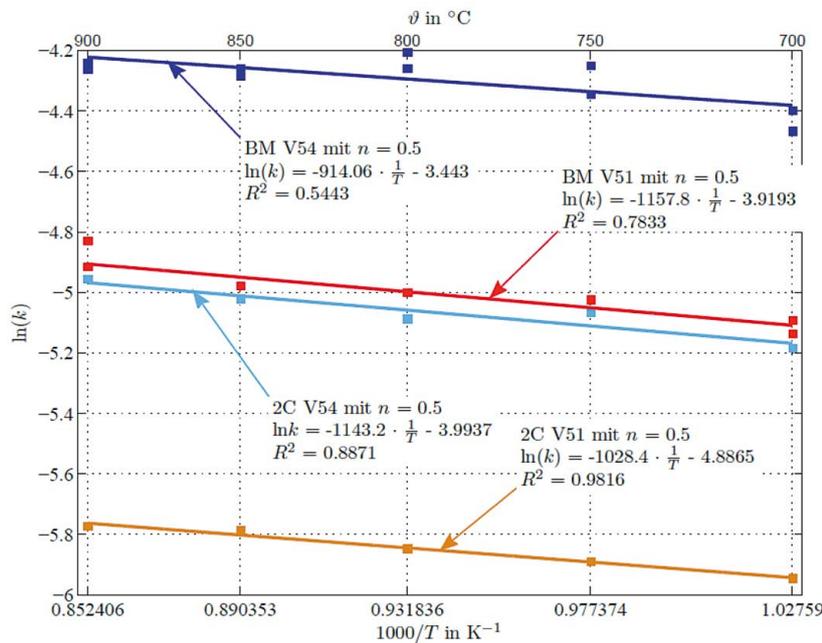


Abbildung 3: Arrheniusgeraden für die untersuchten Materialien (2C: Sekundärzyklonmaterial, BM: Bettmaterial (Mit Koks beschichteter Quarzsand))

Mit aus Pyrolyseversuchen des Kraftlignins bei 600 und 650°C gewonnenen Proben (mit Koks beschichtetes Bettmaterial und Sekundärzyklonmaterial) wurden die Kinetikmessungen in der Laborwirbelschicht durchgeführt. Es wurden jeweils in 50°C-Schritten von 700 bis 900°C die Koksproben chargenweise verbrannt und die Abgaszusammensetzung im Verlauf der Zeit

gemessen. Aus den Konzentrationen der Gase wurde dann der Koksumsatz ermittelt und die Umsatzkurve mit einem speziell für das mit Koks beschichtete Bettmaterial hergeleitetem Kinetikmodell gefittet. Die so ermittelten Arrheniusgeraden (Abbildung 3) flossen direkt in die Auslegung der Abbrandwirbelschicht ein.

Auslegung und Konstruktion der Pyrolyseanlage mit integriertem Abbrandreaktor (WP2)

Aufgrund von Problemen beim Betrieb der bestehenden Laboranlage, insbesondere der Tatsache, dass diese Anlage einerseits nicht den projektierten Durchsatz erreichte und häufig Verblockungen auftraten, wurde diese nicht durch einen Abbrandreaktor erweitert, sondern eine komplett neue autotherme Anlage mit gekoppelten Wirbelschichten (Pyrolyse- und Abbrandreaktor) geplant und aufgebaut. Ein weiteres Argument für den Neubau waren Sicherheitsüberlegungen, da der Einsatz von Wasserstoff in dem räumlich eng begrenzten Labor nicht realisiert werden kann. Da ein Großteil der Betriebsprobleme aus der nachgeschalteten Pyrolysegasaufbereitung herrührte, diese aber für die Versuchsauswertung nicht benötigt wurde, wurde entschieden bei der Technikumsanlage auf eine Aufbereitung der Pyrolysegase zu verzichten und die Produktgase, nachdem zur Analyse ein Seitenstrom entnommen wurde, in einer als Teil einer Vergasungsanlage bereits bestehenden Nachbrennkammer zu verbrennen. Die Auslegungsparameter für die neue Technikumsanlage (Abbildung 4: g 4) wurden basierend auf den in der Laboranlage gemessenen Ausbeuten, der Energiebilanz und den kinetischen Parametern des Koksabbrands bestimmt.

Der Pyrolysereaktor (PR) hat eine Höhe von 8 m und einen Innendurchmesser von 100 mm. Der Abbrandreaktor (AR) hat eine Höhe von 4 m und einen Innendurchmesser von 240 mm. Der Feststofftransport vom Riser (Pyrolysereaktor) zur Abbrandwirbelschicht erfolgt über den Zyklon Z1 und den Siphon S1, der Transport von der Abbrandwirbelschicht zum Riser über den Siphon S2. Die beiden Siphone dienen hierbei als Gassperrstrecken und werden im Reaktionssystem mit einem Inertgas, z.B. Wasserdampf, als Sperrgas fluidisiert.

Der Wärmetransport zwischen dem exothermen Abbrandreaktor und dem endothermen Pyrolysereaktor erfolgt bei dem gekoppelten Prozess durch den zwischen den Reaktoren umlaufenden Feststoff.

Untersuchung der Strömungsmechanik an der gekoppelten Pyrolyseanlage

Der Gasaustausch zwischen den beiden Reaktoren, dem Abbrandreaktor mit oxidierender und dem Pyrolysereaktor mit reduzierender Atmosphäre, muss, bei gleichzeitiger Feststoffrezirkulation, verhindert werden. Um die Sperrwirkung der Siphone und das strömungsmechanische

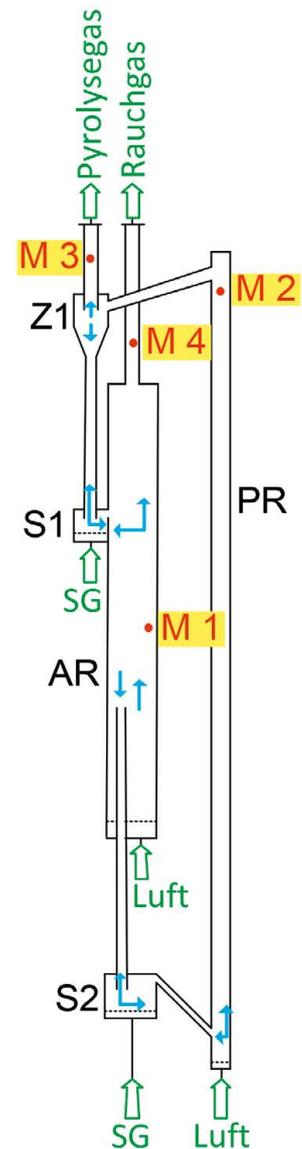


Abbildung 4:
Technikumsanlage mit
Pyrolysereaktor (PR) und
Abbrandreaktor (AR)
(M1 bis M4: Messstellen)

Betriebsverhalten des gekoppelten Wirbelschichtsystems zu untersuchen, wurde zusätzlich ein Plexiglas-Kaltmodell des Pyrolysesystems im Maßstab 1:1 aufgebaut. Da beim Kaltmodell nur das strömungsmechanische Betriebsverhalten und die gaseitige Entkopplung betrachtet werden, erfolgt die Fluidisierung des Pyrolysereaktors und des Abbrandreaktors mit Luft.

Zur Untersuchung der gaseitigen Entkopplung wurde in jeweils einen Siphon des Kaltmodells CO₂ als Sperrgas (SG) (vgl. Abbildung 4 g 4) eingedüst und die CO₂-Konzentrationen stromabwärts im Pyrolysereaktor und im Abbrandreaktor (Messstellen M1 bis M4) gemessen. Die Gasgeschwindigkeiten im Pyrolysereaktor betragen bis zu 7 m/s und im Abbrandreaktor bis zu 0,5 m/s. Als Parameter wurden der umlaufende Feststoffmassenstrom im Pyrolysereaktor und das Feststoffinventar variiert.

Die Ergebnisse der Messungen am Kaltmodell haben ergeben, dass bei einem Feststoffinventar von 100 kg sich ein stabiles strömungsmechanisches Betriebsverhalten einstellt. Weiterhin zeigen die Versuche mit dem genannten Inventar, dass in Abhängigkeit der Betriebsbedingungen ca. 10–40% des am Siphon S2 zugeführten Sperrgases in den Abbrandreaktor und entsprechend 90–60% in den Pyrolysereaktor strömen. Bei allen untersuchten Betriebsbedingungen strömt keine Luft vom Pyrolysereaktor über S2 in den Abbrandreaktor, d.h., dass bei allen Bedingungen die geforderte gaseitige Sperrwirkung sichergestellt ist.

Am Siphon S1 ergaben die Messungen hingegen, dass bis zu 3% des Gases aus dem Pyrolysereaktor zusammen mit dem rezirkulierenden Feststoffstrom über Z1 und S1 in den Abbrandreaktor fließen. Diese 3% entsprechen im Reaktionssystem direkt einem zu verhindernden Verlust an Pyrolysegas. Aus diesem Grund wurde das Design des Siphons S1 verändert. Durch diese Modifikation konnte der Falschlufanteil unter 1,2% gedrückt werden (siehe Abbildung 5).

Die Zirkulationsrate des Feststoffs wurde für Feststoffinventare von 80–100 kg bestimmt (vgl. Abbildung 6). Es zeigte sich ein stabiler Betrieb in einem breiten Betriebsbereich (Fluidisationsgeschwindigkeit, Inventar, Sperrwirkung). In diesem stabilen Bereich ergab sich ein Feststoffmassenstrom, der ausreicht, um den Wärmetransport in den Pyrolysereaktor zur gewährleisten.

Die Ergebnisse der Versuche am Kaltmodell flossen direkt in eine geänderte Dimensionierung und in die konstruktive Veränderung der gekoppelten Pyrolyseanlage ein.

Die autotherme Pyrolyseanlage wurde in Betrieb genommen und bei Betriebstemperaturen (600 bis 800°C) stabil betrieben. Zur Messung des Verlustes von Pyrolysegasen durch Abbrand im Abbrandreaktor, wurde der Schlupf von Pyrolysegas zwischen Pyrolyse- und Abbrandreaktor bei unterschiedlichen Fluidisationsgeschwindigkeiten u_{PR} bestimmt. Analog wurde der maximale Schlupf von Verbrennungsluft zwischen Abbrand- und Pyrolysereaktor gemessen. Hierzu wurde der Pyrolysereaktor mit Luft und der Abbrandreaktor mit einer CO₂-/Wasserdampfemischung fluidisiert und die Konzentrationen von O₂ bzw. CO₂ im jeweils anderen Reaktor gemessen. Als Sperrgas in den Siphonen diente Wasserdampf. Es ist in Abbildung 7: Gasaustausch zwischen Pyrolysereaktor PR und Abbrandreaktor ARg 7 zu erkennen, dass im Vergleich zum Kaltmodell ein deutlich geringerer Anteil der Pyrolyseprodukte (0,38–0,6%) in den Abbrandreaktor gelangen.

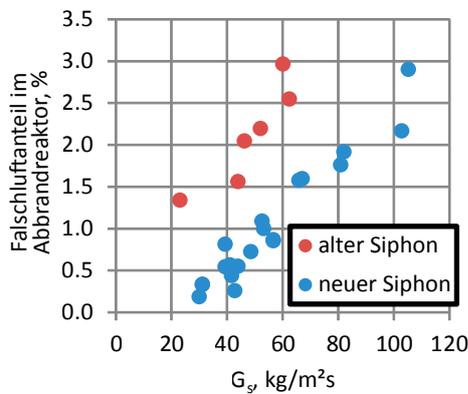


Abbildung 5: Verluststrom (Gas und Dampf) vom Pyrolysereaktor PR in den Abbrandreaktor AR in Abhängigkeit des flächenbezogenen Feststoffmassenstroms

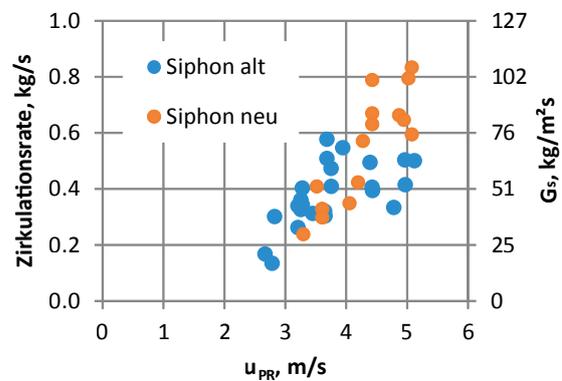


Abbildung 6: Zirkulationsrate und flächenbezogener Feststoffmassenstrom im PR G_s in Abhängigkeit der Fluidisationsgeschwindigkeit u_{PR}

Nach Fertigstellung der Technikumsanlage waren Serienversuche in dieser Anlage geplant. Aufgrund eines Defektes in der Nachbrennkammer konnten jedoch während der Projektlaufzeit keine verwertbaren Pyrolyseversuche an dieser Anlage mehr gefahren werden. Die im Folgenden gezeigten Untersuchungen mußten daher alle an der Laboranlage durchgeführt werden.

Serienversuche zur Ligninpyrolyse

Es wurden Serienversuche mit zwei unterschiedlichen Ligninen, Kraft- und Hydrolyselignin, durchgeführt. Das Kraftlignin besteht zu ca. 95 Gew.-% aus Lignin, während das Hydrolyselignin ca. 45 Gew.-% Lignin enthält. Die weiteren Bestandteile sind beim unvollständigen Aufschluss im Lignin verbliebene Cellulose und Hemicellulose. Die Elementaranalyse der Lignine sowie deren Wasser- und Aschegehalte sind in Tabelle 1 aufgeführt. Der Einsatz von Lignin, das von den Projektpartnern erzeugt wurde, war im Rahmen des Projektes nicht möglich, da die für die Pyrolyseversuche benötigten Mindestmengen noch nicht erzeugt werden konnten.

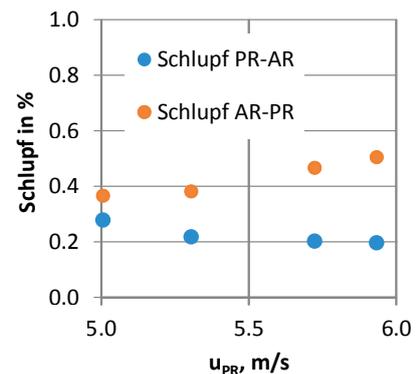


Abbildung 7: Gasaustausch zwischen Pyrolysereaktor PR und Abbrandreaktor AR

Mit dem Kraftlignin wurden Temperaturen von 550, 600, 650 und 700°C gefahren. Mit dem Hydrolyselignin wurde nur die Temperatur variiert und Versuche bei 550°C und 650°C gefahren. Für das Kraft-Lignin wurde auch die Förderrate von 2–10 kg/h variiert, als auch die Gasverweilzeit im Bereich von 0,4 und 0,8s variiert.

Tab. 1 Elementaranalyse, Wasser- und Aschegehalt von Kraft- und Hydrolyselignin

	C [%] (wf)	H [%] (wf)	O [%] (wf)	N [%] (wf)	S [%] (wf)	A1 [%] (wf)	W2 [%]
Kraft-Lignin	65,6	5,9	25,3	0,2	1,7	1,3	1,7
Hydrolyselignin	54,9	6,1	36,1	0,2	0,3	2,3	2,1

¹A: Aschegehalt ²W: Wassergehalt

Die Ausbeuten der Pyrolyseprodukte (Gas, Öl und Koks) sind für die Serienversuche bei unterschiedlichen Temperaturen in g 8 aufgetragen. Es ist zu erkennen, dass das Optimum der Ölausbeute vom verwendeten Lignin abhängt. Das Öl beinhaltet bezogen auf die zugeführte Ligninmenge bei allen Versuchen zwischen 1–5 Gew.-% Phenole (und Phenolderivate) und 0–10 Gew.-% Dihydroxyverbindungen.

Bei der Variation der Förderrate des Lignins ergibt sich bei einer Förderrate von 10 kg/h die höchste Aromatenausbeute von 12,5 Gew.-% bezogen auf die eingesetzte Ligninmenge bei gleichbleibender Ölausbeute im Vergleich zu der niedrigen Förderrate von 2 kg/h (vgl. g 9).

Bei einer Halbierung der Gasverweilzeit von ca. 0,8 s auf 0,4 s steigt die Ölausbeute um ca. 72%, wobei die Aromatenausbeute ebenso stark zunimmt (Abbildung 10). Offensichtlich treten nach der Freisetzung der Pyrolyseöle Folgereaktionen auf, in denen die Öle gecrackt und zu kurzketigen, gasförmigen Kohlenwasserstoffen zersetzt werden. Bei einer Verweilzeitverkürzung treten diese Folgereaktionen weniger stark auf.

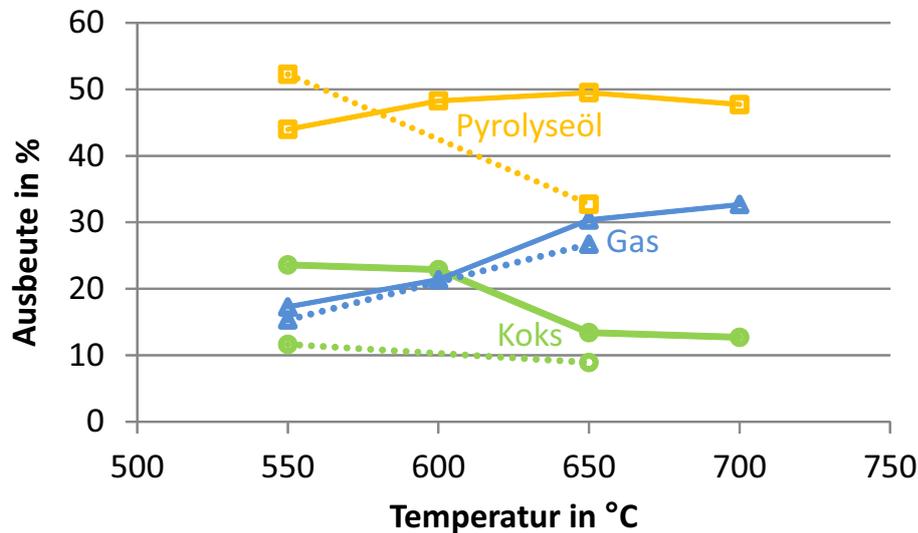


Abbildung 8: Ausbeuten von Pyrolyseöl, Pyrolysegas und Koks für Kraft-Lignin (durchgezogene Linien) und Hydrolyselignin (gepunktete Linien) in Abhängigkeit der Temperatur

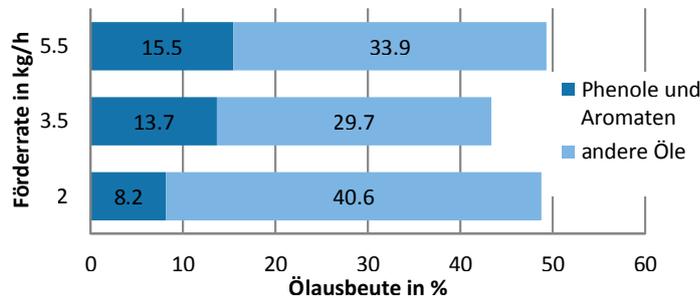


Abbildung 9: Einfluss der Förderrate auf die Pyrolyseölausbeute

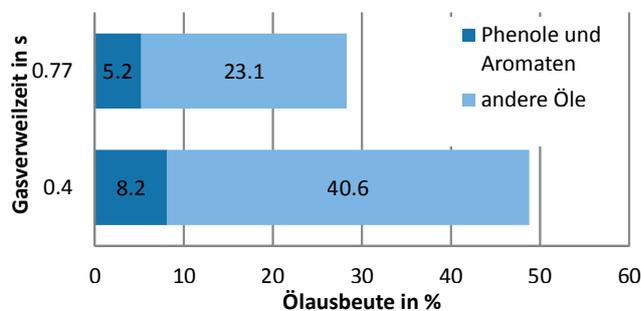


Abbildung 10: Einfluss der Gasverweilzeit in der heißen Reaktionszone auf die Pyrolyseausbeute

Untersuchung des Einflusses von Koks auf die Ölausbeute (WP3)

Aufgrund von katalytischen Eigenschaften des Koks kann befürchtet werden, dass dieser einen negativen Einfluss auf die Pyrolyseölausbeute hat. Dies kann neben der Energiebereitstellung und der Notwendigkeit im kontinuierlichen Betrieb Feststoffmasse aus dem Wirbelbett auszuschleusen, ein weiterer Grund für den kontinuierlichen Koksabbrand sein. Zur Untersuchung des Einflusses der Koksbeladung auf das Produktspektrum wurden daher Versuche mit in zeitlicher Abfolge erfolgten Probenahmen (mit zunehmender Versuchsdauer akkumuliert der Koks im Reaktor) durchgeführt.

Der Einfluss von Koksmaterial auf die Pyrolyseölausbeute wird aus Abbildung 11: Ölausbeute für Kraft- und Hydrolyselignin in Abhängigkeit der Pyrolysedauer (Koksbeschichtung)¹⁰ ersichtlich. Es sind die Ölausbeuten bei 3 zeitlich nacheinander erfolgten Probenahmen für Kraft- und Hydrolyselignin dargestellt. Zum Vergleich ist die unter der Annahme einer gleichmäßigen Beschichtung der Bettpartikeln berechnete Koksschichtdicke dargestellt. Die Schichtdicke steigt mit zunehmender Zeit durch Akkumulation des Koks in der Pyrolysewirbelschicht an (Abbildung 11: Ölausbeute für Kraft- und Hydrolyselignin in Abhängigkeit der Pyrolysedauer (Koksbeschichtung)¹⁰). Da die Koksausbeute beim Kraft-Lignin durch den hohen Celluloseanteil des Hydrolyselignins ungefähr doppelt so groß wie beim Hydrolyselignin ausfällt, wächst die Koksschichtdicke dem Modell entsprechend ca. doppelt so schnell an. Es ist zu erkennen, dass mit zunehmender Versuchsdauer (Koksbeladung der Partikel) die Pyrolyseölausbeute sowohl für Kraft-Lignin als auch für Hydrolyselignin deutlich abnimmt.

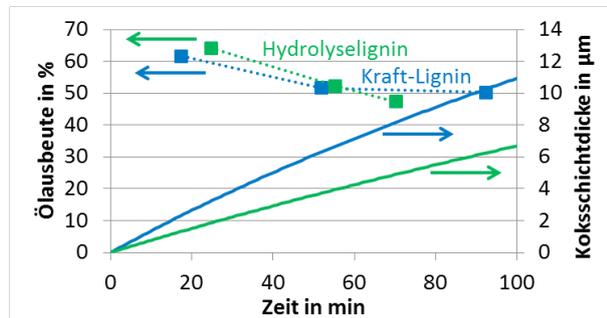


Abbildung 11: Ölausbeute für Kraft- und Hydrolyselignin in Abhängigkeit der Pyrolysedauer (Koksbeschichtung)

Versuche zur Rezirkulation von Pyrolysegas (WP4)

Aus wirtschaftlichen Gründen erscheint es sinnvoll, statt eines zusätzlichen Inertgases (Stickstoff oder Wasserdampf) einen Teil des produzierten Pyrolysegas zu rezirkulieren und zur Fluidisation im Pyrolysereaktor zu nutzen. Um den Einfluss einer solchen Rezirkulation auf die Ausbeuten zu untersuchen, wurden an der Laboranlage zunächst Versuche mit den Hauptkomponenten des Pyrolysegas durchgeführt. Im Pyrolysegas befinden sich hauptsächlich CO, CO₂ und CH₄ sowie weitere Kohlenwasserstoffe. Durch Zugabe von CO₂ und CH₄ zum Fluidisationsgas bei 650°C wurde jeweils der Einfluss für diese Gase bestimmt.

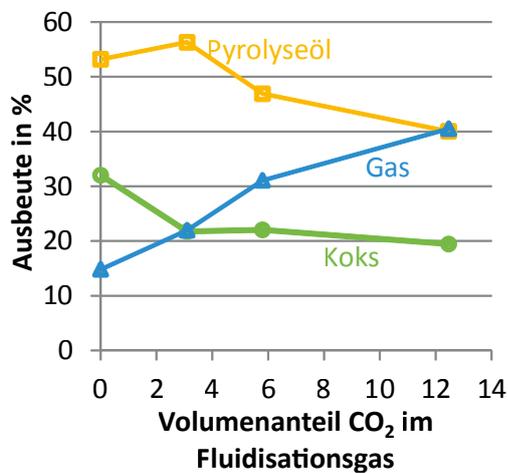


Abbildung 12: Ausbeuten von Pyrolyseöl, Pyrolysegas und Koks in Abhängigkeit des CO₂-Anteils im Fluidisationsgas

Die Ergebnisse sind in Abbildung 12: Ausbeuten von Pyrolyseöl, Pyrolysegas und Koks in Abhängigkeit des CO₂-Anteils im Fluidisationsgas¹² und AAbbildung 13: Ausbeuten von Pyrolyseöl, Pyrolysegas und Koks in Abhängigkeit des CH₄-Anteils im Fluidisationsgas³ dargestellt. Für die Rezirkulation von CO₂ ist zu erkennen, dass mit steigendem Anteil von CO₂ im Fluidisationsgas die Ölausbeute sinkt, während die Gasausbeute steigt und die Koks ausbeute auch mit steigendem CO₂-Anteil sinkt. Dies lässt sich durch die zunehmende Vergasungsreaktion $C + CO_2 \rightarrow 2 CO$ erklären.

Mit der Rezirkulation von Methan ist eine steigende Pyrolyseölausbeute zu beobachten, was hauptsächlich mit dem Abfall der Koks ausbeute korreliert. Hier dient offensichtlich das Methan

als Wasserstoffdonator.

Da für die Laboranlage kein geeignetes Gebläse zur Verfügung stand, mit dem die feststoff- und teerbeladenen, feuchten und explosiven Gase sicher verdichtet werden konnten, konnten bisher keine Versuche mit Rezirkulation von echten Pyrolysegasen durchgeführt werden. Die erzielten Ergebnisse mit den einzelnen Hauptkomponenten deuten aber darauf hin, dass keine signifikante Änderung bzgl der Ausbeuten durch die Rezirkulationsfahrweise ergeben werden. Die Fahrweise kann aber trotzdem aus wirtschaftlichen Gründen sinnvoll sein, um Inertgase bzw. bei Wasserdampfnutzung Energie zu sparen.

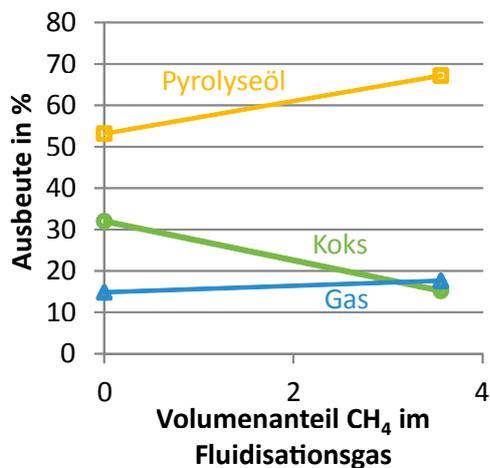


Abbildung 13: Ausbeuten von Pyrolyseöl, Pyrolysegas und Koks in Abhängigkeit des CH₄-Anteils im Fluidisationsgas

Untersuchung der Pyrolyse unter Wasserdampfatmosphäre (WP5)

Von Vergasungs- und Crackprozessen her ist bekannt, dass sich Wasserdampf positiv auf die Ausbeuten auswirken kann. Um den Einfluss von Wasserdampf auf die Ligninpyrolyse zu untersuchen, wurden daher Pyrolyseversuche mit Wasserdampfanteile im Wirbelgas von 0 und 50 vol.-% durchgeführt. Ziel ist es mittels Hydrierung von Lignin bzw. Zwischenprodukten der Pyrolyse den Öl- und insbesondere den Phenolanteil zu erhöhen.

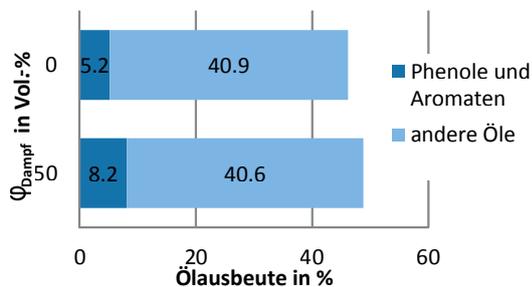


Abbildung 14: Einfluss der Volumenkonzentration von Wasserdampf im Fluidisationsgas auf die Pyrolyseölausbeute

In Abbildung 14: Einfluss der Volumenkonzentration von Wasserdampf im Fluidisationsgas auf die Pyrolyseölausbeute sind beispielhaft Ergebnisse dargestellt, die bei 650°C erzielt wurden. Es ist zu beobachten, dass die Dampfzugabe keinen signifikanten Einfluss auf die auf die pyrolysierte Ligninmenge bezogene Pyrolyseölausbeute hat, während die Aromatenausbeute von 5,2

leicht auf 8,2 Gew.-% ansteigt.. Insgesamt scheinen sich bei den Pyrolysetemperaturen nicht genügend Wasserstoffradikale zu bilden, um eine nennenswerte Verschiebung der Produktausbeuten zu bewirken. Dieser Effekt könnte bei höheren Drücken (> 5 bar) deutlich stärker auftreten.

Scale-Up und Modellierung (WP7)

Für das Scale-Up ist die Kenntnis der im gekoppelten System übertragenen Energieströme erforderlich. Die Energiebilanz ergibt sich aus den bei den Pyrolyseversuchen bestimmten anfällenden Mengen von Koks und brennbaren, nicht kondensierbaren Gasen und der für die endotherme Pyrolyse notwendigen Energie. Zur Bestimmung der Energiebilanz wurde der Brennwert des Kokes im Bombenkalorimeter bestimmt und die Pyrolyseenergie für Kraft-Lignin mittels einer DSC-Analyse abgeschätzt. Mit den Brennwerten der Fest- und Gaskomponenten ergibt sich eine Energiefreisetzung bei der Verbrennung der Nebenprodukte von 2,5 MJ/kg Lignin für den Koks und 3 MJ/kg Lignin für das Gas. Die notwendige Pyrolyseenergie ist stark abhängig von der Temperatur und kann bei 650°C mit ca. 1,5 MJ/kg Lignin abgeschätzt werden. Damit ergibt sich ein Energieüberschuss von 4 MJ/kg Lignin, mit dem Wärmeverluste ausgeglichen werden können oder auch Prozessenergie bereitgestellt werden kann.

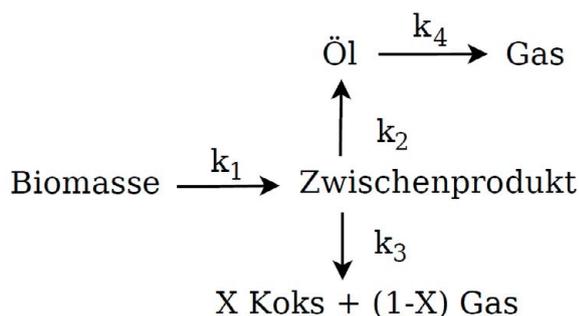


Abbildung 15: Reaktionsschema für die Pyrolyse von Biomasse von Miller und Bellan¹

Zum Scale-Up der Pyrolyseanlage wurde ein Modell des Pyrolysereaktors entwickelt und in der Programmierumgebung Matlab implementiert. Das entwickelte Modell eignet sich auch für die Fließschemasimulation, erfordert also nur kurze Rechenzeiten, berücksichtigt jedoch trotzdem die alle wichtigen Einflussparameter auf die Pyrolyse. Dazu wurde eine Parameter- und Modellstudie mit dem Ergebnis durchgeführt, dass das von Miller and Bellan¹ vorgeschlagene kinetische Modell (siehe Schema 15) besonders gut geeignet ist. Das kinetische Modell ermöglicht die Berechnung der Pyrolyseproduktausbeuten (Gas, Öl und Koks) auf Basis der Zusammensetzung der Biomasse (Cellulose, Hemicellulose und Lignin). Die Modellierung des Risers erfolgt durch ein gekoppeltes System von Rührkesselreaktoren für die Feststoffphase und Kolbenströmung für die Gasphase.

Das so entstandene Reaktormodell wurde mit Literaturwerten evaluiert. Die experimentellen Daten der Schnellpyrolyse verschiedener Autoren², welche in deren Anlagen Fichte (43% Cellulo-

¹ Miller, R.S und Bellan, J.: A Generalized Biomass Pyrolysis Model Based on Superimposed Cellulose, Hemicellulose and Lignin Kinetics. In: Combustion Science and Technology (1997), Nr. 126, S. 97-137.

² Boukis et al.: CFB air-blown flash pyrolysis Part I and Part II. In: Fuel 86 (2007), Nr. 10-11, S. 1372-1386 und S. 1387-1395.

Liden et al.: A kinetic model for the production of liquids from the flash pyrolysis of biomass. In: Chemical Engineering Communications 65 (1988), Nr. 1, S. 207-221.

Scott et al.: A second look at fast pyrolysis of biomass – the RTI process. In: Journal of Analytical and Applied Pyrolysis 51 (1999), S. 23-37.

se, 28% Hemicellulose, 29% Lignin) pyrolysierten, werden von dem Modell gut wiedergegeben (siehe Abbildung 16, links). Daraufhin wurde das Modell auf reines Lignin abgeändert und gibt den erwarteten Verlauf der Ausbeuten von Gas, Koks und Öl ebenfalls gut wieder. Die sich ergebende Ölausbeute für verschiedene Verweilzeiten und Temperaturen ist in Abbildung 16 (rechts) gegeben.

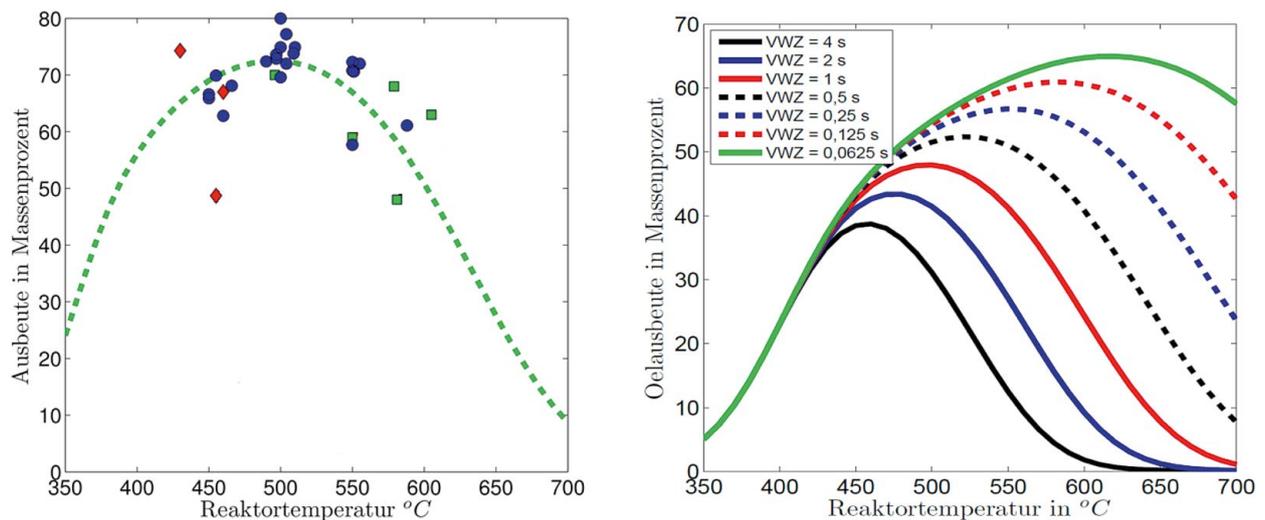


Abbildung 16: Vergleich von experimenteller Daten verschiedener Schnellpyrolyseanlagen2 mit dem am SPE entwickelten Reaktormodell (links); Einfluss der Gasverweilzeit und der Reaktortemperatur auf die Ölausbeute der Ligninpyrolyse (rechts)

Für eine technische Anlage mit einer Kapazität von 1 t/h, einer Pyrolysetemperatur von 650°C und einer Temperatur im Abbrandreaktor von 850°C ergibt sich bei einer Koksabgabe von 15% ein Koksstrom von 150 kg/h. Zum Abbrand des Koks und zur Bereitstellung der Pyrolyseenergie von 1,5 MJ/kg Lignin, also 416 kW für 1 t/h Lignin, müssen ca. 10,2 t/h Bettmaterial rezirkuliert werden. Dies entspricht einem auf den Pyrolyse-Reaktorquerschnitt (Durchmesser 0,4 m) bezogenen Massenstrom von 22 kg/(m²s). Diese Umlaufzeit liegt in einer Größenordnung, wie sie z.B. auch bei Wirbelschichtfeuerungen üblich ist, und sollte daher ohne weiteres auch in großtechnischen Anlagen realisierbar sein.

Mit den aus den Kinetikexperimenten gewonnenen Daten für die Abbranddauer der Koksbeschichtung, dem Reaktormodell für die Abbrandwirbelschicht und der erforderlichen Verbrennungsluftmenge von 0,64 kg/s ergibt sich eine erforderliche Abbrandreaktorquerschnittsfläche von 4,1 m², entsprechend einem Durchmesser von 2,3 m bei rundem Querschnitt.

Modul III: Weitere Wertprodukte		1. Jahr				2. Jahr				3. Jahr				
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	
AP III.1.1: Energetische Optimierung der Lignin-Pyrolyse zur Gewinnung von Aromaten														
WP1	Untersuchung der Reaktionskinetik des Pyrolysekokes, Verbrennungsversuche mit Pyrolysekoks	✓	✓	✓										
WP2	Auslegung und Konstruktion der Pyrolyseanlage mit integriertem Abbrandreaktor			✓	✓	✓								
M1	Versuchsanlage fertiggestellt					★								
WP3	Serienversuche zur Lignin-Pyrolyse mit Koksabbrand						✓	✓	✓					
WP4	Versuche mit partieller Rezirkulation des Pyrolysegases								✓	✓				
WP5	Untersuchung der Pyrolyse unter Wasserdampf-atmosphäre							✓	✓	✓				
M2	Optimierte Fahrweise der Pyrolyseanlage liegt vor										★			
WP6	Untersuchung der Wasserstoffzugabe									x	x			
WP7	Scale-Up										✓	✓	✓	
M3	Reaktorkonzept für technische Anlage													★

Die Schichtdicke des Kokes in der Pyrolysewirbelschicht ergibt sich unter diesen Bedingungen zu ca. 0,5 µm. Vergleicht man die Schichtdicke mit den experimentellen Daten aus Abbildung 11: Ölausbeute für Kraft- und Hydrolyselignin in Abhängigkeit der Pyrolysedauer (Koksbeschichtung)¹⁰, so ist erkenntlich, dass die Anlage damit in Bereichen hoher Pyrolyseölausbeuten gefahren werden kann.

Der Projektplan Abbildung 11 wurde bis auf WP6 eingehalten. Die Pyrolyse unter Wasserstoffatmosphäre wurde bisher aus Sicherheitsgründen nicht durchgeführt, da die Laboranlage für diese Versuche nicht vorbereitet ist. Die Versuche sollen noch nach Abschluss des Projektes in der Technikumsanlage im Rahmen der Dissertation des Projektbearbeiters nachgeholt werden.

Gegenüber dem Stand bei Antragstellung sind keine FE-Ergebnisse von dritter Seite bekannt geworden, die einen direkten Bezug auf das vorliegende Projekt haben.

Veröffentlichungen von Ergebnissen

Konferenzbeiträge

Miika Franck, Ernst-Ulrich Hartge, Stefan Heinrich, Bea Lorenz und Joachim Werther: Energetic Optimization of the Lignin Pyrolysis for the Production of Aromatic Hydrocarbons, In: Proceedings of the Tenth International Conference on Circulating Fluidized Beds and Fluidization Technology – CFB-10, Seite 241-248. Mai 2011 ISBN: 978-1-4507-7082-5

Miika Franck, Ernst-Ulrich Hartge, Stefan Heinrich, Joachim Werther, Patrick Eidam, Ingrid Fortmann und Dietrich Meier: Gewinnung von Phenolen aus Lignin durch Flash-Pyrolyse in einer zirkulierenden Wirbelschicht (ZWS) – Prozessentwicklung und Produktanalytik, In: Beiträge zur DGMK-Fachbereichstagung „Konversion von Biomassen“, Seite 35-44. März 2012 ISBN: 394-172-124-0

Poster

Miika Franck, Ernst-Ulrich Hartge, Stefan Heinrich, Joachim Werther, Dietrich Meier, Patrick Eidam: Flash-Pyrolyse zur Gewinnung von Aromaten aus Lignin, ProcessNet-Jahrestagung und 30. Jahrestagung der Biotechnologen, September 2012

TAP III.1.2 Thermo-chemische Ligninvergasung

Zielsetzung

Um neben der Cellulose auch die Lignin-Bestandteile nutzbar zu machen, werden als Teilprojekt die thermo-chemische Vergasung von Bioraffinerie-Rückständen und die Bereitstellung von flüssigen und gasförmigen Energieträgern sowie die Versorgung der Bioraffinerie mit Strom und Wärme über geeignete Kraft-Wärme-Kopplungs-Optionen untersucht. In diesem Zusammenhang sollen mögliche Konzepte – bestehend aus Biomassevorbehandlung, Biomassevergasung, Rohgasreinigung und Gasnutzung (z. B. Gasmotor) bzw. Biomassevorbehandlung, Biomassevergasung, Rohgasreinigung, Synthese und Rohproduktaufbereitung – erstellt sowie in Bezug auf Stoff- und Energieströme bilanziert werden.

Das Teilarbeitspaket III.1.2. Thermo-chemische Ligninvergasung wurde ursprünglich für den Zeitraum 01.08.2009 – 31.07.2012 geplant. Die wissenschaftlichen Arbeiten wurden mit der Einstellung eines wissenschaftlichen Mitarbeiters zum 16.10.2009 begonnen. Aufgrund von 2 Monaten Elternzeit ergab sich eine weitere Projektverzögerung, so dass das Vorhaben bis zum 31.12.2012 kostenneutral verlängert wurde.

Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Analyse der thermo-chemischen Vergasung zur Nutzung der Ligninrückstände im Rahmen der untersuchten Bioraffineriekonzepte vorgestellt. Dazu werden in enger Anlehnung an den beim PTJ eingereichten Antrag die Arbeitspakete WP1 bis WP5 dargestellt.

WP1: Evaluierung von Vergasung und Gasreinigungsverfahren in Bezug auf Bioraffinerie-rückstände

Die Anforderungen an eine Gasreinigung zur Nutzung der Produktgase in Prozessen zur Strom- und Wärmeerzeugung bzw. Verfahren zur Kraftstoffsynthese sind im Wesentlichen abhängig von der Zusammensetzung der Ligninrückstände, dem Vergasungsverfahren sowie den Technologien zur Gasnutzung.

Auf Basis einer umfangreichen Datenerhebung werden zunächst die für den untersuchten Leistungsbereich relevanten Vergasungsverfahren ermittelt und hinsichtlich ihrer Eigenschaften charakterisiert. Diese sind in Tabelle 1: Eigenschaften von ausgewählten Vergasungsverfahren

zusammengefasst.

Tabelle 1: Eigenschaften von ausgewählten Vergasungsverfahren

	Flugstrom-Vergasung	Wirbelschicht-Vergasung	Zweibett-Wirbelschicht-Vergasung
Vergasungsmittel	Luft, Sauerstoff	Luft, Sauerstoff	Wasserdampf
Wärmebereitstellung	Autotherm	Autotherm	Allotherm
Leistungsgröße	>100 MW	>10 MW	10 – 100 MW
Druck	1 – 20 bar	1 – 15 bar	1 bar
Temperatur	< 1200°C	< 950°C	ca. 850°C
Partikelgröße	< 1 mm	10 – 100 mm	10 – 100 mm
Kaltgaswirkungsgrad	ca. 80%	k.A.	ca. 75%
Gaseigenschaften			
Partikelgehalt	< 0,05 g/m ³	1 – 100 g/m ³	5 – 50 g/m ³
Teergehalt	k.A.	1 – 30 g/m ³	0,5 – 2 g/m ³
Heizwert	7 – 9,5 MJ/Nm ³ (Sauerstoff)	4 – 6 MJ/Nm ³ (Luft)	12 – 13 MJ/Nm ³

Auf Basis der im Verbundprojekt betrachteten Bioraffinerie-Konzepte kann von einer Brennstoffwärmeleistung der anfallenden Ligninrückstände im mittleren zweistelligen MW-Bereich ausgegangen werden. Damit kommen für die thermo-chemische Vergasung im Wesentlichen Flugstrom- und Wirbelschichtverfahren sowie allotherm betriebene Zweibett-Wirbelschichtverfahren in Frage. Zur Nutzung der Produktgase in einem Syntheseprozess können dabei keine Verfahren mit Luft als Vergasungsmittel eingesetzt werden, da der Luftstickstoff zu einer starken Verdünnung der Produktgase führt. Autotherme Verfahren müssen daher mit Sauerstoff betrieben werden, dessen Herstellung über eine Luftzerlegung energie- und kostenintensiv ist. In Flugstromverfahren können Feststoffe nur bei sehr kleinen Partikelgrößen eingesetzt werden. Da die Partikelgrößenverteilung der Ligninrückstände stark vom jeweiligen Vorbehandlungsverfahren und den dabei gewählten Bedingungen abhängt, ist ggf. eine weitere Aufbereitung notwendig. Beim Einsatz in Wirbelschichtverfahren besteht diese Einschränkung nicht. Damit können hier auch andere Stoffströme bis zu einer Partikelgröße von 100 mm im Vergasungsprozess genutzt werden. I. Allg. besteht für die Verfahren keine Einschränkung bezüglich des Wassergehaltes der Einsatzstoffe. Zur Steigerung der Effizienz sollte allerdings eine Trocknung auf ca. 20% Wassergehalt erfolgen.

Zur Analyse der benötigten Gasreinigungsverfahren wurden zunächst die wesentlichen Gasanforderungen für die Technologien zur Gasnutzung ermittelt. Diese sind für die Aggregate zur Stromerzeugung sowie die Verfahren zur Synthese von Kraftstoffen in Tabelle 2: Anforderungen an die Gasreinheit für Technologien zur Gasnutzung zusammengefasst.

Tabelle 2: Anforderungen an die Gasreinheit für Technologien zur Gasnutzung

	Gasmotor	Gasturbine	Synthese
Partikelgehalt	< 50 mg/Nm ³	< 30 mg/Nm ³	< 0,1 mg/Nm ³
Partikelgröße	< 3 µm	< 5 µm	k.A.
Teergehalt	< 100 mg/Nm ³	< 5 mg/Nm ³	< 0,1 mg/Nm ³
NH ₃	< 50 mg/Nm ³	k.A.	< 1 ppm
Schwefel	< 1150 mg/Nm ³	< 100 mg/Nm ³	< 0,1 ppm
Halogene (Cl, F, Br)	< 100 mg/Nm ³	< 0,21 mg/Nm ³	< 0,1 ppm

Alkalien (K, Na)	< 5 mg/Nm ³	< 0,25 mg/Nm ³	< 10 ppb
------------------	------------------------	---------------------------	----------

Demnach müssen in Verfahren zur Synthese von Kraft- bzw. Chemie-Rohstoffen deutlich niedrigere Konzentrationen an Schadkomponenten im Vergleich zu einem Einsatz in einem Gasmotor oder einer Gasturbine erreicht werden. Dies lässt sich auf die sehr empfindlichen Katalysatoren im Syntheseprozess zurückführen.

Die Aufwendungen für eine Gasreinigung zur Reduzierung der Schadstoffkonzentrationen hängen insbesondere für die Komponenten Ammoniak, Schwefel, Halogene sowie Alkalien von der Zusammensetzung der Ligninrückstände ab. Diese werden im Wesentlichen vom Aufschlussverfahren im Ethanol-Prozess beeinflusst. Eine detaillierte Betrachtung des Verbleibs der ursprünglich in der Biomasse enthaltenen Spurenelemente im Verlauf des gesamten Bioraffinerieprozesses erfolgt an dieser Stelle nicht. Es ist allerdings zu erwarten, dass im Aufschlussverfahren ein Großteil der mineralisch gebundenen Komponenten im Hydrolysat gelöst ist und damit bei einer mechanischen Entwässerung der Ligninrückstände nicht im Feststoff zurückbleibt. Für das hier exemplarisch untersuchte Lignin aus Weizenstroh kann somit von tendenziell niedrigeren Konzentrationen an Schwefel, Halogenen sowie Alkalien im Vergleich zum Ausgangsmaterial ausgegangen werden.

Der Gehalt an Partikel sowie Teerverbindungen wird im Wesentlichen durch das Vergasungsverfahren bestimmt. Der Aufwand für eine Gasreinigung kann damit als vergleichbar zu dem beim Einsatz von Holzhackschnitzeln eingeschätzt werden.

WP2 Konzepterstellung

Im Arbeitspaket WP2 werden Konzepte zur Vergasung von ligninreichen Rückstandsfraktionen aus den im Verbundprojekt betrachteten Bioraffinerie-Prozessen entwickelt. Neben der gekoppelten Erzeugung von Strom und Wärme werden Konzepte zur Synthese von Kraft- bzw. Chemierohstoffen (Synthetic Natural Gas: SNG, Methanol) entwickelt. Die einzelnen Konzepte sind in Abbildung 1 schematisch dargestellt und werden nachfolgend beschrieben. Detaillierte Fließ-

bilder werden bei der Bilanzierung der jeweiligen Konzepte vorgestellt.

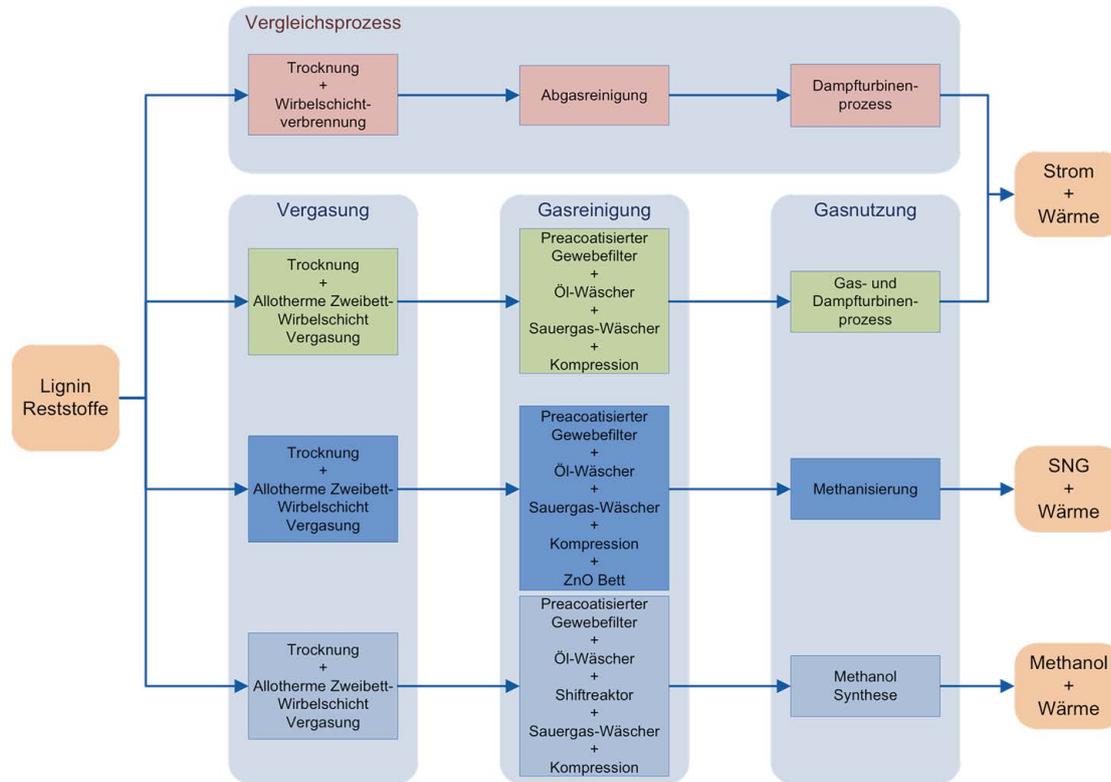


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Konzepte zur Erzeugung von Strom und Wärme bzw. zur Kraftstoffsynthese

Verbrennung zur KWK (Vergleichsprozess)

Alternativ zur vergasungsbasierten Strom- und Wärmeerzeugung steht die konventionelle Verbrennung und Stromerzeugung in einem Dampfkraftprozess. Für die Erzeugung von Strom und Wärme wird ein derartiger Vergleichsprozess bestehend aus Trocknung, Verbrennung, Abgasreinigung sowie einem Dampfturbinenprozess definiert.

Vergasung zur KWK

Für die Konzepte zur Vergasung der Ligninrückstände wird für den im Kontext Bioraffinerie relevanten Leistungsbereich die allotherme Zweibett-Wirbelschicht-vergasung nach dem Prinzip „Güssing“ ausgewählt. Die Wirbelschichttechnologie erlaubt dabei eine größere Variation der Brennstoffeigenschaften (Wassergehalt, Partikelgröße, etc.) im Vergleich zum Flugstromverfahren. Darüber hinaus bietet die allotherme Betriebsweise die Möglichkeit ein hochwertiges Produktgas mit sehr niedrigen Anteilen an Inertgasen ohne den Einsatz einer Luftzerlegungsanlage zu erzeugen. Zur Steigerung der Effizienz erfolgt vor dem Einsatz im Vergasungsprozess eine Trocknung auf einen Wassergehalt von 20%. Die Reinigung der Produktgase wird in einem preacoatisierten Gewebefilter zur Abscheidung von Partikeln und einem Teil der Teer-Verbindungen realisiert. Weitere Teere werden in einem Wäscher auf Ölbasis aus dem Gas entfernt. Das beladene Waschmittel kann im Verbrennungsteil des Vergasungsprozesses thermisch genutzt werden. Zum Einsatz in einem Gasturbinenprozess werden darüber hinaus in einem

Wäscher Sauer gasbestandteile aus dem Gas abgeschieden. Nach einer Verdichtung auf den Brennkammerdruck der Gasturbine kann das Gas effizient zur Erzeugung von Strom und Wärme in einem kombinierten Gas- und Dampfturbinenprozess genutzt werden. Wärme für den Bioraffinerieprozess wird dabei über die Kondensation von Anzapfdampf aus der Dampfturbine zur Verfügung gestellt.

Vergasung zur Synthese (SNG)

Das Konzept zur Vergasung und Erzeugung von synthetischem Methan (SNG) basiert auf der gleichen Vergasungs- und Gasreinigungstechnologie. Im Vergleich zur Nutzung in einem Gasturbinenprozess ist allerdings noch eine Feinreinigung über einen ZnO-Filter notwendig. Die Methanisierung erfolgt über Nickelkatalysatoren in einem Wirbelschichtreaktor. Zur Aufbereitung des erzeugten Roh-Methans muss CO_2 und H_2 aus dem Gas abgeschieden werden. Darüber hinaus erfolgt eine Trocknung mittels Triethylenglykol (TEG). Damit können die Erdgasspezifikationen eingehalten werden.

Vergasung zur Synthese (Methanol)

Die Vergasung und Gasreinigung erfolgt bei der Synthese von Methanol analog zur Erzeugung von SNG. Zusätzlich wird allerdings ein Prozessschritt zur Anpassung des H_2/CO -Verhältnisses benötigt, da Methanol-Katalysatoren in der Regel eine geringe Wasser-Gas-Shift-Aktivität aufweisen. Anschließend erfolgt eine Kondensation und Aufbereitung des Roh-Methanols. Nicht umgesetztes Synthesegas wird dabei abgetrennt und zur Methanol-Synthese zurückgeführt. Da im Synthesegas ca. 10 Vol.-% Methan enthalten sind, muss ein Teil des Gases aus dem Synthesekreislauf ausgeschleust werden um eine Akkumulation zu vermeiden. Diese Restgase werden anschließend verbrannt und stehen zur Wärmeerzeugung für den Bioraffinerie-Prozess zur Verfügung.

WP3 Bilanzierung der Konzepte

In Absprache mit den Projektpartnern insbesondere aus Modul IV wird das Konzept 2G Greenfield als Basis zur Bilanzierung der Ligninnutzung ausgewählt (Stand 4. Quartal 2011). In Abbildung 2 sind die Systemgrenzen des Bioethanol-Prozesses und der hier untersuchten Nutzung der Ligninrückstände dargestellt.

In enger Zusammenarbeit mit den Projektpartnern erfolgt die Festlegung der Schnittstellen zwischen den Prozessteilen Bioethanol-Herstellung und Ligninnutzung und ausgehend davon eine detaillierte Simulation des Bioethanol-Prozesses auf Basis von Weizenstroh mit der Software Aspen Plus. Wesentlich ist dabei die Festlegung des Wärmebedarfs des Bioethanol-Prozesses sowie der Wärmeintegration zwischen den Prozessteilen. Der zusätzliche Wärmebedarf, der durch die Nutzung des Lignins über KWK-Optionen zur Verfügung gestellt werden soll, wird über eine Pinch-Analyse aller Wärmeströme im Bioethanol-Prozess ermittelt. Daraus ergibt sich eine Nachfrage von 15,6 MW sowie 12,6 t/h Dampf, welcher für die Vorbehandlung benötigt wird. Demgegenüber steht ein Energieinhalt von ca. 52 MW (Heizwert-Basis) der Ligninrückstände.

Diese fallen nach einer mechanischen Entwässerung mit einem Wassergehalt von 50% an.

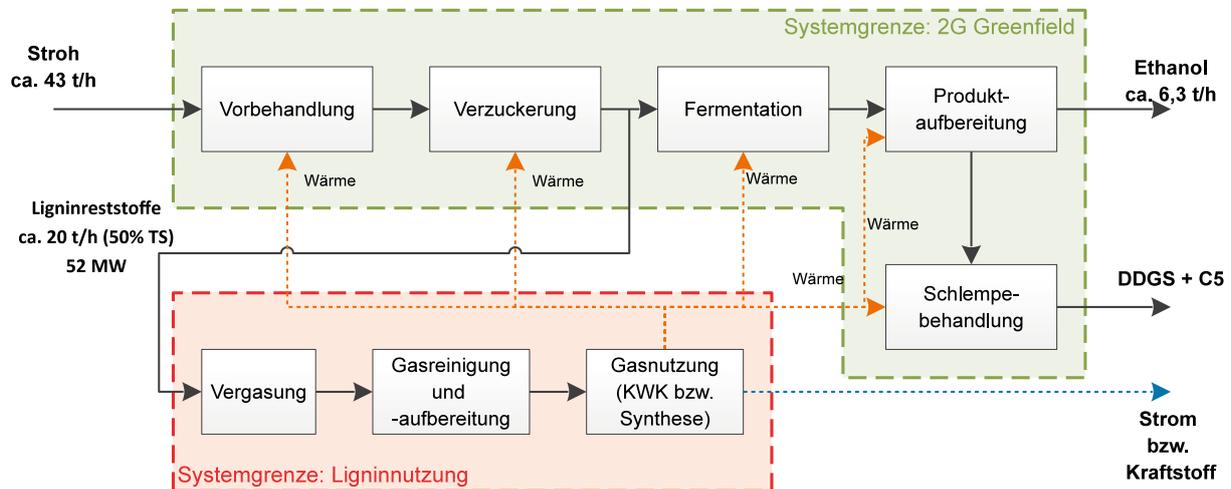


Abbildung 2: Integration des Bioethanol-Prozesses und der Ligninnutzung

Die Aktivitäten bezüglich der Ligninnutzung und Energieversorgung in Modul III und IV wurden anschließend weiter vernetzt. Dabei haben sich auch aufgrund von Veränderungen der Referenztechniken im Bioethanolverfahren neue Massen- und Energiebilanzen ergeben. Diese wurden dem IUE aus Modul IV zur Verfügung gestellt mit dem Ergebnis, dass der Wärmebedarf das Energieangebot der Ligninreststoffe nun übersteigt und eine weitere Energiequelle (Erdgas) benötigt wird. Vor diesem Hintergrund wurde entschieden, dass eine weitere Integration der vergasungsbasierten Ligninnutzung im Modul IV nicht berücksichtigt wird.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Bilanzierung der entwickelten Konzepte für die Nutzung der Ligninrückstände diskutiert. Alle Konzepte werden dazu in der Simulationsumgebung Aspen Plus abgebildet und die Massen- und Energiebilanzen berechnet. Die Grundlage bilden die dargestellten Schnittstellen zum Bioethanol-Prozess (Stand 4. Quartal 2011). Die KWK-Optionen sind dabei optimiert, um eine maximale Stromausbeute bei gleichzeitiger Deckung der gegebenen Wärmenachfrage zu erreichen. Bei den Konzepten zur Synthese erfolgt eine Maximierung der Kraftstoffausbeute. Restwärme wird im Bioethanol-Prozess genutzt.

Verbrennung zur KWK (Vergleichsprozess)

Als Vergleichsprozess zu den vergasungsbasierten Prozessen wird eine Nutzung der Rückstände über eine Verbrennung mit angeschlossenem Dampfkraftprozess zur Strom- und Wärmeer-

zeugung bilanziert. Dieser ist in Abbildung 3 dargestellt.

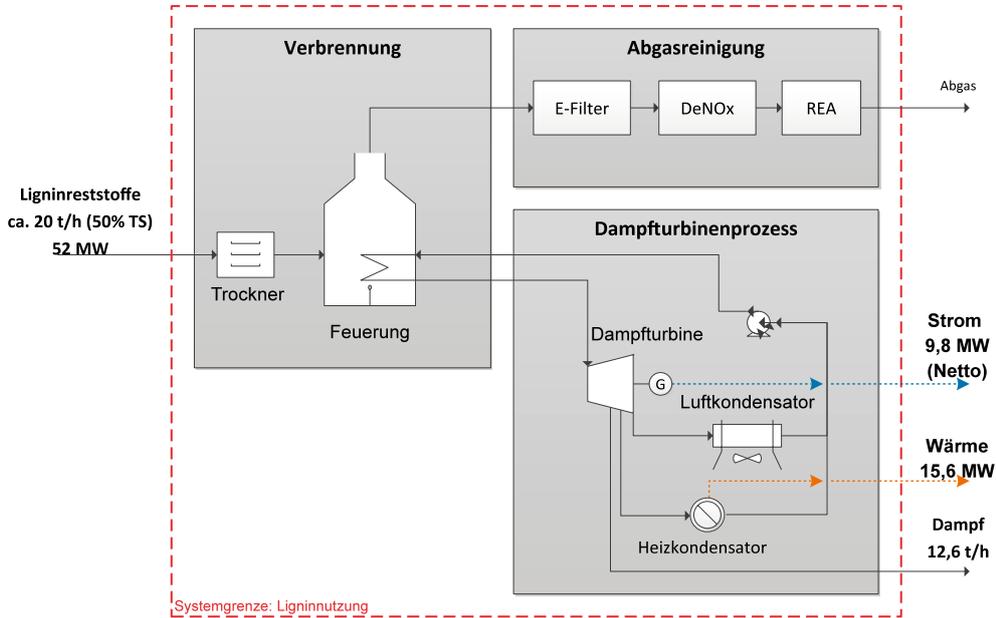


Abbildung 3: Verbrennung zur Strom- und Wärmeerzeugung (Vergleichsprozess)

Über den Dampfturbinenprozess ist so, neben der Wärmebereitstellung für den Bioethanol-Prozess (15,6 MW) sowie der Prozessdampfbereitstellung für die Vorbehandlung (12,6 t/h), eine Nettostromerzeugung von 9,8 MW möglich. Der elektrische Eigenbedarf für den Verbrennungsprozess (inkl. Trocknung), die Gasreinigung sowie den Wasserdampfkreislauf ist dabei berücksichtigt.

Vergasung zur KWK

Über die Vergasung der Ligninrückstände und die Nutzung der Produktgase in einem kombinierten Gas- und Dampfturbinenprozess kann, neben der Bereitstellung von Wärme und Prozessdampf, eine Nettostromerzeugung von 16,4 MW realisiert werden (Abbildung 4: Vergasung zur Strom- und Wärmeerzeugung 4). Gegenüber dem Vergleichsprozess ergibt sich für die Vergasung eine Steigerung der Nettostromerzeugung von ca. 67%.

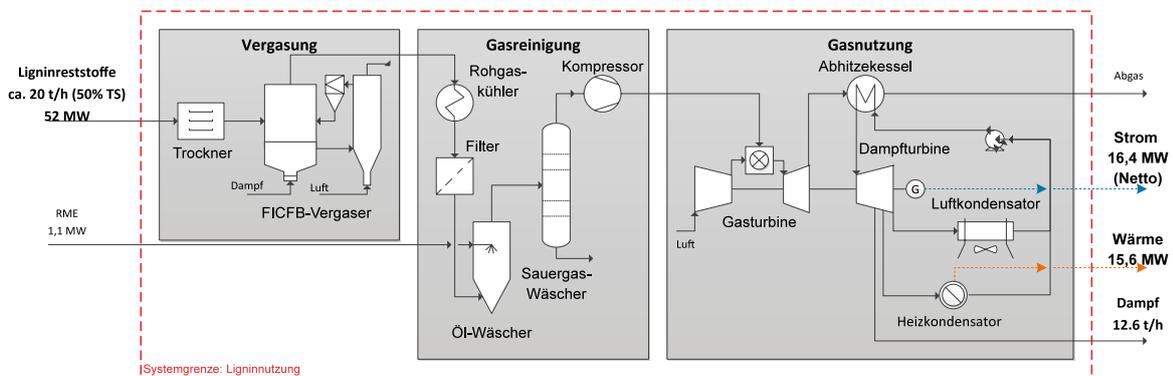


Abbildung 4: Vergasung zur Strom- und Wärmeerzeugung

Vergasung zur Synthese (SNG)

Bei der Erzeugung von synthetischem Methan (SNG) erfolgt eine Auslegung zur Maximierung der Kraftstoffausbeute. Hier besteht ein Eigenbedarf von ca. 1 MW an elektrischer Leistung im Wesentlichen für die Verdichtung des Synthesegases sowie des SNG zur Einspeisung ins Erdgasnetz und für die Trocknung der Ligninrückstände. Insgesamt kann so eine SNG-Leistung von 31,3 MW (Heizwert-Basis) sowie 9,2 MW Prozesswärme bereitgestellt werden.

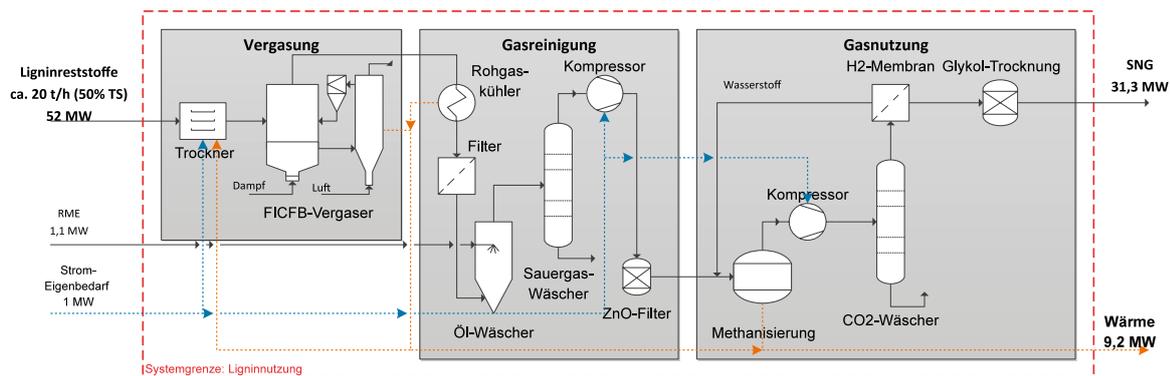


Abbildung 5: Vergasung und Synthese von SNG

Vergasung zur Synthese (Methanol)

Bei der Synthese von Methanol kann der Methananteil im Synthesegas nicht genutzt werden. Über einen Purge-Strom wird dieser aus dem Synthesekreislauf ausgeschleust und zur Erzeugung von Prozessdampf genutzt. Damit ist es möglich, die gesamte Wärmenachfrage für den Bioethanol-Prozess abzudecken. Im Vergleich zur Erzeugung von SNG können so allerdings nur 21,5 MW (Heizwert-Basis) Methanol erzeugt werden. Aufgrund des höheren Druckes im Syntheseprozess von 60 bar besteht hier ein deutlich höherer elektrischer Eigenbedarf von 3,8 MW.

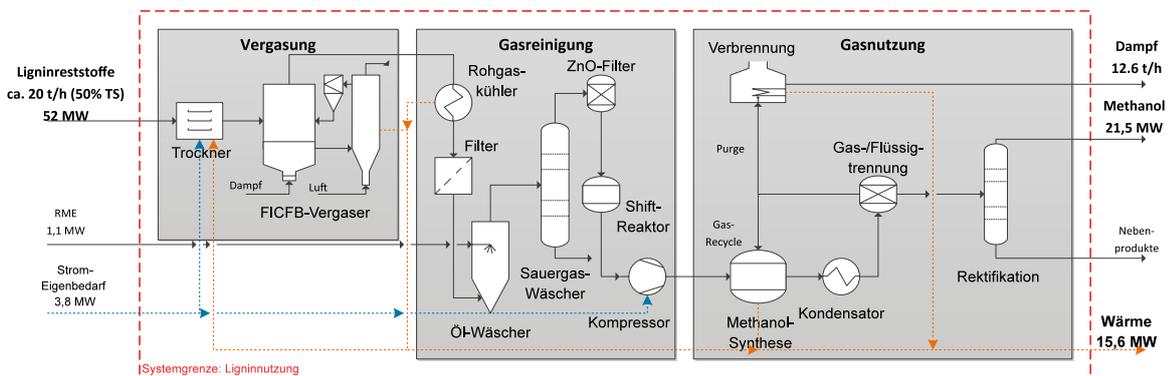


Abbildung 6: Vergasung und Synthese von Methanol

WP4: Auswertung der Konzepte

Auf Basis der berechneten Massen- und Energiebilanzen erfolgt eine Auswertung der simulierten Konzepte. In Abbildung 7: Energieflussdiagramm der Vergasung und Synthese von SNGg 7 ist dazu exemplarische ein Energieflussdiagramm des Konzeptes zur Erzeugung von SNG aus den Ligninreststoffen dargestellt.

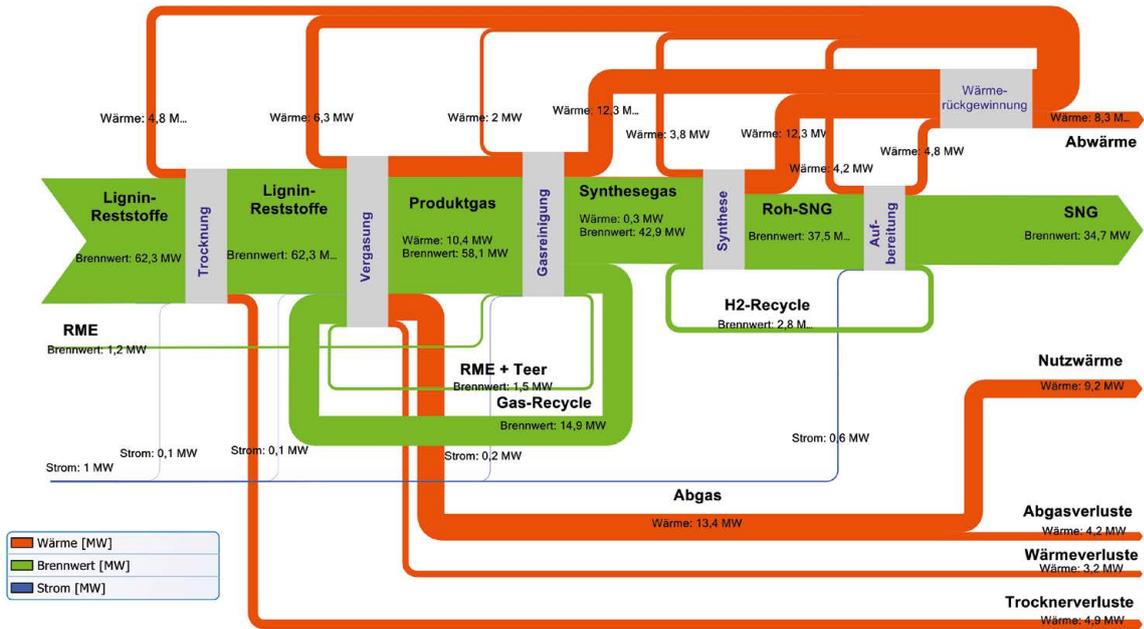


Abbildung 7: Energieflussdiagramm der Vergasung und Synthese von SNG

Auf Basis der berechneten Energiebilanzen können die unterschiedlichen Konzepte untereinander verglichen werden. In Abbildung 8: Brennstoffnutzungsgrad 8 ist dabei exemplarisch der Brennstoffnutzungsgrad dargestellt.

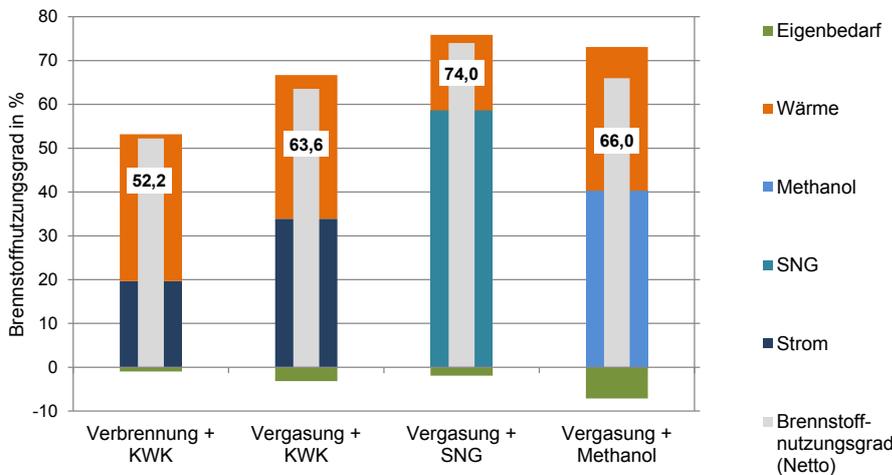


Abbildung 8: Brennstoffnutzungsgrad

Für das Konzept Vergasung zur Erzeugung von SNG ergibt sich mit 74% der höchste Brennstoffnutzungsgrad. Dabei können ca. 58% der in den Ligninrückständen enthaltenen Energie in synthetisches Methan umgewandelt werden. Bei der Synthese von Methanol ergibt sich insgesamt ein geringerer Brennstoffnutzungsgrad. Dies liegt insbesondere am aufwändigeren Syntheseprozess und dem damit verbundenen höheren elektrischen Eigenbedarf. Bei der gekoppelten Erzeugung von Strom und Wärme bietet die Vergasung und Nutzung der Produktgase in einem kombinierten Gas- und Dampfturbinenprozess eine deutliche Steigerung des Brennstoffnutzungsgrades gegenüber dem Vergleichsprozess mit einer Verbrennung und einem einfachen Dampfturbinenprozess. Damit konnte gezeigt werden, dass die thermo-chemische Vergasung sowohl zur Bereitstellung von Strom und Wärme als auch zur Synthese von Kraftstoffen eine deutliche Verbesserung der Nutzung der Ligninrückstände gegenüber einer konventionellen Umwandlung über eine Verbrennung im Rahmen eines Bioraffinerie-Ansatzes bietet.

WP5 Ökonomische Analyse der Konzepte

Zur ökonomischen Analyse werden für die einzelnen Konzepte die Investitionen abgeschätzt und gegenüber gestellt. Eine Berechnung der jeweiligen Produktgestehungskosten ist an dieser Stelle aufgrund der vielfältigen Schnittstellen mit dem Bioethanolprozess nicht möglich. Die Investitionen werden auf Komponentenebene auf Basis einer Literaturrecherche abgeschätzt. Eine derartige Abschätzung ist in der Regel mit einer Unsicherheit von +/- 30% verbunden. Die Investitionen werden dabei für das Basisjahr 2011 erhoben. Daten mit unterschiedlichem Bezugsjahr werden dabei über den Chemical Engineering Plant Cost Index (Chemical Engineering Magazine, LLC, Access Intelligence, Rockville) auf das Basisjahr umgerechnet. Die Investitionen in Mio. € sind in Tabelle 3: Abschätzung der Investitionen in Mio. € zusammengefasst.

Tabelle 3: Abschätzung der Investitionen in Mio. €

	Verbrennung + KWK	Vergasung + KWK	Vergasung + SNG	Vergasung + Methanol
	in Mio.€			
Vorbehandlung	4,181	4,181	4,181	4,181
Vergasung	0	16,431	16,431	16,431
Gasreinigung	0	7,587	13,098	13,098
Verbrennung	17,889	0	0	0
Synthese	0	0	7,359	14,882
Stromerzeugung	2,372	8,819	0	0
Produktaufbereitung	0	0,000	8,877	14,882
Nebenanlagen	0,113	1,075	1,144	1,144
Wärmetauscher	0,498	0,498	3,260	3,260
Instrumente	1,253	1,930	2,717	3,394
Gebäude	2,505	3,859	5,435	6,788
Netzanschluss	1,253	1,930	2,717	3,394
Erdarbeiten	1,253	1,930	2,717	3,394
Elektronik	2,505	3,859	5,435	6,788
Rohrleitungen	2,505	3,859	5,435	6,788
Inbetriebnahme	3,633	5,596	7,881	9,842
Summe	39,959	61,551	86,688	108,263

Für die Vergasungsbasierten Konzepte ergeben sich insbesondere aufgrund der aufwendigen Gasreinigung deutlich höhere Investitionen im Vergleich zum verbrennungsbasierten Referenzkonzept. Bei der Erzeugung von Strom und Wärme über einen GuD Prozess mit Vergasung der Ligninreststoffe wird allerdings auch eine deutlich höhere Nettostromerzeugung erreicht. Bei den Konzepten zur Synthese von SNG bzw. Methanol spielen neben den Investitionen für die Vergasung und Gasreinigung insbesondere die Kosten für die Syntheseprozesse sowie die anschließende Aufbereitung der Produkte eine herausragende Rolle.

Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Für die Vergasung von biogenen Festbrennstoffen und insbesondere die Nutzung von Reststoffen im Rahmen integrierter Bioraffinerien besteht weiterer Bedarf an Forschung und Entwicklung. Die durchgeführten Untersuchungen können vor diesem Hintergrund zur Entwicklung von Pilot- bzw. Demonstrationsvorhaben dienen. Im Projektverlauf konnten verschiedene Fragestellungen im Bereich der Nutzung biogener Reststoffe aus einer Bioraffinerie in einer Vergasung sowie der Bereitstellung von Strom und Wärme über derartige Prozesse geklärt werden. Vor dem Hintergrund der zu Projektbeginn offenen Fragestellungen in diesem Bereich sowie den im Projektverlauf erzielten Ergebnissen erscheint die geleistete Arbeit notwendig und angemessen.

Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die Ergebnisse des Forschungsprojektes wurden in Form von Veröffentlichungen sowie Vorträgen publiziert und damit der Öffentlichkeit zugänglich gemacht. Eine weitere Nutzung oder die Anmeldung von Patentrechten ist nach gegenwärtigem Stand nicht geplant.

Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Auf dem Gebiet der thermo-chemischen Vergasung von biogenen Reststoffen auch in Kombination mit integrierten Bioraffinerie-Konzepten haben sich, soweit dem Anwendungsempfänger bekannt, keine wesentlichen Fortschritte ergeben.

Veröffentlichung der Projektergebnisse

Die Ergebnisse der durchgeführten Arbeiten wurden im Projektverlauf in folgender Weise veröffentlicht:

- Wagner, H.; Kaltschmitt, M.: Pathways for synthesis of liquid bio fuels – Review on conversion efficiency, selectivity and by-products; Vortrag: International Conference on Polygeneration Strategies, 07. – 09. September 2010, Leipzig
- Wagner, H.: Modellierung von fester Biomasse für thermo-chemische und bio-chemische Konversionsprozesse in Aspen Plus, Workshop Fließschemasimulation in der Energietechnik-Leipzig 23.06.2011
- Wagner, H.; Kaltschmitt, M.: Process analysis of biochemical and thermochemical conversion of wood to ethanol, In: Proceedings XIX International Symposium on Alcohol Fuels, 10. – 14. Oktober 2011, Verona
- Wagner, H.; Kaltschmitt, M.: Biochemical and thermochemical conversion of wood to ethanol – simulation and analysis of different processes; Biomass Conversion and Biorefinery DOI 10.1007/s13399-012-0064-0, published online 28 November 2012

AP III.2 Erzeugung von Plattformchemikalien

Partielle Hydrolyse von Cellulose

Analytik Assays

Zur schnellen und einfachen Verfolgung der enzymatisch katalysierten Hydrolyse-Reaktionen wurden mehrere Assay-Methoden etabliert (WP1). Die Quantifizierung der reduzierenden Gruppen erfolgte mittels 3,5-Dinitrosalicylsäure-Assay, während die gebildete Glucose mittels Blutzuckermessungen verfolgt wurde. Zur quantitativen Bestimmung von Glucose, Cellobiose, -triose und -tetraose wurde zudem eine Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Methode etabliert. Zusätzlich dazu wurde die Trübung der wässrigen Suspension photometrisch bestimmt.

Eine gelpermeationschromatographische (GPC) Methode zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung von Cellulose wurde etabliert und mittels Pullulan- und Polystyrolstandards erfolgreich kalibriert. Es können Molekulargewichte von 500 bis 10.000.000 g/mol detektiert werden.

***In-situ* Prozessanalytik**

Die oben genannten Analysemethoden sind teilweise sehr zeitaufwändig, daher sollte für eine spätere Anwendung im industriellen Maßstab eine in-situ-Prozessanalytik entwickelt werden (WP5). In Zusammenarbeit mit dem Institut für Technische Chemie an der Leibniz Universität Hannover konnte erfolgreich gezeigt werden, dass die in-situ-Videomikroskopie (ISM) die Möglichkeit bietet, die Fraktionierung von Cellulose in einer wässrigen Suspension online und nicht-invasiv zu verfolgen. In Kombination mit der speziell für diese Anwendung entwickelten Bildverarbeitungssoftware Particle Analyzer können die gewonnenen Bilddaten ausgewertet und die Hydrolyse von Cellulose charakterisiert werden. In Abbildung 1 A) ist das Messprinzip des DH-ISM schematisch dargestellt. Abbildung 1 B) zeigt Cellulose Partikel, die mit dem DH-ISM gemessen wurden.

Mit Hilfe des DH-ISM ist es möglich die Abnahme der Anzahl großer Partikel und die Zunahme der Anzahl kleiner Partikel zu verfolgen.

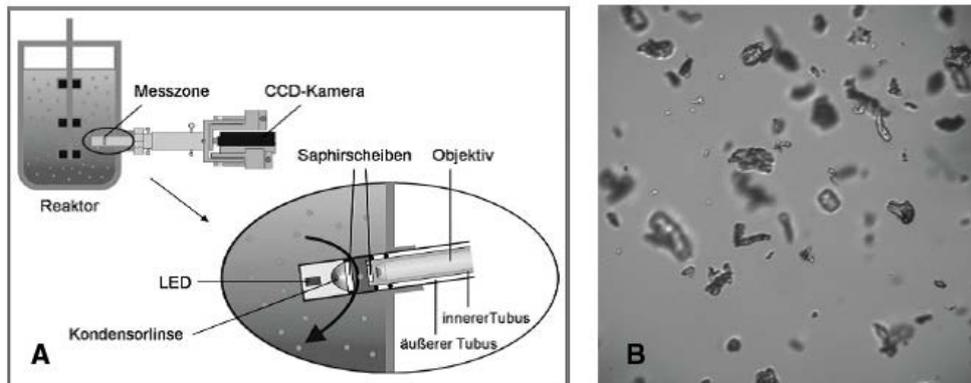


Abbildung 1: A) Messprinzip des DH-ISM; B) Cellulose Partikel im DH-ISM

Untersuchte Enzyme

Zur Hydrolyse von Cellulose wurden verschiedene kommerziell erhältliche Cellulasen erworben. Von der Firma Novozymes A/S wurden die Enzympräparationen Cellusoft CR, Cellusoft L, Cellusoft AP, Cellulast, Careenzyme, Celluzyme, Celluclean und Endolase untersucht. Die Firma AB-Enzymes lieferte die Enzyme Ecopulp R, Ecostone C1 und Rohament CL und die Firma Henkel stellte eine weitere Cellulase zur Verfügung, die in Waschmitteln verwendet wird. Von der Firma Biocatalysts wurden die Enzyme Cellulase 13P und Cellulase Trich C013L erworben. Zudem wurden von der Firma USBiological die Enzympräparationen Hemicellulase und Cellulase liquid untersucht.

Verwendete Cellulosen

Es wurden verschiedene Cellulosen mit Hilfe der Gelpermeationschromatographie untersucht (siehe Abbildung 2: GPC von verschiedenen Cellulosen (1 mL/min 0,9% LiCl/ DMAC; PLGel Guard Column, 3x PLGel Mixed B; 80°C; 200 µL Injektionsvolumen; Shodex RI-101)). Die zunächst von Institut für Technische Biokatalyse (ARBOCEL BE 600-10 TG) und Evonik Industries (ARBOCEL B800) verwendeten kommerziellen Cellulosen der Firma Rettenmaier & Söhne besitzen eine sehr breite Molekulargewichtsverteilung. Zudem weisen diese Cellulosen einen Doppel-Peak auf, der vermutlich durch einen zusätzlichen Anteil von 10-30% Hemicellulose hervorgerufen wird. Das Molekulargewicht der Cellulose Fraktion aus der Heißwasser-Hydrolyse (LHW) aus dem AP II.1 weist eine ähnliche Verteilung wie ARBOCEL BE 600-10 TG und ARBOCEL B800 auf. Eine mögliche Alternative bietet die Ultra Fine Cellulose (UFC 100), welche eine engere Molekulargewichtsverteilung aufweist. Eine Zusammenfassung der Eigenschaften, der in der enzymatischen Hydrolyse untersuchten Cellulosen, ist in Tabelle 1: Eigenschaften der untersuchten Cellulosen dargestellt.

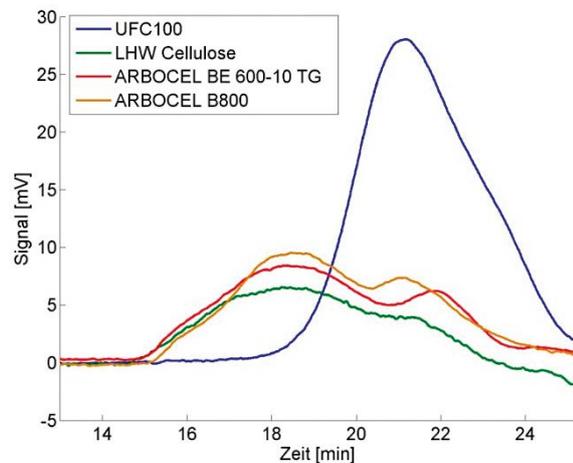


Abbildung 2: GPC von verschiedenen Cellulosen (1 mL/min 0,9% LiCl/ DMAC; PLGel Guard Column, 3x PLGel Mixed B; 80°C; 200 μ L Injektionsvolumen; Shodex RI-101)

Tabelle 1: Eigenschaften der untersuchten Cellulosen

	UFC 100	LHW Cellulose Fraktion	ARBOCEL BE 600-10 TG	ARBOCEL B800
Hersteller	Rettenmaier & Söhne	 APII.1	Rettenmaier & Söhne	Rettenmaier & Söhne
Form	weißes ultrafeines Pulver	bräunliche Fasern	weiße Mikrofasern	weiße Kurzfasern
Partikelgröße [μ m]	8	100 – 10.000	18	20-130

Hydrolyse Ergebnisse

Erste Hydrolyse-Versuche wurden mit der Cellulose ARBOCEL BE 600-10 TG und den besagten Analysemethoden durchgeführt. Es wurden die oben genannten kommerziell erhältlichen Cellulasen bei 60°C in einer Acetatpuffer-Suspension bei pH 5,0 untersucht. Aus den 16 verwendeten Cellulasen wurden Rohament CL, Cellulase 13P, Cellulase Liquid und Ecostone C1 als beste Kandidaten für die gewünschte Hydrolyse identifiziert (M1). Zudem wurde das Cellulose-Puffer-Verhältnis variiert und eine ARBOCEL BE 600-10 TG Konzentration von 140 g/L als am besten geeignete Konzentration ermittelt. Die Variation der Reaktionstemperatur und des pH-Wertes ergab, dass die enzymatische Teil-Hydrolyse bei einer Temperatur von 50°C und pH 5,0 durchgeführt werden sollte (WP2a, WP2b, WP3). Zur physikochemischen Produktcharakterisierung von fraktioniertem ARBOCEL BE 600-10 TG bei Evonik Industries werden 200 g Produkt benötigt (WP8), dafür wurde der Reaktionsmaßstab erfolgreich von 50 mL auf 2 L vergrößert (WP10, M5).

Zur selektiven Produktabtrennung wurde ein Rührkesselreaktor mit nachgeschalteter Membran untersucht (WP4). Dabei wurden sowohl gewebte als auch gefällte Polymer-Flachmembranen von Clear Edge und Merck Millipore getestet. Für die gewünschte Fraktionierung ist ein Nylon Netzfilter mit einer Porengröße von 10 μ m am besten geeignet. Aus den Ergebnissen in wird deutlich, dass sowohl das Molekulargewicht als auch der Polydispersitätsindex im Permeat kleiner sind als im Reaktor.

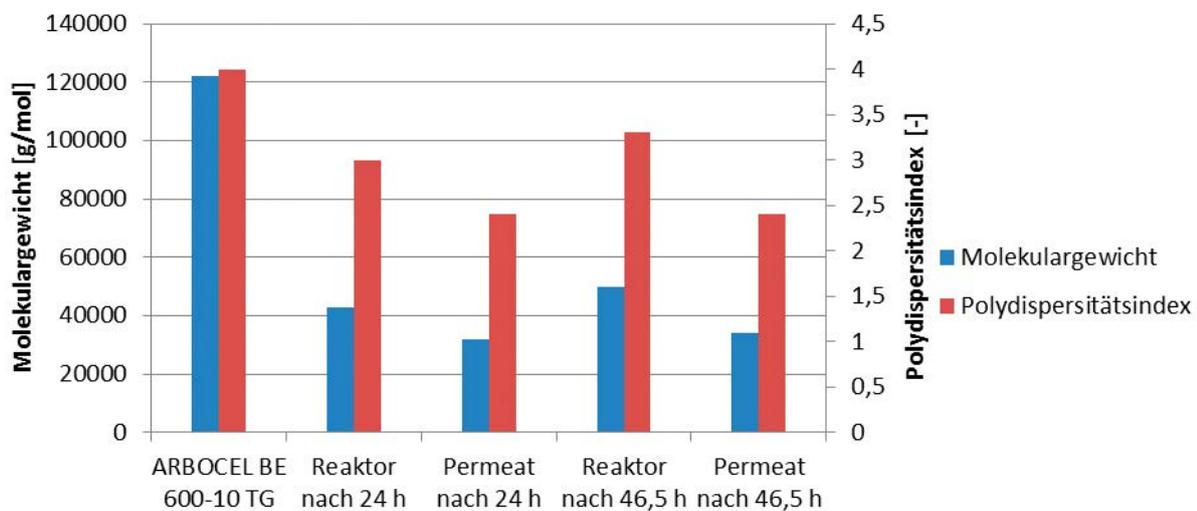


Abbildung 3: GPC- Ergebnisse von unbehandeltem und hydrolysiertem ARBOCEL BE 600-10 TG mit Abtrennung des Produkts durch nachgeschalteten Filter (2,5 g/L ARBOCEL BE 600-10 TG in Acetatpuffer pH 5,0; 5 gew.% Ecostone C1 ; 50°C; 280 rpm, 220 mL/min, 10 µm Nylon Netzfilter; 1 mL/min 0,9% LiCl/ DMAC; PLGel Guard Column, 3x PLGel Mixed B; 80°C; 200 µL Injektionsvolumen; Shodex RI-101)

Im Modul II AP II.1 wird Stroh mit flüssigem, heißem Wasser aufgeschlossen. In Kooperation mit dem Institut für Thermische Verfahrenstechnik der TUHH wurde das Cellulose-haltige Produkt dieser Behandlung als Edukt für die enzymatische Hydrolyse getestet. Der Versuch wurde als Batch in einem gerührten und temperierten Kolben durchgeführt. Dafür wurde Cellulose aus der LHW-Behandlung in Acetatpuffer mit einem pH-Wert von 5,0 bei 50°C suspendiert und mit 5 gew.% Cellulase Ecostone C1 versetzt.

Die Zunahme der Glucose-Konzentration mit allen Messmethoden zeigte an, dass eine Hydrolyse der LHW Cellulose durch Ecostone C1 stattfand. Mit bloßem Auge war nach 24 Stunden eine deutliche Verringerung der Faserigkeit zu erkennen, so dass die Durchmischbarkeit verbessert wurde. Die Trübung der Reaktionssuspension, welche erst nach den ersten 24 Stunden bestimmt werden konnte, wurde durch die enzymatische Hydrolyse verringert.

Durch die enzymatische Hydrolyse mit Ecostone C1 wurde das Molekulargewicht der verwendeten Cellulose von 1.700.000 auf 180.000 g/mol reduziert. Zudem ist der GPC-Peak des Produktes wesentlich schmaler, so dass die Verteilung des Molekulargewichts reduziert wurde (siehe Abbildung 4: GPC-Chromatogramm von un behandelter und hydrolysiertes LHW Cellulose (70 mgTrockengewicht/mL LHW-Cellulose in Acetatpuffer pH 5,0; 5 gew.% Ecostone C1 ; 50°C; 690 rpm; 1 mL/min 0,9% LiCl/ DMAC; PLGel Guard Column, 3x PLGel Mixed B; 80°C; 200 µL Injektionsvolumen; Shodex RI-101)).

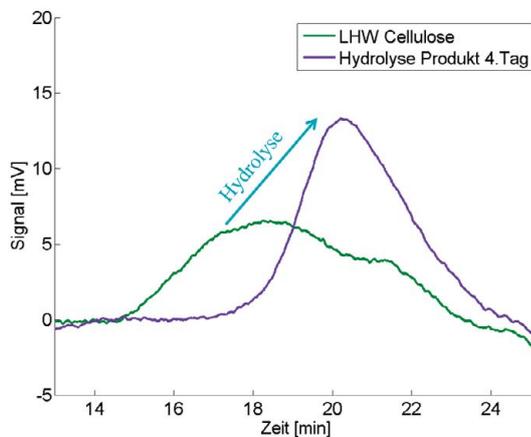


Abbildung 4: GPC-Chromatogramm von unbehandelter und hydrolysierter LHW Cellulose (70 mg Trockengewicht/ mL LHW-Cellulose in Acetatpuffer pH 5,0; 5 gew.% Ecostone C1 ; 50°C; 690 rpm; 1 mL/min 0,9% LiCl/ DMAC; PLGel Guard Column, 3x PLGel Mixed B; 80°C; 200 µL Injektionsvolumen; Shodex RI-101)

Veresterung von Cellulose

Modellreaktionssystem für die Veresterung von Cellulose

Es stellt eine große Herausforderung dar, das polare Saccharid Cellulose mit einer unpolaren Fettsäure reagieren zu lassen. Die Löslichkeit dieser beiden sehr verschiedenen polaren Substrate ineinander ist gering. Um zusätzliche Hindernisse aufgrund der Makromolekularität der Cellulose (starke intra- und intermolekulare Wechselwirkungen durch Wasserstoffbrückenbindungen) ausschließen zu können, sollten die Untersuchungen der Veresterung von Cellulose mit einem Monosaccharid als Modellsubstrat begonnen werden. Da Glucose das Monomer der Cellobiose, und diese wiederum das Monomer der Cellulose ist, bot sich Glucose als Modellsubstrat an. Als geeignetes Lösungsmittel kamen zunächst ionische Lösungsmittel (IL) in Betracht. Es sollte im weiteren Verlauf geprüft werden, ob die Veresterung von Sacchariden in IL, unter Verwendung von Cosolventien oder lösungsmittelfrei durchgeführt werden kann bzw. durchgeführt werden muss, um hohe Umsätze zu erreichen.

Nach einer Literaturrecherche wurde Glucose als Modellsubstrat gewählt, und ein IL mit den geforderten Eigenschaften bzgl. Lösungsvermögen für Zucker und Polysaccharide sowie Enzymaktivität und -stabilität im Labor synthetisiert ([Me-(OEt)₃-Et-Im][OAc] (Zhao 2008³). Es wurde festgestellt, dass RP-HPLC mit einer üblichen RP-18-Säule nicht geeignet ist als Referenzanalytik für die Veresterung von Glucose in IL, da diese nicht chromatographisch von der IL getrennt werden konnte.

Daher wurde das Modell-IL durch Aceton ersetzt, für dessen Anwendung als Lösungsmittel in der Veresterung von Glucose Literatur vorhanden ist (Yan 1999⁴). Bei einem Veresterungsversuch mit Glucose, Laurinsäure und der Lipase Novozym435 in Aceton war zunächst eine Abnahme des Glucosegehalts mittels HPLC nachweisbar. Da jedoch die Analyse der Proben mit fortgeschrittener Reaktionsdauer durch feinste Partikel von zerriebenen Enzymträgern verhindert wurde, und die Löslichkeit von Glucose mit 0,35 mg/ml zu gering für einen späteren

³ Zhao H, Baker G A, Song Z, Olubajo O, Crittle T, Peters D, *Green Chem.*, 2008, **10**, 696-705

⁴ Yan Y, Bornscheuer U T, Cao L, Schmid R D, *Enzyme and Microbial Technology*, 1999, **25**, 725-728

ökonomischen Prozess ist, wurde im Folgenden auf die Verwendung von Lösungsmitteln verzichtet (WP2). Zwar konnte in dem durch Evonik Industries AG zur Verfügung gestellten IL [EMIm][OAc] Glucose sowohl mithilfe eines Blutzuckermessgeräts und einer Kalibrationsgerade als auch mittels ATR-FTIR-Spektroskopie quantifiziert werden. In späteren Screenings konnte bei Einsatz von [EMIm][OAc] oder [BMIm][TfO] als Lösungsmittel jedoch kein Umsatz durch Novozym435 festgestellt werden.

Ein Screening mit Caprylsäure (C8:0), Laurinsäure (C12:0) und Ölsäure (C18:1), Glucose, Methylglucosid und Cellulose, Novozym435 und dem IL [BMIm][TfO] zeigte, dass alle verwendeten Fettsäuren in gleichem Maße mit Methylglucosid umgesetzt werden können. Für Glucose und Cellulose konnte kein Umsatz festgestellt werden, was mit der geringen Löslichkeit der Substrate ineinander erklärt werden kann (Björkling 1989⁵). In Gegenwart des IL wurde auch Methylglucosid nicht umgesetzt.

Da im vorangegangenen Screening nur das derivatisierte Saccharid umgesetzt worden war, wurde ein umfangreicheres Screening nach geeigneten Sacchariden als Substrat durchgeführt (s. Tabelle 2: Im Screening verwendete Komponenten).

Tabelle 2: Im Screening verwendete Komponenten

Saccharide	Fettsäuren	Enzyme	Lösungsmittel	Temperaturen
<ul style="list-style-type: none"> • Cellulose • Carboxymethyl cellulose • Hydroxyethyl cellulose • Hydroxypropyl cellulose • Hydroxyethyl starch • Glucose • Methyl glucoside • Maltose • Cellobiose octaacetate 	<ul style="list-style-type: none"> • Caprylic acid (C8:0) • Lauric acid (C12:0) • Oleic acid (C18:1 cis-9) 	<ul style="list-style-type: none"> • Lyophilized CaLB • Immobilized CaLB 	<ul style="list-style-type: none"> • Solvent free • t-BuOH • Ionic liquid 	<ul style="list-style-type: none"> • 40°C • 60°C

Es sollte geklärt werden, ob die vermutete Stofftransportlimitierung durch Einsatz derivatisierter Saccharide oder Zugabe eines mäßig polaren Lösungsmittels vermieden werden kann, indem die Gelöst-Konzentration der Substrate erhöht wird, ohne das Enzym zu deaktivieren. In diesem Screening sollte Ölsäure mit verschiedenen Sacchariden (Methylglucosid, Cellulose, Carboxymethylcellulose, Maltose, Hydroxyethylcellulose, Celluloseoctaacetat, Hydroxypropylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Hydroxyethylstärke) und verschiedenen Enzymformulierungen (immobilisierte CaLB: Novozym435, freie CaLB: c-Lecta CaLB) bei verschiedenen Temperaturen (40°C, 60°C) und mit bzw. ohne Zugabe von tertiärem Butanol als sterisch gehindertem Alkohol zur Lösungsvermittlung umgesetzt werden. Es stellte sich heraus, dass wiederum Methylglucosid als einziges Saccharid umgesetzt werden konnte. Aus diesem Grund wurde für die Veresterung von Cellulose ein System aus Laurinsäure, Methylglucosid und Novozym435 als Modellreaktionssystem gewählt (M1).

5 Björkling F, Godtfredsen S E, Kirk O, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1989, **14**, 934-935

In anschließenden Satzversuchen wurde Laurinsäure mit Methylglucosid durch Novozym435 bei Temperaturen von bis zu 110°C umgesetzt, wobei das bei der Reaktion freiwerdende Wasser im Vakuum entfernt wurde (WP4). Bei einer Reaktionstemperatur von 90°C wird der Endumsatz von 97,5% innerhalb von 6 Tagen erreicht (s. Abbildung 5: Veresterung von Methylglucosid mit Laurinsäure (25 g Methylglucosid, 25 g Laurinsäure, 2,5 g Novozym435, 90°C, Vakuum, Analyse mittels Titration und ATR-FTIR)). Hierbei können die Umsätze sowohl *off line* mittels Titration als auch *on line* mittels ATR-FTIR-Messungen und chemometrischem Modell bestimmt werden (WP1, WP5).

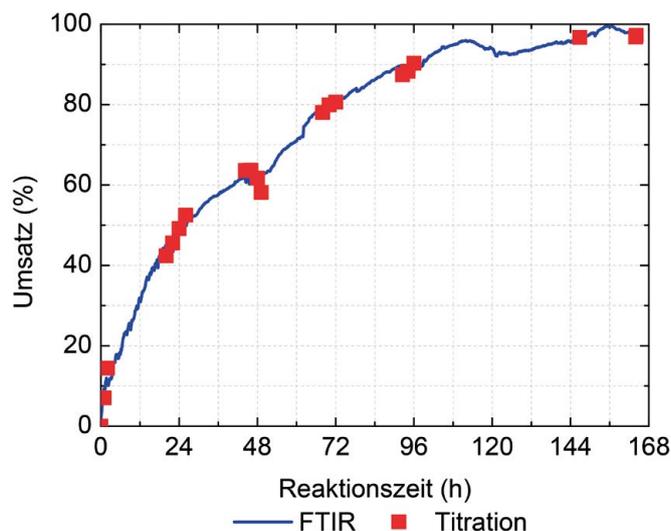


Abbildung 5: Veresterung von Methylglucosid mit Laurinsäure (25 g Methylglucosid, 25 g Laurinsäure, 2,5 g Novozym435, 90°C, Vakuum, Analyse mittels Titration und ATR-FTIR)

HPLC-Analytik für das Modellreaktionssystem

Da Laurinsäure nur schwach und Methylglucosid gar nicht UV-aktiv ist, wurde ein RI-Detektor zum Nachweis der Analyten gewählt. Da sich die beiden Substrate in ihrer Polarität signifikant unterscheiden, wurde eine gebräuchliche RP-18-Säule mit einem methanolhaltigen sauren Eluenten zur Auftrennung verwendet. Für beide Substrate konnten Kalibrationsgeraden erstellt werden.

In verschiedenen Screenings stellte sich heraus, dass die mithilfe von HPLC bestimmten Massenanteile von Fettsäure und Methylglucosid mit einem hohen Fehler behaftet sind. Dies ist darauf zurückzuführen, dass bei der Probennahme aus niedrigviskosen Gemischen eine Entmischung stattfindet, während Teile von höherviskosen bzw. niedrigschmelzenden Proben in der Pipettenspitze erstarren und nicht erfasst werden. Auch durch Auswiegen der jeweils erfassten Probe konnte die Standardabweichung bei Mehrfachbestimmungen nicht reduziert werden. Als Lösung zu dieser Herausforderung konnte die FTIR-Analytik etabliert werden.

FTIR-Analytik für das Modellreaktionssystem

Im Gegensatz zur HPLC-Analytik streuen die mittels ATR-FTIR-Spektroskopie bestimmten Messwerte kaum, da hier stets die tatsächliche Konzentration gelöster Säure bzw. gelösten Esters erfasst wird.

Zunächst konnte für eine Veresterung von Laurinsäure mit 2-Propanol die Anwendbarkeit von ATR-FTIR-Spektroskopie in Kombination mit der chemometrischen Auswertung in Form eines Matlab-Skriptes gezeigt werden. Als Referenz diente dabei der titrimetrisch ermittelte Fettsäuregehalt.

Veresterungsreaktionen von Laurinsäure mit Methylglucosid lassen sich anhand der Intensität der IR-Bande der Säuregruppe verfolgen. Der daraus berechnete Umsatz stimmt mit dem titrimetrisch bestimmten Umsatz überein (WP1).

Um parallele Messungen und Hochdurchsatz-Screening durchführen zu können, sollten Mikrotiterplatten für FTIR-Messungen in Transmission entwickelt werden (WP1). Dies forderte die Bewältigung mehrerer Herausforderungen. Es sind geringe und konstante Schichtdicken von etwa 50µm erforderlich. Ohne Lösungsmittel erstarrt die Probe zu einer rauen Schicht mit nicht reproduzierbarer Dicke, welche die Infrarotstrahlung vollständig absorbiert. Wird die Probe in einem organischen Lösungsmittel aufgenommen, spreitet selbst ein Probentropfen mit einem Volumen von wenigen µL weit über die Probenfläche auf der Multititerplatte aus Silizium hinaus, wodurch die Schichtdicke nicht kontrollierbar ist. Das Spreiten gelöster Proben konnte auch durch Verwendung einer Multititerplatte mit Proben-Lochmaske nicht verhindert werden. In einer Kooperation mit dem Institut für Laser- und Anlagensystemtechnik (TUHH) wurden in eine zuvor unstrukturierte Silizium-Multititerplatte Vertiefungen mithilfe eines Lasers erzeugt (s. Abbildung 6: Mithilfe eines Lasers strukturierte Multititerplatte aus Silizium (vereinfachter Ausschnitt)).



Abbildung 6: Mithilfe eines Lasers strukturierte Multititerplatte aus Silizium (vereinfachter Ausschnitt)

Die erhaltenen Probenvertiefungen konnten aufgrund der scharfen horizontalen Begrenzungen Spreiten verhindern. Jedoch wiesen die Böden der Vertiefungen Unregelmäßigkeiten auf, so dass sich aufgrund von Kapillarkräften die Schichtdicke der aufgetragenen Proben während der Messung veränderte. Durch Evonik durchgeführte lichtmikroskopische Aufnahmen sowie Confocal-Laser-Scanning-Microscopy-Analyse bestätigen, dass keine konstanten, gleichmäßigen Schichtdicken erreicht werden können. Die Messergebnisse wiesen auch für Reinstoffe hohe Standardabweichungen auf.

Erst durch Anwenden des Plasma-Ätz-Prozesses im Institut für Mikrosystemtechnik (TUHH) konnten strikt zylindrische Vertiefungen mit hoher Oberflächengüte in Siliziumwafer eingebracht werden. Durch Auflegen einzelner CaF_2 -Fenster auf Stufen am Boden der Vertiefungen wurde eine definierte konstante Schichtdicke ermöglicht. Die technische Machbarkeit von Langzeitmessungen mit dieser entwickelten Siliziummultititerplatte wurde anhand eines einphasigen Reaktionssystems bewiesen (Austausch von Wasserstoff und Deuterium in Wasser und schwerem Wasser).

Synthese von Modellsubstraten

Aus Screenings von Substraten für das Modellreaktionssystem ging hervor, dass das Saccharidmolekül durch Einbringen eines Alkylrestes für eine Veresterungsreaktion aktiviert wird. Laut Björkling 1989 steigt die Reaktionsgeschwindigkeit mit zunehmender Länge des Alkylrestes signifikant an. Da Ethylglucosid nicht kommerziell erhältlich ist, wurden Synthesen nach Adelhorst 1990⁶ durchgeführt, um zunächst Methyl- und anschließend Ethyl-, Propyl- und Butylglucosid darzustellen. In dieser Glucosylierung von Glucose mit Methanol wurde die Glucose durch die Anwesenheit des Ionentauschers Amberlyst 15 in 24 Stunden vollständig umgesetzt (s. Abbildung 7: Glucosylierung von Glucose mit Methanol (25 g Glucose, 75 ml Methanol, 5 g Amberlyst 15, Reflux, Analyse mittels HPLC)). Dabei wird das Substrat Glucose durch die gebildeten Methyl-Glucoside emulgiert, so dass die gemessene Konzentration gelöster Glucose ein Maximum nach etwa 2 Stunden durchläuft.

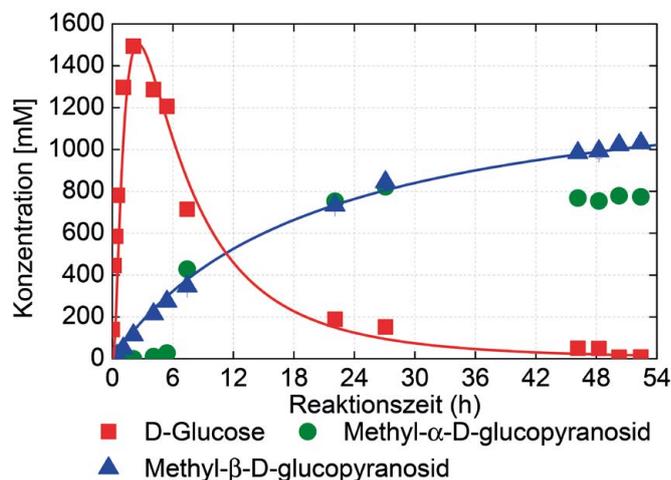


Abbildung 7: Glucosylierung von Glucose mit Methanol (25 g Glucose, 75 ml Methanol, 5 g Amberlyst 15, Reflux, Analyse mittels HPLC)

Die Glucosylierung von Glucose mit Methanol kann mithilfe einer HPLC-Methode verfolgt werden. Dabei werden Glucose, Methanol und Methylglucosid in einer Säule getrennt, die die Effekte von Ionenaustausch- und Größenausschluss-chromatographie überlagert, und mittels RI-Detektor quantifiziert. Qualitativ kann die Abnahme der Glucosekonzentration auch mit einem Blutzuckermessgerät verfolgt werden.

In der Synthese von Methylglucosid konnte eine Selektivität von nahezu 100% erreicht werden. Mit zunehmender Kettenlänge des verwendeten Alkohols steigt jedoch die Siedetemperatur des Reaktionsgemisches; somit nimmt die Selektivität des Katalysators ab, und in der Synthese von Ethylglucosid konnte eine Selektivität von etwa 70% erreicht werden. Das Produkt konnte erfolgreich in einer biokatalytischen Veresterungsreaktion mit Laurinsäure zu Fettsäurezuckerester umgesetzt werden.

6 Adelhorst K, Björkling F, Godtfredsen S E, Kirk O, *Synthesis*, 1990, 2, 112-115

Soll/Ist-Vergleich

Es wurden mehrere aussagekräftige Assays in Form von DNS-Assay, Blutzuckermessgerät, HPLC-Analyse, photometrischen Messungen und GPC-Analyse zur qualitativen und quantitativen Beurteilung von Hydrolase-Aktivitäten entwickelt (WP1) und mithilfe derer ein Reaktionssystem zur gezielten Synthese von Cellulose-Hydrolysaten mit bestimmten Eigenschaften ausgewählt (M1).

Es wurde IL synthetisiert, und es wurden Aktivitätsscreenings in IL durchgeführt, um geeignete Reaktionssysteme für Veresterungen von (Poly)-Sacchariden zu finden (WP2). Da jedoch keine Biokatalysator-Aktivität in Gegenwart von IL beobachtet werden konnte, wurden die Untersuchungen in Zusammenhang mit ionischen Lösemitteln im Konsens beider Partner dieses Arbeitspaketes eingestellt. Daher entfielen Untersuchungen zum Upscaling neuer ILs (WP7). Entsprechend der Ergebnisse aus Substrat-Screening-Versuchen wurden reaktionstechnische Untersuchungen zur Acylierung von Cellulose mit Modellsubstraten durchgeführt (WP3) ohne ein kinetisches Modell zu erstellen (M2). Nach reaktionstechnischen Untersuchungen der partiellen Hydrolyse von Cellulose konnten ein dafür geeigneter Reaktor sowie eine *in-situ*-Prozessanalytik entwickelt werden (WP4, WP5). Im WP6 wurden limitierende Faktoren für die gezielte Hydrolyse von Cellulose bestimmt. Dimensionslose Kennzahlen werden für dieses Reaktionssystem nicht bestimmt (M3). Es wurden physikochemische und anwendungstechnische Basischarakterisierungen vorgenommen (WP8, WP9) und somit ein grundsätzliches Produktprofil erstellt (M4). Das Reaktionssystem zur Hydrolyse von Cellulose wurde im Maßstab vergrößert (WP10), und somit ein Up Scale/Reaktorkonzept erreicht (M5).

Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

- Partielle enzymatische Hydrolyse von Cellulose:
 - Screening nach geeigneten Enzymen und Reaktionsbedingungen notwendig, da Aktivität der Cellulasen und resultierendes Reaktionsprodukt nicht vorhersagbar
 - Entwicklung von online Analytik zur schnelleren Prozessverfolgung, da bspw. GPC sehr zeitaufwendig
 - Verbesserung der Produkteigenschaften durch Untersuchung verschiedener Prozessführungen
- Enzymatische Veresterung von Cellulose
 - Synthese Modell-IL: i. d. R. werden Enzyme durch wasserlösliche ILs deaktiviert, Modell-IL gilt als „enzym-schonend“, Löslichkeit von Sacchariden in Modell-IL überdurchschnittlich hoch, sonst unökonomisch
 - Anschaffung und Anfertigung geeigneter Multiterplatten aus Silizium: nur Silizium ist im betrachteten IR-Spektrum ausreichend transparent für Infrarotlicht. Handelsübliche Si-Multiterplatten sind nicht oberflächen-strukturiert, Probentropfen können so nicht fixiert werden
 - Screening-Versuche: Reaktivität von Substratkombinationen, Aktivität/Stabilität von Biokatalysatoren in untersch. Lösungsmitteln und Löslichkeit der Substratmoleküle nicht vorhersagbar
 - Synthese Modellsubstrate für Veresterung: nur Methylglucosid kommerziell erhältlich, jedoch signifikant höhere Löslichkeit und somit Reaktionsgeschwindigkeit für längere Alkylreste

Voraussichtlicher Nutzen, Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

- Oberflächenstrukturierte Si-Multititerplatte zum Messen einphasiger flüssiger Proben im Kleinmaßstab
- Cellulose mit enger Molekulargewichtsverteilung für die Synthese von Emulgatoren oder Stabilisatoren in Pharmazeutika oder Kosmetika
- Alkylglucoside als aktivierte Substrate für nachfolgende (bio)chemische Modifizierungen (z. B. Veresterungen) sowie als oberflächenaktive Substanzen/Detergentien aus nachwachsenden Rohstoffen
- Alkylglucosidester als oberflächenaktive Substanzen/Detergentien aus nachwachsenden Rohstoffen

Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordenen Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr.11

Poster:

- B. Kannengiesser, M. Eckstein, L. Hilterhaus, A. Liese: „Biocatalytic Modification of Saccharides“, Workshop “Integrierte Biotechnologie und Prozesstechnik” 2011, Hamburg
- B. Lämmerhirt, A. Prediger, S. Pietsch, M. Eckstein, L. Hilterhaus, S. Beutel, T. Scheper, A. Liese: “Online Monitoring of the Enzymatic Adjustment of the Molecular Weight Distribution of Cellulose”, Biocat 2012, Hamburg
- B. Kannengiesser, M. Eckstein, L. Hilterhaus, A. Liese: „Alkyl Glycosides as Substrates for Enzymatic Acylation“, Biocat 2012, Hamburg
- B. Kannengiesser, M. Eckstein, L. Hilterhaus, A. Liese: „2-Step-Synthesis of Fatty Acid Sugar Esters“, Catalyzing Bio-Economy – Biocatalysts for Industrial Biotechnology, Annual meeting of the DECHEMA-VAAM-Section Biotransformations 2012, Frankfurt a. M.
- B. Kannengiesser, M. Eckstein, L. Hilterhaus, A. Liese: „Optimized Production of Alkyl Glycoside Esters“, ProcessNet Jahrestagung 2012, Karlsruhe

Vorträge:

- B. Lämmerhirt, A. Prediger, M. Eckstein, L. Hilterhaus, S. Beutel, T. Scheper, A. Liese: “Enzyme-catalyzed Fine-Tuning of the Molecular Weight Distribution of Cellulose”, Catalyzing Bio-Economy – Biocatalysts for Industrial Biotechnology, Annual meeting of the DECHEMA –

Modul IV

Entwicklung und Bewertung integrierter Bioraffineriekonzepte „Neue Konzepte“

Autoren

DBFZ: Arne Gröngröft, Kathleen Meisel, André Brosowski, Franziska Müller-Langer

LEDD: Petra Rehak, Karin Bronnenmeier

Südzucker/Crop Energies: Wolfgang Wach

Vollständiger Projekttitle	
BioEnergie2021: Verbundprojekt Bioraffinerie2021 – Energie aus Biomasse – Neue Wege zur integrierten Bioraffinerie – Modul IV	
Zuwendungsgeber	
Projektträger Jülich Forschungszentrum Jülich GmbH Wilhelm-Johnen Straße 52428 Jülich	Wiss. Bearbeiterin: Dr. Eva Leiritz Admin. Bearbeiter: Dirk Lennertz
Ansprechpartner	
Deutsches Biomasseforschungszentrum gemeinnützige GmbH Torgauer Straße 116 04347 Leipzig Arne Gröngröft Tel.: +49 341 2434-446 E-Mail: arne.groengroeft@dbfz.de Dr. Franziska Müller-Langer Tel.: +49 341 2434-243 E-Mail: franziska.mueller-langer@dbfz.de	Südzucker AG Wormser Str. 11 67283 Obrigheim Dr. Wolfgang Wach Tel.: +49 6359-803456 E-Mail: wolfgang.wach@suedzucker.de
Linde Engineering Dresden Bodenbacher Straße 80 01277 Dresden Dr. Karin Bronnenmeier Tel.: +49 351 250-3364 E-Mail: karin.bronnenmeier@linde-LE.com	Clariant Produkte (Deutschland) GmbH (ehemals Süd-Chemie AG, beratend tätig) Staffelseestraße 6 81477 München Dr. Georg Schirrmacher Tel.: +89 710 661 167 E-Mail: georg.schirrmacher@clariant.com Dr. Ulrich Kettling Tel.: +89 710 661 125 E-Mail: ulrich.kettling@clariant.com

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erklärung
1G	Ethanol der ersten Generation: Bezeichnet Ethanol aus stärke- oder zuckerhaltigen Rohstoffen, hier vor allem Weizen
2G	Ethanol der zweiten Generation: Bezeichnet Ethanol aus lignozellulosehaltigen Rohstoffen, hier vor allem Stroh
ATKIS	Amtliches Topographisch-Kartographisches Informationssystem
BMU	Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit
CE	CropEnergies
DBFZ	Deutsches Biomasseforschungszentrum gemeinnützige GmbH
DLM	Digitales Landschaftsmodell
FM	Frischmasse
GIS	Geographisches Informationssystem
HVAC	Heating, Ventilation and Air-Conditioning
ISO	International Organization for Standardization
IUE	Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft der TUHH
KEV	Kumulierter Energieverbrauch
KWK	Kraft-Wärme-Kopplung
LEDD	Linde Engineering Dresden (früher Linde-KCA)
SCA	Clariant Produkte (Deutschland) GmbH (ehemals Süd-Chemie AG)
THG	Treibhausgase
TM	Trockenmasse
TUHH	Technische Universität Hamburg-Harburg
UBA	Umweltbundesamt
VDI	Verband Deutscher Ingenieure

I. Kurzdarstellung des Vorhabens

1. Aufgabenstellung

Ziel des Moduls IV „Neue Konzepte“ war es, ausgehend von den heutigen Gegebenheiten und unter Einbeziehung der in den Modulen I bis III (weiter-)entwickelten Technologien und Verfahren, wissenschaftlich-technisch integrierte Gesamtkonzepte für Bioraffinerien für zukünftige Zeitpunkte zu entwickeln. Diese galt es dann unter Berücksichtigung unterschiedlicher Rand- und Rahmenbedingungen aus technischer, ökonomischer und ökologischer Sicht zu analysieren und zu bewerten, mit dem Anspruch, die Grundlagen für die Weiterentwicklung vorhandener Bioethanolanlagen in integrierte Bioraffinerien zu erarbeiten.

Die entwickelten Gesamtkonzepte für integrierte Bioraffinerien sollten in einem ökonomisch schwierigen Umfeld erfolgreich bestehen können. Zudem sollten sie den zukünftig zu erwartenden, deutlich höheren ökologischen Anforderungen Rechnung tragen und gleichzeitig einen Beitrag leisten, Nutzungskonkurrenzen um landwirtschaftliche Rohstoffe zu entschärfen. Daher wurde in Modul IV der Ansatz verfolgt, auf bereits existierende Strukturen der Bioethanolproduktion der heutigen Generation aufzusetzen und diese zunächst schrittweise um weitere sowohl stofflich als auch energetisch nutzbare Produkte zu erweitern und zu optimieren. Ausgehend davon wurden Bioraffineriekonzepte der nächsten Generation entwickelt. Durch die enge Zusammenarbeit mit den Industriepartnern wurde sichergestellt, dass die Ergebnisse direkt und anwendungsnah umgesetzt werden können.

2. Voraussetzungen

Um die Forschungsergebnisse der einzelnen Projektpartner zu den speziellen Technologien zu verwerten und daraus Bioraffineriekonzepte zu entwickeln, galt es, die Experten aus unterschiedlichen Disziplinen zu vernetzen. Der Austausch zwischen den einzelnen Beteiligten über die Anforderungen und Limitierungen der jeweiligen Verfahren und Technologieansätze stellte eine Grundvoraussetzung dar, damit sich selbige aufeinander abstimmen ließen. Daher wurden modulübergreifende Treffen in Form von Workshops, Jahrestagungen und bilateralen Arbeitstreffen durchgeführt.

Aus den so ausgetauschten Informationen galt es im Modul IV, innovative Gesamtkonzepte für Bioraffinerieanlagen zu entwickeln. Hierbei wurde versucht, alle verfügbaren Ergebnisse aufzugreifen, wobei ein Mindestmaß an verwertbaren Informationen notwendig war, um eine adäquate Umsetzung der Verfahren und Technologieansätze als Bestandteil von Gesamtkonzepten planen zu können.

Als Voraussetzung für die Bewertung der erstellten Bioraffineriekonzepte war sicherzustellen, dass die Ergebnisse vergleichbar und nachvollziehbar sind. Hierzu galt es auf die existierenden Methoden der technischen, ökonomischen und ökologischen Bewertung zurückzugreifen und diese, wo notwendig, an die Herausforderungen der Bewertung von Bioraffinerien anzupassen.

3. Planung und Ablauf

Ausgehend von der Aufgabenstellung sollten innerhalb von Modul IV zunächst aufbauend auf einem umfassenden internationalen Technologiescreening **Basiskonzepte** basierend auf heute marktreifen Technologien entwickelt werden. Im Verlauf des Forschungsvorhabens und unter enger Einbindung der Ergebnisse aus Modul I bis III wurden daraus zukünftige **integrierte Bioraffineriekonzepte** weiterentwickelt. Alle Bioraffineriekonzepte wurden nach einem einheitlichen Ansatz bilanziert, prozesstechnisch modelliert und als Gesamtanlagen ausgelegt.

Zudem wurden sie unter Berücksichtigung jeweils entwickelter Logistikansätze für die Biomassebereitstellung unter einheitlichen Randbedingungen hinsichtlich geeigneter technischer, ökonomischer und ökologischer Kriterien analysiert und bewertet. Die Ergebnisse bildeten die Grundlage für eine ganzheitliche Einordnung der jeweiligen Vorteilhaftigkeit sowie dem Aufzeigen von Optimierungsmöglichkeiten.

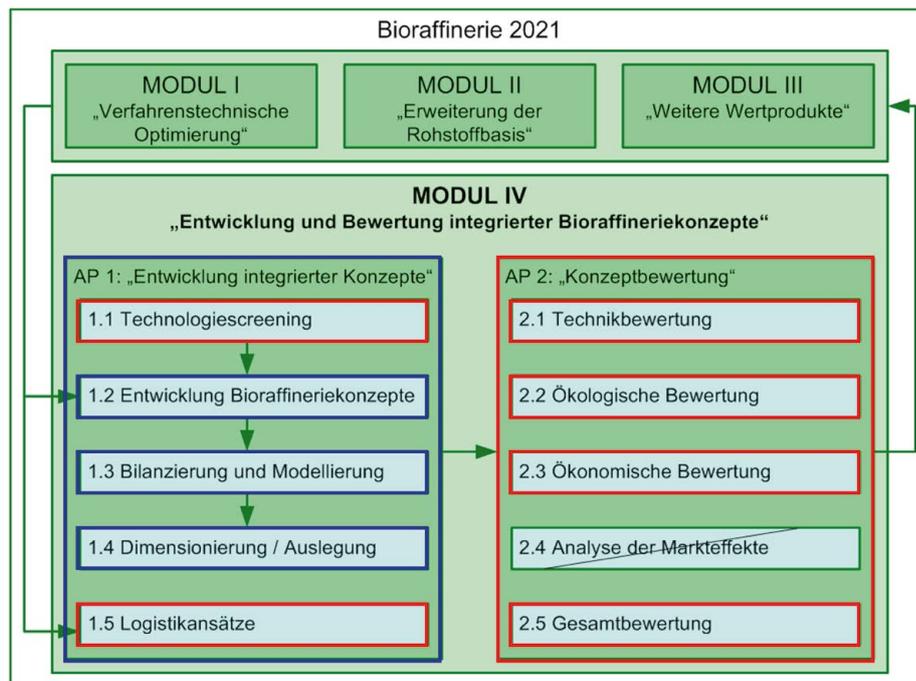


Abb. 1: Übersicht der FuE-Aktivitäten innerhalb des Moduls IV sowie die Vernetzung mit anderen Modulen¹. Die Federführung der Aktivitäten ist farblich gekennzeichnet, blau = LEDD, rot = DBFZ.

Die Arbeiten in Modul IV wurden maßgeblich in enger Zusammenarbeit zwischen Linde Engineering Dresden (LEDD) und dem Deutschen Biomasseforschungszentrum (DBFZ) durchgeführt. Die Federführung bei der Bearbeitung der Arbeitspakete wurde aufgeteilt (siehe farbliche Markierung in Abb. 1: Übersicht der FuE-Aktivitäten innerhalb des Moduls IV sowie die Vernetzung mit anderen Modulen. Die Federführung der Aktivitäten ist farblich gekennzeichnet, blau = LEDD, rot = DBFZ.). Die als weitere Partner geführten Unternehmen CropEnergies (CE) und Süd-Chemie AG (SCA) wurden in regelmäßigen Abständen in die Entwicklung von Konzepten und Diskussion zu deren Analyse und Bewertung einbezogen. Es wurde dadurch regelmäßig die Möglichkeit gegeben, die Konzeptentwicklung an den Bedürfnissen der potentiellen Anlagenbetreiber auszurichten.

Eine wesentliche Aufgabe der Arbeiten bestand darin, die in den Modulen I bis III entwickelten Verfahren und Technologieansätze in Anlagenkonzepte zu überführen. Dabei bestand im Allgemeinen die Schwierigkeit, dass nicht alle untersuchten Verfahren durch die Forschungspartner in den Modulen bis zu einem Stadium entwickelt werden konnten, dass auf Basis der verfügbaren Daten eine adäquate Konzeption eines Anlagendesigns nach guter fachlicher Praxis möglich war. Dadurch ist es im Laufe des Projektes nicht gelungen, alle Verfahren und

¹ Hinweis: Die Untersuchung der Markteffekte (Arbeitspaket IV.2.4), welche in der ursprünglichen Antragstellung für eine fünfjährige Projektlaufzeit mit dem Ziel der Abschätzung der von einer modernen Bioraffinerie ausgehenden Effekte auf den Markt und das Energiesystem sowie damit einhergehende mögliche Veränderungen der Stoffströme für die nationale und internationale Wertschöpfung erfolgen sollte, wurde aufgrund der Laufzeit- und Mittelkürzungen des erteilten Zuwendungsbescheides nicht durchgeführt.

Technologieansätze der Module I bis III in die Anlagenkonzepte einzubinden.

Formal endete die erste Phase des Bioraffinerie2021-Verbundvorhabens im Juli 2012. Während das DBFZ eine kostenneutrale Verlängerung bis einschließlich Dezember 2012 beantragt und bewilligt bekommen hatte, hat LEDD keine Verlängerung beantragt, so dass deren Arbeit formal zum o. g. Projektschluss beendet war. Dadurch kam es zu der organisatorischen Herausforderung trotz unterschiedlicher Projektlaufzeiten bei den Projektpartnern zu einem gemeinsamen Abschluss zu kommen. LEDD hat sich jedoch freundlicherweise trotz bereits erfolgtem Projektabschluss bereit erklärt, Ressourcen zum gemeinsamen Projektabschluss bereitzustellen, was die Arbeit an einem gemeinsamen Abschlussbericht ermöglichte.

4. Wissenschaftlicher und technischer Ausgangspunkt

Ausgangspunkt der wissenschaftlichen Arbeiten war der Stand der Technik in der Bioethanolindustrie im Jahr 2009. Dabei handelte es sich um Anlagen, die mit einem vergleichsweise einfachen Konzept aus Getreide oder Zuckerrüben vergärbare Zuckerlösungen hergestellt und diese anschließend zu Bioethanol vergoren haben. Als Nebenprodukt wurde die verbleibende Schlempe eingedickt, teilweise getrocknet und als Futtermittel vermarktet. Eine verfahrenstechnische Optimierung unter Berücksichtigung der ökonomischen und ökologischen Auswirkungen sowie die Diversifizierung des Produktspektrums waren daher Ausgangspunkte der Forschungen im Projekt „Bioraffinerie2021“.

Zur Bearbeitung des Vorhabens standen LEDD eine Reihe von Tools und Erfahrungen aus aktuellen Anlagenprojekten zur Verfügung. Berechnungsprogramme zur Prozessbilanzierung wurden ebenso genutzt, wie vorhandene Layouttypicals für die Anlagenplanung. Wenn möglich, wurden Angebotspreise aus einer vorhandenen Ausrüstungsdatenbank verwendet. Die Bewertung von Automatisierung, Bulk und Bau erfolgen durch typische Kennziffern, die von den Fachabteilungen in aktuellen und abgewickelten Projekten ermittelt wurden.

Bei den Vorarbeiten, die als Know-How durch das DBFZ in das Projekt eingebracht wurden, handelte es sich im Wesentlichen um Erfahrungen aus Forschungsvorhaben zu Bioenergiefragestellungen am DBFZ. Dort sind im Einzelnen die Tools zur Ökobilanzierung, Technikbewertung, Kostenrechnung und Logistikkettenuntersuchungen zu nennen, die dann im Rahmen des Projektes weiterentwickelt wurden. Weiterhin konnte auf das Know-How beim Anlagenbetrieb von getreidebasierten Bioethanolanlagen (CE/SZ) zurückgegriffen werden.

Das DBFZ hat als öffentliche Einrichtung des Bundes Zugriff auf wissenschaftliche Literatur im Rahmen der Nationallizenzen. Spezifische Literatur, die nicht im Rahmen der existierenden Verträge zur Verfügung stand, wurde über Projektmittel beschafft, sodass ein guter Zugang zu der aktuellen Literatur des Themengebietes sichergestellt werden konnte.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

- **Modulinterne Treffen:** Am 13.10.2009 fand eine detaillierte Planung der Vorgehensweise in einem bilateralen Treffen zwischen LEDD und dem DBFZ statt. Bei drei Arbeitstreffen wurde in erster Linie die Konzeptentwicklung diskutiert (2.2.2010 in Dresden, 23.7.2010 in Leipzig, 9.11.2010 in Dresden). Die Zwischenergebnisse wurden am 16.6.2011 bei einem Modultreffen in Dresden besprochen. Da an dem Treffen nicht alle Modulpartner teilnehmen konnten, hat ein weiteres Treffen mit allen Beteiligten am 29.8.2011 stattgefunden. Weitere Arbeitstreffen gab es in ca. 3-6 monatigen Abständen.

- Am 10.12.2009 wurde in Hamburg der modulübergreifende *Workshop Technologiescreening* durchgeführt, mit dem Ziel der Einbindung möglichst vieler Projektpartner in den Prozess der Konzeptentwicklung.
- Im Herbst 2011 fanden intensive Gespräche zur Datenaufnahme der im Projekt erzielten Ergebnisse und Besichtigungen der Forschungsanlagen mit den Projektpartnern aus Modul II-III statt. Im Einzelnen:
 - 14.9.11: Institut für Thermische Verfahrenstechnik der TUHH
 - 14.9.11: Institut für Feststoffverfahrenstechnik und Partikeltechnologie und Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft, der TUHH
 - 15.9.11: Institut für Technische Mikrobiologie der TUHH
 - 6.10.11: Institut für Molekulare Biowissenschaften der Goethe Universität Frankfurt
- Ergebnisse und Beschlüsse der Gespräche wurden im gegenseitigen Einvernehmen protokolliert.
- Im Herbst 2012 wurden die Aktivitäten bezüglich der Ligninnutzung und Energieversorgung in Modul III und IV weiter vernetzt. Dazu wurden Auswertungen der Massen- und Energiebilanzen der Konzepte aus Modul IV dem Institut für Umwelttechnik und Energiewirtschaft (IUE) zur Verfügung gestellt, wo überprüft wurde, inwiefern sich diese mit den dort bereits untersuchten Alternativen zur Ligninverwertung verbinden lassen.
- In den Jahren 2011 und 2012 haben Arne Gröngroft und Franziska Müller-Langer im Arbeitskreis zur Erstellung der „Roadmap Bioraffinerien im Rahmen der Aktionspläne der der Bundesregierung zur stofflichen und energetischen Nutzung nachwachsender Rohstoffe“ der Bundesregierung (siehe www.bmbf.de/pub/roadmap_bioraffinerien.pdf) mitgearbeitet.
- LEDD (U.Welteroth und K. Bronnenmeier) 2010-2012: Mitarbeit bei der Erstellung der sich in der Finalisierung befindlichen VDI Richtlinie ‚Gütekriterien für Bioraffinerien‘
- Während der Projektlaufzeit fanden Teilnahmen an fachlich relevanten Konferenzen statt (u. a. Bioethanol Technology Meeting 2010, 2011, 2012, International Symposium on Alcohol Fuels 2011, Kraftstoffe der Zukunft 2012 und 2013 und andere).

II. Eingehende Darstellung

1. Ergebnisse des Projektes

Die Ergebnisse der Arbeiten in Modul IV sind nach den in Abschnitt beschriebenen Arbeitspaketen gegliedert dargestellt. Die Autorenschaft übernahmen dabei jeweils die hauptverantwortlichen Bearbeiter, die nach gemeinsamer Absprache zu Beginn des Projektes zwischen den Partnern abgesprochen wurden (Siehe Abb. 1: Übersicht der FuE-Aktivitäten innerhalb des Moduls IV sowie die Vernetzung mit anderen Modulen. Die Federführung der Aktivitäten ist farblich gekennzeichnet, blau = LEDD, rot = DBFZ.).

AP IV.1 Konzeptentwicklung

Innerhalb des Forschungsverbundes wurde eine Reihe von unterschiedlichen Technologien in verschiedenen Entwicklungsstadien bearbeitet. Zur Bewertung von technischen und ökonomischen Realisierbarkeiten der verschiedenen Prozesse wurden mehrere Verfahrenskonzepte erstellt. Innerhalb dieser Verfahrenskonzepte wurden die Ströme von Prozessmedien und Utilities bilanziert, sowie ein Up-scaling auf den industriellen Maßstab durchgeführt. Für ausgewählte Varianten wurden komplette Werksplanungen einschließlich Bau, Stahlbau, Heating, Ventilation, Air-Conditioning (HVAC) und Elektroanlagen sowie Automatisierung durchgeführt. Die Kosten

für Prozessausrüstungen wurden, wenn möglich, durch Anfragen und Angebote von Lieferanten ermittelt. Als Grundlage für die Berechnung der Gestehungskosten durch das DBFZ wurden von LEDD Investitionskosten für die Gesamtanlage ‚turn-key‘ und ‚green-field‘ einschließlich aller zugehörigen Engineeringarbeiten und Nebenanlagen ermittelt. Dazu war die Einbindung von Ingenieuren verschiedener Gewerke notwendig, wie zum Beispiel Automatisierung, Elektrik, Bau, Stahlbau, HVAC und Sicherheitstechnik. Für die Bestimmung der Betriebskosten durch das DBFZ wurden von LEDD teilanlagenweise die Verbräuche der Medien und Utilities berechnet. Auf dieser sehr detaillierten Grundlage wurde eine verfahrenstechnische, ökonomische und ökologische Bewertung der gewählten Verfahren durchgeführt.

IV.1.1 Technologiescreening

Als Grundlage für die weitergehende Konzeptionierung von Bioraffinerien wurde – mit dem Ziel der Zusammenstellung von innovativen Technologien – ein umfangreiches Technologiescreening durchgeführt. Diese Technologien sollten als Alternativen in bereits in der Praxis realisierten Anlagenkonzepten integrierbar sein. Dabei wurde durch die Modulpartner definiert, dass sich die Untersuchungen auf fermentative Verfahren für die Produktion von Biokraftstoffen konzentrieren. Die thermo-chemische Umwandlung der Biomasse wird in den Konzepten nur für die in Modul III erforschte Verwertung von Lignin betrachtet. Damit ist sichergestellt, dass der Fokus wie im Antrag formuliert auf der Produktion von Bioethanol bleibt.

Des Weiteren wurden die folgenden Randbedingungen festgelegt (Meilenstein 1.1.1):

- Abstraktion der Bioraffinerie in funktionale Einheiten
- Festlegung von benötigten Eigenschaften für Technologiecatalog
- Vorgehen bei der Literaturrecherche

Die abstrahierten „funktionalen Einheiten“ (Technologiescreening diskutiert. So konnte die Einbindung möglichst vieler Projektpartner in den Prozess der Konzeptentwicklung sichergestellt werden. Durch die interdisziplinäre Besetzung des Workshops kam ein Überblick über relevante Entwicklungen von Verfahrensansätzen und Technologien zustande. Ausgehend von den Ergebnissen des Workshops Technologiescreening, dem Besuch von Fachtagungen und umfangreicher Literaturrecherche wurden systematisch Verfahren und Technologien identifiziert, die in einem entsprechenden Anlagenkonzept Verwendung finden könnten. Hierzu wurden technische Betriebsparameter und Kenngrößen zusammengetragen, die bei der Erstellung des „Technologiecatalogs“ (Meilenstein 1.1.2) berücksichtigt wurden.) dienen als Grundgerüst für zu entwickelnde Bioraffineriekonzepte. Für jede der dargestellten funktionalen Einheiten wurden unterschiedliche Technologieoptionen zusammengetragen und in einem modulübergreifenden *Workshop*

Technologiescreening diskutiert. So konnte die Einbindung möglichst vieler Projektpartner in den Prozess der Konzeptentwicklung sichergestellt werden. Durch die interdisziplinäre Besetzung des Workshops kam ein Überblick über relevante Entwicklungen von Verfahrensansätzen und Technologien zustande. Ausgehend von den Ergebnissen des Workshops Technologiescreening, dem Besuch von Fachtagungen und umfangreicher Literaturrecherche wurden systematisch Verfahren und Technologien identifiziert, die in einem entsprechenden Anlagenkonzept Verwendung finden könnten. Hierzu wurden technische Betriebsparameter und Kenngrößen zusammengetragen, die bei der Erstellung des „Technologiecatalogs“ (Meilenstein 1.1.2) berücksichtigt wurden.

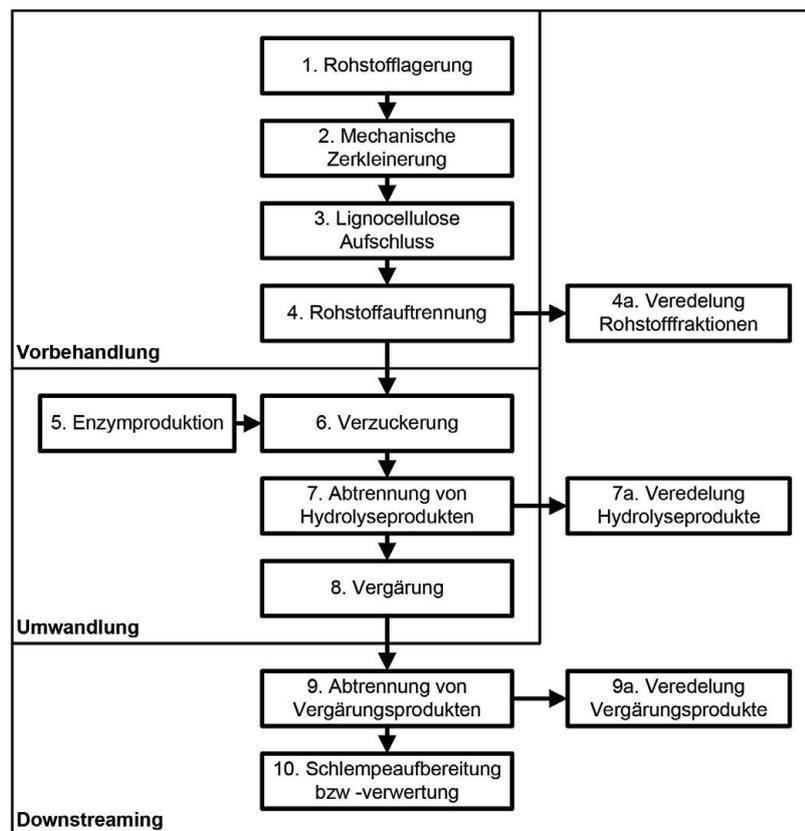


Abb. 2: Funktionale Einheiten für das Technologiescreening

Der Technologiecatalog umfasst die nachstehenden Verfahrensschritte.

- **Rohstofflagerung:** Silos, Haufwerke, Mieten, Tanks
- **Mechanische Zerkleinerung:** Trockenmahlverfahren mit Hammer oder Walzenmühlen, „Pearling“, Naßmahlverfahren, Zerkleinerung von Zuckerrüben, Strohzerkleinerung
- **Lignocelluloseaufschluss:** Heißwasserhydrolyse, andere thermische Aufschlussverfahren, Organosolv, schwach und stark saure Verfahren
- **Rohstoffauftrennung:** Abtrennung von Kleie, Gluten, Maiskeimöl, Arabinoxylan, C5-Zucker, Inhibitoren; Wachsabtrennung bei Einsatz von Stroh
- **Enzymproduktion:** Produktion von Cellulasen, Xylanasen sowie Enzymen zur Stärkeverzuckerung; Produktion mit extremophilen Organismen
- **Verzuckerung:** Herkömmliche Stärkeverzuckerung, Rohstärkehydrolyse, Enzymatische Verzuckerung von Cellulose, Partielle Hydrolyse zu Cellulose-Oligomeren, Verzuckerung mittels thermophiler Cellulasen
- **Abtrennung von Hydrolyseprodukten:** Ligninabtrennung durch Zentrifugation, Mizellare Extraktion zur Enzymrückgewinnung, Abtrennung von Cellulose Oligomeren
- **Veredelung Hydrolyseprodukte:** Veresterung von Cellulose-Oligomeren, Ligninvergasung, Ligninpyrolyse
- **Vergärung:** Vergärung zu Ethanol, Fumarat/Malat
- **Abtrennung von Vergärungsprodukten:** Destillation, Membranverfahren, Gas- oder Vakuum-Stripping

- **Veredelung von Vergärungsprodukten:** CO₂-Verflüssigung, Aufbereitung von Lebensmittelzusatzstoffen
- **Schlempeaufbereitung/-verwertung:** Trocknung zu Pellets, anaerobe Vergärung zu Biogas, Proteinfutterproduktion

Eine fertige Arbeitsversion des Technologiekatalogs wurde wie vorgesehen im September 2010 fertig gestellt und an LEDD übergeben, wo die Informationen in die Ausarbeitung von konkreten Anlagenkonzepten eingebunden worden sind.

IV.1.2 Entwicklung von Bioraffineriekonzepten

Aufbauend auf dem Technologiekatalog wurden verschiedene Modelle möglicher Bioraffinerietypen erstellt. In Absprache mit den Projektpartnern wurden Verfahrensschritte zur Herstellung von Bioethanol aus Stroh identifiziert und kommerziell verfügbare Technologien ausgewählt. Daraus wurden im ersten Projektjahr die Basiskonzepte „Green Field“ und „1G-Annex I“ erstellt. Ausgangspunkt für die Annexanlagen war ein Referenzkonzept für eine Weizenethanol-Anlage mit einer Produktionskapazität von 100.000t/a Ethanol:

Basiskonzept „Green Field“

- 2G-Bioethanolanlage auf Basis von Stroh
- Kapazität Bioethanol: 50 kt/a
- nur C6-Vergärung
- keine Eindampfung der Süßmaische vor alkoholischer Vergärung

Basiskonzept „1G-Annex I“

- 2G-Bioethanolanlage als Annex an eine bestehende 1G-Bioethanolanlage aus Weizen
- Kapazität Bioethanol: 50 kt/a auf Basis von Stroh und Kleie
- Kapazität Bioethanol: 100 kt/a auf Basis von Weizen
- nur C6-Vergärung
- keine Eindampfung der Süßmaische vor alkoholischer Vergärung

Für die Basiskonzepte wurde unter Nutzung von Technologien des aktuellen Standes der Technik eine detailliertere Planung durchgeführt. Die Verbrauchsdaten und Investitionsaufwendungen wurden ermittelt und dienten dem DBFZ als Basis für die erste Bewertung in Arbeitspaket IV.2. Beispielhaft ist in das Blockschaltbild des *Basiskonzepts „1G-Annex I“* dargestellt.

Basiskonzept „1G-Annex“, Version I

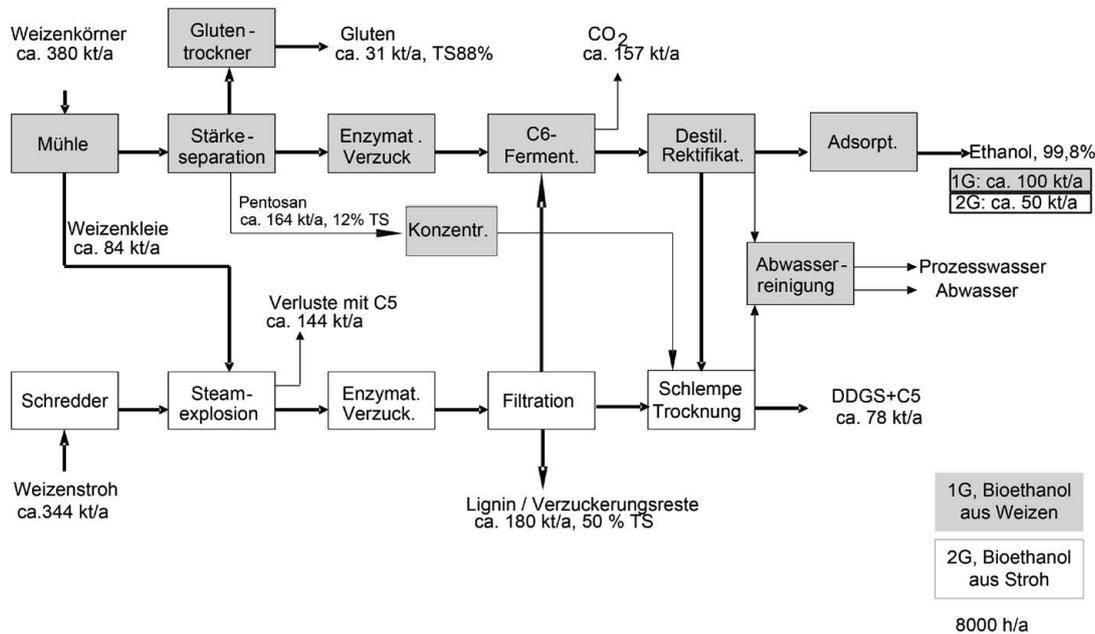


Abb. 3: Blockschema Basiskonzept „1G-Annex“, Version I (Bearbeitungsstand 2010).

Nach den verschiedenen Diskussionen mit den Projektpartnern der Module I bis III innerhalb des Forschungsclusters im Herbst 2011 und auf Grundlage der ersten Bewertungsergebnisse aus AP IV.2 wurde das *Basiskonzept* „1G-Annex I“ überarbeitet. Die folgenden Punkte fanden dabei Berücksichtigung und haben zu Version II des Basiskonzepts geführt:

- Implementierung der aktuellen Analyseergebnisse der Inhaltsstoffe des Rohstoffes Weizenstroh (Modul II.1) anstelle von Literaturdaten
- Implementierung eines Konzentrationsschrittes für die Süßmaische (Zuckerlösung) nach der enzymatischen Verzuckerung zur Optimierung der Raum-Zeit Ausbeute der fixierten Teilschritte C6-Vergärung und Destillation
- Implementierung der Enzymaktivitäten von kommerziell verfügbaren Enzymen an projektspezifischen Substraten aus Ergebnissen des Modules II.2
- Implementierung der Ligninverbrennung (energetische Verwertung)

Basiskonzept „1G-Annex“, Version II (überarbeitet)

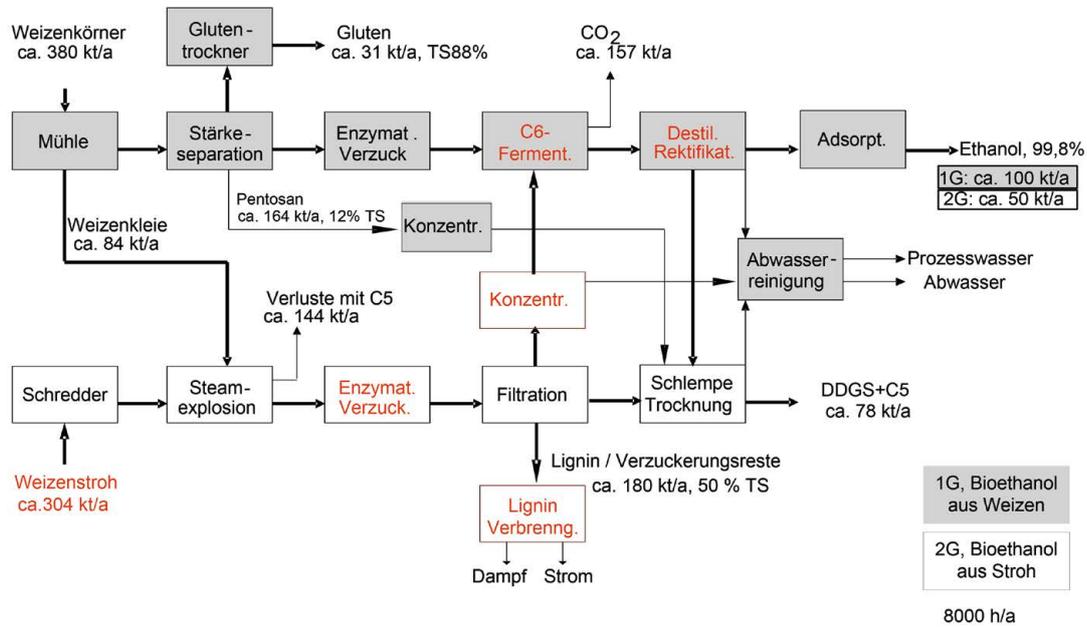


Abb. 4: Blockscheema Basiskonzept „1G-Annex“, Version II (Bearbeitungsstand 2011). Überarbeitete Bereiche sind rot gekennzeichnet.

IV.1.3 Bilanzierung und Modellierung von Bio Raffineriekonzepten

Apparate und Stoffströme wurden für den Gesamtprozess zunächst für alle *Basiskonzepte* und das daraus entwickelte *integrierte Bio Raffineriekonzept* der „1G-Annex“ bilanziert. Im Verfahrensfliesschema ist zunächst der Produktstrom für *Basiskonzept* „1G-Annex“, Version II dargestellt (Apparate und Stoffströme wurden für den Gesamtprozess zunächst für alle *Basiskonzepte* und das daraus entwickelte *integrierte Bio Raffineriekonzept* der „1G-Annex“ bilanziert. Im Verfahrensfliesschema ist zunächst der Produktstrom für *Basiskonzept* „1G-Annex“, Version II dargestellt (Apparate und Stoffströme wurden für den Gesamtprozess zunächst für alle *Basiskonzepte* und das daraus entwickelte *integrierte Bio Raffineriekonzept* der „1G-Annex“ bilanziert. Im Verfahrensfliesschema ist zunächst der Produktstrom für *Basiskonzept* „1G-Annex“, Version II dargestellt (Abb. 5).).

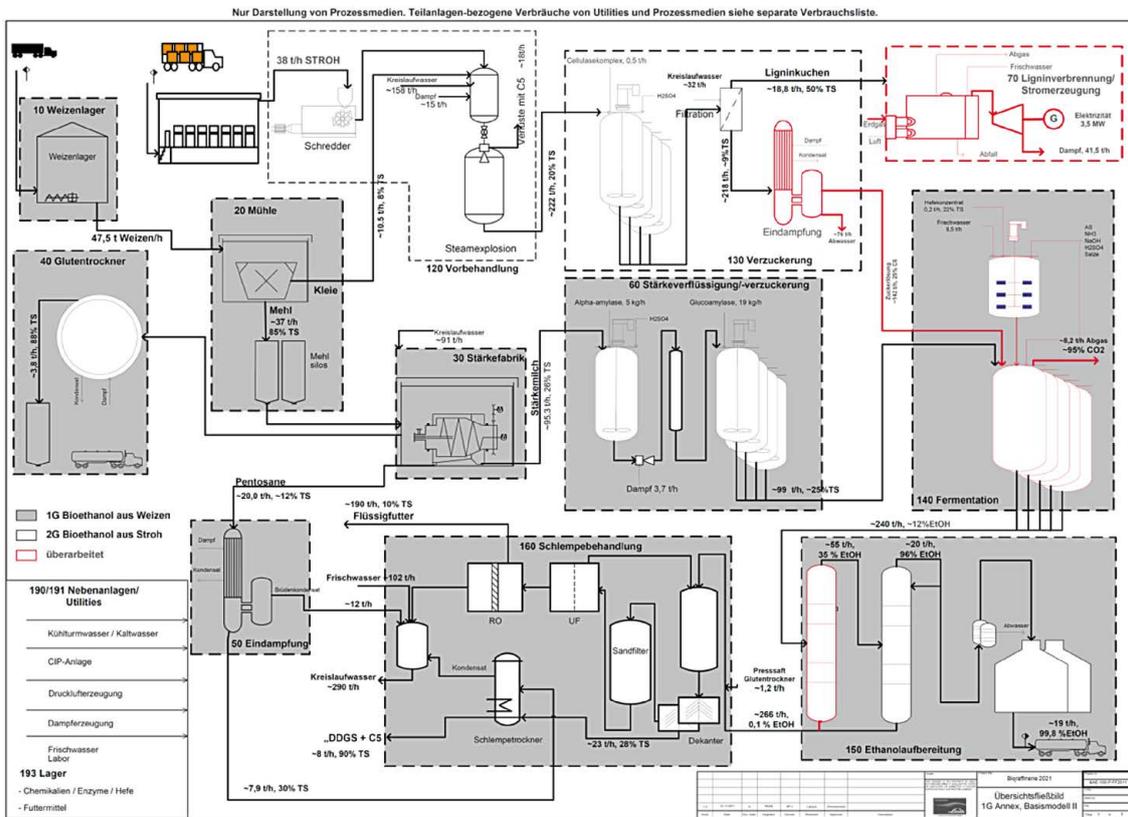


Abb. 5: Verfahrensfließschema Basiskonzept „1G-Annex“, Version II (Bearbeitungsstand 2011)

Aufbauend auf dem o. g. Austausch und der Diskussion der verfügbaren Forschungsergebnisse aus den Modulen I bis IV erfolgte die Einbindung der neuen Technologien in das Basiskonzept „1G-Annex“. Die Arbeiten der Projektpartner aus den Modulen I bis III konzentrieren sich im Wesentlichen auf die in Aufbauend auf dem o. g. Austausch und der Diskussion der verfügbaren Forschungsergebnisse aus den Modulen I bis IV erfolgte die Einbindung der neuen Technologien in das Basiskonzept „1G-Annex“. Die Arbeiten der Projektpartner aus den Modulen I bis III konzentrieren sich im Wesentlichen auf die in Aufbauend auf dem o. g. Austausch und der Diskussion der verfügbaren Forschungsergebnisse aus den Modulen I bis IV erfolgte die Einbindung der neuen Technologien in das Basiskonzept „1G-Annex“. Die Arbeiten der Projektpartner aus den Modulen I bis III konzentrieren sich im Wesentlichen auf die in Aufbauend auf dem o. g. Austausch und der Diskussion der verfügbaren Forschungsergebnisse aus den Modulen I bis IV erfolgte die Einbindung der neuen Technologien in das Basiskonzept „1G-Annex“.

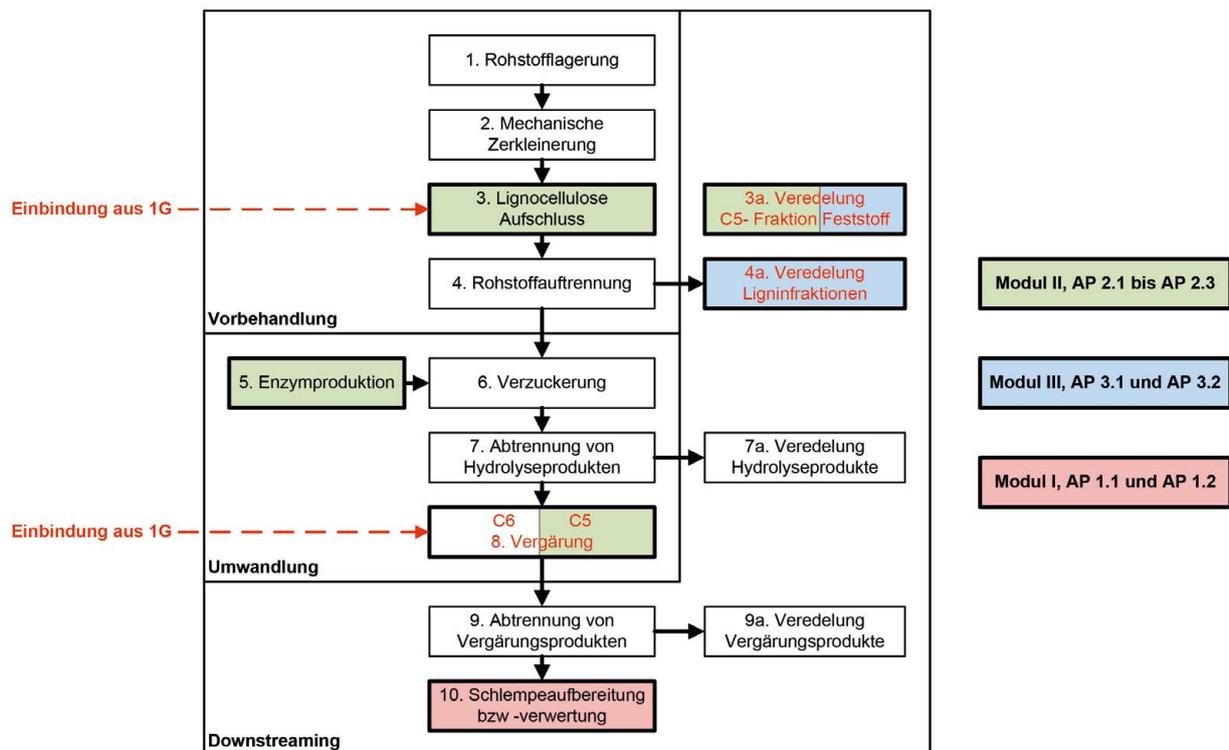


Abb. 6: Neue Technologien im Gesamtvorhaben Bioraffinerie 2021

Für eine Bilanzierung von Stoffströmen und Energien sind ausreichende Informationen über die entsprechenden Prozessschritte erforderlich. Notwendige Angaben für die neuen Verfahren sind dabei:

- Reaktionsführung/-typ
- Temperaturniveaus
- Druck
- Volumen
- pH Wert
- Detaillierte Analyse aller Reaktionspartner und Produkte
- Konzentrationsverhältnisse

Die innerhalb des Forschungsverbundes Bioraffinerie 2021 bearbeiteten Teilvorhaben befinden sich in unterschiedlichen Entwicklungsphasen mit variierenden Bearbeitungstiefen.

Im Jahr 2011 fand eine umfangreiche Partnerabfrage des Moduls IV (LEDD und DBFZ) an den beteiligten Instituten der anderen Module statt. Dafür wurden die betreffenden Institute gemeinsam von DBFZ und LEDD besucht, Verfahrensvarianten diskutiert und eine Möglichkeit der Aufnahme des entwickelten Prozesses in die Projektbilanzierung gemeinsam mit den Partnern der anderen Module beschlossen. Neue Verfahren, bei denen oben genannte Parameter an das Modul IV übermittelt wurden, sind in der Bilanzierung und Bewertung berücksichtigt worden.

Folgende aktuelle Ergebnisse konnten in das *integrierte Bioraffineriekonzept* eingebunden werden:

- a. Heißwasserhydrolyse (TUHH AG Prof. Smirnova, Modul II)
- b. C5-Vergärung (UNI FF AG Prof. Boles, Modul II)
- c. Trocknung des Lignins als Voraussetzung für die weitere Verwertung, z.B. für Pyrolyse (TUHH Prof. Heinrich, Modul III)
- d. CO₂-Gewinnung in Lebensmittelqualität
- e. Biogasproduktion (Modul I)

Verfahrenstechnische Potenziale der bilanzierten Prozessschritte:

- a. Heißwasserhydrolyse (TUHH AG Prof. Smirnova, Modul II)

Die Heißwasserhydrolyse hat den Vorteil, die C6- und C5-Zuckerfraktion des Stroh zu trennen und vom Lignin zu separieren. Optimierungspotenzial besteht in einer Verringerung der notwendigen Wassermenge. Dadurch wäre es möglich, Materialeinsatzkosten für Heißwasser, Apparategrößen für folgende Prozessschritte und Energieaufwand für die Eindampfung als Folgeschritt zu reduzieren. Die weitere Erhöhung der Selektivität von C6- und C5-Zuckertrennung ist ein zusätzliches Optimierungspotenzial. Im bisher bestehenden Labormaßstab wird das Stroh in Körbe gefüllt und dann batchweise extrahiert. Im Industriemaßstab wird durch LEDD ein Technologiesprung zu kontinuierlicher Strohzufuhr erwartet, zum Beispiel durch Einbau von kontinuierlichen Schneckenförderern. Es wird empfohlen, bei dem Bau einer Pilotanlage für die Heißwasserhydrolyse bereits mit kontinuierlichem Stoffstrom zu arbeiten.
- b. C5-Vergärung (UNI FF AG Prof. Boles, Modul II)

Die Vergärung von C5-Alkoholen macht eine weitere Teilkomponente des Rohstoffs Stroh für die Nutzung zugänglich. Die Ausbeute an Ethanol pro Mengeneinheit Stroh wird dadurch erhöht. Prinzipiell möglich ist eine gemeinsame Vergärung von C5- und C6-Zuckern, die jedoch im dargestellten Fall zu einer Verlängerung der Fermentationszeiten und damit zu einer Erhöhung des Fermentationsvolumens und der Behältergrößen führt.

Durch die Heißwasserhydrolyse erfolgte größtenteils eine Trennung der C5- und C6-Zucker. Durch eine separate C6-Vergärung bleiben die Fermentergrößen der Hauptfraktion (C6-Zucker) in einem ökonomisch günstigen Bereich. Nach einer Aufkonzentrierung der C5-Zucker in Fallfilmverdampfern erfolgt die Fermentation der C5-Zucker separat. Aufgrund einer deutlich höheren Fermentationszeit der C5-Zucker musste hier die Fermenteranzahl entsprechend angepasst werden. Optimierungsmöglichkeiten liegen in einer Reduzierung der Fermentationszeit von C5-Zuckern. Eine effektive Cofermentation von C5- und C6-Zucker könnte auch restliche Gehalte der anderen Zuckerfraktion in den Fermentationslösungen zugänglich machen.
- c. Trocknung des Lignins als Voraussetzung für die weitere Verwertung, z.B. für Pyrolyse

In den Basismodellen der im Projekt entwickelten Verfahrenskonzepte wurde das Lignin verworfen (Version I) bzw. zur Stromerzeugung verbrannt (Version II). Verschiedene Varianten zur stofflichen Nutzung des Lignins wurden im Projekt Bioraffinerie 2021 in Modul III bearbeitet. Zur Zeit der Verfahrensabfragen 2011 waren die Optimierungsarbeiten für die Verfahren noch nicht abgeschlossen. In allen Varianten wurde jedoch getrocknetes Lignin als Feedmaterial verwendet. Um eine Verwendbarkeit des Lignins für diese Prozesse zu gewährleisten, wurde ein Verfahrensschritt zur Trocknung des Lignins von 50% anfallender Restfeuchte auf 5%

eingeführt. Innerhalb weiterer Verfahrensoptimierungen im Modul III sollte untersucht werden, ob und mit welchem Wassergehalt ungetrocknetes Lignin verwendet werden kann. Investitions- und Verbrauchskosten für die Lignintrocknung könnten dann entsprechend reduziert werden.

d. CO₂-Gewinnung in Lebensmittelqualität

Die Gewinnung von Kohlendioxid für Lebensmittelzwecke ist ein weit verbreiteter Verfahrensschritt bei Fermentationsprozessen, der die gesamte Wirtschaftlichkeit deutlich erhöhen kann. LEDD hat umfangreiche Erfahrungen auf dem Gebiet der CO₂-Verwertung und hat eine CO₂-Anlage nach dem aktuellen Stand der Technik zur Optimierung der Wirtschaftlichkeit und Senkung der CO₂-Emission in das integrierte Konzept eingebunden.

e. Biogasproduktion (Modul I)

In den letzten Projektmonaten in 2012 wurden die Forschungsergebnisse für die Biogasanlage aus Modul I in die Bilanzierung übernommen. Die Daten hierzu wurden vom DBFZ zur Verfügung gestellt. Die Dünnschlempe und die Pentosanfraktion aus der Stärkeaufbereitung werden in einer Biogasanlage zu Biogas verarbeitet. Bei der angegebenen Zusammensetzung ergeben sich für den gewählten Produktionsmaßstab ca. 4.600 m³ i.N./h Biogas mit einer Zusammensetzung von ca.

- 63% CH₄
- 36% CO₂
- <1% NH₃
- <1% H₂S

Für die Biogasherstellung im Industriemaßstab sind drei Hochleistungsreaktoren mit einem Volumen von ca. 3.700 m³ zu installieren.

Das Biogas muss entschwefelt werden und kann dann energetisch genutzt werden (z.B. BHKW). Bei der angenommenen Menge und Zusammensetzung können ca. 70.000 MWh/a Strom erzeugt werden. Die wässrige Fraktion wird in der Anlage aufgereinigt und den vorliegenden Prozessen wieder zugeführt.

Auf Grund der zu erwartenden Abwasserzusammensetzung sollte in der Zukunft bei der Auswahl des Abwasserreinigungsverfahrens die stoffliche Nutzung der Abwasserkomponenten (anorganische Salze, Karbonate) betrachtet werden.

Aktuelle Ergebnisse der Pilotanlage zur Biogasproduktion konnten auf Grund terminlicher Abläufe beim Bau und Inbetriebnahme der Pilotanlage noch nicht berücksichtigt werden. Experimentell ermittelte Werte der Pilotanlage sollten zur Bilanzierung des integrierten Modells herangezogen werden.

Das *integrierte Bioraffineriekonzept* beinhaltet nach Einbindung aller unter a) bis e) genannten Verfahren die in Das integrierte Bioraffineriekonzept beinhaltet nach Einbindung aller unter a) bis e) genannten Verfahren die in Das integrierte Bioraffineriekonzept beinhaltet nach Einbindung aller unter a) bis e) genannten Verfahren die in Abb. 7 dargestellten Schritte: dargestellten Schritte: dargestellten Schritte:

Bioethanol 1G-Annexanlage, integriertes Modell (Up-Scaling und Einbindung)

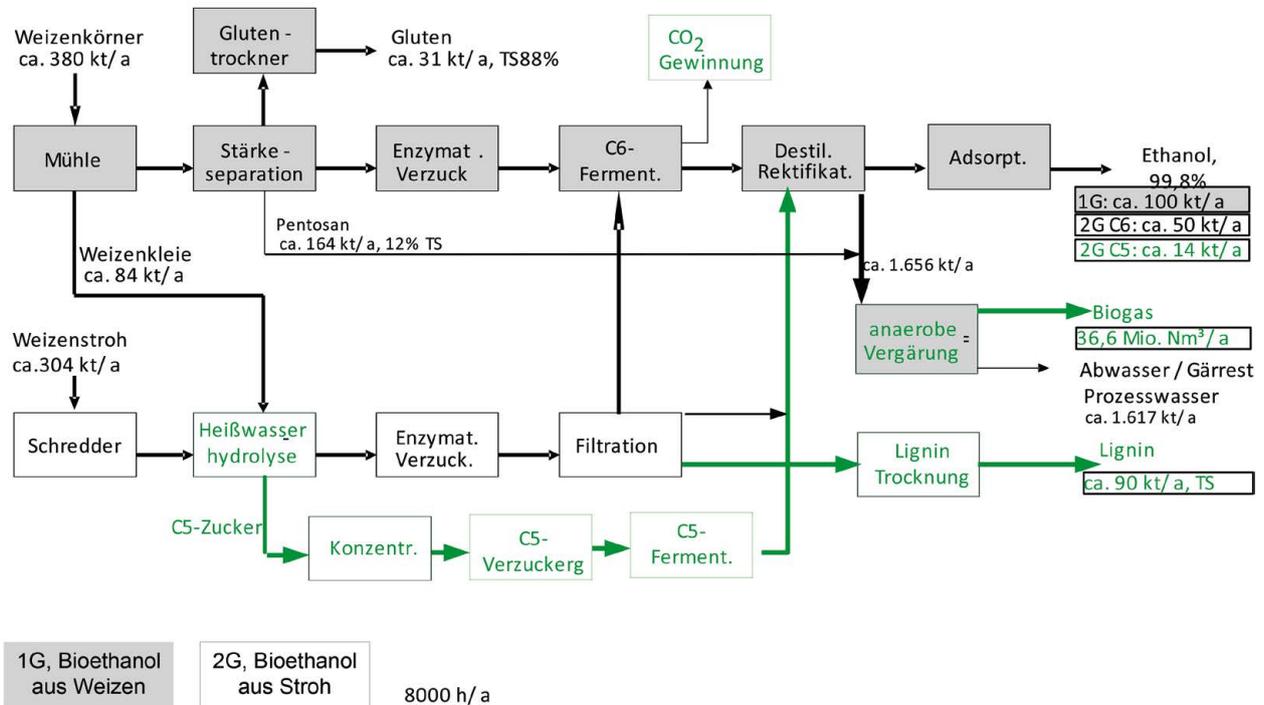


Abb. 7: Blockschema integriertes Bioraffineriekonzept (Bearbeitungsstand Juni 2012)

Das Up-Scaling wurde für die neuen Technologien rechnerisch durchgeführt (entsprechend der LEDD Aufgabenstellung in Modul II.IV) und die Gesamtbilanz des integrierten Konzeptes für Stoffströme und Energien durchgeführt.

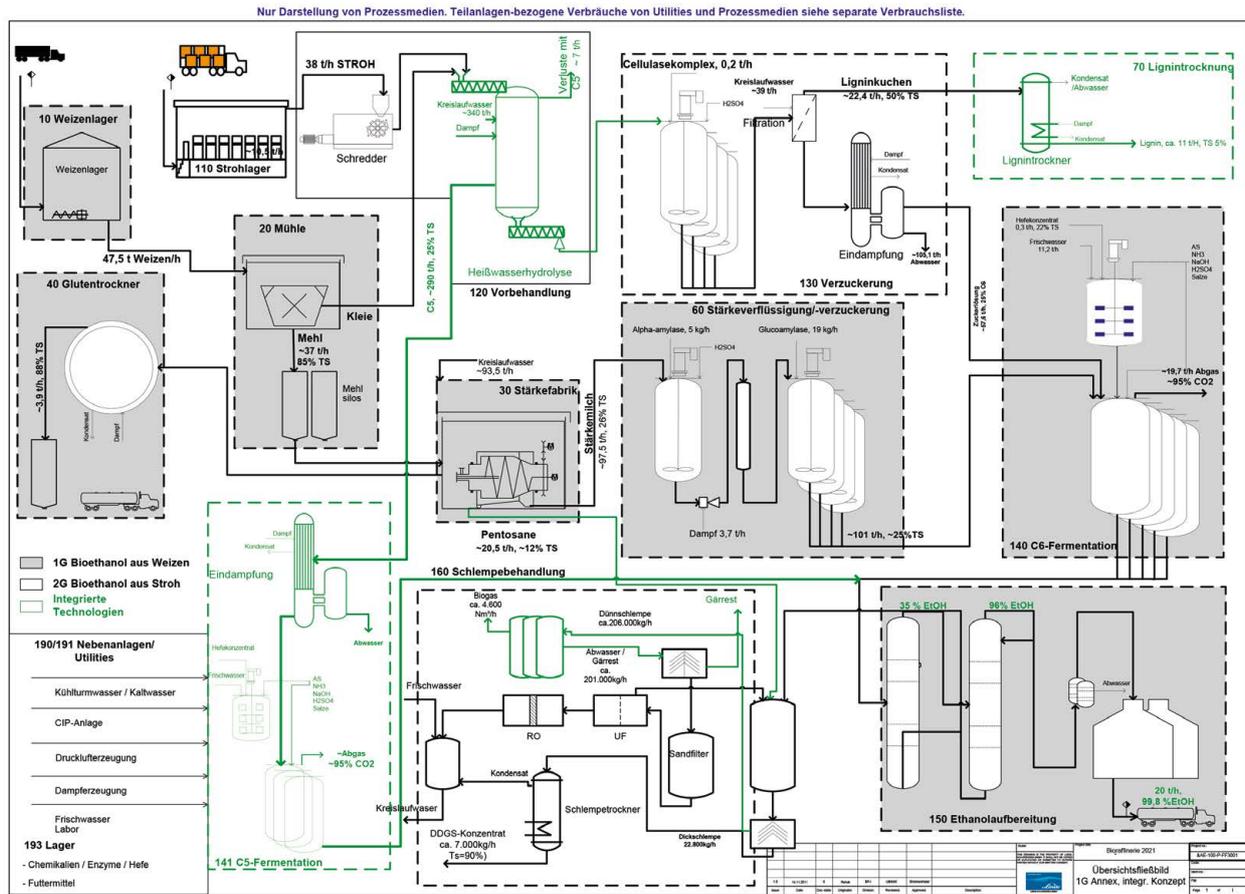


Abb. 8: Verfahrensfliessschema integriertes Biorefineriekonzept (Bearbeitungsstand Juni 2012, mit Biogasanlage aus Modul I). Grau hinterlegt sind die Bestandteile der Weizenethanolanlage.

Beispielhaft wurde die Bilanz auf eine 100 kg/h Stroh 2G-Pilotanlage angepasst. Das Ergebnis zeigt beispielhaft wurde die Bilanz auf eine 100 kg/h Stroh 2G-Pilotanlage angepasst. Das Ergebnis zeigt beispielhaft wurde die Bilanz auf eine 100 kg/h Stroh 2G-Pilotanlage angepasst. Das Ergebnis zeigt Abb. 9.

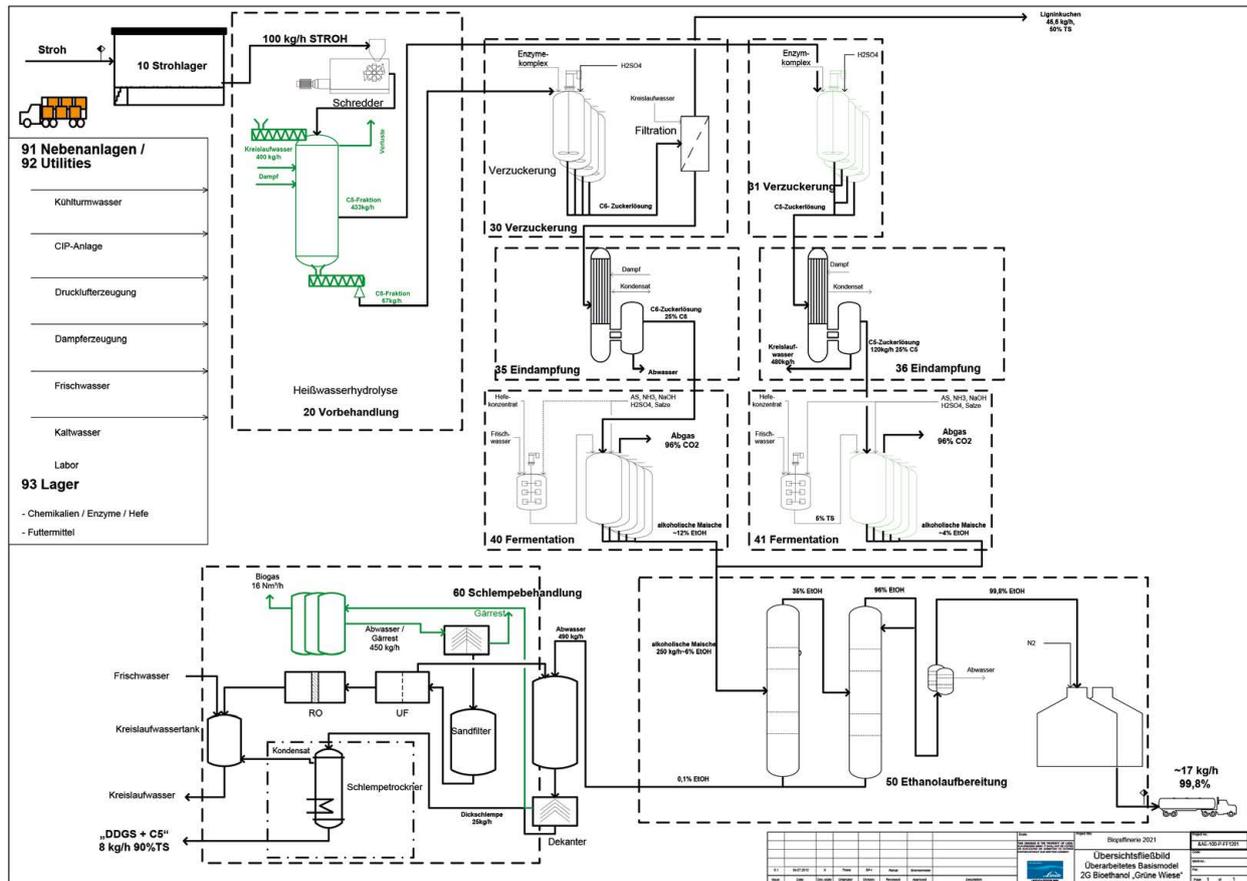


Abb. 9: Verfahrensfließschema integriertes Bioraffineriekonzept 2G-Pilotanlage (Bearbeitungsstand Juni 2012, Pilotanlage 100 kg/h)

Die Bilanzierung einer Pilotanlage war Teil der Arbeitsaufgaben von LEDD im Modul II.4. Alle bisherigen Erfahrungen aus der Prozessentwicklung und dem Anlagenbau bei LEDD zeigen, dass vor dem Bau einer Pilotanlage immer zuerst die Großanlage bilanziert werden muss. So ist es möglich, ökonomische Machbarkeit und prozesstechnische Herausforderungen beim Scale-Up frühzeitig zu erkennen. Bei dem integrierten Bioraffineriekonzept wird ein Technologiesprung in der technischen Ausführung der Heißwasserhydrolyse gesehen. Im Industriemaßstab wird die Extraktion von Stroh in Körben im Batch-Betrieb nicht mehr möglich sein. Auf dem Markt gibt es bereits technische Lösungsansätze zur kontinuierlichen Zufuhr von Stroh in die Hydrolysekammern mittels Förderschnecken. Es wird als Rückkopplung des Modul IV an das Modul II empfohlen, diesen Technologiesprung beim Scale-Up bereits in der geplanten Pilotanlage zu berücksichtigen.

Die Auslegung einer Pilotanlage für den Maßstab von 100 kg/h Stroh wurde innerhalb des Arbeitspaketes II.4 durch LEDD bilanziert und in Beispielhaft wurde die Bilanz auf eine 100 kg/h Stroh 2G-Pilotanlage angepasst. Das Ergebnis zeigt Beispielhaft wurde die Bilanz auf eine 100 kg/h Stroh 2G-Pilotanlage angepasst. Das Ergebnis zeigt Abb. 9. dargestellt. Die fünf im Verlauf des Projektes entwickelten Bioraffineriekonzepte sind in Tabelle 1 mit ihren wesentlichen Unterschieden zusammengefasst. mit ihren wesentlichen Unterschieden zusammengefasst.

Tabelle 1: Übersicht über entwickelte Bioraffineriekonzepte

Bezeichnung	Erläuterung
Weizenethanol	Ausgangspunkt für die Annexanlagen mit einer Produktionskapazität von 100.000 t/a Ethanol, Rohstoff Weizen, Abtrennung von Gluten und Kleie, Dampf aus Erdgaskessel
Green Field	Rohstoff Weizenstroh, Vorbehandlung durch Steam-Explosion, Vergärung ausschließlich C6-Zucker, Produktionskapazität 50.000 t/a Ethanol, enzymatische Hydrolyse vor alkoholischer Vergärung, Prozessenergie aus Ligninfraktion durch KWK
1G-Annex I	Kombination von „Weizenethanol“ und „Green Field“, wobei das Hydrolysat aus dem Stroh direkt mit in die Stärkefermentation (1G) eingebracht wird. Dampf aus Erdgaskessel, Ligninfraktion wird als Brennstoff vermarktet.
1G-Annex II	Wie 1G-Annex I, Eindampfung des Strohhydrolysats zur Verminderung der Wasserfrachten, Prozessenergie aus Ligninfraktion durch KWK ergänzt um Dampf aus Erdgaskessel
Integriertes Bioraffineriekonzept	Wie 1G-Annex II unter Einbindung der verfügbarer Ergebnisse aus Modulen I-III: Heißwasserhydrolyse statt Steam-Explosion, Vergärung von C5-Zuckern zu Ethanol, Vermarktung eines Teils des CO ₂ aus der Fermentation, Biogasproduktion aus Dünnschlempe

IV.1.4 Dimensionierung und Auslegung der Bioraffineriekonzepte

Die Dimensionierung und Werksplanung wurden für die Basiskonzepte „Green Field“, die zwei Versionen des Basiskonzepts „1G-Annex“ und das integrierte Bioraffineriekonzept der 1G-Annexanlage durchgeführt. Als Beispiel ist das Layout für die integrierte Bioraffinerieanlage gezeigt. Der Platzbedarf und die Investitionskosten für alle Anlagenteile, Utilities, Automatisierung und Instrumentierung, Elektroversorgung, Bau und Stahlbau wurden ermittelt.

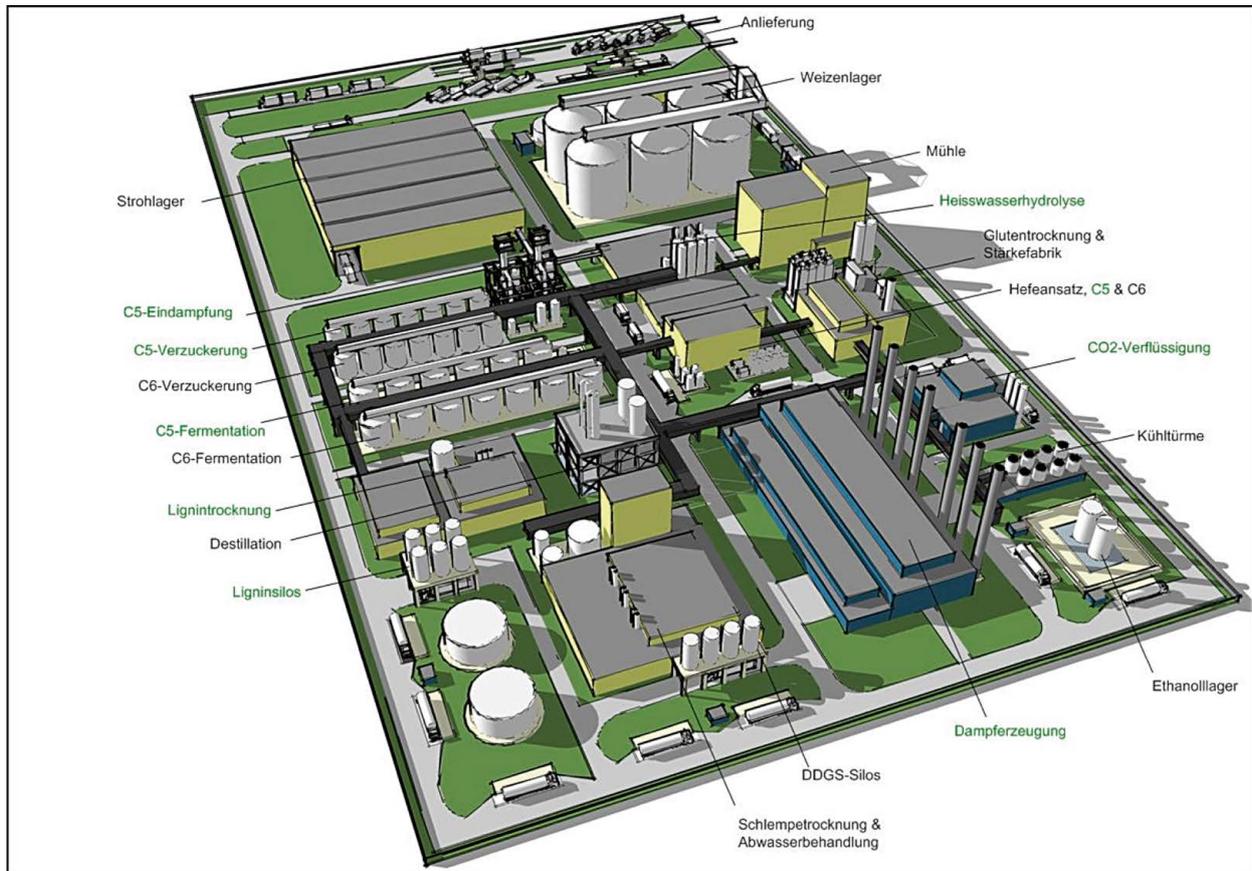


Abb. 10: Werksplanung des integrierten Bioraffineriekonzeptes, Arbeitsstand Juni 2012, ohne Biogasanlage aus Modul 1, grün beschriftet: neue Technologien aus Forschungscluster

IV.1.5 Bereitstellungskonzepte

Dieses Kapitel beinhaltet eine Auswertung der Strohpotenziale sowie die Kalkulation der Biomassebereitstellungskosten am Beispiel Zeitz. Mit Hilfe von Szenarien werden kostenbestimmende Einflussfaktoren variiert und die damit verbundenen Auswirkungen dargestellt. Auf Basis der Ergebnisse wird anschließend ein weiterer Anlagenstandort in Deutschland ermittelt.

Strohpotenziale

Ausgangspunkt der Analysen sind die Ergebnisse des vom BMU geförderten Verbundprojektes „Basisinformationen für eine nachhaltige Nutzung landwirtschaftlicher Reststoffe zur Bioenergiebereitstellung“. Neben technischen Restriktionen und den bisherigen stofflichen Nutzungen wurden hierbei insbesondere die ökologischen Faktoren zum Erhalt der Bodenqualität detailliert ausgewertet. In den Berechnungen kamen insgesamt drei unterschiedliche Bewertungsmethoden zum Einsatz. Deutschland verfügt daraufhin je nach Berechnungsmethode über ein nachhaltiges Strohpotenzial in Höhe von 8–13 Mio. Tonnen Frischmasse (t FM), welches für eine energetische Nutzung verwendet werden könnte. Für die weiteren Berechnungen werden die Ergebnisse der mittleren Berechnungsmethode (9,8 Mio. t FM) zugrunde gelegt. (Zeller u. a., 2012)

Die auf Landkreisebene vorliegenden Projektergebnisse wurden durch den Einsatz eines Geographischen Informationssystems (GIS) in der räumlichen Qualität soweit gesteigert, dass eine standortbezogene Auswertung der Strohpotenziale möglich war. Die Projektionsbasis sind hierfür die deutschen Ackerflächen aus dem Digitalen Landschaftsmodell (DLM) des Amtlich Topographisch-Kartographischen Informationssystems (ATKIS) der Bundesrepublik Deutschland. Mit einer räumlichen Auflösung von 25m und einer Flächenerfassung ab einem Hektar verfügt dieser sehr detaillierte Datensatz über ca. 1,6 Millionen Einzelflächen (BKG, 2012).

Auf Basis der amtlichen Statistiken der Agrarstrukturerhebungen von 1999, 2003, 2007 und 2010 (Destatis, 2012) wurden zunächst die landkreisspezifischen Anteile der relevanten Getreideflächen ermittelt. Durch die Verschneidung dieser Daten mit den ATKIS-Geodaten und den Projektergebnissen zu den Strohpotenzialen wurden schließlich die resultierenden Strohpotenziale pro Ackerflächenpolygon berechnet. Eine detaillierte Beschreibung der angewandten Methodik erfolgt in (Brosowski, 2012).

Die aus diesem Ansatz hervorgehenden Einzelergebnisse ermöglichen eine standortbezogene Auswertung. Abb. 11: Strohpotenziale in Deutschland pro km² und Auswertungen für den Standort Zeitz veranschaulicht die regionale Verteilung der Strohpotenziale in Deutschland pro Quadratkilometer. Zusätzlich ist der Standort Zeitz sowie ein radiales Einzugsgebiet von 100 km dargestellt. Für die weiteren Auswertungen wurde das Einzugsgebiet in 5 km-Kreisabschnitte unterteilt und anschließend hinsichtlich der regionalen Strohpotenziale ausgewertet. Um den Straßenentfernungen Rechnung zu tragen, wurde bei den Analysen ein Straßenverlängerungsfaktor von 1,2 berücksichtigt. Das Diagramm in Abb. 11: Strohpotenziale in Deutschland pro km² und Auswertungen für den Standort Zeitz zeigt für den Standort Zeitz die Verteilung der regionalen Strohpotenziale in Abhängigkeit der zunehmenden Entfernung. Innerhalb des betrachteten Einzugsgebietes beträgt das Strohpotenzial demzufolge ca. 900.000 t FM. Ebenfalls dargestellt ist der Strohbedarf der betrachteten Anlagenkonzepte 1G-Annex (304.000t FM) sowie Green Field (345.000t FM).

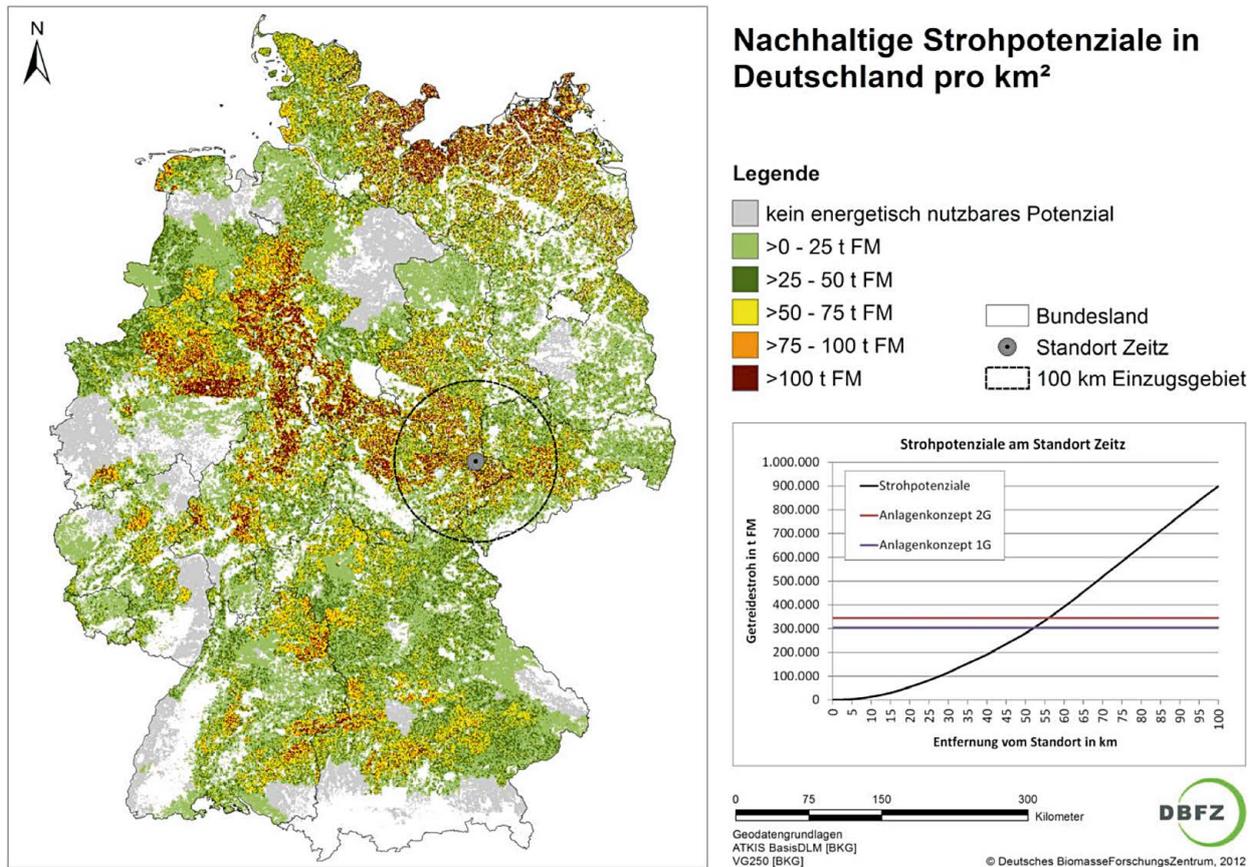


Abb. 11: Strohpotenziale in Deutschland pro km² und Auswertungen für den Standort Zeit

Biomassebereitstellungskosten

Die Bereitstellungskosten für den Standort Zeit wurden auf Grundlage der GIS-basierten Auswertungen zu den Strohpotenzialen mit einem am DBFZ entwickelten Berechnungstool kalkuliert. Darin wurde eine Bereitstellungskette modelliert, die sich aus den in Abb. 12: Einzelprozesse der Strohbereitung (in Anlehnung an (KTBL, 2010)) dargestellten Einzelprozessen zusammensetzt.

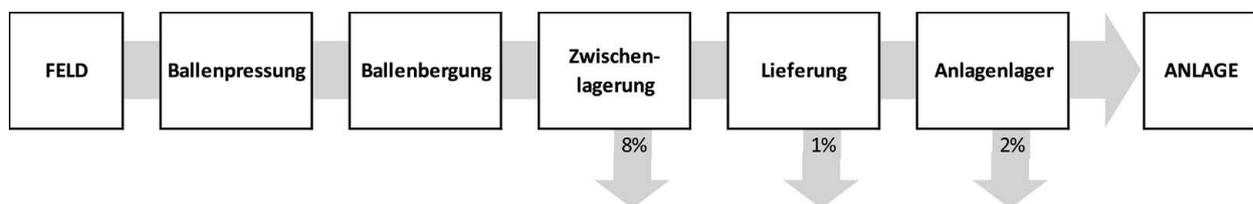


Abb. 12: Einzelprozesse der Strohbereitung (in Anlehnung an (KTBL, 2010))

Das auf dem Feld liegende Stroh wird im Prozess der Ballenpressung zu Quaderballen verarbeitet, da sich für Rundballen nur schlecht eine effektive Logistikkette aufbauen lässt. Die Ballenbergung umfasst anschließend das Verladen der Strohballen auf ein landwirtschaftliches Transportmittel sowie den Transport zu einem Zwischenlager. Die Zwischenlagerung beinhaltet

das Entladen des Transportgutes und die Art der Lagerung. Die Lieferung setzt sich schließlich aus der Beladung des Transportgespanns am Zwischenlager, dem Transport innerhalb des Einzugsgebietes und der Entladung am Anlagenlager zusammen.

Entlang der Bereitstellungskette ergeben sich Verluste, die zu einem insgesamt höheren anlagenbezogenen Bereitstellungsbedarf von Stroh führen. Berücksichtigt wurden in diesem Zusammenhang die Lagerungsverluste im Zwischenlager² in Höhe von 8%, angenommene 1% während der Lieferung sowie 2% im Anlagenlager³ selbst (FNR, 2007). Eine am Stand der Technik angelehnte Bergungsrate bei der Ballenpressung und Ballenbergung wurde bereits in der Kalkulation der Strohpotenziale berücksichtigt (Zeller u. a., 2012). Für die zwei betrachteten Anlagenkonzepte ergeben sich schließlich folgende Kennwerte:

Tabelle 2: Biomassebedarfe in den Anlagenkonzepten

	1G-Annex	Green Field
Anlagenbedarf	304.000t FM	345.000t FM
Biomassebereitstellungsbedarf	340.584t FM	386.518t FM
Lagerung an der Anlage	6.400t FM	7.250t FM

Für die Bereitstellung des erforderlichen Strohbedarfs wurden zwei Konzepte in Form von Szenarien unterschieden. Das Szenario „Standard“ orientiert sich an einem klassischen Maschineneinsatz nach (KTBL, 2010). Das Szenario „Optimiert“ enthält im Prozess Ballenbergung und Entladung am Anlagenlager eine effiziente Maschinenteknik, mit der die Bereitstellungskosten reduziert werden können. Abb. 13 veranschaulicht beide Konzepte entlang der erläuterten Bereitstellungskette. Aufgeführt sind darin auch die eingesetzten Maschinen sowie die modellierten Rahmenbedingungen innerhalb der Einzelprozesse. Hierbei wurde auch ein Faktor berücksichtigt, der neben der reinen Hauptzeit einzelner Arbeiten auch die zusätzlich notwendige Zeit zur Erledigung weiterer, damit verbundener Arbeiten einschließt. Dazu zählen je nach Prozess z.B. Anfahrt, Vorbereitung der Maschine, Umsetzzeiten, Standzeiten durch technische Probleme oder sonstige Verzögerungen. Dieser Faktor wird in Abb. 13 als HZ/GAZ (Hauptarbeitszeit/Gesamtarbeitszeit) entsprechend ausgewiesen.

Die Kostenkalkulationen basieren auf Angaben von (KTBL, 2010). Die Kosten der eingesetzten Maschinen sind darin als Vollkosten aufgeführt und setzen sich aus den folgenden Positionen zusammen:

- Anschaffungswert zum Neupreis ohne MwSt. (UVP der Hersteller aus 2009 und 2010)
- Nutzungsumfang (Abschreibungszeit, Einsatzstunden)
- Fixe Kosten (zeitabhängige Abschreibung, Zinssatz, technische Überwachung, Versicherung, Steuern)
- Variable Kosten (Reparaturen, Betriebsstoffe/-mittel)

² Feldmiete mit Folienabdeckung

³ Leichtbauhalle, Neubau

Abweichend von diesen Angaben wurden die Diesel- und Schmierölpreise durch die folgenden Werte angepasst:

Kraftstoff landwirtschaftlicher Maschinen:	1,20 €/l
Kraftstoff sonstiger Maschinen:	1,40 €/l
Schmieröl:	5,00 €/l

Auf dieser Grundlage ergeben sich die in Tabelle 3 zusammengefassten Maschinenkosten. Zusammengefassten Maschinenkosten.

Tabelle 3: Maschinenkosten nach (KTBL, 2010)

Maschine	GESAMTKOSTEN	Anschaffung in €	Fixe Kosten in €	Variable Kosten in €
Traktor 83 kW	27,95 €/h	67.000,00	8,82	19,13
LKW mit Pritsche 300 kW	67,08 €/h	97.000,00	11,55	55,53
Quaderballenpresse 120x70	2,60 €/Ballen	125.000,00	1,45	1,15
Frontlader für Traktor	3,28 €/h	4.600,00	2,28	1,00
Ballenspieß für Traktor	0,05 €/t	850,00	0,04	0,01
Ballensammelwagen*	46,22 €/h	82.800,00	44,32	1,90
3-Seiten Kipper, 2-achsig, 8 t	0,81 €/t	11.000,00	0,61	0,20
Tieflader 14 t	0,49 €/t	11.700,00	0,29	0,20
Teleskoplader, 3,0 t, 8m	26,82 €/h	79.000,00	9,80	17,02
Portalkran*	87,11 €/h	598.000,00	29,67	57,44

* Recherchen DBFZ (Zeller u. a., 2012)

Die Personalkosten sind mit 20,00 €/h in die Berechnungen eingegangen und die Lagerungskosten betragen nach (FNR, 2007):

Zwischenlager „Feldmiete mit Folienabdeckung“:	2,34 €/t FM
Anlagenlager „Leichtbauhalle, Neubau“:	16,34 €/t FM

Zusätzlich zu den beschriebenen Bereitstellungskosten werden auch die Kosten für die Kompensationsdüngung bei der Strohentnahme vom Feld berücksichtigt. Die Kosten belaufen sich nach (Zeller u. a., 2012) auf 27,70 €/t TM.

Es ist möglich, dass nicht alle Landwirte bereit sind, ihr Stroh für eine industrielle Nutzung abzugeben. Eine reduzierte Strohverfügbarkeit im Einzugsgebiet führt zu längeren Transportwegen und damit zu höheren Kosten. Um die damit verbundenen Auswirkungen abzubilden, wurde zusätzlich zu den zwei Bereitstellungsszenarien „Standard“ und „Optimiert“ auch die Strohverfügbarkeit simuliert. Ausgewertet wurde eine Strohverfügbarkeit von 100%, 75%, 50% und 25%.

	Szenario "Standard"	Szenario "Optimiert"
Ballenpressung	 <p>Traktor 83 kW + Fahrer Quaderballenpresse (220/120/70 cm)</p> <p>Rahmenbedingungen Arbeitsgeschwindigkeit Traktor..... 8 km/h Faktor HZ/GAZ..... 0,6</p>	
Ballenbergrung	 <p>2x Traktor 83 kW + 2x Fahrer je 1x Frontlader & Ballenspieß 2x Anhänger: 3-Seiten Kipper, 2-achsig, 8 t</p> <p>Rahmenbedingungen Ladefläche pro Anhänger..... 450cm x 220cm Ladekapazität..... 12 Ballen/Anhänger Bergezeit pro Ballen..... 60 sek/Ballen Faktor HZ/GAZ..... 0,9</p>	 <p>Traktor 83 kW + Fahrer Ballensammelwagen</p> <p>Rahmenbedingungen Ladekapazität..... 16 Ballen Bergezeit pro Ballen..... 10 sek/Ballen Entladezeit..... 60 sek/Ladung Faktor HZ/GAZ..... 0,9</p>
	 <p>Traktor 83 kW + Fahrer Frontlader und Ballenspieß für Traktor 2x 3-Seiten Kipper, 2-achsig, 8 t</p> <p>Rahmenbedingungen Transportgeschwindigkeit..... 20 km/h Ent-/Beladezeit..... 30 sek/Ballen Faktor HZ/GAZ..... 0,9</p>	
Zwischenlagerung	<p>Feldmiete mit Folienabdeckung</p>	
Lieferung	 <p>LKW mit Plattform 300 kW + Fahrer Tiefloader 14 t</p> <p>Rahmenbedingungen Ladefläche LKW..... 780cm x 250cm Ladekapazität LKW..... 24 Ballen Transportgeschwindigkeit..... 60 km/h Zusatzkosten ab 3. km..... 0,03 €/km</p> <p>Ladefläche Anhänger..... 1.360cm x 250cm Ladekapazität Anhänger..... 39 Ballen</p>	
	 <p>Teleskopplader + Fahrer</p> <p>Rahmenbedingungen Entladezeit..... 30 sek/Ballen Faktor HZ/GAZ..... 0,9</p>	 <p>Portalkran + Kranführer</p> <p>Rahmenbedingungen Entladezeit..... 30 sek/8 Ballen Faktor HZ/GAZ..... 0,97</p>
Anlagen-lager	<p>Neubau Leichtbauhalle</p>	

Abb. 13: Maschinenkombinationen und Rahmenbedingungen der Bereitstellungskonzepte (in Anlehnung an (KTBL, 2010))

Die erläuterten Kosten sowie die modellierten Rahmenbedingungen entlang der Bereitstellungskette wurden schließlich in einem vom DBFZ entwickelten Computermodell verarbeitet. Die damit für den Standort Zeitz kalkulierten Biomassebereitstellungskosten sind in Tabelle 4: Bereitstellungskosten für Stroh am Standort Zeitz für die Anlagenkonzepte bei unterschiedlicher Strohverfügbarkeit zusammengefasst. Je nach Anlagenbedarf, -konzept, Szenario und Strohverfügbarkeit ergibt sich eine Spannweite von

62€/t FM bis 82€/t FM.

Mit Hilfe der Ergebnisse in Tabelle 4: Bereitstellungskosten für Stroh am Standort Zeitz für die Anlagenkonzepte bei unterschiedlicher Strohverfügbarkeit lassen sich die jeweiligen Unterschiede innerhalb der Szenarien sowie im Vergleich untereinander ablesen.

Tabelle 4: Bereitstellungskosten für Stroh am Standort Zeitz für die Anlagenkonzepte bei unterschiedlicher Strohverfügbarkeit⁴

	Anlage 1 G Biomassebedarf..... 304.000 t FM			Anlage 2 G Biomassebedarf..... 345.000 t FM		
Verfügbarkeit von Stroh	Radius Einzugsgebiet	Bereitstellungskosten pro t FM		Radius Einzugsgebiet	Bereitstellungskosten pro t FM	
		Szenario "Standard"	Szenario "Optimiert"		Szenario "Standard"	Szenario "Optimiert"
100%	60 km	73 € 22,07 Mio. €	62 € 18,85 Mio. €	60 km	73 € 25,25 Mio. €	63 € 21,59 Mio. €
75%	70 km	74 € 22,49 Mio. €	63 € 19,27 Mio. €	70 km	75 € 25,75 Mio. €	64 € 22,10 Mio. €
50%	85 km	76 € 23,20 Mio. €	66 € 19,98 Mio. €	90 km	77 € 26,64 Mio. €	67 € 22,99 Mio. €
25%	135 km	82 € 24,93 Mio. €	71 € 21,71 Mio. €	150 km	83 € 28,78 Mio. €	73 € 25,12 Mio. €

Unter der Voraussetzung, dass z.B. 100% der Strohpotenziale für die energetische Nutzung verfügbar gemacht werden können, würde sich für beide Anlagenkonzepte eine Transportentfernung von 60km ergeben. Der Unterschied zwischen dem Szenario „Standard“ und „Optimiert“ beträgt 10,59€/t FM. Bezogen auf den Anlagenbedarf können durch den Einsatz einer

⁴ Die angewandte Methodik wurde während der Projektlaufzeit weiterentwickelt und unterscheidet sich erheblich von der Methodik, die zu im Projekt dargestellten Zwischenergebnissen im Jahre 2010 geführt hat. Die alte Methodik basierte auf einem theoretischen Modell der Strohverfügbarkeit, während die hier angewandte sich auf die regionale Verteilung, basierend auf einer zwischenzeitlich angefertigten umfassenden Analyse (GIS-Analyse), der Strohpotenziale bezieht.

effizienten Maschinenteknik somit 3,22 Mio. € (1G-Annex) bzw. 3,65 Mio. € (Green Field) für die Kosten der Biomassebereitstellung eingespart werden.

Sollten jedoch nur 25% der Landwirte ihr Stroh zur Verfügung stellen, würde sich die Entfernung je nach Anlagenkonzept auf 135 km (1G-Annex) bzw. 150 km (Green Field) erhöhen. Durch das größere Einzugsgebiet steigen die Transportkosten. Die Kostenunterschiede betragen in diesem Fall 2,86 Mio. € (1G-Annex) bzw. 3,53 Mio. € (Green Field).

In der Praxis zeigt sich regional ein sehr heterogener Maschineneinsatz, der in den Kostenbetrachtungen nicht ausreichend berücksichtigt werden kann. Die Vollkostenrechnung nach (KTBL, 2010) und die betrachteten Szenarien geben jedoch Auskunft über zu erwartende Spannbreiten und können allgemein als obere Grenze interpretiert werden. Unberücksichtigt blieb bei den Berechnungen eine zusätzliche Gewinnspanne, die in verschiedenen Regionen ggf. zu deutlich höheren Strohbereitstellungskosten führen kann.

Vorteilhafter Anlagenstandort

Ziel der Analyse war es, einen weiteren Standort für das Green Field-Anlagenkonzept zu ermitteln. Dafür wurden die folgenden Standortanforderungen festgelegt:

- Der Biomassebereitstellungsbedarf beträgt 386.518 t FM.
- Kleinstmögliches Einzugsgebiet im Szenario 100% Strohverfügbarkeit.
- In maximal 200 m Luftlinienentfernung befindet sich eine Bahnstrecke.
- In maximal 200 m Luftlinienentfernung befindet sich ein Fließgewässer.

Auf Grundlage der Ergebnisse aus den vorangegangenen Analysen wurde mit einem GIS eine entfernungsabhängige Rasteranalyse durchgeführt. Für den Biomassebedarf von 386.518 t FM Getreidestroh konnte bei einer Strohverfügbarkeit von 100% eine in Deutschland minimal mögliche Transportentfernung von 50 km ermittelt werden. In sind die Regionen dargestellt, in denen die ersten zwei Standortanforderungen erfüllt werden können

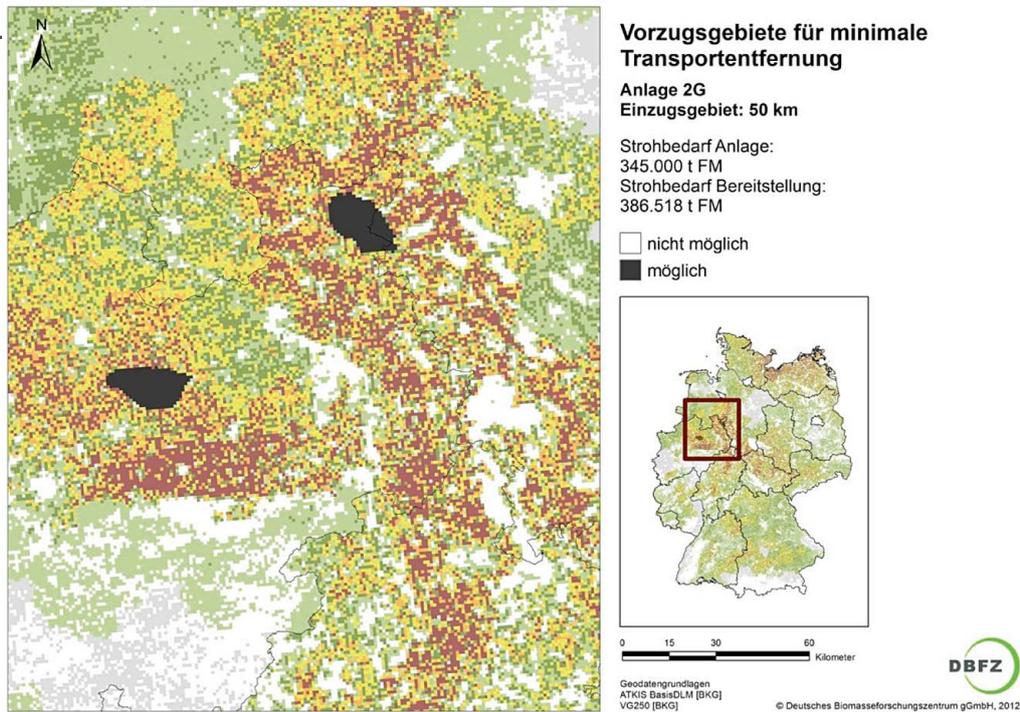


Abb. 14: Vorzugsregionen für die Bereitstellung von 386.518 t FM Getreidestroh in einer min. Entfernung von 50 km

Unter Verwendung der amtlichen Geobasisdaten (ATKIS-BasisDLM) wurden innerhalb der ermittelten Vorzugsregionen () anschließend die Flächen identifiziert, auf denen in maximal 200 m Luftlinienentfernung eine Bahnstrecke und ein Fließgewässer erreichbar sind. In ist das Ergebnis der Standortanalyse dargestellt. Demzufolge werden in Minden (Nordrhein-Westfalen) auf den schraffierten Flächen alle festgelegten Standortanforderungen erfüllt. Auf dieser Grundlage kann das Industriegebiet im östlichen Teil der Stadt als möglicher Standort empfohlen werden.



Abb. 15: Mögliche Flächen für einen weiteren Anlagenstandort (Green Field)

AP IV.2 Konzeptbewertung

Die erstellten Konzepte wurden hinsichtlich technischer, ökologischer und ökonomischer Kriterien bewertet. Ziel dieses Vorgehens war es, verfolgenswerte Anlagenkonzepte zu identifizieren und Feedback bezüglich eventueller Erkenntnisse zu den einzelnen Technologien an die Partner aus den Modulen I bis III zu geben. Dabei gelang es die Aufschluss- und Vergärungsverfahren für Stroh, die Verwertungsalternative Biogas für die Schlempenutzung und die energetische Verwertung der Ligninfraktion aus dem Stroh zu untersuchen. Die Technologien, die sich im Gesamtkonzept der stofflichen Verwertung von bestimmten Rohstofffraktionen widmeten, ließen sich nicht in die hier betrachteten Bioraffineriekonzepte einbinden. Grund dafür ist, dass es sich entweder noch um Laboruntersuchungen handelte oder eine Integration sich aufgrund inkompatibler Massenströme nicht realisieren ließ (z.B. Ligninpyrolyse, Celluloseoligomere).

IV.2.1 Technikbewertung

Die entwickelten Anlagenkonzepte wurden einer Technikbewertung unterzogen. Dabei stand im Vordergrund eine Analyse der Effizienz und Funktionstüchtigkeit der Anlagenkonzepte zu bewerten. Die Ergebnisse der Analysen für einzelne Technologien, die in die Planung aufgenommen wurden, sind bereits in Abschnitt erläutert worden. Weitere Kriterien der Technikbewertung, wie Betriebssicherheit und Umweltqualität, wurden soweit möglich mit berücksichtigt. Für eine detaillierte Untersuchung dieser Kriterien ist jedoch eine detailliertere Planung und Auslegung der Anlagen notwendig.

Da anlagenintern der Dampfbedarf eine erste Auskunft über die Effizienz der Anlagenteile bietet, wurde dieser für die einzelnen Anlagenbereiche untersucht. Die Aufteilung des Dampfbedarfes nach Anlagenbereichen ist in dargestellt. Dabei wird deutlich, dass sich die Maßnahmen zur Eindampfung der Produkte aus der Vorbehandlung durch einen erheblichen Anstieg des Dampfbedarfes bemerkbar machen.

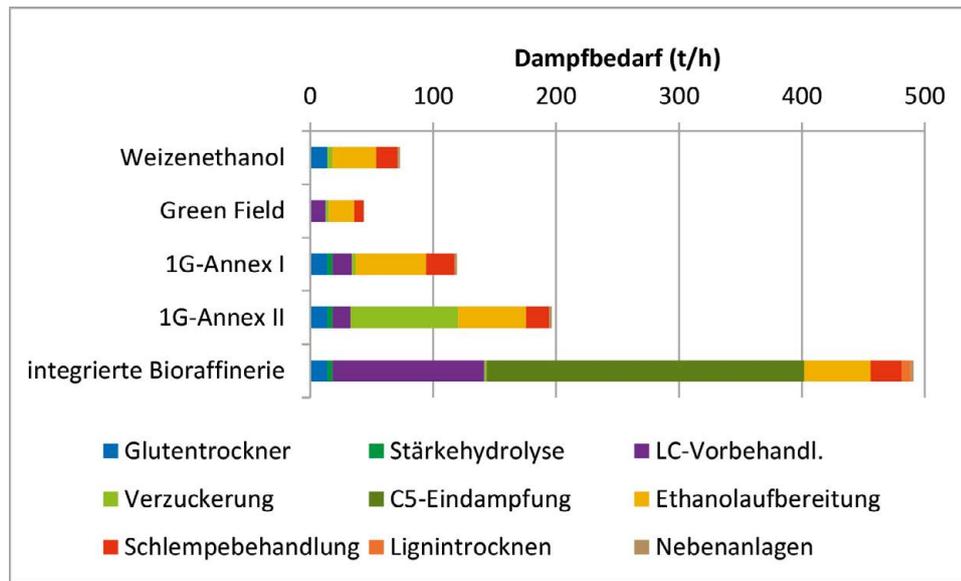


Abb. 16: Dampfbedarfe in den einzelnen Anlagenbereichen. Aus den Maßnahmen zur Eindampfung von Zwischenströmen resultieren besonders bei 1G-Annex II in der Verzuckerung und bei der integrierten Bioraffinerie in der C5-Eindampfung sehr hohe Wärmebedarfe.

Anhand der unteren Heizwerte der jeweiligen Stoffströme wurde zudem eine Energieflussanalyse durchgeführt und Gesamtwirkungsgrade der Konversion berechnet. Dabei wurden mit dem Energiegehalt der Trockensubstanz der jeweiligen Ströme gerechnet. Beispielsweise für den Fall der Flüssigschlempe bedeutet dies, dass ein Energiegehalt zugewiesen wurde, der für einen Verbrennungsprozess nicht ohne Trocknung zur Verfügung steht. Allerdings ist dieser Energiegehalt in der angedachten Verwendung als Futtermittel eher ein geeignetes Maß für die Wertigkeit des Produktes. Die Energieflussdiagramme (Sankey Diagramme) für die betrachteten Konzepte sind in Abb. 17: Sankey Diagramme der Bioraffineriekonzepte. Energieinhalte der Trockensubstanz dargestellt. Gesamtwirkungsgrade als Quotient der Summe der Outputs und Summe der Inputs. dargestellt.

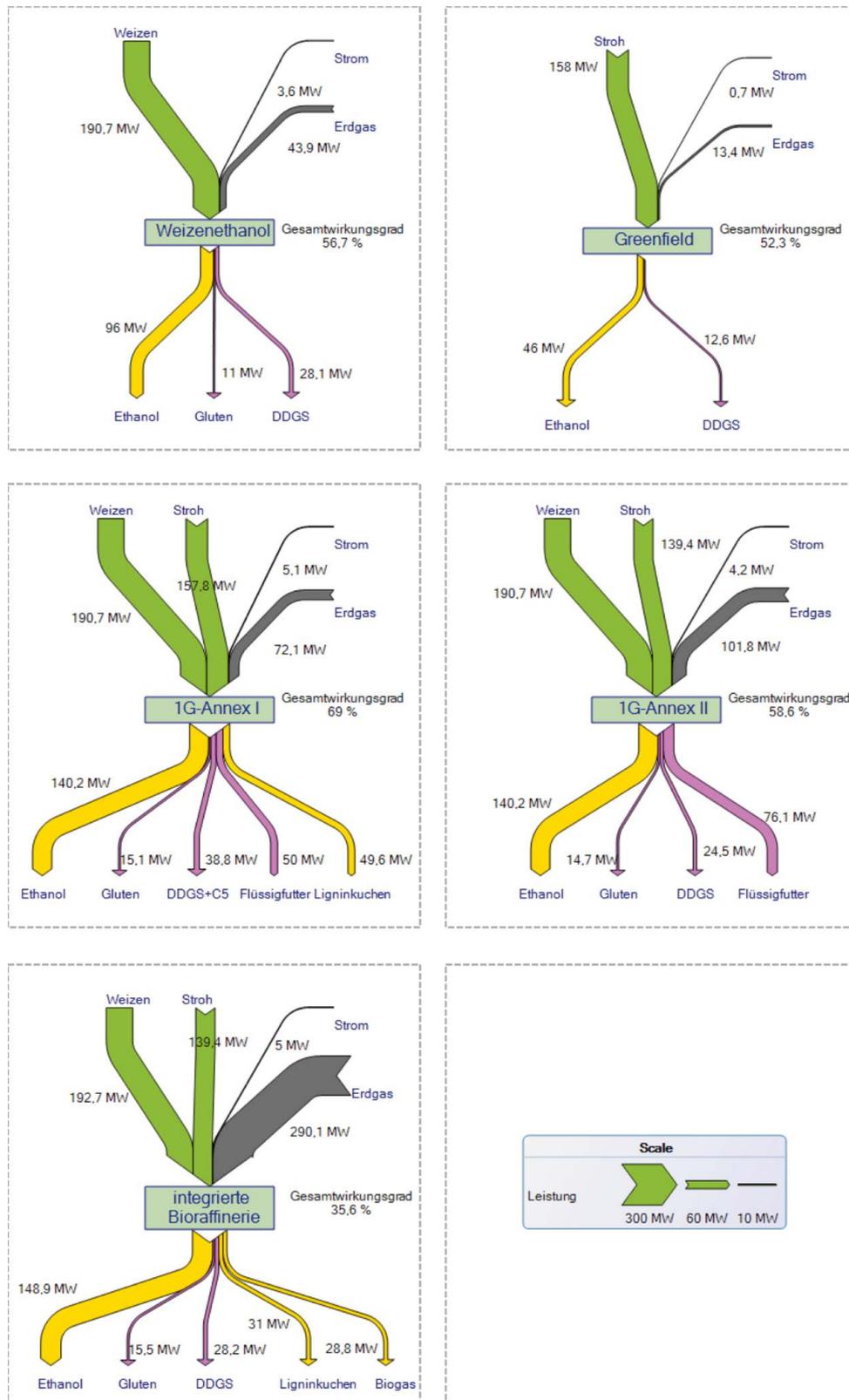


Abb. 17: Sankey Diagramme der Bioraffineriekonzepte. Energieinhalte der Trockensubstanz dargestellt. Gesamtwirkungsgrade als Quotient der Summe der Outputs und Summe der Inputs.

Ersichtlich wird, dass die Kombination von Weizen- und Strohverarbeitung zu Synergieeffekten und damit zu einem erhöhten Wirkungsgrad führt (1G-Annex I und II). Der Einsatz von Eindampfungen in dem Verfahren führt jedoch zu großem Energiebedarf und verschlechtert den Wirkungsgrad signifikant. Daher sollte eine hohe Wasserfracht schon zu Beginn des Prozesses vermieden werden. Den Vorteilen der Fraktionierung bei der Heißwasserhydrolyse stehen so die Nachteile der geringen TS-Konzentrationen gegenüber, was zu den geringen Wirkungsgraden der integrierten Bioraffinerie führte.

IV.2.2 Ökologie

Ziel der ökologischen Bewertung ist es, die in Kapitel vorgestellten Bioraffineriekonzepte hinsichtlich der ausgewählten potenziellen Umweltwirkungen Treibhausgaseffekt, kumulierter Energieverbrauch, Eutrophierung und Versauerung zu bewerten. Dabei wird die Methodik der Ökobilanzierung nach ISO 14040, wie im Meilenstein IV 2.2.1⁵ detailliert beschrieben, angewandt.

Da das Ziel des Vorhabens darin besteht, zukünftig die Ethanolproduktion optimal in Bioraffineriekonzepte zu integrieren, liegt der Schwerpunkt der ökologischen Bewertung auf dem Vergleich des in den Konzepten produzierten Ethanols (und nicht auf dem Gesamtkonzeptvergleich). Zudem ist der Bezug der Emissionen bzw. des Energieverbrauches auf das Produkt Ethanol als Grundlage für einen Vergleich mit anderen Literatur- oder Standardwerten zielführender. Der Produktvergleich wird über „Freischneiden“ der mit der Ethanolproduktion verbundenen Emissionen aus den Gesamtemissionen auf Grundlage des unteren Heizwertes (Allokation) ermöglicht.

Um dennoch eine Aussage darüber zu treffen, welches der entwickelten Bioraffineriekonzepte am besten abschneidet, werden die Konzepte zunächst hinsichtlich der derzeit politisch am stärksten nachgefragtesten Umweltwirkung, dem Treibhauseffekt, verglichen. Anders als im Meilenstein IV 2.2.1 festgelegt, erfolgt jedoch als Grundlage für die Vergleichbarkeit der verschiedenen Bioraffineriekonzepte keine Systemraumerweiterung. Für einen Konzeptvergleich werden die Gesamtemissionen, die von jedem Bioraffineriekonzept ausgehen, nebeneinander gestellt.

Um die Vergleichbarkeit der Konzepte zu gewährleisten, wird davon ausgegangen, dass innerhalb jedes Bioraffineriekonzeptes jährlich dieselbe Menge an Ethanol produziert wird.

Da die Richtlinie 2009/28/EC⁶ (European Parliament & European Council, 2009) rechtlich bindende Anforderungen an Biokraftstoffe stellt, wird geprüft, ob der in den Konzepten produzierte Ethanol die Anforderungen bezüglich des geforderten THG-Minderungspotenzials einhalten kann. Zudem erfolgt ein Vergleich mit den in dieser Richtlinie definierten Standardwerten.

Treibhausgasemissionen

Konzeptvergleich

Im Folgenden werden eine Green Field-Anlage auf Strohbasis und Dampfbereitstellung aus der Verbrennung des intern produzierten Ligninkuchens mit einer bestehenden Weizenethanolanlage sowie die Konzepte aus der Kombination von Weizen- und Strohverarbeitung hinsichtlich ihrer THG-Emissionen verglichen. Es stellt sich die Frage, welches Bioraffineriekonzept im Hinblick auf den Ausstoß von THG-Emissionen das günstigste ist und welchen Einfluss der eingesetzte Rohstoff, die Art der Energieversorgung und die zusätzlich integrierten Technologien zur Erhöhung der Ethanolausbeute und Erweiterung der Produktpalette haben.

⁵ Meilenstein IV 2.2.1 „Festlegung von Methodik und Randbedingungen bei der ökologischen Analyse“

⁶ bzw. deren Umsetzung in das nationale Recht

Abb. 18: THG-Emissionen der Bioraffineriekonzepte zeigt, dass vom Bioraffineriekonzept Green Field die wenigsten Treibhausgase ausgehen. Die Ursache dafür liegt zum einen daran, dass hier im Vergleich zu den anderen Konzepten ausschließlich der Reststoff Weizenstroh als Rohstoff eingesetzt wird und somit aus der Strohbereitstellung nur die Ausgleichsdüngung für den Strohzug und die Bergung mitbilanziert werden. Zum anderen wirken sich die Nutzung des im Verfahren produzierten Ligninkuchens für den größten Teil der Dampfbereitstellung (94%) und der damit verbundene sehr geringe Verbrauch an zusätzlichem Erdgas zur Sicherung des restlichen Dampfbedarfes positiv auf die THG-Bilanz aus.

Der Einsatz von Weizen in den anderen Konzepten ist mit höheren THG-Emissionen verbunden, da alle Aufwendungen des Anbaus (Düngemittel, Pestizide, Saatgut, Diesel für landwirtschaftliche Maschinen) mitbilanziert werden. Vor allem die für den Anbau benötigten Düngemittel sind in ihrer Produktion und der Ausbringung auf das Feld (direkte Stickstoffemissionen) für die hohen THG-Emissionen verantwortlich. Da nur im Bioraffineriekonzept Weizenethanol ausschließlich der Weizen als Rohstoff eingesetzt wird, werden im Vergleich zu den anderen Konzepten die meisten THG-Emissionen innerhalb des Anbaus freigesetzt (vgl. Abb. 18: THG-Emissionen der Bioraffineriekonzepte).

Die Abb. 18: THG-Emissionen der Bioraffineriekonzepte zeigt zudem, dass innerhalb des Konversionsschrittes der beiden Konzepte Green Field und 1G-Annex II die wenigsten THG-Emissionen freigesetzt werden. Da diese Konzepte den intern produzierten Ligninkuchen zur Bereitstellung des benötigten Prozessdampfes einsetzen, ist nur ein marginal zusätzlicher Einsatz des fossilen Erdgases notwendig. Die anderen Konzepte weisen bedingt durch den ausschließlichen Einsatz von Erdgas zur Bereitstellung des Dampfes höhere THG-Emissionen auf. Im Vergleich zu den anderen Konzepten führt der hohe Dampfverbrauch für die Heißwasserhydrolyse (Vorbehandlung) und die zusätzliche Vergärung von C5-Zuckern zu Ethanol im Integrierten Konzept zu den hohen THG-Emissionen in der Konversion (vgl. Abb. 18: THG-Emissionen der Bioraffineriekonzepte).

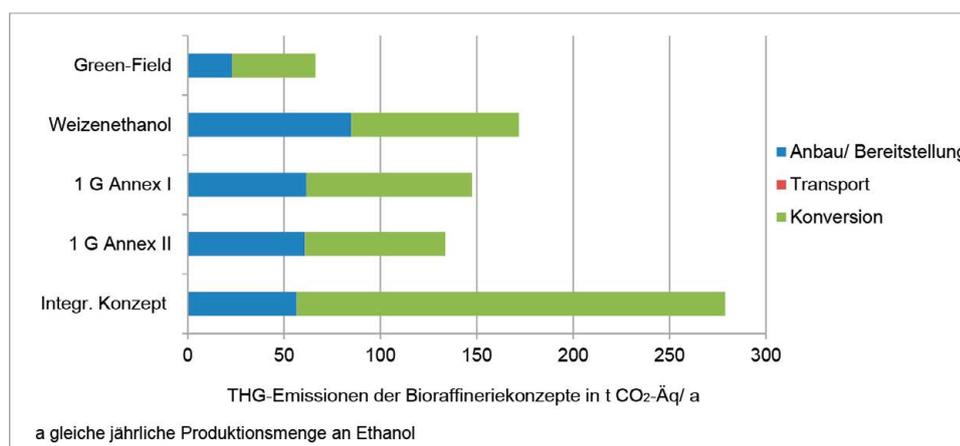


Abb. 18: THG-Emissionen der Bioraffineriekonzepte

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die Errichtung einer neuen Raffinerieanlage auf der „Green Field“ auf Strohbasis im Vergleich zu den anderen Bioraffineriekonzepten, bei denen bestehende Weizenethanolanlagen um die Strohvergärung und weitere Technologien erweitert bzw. ersetzt werden hinsichtlich der zu erwartenden THG-Emissionen günstiger ist⁷.

⁷ Die Errichtung der Green Field-Anlage bzw. die Anlagenerweiterungen werden in der Ökobilanz nicht mit berücksichtigt.

Eine Green Field-Anlage ist einer bestehenden Weizenethanolanlage aufgrund des eingesetzten Reststoffes Stroh als Rohstoff und dem fast vollständigen Ersatzes von Erdgas zur Bereitstellung des Prozessdampfes durch den intern produzierten Ligninkuchen überlegen. Die Erweiterung von Weizenethanolanlagen um eine Strohvergärung im Fall der Bioraffineriekonzepte 1G-Annex I und II hat durch den Ersatz des Weizens (verbunden mit relativ hohen THG-Emissionen im Anbau) durch den Reststoff Stroh zur Ethanolproduktion einen positiven Effekt. Wird zudem wie in 1G-Annex II die Prozessdampfbereitstellung vorwiegend über den Ligninkuchen sichergestellt, ergeben sich weitere THG-Emissionsminderungen im Vergleich zur Weizenethanolanlage. Da aber in beiden Konzepten weiterhin Weizen eingesetzt wird, liegen die THG-Emissionen höher als im Green Field-Konzept. Die Erweiterung der bestehenden Weizenethanolanlagen um die C5-Vergärung und dem Ersatz der in den anderen Konzepten angewandten Vorbehandlung durch eine Heißwasserhydrolyse, wie im Integrierten Konzept, führt durch einen erhöhten Dampfverbrauch, der über Erdgas bereitgestellt wird, zu höheren THG-Emissionen.

Produktvergleich

Im Folgenden werden die THG-Emissionen der Ethanolproduktion innerhalb der Bioraffineriekonzepte verglichen. Da die Produktpaletten der Bioraffineriekonzepte leicht variieren und die THG-Emissionen, die dem Ethanol zuzusprechen sind, von der Menge und dem Heizwert der anderen Nebenprodukte (z. B. Gluten, DDGS + C5, Flüssigfutter, Biogas) abhängen, lässt sich nicht unbedingt das in Abb. 18: THG-Emissionen der Bioraffineriekonzepte dargestellte Bild für das Produkt Ethanol erwarten.

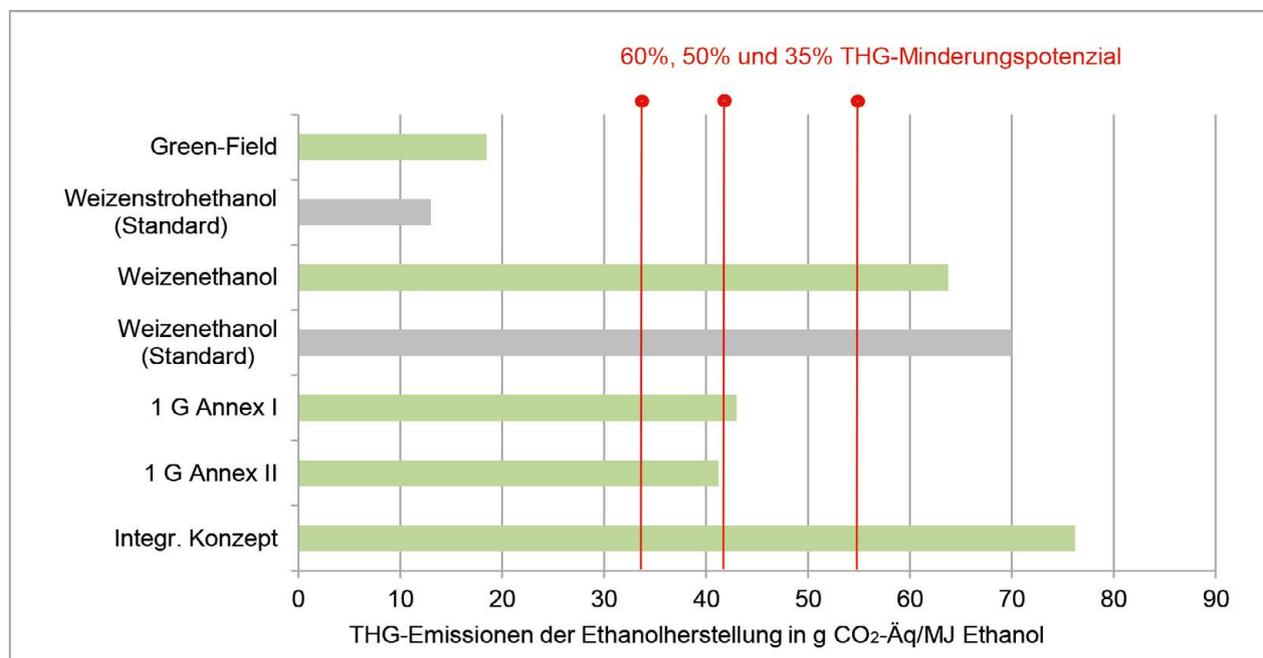


Abb. 19: THG-Emissionen der Ethanolherstellung und THG-Minderungspotenzial im Vergleich zu fossilen Referenz und den Standardwerten für Weizen- und Weizenstroh aus der EU-Direktive 2009/28/EC

Abb. 19: THG-Emissionen der Ethanolherstellung und THG-Minderungspotenzial im Vergleich zu fossilen Referenz und den Standardwerten für Weizen- und Weizenstroh aus der EU-Direktive 2009/28/EC zeigt zwar, dass die Rangfolge der Höhe der THG-Emissionen dieselbe ist, aber die Abstände dazwischen variieren. So sind mit der Ethanolproduktion innerhalb des Weizenethanol-Konzeptes vergleichsweise hohe THG-Emissionen verbunden, da hier bedingt durch das Verfahren bzw. die Produktpalette die meisten THG-Emissionen des Gesamtkonzeptes dem Ethanol zugeschrieben werden.

In der Abb. 19: THG-Emissionen der Ethanolherstellung und THG-Minderungspotenzial im Vergleich zu fossilen Referenz und den Standardwerten für Weizen- und Weizenstroh aus der EU-Direktive 2009/28/EC sind zudem durch die roten Linien die in der Direktive 2009/28/EC geforderten THG-Minderungspotenziale gegenüber der fossilen Referenz (83,8 g CO₂-Äq/MJ) dargestellt. Laut Direktive muss das THG-Minderungspotenzial derzeit 35%, ab 2017 50% und 2018 60% betragen (European Parliament & European Council, 2009). Würden die Bioraffineriekonzepte derzeit umgesetzt, würden nur die Konzepte Green Field, 1G-Annex I und 1G-Annex II die Anforderungen erfüllen. Sollten die Konzepte ab 2018 umgesetzt werden, könnte nur das Konzept Green Field den Anforderungen der Direktive gerecht werden. Die grauen Balken stellen die in der EU-Direktive 2009/28/EG definierten Standardwerte für Ethanol aus Weizenstroh und aus Weizen (Prozessenergie nicht spezifiziert) dar. Während der Ethanol, der im Green Field-Konzept produziert wird, über dem Standardwert liegt, werden innerhalb der Ethanolherstellung im Weizenethanol-Konzept weniger THG-Emissionen freigesetzt als im Standardfall.

Die Abb. 20: Zusammensetzung der THG-Emissionen der gesamten Verarbeitungskette für das Produkt Ethanol stellt die THG-Emissionen der Ethanolproduktion aufgeschlüsselt nach den einzelnen Verfahrensschritten dar und spiegelt damit die bereits getroffenen Aussagen aus dem Gesamtkonzeptvergleich (s.o.) wider. Das heißt, auch im Vergleich der Ethanolproduktion innerhalb der Bioraffinerien gehen bedingt durch den Einsatz des Reststoffes Stroh und dem Einsatz des Ligninkuchens für die Prozessdampfbereitstellung von der Ethanolproduktion des Green Field-Konzeptes die geringsten THG-Emissionen aus.

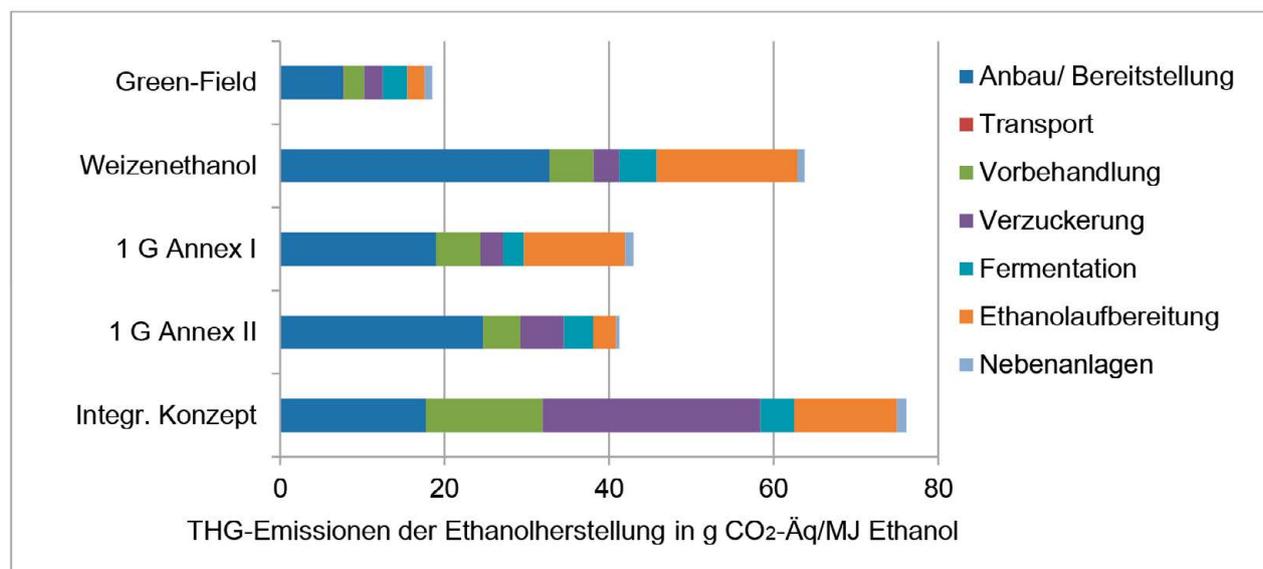


Abb. 20: Zusammensetzung der THG-Emissionen der gesamten Verarbeitungskette für das Produkt Ethanol

Da alle anderen Verfahren zur Produktion von Ethanol zusätzlich oder nur Weizen als Rohstoff einsetzen, sind die THG-Emissionen des Anbaus/Bereitstellung aus den bereits beschriebenen Gründen höher. Wie auch im Gesamtkonzeptvergleich wird in Abb. 20: Zusammensetzung der THG-Emissionen der gesamten Verarbeitungskette für das Produkt Ethanol deutlich, dass die Heißwasserhydrolyse (Vorbehandlung) und die zusätzliche Vergärung von C5-Zuckern des Integrierten Konzeptes zu höheren THG-Emissionen führen. Verantwortlich dafür ist, wie bereits erwähnt, der damit verbundene höhere Verbrauch an Prozessdampf, der über Erdgas erzeugt wird. Abb. 20: Zusammensetzung der THG-Emissionen der gesamten Verarbeitungskette für das Produkt Ethanol zeigt, dass sich die Entscheidung, den Ligninkuchen als Produkt auf den Markt zu bringen, und nicht intern zur Prozessdampfbereitstellung einzusetzen, wie im Green Field- und 1G-Annex II-Konzept, nachteilig auf die THG-Bilanz auswirkt, obwohl der Ligninkuchen mit der Erweiterung der Produktpalette dazu führt, die THG-Emissionen, die dem Ethanol zugeschrieben werden, zu reduzieren.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass der Transport der Rohstoffe zur Bio Raffinerie hinsichtlich der THG-Emissionen eine untergeordnete Rolle spielt. Die meisten THG-Emissionen werden direkt in den Bio Raffinerien freigesetzt und dort speziell in den energieintensiven Bearbeitungsschritten, wie der Vorbehandlung, der Ethanolaufbereitung und der C5-Verzuckerung (im Falle des externen Erdgaseinsatzes). Beim Anbau/Bereitstellung beeinflusst die Art des Rohstoffes und damit im Wesentlichen die Höhe der Düngemittelgabe die Höhe der THG-Emissionen.

Kumulierter Energieverbrauch

Der Kumulierte Energieverbrauch (KEV), angegeben im MJ, ist ein Maß, der alle Primärenergien, die für die Herstellung und Nutzung von Produkten aufgewendet werden, umfasst. Dabei wird zwischen regenerativen (KEV regenerativ) und nicht regenerativen Primärenergien (KEV nicht regenerativ) unterschieden. Grundsätzlich sind hohe KEV-Werte, insbesondere hohe nicht regenerative KEV-Werte, ein Indikator für hohe energiebedingte Umweltbelastungen (Umweltbundesamt (UBA), 2003).

Abb. 21: Kumulierter nicht regenerativer Energieverbrauch der Ethanolherstellung stellt den kumulierten Energieverbrauch nicht regenerativer Art bei der Ethanolherstellung dar. Die Abbildung zeigt damit ein ähnliches Bild wie das der THG-Emissionen, was darauf zurückzuführen ist, dass gerade der Energieverbrauch ein wesentlicher Einflussfaktor bei einer THG-Bilanz ist. Die Aussagen, die damit bzgl. der Art des eingesetzten Rohstoffes, der Art und Menge der eingesetzten Energie für die THG-Emissionen getroffen werden, können für den Kumulierten Energieverbrauch übertragen werden. Auch hier ist der Einfluss des eingesetzten Rohstoffes zu erkennen. Der Energieverbrauch bei der Bereitstellung des Reststoffs Stroh für die Ethanolproduktion im Green Field-Konzept ist geringer als bei den anderen Konzepten, die sowohl Stroh als auch Weizen einsetzen, vor allem aber als bei dem Weizenethanol-Konzept, das nur Weizen einsetzt und bei dem somit der gesamte Energieverbrauch des Anbaus berücksichtigt werden muss (vor allem hoher Energieverbrauch bei der Düngemittelherstellung). In der Konversion sind es gerade die integrierten Verfahrensschritte der Heißwasserhydrolyse (Vorbehandlung) und der zusätzlichen C5-Vergärung des Integrierten Konzeptes, die große Mengen an Dampf benötigen. Im Konversionsschritt spielt zudem der Einsatz des intern produzierten Ligninkuchens zur Bereitstellung des Prozessdampfes eine große Rolle, da somit, wie in den Konzepten Green Field und 1G-Annex II, nur geringe Mengen an zusätzlicher Energie auf Erdgasbasis eingesetzt werden müssen.

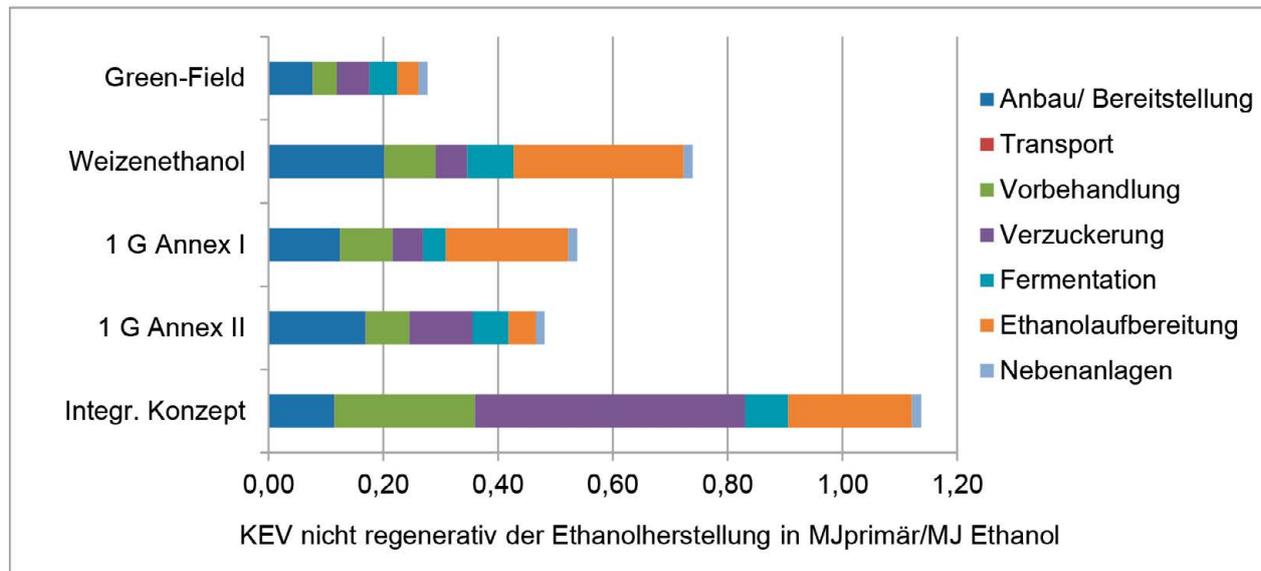


Abb. 21: Kumulierter nicht regenerativer Energieverbrauch der Ethanolherstellung

Die Abb. 21: Kumulierter nicht regenerativer Energieverbrauch der Ethanolherstellung zeigt ebenfalls, dass in den Konzepten Green Field, Weizenethanol, 1G-Annex I und II zur Herstellung von einem MJ Ethanol weniger als ein MJ nicht regenerativer Primärenergie eingesetzt werden müssen. Im Integrierten Konzept muss mehr Primärenergie aufgewendet werden als das Produkt Ethanol beinhaltet. Im Vergleich zur fossilen Referenz von 1,2MJprimär/MJ (Thrän, 2010) schneiden allerdings alle Konzepte besser ab.

Vergleiche der Kumulierten Energieverbräuche mit Standardwerten, wie sie für die THG-Emissionen vorgenommen worden, können nicht erfolgen, da in der Richtlinie 2009/28/EG keine Anforderungen an den Energieverbrauch oder adäquate Richtlinien existieren. Ein Vergleich mit entsprechenden Werten aus der Literatur fällt sehr schwer und ist nur eingeschränkt möglich. Zum einen liegt der Fokus der meisten Studien auf dem potenziellen Treibhausgaseffekt, zum anderen werden bei der Betrachtung anderer Umweltwirkungskategorien für die Ethanolproduktion nicht dieselben Rohstoffe eingesetzt oder aber andere Systemgrenzen gesetzt (z.B. die Nutzung des Kraftstoffs in Form von E 85 eingeschlossen). Anhaltspunkte lassen sich in der Empa-Studie (Zah u. a., 2007), einer Studie von Ostfold research (Modahl, 2009) oder in der Ökobilanzdatenbank Ecoinvent (SWISS CENTRE FOR LIFE CYCLE INVENTORIES, 2009) finden. In den Studien von Empa und Ostfold research werden für die Ethanolproduktion auf Basis von Holz bzw. Holz und Hackschnitzeln Werte für den nicht regenerativen primären Energieverbrauch von 0,28 bzw. 0,49MJ/MJ Ethanol genannt (Zah u. a., 2007), (Modahl, 2009). Ecoinvent liefert einen Wert von 0,33MJ/MJ Ethanol, wobei ein Rohstoffmix aus Gras, Zuckerrüben und Molke für eine typische schweizerische Ethanolproduktion eingesetzt wird (SWISS CENTRE FOR LIFE CYCLE INVENTORIES, 2009).

Eutrophierungspotenzial

Unter Eutrophierung versteht man eine Überdüngung oder das Überangebot von Nährstoffen. Dieses Überangebot bedingt in Gewässern (vor allem stehenden Gewässern) ein vermehrtes photosynthetisches Wachstum von Biomasse, was zu einer anschließenden ansteigenden Biomasse an Konsumenten und Destruenten und damit verbundenen Sauerstoffzehrung bis zur Verlandung führt. In terrestrischen Ökosystemen führt ein Überangebot aufgrund des Nährstoffungleichgewichts zu chronischen Schäden an Pflanzen und einer Verschiebung des Artenspektrums hin zu stickstoffliebenden Pflanzen und der Ansiedlung von Tierarten, die an diese Pflanzen gebunden sind (Klöpffer, 2009) (Schaefer, 2003). Der Nährstoffeintrag in Form von Nitraten, Stickoxiden oder Phosphaten erfolgt über Düngemittelgabe, über Einleitung von Abwässern, aber auch über eine atmosphärische Deposition von Stickoxiden aus der Verbrennung fossiler Energieträger (Schaefer, 2003).

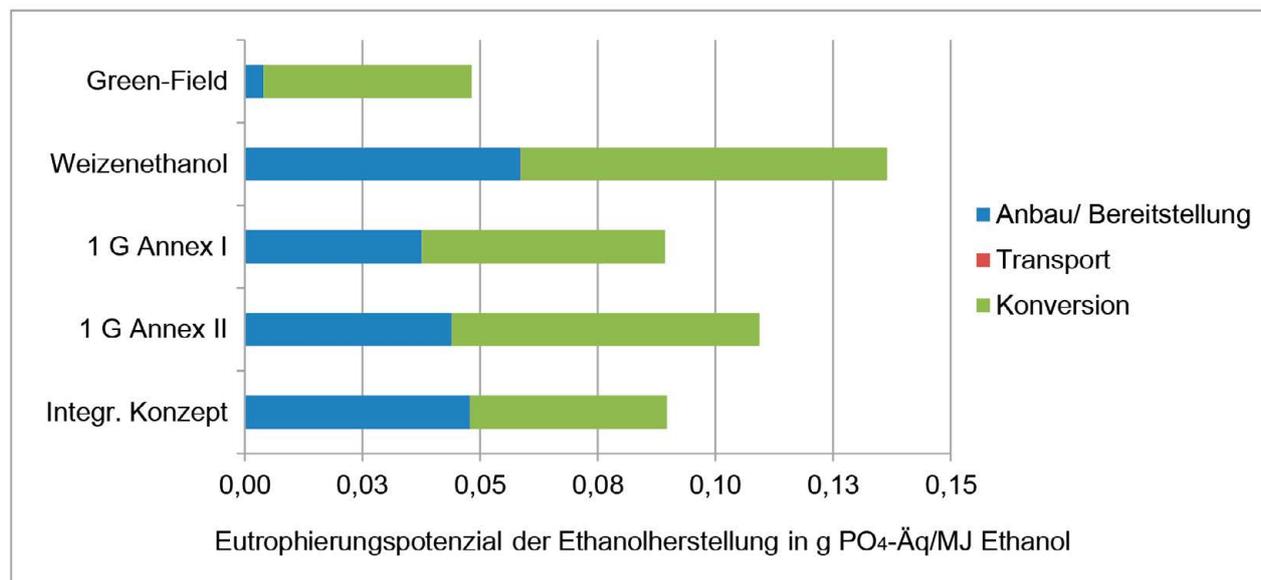


Abb. 22: Eutrophierungspotenzial der Ethanolherstellung

Die eutrophierende Wirkung der Ethanolproduktion resultiert in erster Linie aus der Rohstoffbereitstellung und dort speziell aus dem Einsatz der Nitrat- und Phosphatdüngemittel und den direkten Stickstoffemissionen nach einer Düngemittelausbringung. Dieser Effekt wird in Abb. 22: Eutrophierungspotenzial der Ethanolherstellung deutlich. Während im Green Field-Konzept bei der Strohbereitstellung nur die Ausgleichdüngung für den Strohzug mitbilanziert wird, müssen im Weizenethanol-Konzept alle Aufwendungen des Anbaus berücksichtigt werden. Im eigentlichen Raffinationsprozess stammen die Emissionen hauptsächlich aus dem Stromverbrauch. Dabei handelt es sich vor allem um Stickstoffoxide, die bei der Verbrennung fossiler Energieträger in den Kraftwerken freigesetzt werden. Besonders in den Getreidemühlen und Stärkefabriken (alle Konzepte, die Weizen als Rohstoff ein- bzw. miteinsetzen) als auch in der Vorbehandlung und der Verzuckerung wird viel Strom verbraucht.

Die Abb. 22: Eutrophierungspotenzial der Ethanolherstellung zeigt, dass die Ethanolproduktion im Green Field-Konzept auch hinsichtlich des Eutrophierungspotenzials die günstigste ist. Die Ethanolherstellung im Weizenethanol-Konzept weist bedingt durch den Düngemiteleinsatz

beim Weizenanbau, dem alleinigen Einsatz von Weizen als Rohstoff und dem hohen Stromverbrauch in der Konversion das höchste Eutrophierungspotenzial auf. Das Verfahren der Heißwasserhydrolyse und die zusätzliche Vergärung von C5-Zuckern in der Ethanolherstellung der beiden integrierten Konzepte schlägt sich nicht wie bei dem Treibhausgaspotenzial und dem Energieverbrauch nieder, da beide Verfahrensschritte nicht so stromintensiv sind.

Auch für das Eutrophierungspotenzial der Ethanolproduktion lassen sich mit den Anforderungen, wie gleiche betrachtete Umweltwirkung, gleiche Systemgrenzen, gleiche Rohstoffbasis, keine direkten Vergleichswerte in der Literatur finden. Als Anhaltspunkte können Werte von 0,06 g PO₄-Äq/MJ Ethanol (Basis Holz und Holzhackschnitzel) der Studie von Ostfold research und 0,12 g PO₄-Äq/MJ Ethanol (Rohstoffmix von Gras, Zuckerrüben und Molke) der Ökobilanzdatenbank ecoinvent dienen (Modahl, 2009), (SWISS CENTRE FOR LIFE CYCLE INVENTORIES, 2009). Rechtlich bindende Standardwerte existieren für das Eutrophierungspotenzial ebenfalls nicht. Verglichen mit einer fossilen Referenz, z.B. Benzin (0,015 g PO₄-Äq/MJ Benzin) (SWISS CENTRE FOR LIFE CYCLE INVENTORIES, 2009), schneidet der in allen Konzepten produzierte Ethanol schlechter ab. Ein wesentlicher Grund dafür sind die Emissionen aus dem Anbau/Bereitstellung der Rohstoffe für die Ethanolproduktion (Einsatz von Nitrat- und Phosphatdüngemittel, direkte Stickstoffemissionen nach einer Düngemittelausbringung).

Versauerungspotenzial

Mit der Versauerung ist das Absinken des pH-Wertes gleichzusetzen. Verantwortlich für dieses Absinken sind vor allem der Saure Regen und der Eintrag von Säurebildnern über Düngemittel (z.B. Ammoniak). Der Saure Regen resultiert aus der Luftverschmutzung mit säurebildenden Abgasen (vor allem Schwefeloxide und Kohlendioxid) infolge des Einsatzes schwefelhaltiger Brennstoffe und der Verbrennung fossiler Brennstoffe insgesamt. Besonders betroffene Bereiche sind Böden (Bodendegradation), Gewässer (Artenverarmung) und die Vegetation („Waldsterben“) (Klöpffer, 2009), (Schaefer, 2003).

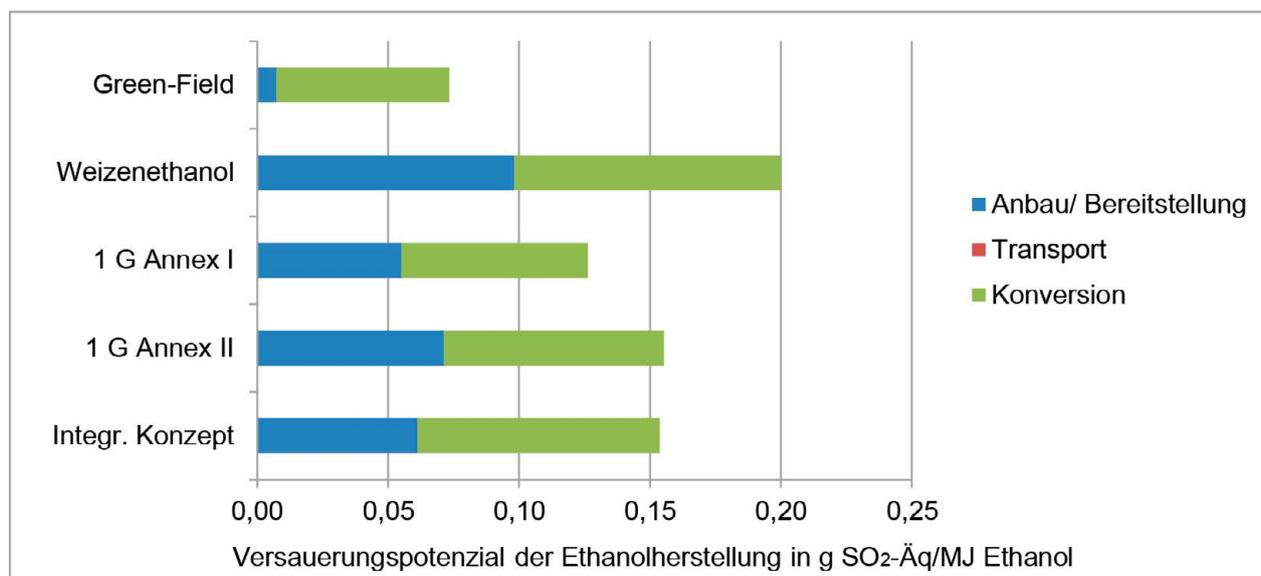


Abb. 23: Versauerungspotenzial der Ethanolherstellung

Im Bereich des Anbaus/Bereitstellung sind es hauptsächlich der eingesetzte Calciumammoniumdünger und der Dieserverbrauch, die zu den Emissionen mit versauernder Wirkung führen. Da in der Ethanolherstellung des Green Field-Konzeptes ausschließlich Stroh als Reststoff eingesetzt wird, der damit verbunden ist, dass nur die Ausgleichsdüngung für den Strohzug und nur der Dieserverbrauch für das Bergen des Strohs mitbilanziert werden, gehen hier die geringsten Emissionen mit versauernder Wirkung aus. In der Ethanolherstellung des Weizenethanol-Konzeptes auf ausschließlicher Basis von Weizen werden hingegen die vollständige Menge an eingesetztem Dünger und der vollständige Dieserverbrauch der landwirtschaftlichen Maschinen mitberücksichtigt.

Aus diesem Grund geht vom Anbau der Rohstoffe dieses Konzeptes das größte Versauerungspotenzial aus. Im Konversionsschritt der Ethanolherstellung des Green Field-Konzeptes sind es vor allem die eingesetzten Chemikalien in der Fermentation und Verzuckerung, wie z.B. Ammoniak, die potenziell zur Versauerung führen. Bei der Ethanolherstellung der Konzepte, die Weizen ein bzw. miteinsetzen (Weizenethanol, 1G-Annex I und II), leisten ebenfalls die eingesetzten Chemikalien, insbesondere die Schwefelsäure aus der Stärkeverflüssigung und der Fermentation, den größten Beitrag zum Versauerungspotenzial im Raffinationsprozess. Bei dem Integrierten Konzept wird der größte Teil der zu Versauerung führenden Emissionen über die Dampfbereitstellung aus Erdgasfeuerung für die Heißwasserhydrolyse (Vorbehandlung) und die Ethanolaufbereitung emittiert. Analog zum Eutrophierungspotenzial geht von der Ethanolherstellung des Green Field-Konzeptes das geringste und vom Weizenethanol-Konzept das höchste Versauerungspotenzial aus (Abb. 23).

Die in der Studie von ostfold research und der ecoinvent-Datenbank aufgeführten Werte von 0,3 g SO₂-Äq/MJ Ethanol (Ethanol auf Basis von Holz und Holzhackschnitzeln) (Modahl, 2009) und 0,39 g SO₂-Äq/MJ Ethanol (Mix aus Gras, Zuckerrüben, Molke) (SWISS CENTRE FOR LIFE CYCLE INVENTORIES, 2009) liegen über dem der vorgestellten Konzepte. Auch hier ist die Vergleichbarkeit durch den unterschiedlichen Einsatz der Rohstoffe eingeschränkt. Zum anderen müssten, um die Ursachen dafür zu benennen, die den Werten zugrundeliegende Pfade genauer untersucht werden. Rechtlich bindende Standardwerte und damit vergleichbare Anhaltspunkte liegen für das Versauerungspotenzial ebenfalls nicht vor. Im Vergleich zu einer fossilen Referenz, z.B. Benzin (0,17 g SO₂-Äq/MJ Benzin) (SWISS CENTRE FOR LIFE CYCLE INVENTORIES, 2009), liegt nur die Ethanolherstellung des Weizenethanol-Konzeptes geringfügig über dem des fossilen Referenzwertes.

Fazit

Werden die vorgestellten Bioraffineriekonzepte hinsichtlich der THG-Emissionen verglichen, so kristallisieren sich zwei wesentliche Einflussgrößen heraus: zum einen die Art des eingesetzten Rohstoffes und zum anderen die Art und Menge der eingesetzten Energieträger zur Bereitstellung des Prozessdampfes. Dabei wirkt sich der Einsatz des Reststoffes Stroh und des Ligninkuchens für die Prozessdampfbereitstellung aus den bereits genannten Gründen (s.o.) günstig auf die THG-Bilanz aus (Green Field, 1G-Annex II). Die integrierten Verfahrensschritte in bestehenden Ethanolanlagen, wie die Heißwasserhydrolyse (Vorbehandlung) und die zusätzliche Vergärung der C5-Zucker sind mit hohen Erdgasverbräuchen für die Dampfbereitstellung verbunden und wirken, sich somit nachteilig auf die THG-Bilanz aus (Integriertes Konzept). Folgende Rangfolge ergibt sich daraus:

Tabelle 5: Rangfolge der Bio Raffineriekonzepte hinsichtlich THG-Emissionen und kumuliertem Energieverbrauch

Rang	Konzept
1	Green Field
2	1G-Annex II
3	1G-Annex I
4	Weizenethanol
5	Integriertes Konzept

Werden nun nicht mehr die Konzepte insgesamt, sondern das erzeugte Produkt Ethanol hinsichtlich der THG-Emissionen verglichen, so bleiben diese Aussagen zu den Einflussgrößen und die Reihenfolge bestehen. Gegenüber dem Konzeptvergleich verschieben sich allerdings die Abstände in der Reihenfolge. Aufgrund der unterschiedlichen Produktpaletten der Konzepte variiert der Anteil der gesamten THG-Emissionen, der dem Ethanol zuzuschreiben ist.

Hinsichtlich des kumulierten Energieverbrauches bleibt die in Tabelle 5: Rangfolge der Bio Raffineriekonzepte hinsichtlich THG-Emissionen und kumuliertem Energieverbrauch abgebildete Reihenfolge bestehen, da der Energieverbrauch in der THG-Bilanz eine wesentliche Rolle spielt. Auch sind die Art des eingesetzten Rohstoffes und die Art und Menge der eingesetzten Energieträger die wesentlichen Einflussgrößen. Der Einsatz des Reststoffes Stroh ist auch energetisch gesehen günstig, da nur die Aufwendungen für die Ausgleichsdüngung und die Bergung berücksichtigt werden. Bedingt durch den Einsatz des Ligninkuchens in der Ethanolherstellung der Konzepte Green Field und 1G-Annex II werden nur geringe Menge an Erdgas zur Sicherung des restlichen Dampfbedarfes verbraucht, was sich sehr positiv auf die Bilanz nicht regenerativer Energieträger auswirkt. Die hohen Erdgasverbräuche in der Ethanolherstellung des Integrierten Konzeptes wirken sich negativ aus.

Bei dem Versauerungs- bzw. Eutrophierungspotenzial zeigt sich ein verändertes Bild (vgl.). Während beim Eutrophierungspotenzial der Düngemiteleininsatz und der Stromverbrauch als wesentliche Einflussgrößen gelten, sind die wesentlichen Treiber beim Versauerungspotenzial etwas differenzierter (Düngemiteleininsatz, Dieseleinsatz in landwirtschaftlichen Maschinen, Einsatz von Chemikalien und Erdgas). Das Green Field-Konzept ist auch bei diesen Umweltwirkungskategorien das günstigste. Die Ethanolherstellung im Weizenethanol-Konzept ist hingegen bedingt durch den ausschließlichen Einsatz des Rohstoffes Weizen mit einem vergleichsweise hohen Einsatz an Düngemitteln und hohem Dieseleinsatz im Anbau sowie einem hohen Stromverbrauch und hohem Einsatz von Chemikalien in den weizenspezifischen Konversionsschritten, wie der Stärkeverflüssigung, verbunden und stellt somit das Schlusslicht dar.

Tabelle 6: Rangfolge der Ethanolproduktion hinsichtlich dem Eutrophierungs- und Versauerungspotenzial

Konzept	Rang Eutrophierung	Rang Versauerung
Green Field	1	1
1G-Annex II	5	2
1G-Annex I	2	4
Weizenethanol	6	6
Integriertes Konzept	2	3

Eine ökologische Gesamtbewertung soll aufgrund der Schwierigkeiten den einzelnen Umweltwirkungen ein Gewicht bzw. eine verstärkende oder aufhebende Wirkung zuzuschreiben, unterbleiben. Es kann nur festgestellt werden, dass das Green Field-Konzept hinsichtlich der betrachteten Umweltwirkungen das günstigste ist.

IV.2.3 Ökonomie

Ziel der ökonomischen Bewertung ist es, sowohl die Produktgestehungskosten zu ermitteln als auch die Wirtschaftlichkeit der betrachteten Anlagen abzuschätzen. Um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, wurde hierbei auf die Berechnungsmethoden der VDI-Richtlinie 6025 „Betriebswirtschaftliche Berechnungen für Investitionsgüter und Anlagen“ zurückgegriffen. In dieser Richtlinie werden bewährte Methoden zur Berechnung unterschiedlicher betriebswirtschaftlicher Kenngrößen festgehalten und einheitlich definiert. Die folgenden Kenngrößen werden im Zuge der hier durchgeführten ökonomischen Bewertung herangezogen:

1. **Spezifische Gestehungskosten** der (Haupt-)Produkte
2. **Kapitalwert** der Investition über den Betrachtungszeitraum
3. **Modifiziert-interner Zinsfuß** der Investition

Die jeweils betrachteten Einflussgrößen für die Berechnung können Abb. 24 Grundlagen der ökonomischen Bewertung entnommen werden.

Tabelle 7: Finanzmathematische Randbedingungen der ökonomischen Bewertung.

Parameter	Wert
Betrachtungszeitraum T	20 a
Eigenkapitalanteil c_{EK}	20%
Eigenkapitalzinssatz i_{EK}	12% p.a.
Fremdkapitalanteil c_{FK}	80%
Fremdkapitalzinssatz i_{FK}	7% p.a.
Kalkulationszinsfuß (Mischzinssatz) i	8% p.a.
Faktor für die Erfassung von Instandsetzungen	2% von A_0 p.a.
Faktor für die Erfassung von Versicherungen	1% von A_0 p.a.
Faktor für die Erfassung der Verwaltung (ggf.)	0,25% von A_0 p.a.
Faktor für die Erfassung von Unvorhergesehenem	0,5% von A_0 p.a.
Preissteigerungsrate für alle Kosten- und Erlösarten	0% p.a. (Preisbasis 2010)

Die Kosten für Wartung und Instandhaltung lassen sich anhand tabellierter Erfahrungswerte in Abhängigkeit des Investitionsbetrages A_0 angeben. Dabei kann nach Komplexität der Anlage unterschieden werden (Tabelle 8: Faktoren für Wartung und Instandsetzung nach (Peters u. a., 2003).).

Tabelle 8: Faktoren für Wartung und Instandsetzung nach (Peters u. a., 2003).

Art der Anlage	Wartungs- und Instandhaltungskosten in Prozent des Investitionsbetrages A_0
Einfacher chemischer Prozess	2-6%
Durchschnittlicher Prozess mit normalen Betriebsbedingungen	5-9%
Komplizierter Prozess, sehr korrosive Betriebsbedingungen oder aufwändige Messtechnik	7-11%

Um eine genauere Aussage zu erhalten, wurden die Teilanlagen bezüglich ihrer Komplexität entsprechend zugeordnet und mit den in angegebenen Faktoren für Wartung und Instandhaltung berechnet. Dabei wurden jeweils die unteren Werte der Wartungs- und Instandhaltungskosten angesetzt ().

Tabelle 9: Zuordnung der Faktoren für Wartungs- und Instandhaltungskosten zu den Teilanlagen betrachteter Bioraffineriekonzepte (in Prozent des jeweiligen Investitionsbetrages).

Teilanlage	Weizenet- hanol	Green Field	1G-Annex I	1G-Annex II	Annex Integriert
Weizenlager	2	-	2	2	2
Weizenmühle	5	-	5	5	5
Stärkeanlage	2	-	2	2	2
Glutenanlage	2	-	2	2	2
Pentosaneindampfung	2	-	2	2	2
Stärkeverflüssigung/Verzuckerung	2	-	2	2	2
Strohlager und Verteilung	-	2	2	2	2
mechanische Vorbehandlung	-	7	7	7	7
thermische Vorbehandlung	-	7	7	7	7
Verzuckerung	-	5	5	5	5
Heferevitalisierung/Fermentation	2	2	2	2	2
Ethanolaufbereitung	2	5	5	5	5
Abwasserbehandlung (Schlempeverwertung)		2		5	
Lignin + Schlempeverbrennung		5		5	
Utilities	5	5	5	5	5
Nebenanlagen	5	5	5	5	5
Rohstoffhandling Lager	2	2	2	2	2
Automation/EMSR	5	5	5	5	5

Die Preise für die eingesetzten Roh- und Hilfsstoffe sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Für die Bestimmung des Strohpreises wurden die im Logistikpaket ermittelten Vollkosten herangezogen. Hier wurde eine Verfügbarkeit von 75% des Strohs im Einzugsgebiet und eine optimiert angelegte Logistikkette angenommen (siehe). Da der Strohpreis einen erheblichen Einfluss auf die Ergebnisse hat und die Vollkostenrechnung auf einer Vielzahl von Annahmen beruht, wird anschließend eine Sensitivität bezüglich des Strohpreises angegeben.

Tabelle 10: Betriebszeiten und Personalkosten bei der ökonomischen Analyse

Jährliche Betriebsstunden	8.000 h/a
Durchschnittlicher spezifischer Personalaufwand pro MA	45.000 EUR/a

Für die Umrechnung von Preisinformationen in US-Dollar wurden die zum Zeitpunkt der Veröffentlichung gültigen jährlichen Durchschnittswchselkurse des Jahres 2010 von 1,33 USD/EUR herangezogen.

Tabelle 11: Preise von Rohstoffen, Hilfsstoffen Utilities und Produkten für die ökonomische Analyse

Rohstoff, Hilfsstoff, Produkt		Preis	Quelle
Roh- und Hilfsstoffe			
	Stroh (FM frei Anlage, aus AP IV.1.5)	64 EUR/t	AP IV.1.5
	Weizen (Futterweizen Magdeburg, Ø 2010)	153 EUR/t	(F.O. Licht, 2010)
	alpha-Amylase (50%)	2,70 EUR/kg	(Rajagopalan u. a., 2005)
	Amyloglucosidase (AMG, 50%)	2,70 EUR/kg	(Rajagopalan u. a., 2005)
	Cellulasekomplex (50%)	2,70 EUR/kg	Annahme: spezifische Preise wie Amylase
	Hefekonzentrat [22% TS]	5 EUR/kg	(Ingledew u. a., 2009)
	H ₂ SO ₄ 96%	149 EUR/t	
	H ₃ PO ₄ 85%	0,53 EUR/kg	(Sassner u. a., 2008)
	NaOH 50%	146 EUR/t	(ICIS, 2010)
	NH ₃ , 25%	314 EUR/t	(ICIS, 2010)
	Antischaummittel	2,11 EUR/kg	(Sassner u. a., 2008)
	Frischwasser	1,65 EUR/m ³	(DESTATIS, 2012)
	Stickstoff	0,15 EUR/m ³	
Utilities			
	Strom (für Industrie, ohne MWSt, Ø 2010)	0,0971 EUR/kWh	(BMWi, 2012)
	Erdgas (für Industrie, Hu 10 kWh/m ³ , ohne MWSt, Ø 2010)	0,293 EUR/m ³	(BMWi, 2012)
Produkte			
	Ethanol (Europa, Ø 2. Halbjahr 2010)	578 EUR/m ³	(F.O. Licht, 2010)
	Gluten (80% Proteingehalt, Lebensmittelqualität)	1500 EUR/t	
	Kleie	205 EUR/t	(Mackprang GmbH, 2012)
	DDGS (Frankreich, Ø 2010)	173 EUR/t	(F.O. Licht, 2010)
	Flüssigfutter/-dünger/-Biogas-substrat (10% TS, 1,7 EUR/ (%TS t))	17 EUR/t	
	Biomethan	0,04 EUR/kWh	(Bundesnetzagentur, 2012)
	Lignin als Brennstoff (äquivalent zu Industriepellets)	125 EUR/t	
Abprodukte			
	Abwasser	1,5 EUR/m ³	

Gestehungskosten

In Abb. 25: Gestehungskosten der Ethanolproduktion bei Berücksichtigung der Erlöse durch Nebenproduktverkauf. sind die Gestehungskosten aufgeführt und deren spezifische Kostenanteile bezogen auf einen Kubikmeter Ethanol. Die Berechnung der Gestehungskosten des Konzeptes Weizenethanol kommt zu guter Übereinstimmung mit dem Literaturwert von durchschnittlich 566 EUR/m³ im Jahr 2010 (F.O. Licht, 2010). In dem Konzept 1G-Annex I ergeben sich die geringsten Gestehungskosten, was sich im Wesentlichen durch die hohen Erlöse aus den Nebenprodukten erklären lässt. Durch die Integration von Stroh- und Weizenverarbeitung lassen sich jedoch auch die spezifischen Investitionen senken. Dabei können bei den Konzepten 1G-Annex I und II große Erlöse aus dem Flüssigfuttermittel erzielt werden. Inwieweit sich tatsächlich die großen Mengen Flüssigfutter am Markt absetzen lassen, ist schwer abzuschätzen, da das

Produkt schnell verwertet werden muss und schlecht lagerfähig ist. Die Integration der Heißwasserhydrolyse (Integrierte Bio Raffinerie) sowie weiterhin der Biogasanlage haben die Wirtschaftlichkeit nicht positiv beeinflussen können. Unter den angesetzten Rahmenbedingungen sind die Erlöse aus dem Verkauf des Biogases geringer als aus dem Verkauf des Flüssigfutters.

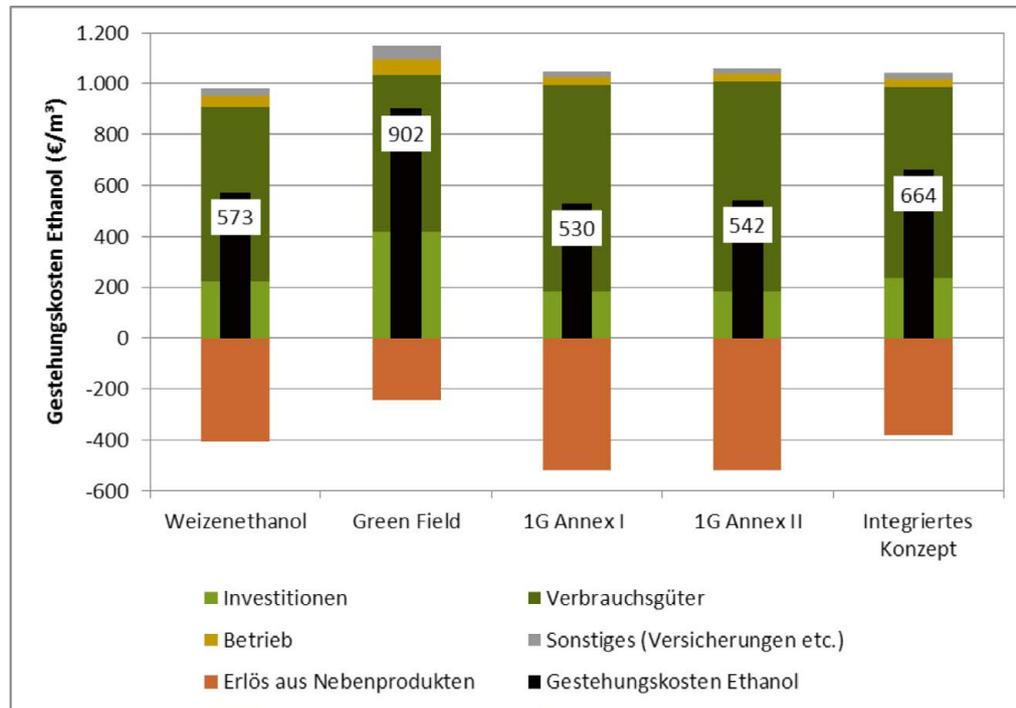


Abb. 25: Gestehungskosten der Ethanolproduktion bei Berücksichtigung der Erlöse durch Nebenproduktverkauf.

Um den erheblichen Einfluss der Rohstoffe und der Investitionen abzubilden wurde eine Sensitivitätsanalyse für das Konzept 1G-Annex I durchgeführt. Da durch laufende Kosten auch die tatsächlichen Betriebsstunden einen wichtigen Einfluss auf die Wirtschaftlichkeit haben, wurden auch diese in die Sensitivitätsanalyse mit einbezogen. stellt die Abhängigkeit der Gestehungskosten von Variationen in den genannten Parametern dar. Daraus wird ersichtlich, dass das Kostengefüge durch fluktuierende Rohstoffpreise, wie sie in den vergangenen Jahren zu beobachten waren, erheblich beeinträchtigt werden kann. Weizen- und Strohpreise sind hier besonders hervorzuheben. So hat sich der Weizenpreis in den vergangenen Jahren zwischen 130 und 280 €/t bewegt. Statistiken zum Strohpreis stehen nur für wenige Regionen zur Verfügung. Laut Raiffeisen hat sich der Preis für Stroh „gepresst und verladen, ab Hof/Feld“ in Bayern zwischen 2010 und 2012 im Bereich von 67 bis 113 €/t bewegt. Auch durch verringerte Einsatzzeiten der Anlage können erhebliche Mehrkosten entstehen, was besonders bei neuen Technologien zu berücksichtigen ist, für die eine Volllastung der Anlagen nicht sofort zu erwarten ist.

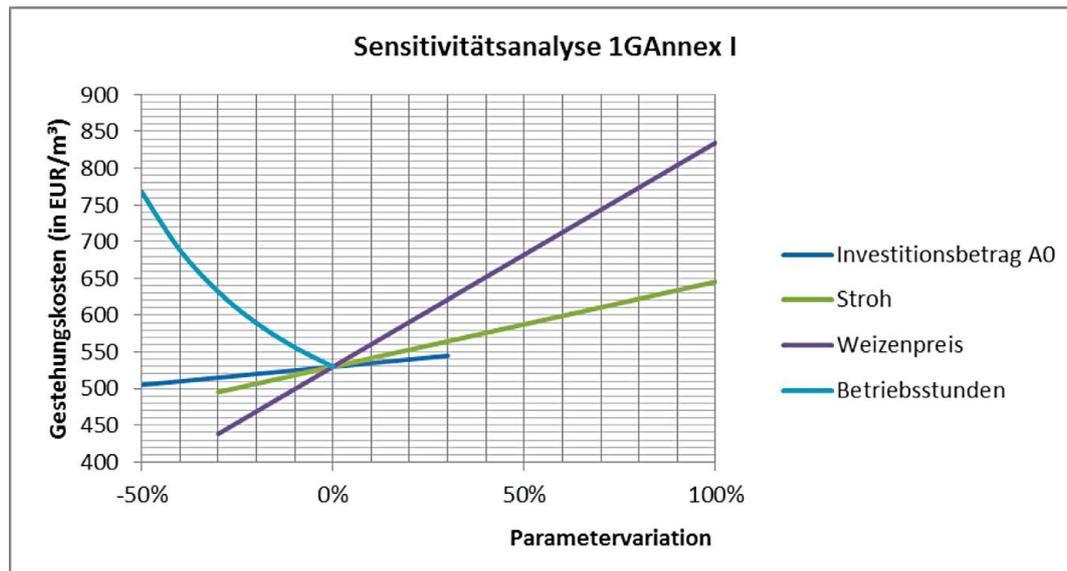


Abb. 26: Sensitivitätsanalyse für das Konzept 1G-Annex I: Bei 0% gilt: Investitionsbetrag: 248 Mio EUR; Strohpreis: 64 EUR/t; Weizenpreis: 153 EUR/t; Betriebsstunden: 8000 h/a

Ökonomische Effizienz (Wirtschaftlichkeit)

Für den Betrieb einer entsprechenden Anlage ist neben den Gestehungskosten vielmehr die Wirtschaftlichkeit der Anlage ausschlaggebend. Als Messgröße der Wirtschaftlichkeit wurden der Kapitalwert der Investitionen sowie der modifizierte interne Zinsfuß berechnet. zeigt beide Größen für alle betrachteten Konzepte. Demnach sind unter den hier angenommenen Rahmen-daten lediglich die Weizenanlage und die Konzepte 1G-Annex I und II wirtschaftlich zu betreiben. Mit einem modifizierten internen Zinsfuß zwischen 0,1 und 1,7 Prozent sind die Anlagen jedoch verhältnismäßig schlecht verzinst.

Die ökonomische Effizienz der Green Field-Anlage zur Produktion von Bioethanol der zweiten Generation (Cellulose-Ethanol) besitzt jedoch großes ökonomisches Optimierungspotenzial. Durch eine Anlagen-spezifische Variation der Grundannahmen kann die Wirtschaftlichkeit deutlich verbessert werden. Unter Verwendung einer integrierten Enzymproduktion auf der Basis des Rohstoffs Stroh, der simultanen Vergärung der im Stroh enthaltenen C5- und C6-Zucker und innovative Aufarbeitungsmethoden können z.B. die Gestehungskosten in den Bereich F.O. Licht 2010 gesenkt werden (Daten der Clariant; hier nicht dargestellt).

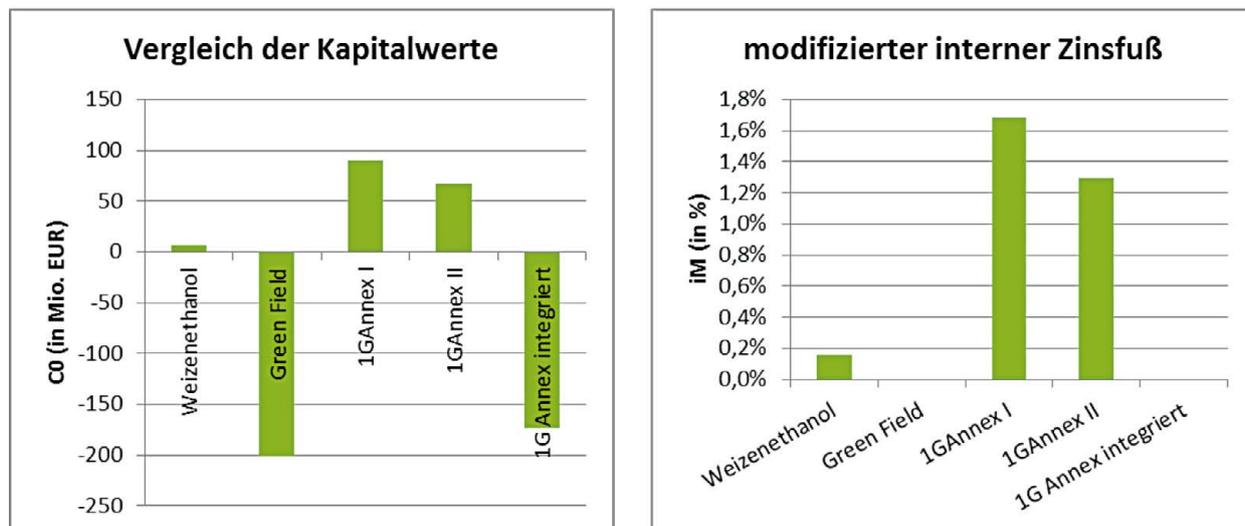


Abb. 27: Mit den Konzepten Weizenethanol, 1G-Annex I und 1G-Annex II lassen sich durch die Kombination von Weizen und Strohverarbeitung unter den getroffenen Annahmen wirtschaftliche Erfolge erzielen.

IV.2.4 Gesamtbewertung

Innerhalb des Verbundprojektes wurde eine Vielzahl von Forschungsthemen innerhalb unterschiedlichster Entwicklungsstadien bearbeitet. Auf Grund vorliegender Informationstiefe war es möglich, vier dieser neu entwickelten Verfahren in das integrierte Bio Raffineriekonzept aufzunehmen. Die Bilanzierung für das integrierte Konzept wurde für alle Stoffströme und Energien durchgeführt. Für die gewählten Verfahren wurden notwendige Technologiesprünge beim Up-Scaling und Optimierungspotenziale in der verfahrenstechnischen Bewertung aufgezeigt.

Die Möglichkeit von Synergien aus der Verbindung von Stroh- und Weizenethanol konnte gezeigt werden. Die Kombination aus Vorbehandlungsverfahren für das Stroh sowie der nachfolgenden Prozessschritte stellten sich jedoch als äußerst wichtig heraus. Besonders die geringe Wasserbeladung in allen Prozessstufen sollte oberste Priorität haben. Sonst werden aufwändige Verfahren (z.B. Eindampfung) notwendig, um die gewünschten Produkte anschließend abzutrennen.

Eine vorteilhafte Vermarktung der Nebenprodukte einer rein strohbasierten Ethanolanlage bleibt nach wie vor ein offener Punkt für die Markteinführung von Ethanol aus Lignozellulose. Hier sind die Futter- und Nahrungsmittel der Weizenethanolindustrie bereits gut am Markt zu veräußern. Wenn auf diese Vertriebswege aufgesattelt werden kann und Teile der Strohn Nebenprodukte mit untergebracht werden können, bietet die gemeinsame Verarbeitung bessere Chancen für eine Markteinführung. Auch wenn im Rahmen der Konzeptbewertung kein Konzept mit stofflichen Produkten bewertet werden konnte, soll auf die Chancen hingewiesen sein, die sich mit hochwertigen stofflichen Produkten erzielen lassen. Es lässt sich allerdings nicht jedes Verfahren zur Produktion stofflicher Produkte sinnvoll in die Ethanolanlagen integrieren, auch wenn es auf die Zwischenprodukte angewiesen ist. So ist beispielsweise die Veresterung von Cellulose besser mit den Technologien der Zellstoffindustrie als mit der Ethanolindustrie kompatibel.

Unter Berücksichtigung der gültigen Bewertungsmethoden führt besonders der Einsatz von Stroh als Rohstoff und regenerativen Energieträgern für die Prozessenergie zu hohen Minderungen der THG-Emissionen. In den Konzepten Green Field und 1G-Annex II wurden diese Ansätze verfolgt. Die zukünftig gesetzlich geforderten THG-Emissionen von maximal 60% der fossilen

Energieträger können beide erreichen. Die stärkeren Auflagen für Neuanlagen ab 2017 von lediglich 50% der fossilen Vergleichsenergieträger kann nur das Konzept Green Field erfüllen.

3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die in Modul IV durchgeführten Arbeiten stellen einen wesentlichen Bestandteil des Verbundprojektes dar und waren notwendig, um die einzelnen Ergebnisse der Verbundpartner zusammenzuführen. Die dazu durchgeführten Arbeitsschritte sind in ihrer Art und ihrem Umfang angemessen und konnten so zu den dargestellten Ergebnissen führen.

4 Voraussichtlicher Nutzen

Industrielle Verwertung

Die Ergebnisse der Projektarbeiten sollen zur Identifizierung vielversprechender Bioraffineriekonzepte dienen. Sie dienen zudem als Grundlage für die Entscheidung zur weiteren Verifizierung der theoretischen Ergebnisse mittels Pilotanlagen.

Die innerhalb des Projektes gewonnenen Erfahrungen und Kontakte können zur Entwicklung von gemeinsamen Anlagenbauprojekten unter Verwendung der neu entwickelten Technologien verwendet werden. Zur Vermittlung von Lizenznahmen neuer Technologien können Kontakte von Anlagenbetreibern zu Forschungspartnern des Verbundprojektes Bioraffinerie 2021 hergestellt werden.

Wissenschaftliche Verwertung

Zunächst dienen die Ergebnisse dem DBFZ zur projektinternen Nutzung für die Bewertung der Konzepte. Des Weiteren sind die Erkenntnisse hilfreich für übergeordnete Diskussionen, in die das DBFZ im Rahmen von Anfragen und Arbeitsgruppen zur Entwicklung des Bioenergiesektors eingebunden ist. Als Beispiel sei die unter Federführung der Bundesministerien erstellte „Roadmap Bioraffinerien“ genannt.

Ziel ist es, die am DBFZ durchgeführten konzeptionellen Arbeiten und Prozesssimulationen Rahmen einer Dissertation zu verwerten.

5 Fortschritt Dritter

Während des Projektverlaufs sind in der Forschungswelt die folgenden Aktivitäten beobachtet worden, die ähnliche Themen bearbeitet haben.

- BMU/PTJ | BioCouple – Kopplung der stofflich/energetischen Nutzung von Biomasse, Analyse und Bewertung der Konzepte und der Einbindung bestehender Bereitstellungs- und Nutzungsszenarien (2009 bis 2010). Im Vorhaben wurden unter der Überschrift Plattform-Bioraffinerien u. a. auch das Konzept einer klassischen Bioethanolanlage auf der Basis von Getreide sowie das Konzept zur Bioethanol- und Chemikalienproduktion auf der Basis von Stroh untersucht (Endbericht www.energetische-biomassenutzung.de/fileadmin/user_upload/Downloads/Endberichte/Endbericht_BioCouple.pdf)

- EU FP7 | StarCOLIBRI – Strategic Research Targets for 2020 – Collaboration Initiative on Biorefineries als Coordination and Support Action (2009 bis 2011, www.star-colibri.eu/). Ziel war die Vernetzung der Forschungsaktivitäten zum Thema Bioraffinerien in Europa und Erarbeitung einer Joint European Biorefinery Vision for 2030 bzw. European Biorefinery Joint Strategic Research Roadmap for 2020 (www.star-colibri.eu/publications/star-colibri-publications/). In diesem Vorhaben war das DBFZ Projektpartner und für die Fragen zu Sustainability/LCA zuständig.
- EU FP 7 | BIOCORE – Biocommodity Refinery based on Lignocellulose (2010 bis 2014, www.biocore-europe.org)
- EU FP 7 | EuroBioRef project – European Multilevel Integrated Biorefinery Design for Sustainable Biomass Processing (2010 bis 2014, www.eurobioref.org).
- Das Ziel des Projekts besteht darin, die Kosteneffizienz um 30% zu verbessern, den Energieverbrauch um 30% und den von Rohstoffen um 10% zu reduzieren. Im Fokus steht ein Bioraffineriekonzept, das eine breite Palette von Rohstoffen und verschiedene Verfahren (chemische, biochemische und thermochemische) berücksichtigt und eine Vielzahl von Produkten herstellt, wie Chemikalien, Polymeren und Materialien bis hin zu hochenergetischen Flugkraftstoffen.
- EU FP 7 | BIOREF-INTEG – Development of advanced Biorefinery schemes to be integrated into existing industrial fuel producing complexes als Coordination and Support Action (2008 bis 2010, Endbericht unter www.bioref-integ.eu/fileadmin/bioref-integ/user/documents/Final_Report.pdf). Für ausgesuchte Sektoren wird jeweils ein „base case“ definiert, auf dessen Basis dann „integrated cases“ entwickelt werden

Durch die Zusammensetzung des Bioraffinerie2021 Konsortiums war eine anwendungsorientierte Arbeitsweise gegeben, die besonders die spezifischen Herausforderungen der Industriepartner adressierte und die Ergebnisse der Forschungspartner aufgriff. Eine Beeinflussung des Vorhabens durch Ergebnisse Dritter war daher nicht gegeben.

6 Veröffentlichungen

- Gröngröft, A.: Combined processing of grain and straw to produce bioethanol and other products. 19th International Symposium on Alcohol Fuels (ISAF), Verona (2011).
- Gröngröft, A.: Combined processing of grain and straw to produce bioethanol and other products. Emerging technologies for the sustainable production of biofuels, food and chemicals from agricultural waste and algae in the SADC region., Pretoria (2012).
- Gröngröft, A.: Assessment of concepts for wheat grain and straw based biorefineries. III Congreso Latinoamericano Biorrefinerías., Pucón, Chile (2012).
- Gröngröft, A., Meisel, K., Brosowski, A.: Ökologische und wirtschaftliche Analyse von Anlagenkonzepten zur Produktion von Ethanol aus Weizen und Stroh. Gehalten auf der Kraftstoffe der Zukunft 2013 , Berlin Januar 22 (2012).
- Gröngröft, A., Meisel, K. und Brosowski, A.: „Integrated ethanol production from wheat grain and straw: assessment of feedstock provision, production costs and greenhouse gas emissions“ Artikel für Anfang 2013 geplant, in dem die Ergebnisse zusammengefasst veröffentlicht werden sollen.

Literatur- und Referenzverzeichnis

- BKG, Bundesamt für Kartographie und Geodäsie: Digitales Basis-Landschaftsmodell Basis DLM (2012)
- BMWi: Gesamtausgabe Energiedaten. URL www.bmwi.de/DE/Themen/Energie/Energiedaten/gesamtausgabe.html. – abgerufen 2012-08-16
- Brosowski, André: Regionale Biomassepotenziale und Standortbewertung am Beispiel von Stroh in Sachsen – GIS-basierte Ermittlung von Bereitstellungskosten. In: Bill, R.; Flach, G.; Klammer, U.; Lerche, T. (Hrsg.): GeoForum MV 2012 – GIS schafft Energie: Beiträge der Geoinformationswirtschaft zur Energiewende. Berlin: GITO, 2012 – ISBN 978-3-942183-68-0
- Bundesnetzagentur: Bericht der Bundesnetzagentur über die Auswirkungen der Sonderregelungen für die Einspeisung von Biogas in das Erdgasnetz. Bonn, 2012
- DESTATIS: Statistisches Bundesamt. URL <https://www.destatis.de/DE/Startseite.html>. – abgerufen 2013-01-30
- Destatis, Statistisches Bundesamt: Allgemeine Agrarstrukturerhebung (2012). – Statistik-schlüssel 41120
- European Parliament; European Council: Directive on the promotion of the use of energy from renewable sources and amending and subsequently repealing Directives 2001/77/EC and 2003/30/EC, Directive 2009/28/EC, 2009
- F.O. Licht: World Ethanol & Biofuels Report. Ratzeburg, 2010
- FNR: Leitfaden Bioenergie. Planung, Betrieb und Wirtschaftlichkeit von Bioenergieanlagen. Gülzow, 2007
- ICIS: Chemical Industry News & Chemical Market Intelligence. URL www.icis.com/. – abgerufen 2013-01-30
- Klöppfer, Walter; Grahl, Birgit: Ökobilanz (LCA). Ein Leitfaden für Ausbildung und Beruf. Weinheim, 2009
- KTBL: Betriebsplanung Landwirtschaft 2010/11: Daten für die Betriebsplanung in der Landwirtschaft. 22., Auflage. Aufl.: Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft, 2010 – ISBN 3941583387
- Mackprang GmbH: C. Mackprang jr. GmbH & Co. KG, Homepage. URL www.mackprang.de/ddgs.php. – abgerufen 2013-01-30
- Modahl, Ingunn Saur; Brekke, Andreas; Raadal, Hanne Lerche: Life cycle assessment of cellulose, ethanol, lignin and vanillin from Borregaard, Sarpsborg. (2009)
- Peters, Max S; Timmerhaus, Klaus D; West, Ronald E: Plant Design and Economics for Chemical Engineers. 5. Aufl. New York: McGraw-Hill, 2003
- Rajagopalan, Srinivasan; Ponnampalam, Elankovan; McCalla, Darold; Stowers, Mark: Enhancing profitability of dry mill ethanol plants. In: Applied Biochemistry and Biotechnology Bd. 120 (2005), Nr. 1, S. 37–50
- Sassner, Per; Galbe, Mats; Zacchi, Guido: Techno-economic evaluation of bioethanol production from three different lignocellulosic materials. In: Biomass and Bioenergy Bd. 32 (2008), Nr. 5, S. 422–430
- Schaefer, Matthias: Wörterbuch der Ökologie. 4. Aufl. Aufl. Heidelberg/Berlin, 2003
- SWISS CENTRE FOR LIFE CYCLE INVENTORIES: Ecoinvent v2.1 for umberto 5.5, 2009
- Thrän, Daniela et al.: Methoden zur stoffstromorientierten Beurteilung für Vorhaben im Rahmen des BMU-Förderprogramms „Energetische Biomassenutzung“. Teil 1: Technologie-kennwerte, Gestehungskosten, Treibhausgasbilanzen. German Biomass Research Centre – DBFZ (2010)

- Umweltbundesamt (UBA): Kumulierter Energieverbrauch (KEV) – ein praktikabler Bewertungs- und Entscheidungsindikator für nachhaltige Produkte und Dienstleistungen. Berlin (2003)
- Zah, R.; Böni, H; Hirsch, R.; Lehmann, M.; Wäger, P.: Ökobilanz von Energieprodukten: Ökologische Bewertung von Biotreibstoffen. Bern, 2007
- Zeller, Vanessa; Thrän, Daniela; Zeymer, Martin; Bürzle, Bernhard; Adler, Philipp; Ponitka, Jens; Postel, Jan; Müller-Langer, Franziska; Rönsch, Stefan; u. a.: Basisinformationen für eine nachhaltige Nutzung von landwirtschaftlichen Reststoffen zur Bioenergiebereitstellung, DBFZ Report (Nr. 13). Leipzig: Deutsches Biomasseforschungszentrum gGmbH, 2012
- Ingledew, W. M. D.; Kelsall, D. R.; Austin, G. D.; Kluhspies, C. (Hrsg.): The Alcohol Textbook. 5. Aufl.: Nottingham University Press, 2009 – ISBN 1904761656