

Bettina Frauz, Ulrika Weinmann und Hans Oechsner, Hohenheim

Abtötung von Fusariensporen während des Gärprozesses in Biogasanlagen

Ein Ausblick

Fusarium und sein toxisches Stoffwechselprodukt DON (Deoxynivalenol) sind bekannt für ihre schädigende Wirkung. Im Rahmen eines Forschungsprojekts an der Universität Hohenheim wird untersucht, unter welchen Bedingungen fusariumbelastetes Getreide in Biogasanlagen als Gärsubstrat genutzt werden kann.

Dipl.-Ing. sc. agr. Bettina Frauz ist Doktorandin an der Landesanstalt für Landwirtschaftliches Maschinen- und Bauwesen (Leitung: Dr. sc. agr. Hans Oechsner) der Universität Hohenheim, Garbenstraße 9, 70599 Stuttgart; e-mail: b-frauz@uni-hohenheim.de
Dr. sc. agr. Ulrika Weinmann ist wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Tierernährung der Universität Hohenheim.
Das Projekt wird gefördert durch das BMELV über die Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe in Gülzow

Schlüsselwörter

Anaerobe Fermentation, Biogas, Deoxynivalenol (DON), Energieerzeugung, Fusarium, Inaktivierung, Mykotoxin Reduktion

Keywords

Anaerobic fermentation, biogas, Deoxynivalenol (DON), energy production, Fusarium, deactivation, mycotoxin reduction

Literatur

Literaturhinweise sind unter LT 06416 über Internet <http://www.landwirtschaftsverlag.com/landtech/lo-cal/fliteratur.htm> abrufbar.

Jährlich werden in Deutschland etwa 3,8 Mio. t durch Pilzbefall kontaminierter Getreidechargen verzeichnet. Unter günstigen klimatischen Bedingungen (15 bis 20 °C) bildet Fusarium intermediäre katabole Produkte. Laut Angaben der FAO sind grob 25% der weltweiten Getreideernte durch diese intermediären Stoffwechselprodukte kontaminiert [1]. Deoxynivalenol (DON) ist der bekannteste Vertreter dieser Mykotoxine. Sowohl bei kurzzeitiger als auch chronischer Aufnahme löst es unter anderem Anorexie und Erbrechen aus.

Gesetzliche Voraussetzungen innerhalb der EU

Um die Aufnahme dieser Toxine in der menschlichen Nahrungskette zu vermeiden, hat die Europäische Gemeinschaft eine Änderung der Mykotoxinhöchstmengenverordnung erlassen ((EC) No 856/2005). Diese umfasst konkret die Mykotoxine Deoxynivalenol (DON), Zearalenon (ZON) und Fumonisine. Für unverarbeitetes Getreide liegt die Höchstmenge für DON bei 1 250 µg/kg.

Zur Einhaltung dieser gesetzlichen Vorgaben ist eine sichere Disposition kontaminierter Getreidechargen nötig. Der Schwerpunkt laufender Untersuchungen an der Universität Hohenheim liegt diesbezüglich im Bereich einer potenziellen Inaktivierung des Fusariums und einer Metabolisierung des Toxins während des anaeroben Fermentationsprozesses. Die Mikroorganismen des Pansens sind in der Lage, DON in das weit aus weniger zelltoxische Deepoxynivalenol (DOM-1) umzuwandeln [3]. Literaturangaben zufolge wurden 10 mg DON durch den so genannten Detoxifikationsmechanismus der Wiederkäuer innerhalb von 24 Stunden gänzlich zu DOM-1 metabolisiert.

Zielsetzung

Im Vorfeld wurden bereits verschiedene Biogas-Untersuchungen nach VDI 4630 durchgeführt [4]. Die Bestimmung der mikrobiologischen Aktivität kontaminierter Chargen erfolgte im Labormaßstab. Dabei wurde

Weizen als intaktes Korn und als gemahlenes Substrat im diskontinuierlichen Verfahren fermentiert. Die Untersuchung gliedert sich in diesem Kooperationsprojekt wie folgt:

- Ermittlung des Potenzials an Biogas:
Um eine mögliche mikrobiologische Hemmung des Fermentationsprozesses durch kontaminiertes Getreide zu detektieren
- Inaktivierung der Keimfähigkeit:
Um Reinfektion durch das Ausbringen von Fusariumsporen in Gärückständen auf das nachfolgende Erntegut zu vermeiden
- Toxinmonitoring:
Um die Infektionskette durch einen nicht auszuschließenden „Carry Over“-Effekt zu unterbrechen

Fusarium kontaminierte Getreidechargen

Um eine mögliche Inaktivierung des Pilzes und die Abtötung seiner Sporen während des Fermentationsprozesses zu untersuchen, wurde inokulierter Weizen als Versuchsmaterial eingesetzt. Nach der Ernte wurde das Material durch einen Zyklon separiert und durch zusätzliche Siebanalyse (2,3 bis 2,5 mm) versucht, ein homogenes Aliquot ohne Störstoffe und kleinste Kümmerkornanteile herzustellen. Dieses Versuchsmaterial wurde als gemahlenes Substrat und als ganzes Getreidekorn vergoren.

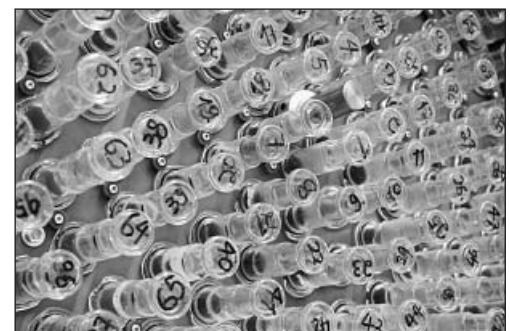


Bild 1: Anordnung der Kolbenprober im Brutschrank

Fig. 1: Arrangement of flask samplers in an incubator

Batchversuch im Labormaßstab – Hohenheimer Biogasertrags-Test (HBT)

Die Evaluierung des Biogaspotenzials erfolgt durch die Ermittlung des Methanertrags aus organischer Substanz (VDI 4630 und DIN 38414 Teil 8) [5]. Im bewährten Verfahren werden hierzu Versuche im Kleinst-Labormaßstab (30 ml Impfgülle; 500 mg Substrat; Glaskolben in ml-Skalierung) durchgeführt. Die qualitative Gasmessung mittels Infrarotsensor liefert in Kombination mit einer quantitativen Bestimmung der gebildeten Gasmenge das im Substrat enthaltene Potenzial. In der Folge kann über den gesamten Versuchsablauf jede Hemmung des mikrobiologischen Abbauprozesses sofort erkannt werden [6] (Bild 1).

Fusarium Nachweis durch Identifikation

Die mikrobiologische Identifikation des Fusariums wird nach der Fermentierung auf einem Nährstoff-Agar (Schmitt-Agar) visuell untersucht (Makro- oder Mikrokonidien) [7]. Die Parameter werden über den gesamten Versuch durch gestaffelte Probenentnahmen ermittelt, dabei beträgt die kürzeste Verweilzeit 0,5, die längste 35 Tage. Die Quantifizierung des Pilzbefalls wird sowohl mit dem Versuchsbeginn (Nullwert) wie auch nach der entsprechenden Fermentationsdauer in Form der Infektionsrate (IR) auf dem Nährmedium bestimmt. Um die Infektionsrate zu ermitteln, werden zum entsprechenden Entnahmeterrin jeweils neun Proben aus dem Brutschrank entnommen. Nach dem Ausplattieren werden diese bei 28°C mindestens acht Tage im Inkubator bebrütet. Mikroskopische Analysen zur Detektion von Fusarien und deren Sporen werden ab der ersten bis zur zwölften Woche durchgeführt. Visuelle Hauptbestimmungsmerkmale sind bei *Fusarium* rötlich bis gelbliche Mycelien und sichelförmig septierte Sporen.

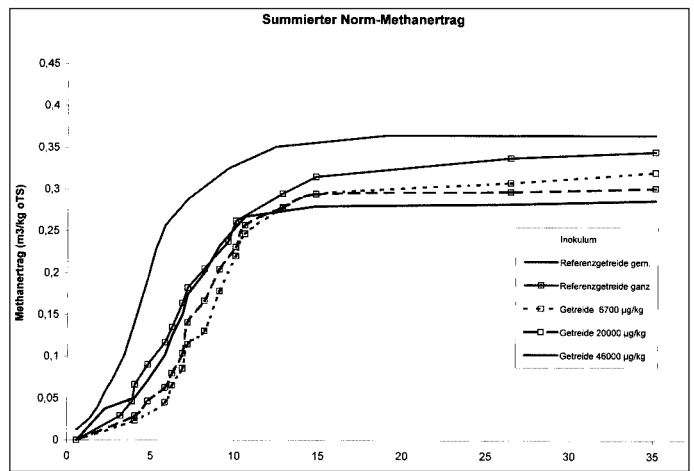
Tab. 1: Temperatur-Zeit Einfluss auf die Infektionsrate (in %)

Table 1: Temperature-time effect on infection rate (in %)

| Mesophile Fermentation: 37°C | Nullwert (ohne Fermentation) | Nach 0,5 Tagen Fermentation | Nach 12 Tagen Fermentation | Nach 35 Tagen Fermentation |
|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Pilzbefall total in % | 100 | 50 | 40 | 10 |
| davon Fusarium in % | 100 | 0 | 0 | 0 |
| Thermophile Fermentation: 53°C | Nullwert (ohne Fermentation) | Nach 0,5 Tagen Fermentation | Nach 12 Tagen Fermentation | Nach 35 Tagen Fermentation |
| Pilzbefall total in % | 100 | 0 | 0 | 0 |
| Hefen in % | 0 | 100 | 100 | 100 |
| davon Fusarium in % | 100 | 0 | 0 | 0 |

Bild 2: Mesophile anaerobe Fermentation von Fusarium infiziertem Getreide

Fig. 2: Mesophilic anaerobic fermentation, inoculation of cereal by Fusarium



Interpretation des Biogasprozesses

Betrachtet man den Gärverlauf und den spezifischen Methanertrag getrennt voneinander, so kommt man zu folgenden Ergebnissen: Die Kinetik als Indikator für den Gärverlauf lässt keine Hemmung erkennen: Zu Beginn des Fermentationsversuchs ist die Bakterienpopulation noch relativ gering und unadaptiert, nach einer kurzen Startphase (0 bis 4 Tage) erreichen die Mikroorganismen jedoch schnell ihre maximale Leistungsfähigkeit, bis diese durch die erschöpften Nährstoffressourcen abgebremst wird. Verwendet man den spezifischen Methanertrag als Indikator für mögliche Interaktionen mit kontaminiertem Substrat, so lassen sich Ertragsverluste erkennen. Entsprechend zu den anderen dargestellten Kurvenverläufen zeigt „Referenzmaterial gemahlen“ den höchsten spezifischen Methanertrag (Bild 2). Zum einen ist dies aus der Tatsache zu erklären, dass die mikrobiologische, enzymatische Dekomposition beim gemahlene Korn schneller durch Bakterien vollzogen werden kann, zum anderen enthalten kontaminierte und verschimmelte Getreidekörner geringere Anteile relevanter Inhaltstoffe (bestätigt durch Futtermitteluntersuchungen). So variiert das Tausendkorngewicht von 43 g bis auf 30 g bei einem infizierten Korn [8].

Die Futtermittelanalysen zeigten für kontaminierte Substrate vor allem reduzierte Gehalte an Stärke und Zucker. Der Biogasbildungsprozess scheint, gemessen anhand des Biogasbildungspotenzials, nach ersten Laborergebnissen nicht nachteilig durch die Zugabe von kontaminiertem Material beeinflusst zu werden (maximale Versuchskontamination 46000 µg/kg).

Mikrobiologische Interpretation

Eine Abtötung von Fusariensporen durch den Biogasprozess kann durch die ersten Ergebnisse bestätigt werden (Tab. 1). Die Infektionsraten des Ausgangssubstrats (ohne Fermentation) zeigen einen Befall von 100 %. In beiden Temperaturbereichen (37°C und 53 °C) konnten bereits nach der relativ kurzen Verweilzeit im anaeroben Fermentationsprozess von 0,5 Tagen keine keimfähigen Fusariensporen nachgewiesen werden. Die Inaktivierung der Fusarien kann durch die Absenz von Sauerstoff, der für die Pilze überlebenswichtig ist, erklärt werden. Andere Schimmelpilze wurden, soweit dies möglich war, identifiziert und der Gruppe Pilzbefall total zugeordnet. Darunter fielen Pilze wie *Aspergillus flavus*, *Penicillium rouqueforti* und weitere.

Perspektiven

Erste Ergebnisse dieser interdisziplinären Untersuchung zeigen ein adäquates Potenzial zur Inaktivierung der Sporulation von Fusarium. Der Prozessverlauf blieb im HBT Batch Versuch auch unter Zugabe kontaminierten Materials (*Fusarium*) stabil und wurde nicht negativ beeinflusst. Die ersten Ergebnisse müssen durch Variation der Prozessparameter (Trockensubstanzgehalt des Fermentationsprozesses, Varianten der Prozessführung) abgesichert werden. Eine zusätzliche Analyse des Metabolismus (DON in DOM-1) bei den vorgenannten Varianten ist zwingend erforderlich. Durch diesen viel versprechenden Ansatz könnte kontaminiertes Getreide unter gleichzeitiger Energiegewinnung sicher entsorgt werden. Die FAO beziffert dies mit 3,8 Mio. Tonnen pro Jahr. Sofern die Ergebnisse in den folgenden Untersuchungen bestätigt werden können, stellt die Verwertung in Biogasanlagen im Gegensatz zur Müllverbrennung die verfahrenstechnisch und ökonomisch günstigere Variante dar.