

Mathieu Brulé, Jochen Vogtherr, Andreas Lemmer, Hans Oechsner und Thomas Jungbluth

Einfluss einer Enzymzugabe auf die Methanerträge von Gärsubstraten einer Praxis-Biogasanlage

Bei Biogasanlagen, die hohe Anteile an faserreichen Energiepflanzen wie z. B. Grassilage einsetzen, werden faserspaltende Enzymzusätze häufig verwendet, um den Substratabbau und die daraus entstehende spezifische Methanausbeute zu steigern. Um die Wirkung einer Enzymzugabe auf den Vergärungsprozess zu testen, wurden Gärsubstrate aus dem Hauptfermenter und Nachgärer einer landwirtschaftlichen Biogasanlage gesammelt. Diese Gärsubstrate wurden in diskontinuierlichen Gärversuchen im Biogaslabor der Universität Hohenheim erneut vergoren. Im Rahmen der Untersuchungen konnte durch die Enzymzugabe selbst in hohen Dosierungen keine signifikante Steigerung des Methanertrages der Gärsubstrate erreicht werden.

Schlüsselwörter

Biogas, Enzyme, Methanertrag, Fasern, Lignozellulose

Keywords

Biogas, enzymes, methane yield, fibres, lignocellulose

Abstract

Brulé, Mathieu; Vogtherr, Jochen; Lemmer, Andreas; Oechsner, Hans and Jungbluth, Thomas

Effect of enzyme addition on the methane yields of effluents from a full-scale biogas plant

Landtechnik 66 (2011), no. 1, pp. 50-52, 1 figure, 2 tables, 6 references

Biogas plants fed with a high share of fibre-rich energy crops (e.g. ensiled grass) often resort to enzyme additives in order to increase substrate degradation as well as the resulting methane yield. In order to evaluate the effect of enzyme additives on the digestion process, effluents were collected from the first and second reactor of a full-scale on-farm biogas plant. The sampled effluents were digested again in batch anaerobic digestion assays at the biogas laboratory of the University of Hohenheim. Enzyme addition even at high dosage could not yield any significant increase of the methane yields of effluents.

■ Seit der Novellierung des EEG im Jahre 2004 wird in Deutschland in landwirtschaftlichen Biogasanlagen zunehmend die Kofermentation von Gülle mit Energiepflanzen betrieben. Die Faserbestandteile der eingesetzten pflanzlichen Produkte, hauptsächlich Zellulose und Hemizellulose, werden durch anaerobe Bakterien nur langsam bzw. partiell abgebaut. Um diesen Substratabbau zu beschleunigen und dadurch höhere Methanausbeuten zu erzielen, werden in einigen landwirtschaftlichen Biogasanlagen faserspaltende Enzymzusätze im Fermenter eingesetzt.

Im Rahmen der Untersuchung wurde mit Hilfe von diskontinuierlichen Gärversuchen in Laborfermentern die Wirkung kommerzieller zellulose- und hemizellulosespaltender Enzympräparate auf den Methanertrag bei der anaeroben Vergärung von Gärsubstraten einer landwirtschaftlichen Biogasanlage überprüft.

Charakterisierung der beprobten Biogasanlage

Die beprobte landwirtschaftliche Biogasanlage wurde zweistufig betrieben und bestand aus zwei vollständig durchmischten Reaktoren (Hauptfermenter und Nachgärer). Das der Biogasanlage durchschnittlich zugegebene Substrat hatte, bezogen auf Frischmasse, folgende Zusammensetzung: Rindergülle 33 %, Rinderfestmist 16 %, Maissilage 27 %, Grassilage 22 %, sonstige Ganzpflanzensilagen 3 %. Die Kennzahlen der beiden Fermenter sind in **Tabelle 1** zusammengestellt.

Eigenschaften der Gärsubstrate

Die Gärsubstrate wurden aus dem Hauptfermenter und aus dem Nachgärer der Biogasanlage entnommen. Die biochemische Zusammensetzung der Gärsubstrate wurde anhand der van-Soest-

Tab. 1

Gärsubstrateigenschaften und Betriebsbedingungen der Fermenter
 Table 1: Effluent characteristics and process parameters of the digesters

Eigenschaften und Bedingungen/ Characteristics and parameters	Hauptfermenter/ First reactor	Nachgärer/ Second reactor
TS-Gehalt [%]/ Total solids content [%]	10,36	8,51
oTS-Gehalt [% TS]/ Volatile solids content [%]	77,70	72,90
pH-Wert/ pH value	7,8	8,2
Gärtemperatur [°C]/ Digestion temperature [°C]	41	39
Verweilzeit [d]/ Hydraulic retention time [d]	35	35
Raumbelastung [kg oTS/(m ³ × d)]/ Organic Loading Rate (OLR) [kg VS/(m ³ × d)]	6,5	3,3 ¹⁾
Faulraumvolumen [m ³]/ Digester volume [m ³]	1 250	1 250

¹⁾ Gesamtraumbelastung der Biogasanlage (Hauptfermenter + Nachgärer)
 Overall OLR of the biogas plant (first reactor + second reactor).

Analyse [1] untersucht. Folgende Gehalte wurden, bezogen auf die organische Trockenmasse, für die Probe aus dem Hauptfermenter bestimmt: NfE (Stickstofffreie Extraktstoffe) 2 %, RP (Rohprotein) 21 %, RL (Rohfett) 3 %, oNDF (Zellulose + Hemizellulose + Lignin, organisch) 73 %, oADF (Zellulose + Lignin, organisch) 62 %, ADL (Lignin) 27 %. Die Probe aus dem Nachgärer hatte folgende Zusammensetzung: RP 24 %, RL 4 %, oNDF 72 %, oADF 66 %, ADL 33 %.

Erfassung der Methanerträge

Die diskontinuierlichen Gärversuche wurden mit dem Hohenheimer Biogasertragstest (HBT) [2] durchgeführt. Die Vergärung erfolgte bei 37 °C über eine Verweildauer von 87 Tagen. Die Gärsubstrate wurden vor der Vergärung im HBT-Verfahren mit einem Küchenmixer homogenisiert. Beim Start des Gärversuches wurden die Laborfermenter mit je 50 g Gärsubstrat befüllt. Pro Variante gab es je drei Wiederholungen.

Eingesetzte Enzympräparate

Zwei Enzymzusätze wurden in jeweils zwei verschiedenen Dosierungen getestet. Hierfür wurden drei kommerzielle, aus Pilzen extrahierte Enzympräparate (A, B und C) verwendet. Präparat A stellte eine Mischung aus Cellulase und Xylanase aus *Trichoderma reesei* dar. Präparat B war eine Cellulase aus *Humicola sp.* Präparat C war eine Xylanase aus *Bacillus sp.* Präparat A wurde bisher häufig in Biogasanlagen eingesetzt, es besitzt eine relativ hohe Enzymaktivität bei niedrigen pH-Werten. Die Präparate B und C verfügen über eine erhöhte Enzymaktivität bei neutralen bis alkalischen pH-Werten. Im Versuch wurde Präparat A und eine Mischung 1:1 (v/v) aus den Präparaten B und C eingesetzt. Somit enthalten Präparat A und das Misch-

präparat B+C sowohl eine Cellulase- als auch eine Xylanase-Aktivität. Als Kontrollvariante wurde für jedes Enzym und jede Dosierung jeweils eine inaktivierte Enzymvariante (Erhitzung auf 121 °C, 30 min) eingesetzt.

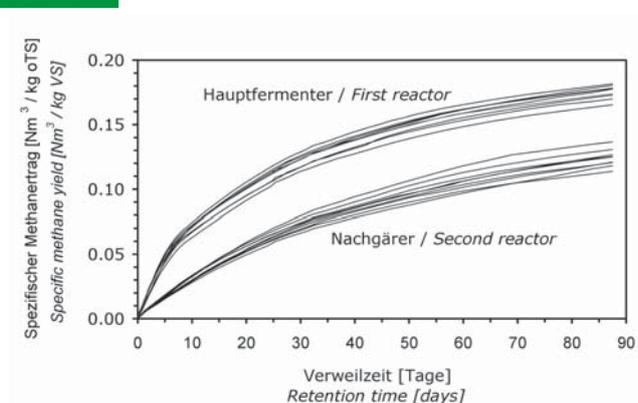
Die Enzyme wurden während des Gärprozesses regelmäßig erneut zugesetzt, um das Nachlassen der Enzymaktivität durch Abbau und Inaktivierung zu vermeiden. Dazu wurden Enzymlösungen hergestellt, indem jeweils 20 bzw. 200 µL Enzympräparat bzw. Präparatmischung für die einfache bzw. zehnfache Dosierung in je 20 mL destilliertem Wasser gelöst wurden. Aus diesen Lösungen wurden jeweils nach Versuchsbeginn von Tag 1 bis Tag 57 an jedem dritten Versuchstag 0,5 mL Enzymlösung mit einer Pipette entnommen und in die Laborfermenter eingebracht. Bei den enzymfreien Varianten wurde die Enzymlösung durch destilliertes Wasser ersetzt. Dadurch wurden den Fermentern über die gesamte Versuchsperiode insgesamt 10 mL an verdünnten Enzymlösungen bzw. destilliertem Wasser zugegeben. Über den gesamten Versuchszeitraum betrug die aufaddierte Enzymmenge für die einfache und zehnfache Dosierung 0,2 bzw. 2 g pro kg Frischmasse des Gärsubstrates, d. h. 1,9 bzw. 19 g/kg TS für die Probe aus dem Hauptfermenter und 2,3 bzw. 23 g/kg TS für die Nachgärerprobe.

Ergebnisse der Gärversuche

Die Verläufe der aufsummierten Methanbildung aller Varianten sowohl mit als auch ohne Enzymzugabe sind in **Abbildung 1** dargestellt. Die Methanbildung verlangsamte sich zum Versuchsende, war jedoch nach 87 Tagen noch nicht vollständig abgeschlossen. Die zum Ende der Gärperiode noch immer steigende Methanbildungskurve zeigt, dass der maximale Methanertrag noch nicht erreicht worden war.

Die Endmethanerträge der Varianten ohne Enzymzugabe nach der 87-tägigen Gärperiode bei 37 °C betrugen für die enzymfreien Varianten 0,170 Nm³/kg oTS für die Hauptfermenterprobe und 0,118 Nm³/kg oTS für die Nachgärerprobe. Die Stan-

Abb. 1



Methansummenkurven aller Versuchsvarianten mit und ohne Enzymzugabe; jeweils Mittelwerte aus drei Wiederholungen
 Fig. 1: Curves of the cumulated methane production of all variants with and without enzyme addition; average values out of three repetitions

Tab. 2

Prozentuale Veränderung der Endmethanerträge von Gärsubstraten durch die Enzymzugabe gegenüber der Varianten ohne Zugabe von Enzymen
 Table 2: Percent change of the final methane yields of reactor samples through enzyme addition as compared to samples without enzyme addition

Fermenter/ Reactor	Enzymzustand/ Enzyme state	Zugabe von Präparat A/ Addition of product A		Zugabe der Mischung B+C/ Addition of the mixture B+C	
		Geringe Dosierung 0,2 g/kg FM/ Low dosage 0,2 g/kg DM	Hohe Dosierung 2 g/kg FM/ High dosage 2 g/kg DM	Geringe Dosierung 0,2 g/kg FM/ Low dosage 0,2 g/kg DM	Hohe Dosierung 2 g/kg FM/ High dosage 2 g/kg DM
Hauptfermenter/ First reactor	aktiv/ active	+1,8	-2,7	+5,3	+6,2
	inaktiviert/ inactivated	+4,6	+6,9	+4,7	+4,9
Nachgärer/ Second reactor	aktiv/ active	+2,9	+7,3	+2,1	+15,7 ¹⁾
	inaktiviert/ inactivated	-3,6	+6,0	+2,4	+10,7

¹⁾ Signifikanter Unterschied ($P < 0,05$) zur enzymfreien Variante, jedoch nicht zu der Variante mit inaktivierten Enzymen
 Significant difference ($P < 0,05$) from the variant without enzyme addition but not from the variant with inactivated enzyme.

dardabweichungen der Endmethanerträge der Wiederholungen lagen bei allen Varianten zwischen 0,6 und 8,2 %. Der Einfluss der Enzymzugabe auf die Endmethanerträge gegenüber den enzymfreien Varianten ist in **Tabelle 2** veranschaulicht. Durch einen Student-Test (T-test) der Methanausbeuten konnte kein signifikanter Unterschied ($P < 0,05$) der Enzymzugabe gegenüber der Zugabe von inaktivierten Enzymen festgestellt werden. Eine signifikante Erhöhung des Endmethanertrags ($P < 0,05$) gegenüber der enzymfreien Variante ergab sich nur bei der Nachgärerprobe mit hoher Dosierung der Enzymmischung B+C. Eine positive Wirkung der in den Enzympräparaten enthaltenen Mikronährstoffe auf den Abbauprozess kann nicht ausgeschlossen werden.

Schlussfolgerungen

Im Rahmen der Gärversuche konnte durch die Enzymzugabe bei der Vergärung von Gärsubstraten bei einphasiger Fermentierung bei pH-Werten um 8 weder eine signifikante Ertragssteigerung noch eine deutliche Wirkung auf die Geschwindigkeit der Methanbildung nachgewiesen werden.

In früheren Untersuchungen der Universität Hohenheim konnten lediglich geringe Wirkungen von faserspaltenden Enzymzusätzen bei der Vergärung von fein gehäckseltem Mais [3] und Roggensilage [4] beim Einsatz im HBT-Verfahren nachgewiesen werden.

Vermutlich waren die prozessbiologischen Gegebenheiten der beprobten Biogasanlage für den Enzymeinsatz nicht geeignet. Die untersuchte Biogasanlage wurde aufgrund ihrer relativ hohen Raumbelastung und der kurzen Verweilzeit im Fermenter ausgewählt. Es könnte jedoch sein, dass noch weitere Voraussetzungen für einen erfolgreicherer Enzymeinsatz erfüllt sein müssen. Nach Literaturangaben sind manche Pilz-extrahierte Enzyme bei niedrigen pH-Werten wirksam [5]. Die Enzymwirkung kann auch durch hohe Ligningehalte negativ beeinflusst werden [6].

Literatur

- [1] Van Soest, P. J.; Robertson, J. B.; Lewis, B. A. (1991): Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, pp. 3583-3597
- [2] Helffrich, D.; Oechsner, H. (2003): Hohenheimer Biogasertragstest - Vergleich verschiedener Laborverfahren zur Vergärung von Biomasse. *Landtechnik* 58(3), S. 148-149 und *Agrartechnische Forschung* 9(1), S. 27-30
- [3] Brulé, M.; Oechsner, H.; Fischer, L.; Lemmer, A.; Jungbluth, T. (2007): Einfluss der enzymatischen Substrataufbereitung auf den Biogasertrag von Energiepflanzen. *Landtechnik* 62(6), S. 414-415
- [4] Brulé, M.; Lemmer, A.; Oechsner, H.; Jungbluth, T.; Schimpf, U. (2008): Einfluss der Zugabe von faserspaltenden Enzymen auf die Methanausbeute von Roggensilage. *Landtechnik* 63(3), S. 178-179
- [5] Adney, W. S.; Rivard, C. J.; Ming, S. A.; Himmel, M. E. (1991): Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass and wastes. Cellulases and related enzymes. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology* 30, pp. 165-183
- [6] Berlin, A.; Balakshin, M.; Gilkes, N.; Kadla, J.; Maximenko, V.; Kubo, S.; Saddler, J. (2006): Inhibition of cellulase, xylanase and β -glucosidase activities by softwood lignin preparations. *Journal of Biotechnology* 125, pp. 198-209

Autoren

Mathieu Brulé ist Doktorand an der Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie der Universität Hohenheim, Garbenstr. 9, 70599 Stuttgart und wissenschaftlicher Mitarbeiter am European Institute for Energy Research (EIFER), Emmy-Noether-Str. 11, 76131 Karlsruhe. E-mail: brule@eifer.org
Prof. Dr. Thomas Jungbluth betreut die Promotion von Mathieu Brulé am Institut für Agrartechnik der Universität Hohenheim.

Jochen Vogtherr ist Angestellter bei der Methavis GmbH, Schillerstr. 80, 68775 Ketsch.

Dr. Andreas Lemmer ist wissenschaftlicher Mitarbeiter und **Dr. Hans Oechsner** ist Leiter der Landesanstalt für Agrartechnik und Bioenergie.

Danksagung

Die Promotion von Mathieu Brulé wurde durch ein Stipendium des Graduiertenkolleges der Fakultät Agrarwissenschaften der Universität Hohenheim gefördert.