

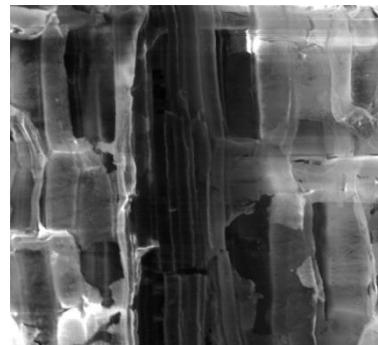


Abschlussbericht zum Forschungsprojekt

„**Bioenergie aus Koppelprodukten und Reststoffen aus der  
Landwirtschaft durch systematische Biomasseaufwertung**

**(BIO-EKO-LAB)“**

Juni 2017



**Forschungseinrichtung:** Fachhochschule Südwestfalen  
Fachbereich Agrarwirtschaft  
Lübecker Ring 2  
59494 Soest

Tel.-Nr.: 02921 / 378 3370  
Fax-Nr.: 02921 / 378 3200

boelhauve.marc@fh-swf.de

**Projektpartner:** Fachhochschule Südwestfalen  
Fachbereich Informatik und Naturwissenschaften (Iserlohn)  
Frauenstuhlweg 31  
58644 Iserlohn^

Tel.-Nr.: 02371 / 566-536  
Fax-Nr.: 02371 / 566-205

**Projektverantwortliche:** Prof. Dr. Marc Boelhauve (FH SWF, federführend)  
Prof. Dr. Harald Laser (FH SWF)  
Prof. Dr. Dieter Ihrig (FH SWF)  
Prof. Dr. Klaus Stadtlander (FH SWF)

**Laufzeit des Projektes:** 01.01.2013 – 30.04.2017

**Autoren:**

Roderich Garmeister (FH SWF)  
Marc Boelhauve (FH SWF)  
Harald Laser (FH SWF)

Gefördert durch:

**Ministerium für Innovation,  
Wissenschaft und Forschung  
des Landes Nordrhein-Westfalen**



## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	VI
Abbildungsverzeichnis.....	IX
1 Einleitung.....	1
2 Material und Methoden .....	3
2.1 Substrate .....	3
2.1.1 Winterweizenstroh und Saccharose .....	3
2.1.2 Winterweizenstroh, Algen und Saccharose .....	4
2.1.3 Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion... 4	
2.1.4 Wintergerstenstroh, Saccharose, <i>Lactobacter spp.</i> und Cellulase.....	6
2.1.5 Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte .....	8
2.2 Silierversuche .....	10
2.2.1 Siliergefäße.....	10
2.2.2 Silageverdichter.....	10
2.2.3 Sonstiges Material.....	10
2.2.4 Siliermethoden.....	11
2.2.5 Sinnenprüfung.....	13
2.3 Algenreaktor.....	16
2.4 Rohfaseranalytik.....	18
2.4.1 Reagenzien .....	18
2.4.2 Geräte.....	19
2.4.3 Sonstiges Material.....	19
2.4.4 Analysemethoden .....	20
2.5 Biogasertragstests.....	22
2.5.1 Geräte.....	22
2.5.2 Sonstiges Material.....	24

2.5.3	Methoden.....	24
3	Ergebnisse.....	29
3.1	Silagen .....	29
3.1.1	Winterweizen-, Gerstenstroh und Saccharose .....	29
3.1.2	Winterweizenstroh, Algen und Saccharose .....	30
3.1.3	Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion. ....	32
3.1.4	Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase.....	33
3.1.5	Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte .....	34
3.2	Rohfaseranalytik.....	35
3.2.1	Winterweizen-, Gerstenstroh und Saccharose .....	35
3.2.2	Winterweizenstroh, Algen und Saccharose .....	36
3.2.3	Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion. ....	38
3.2.4	Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase.....	40
3.2.5	Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte .....	42
3.2.6	Wintergerstenstroh.....	44
3.3	Biogasertragstests .....	44
3.3.1	Winterweizen-, Gerstenstroh und Saccharose .....	44
3.3.2	Winterweizenstroh, Algen und Saccharose .....	46
3.3.3	Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion. ....	47
3.3.4	Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase.....	50
3.3.5	Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte .....	56
4	Diskussion .....	58
4.1	Winterweizenstroh, Gerstenstroh und Saccharose .....	58
4.2	Winterweizenstroh, Algen und Saccharose .....	58
4.3	Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion.....	59
4.4	Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase.....	60

4.5	Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte .....	62
4.6	Voraufschluss von Stroh durch Saccharose und biologischer Additive .....	62
4.6.1	Abschätzung der Biomasseaufwertung.....	62
4.6.2	Abschätzung des Eigenertrages komplexer Kosubstrate .....	65
4.6.3	Vergleich der Biomasseaufwertung durch relative Ertragszuwächse.....	67
4.7	Voraufschluss von Stroh durch Silierung.....	71
4.7.1	Methanerträge von unbehandeltem, chemisch aufgeschlossenem und siliertem Stroh	71
4.7.2	Einfluss von Rohfaserfraktionen und pH-Wert auf den Gasertrag .....	72
4.7.3	Einfluss der Saccharosegabe zur Silierung auf die Rohfaserfraktionen .....	77
5	Zusammenfassung.....	80
6	Schlussfolgerungen.....	83
7	Ausblick.....	85
8	Verbesserung der Lehre .....	86
9	Literatur.....	88

**Abkürzungsverzeichnis**

Abs.	Absatz
ADF	Säure-Detergenzien-Faser
ADL	Säure-Detergenzien-Lignin
aqua demin.	Demineralisiertes Wasser
BiomasseV	Biomasseverordnung – Verordnung über die Erzeugung von Strom aus Biomasse, vom 21.6.2001, zuletzt geändert am 21.7.2014
BtL	biomass to liquid
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf
$\delta\%$	Delta (Prozent) = prozentuale Änderung eines Messparameters
DIN	Deutsches Institut für Normung
DLG	Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e.V.
EEG	Erneuerbare-Energien-Gesetz
EoS	enzymlösliche organische Substanz
ES	Essigsäure
EuOS	enzymunlösliche organische Substanz
FM	Frischmasse
FNR	Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.
FOS	flüchtige organische Säuren
FoTS	fermentierbare organische Trockensubstanz
FR	Futtermasse
FRB	Futtermassenblatt
fS	flüchtige Substanzen
fXF	Fractionen des Rohfaseranteils (Hemicellulose, Cellulose, Lignin)
GKT	Glaskolbentest

GPS	Ganzpflanzensilage
H.	Heft
Hrsg.	Herausgeber
jew.	jeweiliges, jeweiligen
Jg.	Jahrgang
KbE	Koloniebildende Einheiten.
LfL	Landesanstalt für Landwirtschaft
$m_{ges}$	Masse (gesamt) in g
$m_i$	Masse d. jew. Substrates (einschl. Wassergehalt) in g)
MS	Milchsäure
MW	Mittelwert
NawaRo	Nachwachsender Rohstoff
NDF	Neutral-Detergenzien-Faser
NFC	Nicht-Faser-Kohlenhydrate
NfE	Stickstofffreie Extraktstoffe
Nges	Gesamt-Stickstoff
org. Sr.	organische Säuren
oS	organische Substanz
oTS	organische Trockensubstanz
PMMA	Polymethyl-Methacrylat
stat.	statistisch
TAC	totaler anorganischer Kohlenstoff
TM	Trockenmasse
TS	Trockensubstanz
$ts_{ges}$	Trockensubstanzgehalt (gesamt) in g
$TS_i$	Trockensubstanzgehalt d. jew. Substrates in %

## VIII

$ts_i$	Trockensubstanzgehalt d. jew. Substrates in g
VDLUFA	Verband deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten
$w_{ges}$	Wassergehalt (gesamt) in g
w <sub>K</sub>	wasserlösliche Kohlenhydrate
$w_z$	zuzugebende Wassermasse in g
XA	Rohasche
$X_c$	Kristallinitätsgrad (Ausprägung in % der Molmassen)
XF	Rohfaser
XL	Rohfett
XP	Rohprotein
ZR	Zuckerrübe
ZRB	Zuckerrübenblatt
ZW	Zellwand

**Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1: Weender Analyse und erweiterte Rohfaseranalyse .....	1
Abb. 2: Silageverdichter zum Verfestigen von Laborsilagen.....	12
Abb. 3: Silagen in Sturzgläsern (0,75 l), im künstlich erzeugten anaeroben Milieu.....	12
Abb. 4: Lineare Abbildung der DLG-Sinnenprüfung .....	14
Abb. 5: Lineare Abbildung der Intervalle der DLG-Wringprobe zum Feuchtegehalt. ....	16
Abb. 6: Algenreaktor .....	17
Abb. 7: Biogasmessung im Glaskolbentest (GKT).....	23
Abb. 8: Sensorbiogasanlage „Yield-Master“ .....	24
Abb. 9: Messausfall .....	28
Abb. 10: Mischsilagen (Gerstenstroh/Saccharose) .....	29
Abb. 11: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Weizenstroh/Saccharose) .....	30
Abb. 12: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Weizenstroh/ <i>Chlorella vulgaris</i> ) .....	31
Abb. 13: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Weizenstroh/ <i>Spirulina</i> spp.).....	31
Abb. 14: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion) .....	32
Abb. 15: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Wintergerstenstroh, Saccharose, <i>Lactobacter</i> spp. und Cellulase) .....	33
Abb. 16: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte) .....	34
Abb. 17: Rohfaseranalytik bei Mischsilage Winterweizenstroh und Saccharose .....	36
Abb. 18: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Winterweizenstroh und Algen.....	38
Abb. 19: Rohfaseranalytik bei Mischsilage aus überständigem Grünlandaufwuchs und Pilzstroh .	40
Abb. 20: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Wintergerstenstroh, Saccharose, <i>Lactobacter</i> spp. und Cellulase .....	42
Abb. 21: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchten .....	43
Abb. 22: Methanerträge im Versuch Winterweizenstroh und Saccharose .....	45

Abb. 23: Darstellung der Nacherwärmung und Verlustermittlung durch Wärmebild (EBA Triesdorf) .....	45
Abb. 24: Methankonzentrationen im Versuch Winterweizenstroh, Algen und Saccharose .....	46
Abb. 25: Methanerträge im Versuch Winterweizenstroh, Algen und Saccharose .....	47
Abb. 26: Gesamtgaserträge im Versuch Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion im GKT .....	48
Abb. 27: Entwicklung der Methankonzentrationen im Versuch Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion nach 240 Stunden .....	49
Abb. 28: Methanerträge ausgewählter Silagen im Versuch Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion nach 240 Stunden .....	50
Abb. 29: Gesamtgaserträge im Versuch Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase .....	52
Abb. 30: Gaserträge der Cellulase-Varianten.....	53
Abb. 31: Gaserträge der Lactobacter- und Cellulase-Varianten .....	53
Abb. 32: Verlaufskurven der Gesamt-Gaserträge in den Saccharose-Varianten mit steigender Cellulase-Gabe (von A nach D mit 0; 0,2; 0,4 und 2 g <sub>Cellulase</sub> /kg <sub>FM</sub> ) .....	54
Abb. 33: Verlaufskurven der Methanerträge.....	55
Abb. 34: Gesamtgaserträge im Versuch Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte.....	56
Abb. 35: Übersicht über alle Varianten in Abhängigkeit der Silierzusätze.....	61
Abb. 36: Vereinfachte Darstellung der Methanogenese aus Saccharose über die Milchsäurevergärung .....	63
Abb. 37: Kumulierter Gesamtertrag nach 5g Saccharosegabe in den Fermentern 1-8 nach 235 h	64
Abb. 38: Kumulierter Gesamtertrag nach 5g Saccharosegabe in den Fermentern 1-8 zw. 100 und 235 h.....	65
Abb. 39: Wege der Methanogenese (schematisch).....	67
Abb. 40: Rechnerische durchschnittlicher Biogasertrag von Gerstenstroh und Heu in Saccharosevarianten .....	68
Abb. 41: Vergleich der Rohfaseranteile der Silage-Varianten über alle Versuche mit und ohne Saccharose.....	77
Abb. 42: REM-Aufnahmen unsilierten (links) und silierten Gerstenstrohs (rechts) .....	79

**Tabellenverzeichnis**

Tab. 1 : Ertragsanteile der Grünlandpflanzen, 2. Schnitt, August 2013 ..... 5

Tab. 2: Bildung der Varianten..... 6

Tab. 3: Bildung der Varianten..... 7

Tab. 4: Blockbildung der Versuchskombinationen Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase ..... 7

Tab. 5: Blockbildung der Versuchskombinationen Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte..... 9

Tab. 6: Vorläufige Adaption an die Biogaserzeugung des DLG-Bewertungsschlüssels für Grassilagen ..... 15

Tab. 7: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen (Gersten-/Weizenstroh/Saccharose) ..... 35

Tab. 8: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Winterweizenstroh und Algen ..... 37

Tab. 9: Rohfaseranalytik bei Mischsilage aus überständigem Grünlandaufwuchs und Pilzstroh.... 39

Tab. 10: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase ..... 41

Tab. 11: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchten..... 43

Tab. 12: Rohfaseranalytik bei Wintergerstenstroh vor der Silierung..... 44

Tab. 13: Gesamtgaserträge im Versuch Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion im GKT und Sensorbiogasanlage ..... 48

Tab. 14: Durchschnittliche Gesamtgaserträge im Versuch Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase ..... 51

Tab. 15: Gesamtgaserträge im Versuch Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte ..... 56

Tab. 16: Vergleich der Rohfaserfraktionen von Pilzstroh und einer WW-Silage ..... 59

Tab. 17: Rechnerische durchschnittliche Aufwertung von Gerstenstroh in Saccharosevarianten. 69

Tab. 18: Rechnerische durchschnittliche Aufwertung von Gerstenstroh in Saccharosevarianten.. 69

Tab. 19: Errechnete Biogaserträge mehrerer Substrate (LFL Bayern, 2017) ..... 71

Tab. 20: Mit den Angaben aus Tab. 20 errechnete Methanerträge mehrerer Strohsorten..... 72

Tab. 21: Korrelationskoeffizienten  $R^2$  beim Vergleich der Werte aus der Rohfaseranalytik mit den Gesamtgaserträgen..... 73

Tab. 22: Nach Gruppen sortierte Faktorstufen .....	74
Tab. 23: Korrelationskoeffizienten $R^2$ beim Vergleich der Rohfaserwerte mit den Gesamtgaserträgen .....	74
Tab. 24: Nach Gruppen sortierte Faktorstufen im Versuch Zwischenfrüchte .....	76
Tab. 25: Korrelationskoeffizienten $R^2$ beim Vergleich der Rohfaserwerte mit den Gesamtgaserträgen im Versuch Zwischenfrüchte .....	76
Tab. 26: Anteile der Rohfaserfraktionen der Silagen ohne und mit Saccharose in Masse-% .....	77

# 1 Einleitung

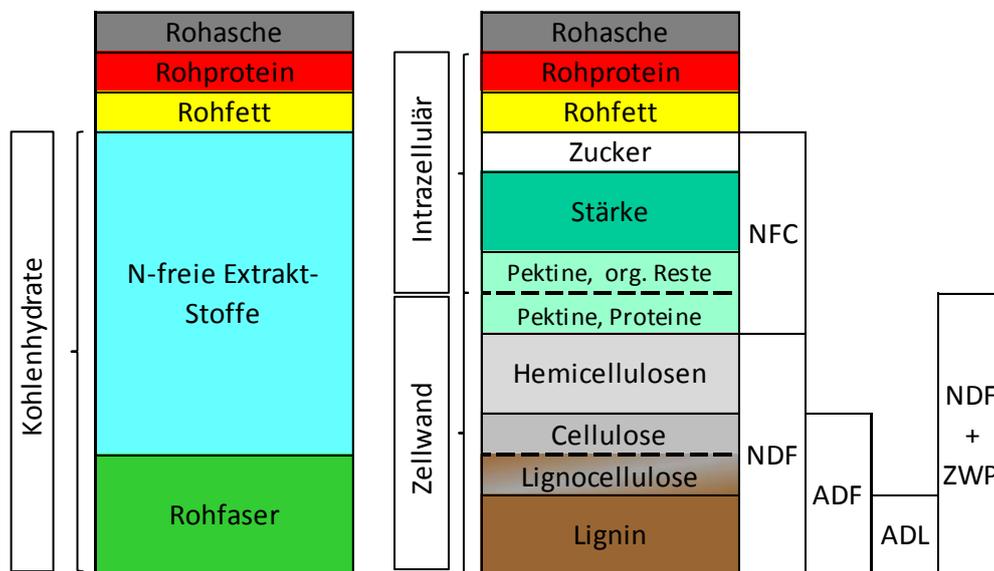
Der verstärkte Einsatz von regenerativen Energiequellen wurde bereits vor dem Beschluss zum sogenannten „Atomausstieg“ ernst diskutiert. Jedoch sind mit dem endgültigen Beschluss im Jahr 2011 wirksame und nachhaltige Technologien und Übergangstechnologien tatsächlich zur wirtschaftlichen Notwendigkeit geworden.

Im Jahr 2013 betrug der Anteil erneuerbarer Energieträger am Endenergieverbrauch 12,4%. Dieser Anteil soll zunächst bis 2020 auf 18% gesteigert werden. Eine weitere Anhebung auf 60% bis 2050 ist beabsichtigt. Der Anteil an biogenen Brennstoffen und Gasen an erneuerbaren Energien betrug 2013 52,2% (Umweltbundesamt 2014). Biogas wird langfristig ein wichtiger Energieträger bleiben.

Der Einsatz essbarer Pflanzenteile zur Energieproduktion jedoch erfährt eine seit Jahren geführte kontroverse Diskussion, wobei die Konkurrenz der Energie- zur Lebensmittelproduktion als Kritikpunkt angeführt wird.

Die Verwendung von nicht essbaren Pflanzen (-teilen) als Gärsubstrat bei der Biogasproduktion kann hierbei helfen, sofern es gelingt, Biogasanlagen mit diesen Substraten wirtschaftlich zu betreiben. Dass z.B. Stroh an sich ein hohes energetisches Potential aufweist, ist in mehreren Studien belegt worden, jedoch ist ein dezentraler Ansatz aufgrund der geringen Transportwürdigkeit diskussionswürdig (Zeller et al. 2011, DBFZ 2009).

Der Einsatz von Stroh als Gärsubstrat für die Biogaserzeugung ist vor diesem Hintergrund sehr attraktiv, sofern es gelingt, das Vergärungspotential von Stroh durch geeignete Verfahren auszusöpfen [Abb. 1].



**Abb. 1: Weender Analyse und erweiterte Rohfaseranalyse**

**Schematische Darstellung** nach Kirchgäßner et al., 2011 (modifiziert)

(Anm: Aufgrund ihrer geringen Anteile werden die Proteinreste rechnerisch in der N-freien Fraktion belasten)

Von besonderem Interesse ist hierbei, wieweit es gelingt, das Potential von Hemicellulosen und Cellulose auszuschöpfen sowie den Celluloseanteil der Lignocellulose verfügbar zu machen. Letztere ist nicht oder nur schwer bakteriell abbaubar.

Ein Ansatz ist daher die Kosilierung lignocellulosereicher Substrate einerseits und energiereicher, aber wenig haltbarer Substrate andererseits.

## 2 Material und Methoden

Die Silierung ist ein Ansatz, zwei Probleme bei der Bereitstellung von Biogassubstrat zu lösen. Zum einen tritt bei der Silierung von energiereichen, aber TS-armen Substraten, wie Zuckerrübenblatt oder landwirtschaftlichen Zwischenfrüchten, ein Verlust in Form von Sickersaft auf. Dieser Sickersaft enthält mit verschiedenen wasserlöslichen organischen Verbindungen chemische Energieträger, die für die Biogasgewinnung verloren gehen. Zum anderen gilt für Stroh, dass ein großer Teil der Energieträger in den verholzten Pflanzen oder Pflanzenteilen in Form der Gerüstsubstanzen Cellulose, Hemicellulose und Lignin als Biopolymere in komplexartigen Strukturen (Lignocellulose) vorliegt.

Je nach dem Grad der Lignifizierung und offenbar auch in Abhängigkeit von der Komplexität der Hemicellulosen sind die Gerüstsubstanzen im Biogasreaktor stark eingeschränkt hydrolysierbar (Lynd et al. 2003) und somit nur eingeschränkt zur Biogasproduktion nutzbar. Zudem neigt das Stroh zur Bildung von Schwimmschichten im Fermenter, was zu einer längeren und somit unwirtschaftlichen Verweildauer führt.

Werden jedoch Mischsilagen aus Stroh und einem oder mehreren TS-armen Substraten erstellt, so könnte gleichzeitig ein Voraufschluss der Lignocellulose und eine Haltbarmachung der Kosubstrate bei Minimierung des Sickersaftverlustes erzielt werden. Zugleich könnte durch Quellung der Auftrieb der Strohbestandteile herabgesetzt werden.

### 2.1 Substrate

Hauptsubstrat für die Silagen war Winterweizenstroh. Das Stroh wurde auf eine Halmlänge von ca. 2 cm geschnitten.

Weiterhin wurde Gerstenstroh und in einem Versuch wurde überständiger Grünlandaufwuchs in Form von Heu verwendet.

Als Kosubstrate diente in den ersten Versuchen Saccharose zur Simulation von Zuckerrübenschnitzeln, Algen-TS aus zwei Mikroalgenkulturen, Gerstenstroh aus der Speisepilzproduktion, diverse Silerzusätze sowie Mischungen aus Zwischenfrüchten.

#### 2.1.1 Winterweizenstroh und Saccharose

Bevor eigene Silagen fertig siliert waren, wurde auf Material aus einem anderen Versuch zurückgegriffen. Zur Simulation von Zuckerrübenschnitzeln wurde Saccharose verwendet. Insgesamt umfasste der Versuch Winterweizen- und Wintergerstenstroh in folgenden Varianten mit vierfacher Wiederholung, die der Rohfasernalytik unterzogen wurden.

- Gerstenstroh
- Gerstenstroh 68,5 g Sacch./kg FM
- Gerstenstroh 137 g Sacch./kg FM
- Gerstenstroh 274 g Sacch./kg FM
  
- Weizenstroh
- Weizenstroh 68,5 g Sacch. /kg FM
- Weizenstroh 137 g Sacch. /kg FM
- Weizenstroh 274 g Sacch. /kg FM

Für den Biogasertragstest wurden die Strohsilagen aus Winterweizenstroh mit folgender Zusammensetzung verwendet:

- ohne Saccharosezusatz vor Silierung (0-Variante)
- 137 g Saccharose / kg FM vor der Silierung
- 274 g Saccharose / kg FM vor der Silierung

### 2.1.2 Winterweizenstroh, Algen und Saccharose

Strohsilage aus Winterweizenstroh mit TS-Präparaten der Algen *Chlorella vulgaris*, einem Gemisch aus *Spirulina* spp. und Saccharose in folgenden Zusammensetzungen:

- Weizenstroh ohne Zusatz (0- Variante)
- Weizenstroh mit *Chlorella vulgaris* 5 %<sub>TS</sub>
- Weizenstroh mit *Chlorella vulgaris* 10 %<sub>TS</sub>
- Weizenstroh mit *Chlorella vulgaris* 20 %<sub>TS</sub>
- Weizenstroh mit *Chlorella vulgaris* 10 %<sub>TS</sub> + Saccharose 10%<sub>TS</sub>
- Weizenstroh mit *Spirulina* spp. 5 %<sub>TS</sub>
- Weizenstroh mit *Spirulina* spp. 10 %<sub>TS</sub>
- Weizenstroh mit *Spirulina* spp. 20 %<sub>TS</sub>
- Weizenstroh mit *Spirulina* spp. 10 %<sub>TS</sub> + Saccharose 10%<sub>TS</sub>

Der Saccharosezusatz simulierte den Einsatz von Zuckerrüben, deren Wirkung bereits in vorangegangenen Versuchen geprüft worden war. Es wurden bei konstant 35% Trockensubstanz in der Silage mit jeder Algenart verschiedene Varianten mit aufsteigendem Anteil an Algen-TS erstellt; und zwar mit 5%, 10%, 20% sowie eine Variante mit 10% Algen- sowie 10% Saccharoseanteil.

### 2.1.3 Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion

Der durch hydrolytische Pilze vermutete Voraufschluss von Lignocellulose im Stroh wurde anhand von Sommerweizenstroh untersucht, welches zuvor als Substrat für die Speisepilzproduktion eingesetzt worden war. Es sollte geprüft werden, ob dieses Koppelprodukt als Alternative zu sehr kostenintensiven Enzympräparaten grundsätzlich geeignet ist, einen ausreichenden Voraufschluss zu erzielen. Hauptsubstrat für die Silierung war Heu aus überständigem Grünlandaufwuchs. Dieses stammte aus einem Grünlandversuch der FH Südwestfalen [Tab. 1].

**Tab. 1 : Ertragsanteile der Grünlandpflanzen, 2. Schnitt, August 2013**  
 (Abweichungen nach oben sind Rundungsfehler)

Gräser		Kräuter	
Art	Anteil (%)	Art	Anteil (%)
Deutsches Weidelgras	22,5	Weißklee	9,5
Wiesengeschnitzgras	3,5	Löwenzahn	33,5
Wiesenschwingel	1,5	Vogelmiere	2
Wieserispe	17,5	Spitzwegerich	1,6
Knaulgras	3	Gänseblümchen	2,1
Wiesenfuchsschwanz	1	Frauenmantel	0,2
Gemeine Rispe	2,5	Rauchfarn	0,2
Quecke	0,2	Viola spp.	0,2
Weißes Straußgras	0,2		
Rotes Straußgras	0,2		

Die Varianten waren:

1. Pilzstroh ohne Zusätze
2. Pilzstroh mit 10% Zucker
3. Heu ohne Zusätze
4. Heu mit 10% Zucker
5. Vormischung 75% Heu : 25% Pilzstroh; ohne Zusätze
6. Vormischung 75% Heu : 25% Pilzstroh; Vormischung/Zucker im Verhältnis 9/1
7. Vormischung 90% Heu : 10% Pilzstroh; ohne Zucker
8. Vormischung 90% Heu : 10% Pilzstroh; Vormischung/Zucker im Verhältnis 9/1

Es wurde mit jeweils drei Wiederholungen gearbeitet [Tab. 2].

Tab. 2: Bildung der Varianten

Wdh.	Variante	Bez.
1.1	Pilzstroh ohne Zusätze	P 0/100
1.2		
1.3		
2.1	Pilzstroh mit 10% Zucker	P 0/100 Z
2.2		
2.3		
3.1	Heu ohne Zusätze	H 100/0
3.2		
3.3		
4.1	Heu mit 10% Zucker	H 100/0 Z
4.2		
4.3		
5.1	Vormischung 75% Heu : 25% Pilzstroh; ohne Zusätze	H+P 75/25
5.2		
5.3		
6.1	Vormischung 75% Heu : 25% Pilzstroh; Vorschmi- schung/Zucker im Verhältnis 9/1	H+P 75/25 Z
6.2		
6.3		
7.1	Vormischung 90% Heu : 10% Pilzstroh; ohne Zucker	H+P 90/10
7.2		
7.3		
8.1	Vormischung 90% Heu : 10% Pilzstroh; Vorschmi- schung/Zucker im Verhältnis 9/1	H+P 90/10 Z
8.2		
8.3		

#### 2.1.4 Wintergerstenstroh, Saccharose, *Lactobacter spp.* und Cellulase

Weiterhin ist der Zusatz von Silierhilfen getestet worden. Diese waren *Lactobacter*-Kulturen und Cellulase aus *Aspergillus spp.* Bislang lagen, anders als bei Substraten wie Grünlandaufwüchsen oder Silomais, keine Erkenntnisse zum epiphytischen Besatz mit Milchsäurebakterien auf Stroh vor. Ziel dieser Silierversuche war die Analyse, ob ausreichend hohe epiphytische *Lactobacter*-Keimzahlen für die erfolgreiche Silierung vorliegen oder ein Zusatz von Bakterienpräparaten notwendig ist. Die Cellulase wurde zugesetzt, um die Wirkung der Gärsäuren auf den Voraufschluss der Gerüstsubstanzen zu fördern.

- Strohsilage aus Wintergerstenstroh (Versuchsgut Merklingsen der FH Südwestfalen, Ernte 2014)
- Versuchssilierzusatz „Browser KP“, Fa. Ahrhoff (*Lactobacter*-Kulturen  $2,5 \cdot 10^5$  KBE, verschiedene Enzyme; keine Angaben zur genauen Zusammensetzung)

- Cellulase aus *Aspergillus* spp., Fa. Sigma Aldrich
- Saccharose

Der höhere Komplexitätsgrad gegenüber den vorangegangenen Versuchen machte eine Blockbildung der Varianten notwendig [Tab. 3 u. 4.].

**Tab. 3: Bildung der Varianten**

Faktorstufen	Inhalte (g Substrat / kg FM)
<b>1</b>	<b>Cellulase</b>
A	Nullvariante
B	0,2      empfohlene Menge
C	0,4      Faktor 2
D	2      Faktor 10
<b>2</b>	<b>Saccharose</b>
1	Nullvariante
2	180
<b>3</b>	<b>Silierungsmittel</b>
f	Nullvariante
g	0,0015      empfohlene Menge
<b>4</b>	<b>Wiederholungen</b>
X	1. Wiederholung
Y	2. Wiederholung
Z	3. Wiederholung

**Tab. 4: Blockbildung der Versuchskombinationen Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase**

	Varianten			
1. Wdh. (X)	A1fX	B1fX	C1fX	D1fX
	A2fX	B2fX	C2fX	D2fX
	A1gX	B1gX	C1gX	D1gX
	A2gX	B2gX	C2gX	D2gX
2. Wdh. (Y)	A1fY	B1fY	C1fY	D1fY
	A2fY	B2fY	C2fY	D2fY
	A1gY	B1gY	C1gY	D1gY
	A2gY	B2gY	C2gY	D2gY
3. Wdh. (Z)	A1fZ	B1fZ	C1fZ	D1fZ
	A2fZ	B2fZ	C2fZ	D2fZ
	A1gZ	B1gZ	C1gZ	D1gZ
	A2gZ	B2gZ	C2gZ	D2gZ

### 2.1.5 Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte

Ein weiterer Ansatz war die Erprobung einer Reihe von Silagen aus verschiedenen Zwischenfrüchten. Zwischenfrüchte aus der Pflanzenproduktion stehen vermehrt als Koppelproduktbiomasse bereit. Deren problematische Siliereigenschaften (z.B. niedrige TS-Gehalte und potentiell stark puffernde pH-Wirkung im Silo) sollten durch verschiedene Mischungsrezepturen positiv beeinflusst werden.

Bei den Mischsilagen aus Zwischenfrüchten mit und ohne Stroh wurden jeweils Reinsilagen und Stroh-Mischsilagen aus Bitterlupine, Weißsenf, Phacelia, MaisPro (eine Zwischenfruchtmischung der Deutschen Saatveredelung für maisbetonte Fruchtfolgen) sowie einer Eigenmischung aus Ackerbohne, Sommerwicke und Hafer erstellt.

Mischung MaisPro:

- - Felderbse: 32 Masse-%
- - Winterroggen: 30 Masse-%
- - Sorghum: 10 Masse-%
- - Pannonische Wicke: 7 Masse-%
- - Phacelia: 5 Masse-%
- - Inkarnatklee: 4 Masse-%
- - Öllein: 4 Masse-%
- - Perserklee: 2 Masse-%
- - Schwedenklee: 2 Masse-%
- - Leindotter: 1 Masse-%
- - Rammtilkraut: 1 Masse-%
- - Rettich: 1 Masse-%
- - Sonnenblume: 1 Masse-%

Eigenmischung:

- Ackerbohne: 33,3 Masse-%
- Sommerwicke: 33,3 Masse-%
- Hafer: 33,3 Masse-%

Tab. 5: Blockbildung der Versuchskombinationen Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte

Nr.	Varianten
101	Bitterlupine ohne Stroh 1
102	Bitterlupine ohne Stroh 2
111	Bitterlupine mit Stroh 1
112	Bitterlupine mit Stroh 2
201	Weißsenf ohne Stroh 1
202	Weißsenf ohne Stroh 2
211	Weißsenf mit Stroh 1
212	Weißsenf mit Stroh 2
301	Phacelia ohne Stroh 1
302	Phacelia ohne Stroh 2
311	Phacelia mit Stroh 1
312	Phacelia mit Stroh 2
401	Eigenmischung ohne Stroh 1
402	Eigenmischung ohne Stroh 2
411	Eigenmischung mit Stroh 1
412	Eigenmischung mit Stroh 2
501	MaisPro ohne Stroh 1
502	MaisPro ohne Stroh 2
511	MaisPro mit Stroh 1
512	MaisPro mit Stroh 2

## 2.2 Siliversuche

### 2.2.1 Siliergefäße

- WECK-Sturzgläser ¾ Liter
- WECK-Glasdeckel 100 mm
- Einkochringe 100 mm
- Einkochklammern
- Kunststoffwanne, 50 l
- Aquarium 250 Liter
- Aluminiumfolie
- Anaerocultbeutel und Anaerobierteststreifen Fa. Merck
- Exsikkatorfett

### 2.2.2 Silageverdichter

- Verdichter mit Hebel (Eigenkonstruktion der FH Südwestfalen) **[Abb. 2]**

### 2.2.3 Sonstiges Material

- Kunststoffwanne, 50 l
- Fleischkutter DMK 30 30L, Fa. DMS
- Aquarium 250 Liter
- Aluminiumfolie
- Anaerocultbeutel und Anaerobierteststreifen Fa. Merck
- Exsikkatorfett
- Einstich-pH-Meter mit Temperatursonde PCE 228, Fa. PCE
- Bechergläser
- pH-Meter Seven Excellence, Fa. Mettler Toledo
- Sputter Coater Modell S 150 B, Fa. Edwards
- Rasterelektronenmikroskop für SEM, Modell VEGA SBH, Fa. Tescan

## 2.2.4 Siliermethoden

Unabhängig von der Anzahl der Kosubstrate wurde der TS-Gehalt stets auf ca. 35% eingestellt. Dies wurde erzielt durch

- eine vorherige TS-Bestimmung der einzelnen Substrate nach LUFA (VDLUFA 2007 a)
- Berechnung der Substratmengen. Hierbei war zu unterscheiden in:
  - a) Vorab festgelegte Mengenanteile. Die Berechnung der Masse des zuzusetzenden Wassers ( $w_z$ ) ergab sich aus

$$w_z = 1,857 * ts_{ges} - \sum_{i=1}^n (m_i - ts_i) \quad [1]$$

- b) Mischungen von Stroh mit frischem Pflanzenmaterial; die jeweiligen Anteile ergaben sich zwingend aus den gemessenen TS-Gehalten. Die Berechnung ergab sich aus

$$w_{ges} = \sum_{i=1}^n m_i (1 - TS_i) \quad [2]$$

Und somit als Beispiel für Mischsilage aus Stroh mit zwei Kosubstraten;

$$TS_{gesamt} = 35\%$$

$$w_{ges} = 0,65m_{ges} = m_1(1 - TS_1) + m_2(1 - TS_2) + m_3(1 - TS_3) \quad [3]$$

$m_{ges}$  = Masse (gesamt) in g

$m_i$  = Masse d. jew. Substrates (einschl. Wassergehalt) in g

$ts_{ges}$  = Trockensubstanzgehalt (gesamt) in g

$TS_i$  = Trockensubstanzgehalt d. jew. Substrates in %

$ts_i$  = Trockensubstanzgehalt d. jew. Substrates in g

$W_{ges}$  = Wassergehalt (gesamt) in %

$w_{ges}$  = Wassergehalt (gesamt) in g

$w_z$  = zuzugebende Wassermasse in g

Die Silagen wurden in einer zuvor gründlich ausgewaschenen Kunststoffwanne gemischt und anschließend schichtweise mit dem Silageverdichter in den Sturzgläsern verfestigt. Bei Zugabe von feinpulverigen Bestandteilen wie Algen-TS, Saccharose in Puderform, verschiedene Silierhilfen, wurden diese zuvor in der entsprechenden Wassermenge gelöst, um eine ausreichende Homogenität zu gewährleisten.



**Abb. 2: Silageverdichter zum Verfestigen von Laborsilagen**

Die Gläser wurden sodann mit Weckgummis abgedichtet und mit den Deckeln und jeweils vier Klemmen verschlossen. Um in jedem Falle ein anaerobes Milieu zu erhalten, wurden die Gläser in ein 250 Liter umfassendes Aquarium gestellt. In diesem wurde der Luftsauerstoff vermittleis dreier angefeuchteter Anaerocult-Beutel gebunden. Der Erfolg dieser Maßnahme wurde durch einen Anaerobier-Teststreifen kontrolliert. Die Abdichtung erfolgte durch glattes Auflegen und Anpressen einer Aluminiumfolie auf den eingefetteten Rand des Aquariums **[Abb. 3]**.

Die Silagen wurden für mindestens 42 Tage bei ca. 21°C aufbewahrt.



**Abb. 3: Silagen in Sturzgläsern (0,75 l), im künstlich erzeugten anaeroben Milieu**

## 2.2.5 Sinnenprüfung

Bei der Öffnung wurde nach den DLG-Empfehlungen zur Grobfutterbewertungsverfahren (Deutsche Landwirtschaftliche Gesellschaft e.V., 2004). Dabei wurde die Methode schrittweise an die Bedürfnisse der Bewertung von Biogassubstraten angepasst. Insbesondere die Parameter Verbräunung und Vergilbung mussten abhängig von der Eigenfarbe der Kosubstrate betrachtet werden.

Die Grobfutterbewertung gibt Hinweise auf den Konservierungserfolg im Hinblick auf die Tierfütterung. Demensprechend erfolgen nach einem empirisch ermittelten Schlüssel Punktabzüge bei der Silagebeurteilung. Zum Teil ist dieser Schlüssel auch für die Silagebeurteilung für die Methanproduktion sinnvoll. Jedoch sind einzelne Parameter nicht gleich zu bewerten, andere hingegen doch (LFL, 2010):

- Buttersäure wirkt inhibierend auf die Acetogenese und sollte nicht wahrnehmbar sein (entspricht DLG-Schlüssel).
- Essigsäure ist eine direkte Vorstufe der Methanogenese. Der erwünschte Säuregehalt ist 1500 mg/l. Zu hohe Konzentrationen können eine Hemmung der Methanogenese entweder hervorrufen (zu niedriger pH-Wert der Silage) oder anzeigen (Überfütterung, Spurenelementmangel im Schlamm). Essigsäure ist nicht grundsätzlich negativ zu bewerten.
- Erwärmung ist ein Zeichen für aerobe Fehlgärung (Rotte) und bedeutet Energieverlust (entspricht DLG-Schlüssel).
- Hefen erzeugen Alkohole, sie treten in der hydrolytischen Phase der Biogasentstehung auf. Alkohole sind eine direkte Vorstufe der Acetogenese und daher erwünscht, solange ihre Konzentration nicht biozid auf die beteiligten Bakterien wirkt.
- Schimmel ist ein Anzeichen für aeroben Stoffwechsel und bedeutet Energieverlust (entspricht DLG-Schlüssel).
- Bräunung und Vergilbung können durch die unterschiedlichen, z.T. stark färbenden Kosubstrate (Algen, Rübenblatt, dunkel gefärbtes Stroh aus der Pilzproduktion) nicht als relevante Parameter herangezogen werden.
- angegriffenes Gefüge kann ein Hinweis auf Voraufschluss von Stroh sein und ist in diesem Versuch erwünscht, solange keine (aerobe) Rotte oder Fehlgärung eingetreten ist. Leicht angegriffene Schnittstellen sind daher nicht negativ zu bewerten.
- der TM-Gehalt kann bei der Erstellung der Silagen im Labormaßstab zuverlässig mit Abweichungen von ca. 3% eingestellt werden. Dieser Parameter diene daher lediglich als zusätzliche Überprüfung der handwerklichen Genauigkeit.

Die Vergleichbarkeit wird dadurch erschwert, dass die Parameter gemäß den Anforderungen an eine Futtersilage nichtlinear gewichtet sind **[Abb. 4]**. Die nicht direkte Vergleichbarkeit führte zu dazu, dass anhand des DLG-Schlüssels zwar der Siliererfolg an sich überprüft werden konnte, jedoch noch ein Bezug zur Biogaserzeugung gefunden werden sollte **[Tab. 6]**. Hierzu sind weitere Daten von empirischer Relevanz nötig.

Zusätzlich dazu wurden repräsentativ an mindestens drei Stellen in der geöffneten, aber noch nicht entleerten Silage pH-Messungen mit dem Einstich-pH-Meter vorgenommen. Die pH-Werte wurden gemittelt, indem die Einzelwerte in  $[H_3O^+]$  umgerechnet und gemittelt wurden. Die daraus resultierenden Durchschnittskonzentrationen wurden wieder in den pH-Wert umgerechnet. Zur Vereinfachung wurde hierfür ein Makroprogramm auf Excel erstellt.

Von den Silagen wurden nach der DLG-Gobfutterbewertung Teile für weitere Untersuchungen entnommen. Diese waren:

- FoTS
- Asche (VDLUFA, 2007 a)
- pH-Messung nach (VDLUFA, 2007 c)
- Rohfaseranalytik (**Kap. 2.3 u. 3.2**)
- Biogas-Ertragstests (**Kap. 2.4 u. 3.3**)

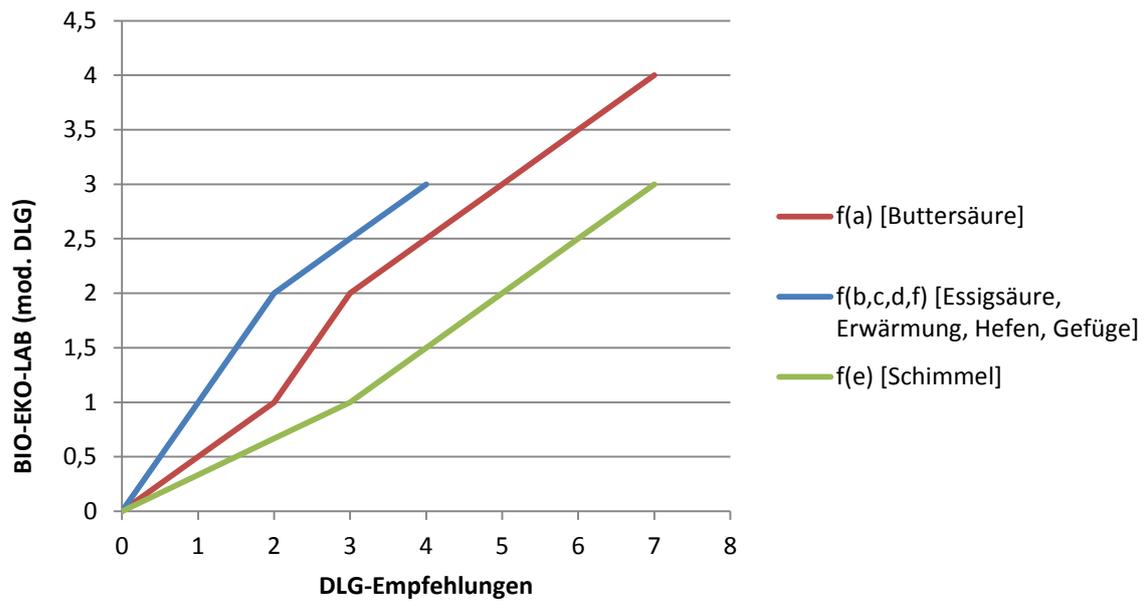
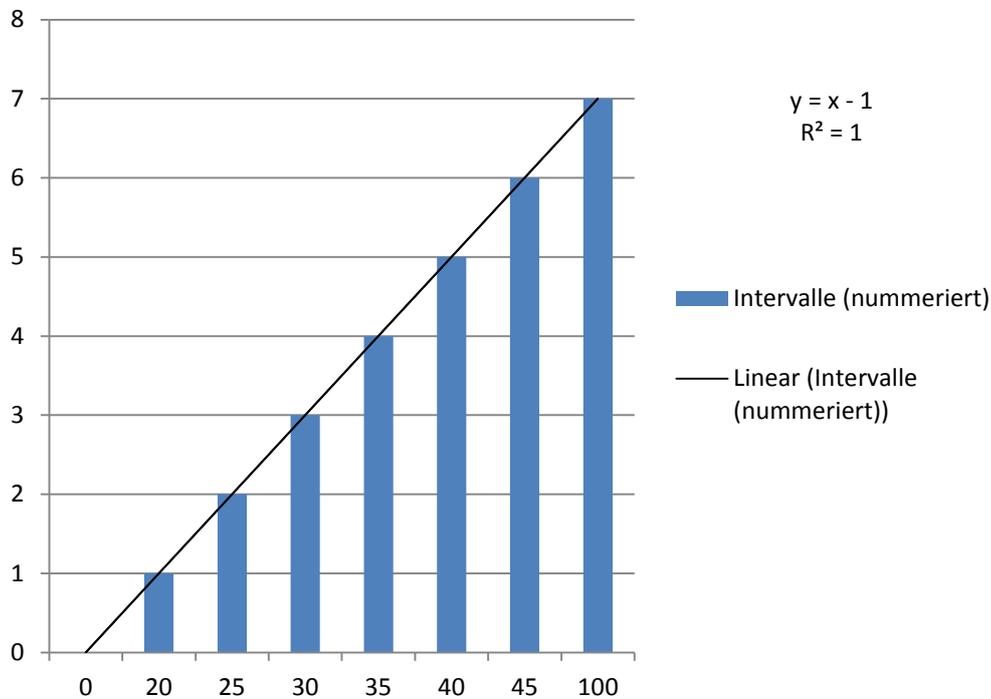


Abb. 4: Lineare Abbildung der DLG-Sinnenprüfung

Tab. 6: Vorläufige Adaption an die Biogaserzeugung des DLG-Bewertungsschlüssels für Grassilagen

Bewertungsschlüssel für Grassilagen, adaptiert für vergleichende Betrachtung		
	Punkte nach BIO-EKO-LAB	Punkt-abzug nach DLG
<b>a) Buttersäure (Geruch nach Schweiß, ranziger Butter)</b>		
nicht wahrnehmbar	0	0
schwach, erst nach Fingerprobe (Reiben) wahrnehmbar	1	2
auch ohne Fingerprobe schwach wahrnehmbar	2	3
aus ca. 1 m Entfernung deutlich wahrnehmbar	3	5
schon aus einiger Entfernung stark wahrnehmbar, fäkalartig	4	7
<b>b) Essigsäure (stechender, beißender Geruch, Geruch nach Essig)</b>		
	<b>EKO-LAB</b>	<b>DLG</b>
nicht wahrnehmbar	0	0
schwach wahrnehmbar	1	1
deutlich wahrnehmbar	2	2
stark wahrnehmbar, unangenehm stechend	3	4
<b>c) Erwärmung, Röstgeruch</b>		
	<b>EKO-LAB</b>	<b>DLG</b>
nicht wahrnehmbar	0	0
schwacher Röstgeruch, angenehm	1	1
deutlicher Röstgärung, leicht rauchig	2	2
starker Röstgeruch, brandig, unangenehm	3	4
<b>d) Hefen (mostartiger, gärriger Geruch)</b>		
	<b>EKO-LAB</b>	<b>DLG</b>
nicht wahrnehmbar	0	0
schwach wahrnehmbar	1	1
deutlich wahrnehmbar	2	2
stark wahrnehmbar, gärrig	3	4
<b>e) Schimmel (muffiger Geruch)</b>		
	<b>EKO-LAB</b>	<b>DLG</b>
nicht wahrnehmbar	0	0
schwach wahrnehmbar	1	3
deutlich wahrnehmbar	2	5
stark wahrnehmbar	3	7
<b>f) Gefüge</b>		
	<b>EKO-LAB</b>	<b>DLG</b>
Prüfung auf mikrobielle Zersetzung der Pflanzenteile und Schimmel		
Pflanzenteile nicht angegriffen	0	0
Pflanzenteile nur an Schnittstellen leicht angegriffen	1	1
Blätter deutlich angegriffen, schmierig	2	2
Blätter und Halme stark angegriffen, verrottet, mistartig	3	4
<b>g) Bestimmung des TM-Gehaltes mittels der Wringprobe</b>		
	<b>% TM</b>	<b>% TM</b>
Bei feuchter Silage einen Ball formen und pressen. Ab 30% TM aus der Silage einen Strang formen und einmal kräftig wringen (nicht nachfassen)	(Intervall bis)	(Intervall bis)
Starker Saftaustritt schon bei leichtem Händedruck	20	20
Starker Saftaustritt bei kräftigem Händedruck	25	25
Beim Wringen Saftaustritt zwischen den Fingern, Hände werden nass	30	30
Beim Wringen kein Saftaustritt zwischen Fingern, Hände werden noch feucht	35	35
Nach dem Wringen glänzen die Hände noch	40	40
Nach dem Wringen nur noch schwaches Feuchtegefühl auf den Händen	45	45
Hände bleiben vollständig trocken	100	100

Eine lineare Abhängigkeit ist gegeben, wenn keine komplexen Zusammenhänge zwischen Futterinhaltsstoffen und Futtergüte bestehen. Dies zeigt **Abb. 5**, in der die Bestimmung des TM-Gehaltes mittels Wringprobe dargestellt ist.



**Abb. 5: Lineare Abbildung der Intervalle der DLG-Wringprobe zum Feuchtegehalt.**

## 2.3 Algenreaktor

Zur Herstellung von Algenbiomasse wurde ein im Fachbereich Informatik und Naturwissenschaften der FH Südwestfalen, Standort Iserlohn existierender, stillgelegter Flachreaktor zur Algenproduktion in Augenschein genommen und verbessert.

Es waren vor allem die Dichtigkeit des Systems und die Belüftung zu verbessern, um die Algenbesiedelung der Oberflächen zu verhindern und eine optimale Sauerstoffverteilung zu gewährleisten. Weiterhin wurde die Lichteffektivität durch Einsatz flacherer Doppelmembranen erhöht.

Dazu wurde die bestehende Konstruktion aufgegriffen, jedoch eine flachere PMMA-Doppelplatte verwendet. Das Bodenstück bestand aus einer PVC-Schiene. Zur Verbesserung der Dichtigkeit wurde nicht wie bislang Silikon verwendet, sondern pulverfeines PMMA, das mittels einer Härterflüssigkeit hochvernetzt wurde. Die Belüftung erfolgte von der Seite durch Subcutan-Kanülen, um durch feinverteilte Blasen einen größeren Gasaustausch zu erzielen **[Abb. 6]**. Die Kanülen wurden durch ein Silikonpflaster geführt, das an der Seite auf ein zuvor gebohrtes Loch von ca. 2 mm Durchmesser aufgeklebt wurde. Die Abdichtung erfolgte mittels Kraftkleber.

Das Fassungsvermögen des Reaktorinnenraums wurde mittels Wasserfüllung und anschließender Messung der Massenzunahme auf 20 l bestimmt. Die Strömung wurde mit einem Kunststoffgra-

nulat sichtbar gemacht, welches eine geringfügig größere Dichte als Wasser aufwies und somit nicht aufschwamm. Die Begasungsdrücke wurden an einem vorgeschalteten Druckminderer eingestellt. Der Wechsel von laminarer zu turbulenter Strömung wurde bei ca. 1,5 bar beobachtet.

Nach Testung des Systems wurde das entworfene Reaktorsegment als Prototyp dem Fachbereich Informatik und Naturwissenschaften übergeben, wo insgesamt vier weitere Segmente nachgebaut wurden. Als weitere Verbesserung wurde dort die Belüftung von der Seite auf die Unterseite verlegt, wobei PVC-Schiene und PMMA-Dichtung von unten zu durchbohren waren. Über diesen Reaktor erfolgte die Anzucht von Algenbiomasse aus *Chlamydomonas reinhardtii*.

Material:

- Doppelstegplatte, 1 x 2 x 0,05 m<sup>3</sup>, PMMA; Fa. Lux SDP
- CEM 3020 (PMMA-Pulver, Härter), Fa. Cloeren Technology GmbH
- S.C.-Kanülen, Fa. Luer
- PVC-Schiene, 50 mm Breite, 20 mm Höhe
- Laborschlauch
- Schlauchklemmen
- Silikonpflaster
- Kraftkleber
- Druckluftanschluss
- Druckminderer
- Kunststoffgranulat (blau)



**Abb. 6: Algenreaktor**

Beobachtung der Strömung im Algenreaktor bei unterschiedlichen Füllständen und Belüftungsdrücken, unter Berücksichtigung von Sogeffekten in benachbarten Segmenten. Hier Übergang von laminarer zu turbulenter Strömung bei ca. 1,5 bar

## 2.4 Rohfaseranalytik

Es wurde die erweiterte Rohfaseranalyse nach *van Soest* mit dem halbautomatisierten Fibrebag-System verwendet (gem. VDLUFA, Methodenbuch III, Kap. 6.5.1 Punkt 8.3). Die Arbeit mit dem Fibrebag-System wurde von El-Jellouli (2013) entlehnt und an die sequentielle Methode angepasst. Untersucht wurden aNDF, ADF und ADL. Zum Vergleich der Ergebnisse aus dem halbautomatischen System mit der Verbandsmethode wurde zunächst ein Doppeltest in zweifacher Wiederholung mit der Verbandsmethode und dem Fibrebag-System durchgeführt. Referenzsubstanz war eine Maissilage aus dem Landwirtschaftszentrum Haus Düsse. Dabei zeigte sich, dass auf ein Herauslösen von Fetten verzichtet werden konnte.

Für die sukzessive Analyse der drei Parameter aus dem gleichen Substrat gibt es zwei Möglichkeiten: Seriell und sequenziell.

Im seriellen Ansatz werden der Reihe nach Einzelproben entnommen und jeweils gesondert untersucht. Die sequenzielle Methode bezeichnet die Prüfung in Folge aus ein und derselben Probe. Der Vorteil liegt hier darin, dass gehaltliche Abweichungen im inhomogenen Material weniger ins Gewicht fallen. Durch Doppelbestimmung können auch die Abweichungen potentiell in ihrer Größenordnung abgeschätzt werden. Überdies muss für jede Probe nur einmal abgewogen werden. Der Nachteil liegt darin, dass durch das mehrmalige Auskochen und –waschen mineralische Bestandteile mit ausgewaschen werden können. Dies würde zu einem fälschlich zu gering gemessenen Aschegehalt führen.

Ein Vortest mit beiden Methoden ergab, dass diese Abweichung beim vorliegenden Versuchsaufbau im prozentualen Promillebereich liegt und vernachlässigt werden kann.

Im weiteren Projektverlauf wurde auf die sequentielle Analyse zurückgegriffen. Die Berechnung der Gehalte an Hemicellulose, Cellulose und Lignin erfolgte dementsprechend am Schluss jeder Sequenz.

Die Darstellung erfolgte über ein VBA-Programm auf Excel.

### 2.4.1 Reagenzien

#### 2.4.1.1 aNDF

- Titriplex III (Ethylendinitrilotetraessigsäure Dinatriumsalz-Dihydrat)
- di-Natriumtetraborat
- Dodecylhydrogensulfat Natriumsalz
- Triethylenglykol
- di-Natriumhydrogenphosphat
- 1-Octanol
- hitzestabile Amylase
- NaOH
- Neutrale Detergenzienlösung mit Amylase (aNDF): 18,61 g

aNDF-Lösung: 93 g EDTA Ethylendiamintetraessigsäure-Dinatriumsalz und 34 g di-Natriumtetraborat-decahydrat wurden in einem Becherglas in 2 l Wasser unter Erwärmen gelöst. Nach dem Abkühlen wurden 150 g Dodecylsulfat-Natriumsalz in 50 ml Triethylenglykol aufgelöst und zum ersten Ansatz gegeben. In einem zweiten Becherglas wurden 22,8 g Natriumdihydrogenphosphat in 2 l Wasser unter Erwärmen gelöst und nach dem Abkühlen zu dem ersten Ansatz

gegeben. Die Lösung wurde auf annähernd 5 l mit destilliertem Wasser aufgefüllt, der pH-Wert wurde durch Zugabe von Natronlauge auf 6.9 eingestellt. Unmittelbar vor der Verwendung werden 2 ml hitzestabile Amylase zum Abbau von Stärke und von weiteren Polysacchariden dazu gegeben.

#### **2.4.1.2 ADF**

- Schwefelsäure (0,5 molar)
- N-Cetyl-N,N,N-trimethylammoniumbromid
- Saure Detergenzienlösung: 20 g N-Cetyl-N,N,N-trimethylammoniumbromid in Schwefelsäure gelöst und bis 1000 ml mit aqua demin. aufgefüllt
- 1-Octanol

#### **2.4.1.3 ADL**

- Schwefelsäure (72%ig)

### **2.4.2 Geräte**

- Fibrebag- System, Fa. Gerhardt
  - Heizplatte mit Halterung
  - Rücklaufkühler
  - Rondelle (je sechs Bohrungen)
  - Rondellhalter
  - Spreizfinger
  - „Fibrebags (Zellstoffbeutel in versch. Wandstärke für aNDF/ADF und ADL)
- Durchflusskühler FE 1100, Fa. Gerhardt
- Wärmeschrank Function Line, Fa. Heraeus Instruments
- Muffelofen, Fa. Heraeus Instruments
- Feinwaage, Fa. Möbius
- Heißwasserkocher
- Schneidmühle SM 200, Fa. Retsch

### **2.4.3 Sonstiges Material**

- Bechergläser 1000 ml
- Keramiktiegel
- Exsikkatoren
- Siedesteine
- Wägeschiffchen
- Spatel

## 2.4.4 Analysemethoden

### 2.4.4.1 aNDF

Der Anteil der Substanzen, die mit einer neutralen Detergenzienlösung nach dem Kochen mit aNDF-Lösung nicht herausgelöst werden, wird als NDF (neutral detergent fibre) bezeichnet. Bei pflanzlichen Futtermitteln und Silagen ist der NDF-Anteil ein Maß für den Anteil an den Zellwandgerüstsubstanzen Lignin, Cellulose und Hemicellulose und Lignin-N-Verbindungen. Der ungelöste Rückstand wird getrocknet, gewogen und anschließend verascht. Der beim Veraschen auftretende Massenverlust entspricht dem aschekorrigierten NDF-Gehalt der Probe [Abb. 1].

#### 1) Vorbereitung der Proben

Die Fibrebags wurden zunächst bei 105°C mindestens eine Stunde im Trockenschrank getrocknet und im Exsikkator aufbewahrt. Die Prüfsubstrate wurden bei 55°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und anschließend auf 1 mm Siebgröße vermahlen. Danach wurde von der vermahlenden Probe 1000 mg auf 10 mg genau in den Fibrebag eingewogen. Die Spreizfinger mit den FibreBags und den Proben wurden in das Karussell eingesetzt und in die aNDF-Lösung eingetaucht.

#### 2) Waschen in aNDF-Lösung

In das Becherglas wurden 360 ml aNDF-Lösung gefüllt. Es wurden Siedesteine und als Antischaummittel Decahydronaphtalin hinzugefügt. Dann wurde mit Hilfe des Halterungsstabes das Karussell in die aNDF-Lösung eingetaucht. Das Becherglas mit dem Karussell wurde auf eine Heizplatte gestellt, dann 5 Minuten lang zum Sieden gebracht und anschließend 1 Stunde lang am Sieden gehalten. Nach dem Kochen wurden das Karussell und die Proben mit heißem Wasser detergenzienfrei gewaschen (3 bis 4 Mal).

#### 3) Trocknung der FibreBags

Die Glasspacer mit den Fibrebags wurden aus dem Karussell entnommen und unter Nachspülen mit Wasser aus den FibreBags entfernt. In einem zuvor bei 550°C ausgeglühten und gewogenen Veraschungstiegel wurden die FibreBags im Trockenschrank bei 105°C mindestens 4 Stunden lang oder über Nacht getrocknet, dann für 30 Minuten in den Exsikkator überführt und danach zurückgewogen.

### 2.3.4.2 ADF

Der Anteil der Substanzen, der mit einer sauren Detergenzienlösung bei dem nachfolgend beschriebenen Verfahren nicht herausgelöst wird, wird als ADF (acid detergent fibre) bezeichnet. Bei pflanzlichen Futtermitteln und Silagen ist der ADF-Anteil ein Maß für die Gerüstsubstanzen Cellulose, Lignin und Lignin-N-Verbindungen.

Die Durchführung entspricht der von aNDF mit den unter 2.3.1.2 aufgeführten Reagenzien.

### 2.3.4.3 ADL

Bei der Bestimmung des ADL (acid detergent lignin) dient das ADF-Verfahren als Vorbehandlung. Die Komponenten Cellulose und Lignin werden von der ADF-Lösung nicht herausgelöst. Die Cellulose wird daher anschließend mit 72%iger Schwefelsäure gelöst, um das Rohlignin (ADL) zu erhalten. Die Proben wurden in 360 ml 72%iger Schwefelsäure für 3 Stunden gelöst. Jeweils zu vollen Stunde wurde das Rondell mit Hilfe des Rondellhalters in der Lösung mehrmals kräftig bewegt und abgetropft. Danach erfolgte wie bei der aNDF-Bestimmung der Schritt 3.

### 2.3.4.4 Veraschung

Die Veraschung des Probenrückstandes erfolgte nach dem Zurückwiegen der ADL-Proben, zusammen mit dem Fibrebag im Tiegel bei 550°C für mindestens 4 Stunden oder über Nacht. Nach der Veraschung wurde der Tiegel ca. 30 Minuten im Trockenschrank bei 105°C abgekühlt und anschließend zur Abkühlung auf Raumtemperatur noch 30 Minuten in den Exsikkator gestellt. Anschließend wurde zurückgewogen.

### 2.3.4.5 Berechnung

Es gelte

- $m_1$  = Masse des Spreizfingers
- $m_2$  = Masse des Fibrebags
- $m_3$  = Probeneinwaage
- $m_4$  = Rückwaage nach aNDF
- $m_5$  = Rückwaage nach ADF
- $m_6$  = Rückwaage nach ADL
- $m_7$  = Masse des Tiegels
- $m_8$  = Rückwaage nach Veraschung

(Alle Massenangaben in mg)

Aus dem absoluten Aschegehalt  $A_{abs} = m_8 - m_7 - m_1$  wird der prozentuale Ascheanteil  $A_{\%} = \left(\frac{A_{abs}}{m_3}\right) 100$  berechnet.

Die fermentierbare organische Trockensubstanz ergibt sich aus  $FoTS = (100 - A_{\%})$ .

Für die prozentualen Gehalte an aNDF, ADF und ADL gilt:

$$aNDF; ADF; ADL = \frac{(m_{4,5,6} - m_2 - m_1 - A_{abs})}{m_3} 100 \quad [4]$$

Die Anteile der Rohfaserfraktionen werden dann über die oben beschriebenen Zusammenhänge berechnet:

$$Hemicellulose = aNDF - ADF$$

$$Cellulose = ADF - ADL$$

$$Rohlignin = ADL$$

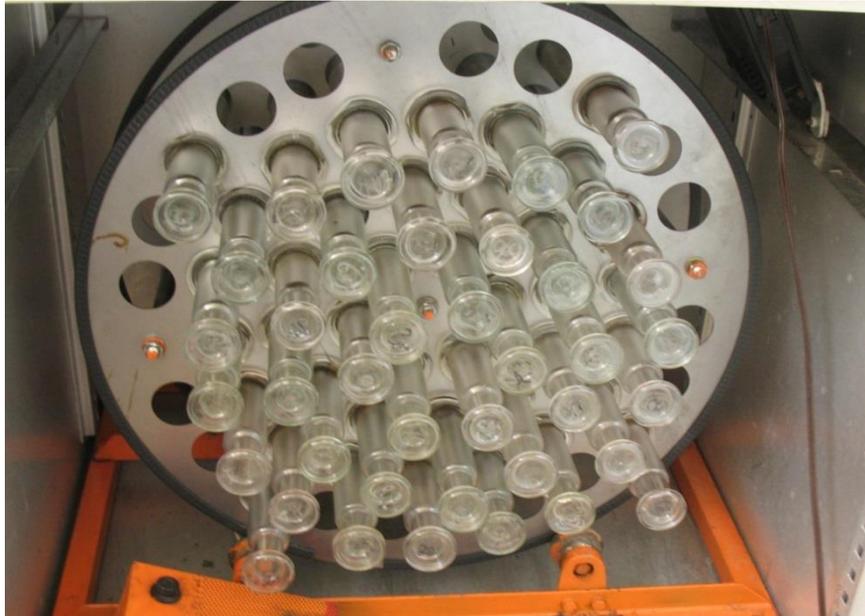
## 2.5 Biogasertragstests

### 2.5.1 Geräte

#### 2.5.1.1 Glaskolbentest (GKT)

Der Glaskolbentest ist eine Abwandlung des Hohenheimer Futterwerttests. Das System setzt sich aus verschiedenen Geräten zusammen **[Abb.7]**:

- Trockenschrank (Fa. Heraeus), Typ 8 6060 E; ID 7300102
- Ventilator (Hersteller unbekannt), in Trockenschrank verbaut
- Gestell aus Stahlschienen 55 x 60 cm<sup>2</sup>, mit aufgeschraubtem E-Motor (Hersteller unbekannt), aufgesetztem Flansch, mit Antriebswelle verbunden sowie passive Welle
- Doppelscheibe aus Sperrholz mit 56 Löchern zur Aufnahme der Gärbehälter, leicht uneben, mit Abriebspuren an den Rändern der Scheiben
- Kolbenprober (Glas) 100 ml
- Glasstempel
- Schlauchklemmen
- Silikonschlauch ( $\varnothing_{\text{innen}}$  5 mm)



**Abb. 7: Biogasmessung im Glaskolbentest (GKT)**

Da die Holz-Doppelscheibe nach einiger Zeit durch zu starke Gebrauchsspuren unrund lief, wurde sie zunächst durch gelaserte Edelstahlscheiben ersetzt. Diese wiederum übten einen zu großen Punktdruck auf die Laufrollen aus, so dass wiederum neue Holzscheiben angefertigt und mit Gummiringen ummantelt wurden.

Diese Anlage war zunächst nicht geplant und wurde der FH Südwestfalen am 01.05.2014, ein Jahr nach Projektbeginn kostenfrei zur Verfügung gestellt.

Analysedaten liegen daher erst ab dem Substrat 2.1.3 (Grünlandaufwuchs und Speisepilzproduktion) vor. Wegen der begrenzten Anzahl an Plätzen in der Sensorbiogasanlage konnte der GKT zur Vorauswahl einiger erfolversprechender Silagen verwendet werden.

### 2.5.1.2 Sensorbiogasanlage

Zur physikalisch-sensorischen Messung von  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$  und Gesamtgas bei ausgewählten Silagen wurde die Anlage „Yield-Master“, ein System der Fa. BlueSens, verwendet [Abb. 8].

- Gassensoren BCP-CO<sub>2</sub>, Fa. BlueSens
- Gassensoren BCP-CH<sub>4</sub>, Fa. BlueSens
- Einhängethermostat Lauda Eco Silver Lauda, Fa. Dr. R. Wobser
- Steuergerät für Magnetrührer MIX Control, Fa. 2mag AG
- Magnetrührer MIX Drive 6, 2mag Fa. AG
- Magnetrührfische, prismenförmig
- BACCOM Modell 3.05, Fa. BlueSens
- BACCOM CB Modell 2.01, Fa. BlueSens
- Gärbehälter mit je zwei Anschlüssen für die Gassensoren (CO<sub>2</sub>/ CH<sub>4</sub>) in der Gewindegröße GL 45 sowie zwei Anschlüsse GL 14, Fa. Duran
- Milligascounter, Fa. Ritter
- Wärmebad mit Deckplatte



**Abb. 8: Sensorbiogasanlage „Yield-Master“**

## 2.5.2 Sonstiges Material

Für den GKT wird gebraucht:

- Doppelscheibe aus Holz, Kunststoff oder Stahl mit 56 Löchern zur Aufnahme der Gärbehälter, diese musste aufgrund zu starker Gebrauchsspuren im laufenden Versuch ersetzt werden
- Vakuumierfett (Silikon)

Für die Sensorbiogasanlage wird gebraucht:

- Gummiringe zum Abdichten der Sensoranschlüsse
- Schläuche für die Milligascounter (Hartgummi, transparent)
- Schraubverschlüsse 14 mm mit Dichtungseinlagen
- Wasserwaagen zur Justierung der Milligascounter
- Zange zur Entnahme der Austrittsstutzen der Milligascounter
- Injektionsspritzen 10 ml sowie Kanülen zur Feinjustierung des ölhaltigen Polymers in den Milligascountern
- ölhaltiges Polymer in Flaschen

## 2.5.3 Methoden

### 2.5.3.1 GKT

Der „Glaskolbentest“ (GKT) ist ein Schnelltest zur Bestimmung des Biogasertrages von Substraten in Anlehnung an den Hohenheimer Futterwerttest. Die Durchführung wurde von Wiegand (2013) entlehnt.

Für die Befüllung eines Kolbenprobers wurden 0,5 g der bei 55°C getrockneten und auf 1 mm vermahlene Probe verwendet, die zusammen mit Impfschlamm inkubiert wurden. Der Impfschlamm stammte aus dem Fermenter einer Biogasanlage, die mit Maissilage betrieben wurde. Das Fermentermaterial wurde zuvor durch Siebung und Dekantierung von Feststoffen befreit. Vom Inkubationsmaterial wurden 30 ml jeweils zusammen mit der Probe in 100 ml großen Glaskolben gefüllt. An den Kolbenprobern befand sich zur Abdichtung ein ca. 8 cm langer Plastikschlauch, der für den Versuch mit einer Klemme verschlossen wurde. Der gefettete Stempel schloss den Kolbenprober gasdicht ab.

Die Kolbenanordnung befand sich in einem beheizten Schrank in der langsam rotierenden Doppelscheibe, durch die eine gleichmäßige Durchmischung des Kolbeninhalts gewährleistet wurde. Die Inkubationstemperatur betrug konstant 37°C und wurde regelmäßig kontrolliert. Zur Bestimmung der Gasmenge wurde die Volumenausdehnung auf der Skala abgelesen. Wenn mehr Biogas gebildet wurde als ein Kolbenprober fassen kann, so wurde nach Notierung der Biogasmenge der Glasstempel zurückgestellt und das Biogas aus dem Kolbenprober entfernt. In den Versuchsdurchlauf wurden auch Kolben, welche ausschließlich mit der gleichen Menge Inokulum gefüllt waren, als Nullansatz integriert.

Um die Ausdehnung durch Erwärmung als Störfaktor auszuschließen, wurde vor dem Ablesen der Schrank geöffnet und ein Temperatenausgleich mit der Umgebung gestattet. Durch  $T_{innen} = T_{außen}$  wurden auch Veränderungen des Volumens während des Ablesens vermieden.

Zur Berechnung wurde zunächst gem. VDI 4630 (2006) das entstandene Gasvolumen auf Normalgas umgerechnet:

$$V_0^{tr} = V \frac{(p-p_w)T_0}{p_0T} \quad [5]$$

Dabei ist:

$V_0^{tr}$  = Volumen des trockenen Gases im Normzustand in ml<sub>N</sub>

$V$  = abgelesenes Volumen in ml

$p$  = Druck der Gasphase

$p_w$  = Dampfdruck des Wassers in Abh. der Umgebungs-T in hPa

$T_0$  = Normtemperatur (273 K)

$p_0$  = Normdruck (1013 hPa)

$T$  = Temperatur des Gases oder der Umgebung

Daraus wurde für jeden Messwert  $x_i$  der Korrekturfaktor  $k_i$  für die Berechnung abgeleitet.

$$k_i = V_0^{tr} / V \quad [6]$$

Durch  $T_{innen} = T_{außen}$  ergibt sich aus  $pV = nRT$  bei konstantem Volumen  $p_{innen} = p_{außen}$ . Somit kann für  $p$  der Umgebungsdruck verwendet werden.

Für die grafische Darstellung der diskontinuierlichen Messfolgen wurde für die Kumulierung der Messwerte folgende Formel entwickelt:

$$f(x_i) = f(x_{i-1}) + [(x_i - z)k_i - g(r_i)] : m_{EW} \quad [7]$$

Wobei  $m_{EW}$  = Einwaage (an oTS) der Probe in Gramm. Der Ausdruck  $g(r_i)$  entspricht dem abziehenden Eigenertag des Impfschlammes, für welchen gilt:

$$g(r_i) = (r_i - z)k_i \quad [8]$$

Zum Vergleich kann die Verlaufskurve der Impfschlammreferenz mitbeobachtet werden:

$$f(r_i) = g(r_{i-1}) + (r_i - z)k_i \quad [9]$$

Mit

$x_i$  = Messwert der Probe zum Zeitpunkt  $i$

$z$  = Füllvolumen des Kolbenprobers

$k_i$  = Korrekturfaktor mit dem Luftdruck zum Zeitpunkt  $i$

$r_i$  = Messwert der Impfschlammreferenz

Die Darstellung erfolgte über ein VBA-Programm auf Excel. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS Statistics 21.

### 2.5.3.2 Sensorbiogasanlage

Eine Vorversuchsreihe zeigte, dass die Methanerträge in der hier verwendeten Gäranlage, bei dem Vorgehen nach den Vorschriften DIN EN ISO 11734 und VDI 4630, einer empirischen Standardabweichung von bis über 30% unterworfen sein können. Dies traf auch zu, wenn der Impfschlamm vor dem Einsatz einer mehrtägigen „Hungerphase“ unterzogen, die Befüllung der Gärbehälter unter  $N_2$ -Atmosphäre durchgeführt und eine mess- und wiederholbare Homogenisierung des Impfschlammes erzielt wurden.

Abweichungen dieser Größenordnung müssen oftmals hingenommen werden, wobei sie die Deutung von Messergebnissen erschweren (Wiegand 2013).

Daher wurde der Impfschlamm vor dem Einsatz gesiebt und anschließend einer Hungerphase unterzogen. Die Filtrierung und Verdünnung des Impfschlammes und des Hungerns vor Aliquotierung in die Batch-Gefäße führte zu einem weitgehenden Gleichlauf der Behälter mit lediglich 11% Abweichung. Der Eigenertag des Impfsubstrates am Gesamtmethanertrag wurde mit durchschnittlich 0,56% so gering, dass auf eine mitlaufende Referenz verzichtet werden konnte.

Die Software der Sensorbiogasanlage rechnet ihre Eigenmessungen automatisch in Normalvolumen um. Allerdings werden kumulierte Werte nur für den Gesamtgasertrag ausgegeben.  $[CH_4]$  und  $[CO_2]$  werden nur als Volumen-% pro Messzeitpunkt angegeben. Auch hat das System ein im

Verhältnis zum neu entstehenden Gasvolumen hohes Totvolumen (Kopfraum + Schlauch). Dies erforderte eine Nachberechnung, um die kumulierten Gaserträge berechnen zu können.

Ausgehend vom Methanertrag zum Messzeitpunkt  $t_0$

$$M_{t_0} = \frac{(V_k k_0):100}{m_{EW}} \quad [10]$$

wurde für alle nachfolgenden Messzeitpunkte  $t_n$  der kumulierte Methan- und Kohlenstoffdioxid-ertrag folgende Formel entwickelt:

$$M_{t_n} = M_{t_{n-1}} + \frac{((V_k + V_n - V_{n-1})k_n - (V_k k_{n-1})):100}{m_{EW}} \quad [11]$$

Wobei

$M_{t_0}$  = Gehalt an CH<sub>4</sub> bzw. CO<sub>2</sub> zum Zeitpunkt  $t_0$  in ml<sub>N</sub>

$t_n$  = Messzeitpunkt, mit  $n \neq 0$

$V_k$  = Volumen des Kopfraumes in ml

$k_0$  = [CH<sub>4</sub>] bzw. [CO<sub>2</sub>] zum Zeitpunkt  $t_0$

$m_{EW}$  = Masse der eingewogenen oTS in g

$M_{t_n}$  = zu errechnender kumulierter Methanertrag zum Zeitpunkt  $t_n$  in ml<sub>N</sub>

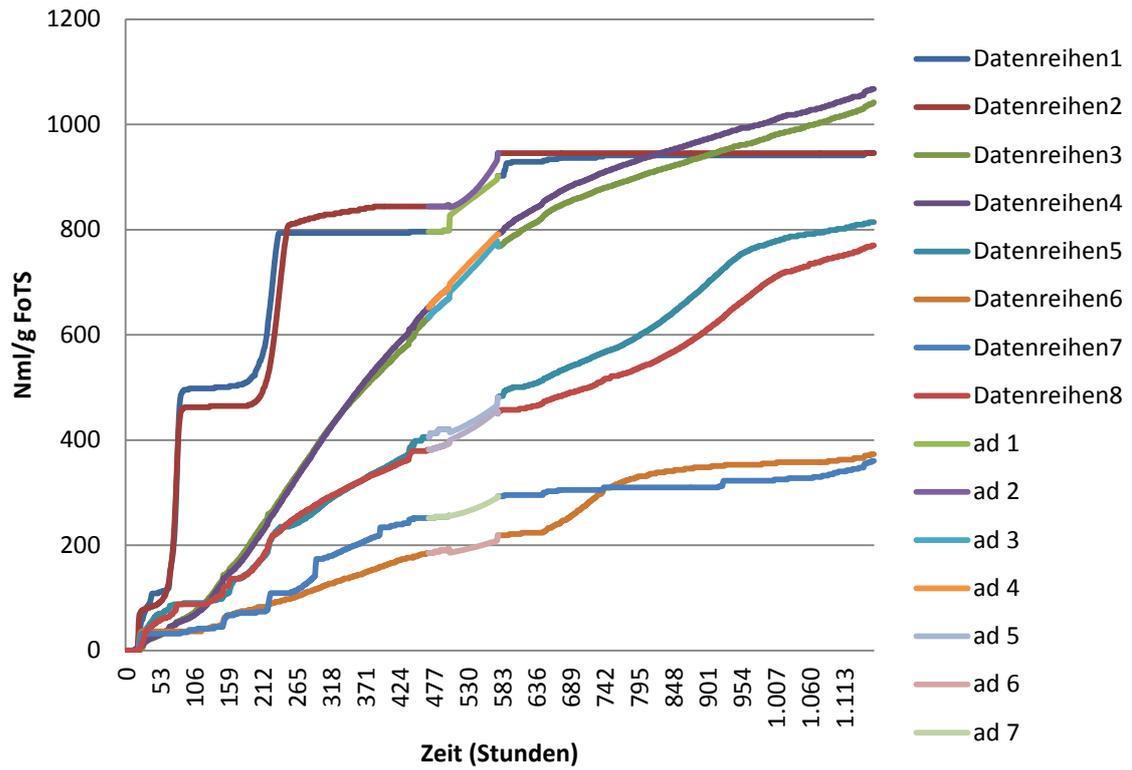
$V_n$  = gemessenes Gesamtgas, kumuliert zum Zeitpunkt  $t_n$  in ml<sub>N</sub>, so dass

$$V_n = V_0 + (V_1 - V_0) + \dots + (V_n - V_{n-1}) = V_0 + \sum \Delta V_i$$

$k_n$  = [CH<sub>4</sub>] bzw. [CO<sub>2</sub>] zum Zeitpunkt  $t_n$

Die Darstellung erfolgte über ein VBA-Programm auf Excel.

Weiterhin zeigte sich, dass das hochempfindliche Sensorsystem zu Kommunikationsunterbrechung zwischen den Sensoren und den Rechereinheiten (BACCOM) neigt. Fällt ein Sensor aus, so werden durch eine systemimmanente Besonderheit der BACCOMs der Reihe nach die übrigen Sensoren ebenfalls nicht mehr erkannt. Dies führt zu der Fehlermeldung Communication Error (commer). Eine Möglichkeit ist dann, das Messprogramm zu beenden und ohne erneute Kalibrierung und ohne Reset neu zu starten. Daraus ergeben sich zwei Messungen, deren zeitliche Lücke durch Interpolation geschlossen werden kann **[Abb. 9]**.



**Abb. 9: Messausfall**

Interpolation von Datenlücken nach Kommunikationsfehler zwischen Sensor und Rechereinheit (BACCOM)

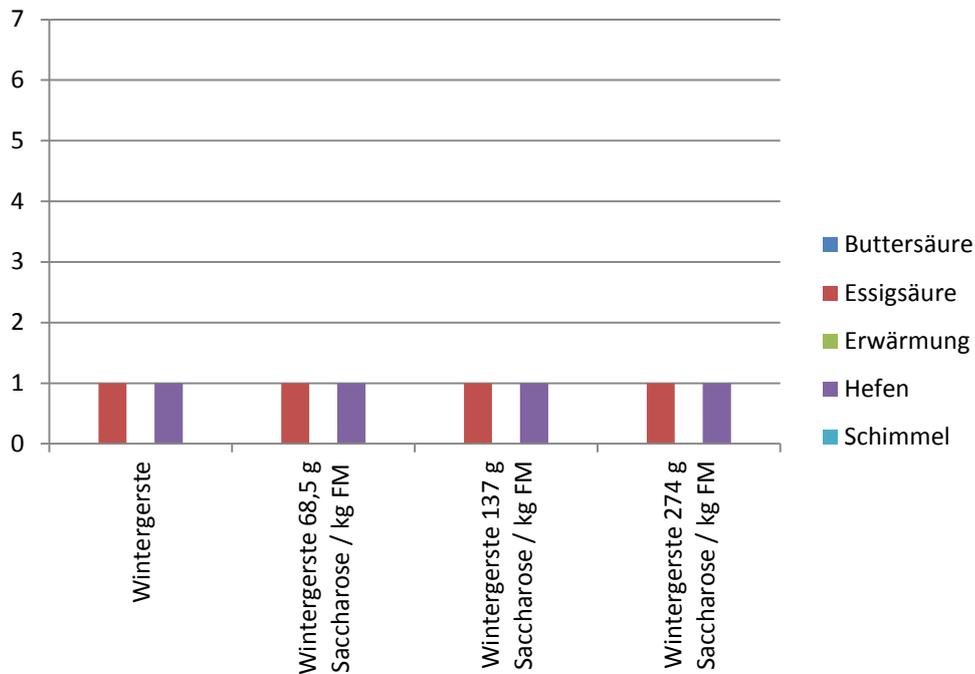
### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Silagen

##### 3.1.1 Winterweizen-, Gerstenstroh und Saccharose

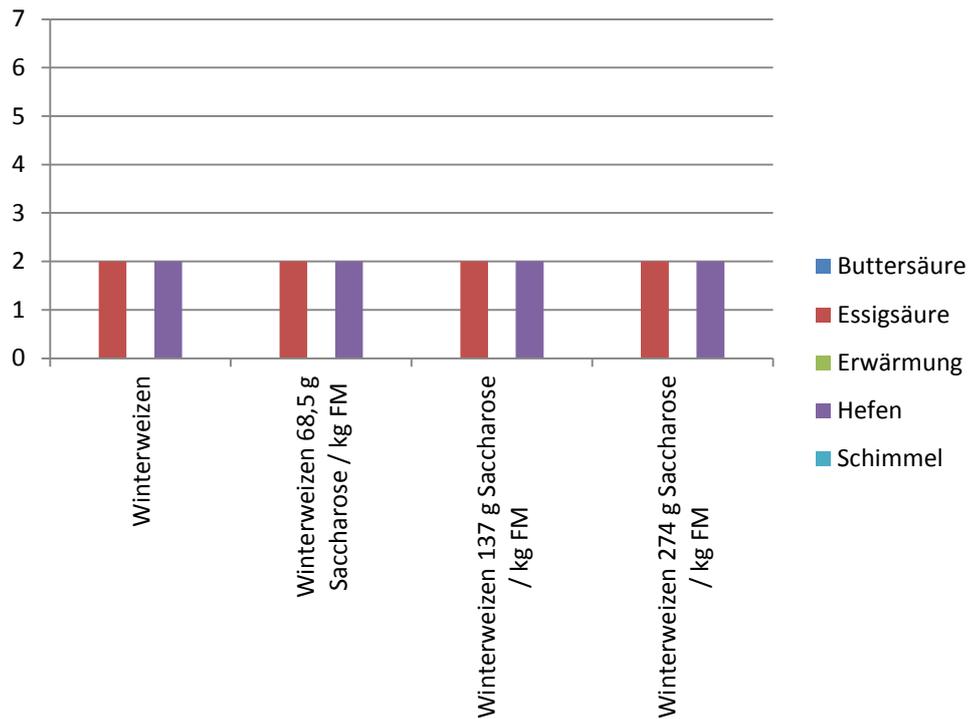
Die verwendeten Silagen wurden nach Monaten geöffnet und einer Sinnenprüfung sowie einer pH-Wert-Messung unterzogen. Dabei wurde eine Messelektrode direkt in die verpresste Silage eingeführt und der pH-Wert ohne weitere Probenvorbereitung in der Flüssigkeit zwischen den Silagepartikeln gemessen.

Die in **Abb. 10** und **11** dargestellten Ergebnisse stammten aus einer zweiten Sinnenprüfung, wobei sie als relevant für den vorliegenden Bericht zu gelten haben, da sie den Status unmittelbar vor der Vergärung aufzeigen.



**Abb. 10: Mischsilagen (Gerstenstroh/Saccharose)**

(Einheit ist „Punkte für Qualitätsabzüge“ gem. „Grobfutterbewertung“, DLG-Information 1/2004)



**Abb. 11: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Weizenstroh/Saccharose)**

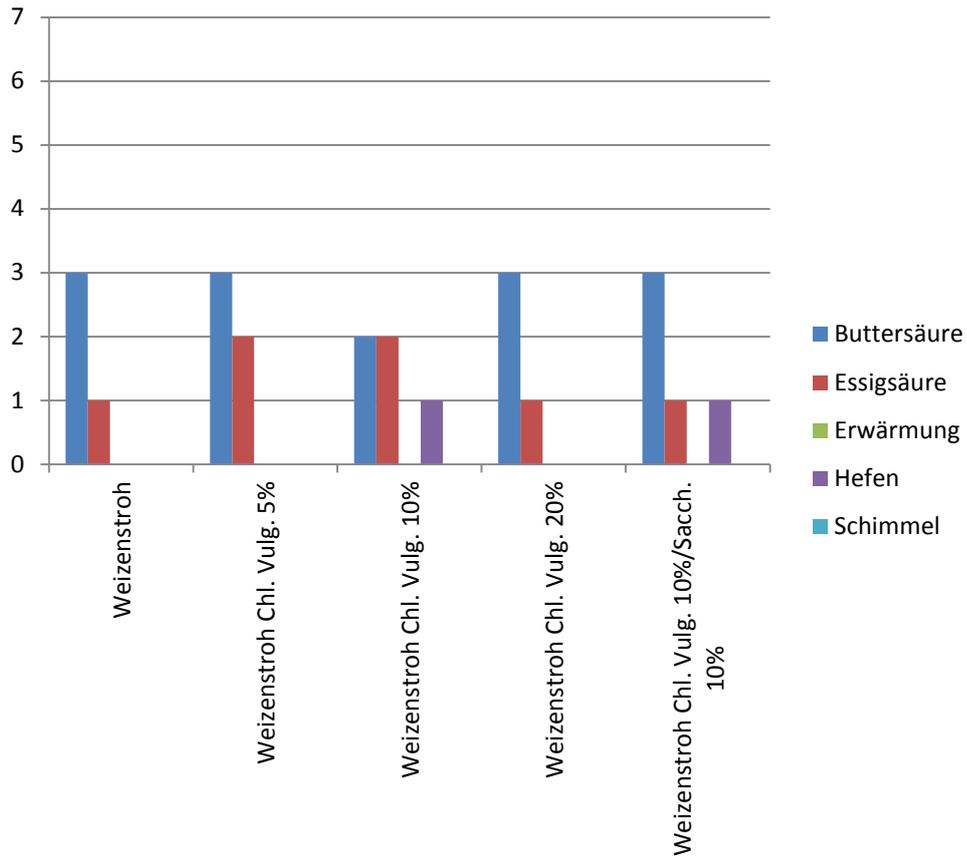
(Einheit ist „Punkte für Qualitätsabzüge“ gem. „Grobfutterbewertung“, DLG-Information 1/2004)

Trotz der längeren Lagerung waren sämtliche Silagen für die Biogasproduktion geeignet. Ihre Werte an Buttersäure, Erwärmung und Schimmelbildung lagen bei null, Essigsäure und Alkohole waren in nicht zu starkem Maße vorhanden. Sie sind als Vorstufen der Methanogenese erwünscht und waren in den hier sensorisch bestimmten Größenordnungen nicht inhibitorisch.

Es fiel auf, dass die Werte bei den Weizenstrohsilagen doppelt so groß wie bei den Gerstenvarianten waren. Weiterhin fällt auf, dass die Varianzen innerhalb der Hauptsubstrate sensorisch nicht zu bestimmen und somit gegen null gehen. Der Siliererfolg war demnach gegeben.

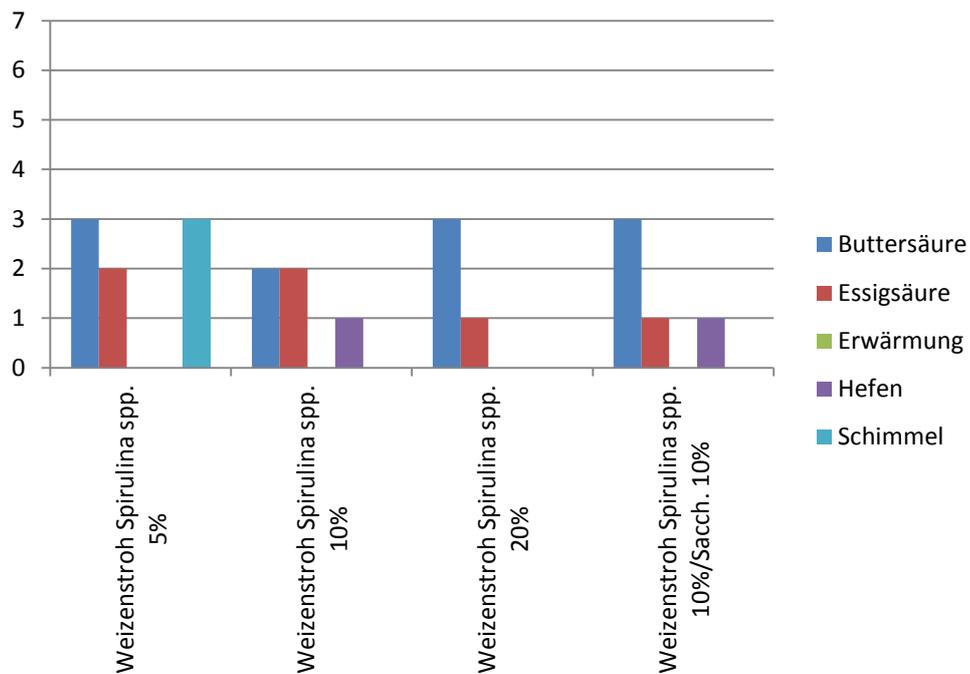
### 3.1.2 Winterweizenstroh, Algen und Saccharose

Bei der Sinnenprüfung war optisch nur teilweise eine sehr geringe Veränderung der Strohhäcksel erkennbar. Die Schnittkanten des Strohs zeigten in den höher konzentrierten Faktorstufen, sowie bei denen mit Zuckerzusatz eine sehr geringe Auflösung. Die Gemische mit steigender Algenkonzentration wiesen eine weichere Konsistenz der enthaltenen Strohschubstanz auf. In allen Varianten trat Buttersäure in Stufe 3 von 4 auf. Damit sind entsprechende Silagen nicht sinnvoll einzusetzen [Abb. 12, 13].



**Abb. 12: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Weizenstroh/*Chlorella vulgaris*)**

(Einheit ist „Punkte für Qualitätsabzüge“ gem. „Grobfutterbewertung“, DLG-Information 1/2004)



**Abb. 13: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Weizenstroh/*Spirulina* spp.)**

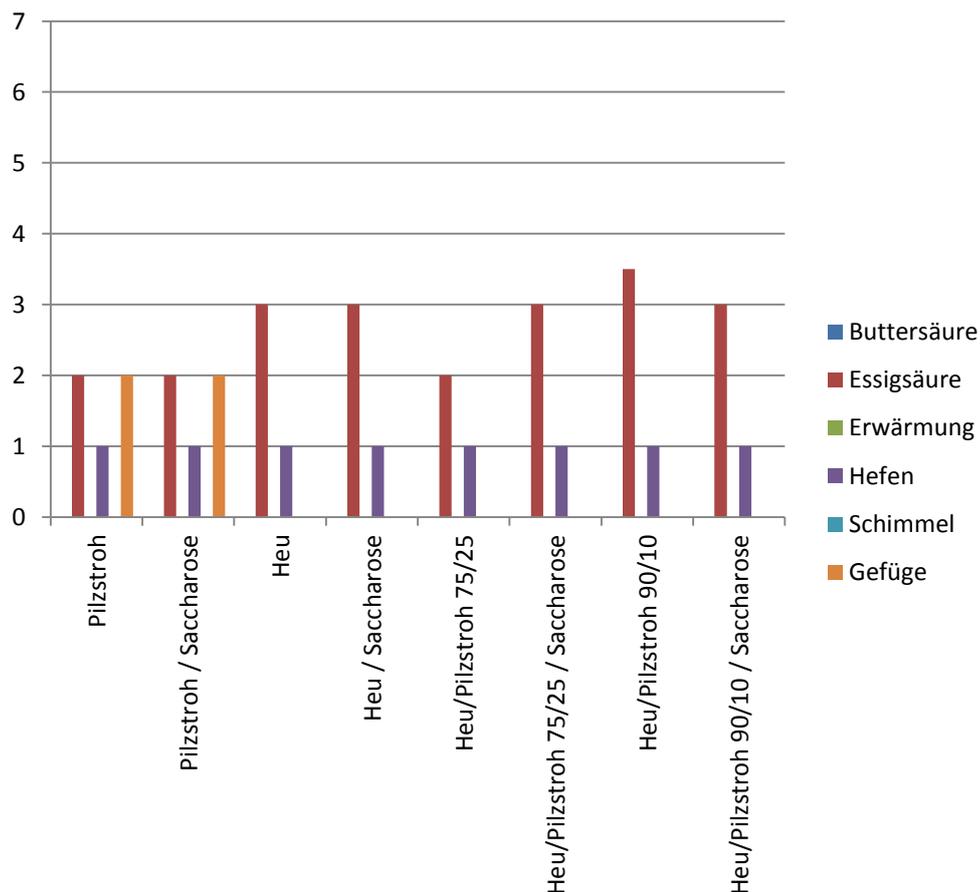
(Einheit ist „Punkte für Qualitätsabzüge“ gem. „Grobfutterbewertung“, DLG-Information 1/2004)

### 3.1.3 Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion

In den Varianten Pilzstroh und Pilzstroh/Saccharose waren keine Unterschiede erkennbar. Erwartungsgemäß war das Gefüge mittelstark angegriffen, was möglicherweise auf enzymatische Aktivität der Speisepilzproduktion zurückzuführen war.

Heusilage wies einen deutlich höheren Essigsäureanteil als Pilzstroh auf. Heu mit 10% Saccharose ergab gegenüber reiner Heusilage keine sensorisch feststellbare Erhöhung an Essigsäure oder Alkoholen. Wurde Heu mit Pilzstroh im Verhältnis 75/25 gemischt, fiel der Anteil an Essigsäure; im Verhältnis 90/10 stieg er überproportional an. Wurde diese Mischung noch mit 10% Saccharose versetzt, fiel der Essigsäureanteil wiederum. Die pH-Werte der Saccharose-Varianten lagen jedoch durchgehend etwas niedriger als ihre Gegenstücke ohne Saccharose [Tab. 9].

Der Anteil an Alkoholen blieb in allen Varianten durchgehend gleich [Abb. 14].



**Abb. 14: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion)**

(Einheit ist „Punkte für Qualitätsabzüge“ gem. „Grobfutterbewertung“, DLG-Information 1/2004)

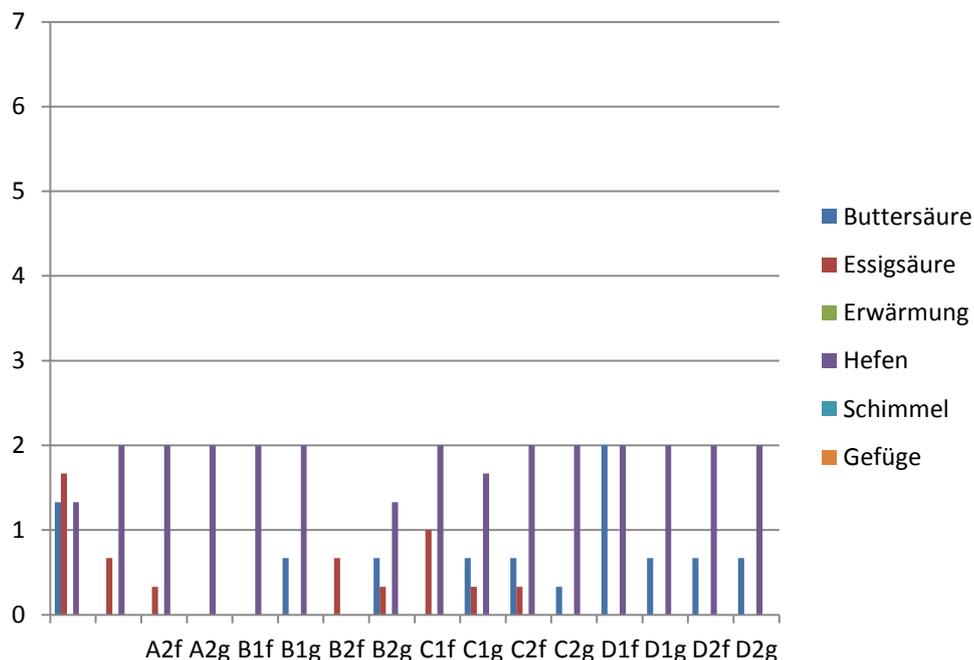
### 3.1.4 Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase

Mehrere Varianten wiesen in einzelnen Wiederholungen Buttersäure auf. Da dies nicht systematisch für alle Wiederholungen galt, ist von einem Silierfehler auszugehen. Die Gasertragstests wurden mit korrekt silierten Wiederholungen durchgeführt.

Der Essigsäuregehalt nahm bei den Varianten **ohne Cellulase** über Stroh-Variante, Siliermittel-Variante, Saccharose-Variante, Saccharose-Siliermittel-Variante konstant ab. Bei letzterer (A2g) war sensorisch keine Essigsäure mehr erfassbar.

Bei den **Cellulase-Varianten** mit 0,2 g/kg<sub>FM</sub> war keine Essigsäure in den saccharoselosen Varianten (B1f, B1g) nachweisbar. In den Saccharose-Varianten nahm der Essigsäuregehalt der siliermittello- sen Varianten von der Siliermittel-Nullvariante zur Siliermittelvariante ab. Bei den **Cellulase-Varianten** mit 0,4 g/kg<sub>FM</sub> nahm der Essigsäuregehalt ebenfalls mit steigender Zucker- bzw. Siliermittelzumischung ab. In der Variante mit Zucker und Siliermittel war keine Essigsäure mehr nachweisbar. In den höheren Cellulase-Varianten trat keine Essigsäure mehr auf. Die pH-Werte waren jedoch in allen Varianten im Bereich mittelsauer [Abb.19, Tab. 10].

Alkohole waren in den meisten Wiederholungen aller Varianten schwach wahrnehmbar, außer in B2f (0,2 g/kg Cellulase, 180g/kg Saccharose, kein Siliermittel) [Abb. 15].



**Abb. 15: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase)**

(Einheit ist „Punkte für Qualitätsabzüge“ gem. „Grobfutterbewertung“, DLG-Information 1/2004)

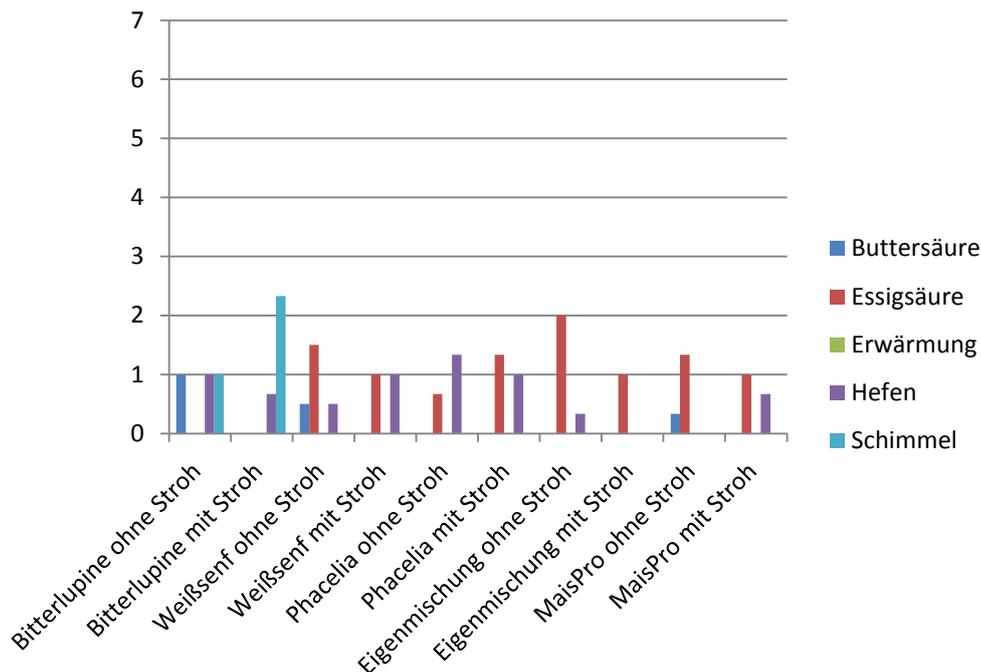
### 3.1.5 Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte

Beide Bitterlupinen-Varianten (mit und ohne Stroh) wiesen Schimmelbildung auf. Die Variante ohne Stroh zudem Buttersäure. Alkohole waren mit 1 bzw. <1 geringfügig vorhanden.

In einer Weißsenf-Wiederholung ohne Stroh trat ebenfalls Buttersäure auf, jedoch mäßig auch Essigsäure und Alkohole. Die Stroh-Varianten mit Weißsenf wiesen sowohl Essigsäure als auch Alkohole auf, jedoch im Verhältnis mit dem vorangegangenen Versuch mäßig.

Die Phacelia-Varianten zeigten beide Essigsäure und Alkohole, wobei die Stroh-Variante aufgrund des höheren Essigsäuregehaltes für die Biogaserzeugung günstiger zu bewerten war. Das Größenverhältnis Essigsäure zu Alkohol lag bei den Stroh-Varianten umgekehrt zu den Varianten ohne Stroh zugunsten der Essigsäure.

Die Eigenmischung ohne Stroh verfügte über Essigsäure und z.T. geringgradig Alkohole, die Varianten mit Stroh lediglich über mäßig viel Essigsäure. MaisPro ohne Stroh hatte in mehreren Wiederholungen Buttersäure, aber z.T. auch Essigsäure. Die Stroh-Varianten verfügten mäßig über Essigsäure und Alkohole [Abb. 16].



**Abb. 16: Sinnenprüfung bei Mischsilagen (Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte)**

(Einheit ist „Punkte für Qualitätsabzüge“ gem. „Grobfutterbewertung“, DLG-Information 1/2004)

## 3.2 Rohfaseranalytik

### 3.2.1 Winterweizen-, Gerstenstroh und Saccharose

Tab. 7: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen (Gersten-/Weizenstroh/Saccharose)

Probenbezeichnung	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	Lignin (%)	pH-Werte
Gerstenstroh	26,30	42,27	7,90	5,74
Gerstenstroh 68,5 g Sacch./kg FM	28,28	41,77	7,17	4,88
Gerstenstroh 137 g Sacch./kg FM	26,03	43,54	6,99	5,04
Gerstenstroh 274 g Sacch./kg FM	23,14	38,83	7,45	3,78
Weizenstroh	27,22	43,27	8,19	4,37
Weizenstroh 68,5 g Sacch. /kg FM	29,06	40,61	7,77	4,61
Weizenstroh 137 g Sacch. /kg FM	27,84	42,39	7,34	3,80
Weizenstroh 274 g Sacch. /kg FM	26,90	38,93	10,47	3,73

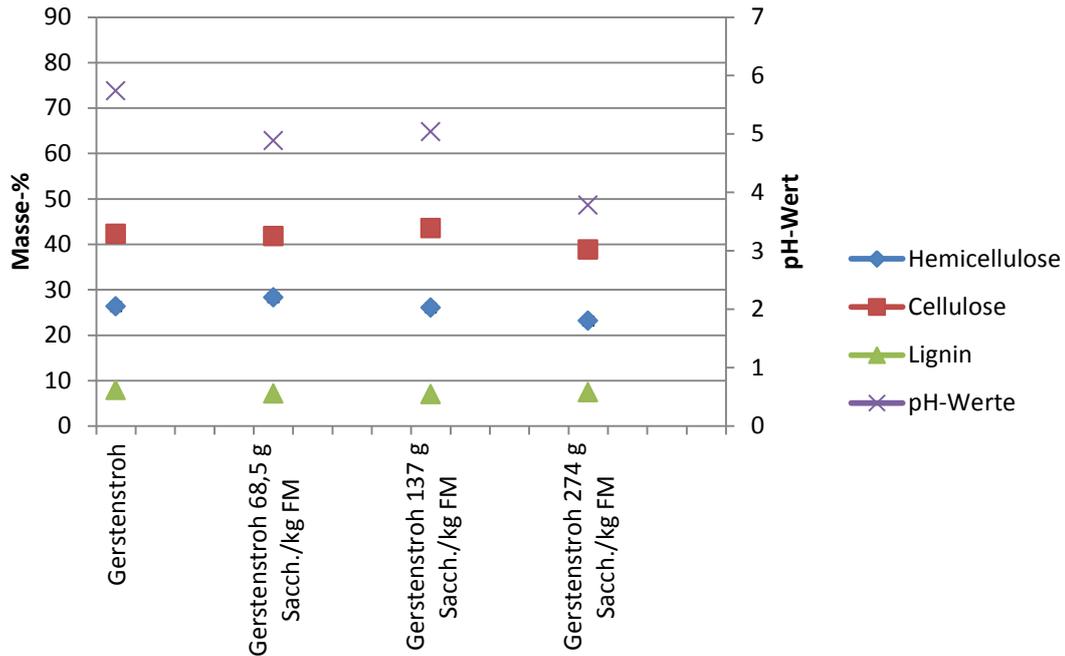


Abb. 17: Rohfaseranalytik bei Mischsilage Winterweizenstroh und Saccharose

Die Ligningehalte nehmen zunächst mit zunehmendem Saccharosegehalt der Silagen ab. Jedoch liegt der Ligningehalt der Silagen mit dem größten Saccharoseanteil deutlich über dem der vorletzten Stufe. Dies gilt für die Gersten- und die Weizenmischsilagen. In beiden Silagen liegen sowohl Hemi- als auch Cellulosegehalte bei der Saccharose-Variante 68,8 g/kgFM über der reinen Strohsilage. Erst die Varianten 274 g/kgFM liegen deutlich unter den Werten der reinen Strohsilagen.

Die Anteile der Hemicellulosen zu Cellulose sind im Vergleich der Gersten- und Weizensilagen in etwa ausgeglichen; sie differieren im Bereich von ca. 3% und unterscheiden sich somit nicht signifikant voneinander.

Die pH-Werte nehmen in allen Varianten erwartungsgemäß tendenziell mit steigender Saccharosestufe ab [Tab. 7, Abb. 17].

### 3.2.2 Winterweizenstroh, Algen und Saccharose

Die Lignin-Gehalte nehmen mit steigendem Algenanteil tendenziell ab. Ausnahmen bilden die Varianten *Chlorella vulgaris* 20% sowie 10% + 10% Saccharose.

Die Hemicellulosen nehmen nur in den Spirulina-Varianten entsprechend der Faktorstufe ab. Allerdings gilt dies wiederum nicht für die Variante mit 10 % Saccharose [Tab. 8, Abb. 18].

Die pH-Werte lagen durchweg in Bereichen über 4, so dass der Siliererfolg als schwach bis mäßig bezeichnet werden muss.

Tab. 8: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Winterweizenstroh und Algen

Probenbezeichnung	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	ADL (%)	pH-Werte
Weizenstroh	21,83	42,23	5,93	4,80
Weizenstroh Chl. Vulg. 5%	24,24	41,86	3,31	5,78
Weizenstroh Chl. Vulg. 10%	16,75	44,57	3,05	5,98
Weizenstroh Chl. Vulg. 20%	20,03	33,89	6,82	4,68
Weizenstroh Chl. Vulg. 10%/Sacch. 10%	24,88	36,21	8,37	4,27
Weizenstroh Spirulina spp. 5%	15,89	40,70	5,11	5,93
Weizenstroh Spirulina spp. 10%	12,96	37,61	5,26	4,99
Weizenstroh Spirulina spp. 20%	12,56	41,67	4,43	5,29
Weizenstroh Spirulina spp. 10%/Sacch. 10%	23,47	35,52	4,18	4,46

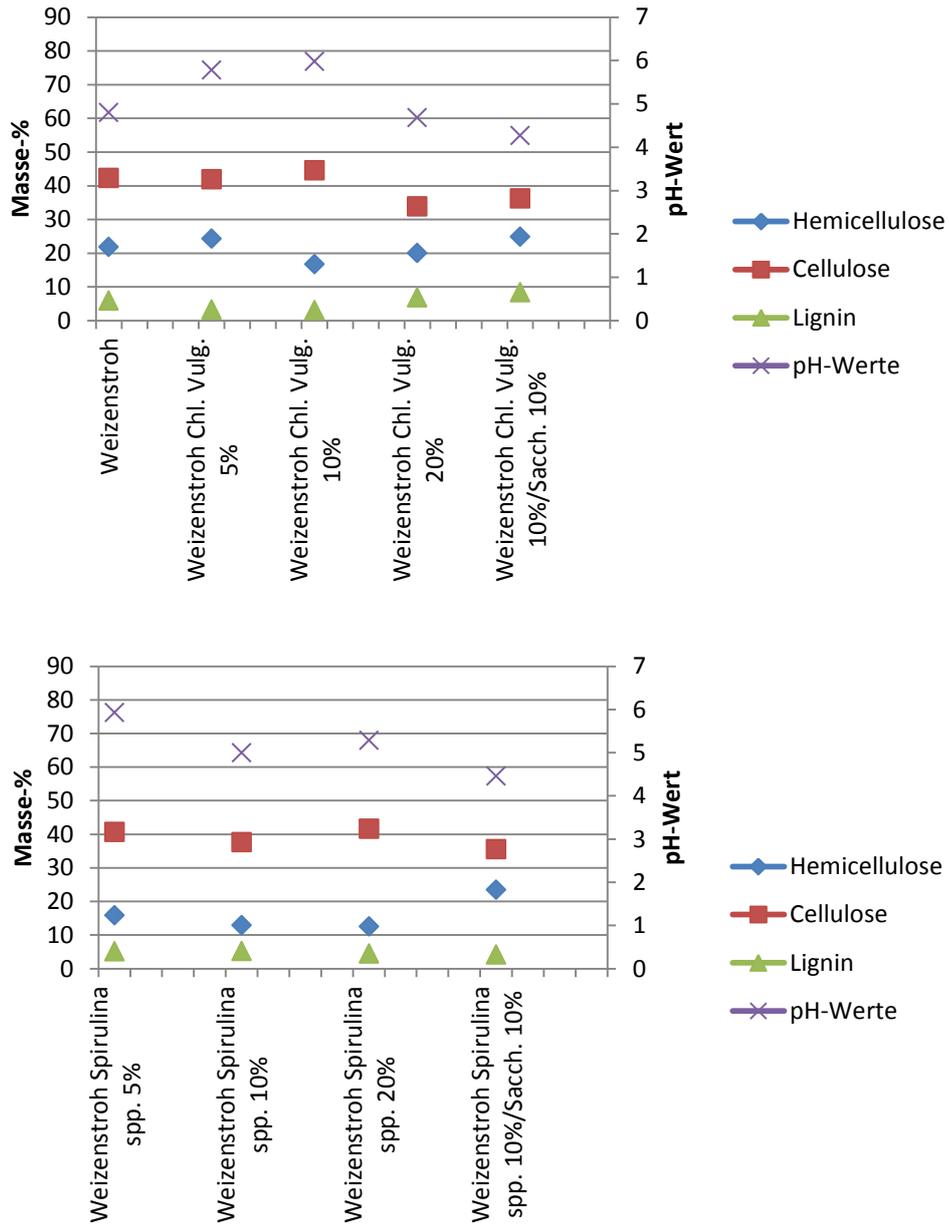


Abb. 18: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Winterweizenstroh und Algen

### 3.2.3 Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion

Die Hemicellulosen liegen erwartungsgemäß bei den Varianten Pilzstroh und Pilzstroh + 10% Saccharose bei 0. In den übrigen Varianten entsprachen die Gehalte den Mischungsverhältnissen von Heu, Pilzstroh und Saccharose.

Tab. 9: Rohfaseranalytik bei Mischsilage aus überständigem Grünlandaufwuchs und Pilzstroh

Probenbezeichnung	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	ADL (%)	pH-Werte
Pilzstroh	1,22	28,49	8,50	5,08
Pilzstroh / Saccharose	0,68	24,97	7,07	4,61
Heu	18,80	31,76	6,99	4,47
Heu / Saccharose	19,23	28,97	6,40	4,22
Heu/Pilzstroh 75/25	15,14	31,09	5,92	4,55
Heu/Pilzstroh 75/25 / Saccharose	13,68	29,19	6,50	4,23
Heu/Pilzstroh 90/10	14,49	33,15	5,89	4,46
Heu/Pilzstroh 90/10 / Saccharose	16,30	31,88	5,76	4,30

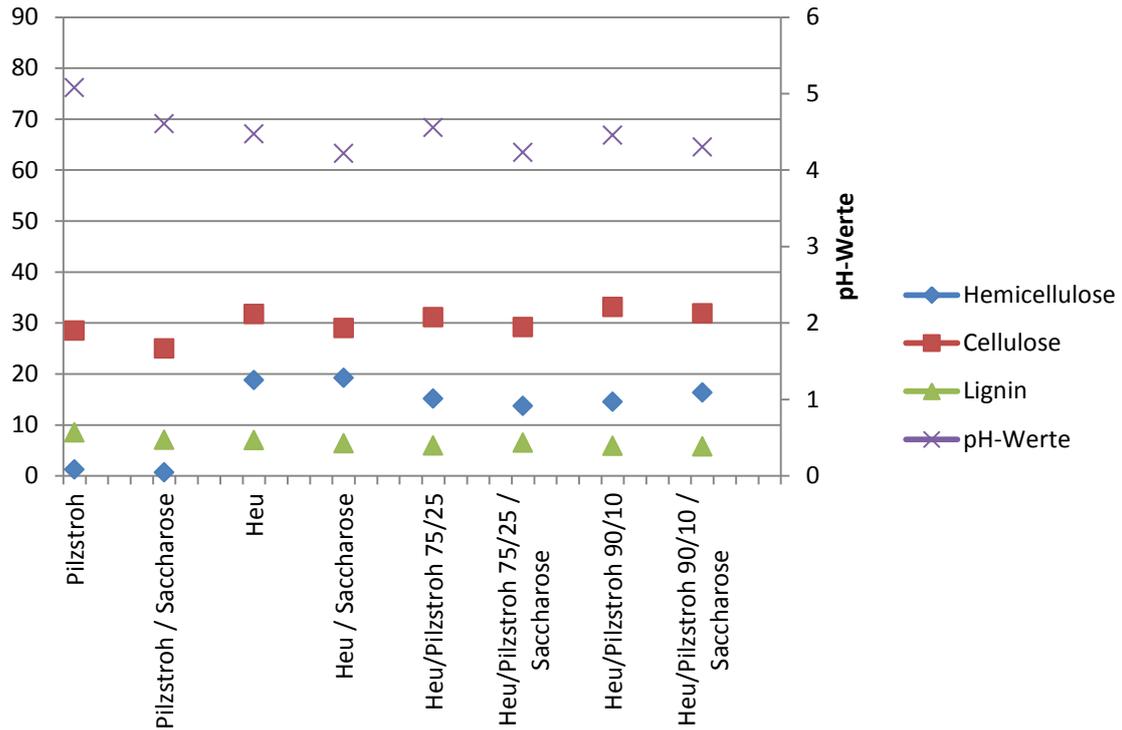


Abb. 19: Rohfaseranalytik bei Mischsilage aus überständigem Grünlandaufwuchs und Pilzstroh

### 3.2.4 Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase

Die Übersicht über den gesamten Versuch [Abb. 20, Tab. 10] sieht nur auf den ersten Blick verwirrend aus. Es fällt auf, dass sowohl die Hemicellulose- als auch die Cellulose- und Ligninwerte in den Saccharose-Varianten systematisch geringer sind. Gleiches gilt für die pH-Werte. Betrachtet man die Cellulase-Varianten separat (A bis D), sieht man, dass auch die Zugabe der 10-fachen empfohlenen Menge (D) gegenüber der Null-Variante keinen grundsätzlich stärkeren Celluloseabbau bedeutet. In den Cellulase-Varianten, die zusätzlich Saccharose enthielten, waren die Varianten zwischen den Varianten deutlich geringer. Auffällig ist, dass in diesen Varianten ab der Variante B2G (0,2 g Cellulase, 180 g Saccharose, 0,0015 g Lactobacter) /kgFM die Cellulose-Anteile von durchschnittlich 17,4% auf 27,32% sprunghaft ansteigen.

Die Hemicellulose-Werte der Varianten ohne Saccharose steigen mit zunehmendem Cellulaseanteil tendenziell leicht an. Bei den Saccharose-Varianten war dieser Effekt deutlich schwächer ausgeprägt. Korreliert man die Werte der Varianten ohne Saccharose gegen die Cellulose-Anteile (0; 0,2; 0,4; 2) g/kgFM, erhält man einen Korrelationskoeffizienten von 0,649. Bei Korrelation der Saccharose-Varianten ergibt sich 0,363.

**Tab. 10: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase**

<b>Probenbezeichnung</b>	<b>Hemicellulose (%)</b>	<b>Cellulose (%)</b>	<b>ADL (%)</b>	<b>pH-Werte</b>
Gerstenstroh	21,36	45,04	9,75	4,82
Gerstenstroh/Saccharose	16,57	16,86	6,90	2,62
Gerstenstroh/Lactobacter	22,37	44,84	9,48	3,58
Gerstenstroh/Saccharose/ Lactobacter	15,89	17,79	7,51	2,22
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg)	22,46	41,26	9,79	2,90
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Saccharose	16,87	17,56	6,11	2,33
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Lactobacter	24,77	43,50	8,86	4,10
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) Saccharose / Lac- tobacter	16,98	27,32	4,54	3,02
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg)	22,89	36,35	11,19	2,60
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Saccharose	18,05	27,45	3,92	2,00
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Lactobacter	26,35	44,00	9,52	3,01
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) Saccharose / Lac- tobacter	18,08	27,43	4,09	2,04
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg)	25,06	46,06	7,48	3,64
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) / Saccharose	17,89	27,60	3,97	2,25
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) / Lactobacter	26,33	42,70	7,93	2,81
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) Saccharose / Lacto- bacter	16,96	26,81	5,50	2,26

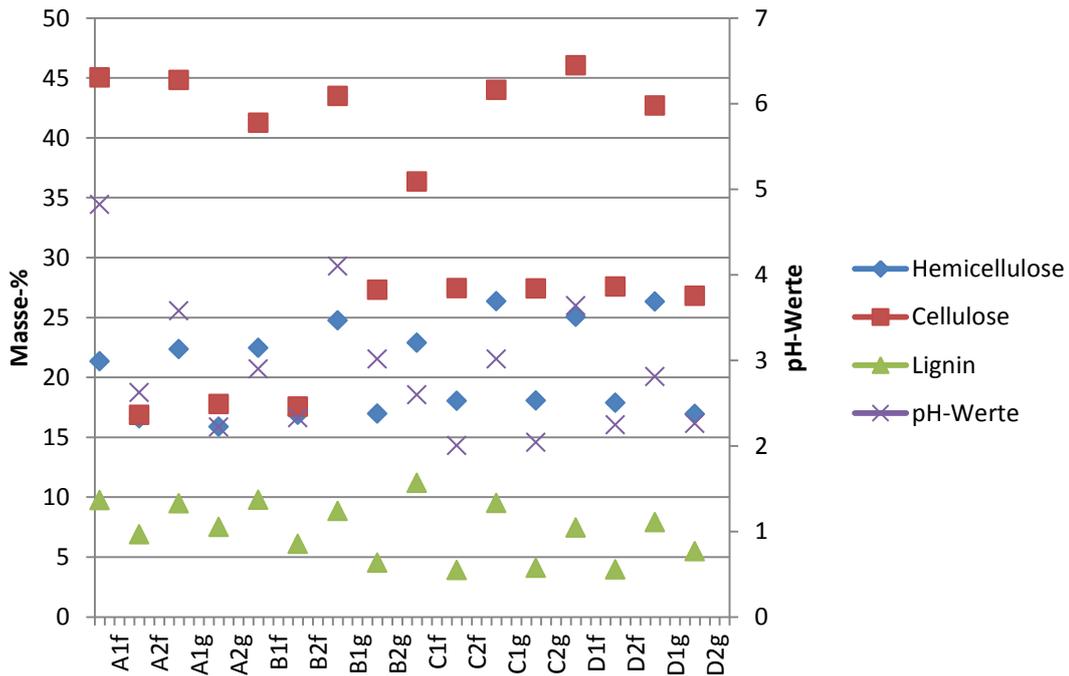


Abb. 20: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase

### 3.2.5 Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte

Erwartungsgemäß sind in den Varianten mit Stroh alle Rohfaser-Anteile höher. Da die Varianten anteilig aus unterschiedlichen Zwischenfrüchten mit und ohne Stroh zusammengesetzt sind, ist ein systematischer Vergleich nicht möglich. Jedoch können die Früchte miteinander verglichen werden.

Der Weißsenf hat mit 28,8% den höchsten Cellulose-Anteil und mit 5,9% einen höheren Lignin-Anteil als Bitterlupine. Phacelia hat mit 6,27% den höchsten Lignin-Anteil der getesteten Zwischenfrüchte, aber mit nur 9,6% den niedrigsten Anteil an Hemicellulosen. Mit hohen Anteilen an Cellulose und Hemicellulosen liegt die Eigenmischung aus je einem Drittel Ackerbohne, Sommerwicke und Hafer noch vor der Mischung MaisPro, Phacelia und Bitterlupine [Tab. 11, Abb. 21].

Die pH-Werte liegen im Bereich zwischen 3,7 und 4,5. Die Silierfähigkeit ist damit gegeben.

Tab. 11: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchten

Probenbezeichnung	Hemicellulose %	Cellulose %	ADL (%)	pH-Werte
Bitterlupine ohne Stroh	13,84	23,37	4,95	4,20
Bitterlupine mit Stroh	20,96	33,47	6,09	3,85
Weißsenf ohne Stroh	11,03	28,80	5,91	4,41
Weißsenf mit Stroh	21,38	37,00	6,95	3,76
Phacelia ohne Stroh	9,62	23,99	6,27	4,51
Phacelia mit Stroh	21,40	34,06	5,28	3,77
Eigenmischung ohne Stroh	12,23	27,95	4,07	4,06
Eigenmischung mit Stroh	22,63	37,36	5,78	3,41
MaisPro ohne Stroh	7,66	20,92	4,02	3,94
MaisPro mit Stroh	19,51	33,34	5,01	3,77

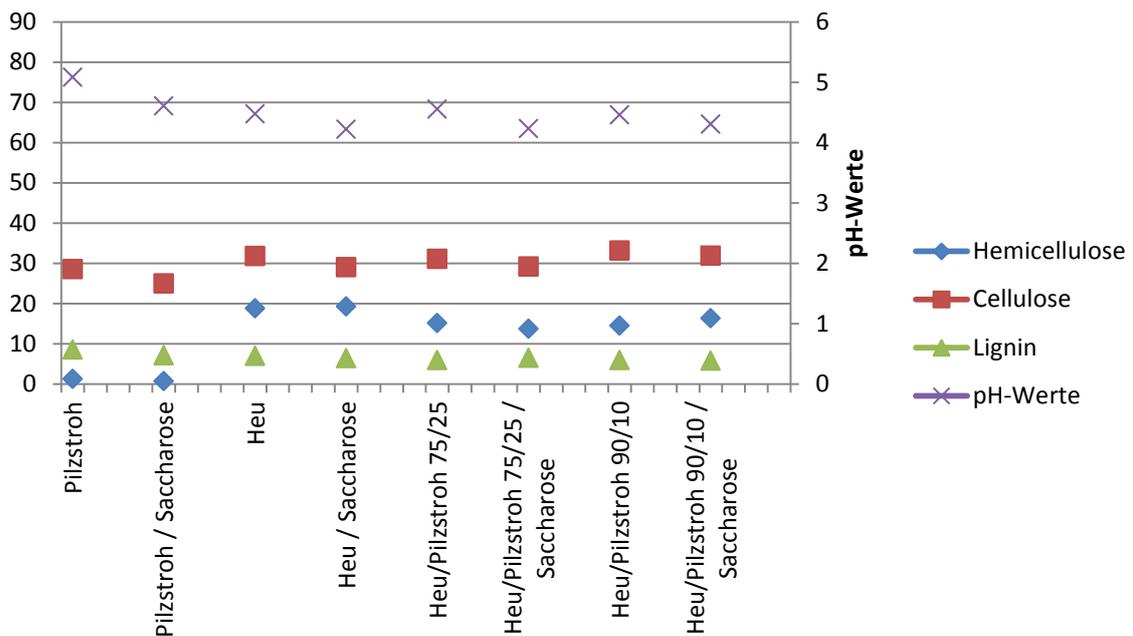


Abb. 21: Rohfaseranalytik bei Mischsilagen aus Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchten

### 3.2.6 Wintergerstenstroh

Als Grundmaterial bzw. Mischungsbestandteil von Wert für die Biogaserzeugung hatte sich das Wintergerstenstroh herausgestellt. Daher war es sinnvoll, dieses Material in größerem Umfang (6 Wiederholungen) zu untersuchen [Tab 12].

**Tab. 12: Rohfaseranalytik bei Wintergerstenstroh vor der Silierung**  
(alle Angaben in Masse-%)

Wintergerstenstroh					
	Hemicell.	Cellulose	Lignin	Asche	Summe
Wdh. 1	26,2251928	45,8654447	8,76900646	1,3642991	82,2239431
Wdh. 2	14,6959646	26,0364052	7,33822548	0,61946059	48,6900559
Wdh. 3	26,6406302	41,1554093	7,29630346	1,90632862	76,9986716
Wdh. 5	15,9379657	27,9146141	10,3345649	0,40024631	54,587391
Wdh. 6	27,5583308	46,12388	8,55083755	1,26606934	83,4991177
	Hemicell.	Cellulose	Lignin	Asche	Summe
Durchschn.	22,2116168	37,4191507	8,45778756	1,11128079	69,1998358
StAbw	6,32763837	9,75928959	1,24802575	0,60570949	16,348496

Die durchschnittlichen Gehalte entsprechen denen der bei den vorausgegangenen Versuchen im Wintergerstenstroh gemessenen Werte.

Auffällig sind die hohen Standardabweichungen. Diese können sich aus der großen Inhomogenität der Matrix erklären. Selbst bei dem entsprechenden Vermahlungsgrad von 1 mm und einer sorgfältigen Durchmischung birgt die Entnahme von den lediglich erforderlichen 1 g pro Untersuchung die Möglichkeit, punktuell mehr von stärker verholztem Material zu entnehmen, z.B. aus einer Nodie stammend.

## 3.3 Biogasertragstests

### 3.3.1 Winterweizen-, Gerstenstroh und Saccharose

#### 3.3.1.1 GKT

Der GKT stand erst später im Projekt zur Verfügung, so dass ein Biogasertragstest mit dieser Silage nicht mehr sinnvoll war.

#### 3.3.1.2 Sensorbiogasanlage

Die verwendete Maissilage hat keinen nennenswerten Methanertrag gebracht und war sehr früh in der Plateauphase. Eine mögliche Ursache hierfür ist in der Probennahme zu suchen. Zum Zeitpunkt der Probennahme aus dem Fahrsilo bei der Biogasanlage war das Silo offen und regennass. Die Probe wurde aus einem grenznahen Bereich zu lose liegender Silage entnommen, wie sie in **Abb. 23** unten links zu sehen ist. Am beprobten Silo war der gesamte Bodenbereich ca. meterhoch mit losem Silo bedeckt, daher war die Entnahme aus höheren Bereichen erschwert. Im lose

liegenden Bereich waren Schimmelnester sichtbar. Die Möglichkeit der Konkurrenz zu *Methanobacter*-Arten und Abbau von vergärbare Substanz ist möglich. Ebenso kann eine ungenügende Verdichtung an den Entnahmestellen vorgelegen haben [Abb. 22]. Die Entnahme von Maissilage erfolgte nachfolgend grundsätzlich an frischen Anstichen.

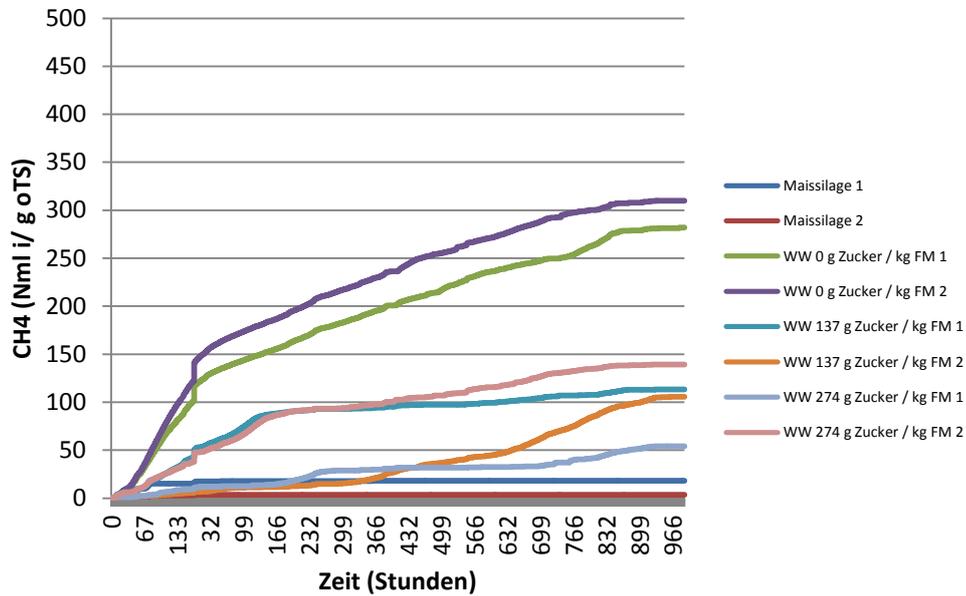


Abb. 22: Methanerträge im Versuch Winterweizenstroh und Saccharose

Den größten Methanertrag erbrachten mit durchschnittlich 296 ml<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g<sub>oTS</sub> die reinen Strohsilagen. Die Varianten 137 g Saccharose / kg FM erbrachten 109 ml<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g<sub>oTS</sub>. Die Varianten 274 g Saccharose / kg FM hatten 96 ml<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g<sub>oTS</sub>, allerdings war in einer Wiederholung mit nur 54 ml von einer Fehlgärung auszugehen; die andere Wiederholung erzielte 139 ml.

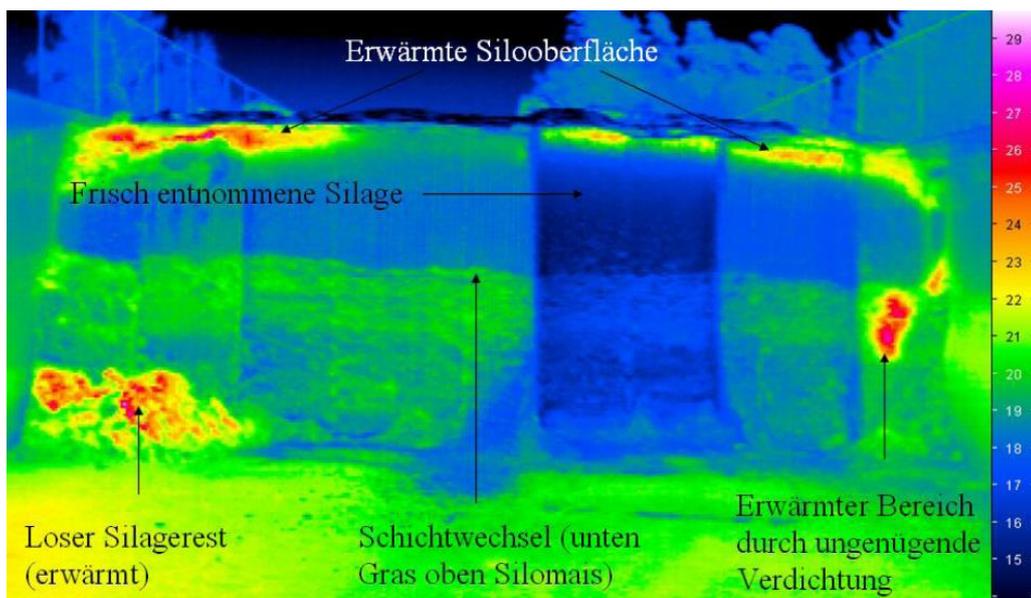


Abb. 23: Darstellung der Nacherwärmung und Verlustermittlung durch Wärmebild (EBA Triesdorf)

### 3.3.2 Winterweizenstroh, Algen und Saccharose

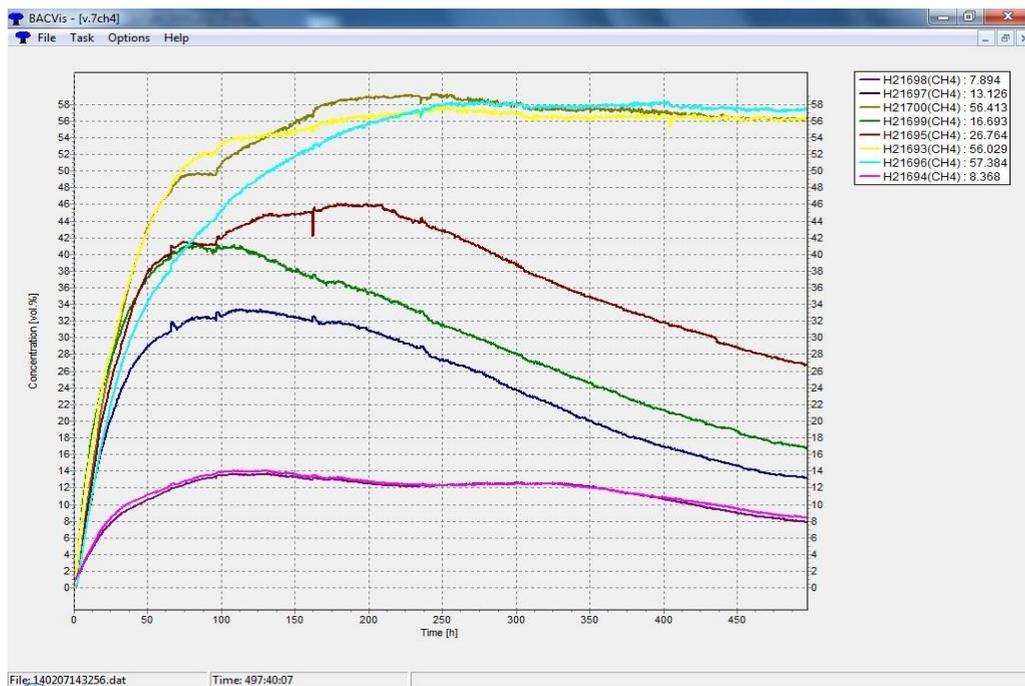
#### 3.3.2.1 GKT

Der GKT stand erst später im Projekt zur Verfügung, so dass ein Biogasertagstest mit dieser Silage nicht mehr sinnvoll war.

#### 3.3.2.2 Sensorbiogasanlage

**Abb. 24** zeigt, wie die Methankonzentrationen jeweils einer Wiederholung stark zurückgehen, was durch einen Austrag von Methan nach Ende der Methanogenese hervorgerufen wird. Die jeweils andere Wiederholung erzielte mäßige Erträge. Erstaunlicherweise ergab eine der beiden Null-Varianten einen Ertrag von 108 ml Methan, während die zweite einen geringen Ertrag von 9,7 ml aufwies. Eine Variante mit je 10 Gew.-% Anteil *Chlorella vulgaris* und Saccharose lag mit 135,9 ml an der Spitze, gefolgt von einer Algenmischsilage mit 122,74 ml.

Die jeweils anderen Wiederholungen dieser Varianten hatten 62,86 ml (Algen + Saccharose) bzw. 87,01 ml (Algen) **Methan [Abb. 25]**. Alle Varianten wiesen hohe Abweichungen untereinander auf.



**Abb. 24: Methankonzentrationen im Versuch Winterweizenstroh, Algen und Saccharose**

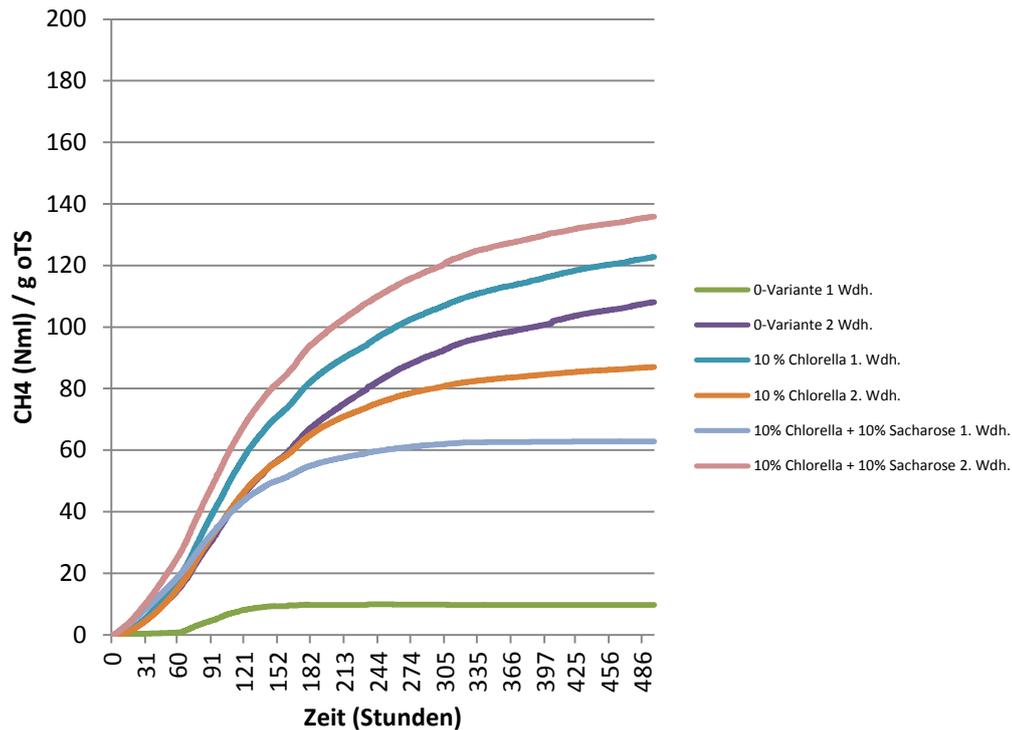


Abb. 25: Methanerträge im Versuch Winterweizenstroh, Algen und Saccharose

### 3.3.3 Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion

#### 3.3.3.1 GKT

**Tabelle 13** und **Abbildung 26** zeigen die Entwicklung des Gesamtgasertrages in Abhängigkeit der Substratmischungen. Erwartungsgemäß haben die Saccharose-Varianten bei zwei Komponenten den jeweils höheren Ertrag. In den Saccharose-Varianten mit Heu und Pilzstroh führte die Saccharosegabe nicht zur Ertragssteigerung.

In den Mischsilagen aus Heu und Pilzstroh ist der Ertrag bezogen auf Heu geringer, jedoch höher als rechnerisch zu erwarten gewesen wäre [Kap.4]. **Tabelle 13** zeigt überdies zum Vergleich die Gesamtgaserträge der Varianten, die in der Sensorbiogasanlage gemessen wurden. Die reine Pilzstroh-Silage hatte den geringsten Ertrag. Die Saccharose-Varianten der Heu/Pilzstroh-Mischsilagen liegen im Ertrag unterhalb der jew. Varianten ohne Saccharose.

Tab. 13: Gesamtgaserträge im Versuch Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion im GKT und Sensorbiogasanlage

Substrat	Ges.Gas (Nml/g oTS)	
	GKT	Sensoranl.
Pilzstroh	507,02	278,77
Pilzstroh/Saccharose	544,62	443,22
Heu	679,23	
Heu/Saccharose	726,77	
Heu/Pilzstroh 75/25	674,20	
Heu/Pilzstroh 75/25 / Saccharose	668,29	
Heu/Pilzstroh 90/10	695,74	
Heu/Pilzstroh 90/10 Saccharose	707,04	
Maissilage	739,57	515,31

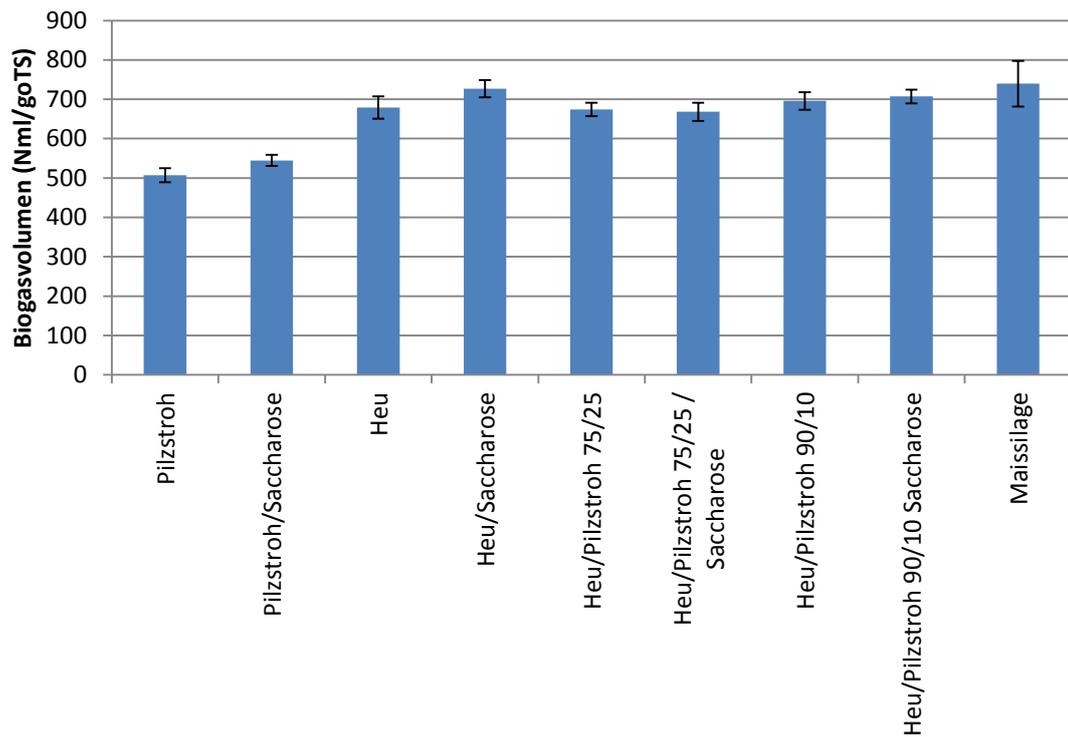
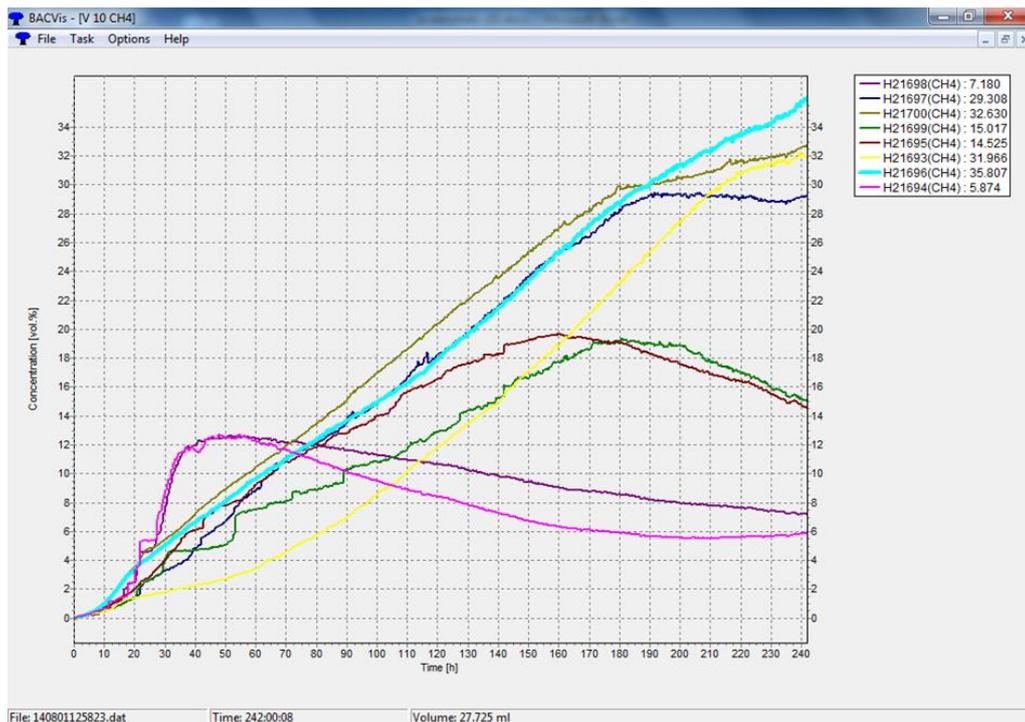


Abb. 26: Gesamtgaserträge im Versuch Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion im GKT

### 3.3.3.2 Sensorbiogasanlage

Dieser Versuch zeigte zunächst nach bereits zehn Tagen, dass die Gasentwicklung in der Plateauphase angekommen war. Die Mais-Referenzen hatten eine sehr niedrige Methankonzentration [Abb. 27]. Der Versuch wurde daher nach 240 Stunden abgebrochen. Die Verrechnung mittels des in Kap. 2.4.2 aufgeführten Algorithmus zeigte jedoch, dass der Ertrag bei zumindest einer der Pilzstroh-Saccharose-Varianten weiterhin angestiegen wäre. Hier zeigte sich einer der Nachteile der neuartigen Sensorbiogasanlage. Die Software erlaubt während der Messungen keine Darstellung der tatsächlichen Methanerträge, sondern diese werden ohne Bezug zum Ertrag als Konzentration zum Messzeitpunkt dargestellt. Erst die Berechnung nach Abschluss der Messungen erlaubt eine Aussage über den Methanertrag [Abb. 28].

Überdies lässt die Tatsache, dass die Konzentrationen teilweise anstiegen bzw. fielen, obwohl die Gasertragskurven in der Plateauphase waren, als einzigen Schluss eine Undichtigkeit im System zu. Die Überprüfung der gesamten Anlage zeigte dafür jedoch keinen Anhaltspunkt. In den weiteren Versuchen wurden daher sämtliche Gummidichtungen mit Schliff fett behandelt, obgleich der Innendruck im Betrieb kaum über dem Umgebungsdruck liegt und diese Maßnahme in der Betriebsanleitung nicht gefordert wird.



**Abb. 27: Entwicklung der Methankonzentrationen im Versuch Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion nach 240 Stunden**  
(In Violett und Rosa sind die Mais-Referenzen dargestellt)

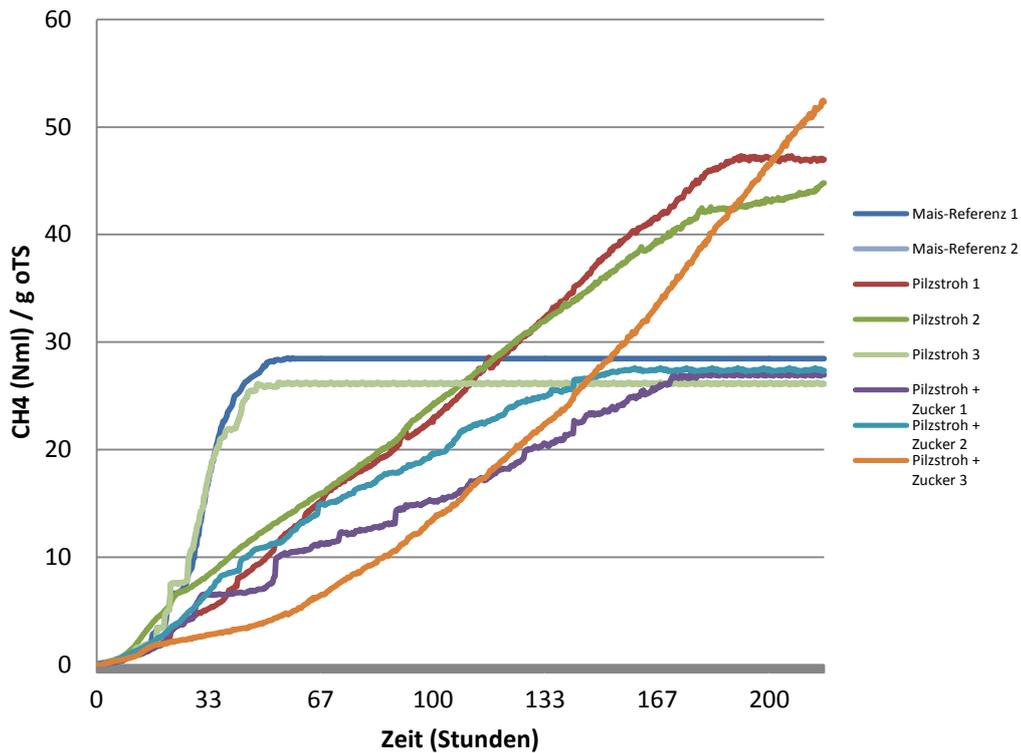


Abb. 28: Methanerträge ausgewählter Silagen im Versuch Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion nach 240 Stunden

### 3.3.4 Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase

#### 3.3.4.1 GKT

Die Saccharose-Varianten hatten in jedem Variantenpaar den höheren Ertrag [Abb. 28, Tab. 14]. Den höchsten Ertrag erzielte die Variante mit der höchsten Faktorstufe (Gerstenstroh, Cellulase [2g/kg<sub>FM</sub>], Saccharose, Lactobacter) mit 782 ml Methan. Einen niedrigeren Ertrag als reine Gerstenstroh-Silage (571 ml) hatten Gerstenstroh mit Lactobacter (533 ml), Gerstenstroh mit 0,2g/kg<sub>FM</sub> Cellulase (544 ml) sowie Gerstenstroh mit 0,4g/kg<sub>FM</sub> Cellulase (563 ml). Erst mit 2 g, also dem 10-fachen der empfohlenen Menge wurde mit 687 ml Methan ein deutlicher Ertragszuwachs erzielt.

Die Erträge steigen tendenziell mit steigender Faktorstufe an. Jedoch ist das Bestimmtheitsmaß der linearen Abhängigkeit mit  $R^2 = 0,45$  sehr gering. Für weitergehende Aussagen bietet sich daher die Sortierung nach Faktorstufen an [Abb. 30 und 31].

**Tab. 14: Durchschnittliche Gesamtgaserträge im Versuch Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase**

<b>Variante</b>	<b>Ertrag (Nml/g oTS)</b>
Gerstenstroh	571,11
Gerstenstroh/Saccharose	662,18
Gerstenstroh/Lactobacter	553,35
Gerstenstroh/Saccharose/ Lactobacter	651,90
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg)	544,57
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Saccharose	633,51
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Lactobacter	660,01
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) Saccharose / Lactobacter	750,52
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg)	562,80
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Saccharose	767,92
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Lactobacter	687,22
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) Saccharose / Lactobacter	763,55
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg)	684,88
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) / Saccharose	744,95
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) / Lactobacter	677,87
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) Saccharose / Lactobacter	782,63
Mais-Referenz	698,47

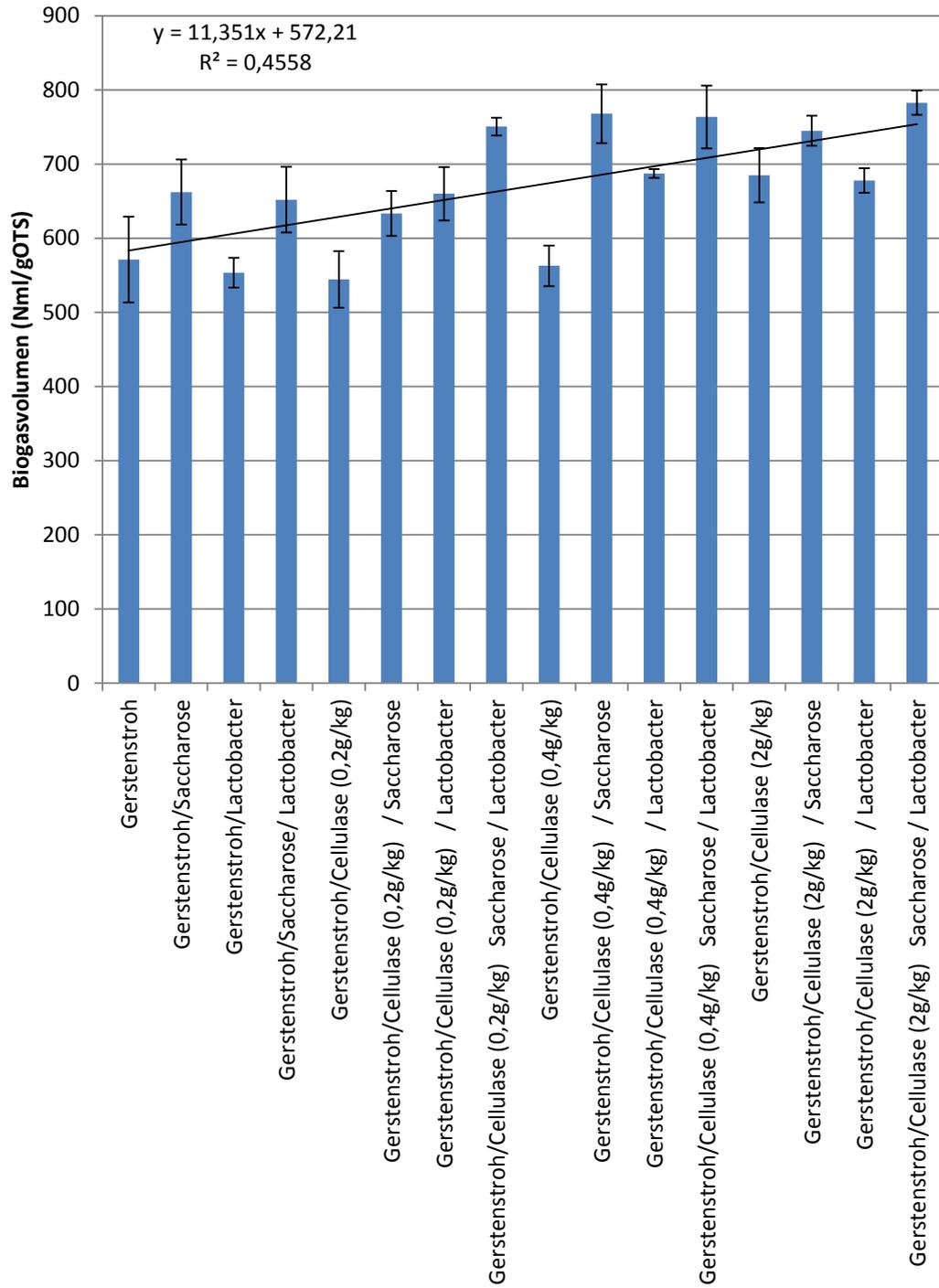
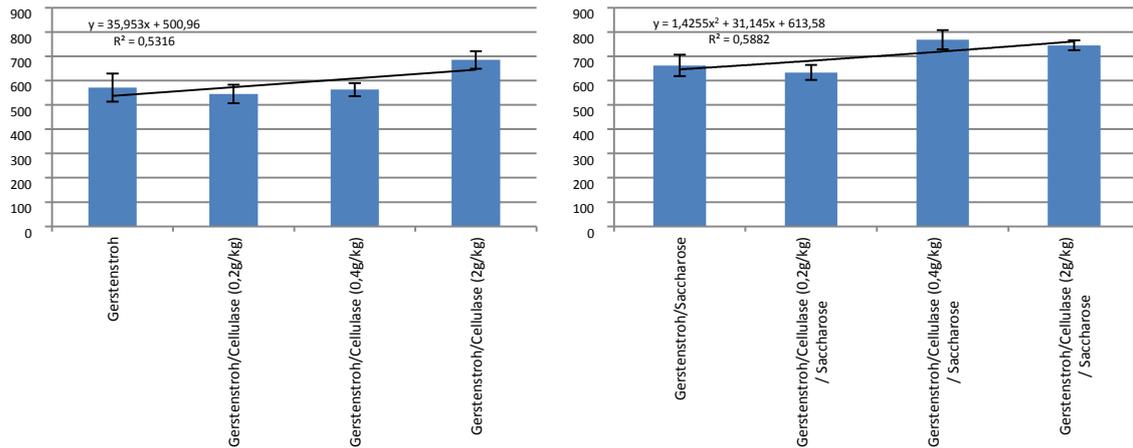
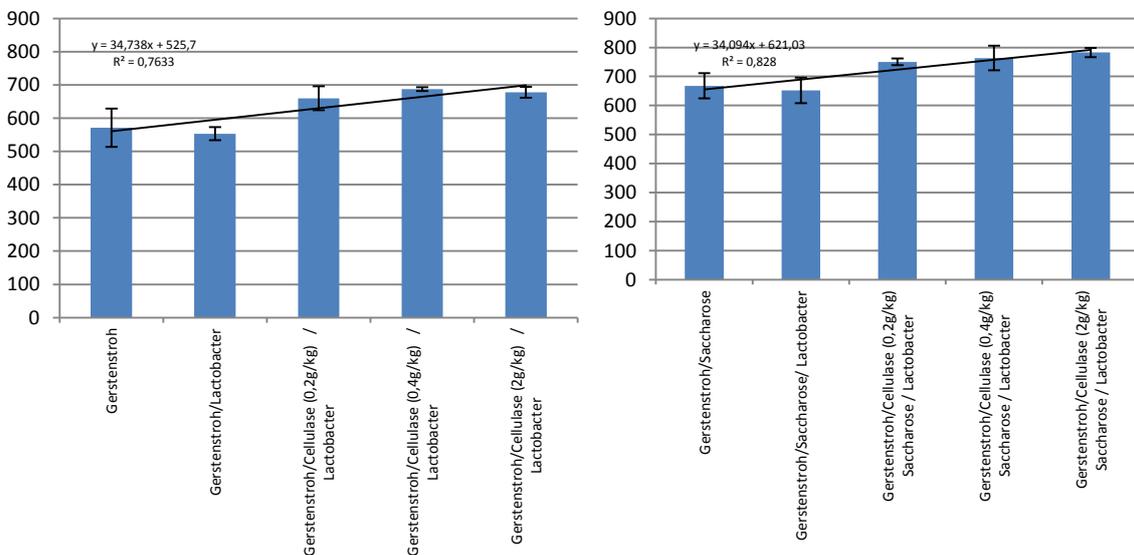


Abb. 29: Gesamtgaserträge im Versuch Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase



**Abb. 30: Gaserträge der Cellulase-Varianten** ohne (*links*) und mit Saccharose (*rechts*)

Die reine Cellulase-Zugabe zum Gerstenstroh erbrachte erst bei zehnfacher empfohlener Menge einen deutlichen Mehrertrag. Es ist lediglich eine mittlere lineare Abhängigkeit ausgeprägt [Abb. 30, links]. Gleiches gilt für die Saccharose-Varianten, wo die Cellulasegabe erst in der doppelten empfohlenen Menge einen Mehrertrag erbrachte, der bei der zehnfachen Menge wieder abfiel [Abb. 30, rechts].



**Abb. 31: Gaserträge der Lactobacter- und Cellulase-Varianten** ohne (*links*) und mit Saccharose (*rechts*)

Die reine Lactobacter-Zugabe in der empfohlenen Menge erbrachte einen Minderbetrag von ca. 18 ml Methan, was bezogen auf die Strohsilage 3,2% entspricht. Die zusätzliche Gabe von Cellulase führte mit 660 ml Methan zu einem Mehrertrag von 15,6%. Eine weitere Erhöhung der Cellulasegabe erbrachte keinen Ertragszuwachs [Abb. 31, links].

In den Saccharose-Varianten führte die reine Lactobacter-Zugabe im Durchschnitt zu einem Minderertrag von 1,5% gegenüber der Stroh-Saccharose-Variante, was jedoch bei Betrachtung der Standardabweichungen statistisch nicht aussagekräftig ist. Mit höherem Cellulase-Anteil wurde der Ertrag wiederum vergrößert, und zwar bei der empfohlenen Menge um 13,5% gegenüber der Stroh-Saccharose-Variante.

In der Kombination Gerstenstroh/Cellulase/Saccharose/Lactobacter ergab die Verdoppelung der Cellulasemenge von 0,2 auf 0,4 g/kg<sub>FM</sub> mit 763 ml gegenüber 750 ml Methan einen Mehrertrag von lediglich weiteren 5%. Die Verzehnfachung der Cellulasemenge erbrachte mit 783 ml Methan gegenüber der reinen Saccharosevariante einen Mehrertrag von 18,3%, gegenüber der empfohlenen Menge jedoch nur einen Mehrertrag von 4,3% [Abb. 31, rechts].

In beiden Sortierungen der Faktorstufen besteht jedoch eine lineare Korrelation zwischen Ertragssteigerung und steigender Faktorstufe.

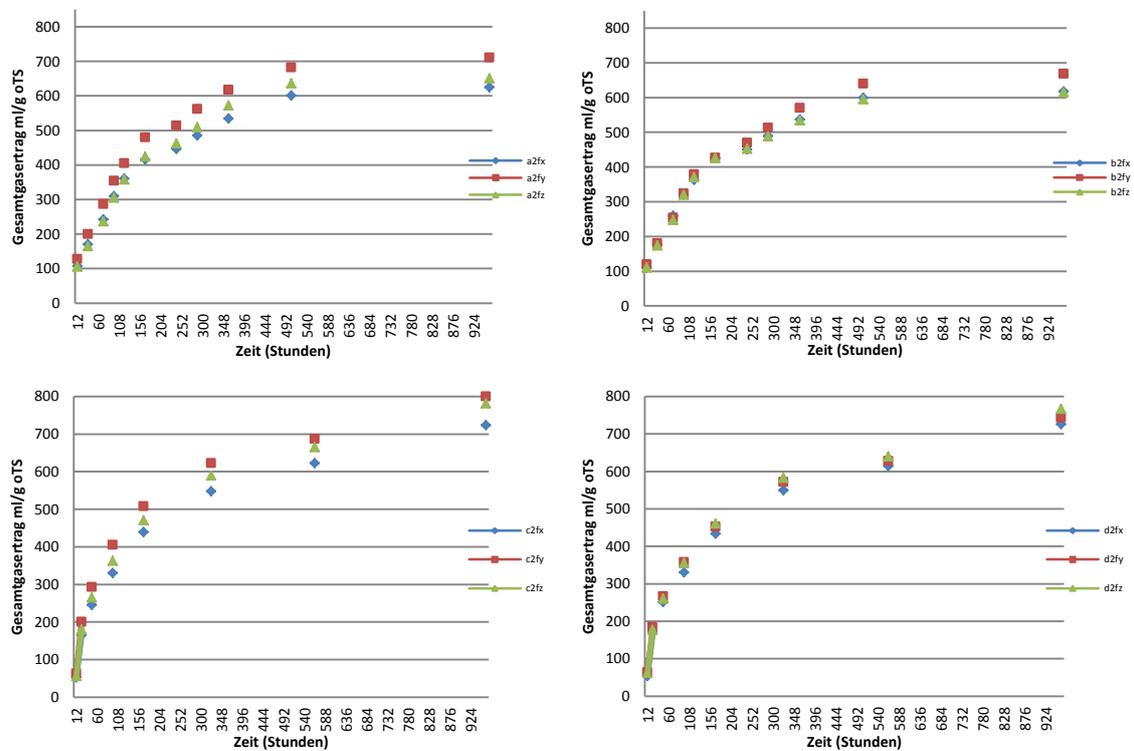


Abb. 32: Verlaufskurven der Gesamt-Gaserträge in den Saccharose-Varianten mit steigender Cellulase-Gabe (von A nach D mit 0; 0,2; 0,4 und 2 g<sub>Cellulase</sub>/kg<sub>FM</sub>)

### 3.3.4.2 Sensorbiogasanlage

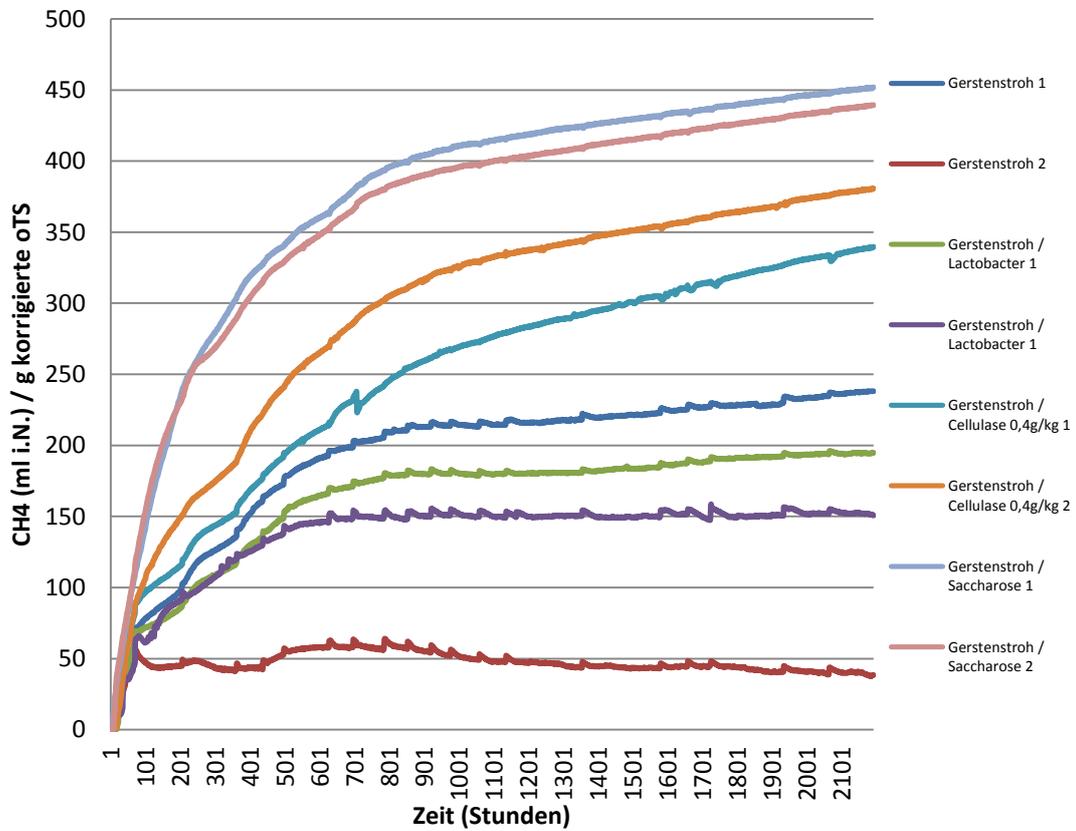


Abb. 33: Verlaufskurven der Methanerträge

Für den Sensortest wurde Silagen aus Gerstenstroh, Gerstenstroh/Lactobacter, Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) und Gerstenstroh/Saccharose ausgewählt.

Den höchsten Methanertrag erbrachten die beiden Saccharose-Varianten mit 451,9 bzw. 439,4 ml Methan, gefolgt von den Cellulase-Varianten mit 339,7 bzw. 380,6 ml. Die Lactobacter-Varianten lagen bei 194,7 bzw. 150,8 ml Methan. Eine Gerstenstroh-Variante lag bei 238,2 ml, die andere bei 40,5 ml Methan.

### 3.3.5 Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte

#### 3.3.5.1 GKT

Tab. 15: Gesamtgaserträge im Versuch Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte

Variante	Ertrag (Nml/g oTS)
Bitterlupine ohne Stroh	442,32
Bitterlupine mit Stroh	418,08
Weißsenf ohne Stroh	406,61
Weißsenf mit Stroh	410,43
Phacelia ohne Stroh	359,15
Phacelia mit Stroh	442,32
Eigenmischung ohne Stroh	457,04
Eigenmischung mit Stroh	426,85
MaisPro ohne Stroh	411,55
MaisPro mit Stroh	383,77
Impf Schlamm	76,19
Mais-Referenz	625,47

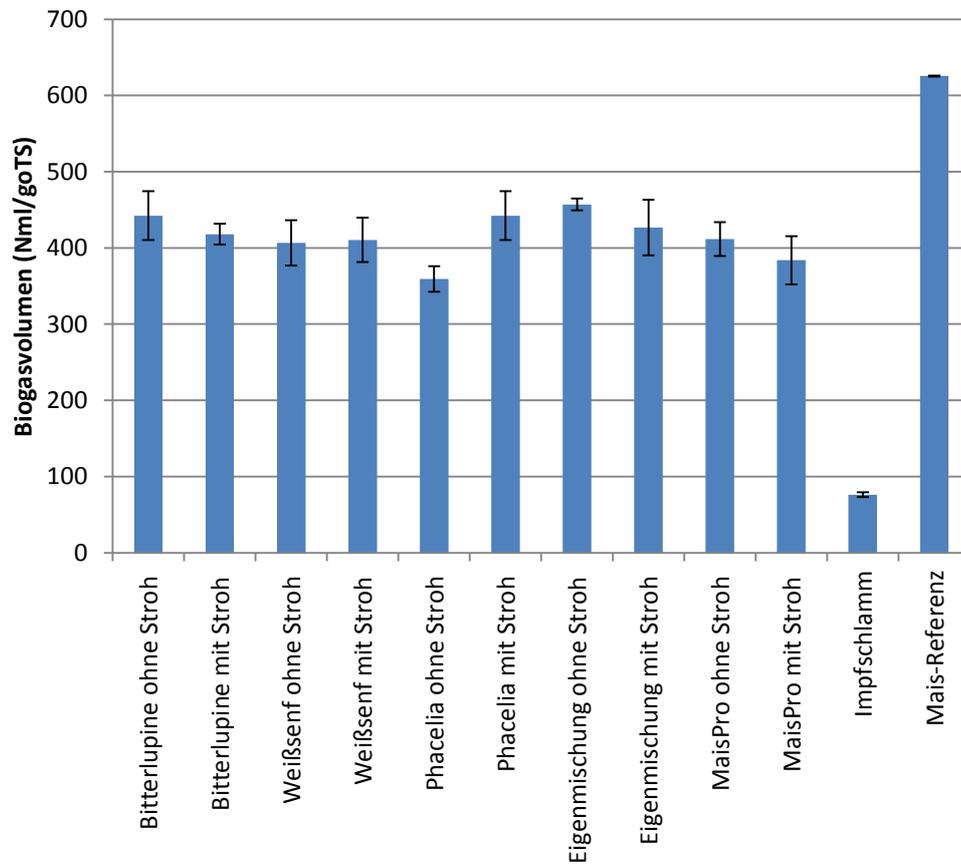


Abb. 34: Gesamtgaserträge im Versuch Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte

Der GKT erbrachte hier die bislang geringsten gemessenen Erträge. In den Silagen aus Bitterlupine hatte die Strohvariante einen um 5,4% geringeren Ertrag, lag mit ihrem Durchschnitt von 418 ml Methan aber noch innerhalb der StAbw. der strohlosen Variante (410 – 474 ml Methan). Zwischen den Erträgen der Weißstroh-Varianten bestand kein aussagefähiger Unterschied.

Die Phacelia-Variante mit Stroh erbrachte 23,1% Mehrertrag gegenüber Phacelia ohne Stroh. Bei der Eigenmischung und der Mischung MaisPro zeigte die Stroh-Variante einen Ertragsabfall von jeweils ca. 7%.

## 4 Diskussion

### 4.1 Winterweizenstroh, Gerstenstroh und Saccharose

Sowohl Weizen- als auch Gerstenstrohsilagen mit und ohne Saccharose wurden mittels Sinnenprüfung als gut silierbar und trotz mehrmonatiger Lagerung für die Biogasproduktion geeignet eingestuft. Saccharosezusatz sollte hier den Zusatz von Zuckerrüben im Labormaßstab simulieren.

Sowohl die Hemi- als auch Cellulosegehalte lagen bei der Saccharose-Variante 68,8g/kgFM über der reinen Strohsilage, bei den höheren Saccharose-Varianten deutlich darunter.

Die pH-Werte waren vergleichsweise hoch, was jedoch dem Umstand geschuldet sein kann, dass die Silagen dieses Versuches, der als erster Durchlauf vorgesehen war, um die Anlage frühzeitig auszulasten, eine mehrmonatige Lagerzeit bei -20°C hatten. Dabei kann der Gehalt an pH-Wertsenkenden, leicht flüchtigen Gärsäuren, auch im tiefgekühlten Zustand zurückgegangen sein.

Die pH-Werte nahmen mit steigender Faktorstufe tendenziell ab.

Die Methanerträge lagen in den getesteten Silagen am höchsten bei den reinen Stroh-Varianten. Dies ist allerdings ebenfalls dem o.g. Umstand zuzuschreiben. Immerhin zeigte dies auch, dass reine Strohsilagen auch nach mehrmonatiger Lagerung einen Methanertrag liefern können, der noch ca. bei der Hälfte von Maissilagen liegt.

Die Ergebnisse zeigten eine verminderte Vergärbarkeit beim Weizenstroh, was auf die ausgeprägte Cuticula beim Weizenstroh zurückzuführen ist.

Dieser Versuch lieferte erste Hinweise darauf, dass der Einsatz von Zuckerrüben als Kosubstrat Biogasmehrerträge erbringen kann.

### 4.2 Winterweizenstroh, Algen und Saccharose

Bei der Sinnenprüfung war in allen Varianten Buttersäure festzustellen. Dies kann auf grundsätzliche Schwierigkeiten bei der Silierung von Algen hinweisen. Die hohen Proteingehalte könnten eine puffernde Wirkung auf die Säurewirkung gehabt haben, wodurch das Risiko von Fehlgärungen steigt. Möglicherweise waren auch deshalb Essigsäure und Alkohole in leicht erhöhtem Maß vorhanden, die für die Methanogenese bis an die Grenze inhibitorischer Effekte erwünscht sind. Als Grenzen wird sich hier derzeit an Werten für die Grobfutterbewertung orientiert (Ohl, 2011).

Wegen der unterschiedlichen Anforderung an Futtermittel und Gärsilagen ist jedoch hier an eine Anpassung an die spezifischen Erfordernisse für die Letzteren zu denken. Für die Silierbarkeit insgesamt aber sind die genannten Gärprodukte ein Anzeichen für schwere Silierbarkeit.

Die pH-Werte lagen außer bei der Stroh-Silage (Null-Variante) und den Saccharose-Varianten um 5. Dies ist ein weiterer Hinweis auf die schwere Silierbarkeit von Algen.

Die Methanerträge wiesen insgesamt eine bislang noch nicht erklärliche hohe Varianz auf. Eine Null-Variante erzeugte 108 ml/g<sub>OTS</sub> Methan, die zweite lediglich 9,7 ml/g<sub>OTS</sub>.

Eine Saccharose-Variante lag mit 135,9 ml Methan an der Spitze, war damit aber immer noch unterhalb der errechneten und gemessenen Erträge verschiedener Getreidestroh-Silagen **[Tab. 18]**.

Alle Varianten wiesen hohe Abweichungen untereinander auf. Damit spiegeln diese Ergebnisse diejenigen eines Projektes an der Hochschule für Wirtschaft und Umwelt Nürtingen-Geislingen wider, in denen die Silierbarkeit von Stroh-Algenmischsilagen untersucht wurde (Stinner et al., 2016). Dort lagen die Erträge der Stroh-Algen-Mischsilagen unterhalb derer von reinen Algensilagen. Die reine Stroh-Silage hatte dort mit ca. 240 ml/g<sub>OTS</sub> einen ähnlichen Methanertrag wie die im vorliegenden Projekt erzielten **[Tab. 19]**. Die Mischsilagen lagen deutlich höher. Zwar wird das Mengenverhältnis Algen/Stroh in der genannten Studie nicht erwähnt, jedoch lässt sich dieses mit den angegebenen TS-Gehalten auf 10% Stroh-FM berechnen. Damit hatten die dort verwendeten Silagen einen ungleich höheren Algen-FM-Anteil als die im hier vorliegenden Versuch verwendeten. Das wiederum würde bedeuten, dass Algen dann interessant sind, wenn sie z.B. aus eutrophierten Gewässern in ausreichender Masse geerntet und als Hauptsubstrat einsiliert werden können.

Das Mengenverhältnis von 1:9 zugunsten der Algen-FM in Algen-Stroh-Mischsilagen macht diese für Biogas-Anlagen landwirtschaftlicher Größe nur als Nebensubstrat interessant, und dies vor allem, wenn die Algen-FM nicht systematisch erzeugt werden muss. Denkbar sind allerdings auch integrierte Systeme, in denen Teichwirtschaft zur Algenproduktion für die Tierfütterung betrieben wird. Dieser Ansatz wurde, allerdings nicht in landwirtschaftlicher Praxisgröße, bereits erfolgreich betrieben (Klee, 1999). Bei Bedarf könnte hier der Prozess auch umgekehrt, d.h. Algen zur Silierung für die Biogasgewinnung verwendet werden.

### 4.3 Überständiger Grünlandaufwuchs und Rückstände aus der Speisepilzproduktion

Für das Einsilieren von Strohrückständen aus der Speisepilzproduktion liegen bislang vergleichsweise wenige Daten vor. Die hier durchgeführten Versuche zeigen, dass das Substrat silierbar ist, sowohl als Monosilage als auch als Kosubstrat in Mischsilagen. Sind diese für die Biogasgewinnung vorgesehen, ist der Voraufschluss durch hydrolytische Pilzenzyme interessant. Die Ergebnisse zeigen einen sehr starken Abfall der Cellulose- und Hemicellulosegehalte. Gemessen an der WW-Silage wies die Pilzstroh-Silage noch 4,4% von deren Hemicellulose- und 65% von deren Celluloseanteile auf, während der Ligningehalt relativ ca. 104% betrug **[Tab. 16]**.

**Tab. 16: Vergleich der Rohfaserfraktionen von Pilzstroh und einer WW-Silage**

	WW-Silage (Masse-%)	Pilzstroh (Masse-%)	Relation zur WW-Silage (%)
Hemicellulose	27,2	1,2	4,4
Cellulose	43,3	28,5	65,8
Lignin	8,2	8,5	103,7

Diese geringen Mengen vor allem an Cellulose machen das Pilzstroh für die Biogasproduktion weniger wertvoll, wie der Ertragsvergleich mit einer Heusilage zeigt. Auch die Kosilierung mit Heu in zwei Faktorstufen (75/25 und 90/10) zeigte keinen messbaren Effekt, namentlich keinen Voraufschluss. Die Erträge der Mischsilagen lagen zwar deutlich höher als bei der Pilzstroh-Monosilage, jedoch unterhalb der von Heusilage. Eine Steigerung des Heuanteils um das 1,2-fache (von 75 auf 90%) bei Reduzierung des Pilzstrohanteils auf das 0,4-fache (25 auf 10%) erbrachte eine Gasertragssteigerung von 3,02% (von 674,2 ml/g<sub>oTS</sub> auf 695,74 ml/g<sub>oTS</sub>). Eine Gewichtung der Substrateffekte ergab in einer univariaten Varianzanalyse, im Gegensatz zu chemisch eindeutig charakterisierbaren Testsubstraten wie Saccharose, keine signifikanten Effekte. Das Pilzstroh als Kosubstrat hatte in den hier durchgeführten Versuchen keinen ertragssteigernden Effekt auf die Biogasbildung.

Dahingegen erbrachte die Heusilage mit 679,23 ml/g<sub>oTS</sub>, einen im Vergleich zur Maissilage (739,57 ml/g<sub>oTS</sub>) einen eher vergleichbaren Methanertrag, insbesondere, wenn die Varianzen mit berücksichtigt werden. So liegen die Erträge teilweise noch über der Maissilage [Tab.13, Abb. 26]. Die Einsilierung mit Zuckerrüben (bzw. im Labormaßstab mit Saccharose) erbrachte einen weiteren Ertragszuwachs (726,77 ml/g<sub>oTS</sub>). Dieser ging auch einher mit einem relativen Ertragszuwachs des Heus, welches als Kosubstrat einen rechnerisch höheren Gasertrag als die Heu-Monosilage hatte [Tab. 19, 20; Abb. 40].

#### 4.4 Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase

Der Einsatz von Cellulase und Lactobacter-Kulturen hatte in den vorliegenden Versuchen einen mindernden Effekt auf die Bildung von Essigsäure. Bei den **Cellulase-Varianten** mit 0,2 g/kg<sub>FM</sub> war keine Essigsäure in den saccharoselosen Varianten (B1f, B1g) nachweisbar. In den Saccharose-Varianten nahm der Essigsäuregehalt der siliermittellosen Varianten mit von der Siliermittel-Nullvariante zur Siliermittelvariante ab. Bei den **Cellulase-Varianten** mit 0,4 g/kg<sub>FM</sub> nahm der Essigsäuregehalt ebenfalls mit steigender Zucker- bzw. Siliermittelzumischung ab. In der Variante mit Zucker und Siliermittel war keine Essigsäure sensorisch mehr nachweisbar. In den höheren Cellulase-Varianten trat keine Essigsäure mehr auf. Die pH-Werte waren jedoch in allen Varianten im Bereich mittelsauer [Abb.19, Tab. 10]. Alkohole waren in den meisten Wiederholungen aller Varianten schwach wahrnehmbar, außer in B2f (0,2 g/kg Cellulase, 180g/kg Saccharose, kein Siliermittel) [Abb. 15].

Die Saccharose-Varianten hatten in jedem Variantenpaar den höheren Ertrag [Abb. 28, Abb. 35, Tab. 14]. Den höchsten Gesamtgas-Ertrag erzielte die Variante mit der höchsten Faktorstufe (Gerstenstroh, Cellulase (2g/kg<sub>FM</sub>), Saccharose, Lactobacter) mit 782 ml. Einen niedrigeren Ertrag als reine Gerstenstroh-Silage (571 ml) hatten Gerstenstroh mit Lactobacter (533 ml), Gerstenstroh mit 0,2g/kg<sub>FM</sub> Cellulase (544 ml) sowie Gerstenstroh mit 0,4g/kg<sub>FM</sub> Cellulase (563 ml). Erst mit 2 g, also dem 10-fachen der empfohlenen Menge wurde mit 687 ml ein deutlicher Ertragszuwachs erzielt.

Die reine **Cellulasegabe** führte erst ab der zehnfachen empfohlenen Einsatzmenge zu einem signifikanten Mehrertrag gegenüber der komplementären Faktorstufe ohne Cellulase.

Die Erträge stiegen tendenziell mit steigender Faktorstufe an. Jedoch war das Bestimmtheitsmaß der linearen Abhängigkeit mit  $R^2 = 0,45$  sehr gering. Für weitergehende Aussagen bietet sich daher die Sortierung nach Faktorstufen an [Abb. 30, Abb. 31]. Den höchsten Methanertrag erbrachten die beiden Saccharose-Varianten mit 451,88 bzw 439,39 ml, gefolgt von den Cellulase-Varianten mit 339,67 bzw. 380,62 ml. Die Lactobacter-Varianten lagen bei 194,74 bzw. 150,84 ml. Eine Gerstenstroh-Variante lag bei 238,15 ml, die andere bei 40,53 ml [Abb. 33].

Die reine Lactobacter-Zugabe in der empfohlenen Menge erbrachte einen Minderbetrag von ca. 18 ml, was bezogen auf die Strohsilage 3,15 % entspricht. Die zusätzliche Gabe von Cellulase führte mit 660 ml zu einem Mehrertrag von 15,58 %. Eine weitere Erhöhung der Cellulasegabe erbrachte keinen Ertragszuwachs [Abb. 30, links].

In den Saccharose-Varianten führte die reine Lactobacter-Zugabe im Durchschnitt zu einem Minderertrag von 1,51 % gegenüber der Stroh-Saccharose-Variante, was jedoch bei Betrachtung der Standardabweichungen statistisch nicht aussagekräftig ist. Mit höherem Cellulase-Anteil wurde der Ertrag wiederum vergrößert, und zwar bei der empfohlenen Menge um 13,49 % gegenüber der Stroh-Saccharose-Variante.

In der Kombination Gerstenstroh/Cellulase/Saccharose/Lactobacter ergab die Verdoppelung der Cellulasemenge von 0,2 auf 0,4 g/kg<sub>FM</sub> mit 763 ml gegenüber 750 ml einen Mehrertrag von lediglich weiteren 5%. Die Verzehnfachung der Cellulasemenge erbrachte mit 783 ml gegenüber der reinen Saccharosevariante einen Mehrertrag von 18,27%, gegenüber der empfohlenen Menge jedoch nur einen Mehrertrag von 4,26% [Abb. 30, rechts]. In beiden Sortierungen der Faktorstufen besteht jedoch eine lineare Korrelation zwischen Ertragssteigerung und steigender Faktorstufe.

Die reine Cellulase-Zugabe zum Gerstenstroh erbrachte erst bei zehnfacher empfohlener Menge einen deutlichen Mehrertrag. Eine lineare Abhängigkeit besteht nicht [Abb. 31, links]. Gleiches gilt für die Saccharose-Varianten. Die reine Cellulasegabe in der empfohlenen Menge ergab keinen Mehrertrag.

Für den Sensortest wurden Silagen aus Gerstenstroh, Gerstenstroh/Lactobacter, Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) und Gerstenstroh/Saccharose ausgewählt. Den höchsten Methanertrag erbrachten die beiden Saccharose-Varianten mit 451,88 bzw 439,39 ml, gefolgt von den Cellulase-Varianten mit 339,67 bzw. 380,62 ml. Die Lactobacter-Varianten lagen bei 194,74 bzw. 150,84 ml. Eine Gerstenstroh-Variante lag bei 238,15 ml, die andere bei 40,53 ml.

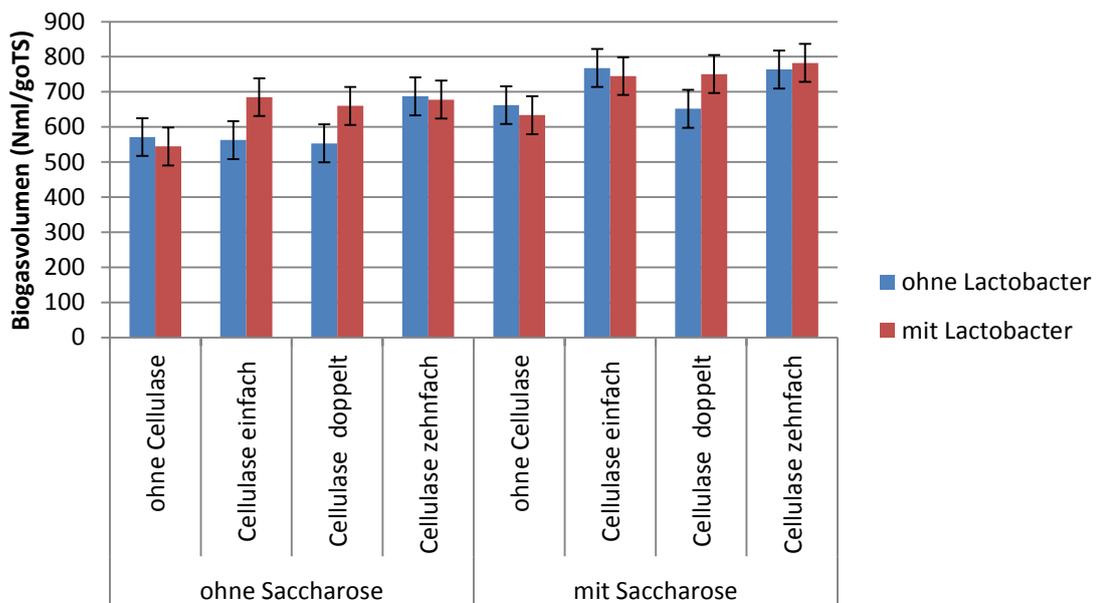


Abb. 35: Übersicht über alle Varianten in Abhängigkeit der Silierzusätze

In der Übersicht über alle Varianten [Abb. 35] wird noch einmal deutlich, dass die Saccharose-Varianten höhere Erträge brachten als entsprechende Kontrollvarianten. Außerdem, dass das Zusammenspiel verschiedener Silierhilfen komplex ist d.h., mögliche Abhängigkeiten sind nicht linear.

So führte die reine Lactobacter-Gabe zum Stroh zu einem geringeren, zusammen mit Cellulase jedoch zu einem deutlich höheren Ertrag. Wurde der Cellulaseanteil weiter erhöht, fiel der Ertrag jedoch mit steigender Faktorstufe.

Am sinnvollsten erscheint die Kosiierung mit Saccharose und Cellulase in der empfohlenen Menge.

## 4.5 Wintergerstenstroh und Zwischenfrüchte

In den Varianten ohne Stroh trat in mehreren Wiederholungen Buttersäure auf. Die energiereichen (und für die Biogasproduktion erwünschten) Metabolite Essigsäure und Alkohol waren mäßig vertreten. Das lässt die Zwischenfrucht-Reinsilagen für die Silierung schwierig erscheinen. Essigsäure trat vorwiegend in den Stroh-Varianten auf. Eine Ausnahme bildete die Eigenmischung, in der in keiner Wiederholung Buttersäure gebildet worden war, zudem in den strohlosen Varianten Essigsäure und geringgradig Alkohol auftrat. In den Stroh-Varianten war beides lediglich mäßig vorhanden

Die Rohfaseranteile lagen entsprechend der geringen Anteile in den Zwischenfrüchten vermehrt in den Stroh-Varianten vor. Die Eigenmischung aus je einem Drittel Ackerbohne, Sommerwicke und Hafer wies die höchsten Hemi- und Celluloseanteile auf.

Mit pH-Werten zwischen 3,7 und 4,5 war die grundsätzliche Silierfähigkeit gegeben.

Die Biogaserträge waren insgesamt als niedrig zu bewerten; sie lagen durchweg bei ca. der Hälfte des zu erwartenden Ertrages einer Mais-GPS. Damit liegen die Zwischenfrucht-Silagen in etwa auf der Stufe von Wintergersten- oder Weizenstroh-Silagen. Dadurch wird erklärbar, warum die Kosiierung mit Stroh keinen signifikanten Mehrertrag brachte. Da der Zwischenfruchtanbau aber aus pflanzenbaulicher und bodenökologischer Sicht vorteilhaft ist, und zudem im vorliegenden Versuch der Zwischenfruchtanteil mit 80% FM hoch und der TS-Gehalt mit z.T. nur 9% niedrig war, kann hier über weitere Anbau- und Siliermethoden nachgedacht werden. Eine Möglichkeit wäre z.B. der Zwischenfruchtanbau mit einer Getreideuntermischung, gemeinsamer Ernte und gemeinsamer Silierung. Entsprechende Mischsilagen könnten bessere Biogaserträge liefern, bei gleichzeitigen ökologischen und bodenverbessernden Vorteilen für den Ackerbau.

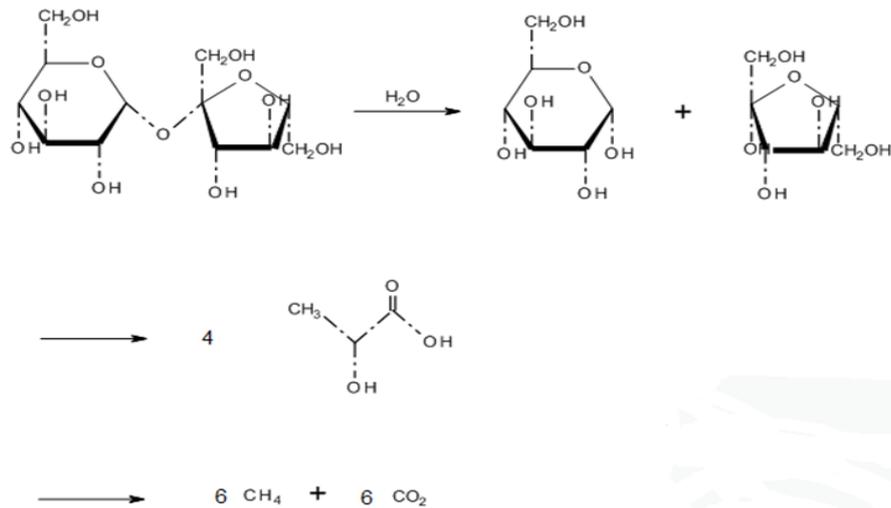
## 4.6 Voraufschluss von Stroh durch Saccharose und biologischer Additive

### 4.6.1 Abschätzung der Biomasseaufwertung

Zur Simulation von Zuckerrübenschnitzeln war in mehreren Versuchen Saccharose verwendet worden. Dies diente zur Darstellung des Ertrages von Zuckerrüben unter definierten Bedingungen. Saccharose wird im Prozess der Methanogenese mehrstufig abgebaut. Zunächst wird sie durch Hydrolyse in Glucose und Fructose gespalten. Beide Saccharide können dann in der Acidogenese durch Lactobacter-Arten in Milchsäure überführt werden. Die Milchsäure ist als sekundärer Fermenter eine Vorstufe für Acetat in der Acetogenese [Abb. 36].

Die Schwierigkeit besteht bei Mischsilagen darin, die Anteile der Kosubstrate am Gesamtgasertrag zu bestimmen. Im Fall von Saccharose als Simulation des Zuckergehaltes in Zuckerrüben könnte der theoretische Gasertrag des Zuckers bei vollständiger Umsetzung herangezogen werden, da hier definierte Massen vorliegen. Überdies ist das nach Silierung vorliegende mikrobielle Metabolit aus der Saccharose, die Milchsäure, gegenüber wenig chemisch aufgeschlossenen komplexen Bestandteilen (wie Cellulose), in der Methanogenese eher vom Abbau betroffen, wird also früher und vollständiger umgesetzt.

Da allerdings der vollständige Umsatz der Saccharose nicht anzunehmen ist bzw. ein Teil der gasförmigen Zwischenprodukte aus dem Gärsubstrat entweichen [Abb. 38] sowie darüber hinaus ein Teil der Kohlenhydratverbindungen für den mikrobiellen Anabolismus verwendet wird, führt dies zu einer systematischen Ertragsüberschätzung der Saccharose und damit einer Unterschätzung des Hauptsubstrates und somit des Voraufschlusses. Eine zu positive Bewertung des Voraufschlusses bzw. des Eigenertrages des Hauptsubstrates wird damit zwar ausgeschlossen. Es ist dennoch sinnvoll, einen abgesicherten Korrekturfaktor bei der Ertragsberechnung der Saccharose (und auch des Hauptsubstrates) zu Hilfe zu nehmen, um den Fehler weitgehend zu eliminieren.



**Abb. 36: Vereinfachte Darstellung der Methanogenese aus Saccharose über die Milchsäurevergärung**

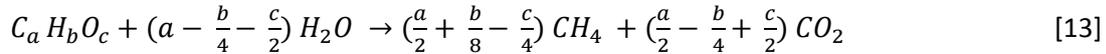
Unter der Annahme, dass die Saccharose zunächst durch Hydrolyse in Glucose und Fructose gespalten und beides vollständig umgesetzt wird [Abb. 36], ergibt sich nach der Grundgleichung



und Anwendung der allgemeinen Gasgleichung pro Mol Saccharose jew. 6 mol CH<sub>4</sub> und 6 mol CO<sub>2</sub> und somit bei 5 g Saccharose ein rechnerischer Methan-Ertrag von 1,964 l.

Die Gleichung nach Buswell & Mueller (1952) und auch die Schätzggleichung nach Baserga (1998) geben ebenfalls die stöchiometrischen Lösungen wieder.

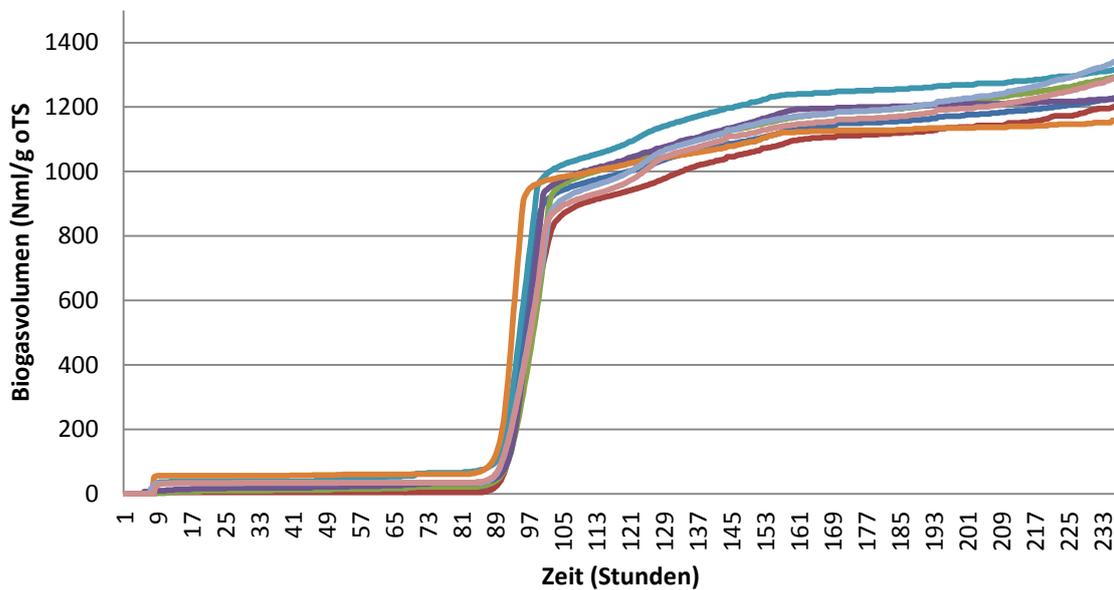
Die „Gleichung zur Berechnung der potentiellen Gasbildung aus N-freien chemischen Verbindungen“ nach Buswell & Mueller ergibt nach



ebenfalls pro mol Saccharose 6 mol  $CH_4$ , die übrige Rechnung entspricht der vorherigen Reaktionsgleichung. Nach Baserga erzeugen KH  $\rightarrow 790 \text{ l}_{\text{Gas}}/\text{kg}_{\text{TS}}$  mit 50% Volumenanteil  $CH_4$ . Aus 5 g Saccharose müssten so 3,95 l Gas mit 1,975 l  $CH_4$  entstehen. Dies liegt sehr dicht bei den stöchiometrisch errechneten 1,964 l.

Als Prüfsubstanz für die Messung der Biogasproduktion wurde in einem Vorversuch je Gärbehälter 100ml einer 5%-igen Saccharoselösung verwandt. Der Vorversuch verfolgte drei Ziele:

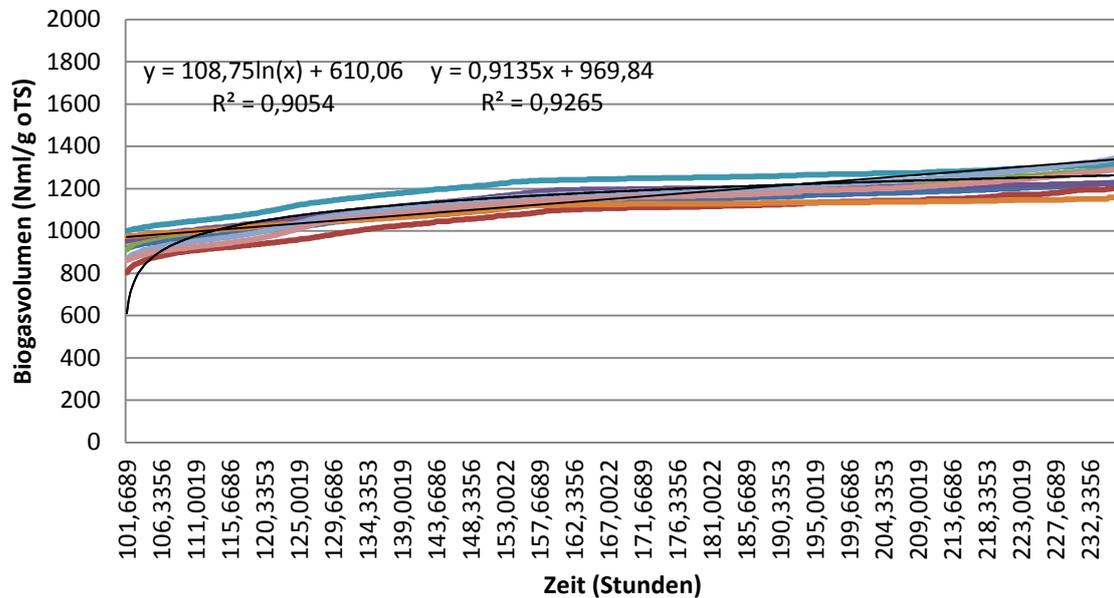
- 1) Durch gezielte Anpassung der Vorbehandlung des Impfschlammes dessen Eigenertag gering zu halten.
- 2) Unter definierten Bedingungen eine möglichst geringe Varianz gleichbeschickter Gärbehälter zu erzielen.
- 3) Die Richtigkeit der Ertragsabschätzung zu prüfen.



**Abb. 37:** Kumulierter Gesamtertrag nach 5g Saccharosegabe in den Fermentern 1-8 nach 235 h

Die Grafik in **Abb. 37** zeigt den Erfolg nach Siebung durch eine Siebkiste mit  $5 \times 20 \text{ mm}^2$  Siebgröße und anschließendem dreitägigen Hungern unter Luftabschluss in einem 5l Flachbodenkolben mit Gärrohr. Der Variationskoeffizient  $v_c$  (100%) betrug 4,96% bei einer Standardabweichung von 62,45 und einem Gesamtertrag von durchschnittlich 1259 Nml/g oTS.

Die Ziele, den Eigenерtrag des Impfschlammes auf gleichbleibend niedrigem Niveau und gleichzeitig die Ertragskurven der Substrate annähernd gleich zu halten, wurden erreicht. Eine hohe Varianz innerhalb der Wiederholungen im Versuch ist demnach hauptsächlich auf die kaum beeinflussbare Inhomogenität des Materials zurückzuführen.



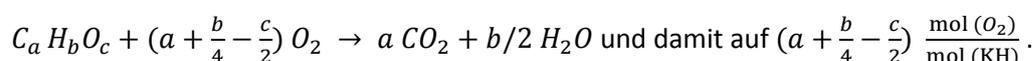
**Abb. 38: Kumulierter Gesamtertrag nach 5g Saccharosegabe in den Fermentern 1-8 zw. 100 und 235 h**  
(Es sind eine logarithmische und eine lineare Regressionskurve eingezeichnet)

Der Vorversuch musste aus Zeitgründen nach 235 Stunden abgebrochen werden. Die Methan-ertragskurve lässt sich jedoch näherungsweise extrapolieren. Mit der zwischen 100 und 235 Stunden gültigen Funktion  $f(x) = 0,9135x + 969,84$  (**Abb. 36**) wird der theoretische Ertrag nach 1088 Stunden (ca. 45 Tage) erreicht.

#### 4.6.2 Abschätzung des Eigenertrages komplexer Kosubstrate

Es ist jedoch wie erwähnt davon auszugehen, dass nicht der gesamte Zucker umgesetzt bzw. z.T. in die Archaeenmatrix eingebaut wird, wodurch die Ertragskurve deutlich früher ihre Plateauphase erreicht. Die VDI-Richtlinie 4630 spricht in diesem Zusammenhang von einem weitgehend abgeschlossenen Abbau nach 20 Tagen, wobei nach 40 Tagen oft nur noch eine sehr geringe Biogasproduktion beobachtet wird (VDI 4630, 2006).

Eine Möglichkeit der Ertragsabschätzung komplexerer Kosubstrate ist der chemische Sauerstoffbedarf (CSB). Bestimmt werden kann der CSB von Kohlenhydraten stöchiometrisch über die allgemeine Formel



Üblicherweise wird der CSB in  $g_{CSB} / mol_{Substrat}$  angegeben. 1 mol  $O_2$  entsprechen daher 32  $g_{CSB}$ . Bezieht man den theoretischen Methanertrag auf den CSB, so erhält man über  $V_{Methan} / CSB$  ein Methanertragspotential von  $350,22 \text{ ml}_{Methan} / g_{CSB}$  für Kohlenhydrate.

Der CSB von Glucose (6 mol  $O_2$ ) beträgt 192  $g_{CSB}$ , das Methanertragspotential damit 67.242  $ml/mol_{Glc}$ , was wiederum recht genau 3 mol Methan-Ertragspotential entspricht.

In Abhängigkeit vom CSB wurde in der Literatur für Glucose allerdings 2,8 mol Methan pro mol Glucose angegeben (Brummack, 2006). Es wurde hierbei die Masse abgezogen, die für den Aufbau mikrobieller Biomasse verwendet wird. Bezogen auf die stöchiometrischen 3 mol entspricht dies einem Korrekturfaktor von 0,9333.

Bei komplexen Kosubstraten kann der CSB analytisch bestimmt werden. Es ist sinnvoll, den gemessenen CSB der Substrate in Korrelation zur Inhaltsstoffanalyse zu setzen, um künftig genauere Schätzungen ohne Analytik durchführen zu können.

Der o.g. Korrekturfaktor von 0,9333 erzeugt für das Methanertragspotential von Saccharose statt 1.964  $ml/mol$  einen korrigierten Ertrag von 1.833,06  $ml/mol$ . Dies in die Regressionsgerade übertragen ergibt eine Gärdauer von 944,96 Stunden und somit 39,37 Tage. Das wiederum entspricht hinreichend genau der in der VDI 4630 angegebenen Dauer von 40 Tagen für einen weitgehend abgeschlossenen Gärprozess.

Es sollte also ein geeigneter Korrekturfaktor bei bekannten Inhaltsstoffen gewählt werden, wenn der theoretische Eigenertag eines Kosubstrates bestimmt werden soll.

Den biochemischen Pfad der Glucose zum Methan zeigt **Abb. 39**. Verluste können durch Stoffumwandlung, Einlagerung und Diffusion auftreten.

Freier Wasserstoff passiert Extrazellularräume vor Membranpassage in methanogene Archaeen

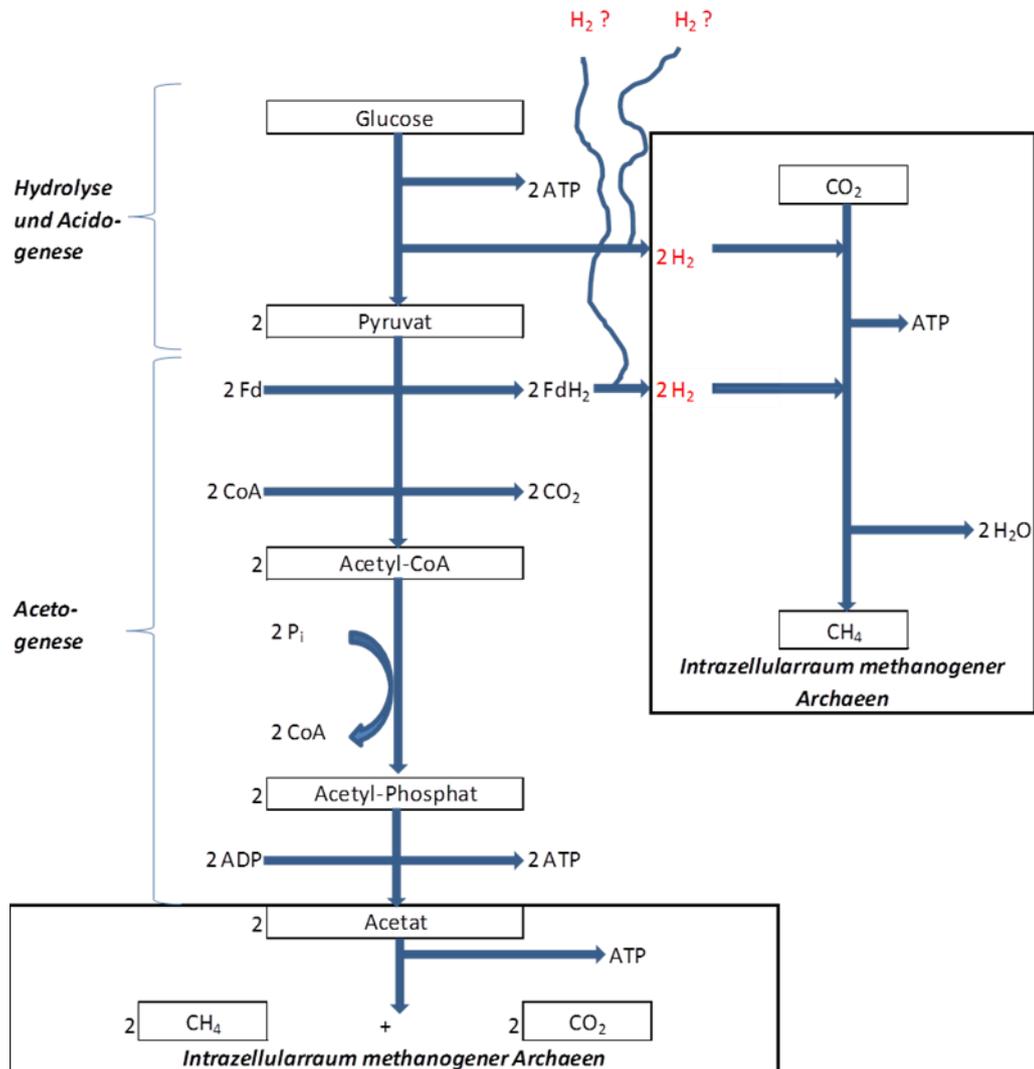
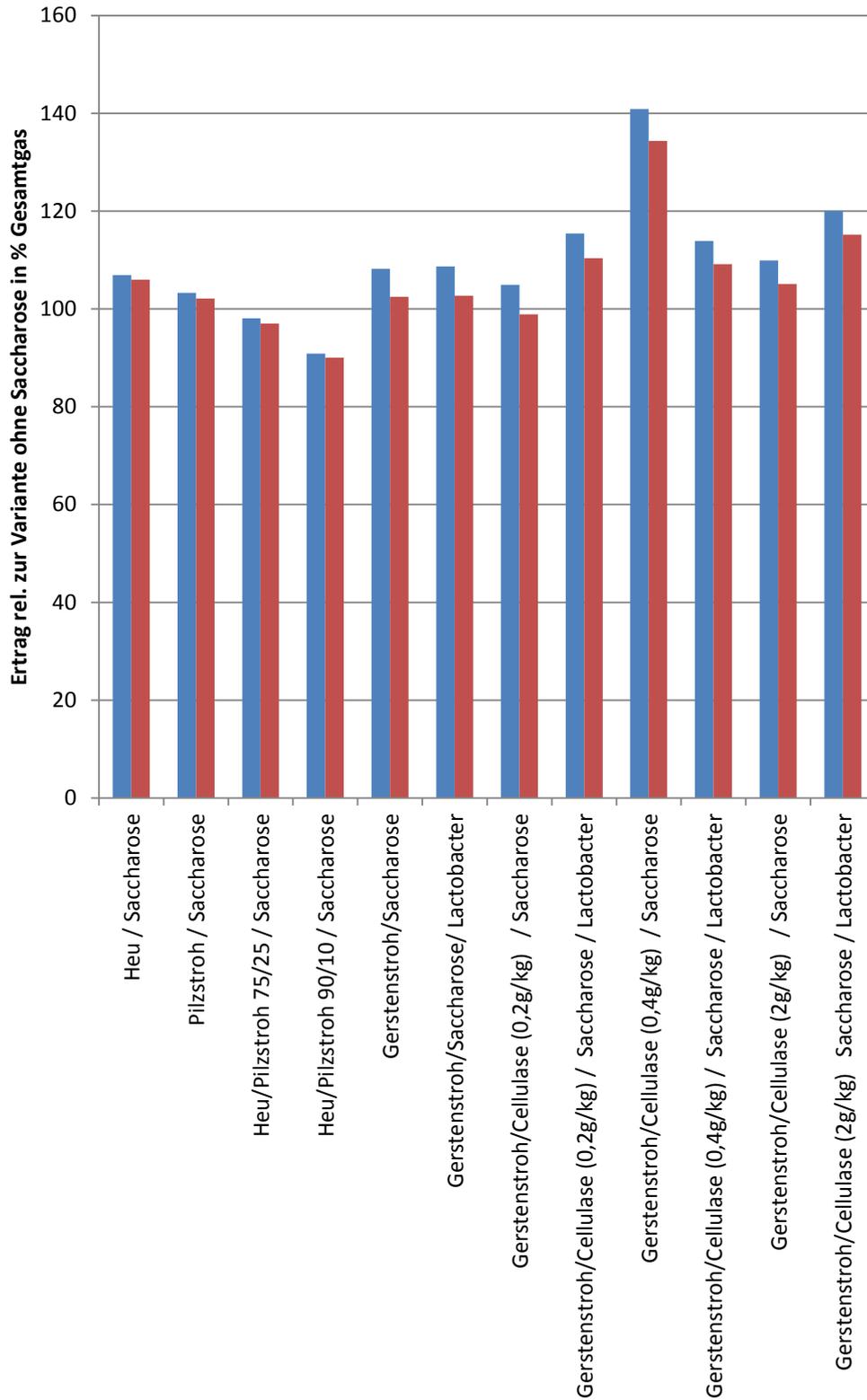


Abb. 39: Wege der Methanogenese (schematisch)

#### 4.6.3 Vergleich der Biomasseaufwertung durch relative Ertragszuwächse

Zur Bewertung des Voraufschlusses durch die Saccharosegabe wurde der theoretische Gasertrag des Zuckers bei vollständiger Umsetzung mit dem in **Kap. 4.6.2** errechneten Faktor 0,9333 multipliziert, um einerseits eine konstante Bezugsgröße zu haben, und andererseits deren systematisch zu hohen Betrag sinnvoll zu korrigieren.

Die Berechnung erfolgte, indem zunächst der theoretische Gasertrag / g der Saccharose vom Gesamtgasertrag abgezogen wurde, so dass der Gasertrag des Hauptsubstrates/Substratgemisches in  $\text{ml/g}_{\text{OTS}}$  übrig blieb. Dieser wurde dann in Bezug zum Gasertrag der jeweiligen Variante ohne Saccharose gesetzt. In **Abb. 40** wird der theoretische Biogasertrag der Hauptsubstrate in Relation zum Ertrag der saccharoselosen Varianten gesetzt.



**Abb. 40: Rechnerische durchschnittlicher Biogasertrag von Gerstenstroh und Heu in Saccharose-varianten**

(bezogen auf den Ertrag der jeweilige Variante ohne Saccharose)

Blau: Mit Korrekturfaktor für den Eigenertag der Saccharose

Rot: Annahme der vollständigen Umsetzung der Saccharose

**Tab. 17: Rechnerische durchschnittliche Aufwertung von Gerstenstroh in Saccharosevarianten**  
(prozentualer Zuwachs bezogen auf den Ertrag der jeweilige Variante ohne Saccharose)

Substrat	Ertrag rel. zur Variante ohne Saccharose in %
Heu / Saccharose	106,90
Pilzstroh / Saccharose	103,29
Heu/Pilzstroh 75/25 / Saccharose	98,06
Heu/Pilzstroh 90/10 / Saccharose	90,86
Gerstenstroh/Saccharose	108,22
Gerstenstroh/Saccharose/ Lactobacter	108,67
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Saccharose	104,93
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Saccharose / Lactobacter	115,41
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Saccharose	140,84
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Saccharose / Lactobacter	113,92
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) / Saccharose	109,89
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) Saccharose / Lactobacter	120,06

**Tab. 18: Rechnerische durchschnittliche Aufwertung von Gerstenstroh in Saccharosevarianten**  
(bei angenommener vollständiger Umsetzung der Saccharose)

Substrat	Ertrag rel. zur Variante ohne Saccharose in %
Heu / Saccharose	106,00
Pilzstroh / Saccharose	102,14
Heu/Pilzstroh 75/25 / Saccharose	97,00
Heu/Pilzstroh 90/10 / Saccharose	90,03
Gerstenstroh/Saccharose	102,45
Gerstenstroh/Saccharose/ Lactobacter	102,71
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Saccharose	98,88
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Saccharose / Lactobacter	110,40
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Saccharose	134,37
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Saccharose / Lactobacter	109,12
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) / Saccharose	105,08
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) Saccharose / Lactobacter	115,20

Es wird der Ertrag sowohl mit als auch ohne Korrekturfaktor für Saccharose angegeben. Dadurch relativiert sich der Ertragszuwachs dahingehend, als dass der Umsatzverlust gleichermaßen auch für das Hauptsubstrat bzw. Substratgemisch angenommen wird. Der Ertragszuwachs liegt dadurch zwingend zwischen beiden Werten.

Beim Vergleich der relativen Ertragszuwächse fällt zunächst auf, dass diese bei Pilzstroh und überzähligen Grünlandaufwuchs nur bei den Reinsilagen positiv sind. Bei den Mischsilagen nehmen sie ab, und zwar am meisten bei der Mischung mit 90% Heu. Das ist überraschend, da das Heu als Reinsilage einen deutlich höheren Ertrag als das Pilzstroh hatte (678 ml/g gegenüber 507 ml/g; vergl. **Tab. 14**). Weiterhin kann bei einer Ertragssteigerung von ca. 2,14 bis 3,3% bzw. -2 bis -3% in den Silagen Pilzstroh/Saccharose und Heu/Pilzstroh/Saccharose nicht von einem signifikanten Effekt gesprochen werden.

Für die Gerstenstroh/Saccharose-Silagen mit und ohne *Lactobacter*-Kulturen gilt ein Zuwachs von jew. ca. 2 bis 8%. Die *Lactobacter*-gaben hatten keinen deutlichen Effekt. Bei Zusatz von Cellulase in der empfohlenen Menge ergibt sich ein Ertragszuwachs von etwa -1 bis +5%, woraus im Prinzip ebenfalls kein Effekt abgeleitet werden kann. Erst bei zusätzlichem Einsatz von *Lactobacter*-Kulturen wird ein deutlicher Ertragszuwachs von 10,41 bis 15,41% beobachtet [**Abb. 35**].

Bei Verdoppelung des Cellulase-Zusatzes wies die Saccharose-Variante einen Ertragszuwachs von 34 bis 40% auf. In der Praxis wäre hier zu prüfen, ob dieser Effekt auch bei großen Gärraumvolumina auftritt und ob der Mehrertrag die verdoppelten Kosten an Cellulase aufwiegt, bzw. ob in praxisrelevanten Größen überhaupt ein doppelt hoher Enzymeinsatz ökonomisch sinnvoll ist.

Der zusätzliche *Lactobacter*-Einsatz wiederum verringert den Mehrertrag von 40% auf ca. 9 bis 13,92%. Der Effekte des abnehmenden Ertragszuwachses bei *Lactobacter*-gabe wurde teilweise auch bereits im Versuch beobachtet (vergl. **Tab. 14, Abb. 29 u. 30**). Tendenziell ist die Aussage zutreffend, dass der ertragssteigernde Effekt der *Lactobacter*-Kulturen mit steigendem Anteil anderer Hilfsstoffe (einschl. Saccharose) abnimmt.

Die zehnfache Cellulasemenge erbrachte mit 684,88 ml gegenüber 571,11 ml einen Mehrertrag von ca. 19,9% gegenüber der reinen Strohsilage (vergl. **Tab. 14**), was durch den zusätzlichen Saccharoseinsatz auf ca. 30% gesteigert werden konnte. Ob beim Enzymeinsatz vom Zehnfachen der empfohlenen Menge in Stroh-Zuckerrüben-Mischsilagen diese ca. 30% Ertragssteigerung auch in der Praxis auftritt und wirtschaftlich ist, muss ebenfalls überprüft werden. Die Berechnung ist auch auf die Gestehungskosten der Zuckerrüben einschließlich Reinigung und Häckselung zu beziehen. Ebenso ist ein Vollkostenvergleich mit der Variante Saccharose/Cellulase (0,4g/kg) nötig.

Die darüber hinaus zusätzliche *Lactobacter*-gabe erbrachte gegenüber der reinen Strohsilage einen Mehrertrag von ca. 37%. Auch hier sollte die Frage nach der Übertragbarkeit auf praxisrelevante Fermentergrößen sowie die Wirtschaftlichkeit Gegenstand einer weiteren Fragestellung sein.

Grundsätzlich zeigt die Abnahme des Ertragszuwachses in den Varianten von Pilzstroh und überzähligen Grünlandaufwuchs, dass der Prozess nicht linear ist bzw. bei komplexeren Mischsilagen mit zwei oder mehr Kosubstraten auch inhibitorische Effekte eine Rolle spielen können.

Die ansonsten grundsätzlich höheren rechnerischen Erträge der Hauptsubstrate (Grünlandaufwuchs, WW- und WG-Stroh) in den Varianten mit Saccharose als Kosubstrat zeigen, dass die Zuckerrübe als Kosubstrat zum Voraufschluss beitragen kann.

Diese Untersuchungen basierend auf den Ergebnissen und Erkenntnissen aus diesem Projekt wird in dem Nachfolgeprojekt „Entwicklung, Erprobung und Validierung von innovativen Konversionsverfahren zur Herstellung von Energieträgern aus land- und forstwirtschaftlicher Biomasse sowie Rest- und Abfallstoffen - BASiliKOM“ (gefördert durch die Fachagentur nachwachsende Rohstoffe, FNR) geprüft.

## 4.7 Voraufschluss von Stroh durch Silierung

### 4.7.1 Methanerträge von unbehandeltem, chemisch aufgeschlossenem und siliertem Stroh

Die systematische Biomasseaufwertung beruhte in diesem Projekt außer durch den Einsatz von Koppelprodukten auf der Silierung. Überwiegend kamen Gersten- und Weizenstroh als Hauptkomponente zum Einsatz.

Vergleichende Erträge von nicht siliertem, jedoch z.T. anderweitig aufgeschlossenem Stroh liefert eine Übersicht der LFL Bayern [Tab. 20]. Die hier aufgeführten Erträge von  $\text{NI}/\text{kg}_{\text{oTM}}$  entsprechen der Größenordnung des Labormaßstabes  $\text{Nml}/\text{g}_{\text{oTS}}$ .

Tab. 19: Errechnete Biogaserträge mehrerer Substrate (LFL Bayern, 2017)

Substrat	TM [%]	oTM [%]	NI/kg oTM	$\text{Nm}^3/\text{t FM}$	$\text{CH}_4$ [%]	Datenquelle
Gerstenstroh	86,0	93,7	387,2	312,0	50,5	berechnet
Gerstenstroh $\text{NH}_3$ aufgeschl.	86,0	94,1	456,6	369,5	51,4	berechnet
Gerstenstroh NaOH aufgeschl.	86,0	89,2	489,5	375,5	50,5	berechnet
Haferstroh	86,0	93,5	390,4	313,9	50,7	berechnet
Haferstroh $\text{NH}_3$ aufgeschl.	86,0	94,0	389,6	315,0	51,4	berechnet
Rapsstroh	80,0	94,3	248,5	187,4	52,1	berechnet
Roggenstroh	86,0	94,4	351,7	285,5	50,9	berechnet
Weizenstroh	86,0	91,9	369,2	291,8	50,8	berechnet
Weizenstroh $\text{NH}_3$ aufgeschl.	86,0	92,9	431,7	344,9	51,7	berechnet
Weizenstroh NaOH aufgeschl.	86,0	90,0	479,1	370,8	50,8	berechnet

**Tab. 20: Mit den Angaben aus Tab. 20 errechnete Methanerträge mehrerer Strohsorten**  
(im Vergleich mit gemessenen Strohsilagen)

Substrat	Methanerträge (Nml/g oTS)
Gerstenstroh	195,54
Gerstenstroh NH <sub>3</sub> aufgeschl.	234,69
Gerstenstroh NaOH aufgeschl.	247,20
Haferstroh	197,93
Haferstroh NH <sub>3</sub> aufgeschl.	200,25
Rapsstroh	129,47
Roggenstroh	179,02
Weizenstroh	187,55
Weizenstroh NH <sub>3</sub> aufgeschl.	223,19
Weizenstroh NaOH aufgeschl.	243,38
WG-Silage (BIO-EKO-LAB)	238,00
WW-Silage (BIO-EKO-LAB)	296,00

Im Vergleich mit Gerstenstroh hatte die Gerstenstroh-Silage einen um 21,7% höheren Ertrag. Die Weizenstroh-Silage hatte gegenüber Weizenstroh einen um 26,9% höheren Ertrag. Dass in einem der hier durchgeführten Versuche allerdings nur ein Methanertrag von 108 ml/g<sub>oTS</sub> erzielt wurde, bestätigt erneut die in vielen Literaturstellen hervorgehobene Varianz zwischen verschiedenen Versuchen. Ein direkter Vergleich ist daher schwierig.

Nur mit NaOH aufgeschlossenes Gerstenstroh hatte im oben aufgeführten Vergleich einen höheren Methanertrag als die entsprechende Silage. Die anderen Strohsorten erreichen die Erträge der Silagen nicht [Tab.19, 20]. Wie in mehreren Arbeiten herausgestellt, spielen der chemische, aber auch der physikalische Voraufschluss von Stroh in Praxisgrößen aus ökologischen und ökonomischen Gründen keine Rolle (DECHEMA 2014, Sibusiti 2012, Schimpf 2014, Schumacher 2008).

Die Silierung ist demnach eine Alternative zu chemisch/physikalischen Voraufschluss. Da die von der LFL gelieferten Erträge auf Berechnungen beruhen, sollte der Vergleich im Labormaßstab noch verifiziert werden. Dies ist im Nachfolgeprojekt BASiliKOM geplant.

#### 4.7.2 Einfluss von Rohfaserfraktionen und pH-Wert auf den Gasertrag

Die aus den Rohfaseranalysen gewonnenen Werte wurden in Korrelation zum Gasertrag (GKT) gesetzt, wo durch die Anzahl an Messplätzen die Möglichkeit bestand, pro Versuch alle Varianten zu testen [Tab. 22, 23, 24, 25]. Für die statistische Betrachtung wurden die Varianten in ihren einzelnen Faktorstufen betrachtet.

Diese waren im Versuch Grünlandaufwuchs und Stroh aus der Speisepilzproduktion Heu/ Pilzstroh in den TS-Verhältnissen:

- Heu / Stroh ( $100_{Heu}+0_{Stroh}$ ); ( $90_{Heu}+10_{Stroh}$ ); ( $75_{Heu}+25_{Stroh}$ )
- Heu / Stroh / Saccharose ( $(100_{Heu}+0_{Stroh}) * 0,9 + 10_{Sacch}$ ); ( $(90_{Heu}+10_{Stroh}) * 0,9 + 10_{Sacch}$ ); ( $(75_{Heu}+25_{Stroh}) * 0,9 + 10_{Sacch}$ )

c) Stroh / Heu ( $100_{\text{Stroh}}+0_{\text{Heu}}$ ); ( $25_{\text{Stroh}}+75_{\text{Heu}}$ ); ( $10_{\text{Stroh}}+90_{\text{Heu}}$ )

Für die statistische Betrachtung Stroh / Heu wurde die Reihe der Faktorstufen von der reinen Pilzstrohsilage ausgehend entwickelt. Die beiden anderen Stufen sind die Mischungen 90/10 und 75/25.

Weiterhin mussten die pH-Werte in Hydronium-Konzentrationen umgerechnet werden, da bei Korrelationen von linearen Abhängigkeiten ausgegangen wird.

**Tab. 21: Korrelationskoeffizienten  $R^2$  beim Vergleich der Werte aus der Rohfaseranalytik mit den Gesamtgaserträgen**

(Versuch überständiger Grünlandaufwuchs und Stroh aus der Speisepilzproduktion)

Faktorstufe	Korrelationskoeffizient			
	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	Lignin (%)	[H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> ]
Heu/ Pilzstroh	-0,43	-0,24	-0,32	-0,03
Heu/ Pilzstroh/ Saccharose	0,98	0,12	-0,30	0,78
Pilzstroh/ Heu	0,99	0,94	-1,00	0,99

- Die saccharoselosen Varianten ähneln bezüglich Lignin den Saccharose-Varianten. Bei Hemicellulosen findet sich allerdings eine mittlere negative, bei Cellulose eine schwach negative Korrelation, zwischen [H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] und Gasertrag besteht kein statistisch erfassbarer Zusammenhang. Wie in **Kapitel 3.3.3.1** und **4.3** bereits gezeigt, führt ein höherer Anteil an Pilzstroh zu einem geringeren Gasertrag.
- Wird der Strohanteil in den Saccharose-Varianten von 0 über 9 auf 22,5 %TS erhöht, ergibt sich für Hemicellulose eine sehr starke positive Korrelation von  $R^2 = 0,98$ . Eine ähnlich starke Wechselbeziehung zwischen Hemicellulosen und Gasertrag besteht in fast allen Varianten. Eine nur geringe Abhängigkeit scheint dagegen bei der Cellulose zu bestehen. Allerdings ist dieser Effekt auf die Varianzen im Material zurückzuführen. Der Ligningehalt korreliert schwach negativ mit dem Gasertrag. Der Vergleich mit dem Versuch Zwischenfrüchte [Tab. 25] lässt hier darauf schließen, dass die schwache Ausprägung mit dem im Vergleich zu Strohvarianten ohnehin niedrigen Ligningehalt zusammenhängt. [H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] korreliert erwartungsgemäß deutlich mit dem Gasertrag, was auf den Gehalt energiereicher Gärsäuren zurückzuführen ist.
- Betrachtet man die Reihe Pilzstroh/Heu vom Pilzstroh ausgehend, und verringert in dieser Reihe sukzessive die Faktorstufe Pilzstroh, ergibt sich eine fast lineare Abhängigkeit zuungunsten des Eigenertages vom Pilzstroh. D.h., dieses erweist sich als ungeeignetes Ko-substrat, da der Gasertrag steigt, wenn der Anteil an Pilzstroh abnimmt (vergl. **Abb. 26**).

**Tab. 22: Nach Gruppen sortierte Faktorstufen**

(Versuch Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase)

Varianten	Gasertrag (ml <sub>N</sub> /g <sub>OTS</sub> )	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	Lignin (%)	pH-Wert	[H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> ]
Gerstenstroh	571,11	21,36	45,04	9,75	4,82	1,50E-05
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg)	544,57	22,46	41,26	9,79	2,90	1,26E-03
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg)	562,80	22,89	36,35	11,19	2,60	2,52E-03
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg)	684,88	25,06	46,06	7,48	3,64	2,30E-04
Gerstenstroh/Saccharose	662,18	16,57	16,86	6,90	2,62	2,38E-03
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Saccharose	633,51	16,87	17,56	6,11	2,33	4,70E-03
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Saccharose	767,92	18,05	27,45	3,92	2,00	9,95E-03
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) / Saccharose	744,95	17,89	27,60	3,97	2,25	5,65E-03
Gerstenstroh	571,11	21,36	45,04	9,75	4,82	1,50E-05
Gerstenstroh/Lactobacter	553,35	22,37	44,84	9,48	3,58	2,65E-04
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Lactobacter	660,01	24,77	43,50	8,86	4,10	7,95E-05
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Lactobacter	687,22	26,35	44,00	9,52	3,01	9,70E-04
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) / Lactobacter	677,87	26,33	42,70	7,93	2,81	1,55E-03
Gerstenstroh/Saccharose	667,98	16,57	16,86	6,90	2,62	2,38E-03
Gerstenstroh/Saccharose/ Lactobacter	651,90	15,89	17,79	7,51	2,22	6,04E-03
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) Saccharose / Lactobacter	750,52	16,98	27,32	4,54	3,02	9,64E-04
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) Saccharose / Lactobacter	763,55	18,08	27,43	4,09	2,04	9,08E-03
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) Saccharose / Lactobacter	782,63	16,96	26,81	5,50	2,26	5,47E-03

**Tab. 23: Korrelationskoeffizienten  $R^2$  beim Vergleich der Rohfaserwerte mit den Gesamtgaserträgen**

(bei Sortierung nach Faktorstufen im Versuch Wintergerstenstroh, Saccharose, Lactobacter spp. und Cellulase)

Faktorstufe	Korrelationskoeffizient			
	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	Lignin (%)	[H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> ]
Gerstenstroh/Cellulase	0,86	0,61	-0,87	-0,49
Gerstenstroh/Cellulase/Saccharose	0,92	0,95	-0,90	0,91
Gerstenstroh/Cellulase/Lactobacter	0,96	-0,84	-0,57	0,67
Gerstenstroh/Cellulase/Saccharose/ Lactobacter	0,76	0,96	-0,87	0,52

In **Tab. 23** wird noch einmal besonders deutlich, dass sich die Saccharosegabe in den Variantenpaaren mit/ohne Saccharose bei der Silierung stark ertragssteigernd ausgewirkt hat.

Weiterhin wird ersichtlich, dass die Kombination Gerstenstroh/Lactobacter zwar einen niedrigeren pH-Wert, jedoch einen geringeren Gasertrag als die Strohsilage hervorgebracht hat, und zwar in beiden Varianten (mit und ohne Saccharose). Die Lactobacter-Varianten blieben im Gasertrag auch hinter den Saccharose-Varianten zurück.

Erst der zusätzliche Einsatz von Cellulase ergibt deutlich erhöhte Gaserträge.

Deutlich positiv korrelieren die Hemicellulosen in allen Varianten, was ihre gute Abbaubarkeit hervorhebt [Tab. 24].

Die Cellulase-Varianten haben mit 0,61 eine mittlere Korrelation. Der Vergleich mit Tab. 23 zeigt aber, dass der Einsatz vom Zehnfachen der empfohlenen Menge einen geringeren Abbau der Cellulose zur Folge hatte, als die Silierung von reinem Gerstenstroh, wodurch auch die schwächere Korrelation erklärbar ist. In der Variante Cellulase/Lactobacter nahm der Cellulose-Abbau mit steigender Faktorstufe leicht zu, während der Gasertrag stieg. Dies erklärt den negativen Zusammenhang.

Zwischen den Ligningehalten und dem Gasertrag besteht ein deutlicher negativer Zusammenhang, wie er bei verholztem Material auftritt.

Interessant ist, dass die Cellulase bis zum Doppelten ihrer empfohlenen Menge zwar eine nahezu lineare Abnahme der Cellulose bewirkt, dieser Effekt beim Zehnfachen jedoch vollständig verschwunden ist. Bei der Saccharose-Variante ist der Cellulase-Effekt bei empfohlener Menge durch den Saccharose-Effekt überlagert, und ab der Verdoppelung der Cellulasegabe wiederum abnehmend. Eine überstarke Enzymgabe hat also keinen zwingenden Abbaueffekt. Dennoch stieg der Gasertrag, und zwar umso mehr, wenn als Kosubstrat Saccharose sowie als weitere Silierhilfe Lactobacter-Kulturen eingesetzt wurden.

Die zehnfache empfohlene Cellulasegabe führte in der fertigen Silage mit 3,64 zu einem höheren pH-Wert als in den niedrigeren Faktorstufen. Dennoch hatte die höchste Stufe den höchsten Gasertrag. Dieses Phänomen bewirkte eine mittlere negative Korrelation von  $R^2 = -0,49$ . Die in den übrigen Varianten auf niedrigem Niveau schwankenden pH-Werte zwischen 2,04 und 3,04 zeigten einen deutlichen (Gerstenstroh/Cellulase/Saccharose) bis mittleren statistischen Zusammenhang mit den Gaserträgen. Dadurch wird der grundsätzliche Zusammenhang zwischen niedrigem pH-Wert (freie Gärsäuren) und Gasertrag bestätigt; sofern keine sonstigen, inhibitorischen Effekte zum Tragen kommen (Vergl. Tab. 25).

Im Versuch Zwischenfrüchte war der Anteil der Rohfaserfraktionen in den Varianten mit Stroh erwartungsgemäß erhöht.

Entgegen der Erwartung haben die Strohvarianten, trotz ausnahmslos niedrigerer pH-Werte und auch höherer Anteile an Hemicellulosen und Cellulose, niedrigere Gaserträge [Tab. 25]. Die Silierung von Leguminosen als Zwischenfrüchte ist aufgrund ihres im Vergleich mit Gräsern geringeren Gehalt an Kohlenhydraten, namentlich wasserlöslichen Kohlenhydraten (wLK) schwieriger. Zudem sind sie reichhaltiger an Proteinen, was für die Silierung eine Pufferkapazität bedeutet, wodurch der schnelle pH-Abfall verhindert wird. So sind Fehlgärungen wahrscheinlicher.

Hohe Protein- und geringe KH-Gehalte sind auch für die spätere Biogasgewinnung hinderlich. Die vergleichsweise schwierige Silierung kann im Vergleich der Tabelle 16 mit den Tabellen 13 bis 15 nachvollzogen werden.

Die Kosilierung mit Stroh führt trotz günstigerer gemessener Rohfaser- und pH-Werte nicht zu einem lohnenden Mehrertrag. Durchschnitt der strohlosen Varianten war 415,3 ml/g<sub>OTS</sub> gegenüber 416,3 ml/g<sub>OTS</sub> der Stroh-Varianten

Tab. 24: Nach Gruppen sortierte Faktorstufen im Versuch Zwischenfrüchte

Probenbezeichnung	Gasertrag (mN/goTS)	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	Lignin (%)	pH-Wert	[H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> ]
Bitterlupine ohne Stroh	442,32	13,84	23,37	4,95	4,20	6,25E-05
Weißsenf ohne Stroh	406,61	11,03	28,80	5,91	4,41	3,89E-05
Phacelia ohne Stroh	359,15	9,62	23,99	6,27	4,51	3,08E-05
Eigenmischung ohne Stroh	457,04	12,23	27,95	4,07	4,06	8,77E-05
MaisPro ohne Stroh	411,55	7,66	20,92	4,02	3,94	1,15E-04
Bitterlupine mit Stroh	418,08	20,96	33,47	6,09	3,85	1,41E-04
Weißsenf mit Stroh	410,43	21,38	37,00	6,95	3,76	1,73E-04
Phacelia mit Stroh	442,32	21,40	34,06	5,28	3,77	1,68E-04
Eigenmischung mit Stroh	426,85	22,63	37,36	5,78	3,41	3,85E-04
MaisPro mit Stroh	383,77	19,51	33,34	5,01	3,77	1,68E-04

Tab. 25: Korrelationskoeffizienten  $R^2$  beim Vergleich der Rohfaserwerte mit den Gesamtgaserträgen im Versuch Zwischenfrüchte

Faktorstufe (Vergl. mit/ohne Stroh)	Korrelationskoeffizient			
	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	Lignin (%)	[H <sub>3</sub> O <sup>+</sup> ]
Ohne Stroh	0,61	0,24	-0,74	0,54
Mit Stroh	0,76	0,23	0,08	0,25

### 4.7.3 Einfluss der Saccharosegabe zur Silierung auf die Rohfaserfraktionen

Nachdem die Saccharosegabe als Simulation der Zuckerrübenschnitzel einen deutlichen Biogas-Mehrertrag, z.T. mit einer Biomasseaufwertung der Hauptkomponente Stroh, hervorbrachte [Kap. 4.6.3], ist die Gegenüberstellung der Rohfaserwerte jeweils beider Silagevarianten interessant [Tab. 27, Abb. 42].

Tab. 26: Anteile der Rohfaserfraktionen der Silagen ohne und mit Saccharose in Masse-%

Varianten	ohne Saccharose			mit Saccharose		
	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	Lignin (%)	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	Lignin (%)
Gerstenstroh (WG, Saccharose)	26,30	42,27	7,90	23,14	38,83	7,45
Weizenstroh	27,22	43,27	8,19	26,90	38,93	10,47
Weizenstroh Chl. Vulg. 10%	16,75	44,57	3,05	24,88	36,21	8,37
Weizenstroh Spirulina spp. 10%	12,96	37,61	5,26	23,47	35,52	4,18
Pilzstroh	1,22	28,49	8,50	0,68	24,97	7,07
Heu	18,80	64,72	6,99	19,23	28,97	6,40
Heu/Pilzstroh 75/25	15,14	31,09	5,92	13,68	29,19	6,50
Heu/Pilzstroh 90/10	14,49	33,15	5,89	16,30	31,88	5,76
Gerstenstroh (WG, Saccharose u. Silierhilfen)	21,36	45,04	9,75	16,57	16,86	6,90
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg)	22,46	41,26	9,79	16,87	17,56	6,11
Gerstenstroh/Cellulase (0,2g/kg) / Lactobacter	24,77	43,50	8,86	16,98	27,32	4,54
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg)	22,89	36,35	11,19	18,05	27,45	3,92
Gerstenstroh/Cellulase (0,4g/kg) / Lactobacter	26,35	44,00	9,52	18,08	27,43	4,09
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg)	25,06	46,06	7,48	17,89	27,60	3,97
Gerstenstroh/Cellulase (2g/kg) / Lactobacter	26,33	42,70	7,93	16,96	26,81	5,50

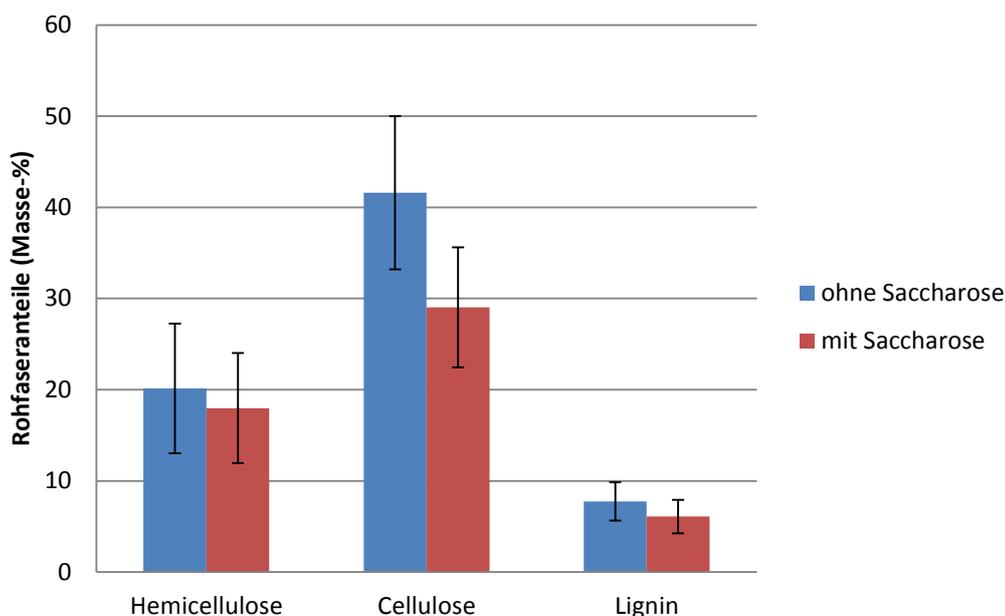


Abb. 41: Vergleich der Rohfaseranteile der Silage-Varianten über alle Versuche mit und ohne Saccharose

Am deutlichsten war die Abnahme bei der Cellulose ausgeprägt. Um zu vergleichen, inwieweit die Abnahme an den einzelnen Rohfaserfraktionen zum Biogasertrag beiträgt, muss der stöchiometrische Eigenenertrag der Saccharose berücksichtigt, d.h. vom Gesamtgasertrag subtrahiert werden. Zu diesem Zweck wurde auf die Ergebnisse aus **Kap. 4.6.3** zurückgegriffen. Der prozentuale Mehrertrag aus dem reinen Strohanteil kann so direkt mit der prozentualen Abnahme der Rohfaserfraktionen verglichen werden. Hier ergibt sich eine Abhängigkeit  $R^2$  des prozentualen Mehrertrages ( $\delta_{\%}$  Gas) von der Abnahme der Rohfaserfraktionen ( $\delta_{\%}$  fXF):

- für  $\delta_{\%}$  Hemicellulose -0,42
- für  $\delta_{\%}$  Cellulose -0,22
- für  $\delta_{\%}$  Lignin -0,78

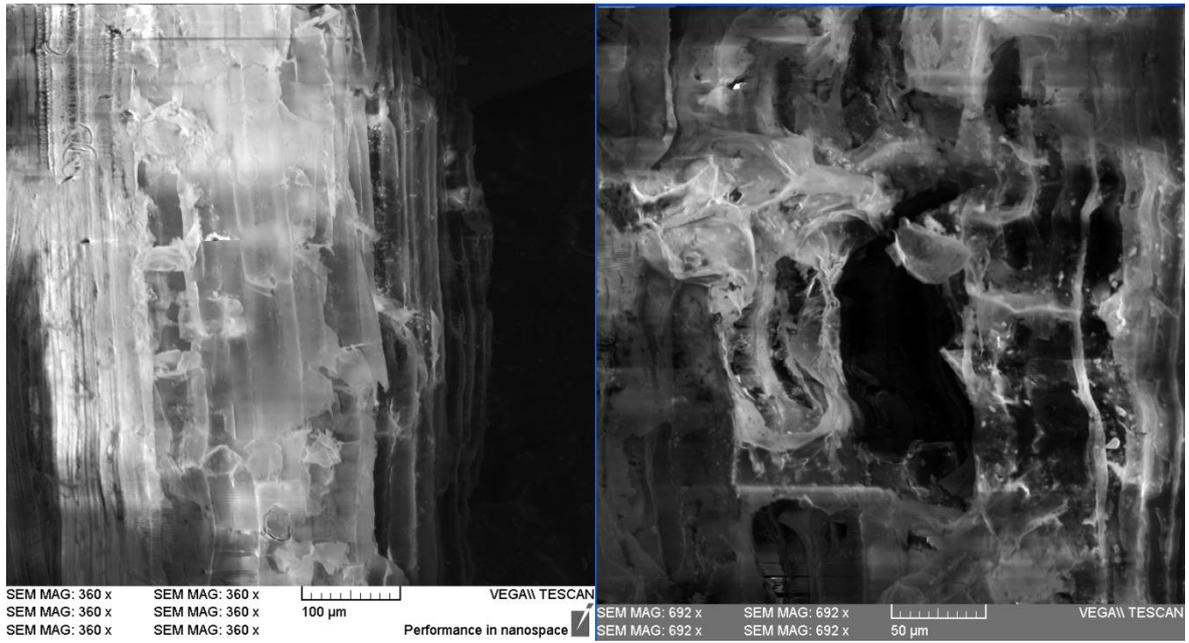
Für alle Rohfaserfraktionen besteht somit ein negativer Zusammenhang mit dem Gasmehrertrag aus dem Stroh, d.h. die Abnahme der einzelnen Fraktion korreliert mit dem Ertragszuwachs. Diese Abhängigkeit ist bei Hemicellulose eher mittel, und bei Cellulose schwach ausgeprägt, obwohl hier die stärkste Veränderung stattgefunden hat (vergl. **Abb. 42**). Am deutlichsten ist der Zusammenhang bei Lignin. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass über den Ligninabbau während der Silierung das Freiwerden von zuvor gebundener Cellulose aus den Lignocellulosekomplexen stattfindet. Die Cellulose kann im Silierprozess weiter verstoffwechselt werden; ihre Metabolite (v.a. Gärsäuren, Alkohole) können dann als energiegebender Faktor in der Methanogenese wirksam werden.

Eine mögliche Erklärung, warum die Abnahme der Cellulose eine eher schwache, und die des Lignins eine deutliche Wirkung auf den Gasmehrertrag aus dem Stroh aufweist, liegt darin, dass in der Analytik durch die Säurebehandlung die gebundene Cellulose aus der Vergesellschaftung mit dem Lignin gelöst und somit miterfasst wird. Das bakteriell kaum mögliche Lösen der Lignocellulosekomplexe wird durch die Analytik also nicht dargestellt. Somit kann nicht bestimmt werden, welcher Anteil an der gemessenen Cellulose im Verlauf der Silierung für einen weiteren Aufschluss zusätzlich zur Verfügung steht.

Das Lösen von Lignin aus dem Lignocellulosekomplex ist auch in der präparativen Chemie zur Zellstoffgewinnung erforderlich. Als umweltschonende Verfahren werden hier das Acetosolv- und das Acetocell-Verfahren diskutiert, bei denen mit Essigsäure-Wassergemischen gearbeitet wird. Weiterhin gibt es das Formacell-Verfahren, in dem zusätzlich Ameisensäure verwendet wird. Prozesstemperaturen sind 110°C für das Acetosolv- und 190°C für Acetocell- und Formacell-Verfahren (Müller, 2004 a). Die Prozesstemperatur ist hier wichtig für eine optimierte katalytische Wirkung der Säuren sowie eine geringere Prozessdauer. Im Silierprozess werden die gleichen Prozesse ablaufen, wenngleich weniger vollständig und langsamer.

Die auch bei der Silierung entstehenden polaren Lösungsmittel Essigsäure und Alkohole dienen als interkristalline Quellungsmedien, welche die Poren bzw. die zwischenfibrillären Hohlräume der Cellulosefibrillen aufweiten (Müller, 2004 b). Es ist davon auszugehen, dass auch in Silagen ähnliche Prozesse auftreten. Dies wäre ein weiterer Erklärungsansatz für den oben angeführten statistischen Zusammenhang.

Hier sind weitergehende Untersuchungen interessant, um z.B. mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) solche Prozesse sichtbar zu machen. Erste Untersuchungen haben bereits stattgefunden [**Abb. 43**] und werden im Nachfolgeprojekt BASiliKOM systematisch weiterverfolgt.



**Abb. 42: REM-Aufnahmen unsilierten (links) und silierten Gerstenstrohs (rechts)**  
(Die Auflösung zellulärer Strukturen ist erkennbar)

## 5 Zusammenfassung

Im Fachbereich Agrarwirtschaft der Fachhochschule Südwestfalen wurde von 2013 bis 2016 das Projekt „Bioenergie aus Koppelprodukten und Reststoffen aus der Landwirtschaft durch systematische Biomasseaufwertung (BIO-EKO-LAB)“ durchgeführt.

Es wurde eine Reihe von Mischsilagen aus Winterweizen- und Gerstenstroh auf mögliche Optimierungsverfahren durch Aufschluss und damit Steigerung der Biogasausbeute getestet. Als Simulator für Zuckerrüben wurde im Labormaßstab Saccharose verwendet. Als weitere Kosubstrate kamen zum Einsatz Algen (*Chlorella vulgaris* und *Spirulina spp.*), Heu aus überständigem Grünlandaufwuchs, Winterweizenstroh als Rest aus der Speisepilzproduktion, Silierhilfen (*Lactobacter*-Kulturen, Cellulase) sowie Zwischenfrüchte (Bitterlupine, Weißsenf, Phacelia, eine Zwischenfruchtmischung für maisbetonte Fruchtfolgen sowie einer Eigenmischung aus Ackerbohne, Sommerwicke und Hafer).

Die Silagen wurden auf 35% TS-Gehalt eingestellt und in 0,75l-Gläsern einsiliert. Eine Ausnahme bildeten die Zwischenfrüchte, die mit dem TS-Gehalt vom Feld verwendet wurden. Hier wurde zu jeder reinen Zwischenfruchtsilage eine Komplementärsilage mit 10%<sub>FM</sub> Stroh angelegt. Die Silagen wurden nach 42 Tagen der Sinnenprüfung nach den DLG-Empfehlungen für Raufutter unterzogen. Da verschiedene Parameter für eine Futtersilage negativ, für eine Biogassubstrat aber positiv zu bewerten oder irrelevant sind (Essigsäure, Alkohole, angegriffene Matrix, Vergilbung/Bräunung), wurden hier erste Erkenntnisse gesammelt, um die DLG-Empfehlungen an die Beurteilung von Biogassubstraten zu adaptieren. Anschließend wurden Anteile der Silagen bei 55°C getrocknet und mittels erweiterter Rohfaseranalytik (nach van Soest) auf die Gerüstsubstanzen Lignin, Cellulose und Hemicellulose untersucht.

Als Biogasertragstest wurde der Glaskolbentest als Screening-Methode angewandt. Vielversprechende Silagen hieraus wurden für den Methanertragstest ausgewählt.

- Die Silierung von Wintergersten- und Weizenstroh ist bei Einstellung eines entsprechenden TS-Gehaltes (von ca. 35%) möglich. Die Kosilierung mit Saccharose führte zu niedrigeren pH-Werten durch Entstehung von Gärsäuren, die wiederum als Vorstufe in der Methanogenese einen höheren Biogasertrag erbringen können. Der Methanertrag reiner Strohsilagen lag bei etwa der Hälfte der Maissilage.
- Algenbiomasse als Kosubstrat war in der vorliegenden Studie schwerer zu silieren, was durch höhere pH-Werte und dem Auftreten von Buttersäure erkennbar wurde. Der höchste Methanertrag der getesteten Varianten lag mit 108 ml/goTS Methan bei ca. einem Viertel des Erwartungswertes von Maissilage. Zwar wurden durch Stinner et al. (2016) aquatische Grünpflanzen erfolgreich als Hauptsubstrat verwendet, allerdings wurden sie hier aus partiell eutrophierten Gewässern frisch geerntet und waren mit 90% das Hauptsubstrat. Dieser Ansatz erscheint im Zuge der Gewässersanierung und Nutzung der so gewonnenen Biofrischmasse sinnvoll. Als für die Biogaserzeugung extra herangezogenes Substrat sind Algen, auch aufgrund der geringen Pufferkapazität und der schweren Silierbarkeit, wenig geeignet.
- Strohrückstände aus der Speisepilzproduktion waren aufgrund des durch die Pilze erfolgten Strohaufschlusses interessant. Jedoch muss berücksichtigt werden, dass das Erntegut, in diesem Falle die Pilze, einen erheblichen Anteil an energieliefernden Pflanzenbestandteilen bereits für den eigenen Metabolismus verwendet hat.

Die entsprechenden Analysen haben gezeigt, dass insbesondere die Hemicellulosen von einem sehr starken Abbau betroffen sind. Im Biogasertragstest zeigte sich, dass mit dem Anteil des sog. Pilzstrohs als Kosubstrat zu überständigem Grünlandaufwuchs ein korrelierender Biogas-Ertragsabfall der Mischsilage auftritt. Die erwartete Wirkung der in den Strohresten enthaltenen Pilzenzyme blieb aus.

Die Heusilage aus dem Grünlandaufwuchs brachte jedoch Biogas-Erträge, die an die Maisilage heranreichten. Mit Saccharose als Kosubstrat konnte eine weitere Ertragssteigerung erzielt werden. Der rechnerische Eigenenertrag von Heu in diesen Mischsilagen lag über dem von reinen Heusilagen, was ein deutlicher Hinweis auf einen Voraufschluss sein kann. Silagen aus überständigem Grünlandaufwuchs sind demnach als Biogassubstrat interessant, insbesondere bei Kosilierung mit Zuckerrübenschnitzeln.

- Beim Einsatz von Silierhilfen zeigte sich ein komplexes Zusammenspiel der einzelnen Faktoren und Faktorstufen bezüglich des Biogasertrages. Grundsätzlich hatten auch hier die Saccharosevarianten höhere Gaserträge.

Der Einsatz von Cellulase und *Lactobacter*-Kulturen hatte einen mindernden Effekt auf die Bildung von Essigsäure. Da die Essigsäure für den überwiegenden Teil der *Methanobacter*-Spezies die unmittelbare Vorstufe für die Methanogenese darstellt, könnte dies erklären, warum die Gaserträge nicht stetig mit dem Einsatz dieser Silierhilfen steigen. Erst die kombinierte Verwendung verursachte in den Varianten ohne Saccharose einen deutlichen Mehrertrag. Eine weitere Erhöhung der Cellulase erbrachte trotz zusätzlicher Verwendung von *Lactobacter*-Kulturen keine besseren Ergebnisse.

Den höchsten gemessene Gasertrag in diesem Versuch wurde in den Saccharose-Varianten bei kombiniertem Einsatz von *Lactobacter*-Kulturen sowie zehnfacher Cellulase erzielt. Annähernd vergleichbare Ergebnisse erreichten allerdings auch die Saccharose-Varianten mit einfacher Cellulasegabe ohne *Lactobacter*. Welches die ökonomisch sinnvollste Methode ist, sollte durch praxisbezogene Vollkostenkalkulationen geklärt werden.

- Zwischenfrüchte als Frischmasse vom Feld sind als schwer zu silieren einzustufen. Die Biogaserträge waren insgesamt als niedrig zu bewerten; sie lagen durchweg bei ca. der Hälfte des zu erwartenden Ertrages einer Mais-GPS. Die Kosilierung mit Stroh erbrachte keinen signifikanten Mehrertrag. Da die Erträge der Zwischenfruchtsilagen vergleichbar mit denen von Strohsilagen waren, kann dieser Umstand erklärt werden.

Aufgrund der Vorteile des Zwischenfruchtanbaus sollte hier über weitere Anbau- und Siliermethoden nachgedacht werden, wie dem Zwischenfruchtanbau mit einer Getreideuntersaat, gemeinsamer Ernte und gemeinsamer Silierung, wobei auf einen günstigen TS-Gehalt geachtet werden muss. Entsprechende Mischsilagen könnten bessere Biogaserträge liefern, bei gleichzeitigen ökologischen und bodenverbessernden Vorteilen für den Ackerbau.

- Ein wesentliches Ziel dieser Arbeit war die Biomasseaufwertung. Um den Eigenenertrag der jeweiligen Hauptsubstrate bestimmen zu können, wurde als ein Kosubstrat noch keine Zuckerrübe verwendet, sondern Saccharose. Aus dieser wurde der chemisch mögliche Eigenenertrag abzüglich einer aus Literaturwerten entnommenen Verlustrate für den Einbau in die mikrobielle Matrix errechnet. So war es möglich, den Mindestenertrag des jeweiligen Hauptsubstrates zu bestimmen. Durch Vergleich mit den Erträgen aus den Monosilagen

ohne Saccharose konnte der relative Ertragszuwachs der Hauptsubstrate in den Saccharose-Varianten bestimmt werden.

Beim Pilzstroh als Kosubstrat zu Heu aus Grünlandaufwuchs wurde hier ein inhibitorischer Effekt auf den Eigenertrag des Heus gefunden. In den Monosilagen trat ein ertragssteigernder Effekt auf. Besonders deutlich ist dieser Effekt allerdings bei Strohsilagen und hier besonders bei kombiniertem Cellulase- und *Lactobacter*-Zusatz (ca. 10 bis 15%). Die reinen *Lactobacter*-Gaben hatten keinen deutlichen Effekt. Bei doppeltem Cellulase-Einsatz wurden Eigenertragssteigerungen im Gerstenstroh von 34 bis 40% erzielt. Besonders hier ist die Aufskalierung auf praxisrelevante Größen von Bedeutung, um zu prüfen, ob dieser Effekt auch bei großen Gärraumvolumina auftritt und ob der Mehrertrag die verdoppelten Kosten an Cellulase aufwiegt und ob in praxisrelevanten Größen überhaupt ein doppelt hoher Enzymeinsatz ökonomisch sinnvoll ist. Die zehnfache Cellulasegabe in Verbindung mit *Lactobacter*-Zusatz ergab einen Mehrertrag des Strohs von 30%. Auch hier ist eine Übertragung auf Praxisgröße einschließlich einer Vollkostenkostenrechnung sinnvoll.

Insgesamt hat der Einsatz von Saccharose als Simulation von Zuckerrüben den Nachweis erbracht, dass eine Biomasseaufwertung von lignocellulosereichen Substraten stattfindet.

- Weiterhin war zu prüfen, ob die Silierung an sich einen Voraufschluss bzw. eine Biogasertragssteigerung erbringt. Der Vergleich mit Literaturangaben für Biogaserträge von chemisch aufgeschlossenem und unbehandeltem Stroh ergab für die in der vorliegenden Arbeit angesetzten Strohsilagen einen besseren Ertrag.

Die Silierung ist eine Alternative zu chemisch/physikalischen Voraufschluss.

- Außerdem war interessant, welchen Einfluss die einzelnen Rohfaserfraktionen und der pH-Wert auf den Biogasertrag hatten. Diese Parameter wurden daher faktorstufenweise in Korrelation zum Gesamtgasertrag gesetzt. Die Hemicellulosen hatten einen deutlichen Einfluss auf den Gasertrag. Ein hoher Gehalt an Hemicellulosen hatte einen hohen Gasertrag zur Folge. Etwas geringer war dieser Zusammenhang bei der Cellulose ausgeprägt. Der Ligningehalt wiederum wies einen deutlich negativen Zusammenhang mit dem Gasertrag auf.

Beim pH-Wert war zu beobachten, dass im Allgemeinen auch hier ein deutlich negativer Zusammenhang mit dem Gasertrag besteht, indem niedrige pH-Werte höhere Gaserträge zur Folge hatten, was auf Gärsäuren zurückgeführt werden kann.

- Die Biomasseaufwertung geht möglicherweise auch mit einem Aufschluss des Lignocellulosekomplexes einher. Daher wurden die Analysedaten der Saccharose-Varianten mit denen der Varianten ohne Saccharose verglichen. Hierbei zeigte sich, dass die Saccharosegabe vor der Silierung eine Abnahme aller Rohfaserfraktionen zur Folge hatte. Die Abauraten wurden mit den errechneten Mehrerträgen des Hauptsubstrates Stroh verglichen bzw. in Korrelation gesetzt.

Für alle Fraktionen ergab sich eine negative Korrelation. Bei Hemicellulose war diese mittelstark, bei Cellulose schwach und bei Lignin deutlich ausgeprägt. Dies kann ein Hinweis darauf sein, dass durch den Ligninabbau während der Silierung das Freiwerden von zuvor gebundener Cellulose aus den Lignocellulosekomplexen möglich wird.

## 6 Schlussfolgerungen

Für die den Biogastests vorgelagerten Untersuchungen ist Folgendes festzuhalten:

Der Voraufschluss lignocellulosereicher Substrate ist auch weiterhin ein interessantes Forschungsfeld. Zum einen existiert noch immer kein Verfahren, das außerhalb des Labormaßstabes wirtschaftlich wäre. Zum anderen verleiht dies dem Anlagenbetreiber die Möglichkeit, sich aus einer Position mit eingeschränkten Handlungsmöglichkeiten zu lösen. Beispielweise entscheiden zu können, ob ein pflanzliches Substrat zur Biogasgewinnung einsiliert oder anderweitig verwendet wird, bedeutet mehr wirtschaftliche Flexibilität.

Die Biogasertragstests bleiben aufgrund ihrer systemimmanenten Varianz ungenau. Ein weiteres Sammeln von Daten hilft der Erforschung von Gesetzmäßigkeiten und somit mittel- bis langfristig zu genaueren Mitteln der Bestimmung des Ertragspotentials, und der besseren Kontrolle und somit der mikrobiologischen Stabilisierung von Anlagen.

Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass im Bereich der Stroh-Mischsilagen, und bei den hier getesteten Strohsorten besonders bei Gerstenstroh-Mischsilagen, ein noch nicht ausgeschöpftes Potential für die Biogaserzeugung besteht.

Algen als Kosubstrat eignen sich insofern weniger, als dass ihre Biomasseerzeugung in praxisrelevanten Maßstäben für die Einsilierung sehr zeit- und kostenintensiv ist, bzw. bei ca. 3% TS in der Lösung kaum in den erforderlichen Mengen erzeugt werden kann. Vorteile von Algen als Zusatz zu Stroh sind nicht deutlich geworden. Die hohe Wertigkeit von Algen, vor allem als Proteinquelle, bleibt bei der Biogaserzeugung ohne erkennbaren Nutzen.

Die Saccharose, die im vorliegenden Projekt eingesetzt wurde, diente als Simulation von Zuckerrübenschnitzeln. Die Versuche weisen darauf hin, dass das gleichzeitige Einsilieren von Zuckerrübenschnitzeln mit Stroh eine erfolgversprechende Möglichkeit ist. Zu dieser Thematik gibt es noch wenig Daten und Praxiserfahrung.

Wurden die Saccharose-Varianten mit zusätzlichen Komponenten in weitere Faktorstufen unterteilt, zeigte sich beim Einsatz von Cellulase zusammen mit Lactobacter-Kulturen, dass die Gasausbeute deutlich gesteigert werden kann, und zwar mehr, als dies bei individuellem Einsatz der Komponenten gemessen wurde. Die Zusammenhänge sind jedoch nicht linear, das heißt, bei Einsatz mehrerer Komponenten in Mischsilagen sinkt der Grenzertrag der einzelnen Komponenten tendenziell.

Dies gilt auch für eine Überdosierung von potentiell ertragssteigernden Komponenten. Teilweise wurde dabei sogar eine Abnahme des Gasertrages beobachtet, z.B. beim Einsatz von Lactobacter-Kulturen. Der Einsatz von Kosubstraten und Silierhilfen muss also stets in einer ausgewogenen Mischung erfolgen.

Im Einzelfall muss die Wirtschaftlichkeit des Zusatzes von Enzymen geprüft werden, da die Kosten für Cellulase hoch sind. Die Nutzung von in Strohresten aus der Speisepilzproduktion enthaltenen Enzymen zeigte nicht die gewünschte Wirkung.

Besonders das in der landwirtschaftlichen Praxis auftretende Problem der weitgehend homogenen Verteilung und der Vermeidung von Nesterbildung der Zuckerrübenschnitzel innerhalb des Strohkonvolutes wirft allerdings noch verfahrenstechnische Fragen auf.

Die Ergebnisse weisen außerdem darauf hin, dass durch die Kosilierung saccharosehaltiger Biomasse (z.B. Zuckerrübenschnitzel) ein teilweiser Abbau der Lignocellulose stattfindet.

Insbesondere das Ziel dieser Arbeit, der Biomasseaufwertung von Koppelprodukten durch Voraufschluss lignocellulosereichen Materials, konnte so durch den simulierten Zuckerrübeneinsatz rechnerisch erreicht werden. Hier wurden möglicherweise Zusammenhänge gefunden, die im Nachfolgeprojekt anhand weiterer Mischsilagen vermittels analytischer Methoden, wie der Rasterelektronenmikroskopie, weiter aufgeklärt werden können.

Zusätzlich kann festgehalten werden, dass der DLG-Schlüssel zur Grobfutterbewertung beruht auf empirischen Daten zur Tierfütterung beruht. Da z.B. hohe Essiggehalte bei der Rinderfütterung eine verminderte Akzeptanz zur Folge haben, für die Methanogenese aber eine wichtige Vorstufe sind, erscheint es daher sinnvoll, den DLG-Schlüssel im Hinblick auf eine Gärsilagenbewertung zu erweitern. Zurzeit ist die Datenlage zu gering, als dass eine Adaption der Gewichtungen vorgenommen werden kann.

## 7 Ausblick

Wenn auch in einzelnen Biogasertragstests im Labormaßstab einzelne Maissilage-Wiederholungen übertroffen wurden, so zeigen die zum Vergleich herangezogenen durchschnittlichen Werte aus den hier durchgeführten Versuchen sowie der Literatur, dass der Mais als Gärsubstrat weiterhin die ertragreichste Option bleibt.

Jedoch kommen Mischsilagen mit Saccharose-Anteil dem Mais insofern nahe, als dass vergleichende Vollkostenrechnungen (mit Anbaukosten einschl. Pflanzenschutz, Bergekosten, alternative Feldfrüchte mitsamt Verkaufserlösen, Methanausbeute etc.) eine wirtschaftliche Alternative aufzeigen können.

Insbesondere der Einsatz von Zuckerrüben als Kosubstrat im Verbund mit Silierhilfen wie Lactobacter-Kulturen und Enzymen ist vielversprechend. Es konnte ein Aufschluss pflanzlicher Matrix durch Kosilierung aufgezeigt werden. Dies sollte systematisch weiterverfolgt werden.

Es sind aufgrund der Artenvielfalt noch zahlreiche Kombinationen für Silagen denkbar. Für die Forschung gilt dann, dass erfolgreich getestete Kombinationen auch gegeneinander getestet werden sollten, was nur Sinn ergibt, wenn dies unter gleichen Bedingungen, zu gleicher Zeit und mit dem gleichen Impfschlamm erfolgt.

Der Einsatz von Kosubstraten und Silierhilfen muss stets in einer ausgewogenen Mischung erfolgen. Dies macht die standortbezogene Kosten-Nutzen-Rechnung sinnvoll, wenn nicht sogar im Sinne einer wirtschaftlichen Betrachtung notwendig. Hier sind weitere Untersuchungen nötig, bis eine hinreichend große Datenmenge besteht, die diese Rechnung als Linear-Optimierung ermöglichen. Dadurch wird den Biogasanlagenbetreibern ein wertvolles Instrument zur Steigerung der Kosteneffizienz in die Hand gegeben.

Insgesamt lässt sich sagen, dass eine weitere Forschung an der Optimierung von Mischsilagen die Biogaserzeugung im Sinne einer wertvollen Übergangstechnologie stärken würde.

## 8 Verbesserung der Lehre

An der Fachhochschule Südwestfalen ist die Einbeziehung der Studierenden in aktuelle Fragestellungen und Forschungsprojekte wesentlicher Teil des Studiums. Zu verschiedenen Inhalten des Projektes bestehen in den beteiligten Fachbereichen bereits Lehrmodule, in denen die neuen Erkenntnisse vermittelt werden können.

Im Laborbereich des vorliegenden Projektes wurden Studierende durch eigene Forschungen an das wissenschaftlich-praktische Arbeiten herangeführt.

Die unten aufgeführten Arbeiten wurden direkt im Projekt BIO-EKO-LAB betreut, und waren teilweise integrativer Bestandteil von Versuchen des Projektes. So wurde eine zum Teil sehr produktive Zusammenarbeit zwischen den Projektmitarbeitern und den Studierenden erzielt.

Eine Reihe von weiteren Arbeiten im Bereich der Silierung und der Silagebewertung wurden indirekt unterstützt, indem Studierende in die Silierverfahren und Analysemethoden eingearbeitet wurden, und dabei Hilfestellungen erfuhren.

Des Weiteren wurden über das Projekt hinaus eine Masterarbeit betreut und ein Promotionsvorhaben unterstützt, in welchem die Biogasertragspotentiale von verschiedenen, eigens erstellten Silagen getestet werden. Durch einen Austausch der Ergebnisse wird ein beidseitiger Erkenntnisgewinn erzielt.

### Arbeiten im Projekt BIO-EKO-LAB

#### Projektarbeiten

- Büssemaker, A.; Stute, I.; 2015: „Projektarbeit zum Einfluss von Silierzusätzen (Zucker, homofermentative Milchsäurebakterien, Cellulase) auf den Silierprozess von Gerstestroh“

#### Bachelorarbeiten

- Hohoff, K.; 2014: „Siliereigenschaften von Stroh – Algen Gemischen zur anschließenden Verwendung als Biogassubstrat“
- Kröger, N.; 2014: „Rohfaseraufschluss von Stroh durch Silierung mit zuckerhaltigen Komponenten“
- Köppen, J.; 2014: „Aufschluss der Ligno-Cellulose in überständigen Grünlandaufwüchsen durch Silieren in Kombination mit Rückständen aus der Speisepilzproduktion“
- Bohlmann, J.-H.; 2015: „Verbesserung der Biogassubstrateigenschaften von Zwischenfrüchten durch Zusatz von Stroh und anschließender Silierung“

### Arbeiten über den Projektrahmen hinaus

#### Bachelorarbeiten

- Schmidt, M.; 2016: „Möglichkeiten der gemeinsamen Silierung von Körnermaisstroh und Zuckerrüben zur anschließenden Nutzung in Biogasanlagen“
- Book, J.; 2016: „Biogaserträge von Mischsilagen aus Stroh und verschiedenen Beta- Rüben“

- Bartens, F.; 2016: „Untersuchung des Cellulosevoraufschlusses von pflanzlichen Biogassubstraten unter verschiedenen Silierbedingungen“
- Kero, R.; (in Arbeit), Thema: „Kosilierung von Körnermaisstroh und Zuckerrübe

Masterarbeit:

- Sümmermann, K.; 2016: „Methodenvergleich zur Bestimmung der Gasbildungspotentiale von Riesenweizengras (*Agropyron elongatum* ) zu verschiedenen Nutzungszeitpunkten“

## 9 Literatur

Baserga, U.; 1998: „Landwirtschaftliche Co-Vergärungs-Biogasanlagen – Biogas aus organischen Reststoffen und Energiegras“, FAT-Berichte Nr. 512, 1-11

Brückner, C.; Sawatzki, T.; 2011: „Effizienzsteigerung in Biogasanlagen“, Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie Freistaat Sachsen (Hrsg.), Schriftenreihe, Heft 35/2011, 34- 42

Bronshtein, I.N.; Semendyayew, K. A.; 1985: „Handbook of Mathematics“, Verlag Harri Deutsch, Thun und Frankfurt/Main

Budde, J.; Cordes, A.; Dröge, S.; Eschenbacher, S.; Heiermann, M., Kausmann, R.; Kretzschmar, J.; Müller, L.; Nacke, O.; Rottmann, N.; Suárez Quiñones, T.; Theobald, A.; Wawra, M.; 2015: „Untersuchungen und Bewertung zum Einsatz von Enzymen in Biogasanlagen auf deren Wirksamkeit und deren Wirkungsweise sowie zur Veränderung des Verfahrensablaufs im Labor-, Technikum und Praxisanlagen - Maßstab; Kurztitel: BiogasEnzyme; Teilvorhaben 1-6. Schlussbericht, FNR-FKZ 22027707, 22006510, 22027608, 22028008, 22027808, 22027908“, <http://www.fnr-server.de/ftp/pdf/berichte/22027707.pdf>;  
Download 14.04.2015

Bugdahl, B.; 2013: „Zuckerrüben und Stroh gemeinsam silieren?“ Bauernblatt, 8. Juni 2013, 52- 54

Buswell, A.M.; Mueller, H.F.; 1952: “Mechanism of Methane Fermentation”, Industrial and Engineering Chemistry, 44 (3), 550-552; in Weißbach, F.; 2011: „Die Bewertung von nachwachsenden Rohstoffen als Substrate für die Biogasproduktion“

Cypionka, H.; 2010: „Grundlagen der Mikrobiologie“, Springer-Verlag Berlin Heidelberg

DBFZ (Hrsg.); 2009: „Regionale und globale räumliche Verteilung von Biomasse potenzialen - Status Quo und Möglichkeit der Präzisierung“, Deutsches Biomasse Forschungszentrum, Abschlussbericht FKZ: SF – 10.08.36.2

DECHEMA e.V. (Hrsg.); 2014: "Lignocellulose-Bioraffinerie" Aufschluss lignocellulosehaltiger Rohstoffe und vollständige stoffliche Nutzung der Komponenten (Phase 2)", Abschlussbericht zu den wissenschaftlich-technischen Ergebnissen

Deutsche Landwirtschaftliche Gesellschaft e.V.(Hrsg.); 2004: „Grobfutterbewertung“, DLG-Information 1/2004

DIN Deutsches Institut für Normung e.V. (Hrsg.); 1998: „Bestimmung der „vollständigen“ anaeroben biologischen Abbaubarkeit organischer Verbindungen im Faulschlamm“, DIN EN ISO 11734

Dumas, C.; Ghizzi Damasceno da Silva, G.; Rouau, X.; Carrère, H.; Steyer, J.P; 2010: “Wheat straw milling effect on biogas production”. In: Proceeding of 12th World Congress on Anaerobic Digestion, Guadalajara, Jalisco- Mexico

EBA-Zentrum Triesdorf (Hrsg.); 2010; in: Biogasforum Bayern (Hrsg.); 2010 : „Bereitung hochwertiger Silage – die Grundlage für hohen Biogasertrag“, [http://www.biogas-forum-bayern.de/publikationen/Bereitung\\_hochwertiger\\_Silage.pdf](http://www.biogas-forum-bayern.de/publikationen/Bereitung_hochwertiger_Silage.pdf), p.3f

El-Jellouli, Alae, 2013: „Einfluss unterschiedlicher Faktoren auf die Rohfaserzusammensetzung von Stroh und dessen Eignung als Festbrennstoff“, Masterarbeit an der Fachhochschule Südwestfalen, FB Agrarwirtschaft, Soest

Feldmann, M.; 2008: „Biogasanlage zur Erzeugung von Biogas aus ligninhaltigen nachwachsenden Rohstoffen“, Deutsches Patent DE 202007019537 U1

Gesellschaft für Bildung und Technik mbH (Hrsg.): 1996: „Formeln und Tabellen“, paetec Gesellschaft für Bildung und Technik mbH, Berlin

Hensgen, F.; Bühle, L.; Donnison, I.; Heinsco, K.; Wachendorf, M.: 2014: “Energetic conversion of European semi-natural grassland silages through the integrated generation of solid fuel and biogas from biomass: Energy yields and the fate of organic compounds”, Bioresourc Technology 154

Kindl, H.; 1991: „Biochemie der Pflanzen“, Springer Verlag Berlin Heidelberg, New York

Kirsop, B.E.; Doyle, A. (Hrsg.): 1991: „Maintenance of Microorganisms and Cultured Cells“, Academic Press Limited

Klee, R.; 1999: “Zero Waste System in Paradise” Biocycle - Journal of Composting and Recycling. Vol. 40 No.2

LFL, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (Hrsg.): 2010: „Biogasanlagen - Laborparameter und Prozessüberwachung“, Schriftenreihe der LFL 7/2010

LFL, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (Hrsg.): 2017: <http://www.lfl.bayern.de/iba/energie/049711/>  
Download 19.01.2017

Laser, H.: 2013 b: „Bioenergie aus Koppelprodukten und Reststoffen aus der Landwirtschaft durch systematische Biomasseaufwertung (BIO-EKO-LAB)“, Vortrag auf der Biokraftstofftagung auf Haus Düsse (28.11.2013)  
<https://www.landwirtschaftskammer.de/duesse/znr/pdfs/2013/2013-11-28-biokraftstoffe-07.pdf>  
Download 17.03.2015

Leuchtenberger, A; 1998: „Grundwissen zur mikrobiellen Biotechnologie“, B.G. Teubner Stuttgart-Leipzig

Menardo, S., Airoidi, G.; Balsari, P.: 2012: “The effect of particle size and thermal pre-treatment on the methane yield of four agricultural by-products”, Bioresource Technology

Müller, S.; 2004: "Möglichkeiten der Verwendung von flüssigem Ammoniak bei der Herstellung und Aktivierung von Chemiezellstoffen", Dissertation an der Universität Stuttgart, Fakultät Chemie

Mosier, N.; Wyman, C.; Dale, B.; Elander, R.; Lee, Y. Y.; Holtzapfle, M.; Ladisch, M.: 2005: "Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass", *Bioresource Technology*, 96(6), 673- 686

Neumann, H.: 2013: „Verstärkung für Fermenter“, *Energie- Magazin* 3/2013, 12- 17

Ohl, S.; 2011: „Ermittlung der Biogas- und Methanausbeute ausgewählter Nawaro“, Dissertation Universität Rostock

Renewable Energy Concepts (Hrsg.): 2013: <http://www.renewable-energy-concepts.com/german/bioenergie/biogas-basiswissen/biogas-analytik-prozessanalyse/tr-trockenrueckstand-ots.html>

Download 30.05.2013

Sambusiti, C.: 2012: "Physical, chemical and biological pretreatments to enhance biogas production from lignocellulosic substrates", Dissertation Universität Mailand (Politecnico di Milano), Department of Civil and Environmental Engineering

Schimpf, U.; 2014: „Enzymatischer Abbau des Lignocellulosekomplexes in Energiepflanzen unter besonderer Berücksichtigung der Silierung und der Biogasproduktion“, Dissertation Humboldt-Universität zu Berlin, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät

Schumacher, B.: 2008: „Untersuchungen zur Aufbereitung und Umwandlung von Energiepflanzen in Biogas und Bioethanol“, Dissertation Universität Hohenheim, Fachbereich Agrarwissenschaften

Slonczewski, J.; Foster, J.: 2011: „Mikrobiologie“, Springer Verlag Berlin-Heidelberg

Sonakya, V.; Raizada, N.; Kalia V.C.: 2001: "Microbial and enzymatic improvement of anaerobic digestion of waste biomass", *Biotechnology Letters* 23

Stinner, W.; Moeller, L.; Wedwitschka, H.; Roth, S.; Brummer, V.; Röhl, M.; Herbes, C.; Zehnsdorf A.: 2016: „Wasserpflanzen als Substrat für Biogasanlagen -praxisgerechte Silierung und Vergärung“, DBFZ, Hochschule für Wirtschaft und Umwelt Nürtingen-Geislingen, Helmholtz Zentrum für Umweltforschung (Hrsg.)

[http://www.eek-sh.de/files/aktuelles/veranstaltungen/www-reihe/Praes-16\\_06\\_20-4\\_Stinner\\_Biogaserzeugung\\_aus\\_Wasserpflanzen.pdf](http://www.eek-sh.de/files/aktuelles/veranstaltungen/www-reihe/Praes-16_06_20-4_Stinner_Biogaserzeugung_aus_Wasserpflanzen.pdf); Download 04.10.2016

Taherzadeh, M.J.; Karimi, K.: 2008: "Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review", *International Journal of Molecular Sciences*. 9(9)

Umweltbundesamt (Hrsg.): 2014: „Energiebereitstellung und Verbrauch“,  
<http://www.umweltbundesamt.de/daten/energiebereitstellung-verbrauch>;  
Download 16.03.2015

VDI-Gesellschaft Energietechnik (Hrsg.) 2006: “VDI 4630- Vergärung organischer Stoffe- Substratcharakterisierung, Probenahme, Stoffdatenerhebung, Gärversuche“, VDI-Handbuch Landwirtschaft/Landtechnik

Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten e.V. (Hrsg.): 2007:

- a) „Bestimmung der Feuchtigkeit“, Methodenbuch III, VDLUFA-Verlag, Kap. 3.1
- b) „Bestimmung von Rohasche“, Methodenbuch III, VDLUFA-Verlag, Kap. 8.1
- c) „Bestimmung des pH-Wertes“, Methodenbuch III, VDLUFA-Verlag, Kap. 18.1
- d) „Bestimmung der Neutral-Detergenzienfaser nach Amylasebehandlung (aNDF)“, Methodenbuch III, VDLUFA-Verlag, Kap. 6.5.1
- e) „Bestimmung der Säuredetergenzien-Faser (ADF)“, Methodenbuch III, VDLUFA-Verlag, Kap. 6.5.2
- f) „Bestimmung des Säure-Detergenzien-Lignins (ADL)“, Methodenbuch III, VDLUFA-Verlag, Kap. 6.5.3
- g) „Lignin“, Methodenbuch III, VDLUFA-Verlag

Weißbach, F.: 2011: „Die Bewertung von nachwachsenden Rohstoffen als Substrate für die Biogasproduktion“,  
[http://www.llg.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Bibliothek/Politik\\_und\\_Verwaltung/MLU/LLFG/Dokumente/pfb\\_akt11\\_weissbach.pdf](http://www.llg.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Bibliothek/Politik_und_Verwaltung/MLU/LLFG/Dokumente/pfb_akt11_weissbach.pdf)  
Download 30.05.2013

Wiegand, S.; 2013: „Qualitätsbestimmende Merkmale von perennierenden Gräser-Leguminosen-Mischungen und Zwischenfrüchten für optimierte Biogaserträge“, Dissertation an der Justus-Liebig-Universität Gießen

Zeller, V.; Weiser, C.; Hennenberg, K.; Reinicke, F.; Schaubach, K.; Thrän, D.; Vetter, A.; Wagner, B.: 2011: „Basisinformationen für eine nachhaltige Nutzung landwirtschaftlicher Reststoffe zur Bioenergiebereitstellung“, Schriftenreihe des BMU-Förderprogramms „Energetische Biomassenutzung“ Band 2