

Forschungsberichtsblatt

**Nachhaltige Bioethanolerzeugung durch
Vorbehandlungsoptimierung hochdiverser
Blühpflanzenmischungen
Akronym: sustain fuel**

von

Daniel Einfalt

Universität Hohenheim
Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie
Fachgebiet Hefegenetik und Gärungstechnologie (150f)

Förderkennzeichen: BWBÖ 17001

Die Arbeiten des Baden-Württemberg-Programms Lebensgrundlage Umwelt und ihre
Sicherung (BWPLUS) werden mit Mitteln des Landes Baden-Württemberg gefördert

November 2018



1. Kurzbeschreibung der Forschungsergebnisse

Ziel der Kurzstudie bestand in der Untersuchung der Umsetzbarkeit von Blühpflanzenmischungen zur technischen Bioethanolgewinnung. Um lignocellulosehaltige Substrate für die Bioethanolgewinnung vorzubereiten, sind zwei essentielle Prozessschritte nötig. Diese umfassen eine (i) Vorbehandlungsmethode und (ii) eine enzymatische Hydrolyse um die in Cellulose und Hemicellulose gespeicherten Kohlenhydrate als Mono- bzw. Disaccharide freizulegen und in Lösung zu versetzen. Die Effizienz der Bearbeitungsschritte wurde anhand dieser Konversionsraten ermittelt.

Gegenstand der Untersuchung waren sechs Blühpflanzenmischungen (BM) mit unterschiedlicher Artenzusammensetzung. Die diverseste Blühpflanzenmischung (BM 4) *Blühende Landschaft Süd* bestand aus 50 Taxa und wurde zur Bewertung der Konversionseffizienz durch drei Vorbehandlungsmethoden bearbeitet.

Die Vorbehandlungsmethoden umfassten Querstromzerspannung (QZ), steam explosion (SE) und ammonia fibre expansion (AFEX). Alle drei Vorbehandlungsmethoden konnten etabliert werden. Die höchsten Konversionsraten wurden bei Vorbehandlungsmethode AFEX ermittelt (37,62 - 45, %). Im Vergleich zur Vorbehandlungsmethode QZ (Konversion 33,53 - 36,67 %) zeigte die Vorbehandlungsmethode SE mit Konversionsraten von 23,90 - 26,45 % die geringste Konversionseffizienz.

Zusätzlich wurden alle sechs Blühpflanzenmischungen mit den drei Vorbehandlungsmethoden bearbeitet und mit drei unterschiedlichen Enzymen hydrolysiert. Dabei zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Vorbehandlungsmethoden. Daraus wird ersichtlich, dass die Vorbehandlungsmethoden ähnliche Potentiale besitzen und Optima nur unter Berücksichtigung der spezifischen Blühpflanzenmischung definiert werden können.

Zur Überprüfung der Konversionspotentiale der sechs Blühpflanzenmischungen, wurden alle sechs Blühpflanzenmischungen mit sechs Enzymen hydrolysiert. Der Einsatz der Enzyme erfolgte auf Basis der Enzymaktivität, um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Dabei zeigte Blühpflanzenmischung BM 4 das signifikant höchsten Konversionspotential (Median = 30,33 %, $p \leq 0,02$). Damit zeigt sich Blühpflanzenmischung BM 4 am ehesten für die Bioethanolerzeugung geeignet.

Die Verwendung technischer Enzyme ist ein zusätzlicher Faktor, welcher die Rentabilität des Verfahrens und damit die Bioökonomie beeinflusst. Auf Basis der zugegebenen Enzymmengen lässt sich eine konkrete Aussage zum Kostenaufwand nach Listenpreis treffen. Dabei sind die Enzyme Cellic CTec2 (Novozymes) und 22178 (Merck) mit den geringsten Anschaffungskosten verbunden.

Unter Berücksichtigung bioökonomischer Faktoren lässt sich die Vorbehandlungsmethode QZ mit dem geringsten Prozessieraufwand definieren. Vergleicht man die Konversionsraten von Blühpflanzenmischungen mit dem Referenzmaterial Weizenstroh, so zeigt sich, dass Blühpflanzenmischungen mit Vorbehandlungsmethode QZ eine deutlich bessere Konversionsrate gegenüber Weizenstroh besitzen. Dies ist insofern relevant, da Weizenstroh erst mit höherem Prozessieraufwand (z.B. Vorbehandlungsmethode SE oder AFEX) vergleichbare Konversionsraten erreicht. Entsprechend unterliegen Blühpflanzenmischungen einfacheren Konversionsbedingungen und können damit positiv zu bioökonomischen Faktoren beitragen.

2. Fortschritte für Wissenschaft und/oder Technik durch die Forschungsergebnisse

Mit Ausnahme von wenigen Untersuchungen (z.B. Camargo & Sene, 2014; Vaithanomsat et al, 2009) wurden Blühpflanzen bislang nur selten für die Verwendung zur Bioethanolproduktion untersucht. Die Verwendung definierter Blühpflanzenmischungen für die Bioethanolproduktion stellt ein Novum in dieser Disziplin dar. Die Anwendung von drei Vorbehandlungsmethoden auf sechs definierte Blühpflanzenmischungen wurde nach aktuellem Kenntnisstand noch nicht wissenschaftlich untersucht.

Bislang beruht die technische Bioethanolerzeugung zum größten Teil auf stärkehaltigen Substraten (z.B. Getreidefrüchte). Bei der Verarbeitung dieser Substrate wird die Stärke zunächst verflüssigt und anschließend verzuckert. Dieses Biokonversionsverfahren von Stärke zu Monosacchariden gilt als sehr gut erforscht. Der Einsatz von stärkehaltigen Ausgangssubstraten zur Herstellung eines Energieträgers steht jedoch häufig in Konkurrenz zur Erzeugung von Lebensmitteln. Dies gipfelt in der kontrovers geführten ‚Tank-Teller-Debatte‘. Landwirtschaftliche Reststoffe werden schon lange als Alternativen für stärkebasierte Rohstoffe diskutiert und könnten zukünftig entsprechende Rohstoffe in der Bioethanolerzeugung ersetzen. Jedoch bestehen landwirtschaftliche Reststoffe meist aus lignocellulosehaltigen Pflanzenstrukturen (z.B. Stroh, Holz), deren Aufarbeitung aufwendig und damit kostenintensiv ist. Der Aufschluss von Lignocellulose ist nicht trivial und bedarf eines aufwändigen



Vorbehandlungsverfahrens. Die Aufwands- und Kostenoptimierung dieser Vorbehandlung bleibt ein elementarer Bestandteil der Prozesskette, welcher die Bioökonomie maßgeblich beeinflusst.

In der Konzeptstudie wurden geeignete Voraufschlussmethodik für eine erfolgreiche Umsetzung von Blühpflanzenmischungen als Bioethanolsubstrat gesucht. Elementar war dabei der Aufschluss der lignocellulosehaltigen Stützstrukturen der Pflanzen. Diese bestehen hauptsächlich aus Cellulose, Hemicellulose und Lignin. Durch mechanische, thermische und/oder chemische Vorbehandlungen des Rohstoffs wurden die kristalline Cellulosestruktur und der Polymerisationsgrad der komplexen Ligninmoleküle reduziert. Dadurch wurde die Zugänglichkeit der Rohstofffraktionen für die anschließende enzymatische Hydrolyse effizient verbessert (Alvira et al., 2010).

In der Literatur sind verschiedene Voraufschlussverfahren bekannt. In der Konzeptstudie wurden drei bereits etablierte, hocheffiziente Methoden angewendet und miteinander verglichen. Die drei Vorbehandlungsmethoden AFEX, SE und QZ haben unterschiedliche Vorteile und können zu höheren Aufschlussraten führen. AFEX ist eine vielversprechende Voraufschlussmethode für die Anwendung auf lignocellulosehaltige Reststoffe. Dabei wurde flüssiges Ammoniak zur Biomasse gegeben, welches durch zusätzlichen Einfluss von Druck und Temperatur über einen definierten Zeitraum auf das Substrat wirken konnte. Anschließend wurde der Druck schlagartig reduziert, welches zur Lösung von Cellulose, Hemicellulose und Lignin führte (Bals et al., 2010). SE ist ein vergleichbares Verfahren, welches ohne die Zugabe von Ammoniak wirkt. Hier steht unter anderem die Reduzierung der Prozesskosten im Vordergrund. Deshalb ist SE auch eine der meistverwendeten Vorbehandlungsmethoden bezüglich des Lignocelluloseaufschlusses. Dabei wurde das Substrat unter Zugabe von Wasser in einen dafür konstruierten Dämpfer gegeben, welcher gasdicht verschlossen wurde. Das Substrat wurde erhitzt und unter Druck konstant gerührt. Durch schlagartigen Druckabfall ging das in den Fasern eingelagerte Wasser in den Dampfzustand über, wobei die Faserstruktur aufgebrochen wurde (Schläfle et al., 2017a). Bei der Vorbehandlungsmethode QZ wird Biomasse mittels einer drehenden Schlageinrichtung beansprucht. Durch die hohe Drehfrequenz prallt die Schlageinrichtung regelmäßig auf das Substrat und zerkleinert dadurch harte und spröde Pflanzenteile. Dies hat eine Auffaserung des Materials zur Folge. Diese Technik wird bereits häufig in kontinuierlich arbeitenden Biogasanlagen eingesetzt und hat viele Vorteile hinsichtlich Prozesskosten, Prozesskontrolle, Zuckerverluste, Anpassungsfähigkeit und Durchflussrate (Brückner & Sawatzki 2011). Im Vergleich zu AFEX und SE hat die Vorbehandlungsmethode QZ den gezielten Vorteil, dass keine großen Zusätze an flüssigen Fraktionen zugeführt werden müssen. Dies hat positive Auswirkungen auf die später erfolgende enzymatische Hydrolyse, da eine geringere Enzymzugabe erforderlich ist.

Quellenangabe

- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M. J., & Negro, M. J. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review. *Bioresource technology*, 101(13), 4851-4861
- Brückner, C., & Sawatzki, T. (2011) Effizienzsteigerung in Biogasanlagen. Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie LfULG.
- Bals, B., Rogers, C., Jin, M., Balan, V., & Dale, B. (2010). Evaluation of ammonia fibre expansion (AFEX) pretreatment for enzymatic hydrolysis of switchgrass harvested in different seasons and locations. *Biotechnology for biofuels*, 3(1), 1.
- Camargo, D., & Sene, L. (2014). Production of ethanol from the hemicellulosic fraction of sunflower meal biomass. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 4(2), 87-93.
- Schläfle, S., Tervahartiala, T., Senn, T., & Kölling-Paternoga, R. (2017a). Quantitative and visual analysis of enzymatic lignocellulose degradation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 11, 42-49.
- Vaithanomsat, P., Chuichulcherm, S., & Apiwatanapiwat, W. (2009, January). Bioethanol production from enzymatically saccharified sunflower stalks using steam explosion as pretreatment. In *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology* (Vol. 37, pp. 140-143).



3. Nutzen, insbesondere praktische Verwertbarkeit der Ergebnisse u Erfahrungen;

Die Konzeptstudie zielte darauf ab, die Umsetzbarkeit von hochdiversen Blühpflanzenmischungen für die Gewinnung von technischem Bioethanol zu untersuchen. Die Erkenntnisse zeigen, dass Blühpflanzenmischungen bei 24 h enzymatischer Hydrolyse eine Konversionsrate im Verhältnis zu Stroh erreichen können. Dabei spielt der geringere Aufwand der Vorbehandlungsmethode QZ bei Blühpflanzenmischungen eine große Bedeutung. Bei Stroh kann im Vergleich nur durch die Vorbehandlungsmethode SE eine ähnliche Konversion von Cellulose bzw. Hemicellulose zu Kohlenhydraten erreicht werden. Diese Erkenntnisse können von besonderer Bedeutung sein für ein Weiterdenken der Etablierung eines Bioethanolsektors (*sustain fuel*), welcher die Nachhaltigkeit der verwendeten Ausgangssubstrate berücksichtigt.

4. Konzept zum Ergebnis- und Forschungstransfer auch in projektfremde Anwendungen und Branchen

Es ist geplant, die in der Konzeptstudie gewonnen Erkenntnisse zu einer wissenschaftlichen Veröffentlichung in einem themenspezifischen Journal (peer-reviewed) zu führen. Damit können die Ergebnisse zu einem themenübergreifenden Forschungstransfer beitragen.

Die in der Konzeptstudie gewonnen Erkenntnisse werden zudem als Erweiterung der bereits vorhandenen Expertise zur Bioethanolerzeugung im Fachgebiet Hefegenetik und Gärungstechnologie der Universität Hohenheim gesehen. Darüber hinaus werden die Inhalte der Konzeptstudie für studentische Lehreinheiten aufbereitet und an Studierende aus verschiedenen Fachdisziplinen (Agrarwissenschaften, Naturwissenschaften) vermittelt. Dies betrifft u.a. das Mastermodul *Bioethanol and Distilled Spirits*, in welchem Studierenden die biotechnologischen Arbeitsweisen zu Bioethanolerzeugung nahegebracht werden.

Zusätzlich werden Inhalte in die halbjährlich stattfindenden industriellen Lehrgänge der Forschungs- und Lehrbrennerei integriert. In den angebotenen Brennerkursen wird neben dem Fokus auf Spirituosenerzeugung auch auf die technische Bioethanolerzeugung eingegangen.

Im Ausschuss der AGF (Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung) treffen sich jährlich ExpertInnen im Themenfeld Getreide und Bioethanolerzeugung. Dabei werden aktuelle wissenschaftliche Forschungen näher betrachtet und interessante Themenfelder für die jährlich stattfindende Tagung *Bioethanol and Bioconversion Technology Meeting* gesammelt. In dieser Zusammenkunft sollen die in der Konzeptstudie gewonnen Erkenntnisse vorgestellt werden.

Des Weiteren werden die Erkenntnisse an die Hohenheimer Gärten zurückgeliefert. Diese können in themenrelevante botanischen Führungsangeboten eingebunden werden.

5. Handlungsempfehlung

Der Einsatz von Blühpflanzenmischungen mit hoher Konvertierbarkeit ist aus bioökonomischer Sicht empfehlenswert, da Konversionsraten ähnlich Weizenstroh erreichbar sind bei zeitgleich geringerem Vorbehandlungsaufwand.