

Tatort Biogasanlage – mikrobiologische Kriminaltechnik

Durch den Einsatz modernster Analyseverfahren konnten interessante neue Erkenntnisse zur ökologischen Rolle der Mikroorganismen beim Prozess der Biogasbildung gewonnen werden. Es gelang, Mikroorganismen zu identifizieren, die verstärkt im Vorfeld kritischer Prozesszustände auftraten.

Von Dr. Susanne Theuerl und Dr. Michael Klocke

Ein stabiler und effizienter Prozess der Biogasfermentation ist das Ziel jedes Anlagenbetreibers. Nicht immer läuft alles nach Plan – so mancher Anlagenbetreiber musste wohl schon das ein oder andere Mal mit Prozessstörungen kämpfen. In den meisten Fällen erkennt der Betreiber eine Prozessstörung anhand des Absinkens der produzierten Biogasmenge oder an einer verschlechterten Gasqualität mit geringerem Methananteil. In der Folge wird für ein paar Tage die Fütterung reduziert beziehungsweise auch mal ganz eingestellt.

Auch wenn sich der Fermenter oft innerhalb weniger Tage wieder erholt, so bedeutet doch jeder Tag mit niedriger Gasmenge oder schlechter Gasqualität finanzielle Einbußen. Aber was ist die eigentliche Ursache von Prozessstörungen? Gibt es Möglichkeiten, diese frühzeitig zu erkennen und dadurch finanzielle Verluste zu vermeiden? Was lässt sich tun, um einen langfristig stabilen und effizienten Prozess der Biogasproduktion zu gewährleisten? Welche Rückschlüsse lassen sich aus gut laufenden Anlagen ziehen? Um diese Fragen zu beantworten, muss man sich ähnlich wie in der Kriminalistik auf Spurensuche begeben. Dabei sind alle verwertbaren „Beweismittel“ verfahrenstechnischer, chemischer und mikrobiologischer Natur zu sammeln, auszuwerten und zusammenzuführen. Im kriminalistischen Sinne: Man muss ein „Profiling“ durchführen.

Dieser Aufgabe widmeten sich Wissenschaftler am Potsdamer Leibniz-Institut für Agrartechnik in enger Kooperation mit Wissenschaftlern der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg sowie dem Centrum für Biotechnologie (CeBiTec) der Universität Bielefeld im Projekt BIOGAS-BIOCOENOSIS. In diesem durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) in Projekträgerschaft der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR) geförderten Forschungsvorhaben untersuchten sie die mikrobiellen Lebensgemeinschaften in neun ausgewählten landwirtschaftlichen Biogasanlagen, die sich hinsichtlich ihrer Konstruktionsweise, der Substratbeschickung sowie der Prozessführung unterschieden.

Dem Täter auf der Spur – Methoden zur Erfassung der Prozessmikrobiologie

Ohne Mikroorganismen wäre die Produktion von Biogas als nachhaltige, klimafreundliche Energiequelle nicht möglich. Aber wer sind diese mikroskopisch kleinen Lebewesen? Welche spezifischen Fähigkeiten haben sie? Ganz im ökologischen Sinne des großen Naturforschers Ernst Haeckel (1834 – 1919) gilt es, „die Beziehung der (Mikro-) Organismen zu ihrer umgebenden Außenwelt (dem Biogasfermenter) zu verstehen, worin im weitesten Sinne alle Existenz-Bedingungen gerechnet werden

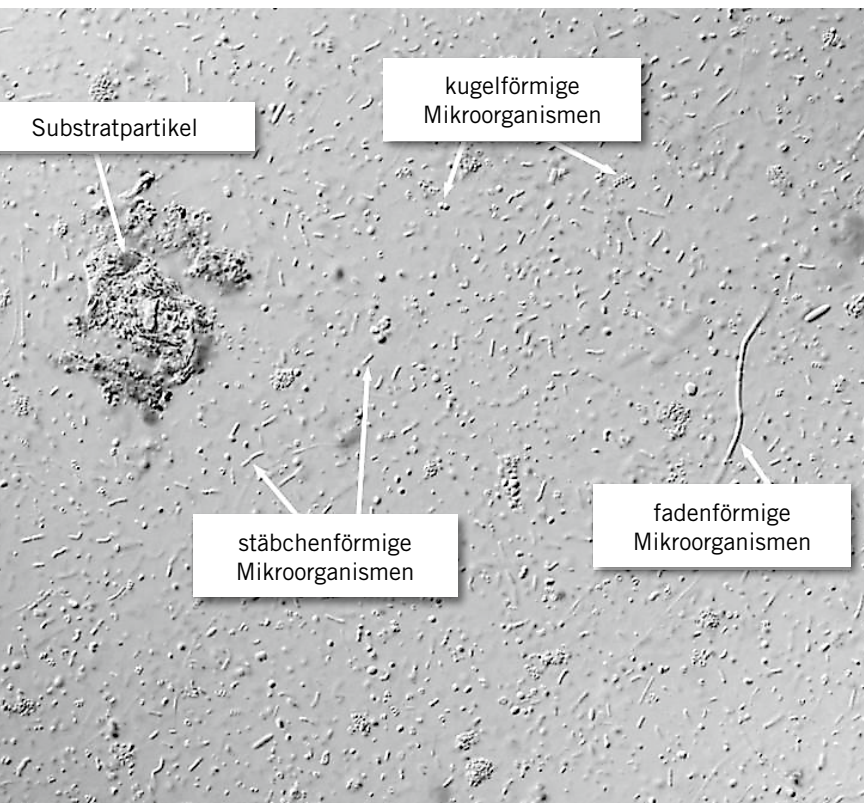
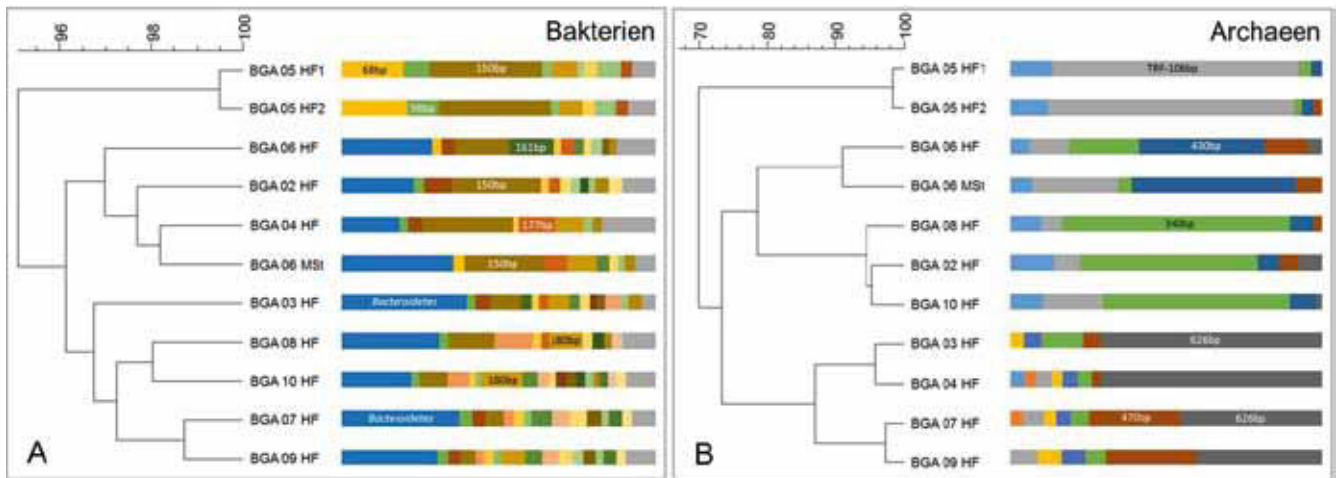


FOTO: J. KLANG.

Abbildung 1: Mikroskopische Aufnahme einer mikrobiellen Lebensgemeinschaft im Biogasreaktor mit Zuckerrüben-Monofermentation. Anhand des äußeren Erscheinungsbildes lassen sich „nur“ kugel-, stäbchen- und fadenförmige Mikroorganismen unterscheiden. Differentialinterferenzkontrast: 600-fache Vergrößerung.

Abbildung 2: Vergleich der mikrobiellen Gemeinschaften (A = Bakterien und B = Archaeen) in den Hauptfermentern (HF) der untersuchten Biogasanlagen (BGA). Dargestellt sind die genetischen Fingerabdrücke (Barcodes) der in den BGA beheimateten Mikroorganismen unter Berücksichtigung der relativen Verteilung verschiedener Bakterien- bzw. Archaeen-Untergruppen (Balkendiagramme) sowie der Ähnlichkeiten der Gemeinschaften zueinander (Baumdiagramme).



können. Diese sind teils organischer, teils anorganischer Natur, wobei beides von größter Bedeutung für die Form der Organismen ist, weil sie dieselben zwingen sich ihnen anzupassen.“

Mikroorganismen lassen sich selbst unter dem Mikroskop nur schwerlich anhand ihres äußeren Erscheinungsbildes unterscheiden (siehe Abbildung 1). Wenn Mikroorganismen augenscheinlich nicht identifiziert werden können, muss es einen anderen Weg geben. Mikrobielle Ökologen setzen da – genau wie Kriminologen – auf genetische Fingerabdrücke.

Eines der wichtigsten „Beweismittel“ ist die Erbsubstanz, die DNA. Sie ist der Grundbaustein allen Lebens. Sie trägt alle Informationen, die einen Organismus zu dem machen, wer er ist und was er kann – egal ob Mensch,

Tier, Pflanze oder eben Mikroorganismus. Die Informationen, die zur Identifizierung eines Mikroorganismus herangezogen werden, sind durch einen Code aus vier verschiedenen Buchstaben (chemisch betrachtet handelt es sich um Nukleinbasen) in einer artspezifischen Reihenfolge – einer DNA-Sequenz – verschlüsselt. Über die Entschlüsselung dieses genetischen Codes lassen sich alle in einer Biogasfermenterprobe vorkommenden Mikroorganismen nicht nur identifizieren, sondern ferner deren Eigenschaften ermitteln. Die Wissenschaft spricht dann von der Erstellung von Sequenz-Bibliotheken und einer anschließenden vergleichenden Sequenzanalyse zur Aufklärung der Artenzusammensetzung.

Ein genetischer Fingerabdruck kann nicht nur für einzelne Arten, sondern sogar für ganze Gemeinschaften ▶

SILASILENERGY^{XD}

Erstes und einziges Siliermittel für Biogassubstrate mit:

Lactobacillus rhamnosus

Lactobacillus diolivorans

Lactobacillus buchneri



NEU!

Kategorie 6b, 2^{Methan*}

www.schaumann-bioenergy.eu

* DLG-Gütezeichen Wirkungsrichtung 6b: Verbesserung des Methanerzeugungswertes durch Verhinderung von Nacherwärmung

SILASIL ENERGY.XD® – verkürzte Siloreifezeit, geringere Verluste und hohe Gaserträge. 3-fach besser!

Mehr Infos zu dem erfolgreichen Siliermittel-Programm erhalten Sie unter Tel. 04101 218-5400

Kompetenz in Biogas
SCHAUMANN
BIOENERGY

erstellt werden. Im Rahmen des Projektes BIOGAS-BIO-COENOSIS kam eine Methode namens Terminaler Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus, kurz TRFLP, zum Einsatz. Der Name klingt kompliziert, die Methode dahinter ist recht einfach: Mithilfe sogenannter Restriktionsenzyme (eine Art chemischer Schere) lassen sich die Gensequenzen von unterschiedlichen Mikroorganismen in unterschiedlich lange Fragmente schneiden. Das Ergebnis wird dann als eine Art Barcode veranschaulicht. Je mehr Fragmente der gleichen Länge nachgewiesen werden, desto häufiger kommt diese Gruppe von Mikroorganismen vor (siehe Abbildung 2). In Kombination mit einer gezielt erstellten Sequenz-Bibliothek kann die Ursprungsart der Fragmente „rückwirkend“ ermittelt werden.

Neben der DNA werden in der mikrobiellen Ökologie auch Enzyme (Proteine) als „Beweismittel“ herangezogen. In diesem Fall nicht zwingend, um eine Art zu identifizieren, sondern eher, um eine spezielle Funktion nachzuweisen. Enzyme sind die „Zündkerzen“ eines Organismus: Ohne Enzyme wird die organische Biomasse nicht in Biogas umgewandelt. Über die sogenannte Proteomanalyse lässt sich zum Beispiel herausfinden, ob Methan aus der Spaltung von Essigsäure (Acetat) entsteht (acetoklastische Methanogenese) oder aus der Umsetzung von Kohlendioxid (CO₂) und molekularem Wasserstoff (H₂) (hydrogenotrophe Methanogenese).

Jede Biogasanlage hat ihre eigene mikrobielle Lebensgemeinschaft

Das zentrale Ergebnis der zweijährigen Projektarbeit ist, dass es „DIE“ Biogasmikrobiologie nicht gibt. Vielmehr beheimatet jede Biogasanlage ihre eigene, spezifisch an die vorherrschenden Bedingungen angepasste mikrobielle Lebensgemeinschaft. Der Fermentertyp, die anfängliche „Starter-Gemeinschaft“, die eingesetzten Substrate und damit die für die Mikroorganismen verfügbaren Nährstoffe sowie die eigentliche Prozessführung sind ausschlaggebend dafür, welche Mikroorganismen sich im Fermenter etablieren. Nach aktuellem Kenntnisstand lassen sich etwa ein Drittel aller erfassten Arten in Biogasanlagen als Generalisten definieren: Lebewesen mit vielfältigen Möglichkeiten, die unter den verschiedensten Bedingungen zurechtkommen.

Zahlenmäßig machen sie den größten Teil der Lebensgemeinschaft aus: Auf Ebene der Bakterien etwa 70 Prozent, auf Ebene der Archaeen sogar 95 Prozent. Jedoch muss berücksichtigt werden, dass die restlichen zwei Drittel aller erfassten Arten für die Aufrechterhaltung der Ökosystemfunktion verantwortlich sind, also für eine ausgewogene, stresstolerante Gemeinschaftsorganisation. Selbst wenn geringste Schwankungen in den Prozessbedingungen (Temperatur, pH-Wert und/oder Ammoniakgehalt) zu strukturellen und funktionellen Veränderungen in der mikrobiellen Gemeinschaft führen, können

PRONOVA
Analysentechnik GmbH & Co. KG

GASANALYSENTECHNIK
BIOGASANALYSENTECHNIK
WASSERANALYSENTECHNIK
AGRARMESSTECHNIK

Gröninger Straße 25 | 13347 Berlin
Tel +49 (0)30 455 085-0 – Fax -90
info@pronova.de

www.pronova.de



BIOGASANALYSE

FOS/TAC 2000
automatischer Titrator
zur Bestimmung von
FOS, TAC und FOS/TAC



proCAL für SSM 6000
vollautomatische
prüfgaslose Kalibrierung



SSM 6000
der Klassiker für die
Analyse von CH₄, H₂S,
CO₂, H₂ und O₂ mit und
ohne Gasaufbereitung





Geotech
A subsidiary of LANTEC

ansyco



ROBUSTES STATIONÄRES MESSSYSTEM FÜR BIOGASANLAGEN

- CH₄, CO₂, O₂ und H₂S an alternativ 1, 2 oder 3 Messstellen
- Option: Heizung und Kondensatableitung mit Schlauchpumpe
- Erfahrung aus mehr als 300 Installationen weltweit
- Keine Ausfallzeit bei der Wartung durch Austausch der Analyseneinheit
- Die richtige Investition, um kostspielige Reparaturen an Ihrem Gasmotor zu vermeiden

www.ansyco.de | 0721 62656-0 | info@ansyco.de

dies die verschiedenen Arten in der Summe stoffwechselphysiologisch kompensieren: Die Reaktoreffizienz wird nicht negativ beeinflusst.

„Einzeltäter“ mit Talent – die Suche nach besonders prozessrelevanten Mikroorganismen

Die Lebensbedingungen für die Mikroflora in einer Biogasanlage sollten möglichst optimal sein, um eine hohe Prozesseffizienz mit konstanter Biogasausbeute zu erzielen. Aber woran lassen sich optimale Bedingungen erkennen, woran eine beginnende Instabilität? Mikroorganismen könnten diese Aufgabe in Zukunft übernehmen. Sie haben das Potenzial, die Stabilität und Effizienz des Prozesses anzuzeigen, aber auch Störungen im Prozessablauf. Mikrobiologische Indikatoren, sogenannte Biomarker, lassen sich jedoch nur etablieren, wenn es gelingt, prozessrelevante Organismen(-gruppen) im positiven wie auch im negativen Sinne zu identifizieren.

Vergleichende Analysen vermeintlich stabil laufender Anlagen bringen bei der Suche nach diesen „Spezialisten“ keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Die Spurensuche muss direkt zum richtigen Zeitpunkt am Ort des Geschehens, der Prozessstörung erfolgen. Da Störungen im Betriebsablauf von landwirtschaftlichen Biogasanlagen aus ökonomischen Gründen verständlicherweise nicht gezielt herbeigeführt werden können, sind zufällig auftretende Prozessstörungen während eines mehrjährigen Monitorings von erheblichem Wert – so geschehen im Projekt BIOGAS-BIOCOENOSIS.

Prozessstörungen und ihre mikrobiellen Indikatoren – der Fall „Schwimmdecke“

Eine gute Durchmischung des Fermenterinhalt ist sehr wichtig, um den Kontakt zwischen Substrat und abbauenden Mikroorganismen zu gewährleisten. Wird der Fermenterinhalt nicht ausreichend durchmischt (zum Beispiel aufgrund eines kaputten Rührwerks oder einer unzureichenden Dauer beziehungsweise Stärke der Durchmischung), kann es zur Ausbildung einer Schwimmdecke kommen.

Eine Schwimmdeckenbildung ist charakterisiert durch eine Phasentrennung des Fermenterinhalt, wobei sich das Substrat in der oberen Phase akkumuliert, während sich die Mikroorganismen in der unteren, wässrigen Phase ansiedeln. Das bedeutet, dass die Kontaktfläche zwischen Mikroorganismen und ihrem Substrat auf den Grenzbereich beider Schichten beschränkt ist. Das wiederum führt zu geringeren Abbauraten und über die Zeit zu einer Säureanreicherung im Fermenter, da zwar die Säure bildenden Bakterien an der Grenzschicht ihr Substrat umsetzen, der Kontakt zwischen den Säure abbauenden Bakterien und ihren syntrophen, methanbildenden Partnern aufgrund der fehlenden Durchmischung jedoch unzureichend ist.

In der Konsequenz ist mit einem starken Einbruch der Biogasproduktion zu rechnen, der nicht nur auf eine Säurehemmung zurückzuführen ist, sondern auch darauf, dass die Schwimmdecke an sich den Austritt von produziertem Biogas verhindert. Im vorliegenden Fall wurde gleich zu Projektbeginn in der betroffenen Biogasanlage (siehe Abbildung 3A) ein Einbruch in der produzierten Biogasmenge registriert (T2-Woche 1, Abbildung 3B). Erst nach elf Tagen, in denen der Biogasertrag nicht wieder auf Normalniveau anstieg, wurde die tägliche Substratzufuhr reduziert (T13-Woche 2, Abbildung 3B). Dies bedeutete, dass über elf Tage die Bakterien zwar Substrat abbauten und jede Menge Säuren produzierten (10 g L-1 in Woche 3, Abbildung 3C), diese aber aufgrund einer bereits einsetzenden Säurehemmung nicht weiter zu Methan umgewandelt wurden und somit für eine noch schwerwiegendere Störung sorgten (Woche 3, Abbildung 3B). ▶



Rübenschneider

Typ: BB-1250 / BB-2500



Mais-Flachschieber

Typ: M.E.S.



Schneid-/Reißkamm

Typ: TIGER

Maschinen für die Biogas Substratverarbeitung

www.holaras.com

Abbildung 3 A: Verfahrenstechnische, chemische und mikrobiologische Anlagenmerkmale im Fall „Schwimmdecke“: Die betroffene Anlage wurde als liegender Pfpfenstromfermenter (A) unter mesophilen Bedingungen (42 °C) betrieben, wobei Mais- und Grassilage, Grünroggen, Ferkelmist und Rindergülle verwertet wurden.



FOTO: R. KRAUSMANN

Eine zentrale Frage für die Wissenschaftler war: Welche Mikroorganismen lassen sich mit diesen spezifischen Bedingungen in Verbindung bringen? Den Forschern standen Proben von zwei Zeitpunkten zur Verfügung: eine Probe gleich zu Beginn der Störungsphase noch vor dem schwerwiegenden Biogaseinbruch (Woche 1, Abbildung 3D), und eine Probe zu Beginn der Erholungsphase (Woche 4, Abbildung 3D).

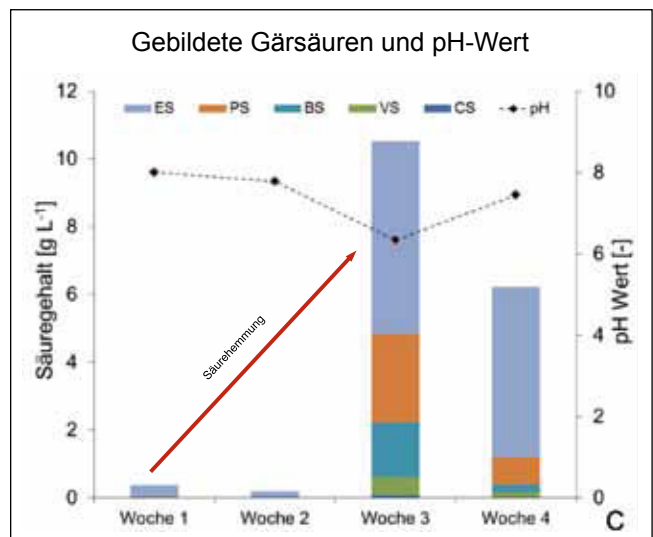
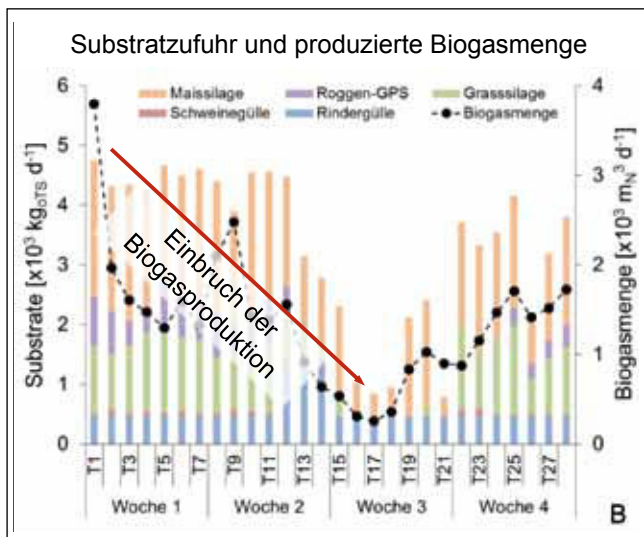
Mittels einer Indikatorartenanalyse gelang es den Forschern nachzuweisen, dass Mitglieder der bakteriellen Familie Porphyromonadaceae (aus der Abteilung Bacteroidetes) verstärkt im Vorfeld der Störung auftraten (veranschaulicht in Form der blauen und roten Balken in Abbildung 3D). Ein Vergleich mit den physiologischen Fähigkeiten bereits bekannter Vertreter dieser Familie bestätigte dieses Ergebnis, denn die meisten sind als sogenannte sekundäre Vergärer und demnach als Produzenten von Essigsäure, Propionsäure oder Buttersäure bekannt. Dies erklärt zum einen den hohen Säuregehalt, aber auch das ebenfalls beobachtete breite Spektrum verschiedener Gärsäuren. Darüber hinaus zeigte die Proteomanalyse, dass zu diesem Zeitpunkt so gut wie keine Enzyme, die für die Produktion von Methan benötigt werden, gebildet wurden. Dieses lässt darauf schließen, dass die methanbildenden Archaeen in ihrer Aktivität gehemmt waren, was dann letztendlich zum Einbruch des Biogasertrages führte.

Nachdem der Anlagenbetreiber die Substratzufuhr für neun Tage deutlich reduzierte und den Reaktorinhalt durch Zugabe von Wasser verdünnte, zeigte der Reaktor erste Anzeichen einer Erholung (Woche 4, Abbildung 3B). Für die im Reaktor beheimatete Mikroflora bedeutete dies zweierlei: Zum einen gab es kein neues Substrat, sodass die Neuproduktion von Gärsäuren unterbunden wurde. Zum anderen gab der Anlagenbetreiber den Mikroorganismen, die für den Säureabbau verantwortlich sind (in Abbildung 3D als orange Balken dargestellt), die nötige Zeit, ihre Arbeit zu verrichten.

Die Identifizierung der am Säureabbau beteiligten Mikroorganismen ergab, dass es sich hierbei um Bakterien handelte, die in Syntrophie mit methanbildenden Archaeen leben. Syntrophie bezeichnet eine Vergesellschaftung verschiedener Organismen, die jeweils gegenseitig bestimmte Stoffwechselprodukte für den anderen Partner herstellen und damit wechselseitig voneinander abhängen. Manche methanbildenden Archaeen sind vom molekularen Wasserstoff benachbarter Bakterien abhängig, wobei andersherum die Bakterien nur dann wachsen können, wenn der von ihnen selbst produzierte Wasserstoff von den methanbildenden Archaeen verbraucht wird.

Über die Reduzierung der Fütterungsmenge gelang es also dem Anlagenbetreiber, nicht nur die Säureproduktion einzustellen, sondern auch den Effekt der Säure-

Abbildung 3 B, C, D: Dargestellt sind die tägliche Substratzufuhr inklusive der produzierten Biogasmenge (B), der Gehalt an produzierten Gärsäuren (C) in Form von Essigsäure (ES), Propionsäure (PS), Buttersäure (BS), Valeriansäure (VS) und Capronsäure (CS) sowie die Zusammensetzung der bakteriellen Lebensgemeinschaften zu Beginn der Prozessstörung sowie während der Erholungsphase (D). Nähere Erläuterungen finden sich im Text.



hemmung zu neutralisieren. Damit konnte der für die methanbildenden Archaeen lebensnotwendige Wasserstoff produziert werden. Dies führte zu einer Reaktivierung der Archaeen und schlussendlich zu einer Steigerung des Biogasertrags und zur Genesung der Biogasanlage.

Auf dem Weg zu neuen mikrobiologischen Kontroll- und Managementsystemen

Mikroorganismen zu identifizieren, die sich als Bioindikatoren eignen, und diese unter praxisrelevanten Bedingungen zu validieren, ist Aufgabe weiterer Forschungsarbeiten. Da im Forschungsprojekt BIOGAS-BIOCOENOSIS erste Hinweise auf derartige prozessrelevante Mikroorganismen gefunden wurden, machen sich die Forscher nun in einem Anschlussvorhaben gezielt auf die Suche nach möglichen Bioindikatoren als Anzeiger für Prozessstörungen. Im Projekt BIOGAS-LIVE (ebenfalls mit Förderung durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft) ist geplant, eine gewisse Anzahl landwirtschaftlicher Biogasanlagen über einen Zeitraum von zwei Jahren unter Beobachtung zu stellen.

Ziel ist, ein Verfahrensprotokoll zur zeitnahen Ursachenaufklärung von Prozessstörungen unter besonderer Berücksichtigung der Systemmikrobiologie zu etablieren. Die Wissenschaftler gehen davon aus, dass sich anhand der gewonnenen Erkenntnisse mittel- bis langfristig Strategien zur Vermeidung von Prozessstörungen durch ein optimiertes, an die mikrobiellen Lebensbedingungen angepasstes Prozessregime entwickeln lassen. ◀

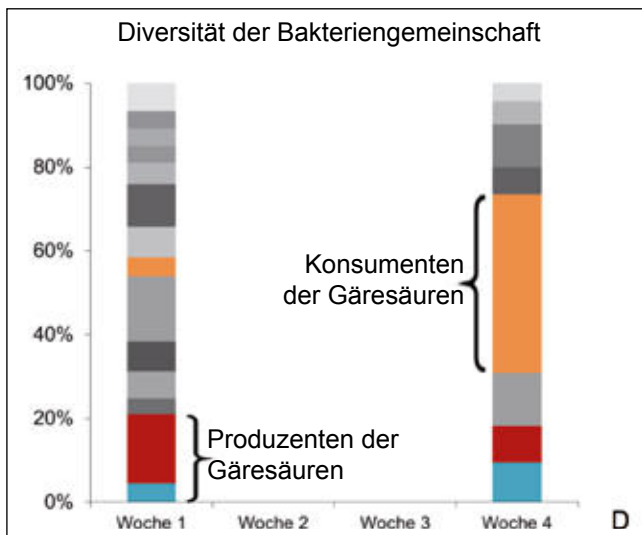
Autoren

Dr. Susanne Theuerl

Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V.
Abteilung Bioverfahrenstechnik
E-Mail: stheuerl@atb-potsdam.de

Dr. Michael Klocke

Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V.
Abteilung Bioverfahrenstechnik
E-Mail: mklocke@atb-potsdam.de



Mischen – Fördern – Zerkleinern



Ihr Partner für die Energie der Zukunft

Als Weltmarktführer von Exzentrerschneckenpumpen und Spezialist in der Biogastechnologie bieten wir für die Biogasproduktion angepasste Misch- und Fördersysteme. Die Einsatzmöglichkeiten unserer NEMO® Exzentrerschneckenpumpen, TORNADO® Drehkolbenpumpen sowie NETZSCH Zerkleinerungssysteme reichen vom Mischen über Fördern bis hin zum Zerkleinern.



NETZSCH

NETZSCH Pumpen & Systeme GmbH

Geschäftsfeld Umwelt & Energie
Tel.: +49 8638 63-1010
Fax: +49 8638 63-2333
info.nps@netsch.com
www.netsch.com