



Universität für Bodenkultur Wien
University of Natural Resources
and Life Sciences, Vienna

Thermo-chemische Vorbehandlung lignocellulosereicher Biomasse und Nachweis der Entstehung von Maillard-Reaktionsprodukten

erstellt von: **Sandra Burger, BSc.**

Matrikelnummer: **h0027537**

durchgeführt am: **Institut für Umweltbiotechnologie an der
Universität für Bodenkultur**

Betreuer: **Ao.Univ.Prof Dipl.-Ing. Dr. Werner Fuchs
Dipl.-Ing. Dr. Günther Bochmann
Stefanie Scheidl, MSc.**

Danksagung

Auf dieser Seite möchte ich mich bei all jenen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Zuallererst möchte ich mich bei Dr. Günther Bochmann für die Bereitstellung dieses interessanten Themas bedanken. Meiner Betreuerin Stefanie Scheidl, MSc. danke ich für die sehr gute fachliche und persönliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit. Für die konstruktive Durchsicht dieser Arbeit danke ich erneut Dr. Günther Bochmann und Stefanie Scheidl, MSc. sowie Dr. Werner Fuchs.

Bedanken möchte ich mich ebenfalls bei den Mitarbeitern des Institutes für Umweltbiotechnologie am IFA Tulln für die große Hilfsbereitschaft. Im Besonderen möchte ich Ivana Mihajlovic, Julia Stiel, Marcus Pruckner, Johannes Bousek und Robert Vielnascher erwähnen.

Gewidmet ist diese Arbeit jenen Menschen, die mich auf dem langen Weg hierher mit Geduld und Liebe begleitet haben: meiner Familie und im Besonderen meinem Mann, ohne den der Abschluss dieses Studiums nicht möglich gewesen wäre. Danke!

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre eidesstattlich, dass ich die Arbeit selbständig angefertigt, keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt und alle aus ungedruckten Quellen, gedruckter Literatur oder aus dem Internet im Wortlaut oder im wesentlichen Inhalt übernommenen Formulierungen und Konzepte gemäß den Richtlinien wissenschaftlicher Arbeiten zitiert, durch Fußnoten gekennzeichnet bzw. mit genauer Quellenangabe kenntlich gemacht habe.

Wien, 01.04.2016

Sandra Zuger

Unterschrift

Kurzfassung

Während der thermo-chemischen Vorbehandlung von lignocellulosehaltigen Substraten für die Biogasproduktion werden die Polysaccharide Cellulose und Hemicellulose teilweise hydrolysiert und Zucker werden frei. Unter Anwesenheit von Aminosäuren werden diese jedoch im Zuge der Maillard-Reaktion zu den thermischen Nebenprodukten 5-Hydroxymethylfurfural und Furfural abgebaut. Im weiteren Verlauf bilden sich hochmolekulare, braune Melanoidine, die bei einer Wellenlänge von 420 nm photometrisch bestimmt wurden. Da die Maillard-Reaktionsprodukte bakteriostatisch wirken können, soll deren Bildung während des Aufschlusses vermieden werden. Durch Variation der Einflussfaktoren der Vorbehandlung (Verweilzeit, Temperatur, Säurekonzentration und Trockensubstanz) konnten Faktorenkombinationen ermittelt werden, die eine hohe Zuckerausbeute und eine geringe Konzentration an hemmenden Maillard-Reaktionsprodukten ermöglichen. Die optimalen Parametereinstellungen wurden für die lignocellulosereichen Substrate Bagasse und Landschaftspflegematerial ermittelt. Je nach Substrat wird eine Temperatur von 140 bis 160 °C sowie eine Säurekonzentration von 0,43 bis 0,75 mmol/g TS empfohlen. Anhand eines Modellsubstrates konnte gezeigt werden, dass höheren Temperaturen zu Verlusten an freien Zuckern und einer deutlichen Zunahme an Maillard-Reaktionsprodukten führen und daher nicht mehr zu empfehlen sind.

Abstract

During a thermo-chemical pretreatment of lignocellulose-rich substrates for biogas production, the polysaccharides cellulose and hemicelluloses are partially hydrolysed. In the course of the Maillard reaction the released sugars react with amino acids and are degraded to the thermal by-products 5-hydroxymethylfurfural and furfural. In the further course high molecular weight, brown melanoidins form which were determined by photometry at a wavelength of 420 nm. Because of the bacteriostatic effect of the Maillard reaction products, their formation should be prevented during the pretreatment. To determine the optimal parameter setting to reach a high sugar yield and a low concentration of Maillard reaction products the influencing factors of the pretreatment (retention time, temperature, acid concentration and dry matter) were varied. The optimal setting was determined for the lignocellulose rich substrates bagasse and green waste. Depending on the substrate a temperature of 140 to 160 °C and an acid concentration of 0.43 to 0.75 mmol/g TS is recommended. Based on a model substrate it could be observed that higher temperatures lead to losses of free sugars and a significant increase in Maillard reaction products and are therefore not recommended.

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	1
1.1	ERNEUERBARE ENERGIEN.....	1
1.1.1	Bedeutung in Zeiten des Klimawandels.....	1
1.1.2	Energiestatus Österreich und die Bedeutung der Biogastechnologie	2
1.2	DER BIOGASPROZESS – ANAEROBE FERMENTATION.....	4
1.3	LIGNOCELLULOSEREICHE SUBSTRATE	6
1.4	THERMO-CHEMISCHE VORBEHANDLUNG	9
1.5	DIE MAILLARD-REAKTION	12
1.5.1	Die frühe Phase	12
1.5.2	Die fortgeschrittene Phase	14
1.5.3	Die finale Phase	18
2.	ZIELSETZUNG	20
3.	MATERIAL UND METHODEN	21
3.1	PROBENMATERIAL	21
3.2	SUBSTRATCHARAKTERISIERUNG	22
3.2.1	Trockenmasse und organische Trockenmasse	22
3.2.2	Lignin	23
3.2.3	Cellulose- und Hemicellulose	25
3.2.4	Gesamtstickstoff nach Kjeldahl	28
3.2.5	Ammonium-Stickstoff	29
3.2.6	Wässrige Extraktion der unbehandelten Substrate.....	30
3.3	THERMO-CHEMISCHER AUFSCHLUSS	31
3.3.1	Versuchsplanung und statistische Auswertung.....	31
3.3.2	Mikrowellenaufschluss	34

3.3.3	Bestimmung der Zucker und Thermischer Nebenprodukte mittels HPLC-RI	36
3.3.4	Extinktionsmessung zum Nachweis der Bildung von Melanoidinen	37
4.	ERGEBNISSE	38
4.1	AUFBAU MODELLSUBSTRAT	38
4.2	THERMO-CHEMISCHE VORBEHANDLUNG	40
4.2.1	Konzentrationsverlauf mit der Temperatur	40
4.2.2	Einflüsse auf die Zuckerausbeute	47
4.2.3	Einflüsse auf die Bildung thermischer Nebenprodukte	52
4.2.4	Einflüsse auf den Abbau von HMF und Furfural	56
4.2.5	Einflüsse auf die Bildung von Melanoidinen.....	58
4.2.6	Optimierung der Einflussgrößen	61
4.2.7	Korrelation von thermischen Nebenprodukten und Extinktion	62
5.	DISKUSSION UND AUSBLICK	64
5.1	OPTIMALE PARAMETEREINSTELLUNG	64
5.2	KORRELATION VON EXTINKTION UND THERMISCHEN NEBENPRODUKTEN	66
5.3	VERGLEICH UNBEHANDELTES UND VORBEHANDELTES SUBSTRAT	67
5.4	AUSBLICK.....	68
6.	LITERATURVERZEICHNIS	70
7.	ANHANG	73

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Inländische Erzeugung erneuerbarer Energien („Energiestatus Österreich 2015: Entwicklung bis 2013“ 2015).....	3
Abbildung 2: Bruttoinlandsverbrauch sonstiger erneuerbarer Energien 2013 („Energiestatus Österreich 2015: Entwicklung bis 2013“ 2015).....	3
Abbildung 3: Schematischer Ablauf des Biogasprozesses (modifiziert nach Bischofsberger et al. 2005)	5
Abbildung 4: Struktur von Lignocellulose (Meine et al. 2013)	7
Abbildung 5: Schematischer Abbau von lignocellulosereicher Biomasse (Girisuta 2007; Möller und Schröder 2013).....	10
Abbildung 6: Bildung des N-Glykosid (Liedke 2000).....	13
Abbildung 7: Die Amadori-Umlagerung (Liedke 2000).....	14
Abbildung 8: Enolisierung des N-Glycosids in Anhängigkeit vom pH-Wert (Liedke 2000).....	15
Abbildung 9: Reaktionsverlauf des 3-Desoxyosons (Liedke 2000).....	16
Abbildung 10: Typische Folgeprodukte des 1-Desoxyosons (Liedke 2000).....	16
Abbildung 11: Der Strecker-Abbau (Liedke 2000).....	17
Abbildung 12: Selbskondensation von α -Dicarbonylverbindungen (Liedke 2000).....	17
Abbildung 13: Mögliche Struktur der Melanoidine (Cämmerer und Kroh 1995)	18
Abbildung 14: Beispielhafte Darstellung eines Temperatur-Zeit-Profiles für einen Mikrowellenaufschluss	36
Abbildung 15: Einfluss der Trockensubstanz auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für das Modellsubstrat; $\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,75 \text{ mmol/g TS}$	40
Abbildung 16: Einfluss der Säurekonzentration auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für das Modellsubstrat; $\text{TS} = 10\%$	41

Abbildung 17: Einfluss der Trockensubstanz auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Bagasse; Verweilzeit: 30 min; Grafik a-c: $\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,15$ mmol/g TS, Grafik d-f:	42
Abbildung 18: Einfluss der Säurekonzentration auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Bagasse; Verweilzeit: 30 min; Grafik a-c: TS = 1%, Grafik d-f:	43
Abbildung 19: Einfluss der Verweildauer auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Bagasse; TS = 10%	44
Abbildung 20: Einfluss der Trockensubstanz auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Landschaftspflegematerial; Verweilzeit: 30 min; Grafik a-c: $\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,15$ mmol/g TS, Grafik d-f: $\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,75$ mmol/g TS	45
Abbildung 21: Einfluss der Säurekonzentration auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Landschaftspflegematerial; Verweilzeit: 30 min; Grafik a-c: TS = 1%, Grafik d-f: TS = 10%.....	46
Abbildung 22: Einfluss der Verweildauer auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Landschaftspflegematerial; TS = 10%	47
Abbildung 23: Einflüsse auf die Zuckerkonzentration für das Modellsubstrat; x- Achse: Temperatur [$^{\circ}\text{C}$], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Zucker [g/100g TS], Skalenlänge: 0-30; z-Achse: CH_2SO_4 [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75.....	48
Abbildung 24: Einflüsse auf die Zuckerkonzentration für Bagasse; x-Achse: Temperatur [$^{\circ}\text{C}$], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Zucker [g/100g TS], Skalenlänge: 0-30; z-Achse: CH_2SO_4 [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75.....	50
Abbildung 25: Einflüsse auf die Zuckerkonzentration für Landschaftspflegematerial; x-Achse: Temperatur [$^{\circ}\text{C}$], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Zucker [g/100g TS], Skalenlänge: 0-5; z-Achse: CH_2SO_4 [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75.....	51

Abbildung 26: Einflüsse auf die Konzentration thermischer Nebenprodukte für das Modellsubstrat; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: thermische Nebenprodukte [g/100g TS], Skalenlänge: 0-5; z-Achse: CH ₂ SO ₄ [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75	53
Abbildung 27: Einflüsse auf die Konzentration thermischer Nebenprodukte für Bagasse; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Thermische Nebenprodukte [g/100g TS], Skalenlänge: 0-5;	54
Abbildung 28: Einflüsse auf die Konzentration thermischer Nebenprodukte für Landschaftspflegematerial; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: thermische Nebenprodukte [g/100g TS], Skalenlänge: 0-5; z-Achse: CH ₂ SO ₄ [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75	55
Abbildung 29: Einflüsse auf den Abbau von HMF und Furfural für das Modellsubstrat; Verweilzeit = 30 min	56
Abbildung 30: Einflüsse auf den Abbau von HMF und Furfural für Bagasse; Verweilzeit = 30 min	57
Abbildung 31: Einflüsse auf den Abbau von HMF und Furfural für Landschaftspflegematerial; Verweilzeit = 30 min	57
Abbildung 32: Einflüsse auf die Extinktion für das Modellsubstrat; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Extinktion, Skalenlänge: 0-5; z-Achse: CH ₂ SO ₄ [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75	59
Abbildung 33: Einflüsse auf die Extinktion für Bagasse; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160;	60
Abbildung 34: Einflüsse auf die Extinktion für Landschaftspflegematerial; x-Achse: Temperatur [°C],	61
Abbildung 35: Korrelation der Konzentration thermischer Nebenprodukte und der Extinktion für das Modellsubstrat; Grafik b: graue Datenpunkte = 180°C, weiße Datenpunkte = 200°C	63
Abbildung 36: Korrelation der Konzentration thermischer Nebenprodukte und der Extinktion für Bagasse und Landschaftspflegematerial	63
Abbildung 37: Vergleich der Biomethan-Potentialtests von unbehandelten und behandelten Substraten (Scheidl, Rachbauer, und Ortner 2015)	68

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung von Bagasse.....	8
Tabelle 2: Analysenparameter der HPLC-RI	27
Tabelle 3: Werteraum der Versuchsplanung	31
Tabelle 4: Versuchsplan der Substrate Bagasse und Landschaftspflegematerial.....	32
Tabelle 5: Versuchsplan des Modellsubstrates	33
Tabelle 6: Zusammensetzung des Modellsubstrates	38
Tabelle 7: Ergebnisse der Substratcharakterisierung	38
Tabelle 8: Parameter zur Erstellung des Modellsubstrates	39
Tabelle 9: Statistische Daten des Modells der Zuckerkonzentration für das Modellsubstrat.....	48
Tabelle 10: Statistische Daten des Modells der Zuckerkonzentration für Bagasse	49
Tabelle 11: Statistische Daten des Modells der Zuckerkonzentration für Landschaftspflegematerial	50
Tabelle 12: Statistische Daten des Modells der Konzentration thermischer Nebenprodukte vom Modellsubstrat.....	52
Tabelle 13: Statistische Daten des Modells der Konzentration thermischer Nebenprodukte von Bagasse.....	53
Tabelle 14: Statistische Daten des Modells der Konzentration thermischer Nebenprodukte von Landschaftspflegematerial	54
Tabelle 15: Statistische Daten des Modells der Extinktion vom Modellsubstrat	58
Tabelle 16: Statistische Daten des Modells der Extinktion von Bagasse	59
Tabelle 17: Statistische Daten des Modells der Extinktion für Landschaftspflegematerial	60
Tabelle 18: Empfohlene Parametereinstellung.....	62
Tabelle 19: Ergebnisse der wässrigen Extraktion der unbehandelten Substrate (Zucker und tNP in [g/100 g TS]).....	73

Tabelle 20: pH-Werte nach thermo-chemischer Vorbehandlung für das Modellsubstrat; t = 30 min.....	73
Tabelle 21: pH-Werte nach thermo-chemischer Vorbehandlung für die Substrate Bagasse und Landschaftspflegematerial	74
Tabelle 22: Ergebnisse der thermo-chemischen Vorbehandlung von Bagasse für 15 min (Zucker und tNP in [g/100 g TS]).....	75
Tabelle 23: Ergebnisse der thermo-chemischen Vorbehandlung von Bagasse für 30 min (Zucker und tNP in [g/100 g TS]).....	76
Tabelle 24: Ergebnisse der thermo-chemischen Vorbehandlung von Landschaftspflegematerial für 15 min (Zucker und tNP in [g/100 g TS])	78
Tabelle 25: Ergebnisse der thermo-chemischen Vorbehandlung von Landschaftspflegematerial für 30 min (Zucker und tNP in [g/100 g TS])	79

Abkürzungsverzeichnis

MR	Maillard-Reaktion
MRP	Maillard-Reaktionsprodukte
tNP	thermische Nebenprodukte
HMF	5-Hydroxymethylfurfural
LMW	Low Molecular Weight
HMW	High Molecular Weight
LPM	Landschaftspflegematerial
CO ₂	Kohlendioxid
H ₂	Wasserstoff
CH ₄	Methan
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure
O ₂	Sauerstoff
S ₂	Schwefel
H ₂ S	Schwefelwasserstoff
TM / oTM	Trockenmasse / organische Trockenmasse
TS	Trockensubstanz
a _w	Wasseraktivität
EW	Einwaage
BMP	Biomethanpotential
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
RI	Refraction Index-Detektor
UV/VIS	Ultraviolet and Visible
TKN	Total Kjeldahl Stickstoff
MWel	Megawatt elektrisch
PJ	Petajoule
Nm ³	Normkubikmeter

1. Einleitung

1.1 Erneuerbare Energien

1.1.1 Bedeutung in Zeiten des Klimawandels

Die globale Durchschnittstemperatur ist seit der vorindustriellen Zeit um circa 1 °C gestiegen. Diese Erwärmung führt zu bereits erkennbaren Veränderungen in Ökosystemen, wie das Schmelzen von Eismassen auf Gletschern und den Polen, das Ansteigen des Meeresspiegels, die Erwärmung und folglich die Versäuerung der Meere, sowie vermehrtes Auftreten von Wetterextremen. Den bedeutendsten Beitrag zur Klimaerwärmung liefert das Treibhausgas Kohlendioxid (CO₂). Mit einem Anteil von 80% forciert es den sogenannten Strahlungsantrieb, welcher ein Maß für die Veränderung der Energiebilanz der Erde ist. Der Hauptanteil des CO₂-Ausstoßes wird vom Energiesektor produziert, wobei die Verbrennung fossiler Brennstoffe, die Zementproduktion und das Flaring (Abfackeln von gasförmigen Abfallstoffen) am bedeutendsten sind. Das Wachstum der Weltbevölkerung und der Wirtschaft führen zu einem immer höheren Ausstoß von CO₂-Emissionen. Die Hälfte der kumulativen, anthropogenen CO₂-Emissionen zwischen 1750 und 2011 wurden in den letzten 40 Jahren ausgestoßen. Klimamodelle bis 2011 prognostizieren eine weitere Erwärmung der Erde und eine damit einhergehende Verstärkung der Auswirkungen auf die Ökosysteme. (Pachauri und Meyer 2014)

Die Wissenschaft hat eine sogenannte Zwei-Grad-Obergrenze definiert. Erwärmt sich die Erde um mehr als 2 °C, wird eine nicht mehr tragbare Klimaänderung für Mensch und Umwelt angenommen. Das Unterschreiten dieser Obergrenze wurde in der 2015 stattgefundenen UN-Klimakonferenz in Paris (COP 21) als Ziel festgelegt. Zur Einhaltung dieses Zieles ist mindestens eine Halbierung der globalen CO₂-Emissionen bis 2050 gegenüber dem Niveau von 1990 erforderlich. Berechnungen zufolge muss der Gipfelpunkt der globalen Treibhausgasemissionen bis spätestens 2020 erreicht und danach rückläufig sein. Die Europäische Union (EU) hat in ihrer Energiestrategie 2020 folgende Ziele zur Reduktion der Treibhausgasemissionen (auch bekannt als 20-20-20 Ziele) definiert:

- 20% weniger Treibhausgasemissionen als 1990
- 20% Anteil an erneuerbarer Energien am Gesamtenergieverbrauch
- 20% mehr Energieeffizienz

(„Umweltbundesamt: Internationale und EU-Klimapolitik“ 2016). Österreich hat den Anteil an erneuerbarer Energie mit einem Zielwert von 34% festgelegt („Energiestatus Österreich 2015: Entwicklung bis 2013“ 2015). Der Dachverband der Erneuerbaren Energie Österreich hat 2015 eine Energiestrategie für Österreich verfasst, die vorsieht bis 2030 eine Steigerung des Anteils an Erneuerbarer Energie auf 60%, den Endenergieverbrauch auf 940 Petajoule (PJ) zu senken und die CO₂-Emissionen um 60% im Vergleich zu 1990 zu reduzieren. Ein weiteres Ziel ist der komplette Ausstieg aus der fossilen Energie bis 2050 („Energiestrategie Österreich: Energiewende 2013-2030-2050“ 2015).

1.1.2 Energiestatus Österreich und die Bedeutung der Biogastechnologie

Der energetische Endverbrauch Österreichs lag 2013 bei 1119,2 PJ. 15,8% dieses Bedarfs wurden durch erneuerbare Energien gedeckt. Der Anteil erneuerbarer Energien am Bruttoendenergieverbrauch (Gesamtenergieverbrauch – energetischer Endverbrauch plus Eigenverbrauch und Verluste im Strom- und Fernwärmesektor) betrug 32,5% und lag somit nahe dem Ziel von 34% für 2020. Die inländische Energieerzeugung deckte mit über 500 PJ etwa die Hälfte des energetischen Endverbrauches ab. Hier lag der Anteil an erneuerbaren Energien bei 78,4%, wobei 29,4% auf die Wasserkraft entfielen und 49% auf die sonstigen erneuerbaren Energien. Seit dem Jahr 1990 stieg die Energieproduktion erneuerbarer Energien stark an. Dies war vor allem der Forcierung der biogenen Brenn- u. Treibstoffe (Hackschnitzel, Rinde, Sägenebenprodukte, Waldhackgut, Pellets, Stroh, biogener Müll, Biogas, Klärgas, Deponiegas, Biodiesel, Bioethanol und Ablauge/Schlämme der Papierindustrie) zu verdanken (Abbildung 1). Auch die Bereiche Wind/Photovoltaik und Umweltenergien (Solarwärme, Geothermie, Wärmepumpen) legten zu. („Energiestatus Österreich 2015: Entwicklung bis 2013“ 2015)

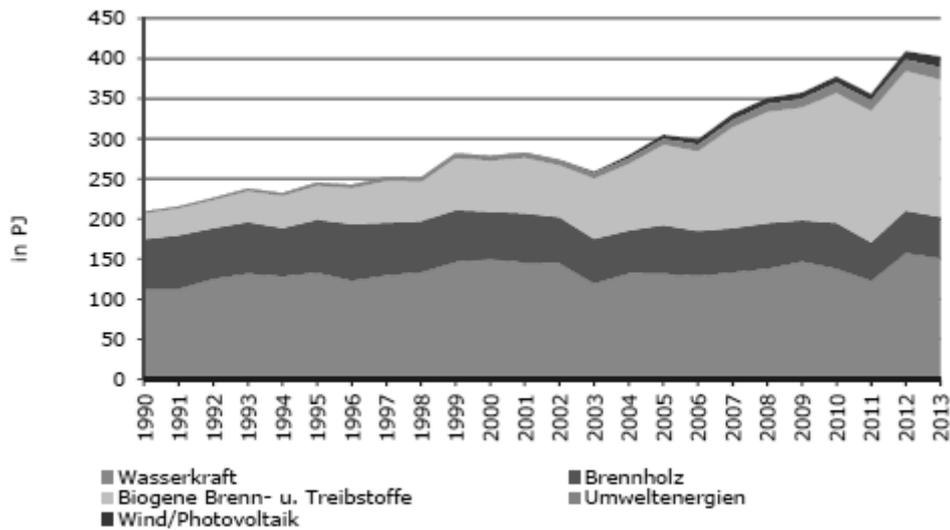


Abbildung 1: Inländische Erzeugung erneuerbarer Energien („Energiestatus Österreich 2015: Entwicklung bis 2013“ 2015)

Abbildung 2 zeigt eine detaillierte Darstellung des Bruttoinlandsverbrauches sonstiger erneuerbarer Energien für das Jahr 2013. Da es hier kaum Exporte gab, ist diese fast identisch mit der inländischen Erzeugung. Den Hauptanteil machten die biogenen Festbrennstoffe aus Holz aus. Biogas trug mit einem Anteil von 2,7% bei („Energiestatus Österreich 2015: Entwicklung bis 2013“ 2015).

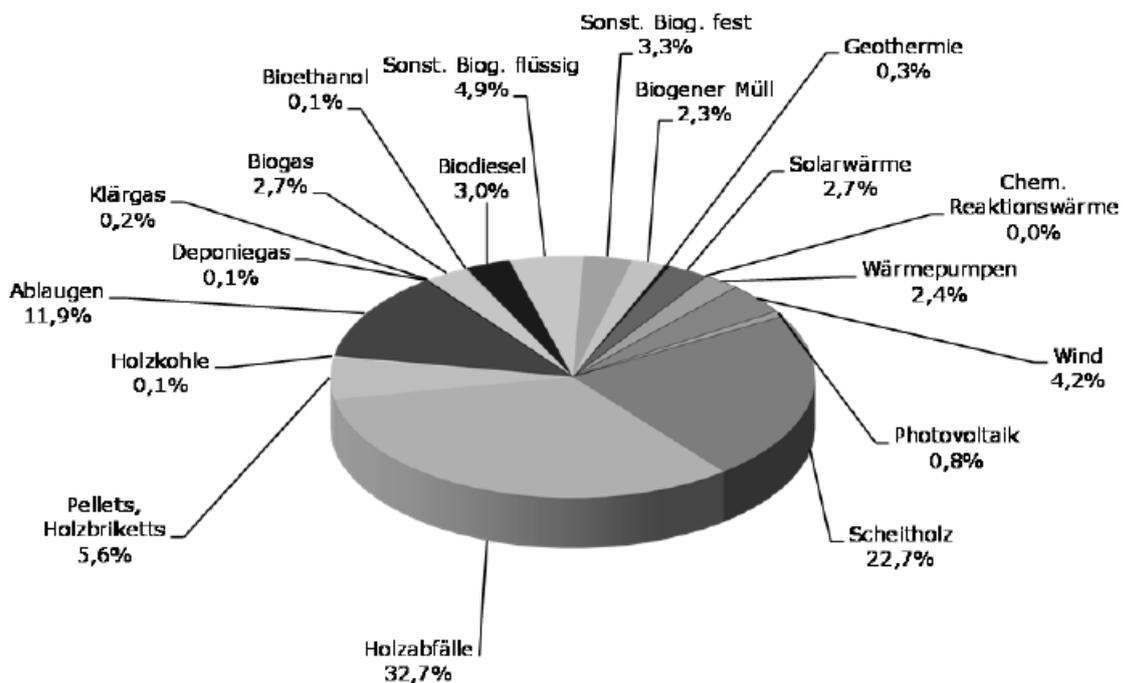


Abbildung 2: Bruttoinlandsverbrauch sonstiger erneuerbarer Energien 2013 („Energiestatus Österreich 2015: Entwicklung bis 2013“ 2015)

In Österreich waren im Jahr 2014 300 Biogasanlagen mit einer Leistung von über 80 MWel und 2400 Nm³ Methan in Betrieb. Biogas wird derzeit hauptsächlich zur Stromproduktion verwendet. Die dabei entstehende Abwärme kann weitergenutzt und auch der anfallende Gärrest als Dünger verwendet werden. Wird das Biogas zu Biomethan (98% Methan) aufbereitet, kann es in das bestehende Erdgasnetz eingespeist werden. Biogas kann auch die Senkung der CO₂-Emissionen im Verkehrssektor unterstützen. Dieser trägt zu einem Drittel der energetisch bedingten Emissionen bei. („Energierategie Österreich: Energiewende 2013-2030-2050“ 2015)

1,5% der österreichischen Ackerflächen wurden 2014 zur Produktion von organischem Material verwendet, welches als Substrat zur Produktion von Biogas genutzt wurde. Die Verwendung von Ackerflächen für Energiepflanzen steht jedoch in Konkurrenz zur Lebensmittelproduktion und wird unter ethischen Gesichtspunkten derzeit stark diskutiert. Die Nutzung von Reststoffen aus Landwirtschaft und Industrie umgeht diese Problematik und stellt weiters eine Verwertungsmöglichkeit von Abfällen dar.

1.2 Der Biogasprozess – Anaerobe Fermentation

Die für die Biogasproduktion verwendeten Substrate können nach Da Costa Gomez (2013) in drei Kategorien eingeteilt werden:

- Landwirtschaftliche Produktion (Gülle, Futter- und Ernteabfall, Energiepflanzen)
- Abfall aus privaten Haushalten und Gemeinden (Bioabfall, Lebensmittelreste, Abfall der Supermärkte)
- Industrielle Nebenprodukte (Glycerin, Nebenprodukte der Lebensmittelproduktion, Abfall von Fettabscheidern)

Die darin enthaltenen organischen Substanzen Kohlenhydrate, Proteine und Fett werden durch mikrobiellen Abbau in Biogas umgewandelt. Hauptbestandteile des Biogases sind mit 50-75% Methan (CH₄), 25-50% Kohlendioxid (CO₂), Wasser (H₂O), Sauerstoff (O₂) und Schwefel (S₂).

Der Biogasprozess ist ein Zusammenwirken verschiedener Mikroorganismen. Durch den enzymatischen Abbau von hochmolekularen zu niedermolekularen Substanzen werden Energie und Bausubstanzen gewonnen, die sie für das Aufrechterhalten ihrer Lebensfunktionen und ihre Vermehrung benötigen. Der Biogasprozess wird in zwei Phasen bzw. 4 Schritte eingeteilt (Abbildung 3). (Bischofsberger et al. 2005)

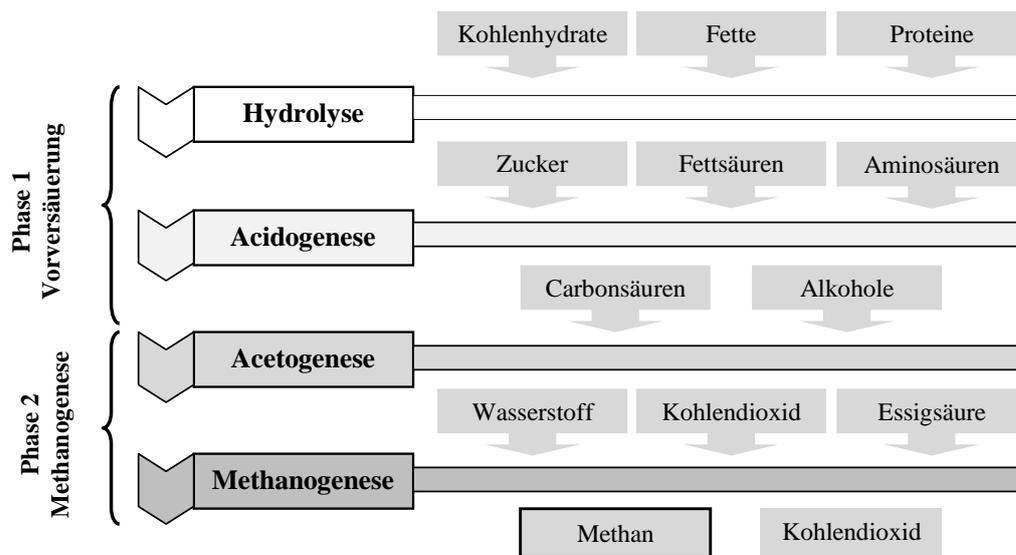


Abbildung 3: Schematischer Ablauf des Biogasprozesses (modifiziert nach Bischofsberger et al. 2005)

Vorversäuerung

Der erste Schritt des Biogasprozesses ist die Hydrolyse. Exoenzyme hydrolytisch-acidogener Bakterien brechen langkettige Kohlenhydrate, wie Cellulose, Hemicellulose und Stärke zu kurzkettigen Zuckern auf. Proteine werden zu Aminosäuren abgebaut und Fett zu Fettsäuren und Glycerin. Der Abbau der einzelnen Makromoleküle nimmt unterschiedlich viel Zeit in Anspruch. Am schwersten verdaulich ist Lignocellulose. Diese wird nicht vollständig und nur sehr langsam abgebaut (Deublein und Steinhauser 2011). Der Abbau von Cellulose dauert einige Wochen, Proteine und Fette benötigen einige Tage und kurzkettige Zucker einige Stunden (Al Seadi u. a. 2013). Werden lignocellulosehaltige Substrate fermentiert, ist dieser Schritt prozesslimitierend (Deublein und Steinhauser 2011).

Im zweiten Schritt, der Acidogenese werden die durch die Hydrolyse gebildeten Monomere von den hydrolytisch-acidogenen Bakterien weiter zu kurzkettigen organischen Säuren (Buttersäure, Propionsäure, Acetat, Essigsäure), Alkoholen, Schwefelwasserstoff (H_2S), Wasserstoff (H_2) und Kohlendioxid (CO_2) abgebaut (Murphy und Thanasit Thamsiriroj 2013). Die Zusammensetzung der Endprodukte dieses Schrittes ist abhängig von der Art des Substrates sowie den vorherrschenden Prozessparametern, insbesondere der Substratbelastung und dem Wasserstoffpartialdruck (Bischofsberger et al. 2005). Je höher dieser Druck ist, desto weniger Acetat wird gebildet (Deublein und Steinhauser 2011).

Methanogenese

In dieser Phase wird das Methan durch Syntrophie von acetogenen und methanogenen Mikroorganismen gebildet. Die aus dem vorherigen Schritt gebildeten flüchtigen und langkettigen Fettsäuren werden von acetogenen Mikroorganismen zu Acetat, CO₂ und H₂O abgebaut. Dabei wird H₂ abgegeben und der pH-Wert sinkt. Ein niedriger pH-Wert hemmt die Acetogenese und es werden vorwiegend Buttersäure, Propionsäure, Valeriansäure und Capronsäure gebildet, welche nicht weiter zu Methan abgebaut werden können. Durch eine enge Vergesellschaftung mit Methanogenen kann der pH-Wert in einem optimalen Bereich (7 bis 7,5) gehalten werden. Während der Methanogenese werden CO₂, H₂ und Acetat zu Methan umgewandelt und der Wasserstoff wird verbraucht. Der Hauptteil des bei der anaeroben Fermentation gebildeten Methans wird von den acetoklastischen Methanogenen gebildet, welche Methan und CO₂ aus Essigsäure produzieren. (Deublein und Steinhauser 2011; Bischofsberger et al. 2005)

Neben den eben beschriebenen Prozessen, findet zeitgleich die Reduktion organischen Stickstoffes zu Ammoniak durch fakultative Anaerobier, sowie von Schwefelverbindungen zu H₂S durch sulfatreduzierende Bakterien statt (Deublein und Steinhauser 2011). Diese Endprodukte wirken inhibierend auf den Biogasprozess (Drosg et al. 2013).

1.3 Lignocellulosereiche Substrate

Aufbau der Lignocellulose

Lignocellulosereiche Substrate bestehen zu einem großen Teil aus Lignocellulose, welche als Stützsubstanz höherer Pflanzen dient. Es handelt sich um einen Komplex aus den Polysacchariden Cellulose und Hemicellulose, sowie dem phenolischen Polymer Lignin (Abbildung 4). Lignocellulose ist aufgrund seiner Struktur nicht wasserlöslich und chemisch und biologisch schwer abbaubar.

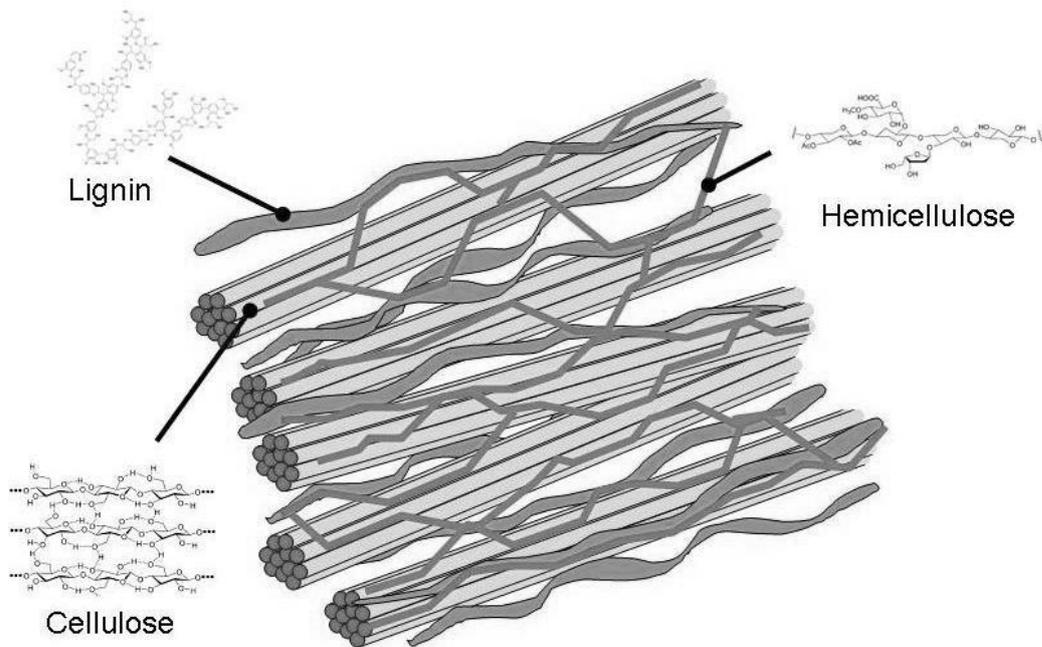


Abbildung 4: Struktur von Lignocellulose (Meine et al. 2013)

Cellulose

Die Cellulose ist ein Homopolysaccharid, welches aus β -1,4-glycosidisch verknüpften D-Glucose-Molekülen aufgebaut ist. 2000 bis 25000 Moleküle bilden lange unverzweigte Ketten, die über Wasserstoffbrücken kristalline Gitterstrukturen (Elementarfibrillen) formen. Diese Strukturen sind verantwortlich für eine hohe Reißfestigkeit und eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber Chemikalien und mikrobiellem Abbau. (Heldt und Piechulla 2015) In der nativen Cellulose wechseln diese kristallinen Strukturen mit amorphen Abschnitten. (Belitz und Grosch 2013)

Hemicellulose

Die Hemicellulose ist ein verzweigtes Heteropolysaccharid und ist hauptsächlich aufgebaut aus den Pentosen Xylose und Arabinose, den Hexosen Glucose, Galactose und Mannose sowie Uronsäuren. Die Zusammensetzung unterscheidet sich je nach Pflanzenart. Bei Hartholz und Agrarpflanzen wie Gräsern und Stroh findet sich hauptsächlich Xylan, bei Weichholz überwiegt Glucomannan. Die Hemicellulose hat ein geringeres Molekulargewicht als die Cellulose und ist leicht hydrolyzierbar. Sie verbindet die Fibrillen der Cellulose mit Lignin. (Hendriks und Zeeman 2009)

Lignin

Lignin wird in die sekundäre Zellwand eingelagert und sorgt für eine hohe Zug- und Druckfestigkeit. Die Hauptbestandteile sind p-Cumarylalkohol, Coniferyl- und Sinapylalkohol. Auch hier gibt es Unterschiede in der Zusammensetzung zwischen den Pflanzenarten. Beim Laubholz überwiegt der Anteil des Sinapylalkohols, beim Nadelholz Coniferylalkohol und im Gras-Lignin Cumarylalkohol. (Richter 1997)

Bagasse und Landschaftspflegematerial

Bagasse und Landschaftspflegematerial sind lignocellulosereiche Substrate, die in dieser Arbeit näher behandelt werden.

Bagasse

Bei der Produktion von Zucker aus Zuckerrohr verbleibt nach dem Auspressen des zuckerhaltigen Saftes ein faseriger Reststoff, welcher als Bagasse bezeichnet wird. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Zusammensetzung.

Tabelle 1: Zusammensetzung von Bagasse

	(da Silva u. a. 2010)	((Abdel-Halim 2014)	((Dussán u. a. 2016)	(Bolado-Rodríguez u. a. 2016)
Cellulose	38,8 ± 0,66	40,2	34,6	46,21 ± 0,10
Hemicellulose		25,0	18,9	20,86 ± 0,05
Arabinan	2,5 ± 0,02			
Xylan	23,5 ± 0,44			
Lignin		23,9	27,6	22,67 ± 0,04
Asche	2,8 ± 0,8	1,7	6,4	1,19 ± 0,10

Landschaftspflegematerial

Bei der Pflege von Grünflächen fällt organisches Material an, welches als Landschaftspflegegras bezeichnet wird. Der Begriff umfasst Grasschnitt von landwirtschaftlichen Grünflächen, welcher nicht mehr zur Fütterung verwendet wird sowie halmgutartige Rückstände, die bei der Pflege öffentlicher Flächen anfallen (Straßengrasschnitt, Grasschnitt aus Parks, Anlagen und Friedhöfen sowie Grasschnitt von Naturschutzflächen). Die Zusammensetzung der Grasschnitte ist sehr inhomogen. Sie variiert von Standort zu Standort und ist von der Schnittsaison abhängig. Gemeinsam mit, bei der

Landschaftspflege anfallenden holzartigen Biomasse, ergibt sich der Begriff des Landschaftspflegematerials. (Kaltschmitt und Hartmann 2001)

1.4 Thermo-chemische Vorbehandlung

Die komplexe Struktur der Lignocellulose ist für Mikroorganismen schwer bis nicht abbaubar. Um lignocellulosereiche Substrate für die Biogasproduktion wirtschaftlich nutzen zu können, werden diese einer Vorbehandlung unterzogen. Diese hat zum Ziel die Struktur der Lignocellulose aufzubrechen und die Cellulose und Hemicellulose zu leichter verfügbaren Monosacchariden abzubauen. Die thermo-chemische Vorbehandlung kombiniert den Einsatz von hohen Temperaturen mit dem Zusatz von Säure oder Lauge.

Abbau der Lignocellulose und Folgereaktionen

Lignocellulose beginnt bei Temperaturen über 150 bis 180 °C aufzubrechen. Am hitzelabilsten ist die Hemicellulose, welche sich zuerst löst, gefolgt vom Lignin. Die gelösten Polymere werden unter hohen Temperaturen weiter zu Oligo- und Monomere aufgespalten. Dieser Abbau wird durch Säure katalysiert. Thermische Aufschlussverfahren arbeiten mit Temperaturen bis zu 240 °C. Durch Zugabe von Säure kann die benötigte Temperatur gesenkt werden. (Hendriks und Zeeman 2009)

Unter dem Einfluss hoher Temperaturen und niedriger pH-Werte werden weitere Abbauprodukte gebildet, die einen inhibierenden Effekt auf die Mikroorganismen haben können (Abbildung 5). Reduzierende Mono- und Disaccharide unterliegen der sogenannten Maillard-Reaktion (Kapitel 1.4). Sie werden zu den Furanderivaten 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) und Furfural abgebaut. Forcierte Reaktionsbedingungen wie lange Verweilzeiten, hohe Temperaturen und hohe Säurekonzentrationen führen zu deren weiterer Aufspaltung in Ameisen- und Lävulinsäure. Die Maillard-Reaktion führt auch zur Bildung der sogenannten Melanoidine. Es sind komplexe Polymere, die sich aus den Zwischenprodukten der Maillard-Reaktion bilden. Diese Abbauprozesse bedeuten neben der Bildung hemmender Verbindungen auch den Verlust von fermentierbaren Zuckern (Jönsson und Martín 2016).

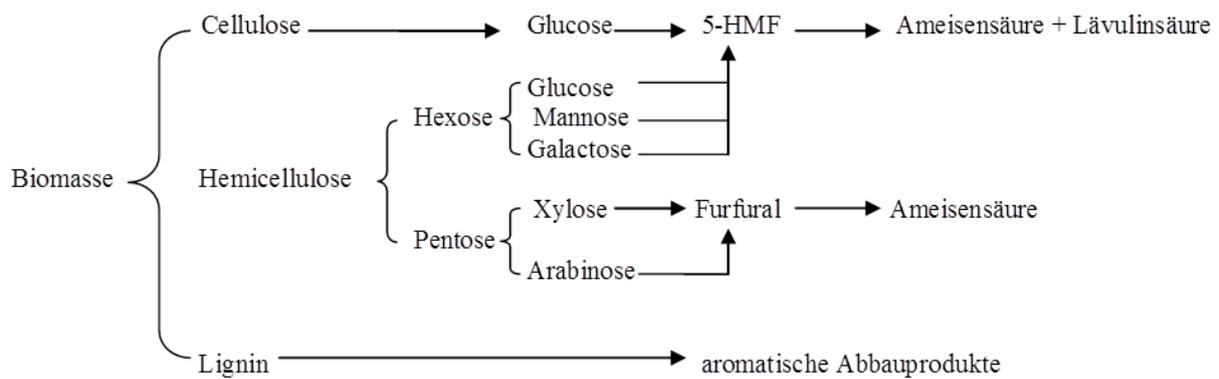


Abbildung 5: Schematischer Abbau von lignocellulosereicher Biomasse (Girisuta 2007; Möller und Schröder 2013)

Der Abbau von Lignin führt zu phenolischen Verbindungen, die ebenfalls inhibierend wirken. Diese sind sehr reaktiv und können an der Biomasse kondensieren. Der mikrobielle Abbau wird somit erschwert (Hendriks und Zeeman 2009).

Bedeutung der Nebenprodukte für die Biogasausbeute

MRP können einen inhibierenden Effekt auf die Mikroorganismen haben. Dieser ist jedoch von der Konzentration der hemmenden Substanzen abhängig. Wird eine bestimmte Konzentration nicht überschritten, können Mikroorganismen nach einer gewissen Adaptionszeit diese Nebenprodukte abbauen bzw. akzeptieren.

Larsson et al. (1999) untersuchten den Einfluss von HMF, Furfural, Essig-, Ameisen- und Lävulinsäure auf die Fermentation von Fichtenholz mit *Saccharomyces cerevisiae*. Als Indikator für eine hemmende Wirkung wurde die Bioethanol-Ausbeute herangezogen. Sie beobachteten, dass die Zugabe von Essig-, Ameisen- und Lävulinsäure bis zu einer Konzentration von 100 mmol/l die Bioethanolausbeute erhöhten. Bei höheren Konzentrationen sank die Ausbeute. Den stärksten inhibierenden Effekt hatte die Ameisensäure. Die Furanderivate Furfural und HMF hatten zwar keinen Einfluss auf die Bioethanol-Ausbeute (g Ethanol/g Zucker im Medium), führten aber zu einer geringeren volumetrischen Produktivität (g Ethanol gebildet in den ersten 4h/l.h). Dies konnte vor allem bei der Zugabe von HMF beobachtet werden. Furfural wurde von der Hefe zu Furfurylalkohol abgebaut und verursachte somit eine lag-Phase in der Bioethanol-Bildung.

Einen inhibierenden Effekt von Nebenprodukten des sauren thermo-chemischen Aufschlusses konnten auch Bolado-Rodríguez et al. (2016) nachweisen. Sie verglichen thermische und diverse thermo-chemische (sauer, basisch, basisch-Peroxid) Vorbehandlungen von

Weizenstroh und Bagasse. Es wurden Biomethanpotential-Tests (BMP) durchgeführt, die zeigten, dass die Biogasausbeute der sauer aufgeschlossenen Substrate am geringsten war.

Die Wirkung von Melanoidinen wurde von Rurián-Henares und Morales (2008) und Rufián-Henares und de la Cueva (2009) untersucht. Sie konnten feststellen, dass Melanoidine an die Membran von Bakterien binden und dort irreversible Schäden verursachen. Dieser Effekt war bei Versuchen mit hochmolekularen (HMW – high molecular weight) Melanoidinen deutlich stärker als mit niedermolekularen (LMW – low molecular weight). Ein Vergleich von gramnegativen und grampositiven Bakterien zeigte, dass die Zerstörung der Zellmembran bei den grampositiven schneller von statten ging. Dies wurde mit der zweiten Zellwand der gramnegativen Bakterien begründet. Ein weiterer hemmender Effekt ist die Komplexbildung mit einigen Metallionen, welche den Mikroorganismen nicht mehr zur Verfügung stehen. Hwang et al. (2011) stellten eine inhibierende Wirkung auf die α -Glucosidase fest, die an dem Abbau der Cellulose beteiligt ist.

Auch den Abbauprodukten von Lignin konnte eine hemmende Wirkung nachgewiesen werden. Larsson et al. (2000) untersuchten den Einfluss 20 verschiedener Substanzen und zeigten, dass diese einen negativen Effekt auf die Wachstumsrate von *Saccharomyces cerevisiae*, sowie die Bioethanol-Ausbeute hatten.

Neben den eben beschriebenen Effekten der thermischen Nebenprodukte, kann die Methanausbeute auch durch den Einsatz von Schwefel- oder Salpetersäure verringert werden. Sulfat und Nitrat werden zulasten des Methans zu Schwefelwasserstoff (H_2S) und Nitrat (N_2) reduziert. (Hendriks und Zeeman 2009)

Projekt TherChem

Diese Arbeit wurde im Zuge des Projektes TherChem (Thermo-chemisches Verfahren zur Vorbehandlung von Reststoffen aus der Brauerei zur Steigerung der Biogasausbeute) durchgeführt, welches sich mit der Auswirkung des thermo-chemischen Aufschlusses auf die Biogasproduktion beschäftigte. Hauptaugenmerk lag auf dem Substrat Biertreber. Dieses ist ein lignocellulosereiches Nebenprodukt der Bierbrauerei und kann durch den Einsatz zur Biogasproduktion die Energiekosten eines Unternehmens senken.

Ziel war es, die idealen Parameter für den thermo-chemischen Aufschluss zu finden, die einen genügend hohen Abbau der Lignocellulose gewährleisten, aber die Konzentration hemmender thermischer Nebenprodukte niedrig halten. Um die Effektivität des Aufschlusses zu

bestimmen, wurden Biomethanpotential-Tests (BMP) mit dem unbehandelten und dem vorbehandelten Substrat durchgeführt und verglichen. Die Vorbehandlung wurde mit Schwefelsäure durchgeführt. Dies führt zur verstärkten Produktion von Schwefelwasserstoff (H₂S) während des Biogasprozesses. Das toxische Gas hat neben dem inhibierenden Effekt auf Mikroorganismen auch korrosive Eigenschaften. Zur Entfernung des Gases wurde im Zuge des Projektes eine Entschwefelungskolonie getestet, in der das Gas mikrobiell abgebaut wird und als Schwefelsäure in die Vorbehandlung zurückgeführt werden kann.

Neben dem Substrat Biertreber wurden auch Versuche mit anderen lignocellulosereichen Substraten durchgeführt. Von weiterem Interesse waren Weizen- und Maisstroh, Bagasse und Landschaftspflegematerial. In dieser Arbeit werden die beiden letzten Substrate untersucht.

1.5 Die Maillard-Reaktion

Die Maillard-Reaktion (MR) wurde 1912 erstmals von Louis Camille Maillard beschrieben. Es handelt sich hierbei um eine nicht-enzymatische Bräunungsreaktion. Ausgehend von einer reduzierenden Verbindung und einer Aminogruppe werden braune, sogenannte Melanoidine gebildet. Diese sind komplexe, chromophore Strukturen, die sich aus den Zwischenprodukten der Maillard-Reaktion bilden. Die Komplexität ist auf die verschiedenen möglichen Reaktionswege der Maillard-Reaktion zurückzuführen. Je nach Reaktionsbedingungen und Ausgangsprodukten werden unterschiedliche Reaktionswege favorisiert und es bilden sich diverse Zwischenprodukte, die durch Polymerisation zu den Melanoidinen führen (Roussev 2003). In den Substraten dieser Arbeit wird die reduzierende Komponente von einem reduzierenden Zucker und die Aminogruppe von freien Aminosäuren und Proteinen bereitgestellt.

Die Maillard-Reaktion wird in drei Phasen eingeteilt, die im Folgenden genauer beschrieben werden.

1.5.1 Die frühe Phase

Bildung von N-Glycosiden

Die Carbonylgruppe des reduzierenden Zuckers und die Aminogruppe kondensieren und reagieren über eine Schiff'sche Base zu einem stabilen N-Glycosid (Abbildung 6) (Mauron

1981). Aminosäuren reagieren hier bevorzugt mit dem β -Anomer des Zuckers (Westphal und Kroh 1985). Diese Form steht immer in einem Mutarotationsgleichgewicht mit seiner α -Form. Im Fall von Glucose liegen 38% der D-Glucose in seiner α -Form und 62% in seiner β -Form vor. Laut Baltes (2000) stellt sich dieses Gleichgewicht im basischen Milieu wesentlich schneller als im neutralen oder sauren ein. Als Folge kann unter basischen Bedingungen im weiteren Verlauf eine stärkere Bräunung beobachtet werden. Stabile Glucosylamine bilden sich nur bei Reaktion mit aromatischen und heterocyclischen Aminen. Sind aliphatische Amine oder Aminosäuren beteiligt, zerfallen deren Glycosylamine wieder, oder reagieren zu stabilen Produkten weiter (Westphal und Kroh 1985). Das N-Glycosid liegt wie der reduzierende Zucker in seiner halbacetalisch gebundenen Form vor.

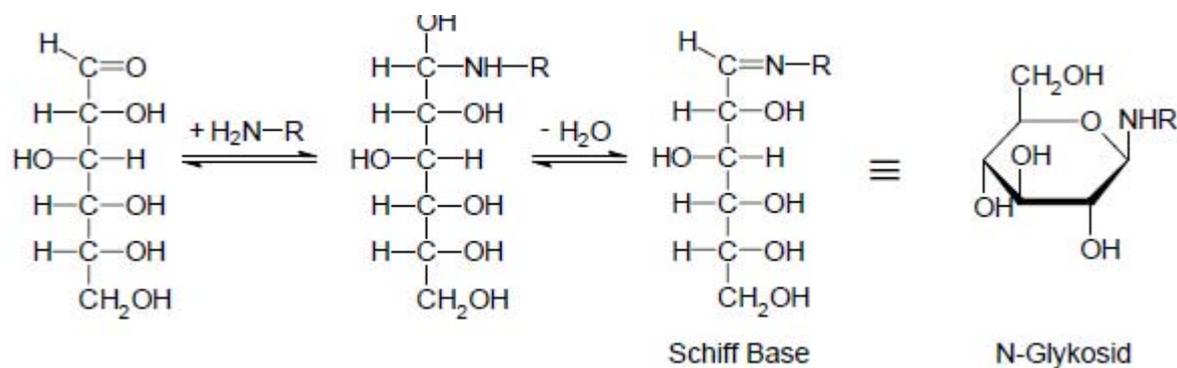


Abbildung 6: Bildung des N-Glykosid (Liedke 2000)

Auch Aminosäuren haben einen Einfluss auf den pH-Wert. Basische Aminosäuren wie Lysin, welche auch die „Maillard-aktivste“ Aminosäure ist, verschieben den pH-Wert in den basischen Bereich und tragen somit ebenfalls zu einer stärkeren Bräunung bei. Kettenlänge und Stellung der Aminogruppe, sowie die Konfiguration sind ebenfalls von Bedeutung. So führt z.B. die D-Konfiguration der Aminosäuren zu einer wesentlich stärkeren Bräunung als die L-Form. (Westphal und Kroh 1985)

Die Amadori-Umlagerung

Im Weiteren unterliegen die N-Glycoside einer α -Hydroxyumlagerung (Abbildung 7). Im Falle von Aldosen findet eine Umlagerung zu Aminketosen statt, die sogenannte Amadori-Umlagerung. Unterliegt das N-Glycosid einer Ketose einer α -Hydroxyumlagerung, wird diese als Heyns-Umlagerung bezeichnet. Diese sind nicht sehr stabil und verfolgen im Weiteren den Verlauf der Amadori-Umlagerung oder zerfallen wieder in seine Ausgangsprodukte (Ledl und Schleicher 1990). Bei Untersuchungen von Modellsystemen konnte nachgewiesen werden,

dass die D-Fructose reaktiver als die D-Glucose ist (Liedke 2000; Roussev 2003). Dies wird damit begründet, dass ein höherer Anteil der D-Fructose in der reaktiveren offenkettigen Form vorliegt.

Die Reaktionen der frühen Phase sind reversibel und es findet noch keine Bräunung statt. (Westphal und Kroh 1985)

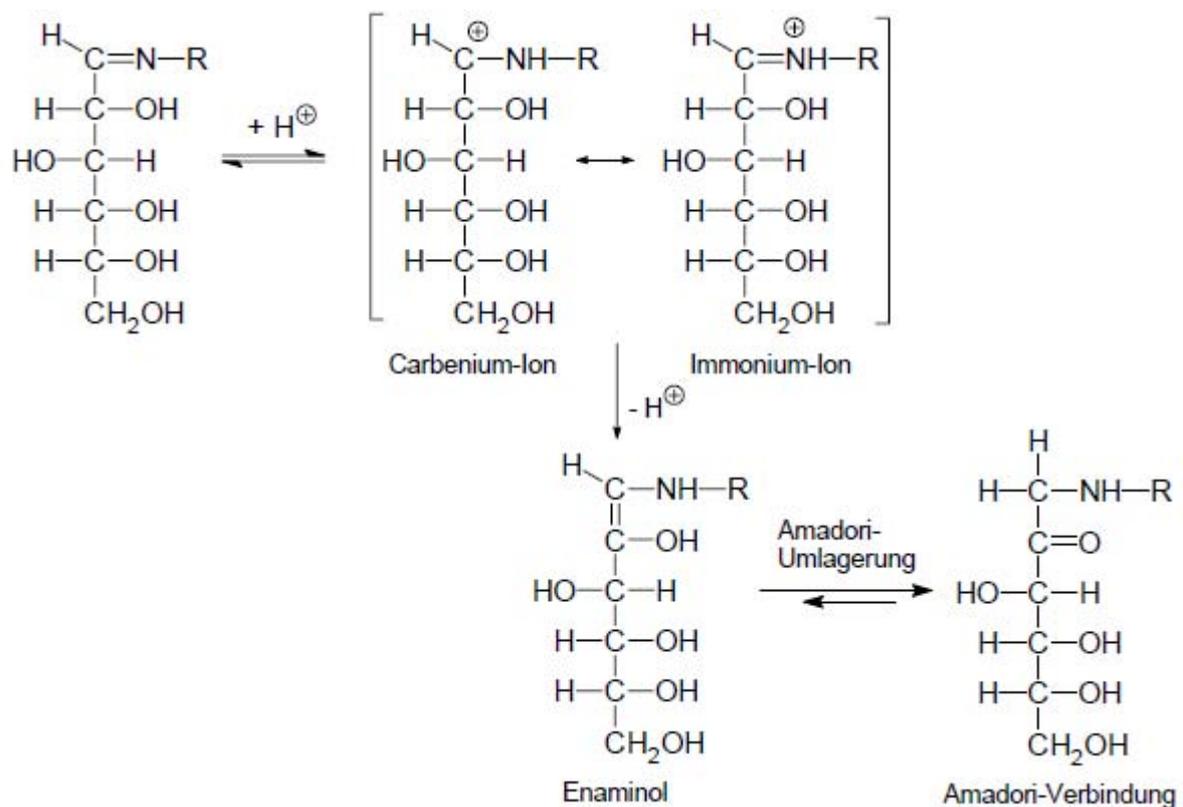


Abbildung 7: Die Amadori-Umlagerung (Liedke 2000)

1.5.2 Die fortgeschrittene Phase

In der fortgeschrittenen Phase werden ausgehend von Amadori-Verbindungen α -Dicarbonylverbindungen und verschiedene weitere Reaktionsprodukte gebildet. Diese sind von den Reaktionsbedingungen abhängig und werden im Folgenden beschrieben. Reduzierende Disaccharide unterliegen ebenfalls der Maillard-Reaktion. Ihre Reaktivität ist in Bezug auf die Bildung von α -Dicarbonylverbindungen jedoch geringer (Hollnagel 2000).

Enolisierung

Es gibt zwei mögliche Enolisierungsreaktionen. Diese finden gleichzeitig statt, weisen jedoch ein unterschiedliches pH-Optimum auf. Je nach pH-Wert wird somit ein Reaktionsweg bevorzugt (Abbildung 8).

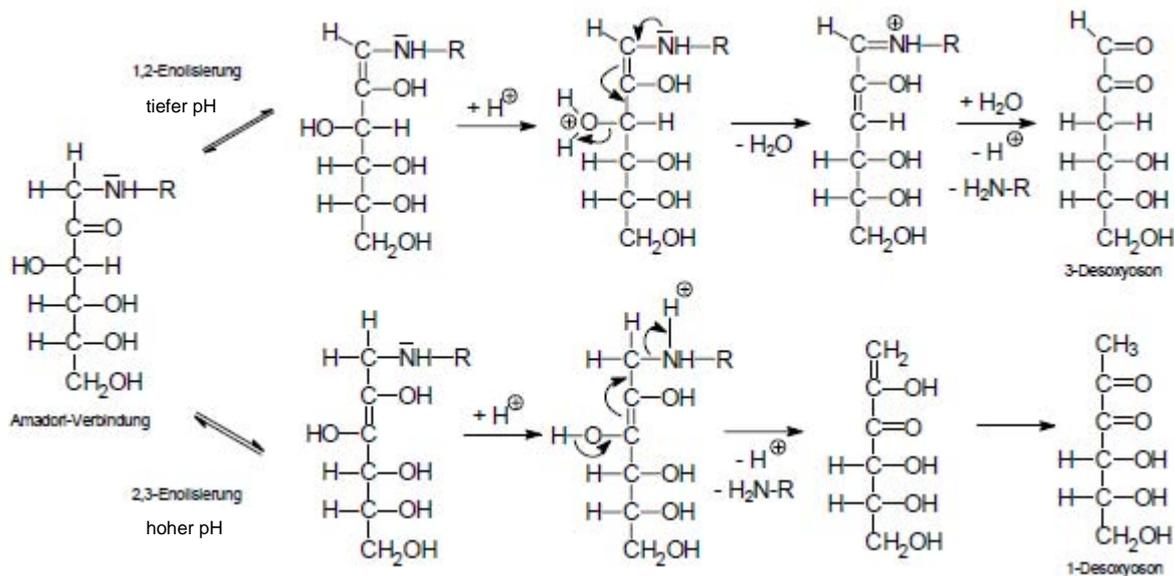


Abbildung 8: Enolisierung des N-Glycosids in Abhängigkeit vom pH-Wert (Liedke 2000)

1,2-Enolisierung

Unter niedrigen pH-Bedingungen findet hauptsächlich eine 1,2-Enolisierung der Amadori-Produkte zu einem 1,2-Enaminol statt. Unter Abspaltung einer Hydroxygruppe und der Aminogruppe wird das sehr reaktive 3-Desoxyoson gebildet. Nach Wasserabspaltung wird dieses zu Furanderivaten abgebaut (Abbildung 9). Ausgehend von Hexosen bildet sich das 5-Hydroxymethylfurfural (HMF). Ist das Ausgangsprodukt eine Pentose wird Furfural gebildet (Hodge 1953). Liegen als Stickstoffquelle hauptsächlich primäre Amine vor, wird die Bildung von HMF und Furfural gehemmt und es entstehen N-haltige Pyrrole, Pyridiniumbetaine und Bispyrrole. Unter Anwesenheit von Aminosäuren werden auch Lactam- und Lacton-Strukturen gebildet (Ledl und Schleicher 1990).

Unter basischen Bedingungen bildet sich ausgehend vom 3-Desoxyoson Metasaccharinsäure, die in ihrer Lacton-Form vorliegt. (Ledl und Schleicher 1990)

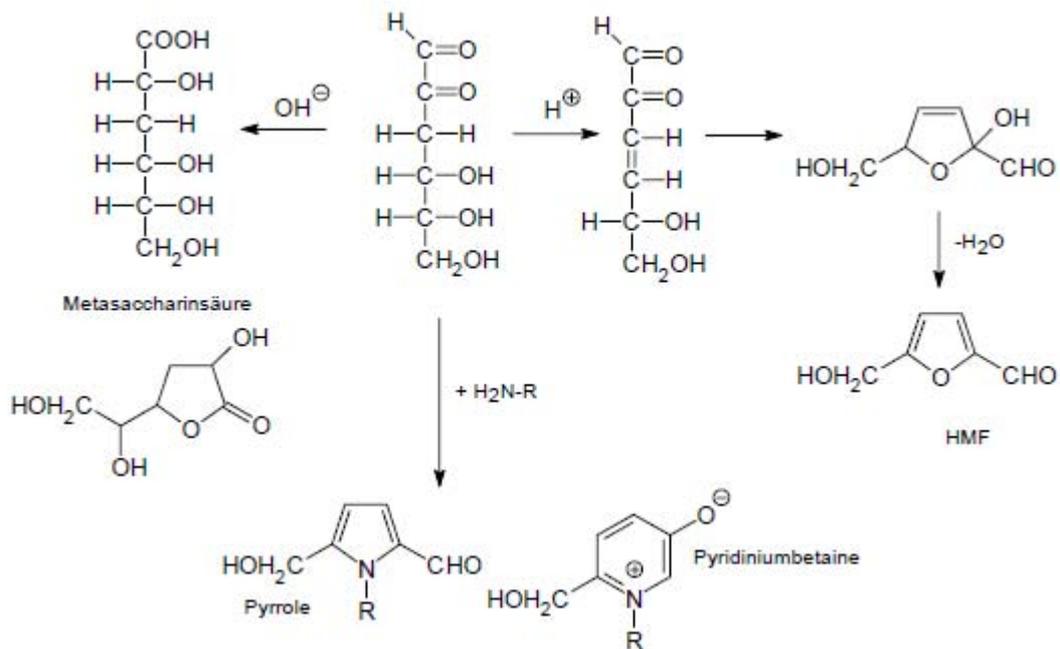


Abbildung 9: Reaktionsverlauf des 3-Desoxyosons (Liedke 2000)

2,3-Enolisierung

Ist der pH-Wert des Reaktionsmediums hoch, wird das Amadori-Produkt hauptsächlich zu einem 2,3-Endiol enolisiert. Dieses wird nach Abspaltung der Aminogruppe zu einem 1-Desoxyoson und weiter zu einem Redukton umgelagert (Roussev 2003). Da das 1-Desoxyoson in Form von Hydroxyfuranonen, aber auch Hydroxypyranonen vorliegen kann, gibt es unterschiedliche Folgeprodukte. Typische Reaktionen sind die Bildung von Isomaltol aus der Furanonform und die Bildung von Maltol, bzw. 2,3-Dihydro-3-hydroxymaltol (DHM) aus der Pyranonform (Abbildung 10). Die Bildung des Maltols erfolgt nur aus Disacchariden. (Liedke 2000)

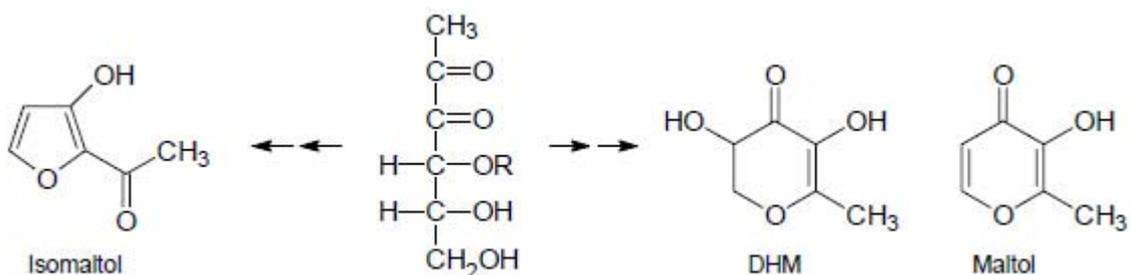


Abbildung 10: Typische Folgeprodukte des 1-Desoxyosons (Liedke 2000)

Strecker-Abbau

Die gebildeten α -Dicarbonylverbindungen reagieren mit den Aminogruppen von α -Aminosäuren und Proteinen zu den sogenannten Strecker-Verbindungen (Abbildung 11). Über die Bildung einer Schiff'schen Base wird die Aminogruppe auf eine α -Dicarbonylverbindung übertragen. Nach Abspaltung von CO_2 und NH_3 entstehen α -Aminoketone und sogenannte Strecker-Aldehyde. (Mauron 1981)

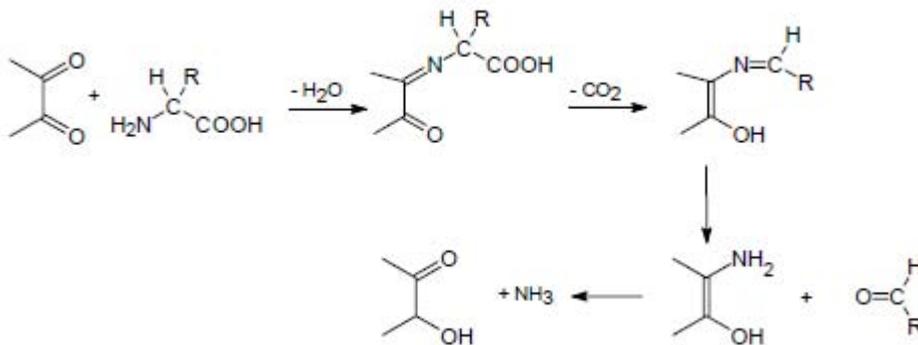


Abbildung 11: Der Strecker-Abbau (Liedke 2000)

Die α -Aminoketone können im Weiteren zu Pyrazinen kondensieren (Abbildung 12).

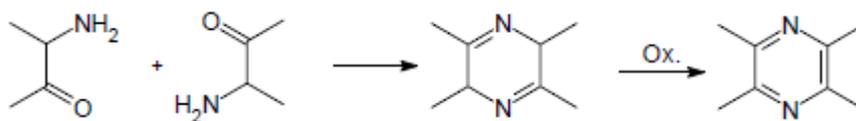


Abbildung 12: Selbstkondensation von α -Dicarbonylverbindungen (Liedke 2000)

Der Strecker-Abbau ist für den Vorgang der Bräunung nicht notwendig. In Anwesenheit von primären α -Aminosäuren tritt sie jedoch auf. (Høltermand 1966)

Autooxidation von Amadoriverbindungen und reduzierenden Zuckern

Neben den Enolisierungsreaktionen können oxidative Abbaureaktionen von Amadoriverbindungen stattfinden, welche ebenfalls zur Bildung von α -Dicarbonylverbindungen führen. Liedke (2000) konnte nachweisen, dass die Autooxidation in Konkurrenz zu den Enolisierungsreaktionen steht. Welche Reaktion überwiegt ist abhängig von pH-Wert, Temperatur und Konzentration an Metallionen. Mit steigendem pH-Wert und

steigender Metallionen-Konzentration rückt die Autooxidation in den Vordergrund. Bei einem Anstieg der Temperatur läuft die Enolisierung bevorzugt ab.

1.5.3 Die finale Phase

In dieser Phase werden die Melanoidine gebildet. Es wird zwischen hochmolekularen (HMW- high molecular weight) und niedermolekularen (LMW- low molecular weight) Melanoidinen unterschieden. LMWs sind Verbindungen mit einer Molekülgröße kleiner als 3,5 kDa. Sie werden in der frühen und vor allem der fortgeschrittenen Phase der Maillard-Reaktion gebildet. Bis heute wurden einige chromophore LMWs identifiziert (Nursten 2011). HMWs bilden sich aus den verschiedenen Zwischenprodukten der früheren Phasen und haben eine sehr komplexe Struktur. Sie weisen Molekülgrößen von größer als 10 kDa auf. Wang, Qian, und Yao (2011) beschrieben drei Theorien zu deren Bildung. Diese können entweder durch Polymerisation von LMWs, einer Quervernetzung von LMWs mit reaktiven Aminosäuren-Seitenketten oder einer Kondensationsreaktion von den sehr reaktiven α -Dicarbonylverbindungen aus der frühen Phase entstehen. Sie beschrieben ebenfalls die Möglichkeit der Modifizierung von Proteinen durch die Zwischenprodukte der früheren Phasen. Über die Struktur der Melanoidine ist erst wenig bekannt. Sie ist sehr komplex und abhängig von den Ausgangsstoffen, sowie den Reaktionsbedingungen (Silván et al. 2006). Cämmerer und Kroh (1995) stellten eine mögliche Struktur vor (Abbildung 13).

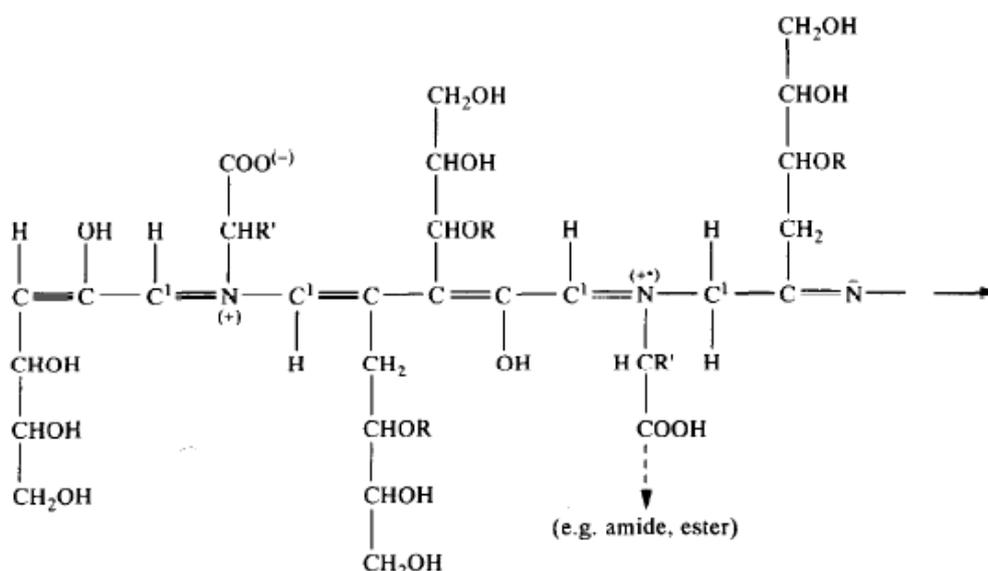


Abbildung 13: Mögliche Struktur der Melanoidine (Cämmerer und Kroh 1995)

Die Bildung der Melanoidine ist von den Einflussgrößen Temperatur, Reaktionszeit und pH-Wert abhängig. Wie bereits erwähnt, trägt der pH-Wert zur Intensität der Bräunung bei. In der frühen Phase wird im basischen Milieu die von den Aminosäuren bevorzugtere β -Form des reduzierenden Zuckers rascher nachgebildet und somit mehr Reaktionsprodukte gebildet. In der fortgeschrittenen Phase wird der weitere Reaktionsweg der Amadori-Produkte beeinflusst. Bei niedrigem pH-Wert wird die 1,2-Enolisierung favorisiert und Furanderivate gebildet. Ist der pH-Wert hoch, wird die 2,3-Enolisierung bevorzugt und es werden Furanone, sowie kurzkettige Dicarbonylverbindungen (z.B. Isomaltol und Maltol) gebildet. Somit hat der pH-Wert vor allem Einfluss auf die Struktur der chromophoren Melanoidine (Wang, Qian, und Yao 2011). Cämmerer und Kroh (1995) konnten anhand von Modellsystemen auch einen Einfluss der Temperatur und des a_w -Wertes auf die elementare Zusammensetzung der Melanoidine zeigen.

Das Molekulargewicht der Melanoidine wird hauptsächlich von der Temperatur und der Reaktionszeit beeinflusst. Je höher die Temperatur und je länger die Reaktionszeit, desto mehr HMWs werden gebildet (Wang, Qian, und Yao 2011; Nursten 2011). Auch die Art der Ausgangsstoffe ist relevant. In komplexeren Systemen, wie Lebensmitteln bilden sich hauptsächlich HMWs (Wang, Qian, und Yao 2011).

Der Einfluss des a_w -Wertes auf die Bräunung wurde von (Mauron 1981; Nursten 2011) beschrieben. Die Bräunung erreicht ihr Maximum bei einem mittleren a_w -Wert. Bei bestimmten Konzentrationen kann eine hemmende Wirkung beobachtet werden.

2. Zielsetzung

Im Rahmen des EU-Projektes „TherChem“ werden diverse Reststoffe thermo-chemisch vorbehandelt, um die Biogasausbeute schwer zugänglicher Substrate zu steigern. Diese Arbeit beschäftigt sich mit dem thermo-chemischen Aufschluss der lignocellulosereichen Reststoffe Bagasse und Landschaftspflegematerial. Unter Einsatz von hohen Temperaturen und Schwefelsäure wird die schwer abbaubare Struktur der Lignocellulose aufgebrochen und es entstehen leichter verfügbare Zucker. Diese unterliegen jedoch der sogenannten Maillard-Reaktion, deren Reaktionsprodukte hemmend auf Mikroorganismen wirken können und zu einem Verlust von verwertbarem Kohlenstoff führen. Ziel dieser Arbeit ist, die Parameter eines thermo-chemischen Aufschlusses zu finden, die eine hohe Zuckerausbeute und eine niedrige Konzentration hemmender Maillard-Reaktionsprodukte (MRP) ergeben. Zum besseren Verständnis der Maillard-Reaktion wird ein Modellsubstrat erstellt und ebenfalls thermo-chemisch behandelt.

In dieser Arbeit sind die Maillard-Reaktionsprodukte 5-Hydroxymethylfurfural (HMF), Furfural und ihre Abbauprodukte Lävulinsäure und Ameisensäure (zusammengefasst als thermische Nebenprodukte) sowie die braunen Melanoidine von Interesse. Aufgrund der komplexen und bis heute noch nicht vollständig bestimmten Struktur der Melanoidine können diese im Gegensatz zu den thermischen Nebenprodukten (tNP) qualitativ und quantitativ nicht erfasst werden. Ihre Bildung kann jedoch mittels einfach durchführbarer photometrischer Messung nachgewiesen werden. Es wird eine Wellenlänge von 420 nm gewählt und die Bräunungsintensität mittels Extinktion bestimmt.

Mit der Forcierung der Maillard-Reaktion werden nicht nur mehr Melanoidine, sondern auch mehr tNP gebildet. Es soll der Zusammenhang von Extinktion und der Konzentration von tNP in einem bestimmten Temperaturbereich bestimmt werden. Ist dieser linear, kann eine Kalibriergerade erstellt werden, die eine quantitative Bestimmung der tNP mittels einfach und schnell durchführbarer photometrischer Bestimmung ermöglicht.

3. Material und Methoden

3.1 Probenmaterial

Biertreber

Es wurden Biertreber von der Brauerei Wieselburg, von der Ottakringer Brauerei (gefrorene Proben aus den Jahren 2009 und 2012) und von einer bayerischen Brauerei (Weißbierdreber) zur Verfügung gestellt. Die Proben wurden bis zur Analyse in einem 30 l Kunststoffgebinde bei -20 °C gelagert und vor der Analyse bei 4 °C aufgetaut.

Bagasse

Die Bagasse wurde von einem Zuckerrohrproduzenten aus Brasilien zur Verfügung gestellt. Da beim Transport keine Kühlmöglichkeit zur Verfügung stand, wurde sie vor dem Versand an der Luft (bei ca. 30 °C) getrocknet um die Haltbarkeit zu gewährleisten. Danach war die Lagerung bei Raumtemperatur möglich.

Landschaftspflegematerial

Das Landschaftspflegematerial wurde von der Stadtgemeinde Tulln an der Donau zur Verfügung gestellt. Das in dieser Arbeit untersuchte LPM setzt sich zusammen aus Schilfrohr (*Phragmites*), Steppengras (*Polyporus rhizophilus*), Acker-Winde (*Convolvulus arvensis*), Quecke (*Elymus*) und Katzenminze (*Nepeta cataria*). Die Probe wurde in einem 30 l Kunststoffgebinde bis zur Analyse bei -20 °C gelagert und vor der Analyse bei 4 °C aufgetaut.

Weizen- und Maisstroh

Weizenstroh und Maisstroh wurden von Bauern der Gemeinde Tulln bereitgestellt. Nach der Ernte wurde das Stroh auf dem Feld belassen, bis es vollständig getrocknet war. Erst danach wurde das Stroh für Versuche vom Feld abgeerntet. Die Proben waren trocken und konnten daher in Plastiksäcken bei Raumtemperatur gelagert werden.

3.2 Substratcharakterisierung

Zur Ermittlung der Zusammensetzung der Substrate wird eine Substratcharakterisierung durchgeführt. Es werden die Trockenmasse und organische Trockenmasse sowie der Gehalt der Hauptkomponenten Cellulose und Hemicellulose, Lignin und Protein bestimmt. Analysiert werden alle für das Projekt TherChem relevanten Substrate. Mit Hilfe einer wässrigen Extraktion werden die löslichen Zucker, eventuell vorhandenen thermische Nebenprodukte und die Extinktion ermittelt. Die quantitative Zusammensetzung der Hauptkomponenten sowie der restlichen Komponenten ist nicht bekannt. Dies erschwert die Interpretation der Ergebnisse über den Abbau der Polysaccharide sowie den Ablauf der Maillard-Reaktion. Ein Modellsubstrat mit bekannter Zusammensetzung soll die Interpretation erleichtern. Basierend auf der Substratcharakterisierung wird im Zuge dieser Arbeit ein solches Modellsubstrat erstellt.

Zur Probenvorbereitung werden die Substrate in einem Trockenschrank bei 65 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und anschließend in einer Schwingmühle gemahlen, um eine homogene Probe mit einer Partikelgröße von höchstens 1 mm zu erreichen.

3.2.1 Trockenmasse und organische Trockenmasse

Die Trockenmasse ist definiert als Masse einer Substanz nach Abzug der enthaltenen Wassermasse. Sie wird zur Berechnung der Trockensubstanz benötigt (Definition siehe Kapitel 3.2.1.), welche als Bezugspunkt für Konzentrationseinheiten benötigt wird. Beim Veraschen der Trockenmasse verglüht der organische Anteil der Probe und es verbleibt ein mineralischer Rückstand (Asche). Nach Auswaage der Asche kann die organische Trockenmasse berechnet werden. (Matissek, Steiner, und Fischer 2013)

3.2.1.1 Material

- Porzellantiegel getrocknet
- Spatel
- Trockenschrank (Heraeus Instruments kelvitron® t)
- Muffelofen (Heraeus Instruments thermicon P®)

- Laborwaagen: Scaltex SBA41 Max 320 g; d = 0,001 g
Sartorius GP 6100-G Max 6100 g; d = 0,1 g
- Exsikkator

3.2.1.2 Durchführung

Trockenmasse

Eine bekannte Probenmenge wird jeweils in einen trockenen Porzellantiegel eingewogen und im Trockenschrank bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Tiegel werden anschließend im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt und danach ausgewogen. Jedes Substrat wird in Doppelbestimmung analysiert.

Organische Trockenmasse

Die Tiegel mit den trockenen Proben werden in einem Muffelofen bei 550 °C verascht, anschließend im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt und ausgewogen.

3.2.1.3 Auswertung

$$TM [\%] = \frac{Auswaage [g]}{Einwaage [g]} * 100$$

$$oTM [\%] = \frac{Auswaage_{TM}[g] - Auswaage_{Asche}[g]}{Einwaage [g]} * 100$$

3.2.2 Lignin

Das säureunlösliche Klason-Lignin wird nach dem Standard T 222 os-74, TAPPI, Atlanta, Ga., 1974 bestimmt. Bei einer Temperatur von 120 °C und unter Einfluss von Schwefelsäure wird die Lignocellulose aufgeschlossen. Der unlösliche Anteil wird gravimetrisch bestimmt.

3.2.2.1 Material und Geräte

- Schwefelsäure (72%)
- Destilliertes Wasser
- Erlenmeyerkolben mit Kapselverschlüssen (200 ml)

- Kolbenhubpipette (1 ml)
- Messzylinder (100 ml)
- Messpipette (10 ml)
- Glasfaserfilter 47 mm, getrocknet (Type A/E; PALL Corporation)
- Saugflasche
- Filteraufsatz mit Fritte
- Glaspetrischalen getrocknet und tariert
- Exsikkator
- Wasserstrahlpumpe
- Analysenwaage (MC 1 Analytic AC 210 S)
- Brutraum (T = 35 °C)
- Autoklav (Varioklav Dampfsterilisatoren Typ 500)
- Trockenschrank 105 °C (Heraeus Instruments kelvitron® t)

3.2.2.2 Durchführung

Jedes Substrat wird in Vierfachbestimmung analysiert.

In Erlenmeyerkolben werden je etwa 0,3 g der gemahlene Probe eingewogen und 3 ml 72% H₂SO₄ zugegeben. Anschließend werden die Kolben bei 35 °C in einem Brutraum eine Stunde inkubiert und regelmäßig geschwenkt. Danach werden 84 ml dest. Wasser zugegeben, geschwenkt und für 20 min bei 120 °C autoklaviert. Die Proben kühlen über Nacht ab und werden anschließend mit Hilfe einer Vakuumpumpe über einen Glasfaserfilter filtriert. Der Rückstand (= Klason Lignin) wird zwei Mal mit 100 ml dest. Wasser gewaschen, filtriert und bei 105 °C in einem Trockenschrank getrocknet. Nach dem Abkühlen im Exsikkator werden sie gewogen.

3.2.2.3 Auswertung

$$L_{KL} = \frac{F}{EW} * 100$$

L _{KL}	Klason Lignin [g/100 g TS]
F	Auswaage fester Rückstand getrocknet [g]
EW	Einwaage trockene Probe [g]

3.2.3 Cellulose- und Hemicellulose

Zur Bestimmung der Cellulose und Hemicellulose wird der Überstand der autoklavierten Proben der Klason-Ligninbestimmung herangezogen. Durch den Aufschluss der Lignocellulose mit Säure und einer hohen Temperatur wird die Cellulose frei und durch Hydrolyse weiter zu freien Zuckern abgebaut. Auch die Hemicellulose wird unter diesen Versuchsbedingungen zu freien Zuckern abgebaut. Um deren Konzentration zu bestimmen, wird der Überstand der autoklavierten Proben mittels HPLC-RI gemessen und der Cellulose- und Hemicellulosegehalt berechnet.

Für die Messung der Zucker mittels HPLC dürfen keine Feststoffe in der Probe enthalten sein. Um dies zu gewährleisten, erfolgen die drei Schritte Zentrifugation, Carrez-Fällung und Filtration. Die Carrez-Fällung dient zur Abtrennung von Kolloiden, wobei auch Proteine entfernt werden. Durch Zugabe von Fällungsreagenzien zum Überstand der Zentrifugation bildet sich ein unlöslicher Niederschlag, welcher die störenden Substanzen adsorptiv bindet. Für die Fällung wird ein pH-Wert von 4-7 benötigt. Da die Proben einen niedrigeren pH-Wert aufweisen, wird der pH-Wert mit entsprechender Natronlauge eingestellt.

3.2.3.1 Material und Geräte

- Schwefelsäure (0,05 M)
- Natronlauge in verschiedenen Konzentrationen
- Milli-Q-Wasser (sehr reines Wasser zur Herstellung von Laufmittel)
- Fällungsreagenz C1: Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat (Fluka; Merck)
- Fällungsreagenz C2: Zinksulfat Heptahydrat (Simga; Fluka)
- Kolbenhubpipetten (20-200 µL; 100-1000 µL) mit Spitzen
- Multipette (Stepper) und Spitzen
- Vortexer
- Eppendorf Gefäße
- Vials mit Verschlusskappen aus Aluminium und Crimper
- Einweg-Kunststoffspritzen (2 ml)
- Spritzenvorsatzfilter aus Nylon (0,45 µm)
- pH-Indikatorpapier

- Zentrifuge (Eppendorf Zentrifuge 5810)
- Zentrifuge (Beckmann GS-15 Zentrifuge; bis 12.500 rpm)
- HPLC-RI

3.2.3.2 Durchführung

Jedes Substrat wird in Vierfachbestimmung analysiert.

Zentrifugation

Von dem Überstand der autoklavierten Proben wurden jeweils 10 ml entnommen und zur Entfernung der Feststoffe für 15 min bei 12.500 rpm zentrifugiert.

Carrez-Fällung

Der pH-Wert der zentrifugierten Proben wird mittels pH-Indikatorpapier gemessen und durch Zugabe von unterschiedlich konzentrierten Natronlaugen die benötigte Konzentration ermittelt. Für die Carrez-Fällung werden 760 µl entsprechende Natronlauge in Eppis vorgelegt, 200 µl des Überstandes der Zentrifugation zugegeben und gevortext. Anschließend werden 20 µl der Fällungsreagenz C1 zugegeben, gevortext und eine Minute inkubiert. Nach Zugabe von 20 µl der Fällungsreagenz C2 wird erneut gevortext und eine Reaktionszeit von 10 min abgewartet. Der entstandene Niederschlag wird für 15 min bei 12.500 rpm abzentrifugiert.

Filtration

Der gewonnene Überstand wird mit einer Spritze aufgenommen und durch einen Spritzenvorsatzfilter in ein Vial filtriert.

HPLC-RI

Die Analysenparameter der HPLC-RI sind in Tabelle 2 angegeben.

Tabelle 2: Analysenparameter der HPLC-RI

	Analysenparameter
Analysemethode	isokratische Methode
HPLC-Säule	ICSep ICE-ION-300 von Transgenomic
Dimensionen	7,8 * 300 mm
min. Druck	5 bar
max. Druck	79 bar
Säulentemperatur	45,0 °C
Lösungsmittel	0,01N H ₂ SO ₄
Flussrate	0,325 mL/min
Injektionsvolumen	40,00 µL
Dauer	100,00 min
Detektor 1	Agilent 1100/1200 Refractive Index Detector 1

3.2.3.3 Auswertung

Für die Berechnung des Cellulosegehaltes wird die Konzentration der Glucose herangezogen. Der Hemicellulosegehalt ergibt sich aus der Summe der Pentosen Xylose und Arabinose.

$$KH = \frac{c_{HPLC}}{1000} * V_{Hydrolyse} * h}{EW} * 100$$

KH	Kohlenhydratanteil [g/100 g TS]
cHPLC	Zuckerkonzentration in der HPLC-Probe [mg/l]
V _{Hydrolyse}	Flüssigkeitsvolumen der Hydrolyse (= 0,087 l)
h	Umrechnungsfaktor: für Hexosen: 0,90 für Pentosen 0,88
EW	Einwaage Substrat [g]

Der Faktor h berücksichtigt die Aufnahme von 1 Mol H₂O je Mol Zucker während der Hydrolyse.

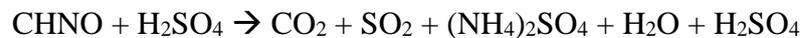
3.2.4 Gesamtstickstoff nach Kjeldahl

Diese Methode erfasst organische und anorganische Stickstoffverbindungen. Der organische Stickstoffanteil errechnet sich aus dem TKN abzüglich des ermittelten Ammonium-Stickstoffes.

Die Methode nach Kjeldahl ist in die drei Schritte Aufschluss, Destillation und Titration gegliedert.

Aufschluss

Die Probe wird mit konzentrierter Schwefelsäure aufgeschlossen und der enthaltene Stickstoff wird zu Ammoniumsulfat reduziert.



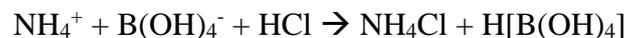
Destillation

Durch Zugabe von Natronlauge reagiert Ammonium zu Ammoniak, welcher als schwächere Base ausgetrieben und mittels Wasserdampfdestillation in eine Borsäure-Vorlage geleitet wird. Der Ammoniak wird wieder zu Ammonium reduziert.



Titration

Bei der Titration mit Salzsäure wird Ammonium zu Ammoniumchlorid reduziert. Da es sich hierbei um eine stöchiometrische Reaktion handelt, kann der Verbrauch der Salzsäure direkt zur Berechnung des Gesamtstickstoffgehaltes verwendet werden.



3.2.4.1 Material und Geräte

- Kjeldahltabletten (Katalysator 1000 Kjeltabs CT Code AA20, Thompson and Copper LTD; 5 g Kalium Sulfat K_2SO_4 ; 0,15 g Kupfer(II)Sulfat $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0,15 g Titandioxid TiO_2)
- Schwefelsäure, konzentriert (Fluka)
- Natronlauge (technisch)
- Borsäure p.A (Fluka oder VWR Prolabo)

- Salzsäure 0,1 mol/L, Fixanal (Fluka)
- Thermoblock (Büchi Instruments Digest Automat K-438)
- Destillationsapparatur mit Kühlung (Büchi AutoKjeldahl Unit K-370; Büchi Scrubber B-414)
- Laborwaagen (Scaltec SBA41 Max 320 g, d = 0,001 g; Sartorius GP 6100-G Max 6100 g, d = 0,1 g)
- Aufschlusskolben

3.2.4.2 Durchführung

Die Analyse nach Kjeldahl wird nach der Norm DIN EN 25663 (H 11) durchgeführt. Jedes Substrat wird in Vierfachbestimmung analysiert.

Die Proben werden in die Aufschlusskolben eingewogen, je eine Katalysatortablette und 20 ml konz. Schwefelsäure zugegeben. Die Kolben werden anschließend in einem Thermoblock stufenweise auf 420 °C erhitzt (automatisches Programm). Die Zugabe der Natronlauge, die Wasserdampfdestillation und die Titration mit Salzsäure erfolgen in der Apparatur automatisch. Zur Bestimmung des Blindwertes wurden zwei Kolben ohne Probe destilliert.

3.2.4.3 Auswertung

$$TKN [\%] = \frac{(a - b) * 1,4007 * t}{E}$$

TKN	Gesamtstickstoffgehalt (Total Kjeldahl Nitrogen)
a	Verbrauch an Salzsäuremaßlösung im Hauptversuch [ml]
b	Verbrauch an Salzsäuremaßlösung im Blindversuch [ml]
E	Einwaage [mg]
t	Titer der Salzsäuremaßlösung
1,4007	1 mL HCl-Maßlösung entspricht 1,4007 mg Stickstoff

3.2.5 Ammonium-Stickstoff

Der Gehalt an Ammonium-Stickstoff wird zur Berechnung des organischen Stickstoffanteiles bzw. des Proteingehaltes benötigt.

Die Durchführung und die Auswertung erfolgen wie bei der Bestimmung des TKN. Es entfällt jedoch der Aufschluss, nur die Destillation wird durchgeführt.

3.2.6 Wässrige Extraktion der unbehandelten Substrate

Die Extraktion der Substrate mit Wasser ermöglicht einen Vergleich zwischen thermo-chemisch vorbehandelten und nicht vorbehandelten Substraten.

3.2.6.1 Material und Geräte

- Schikanekolben (1l)
- dest. Wasser
- Küchensieb
- Schüttler (Bühler SM-30)
- UV/VIS Spektrometer (Perkin Elmer, Lambda 25; Genauigkeit: $\pm 0,005A$)
- HPLC-RI

3.2.6.2 Durchführung

Die Versuchsplanung wird an die Versuche für den thermo-chemischen Aufschluss angelehnt (Kapitel 2.3.1.). Substrat- und Wassermengen werden, ausgehend von 200 g Gesamtmenge, für 1%, 5,5% und 10% Trockensubstanz berechnet. Die Substrate Bagasse und Landschaftspflegematerial werden in Schikanekolben mit der entsprechenden Menge Wasser vermengt und auf einem Schüttler bei 150 U/min für eine Stunde geschüttelt. Der Inhalt wird anschließend durch ein Küchensieb gefiltert und das flüssige Extrakt für weitere Analysen aufgefangen.

Für die Extinktionsmessung wird das Extrakt direkt in Küvetten überführt (eventuell Verdünnung notwendig) und im UV/VIS Spektrometer bei einer Wellenlänge von 420 nm gemessen. Zucker und eventuell natürlich vorhandene thermische Nebenprodukte werden mittels HPLC-RI bestimmt. Die Durchführung und die Auswertung erfolgen wie in Kapitel 2.1.3. beschrieben. Bei der Berechnung der Konzentration der tNP fällt jedoch der Faktor h (gilt nur für Polysaccharide) weg.

3.3 Thermo-chemischer Aufschluss

Durch die Vorbehandlung der Substrate mit Schwefelsäure und hohen Temperaturen wird die Lignocellulose aufgeschlossen. Die dabei freigesetzte Cellulose und Hemicellulose wird teilweise zu Zuckern hydrolysiert. Während dieser Vorbehandlung findet die sogenannte Maillard-Reaktion statt. Die freien Zucker reagieren mit Aminosäuren und werden zu thermischen Nebenprodukten abgebaut. In weiterer Folge werden Melanoidine gebildet.

Die thermo-chemischen Aufschlüsse wurden mit den Substraten Bagasse und Landschaftspflegematerial, sowie dem Modellsubstrat durchgeführt.

3.3.1 Versuchsplanung und statistische Auswertung

3.3.1.1 Versuchsplanung

Für die Versuchsplanung müssen Einflussfaktoren und Zielgrößen definiert werden. Dies erfolgte vorab im Zuge des Projektes TherChem. Zielgrößen sind die Ergebnisse eines Versuches. Es wurden Zuckerkonzentration, Konzentration thermischer Nebenprodukte und Extinktion festgelegt. Die Einflussfaktoren sind Größen, welche die Zielgrößen beeinflussen. Ihre Werte werden variiert. Es ergibt sich ein sogenannter Werteraum (Tabelle 3). Der Einflussfaktor Trockensubstanz (TS) beschreibt den trockenen Anteil Probe in einem Versuchsgefäß und ist in dieser Arbeit definiert als

$$TS [\%] = \frac{TS [g]}{(Einwaage\ Substrat_{frisch} [g] + Einwaage\ H_2SO_4 [g])} * 100$$

$$TS [g] = Einwaage\ Substrat_{frisch} [g] * \frac{TM[\%]}{100}$$

Tabelle 3: Werteraum der Versuchsplanung

Einflussfaktoren	Einheit	Wertebereich
A: Temperatur	[°C]	120 - 160
B: TS	[%]	1 - 10
C: CH_2SO_4	[mmol/g TS]	0,15 - 0,75
D: Verweilzeit	[min]	15 - 30

Ein Screening des Versuchsplanes erfolgte vorab von Ching-Yun Wan im Zuge einer Masterarbeit (Wan 2014) und ergab, dass ein flächenzentrierter, zentral zusammengesetzter Versuchsplan für diesen Wertebereich am besten geeignet ist. In der vorliegenden Arbeit wird der Versuchsplan erweitert, um den Zusammenhang von Zuckerkonzentration und Bildung von tNP und Melanoidinen besser erkennbar zu machen. Zusätzlich zum flächenzentrierten, zentral zusammengesetzten Versuchsplan, werden weitere Kombinationen der Einflussfaktoren im Wertebereich ausgetestet. Tabelle 4 zeigt den Versuchsplan für die Substrate Bagasse und Landschaftspflegematerial. Dieser wird je für die Verweilzeit von 15 min und für 30 min durchgeführt. Die grau markierten Felder zeigen den flächenzentrierten, zentral zusammengesetzten Versuchsplan. Zur Vermeidung bzw. Auffindung systematischer Fehler wurden die Daten randomisiert.

Tabelle 4: Versuchsplan der Substrate Bagasse und Landschaftspflegematerial

VersNr.	Faktor 1 A: Temperatur [°C]	Faktor 2 B: TS [%]	Faktor 3 C: CH ₂ SO ₄ [mmol/g TS]
1	120	1	0,15
2	120	1	0,45
3	120	1	0,75
4	120	5,5	0,15
5	120	5,5	0,45
6	120	5,5	0,75
7	120	10	0,15
8	120	10	0,45
9	120	10	0,75
10	140	1	0,15
11	140	1	0,45
12	140	1	0,75
13	140	5,5	0,15
14	140	5,5	0,45
15	140	5,5	0,45
16	140	5,5	0,75
17	140	10	0,15
18	140	10	0,45
19	140	10	0,75
20	160	1	0,15
21	160	1	0,45
22	160	1	0,75
23	160	5,5	0,15
24	160	5,5	0,45
25	160	5,5	0,75
26	160	10	0,15
27	160	10	0,45
28	160	10	0,75

Der Versuchsplan für das Modellsubstrat ist in Tabelle 5 dargestellt. Dieser wird für eine Verweilzeit von 30 min durchgeführt. Zur Vermeidung bzw. Auffindung systematischer Fehler wurden die Daten randomisiert.

Tabelle 5: Versuchsplan des Modellsubstrates

VersNr.	Faktor 1 A: Temperatur [°C]	Faktor 2 B: TS [%]	Faktor 3 CH ₂ SO ₄ [mmol/g TS]
1	120	10	0,15
2	120	10	0,75
3	120	15	0,45
4	120	20	0,15
5	120	20	0,75
6	140	10	0,15
7	140	10	0,45
8	140	10	0,75
9	140	15	0,15
10	140	15	0,45
11	140	15	0,45
12	140	15	0,75
13	140	20	0,45
14	140	20	0,75
15	160	10	0,15
16	160	10	0,75
17	160	15	0,45
18	160	20	0,15
19	160	20	0,75
20	180	10	0,15
21	180	10	0,75
22	180	20	0,15
23	180	20	0,75
24	200	10	0,15
25	200	10	0,75
26	200	20	0,15
27	200	20	0,75

3.3.1.2 Auswertung

Aus den generierten Daten wird mittels „Design Expert[®] 8 Free Trial“ ein empirisches Modell erstellt, welches die Zusammenhänge von Einflussfaktoren und Zielgrößen quantitativ beschreibt. Die Voraussetzungen zur Beurteilung der Modelle sind Normalverteilung und Zufälligkeit der Residuen. Ist dies nicht gegeben, kann eine Transformation der Daten vorgenommen werden. Das Box Cox-Diagramm dient dabei als Entscheidungshilfe. Um einen Trend zu erkennen, werden die Residuen gegen die Versuchsnummer in einem

Wahrscheinlichkeitsnetz aufgetragen. Liegen die Werte näherungsweise auf einer Geraden, sind die Daten normalverteilt. (Kleppmann 2003)

Zur Beurteilung der Güte der Modellanpassung wird das adjustierte quadrierte Bestimmtheitsmaß (R^2) betrachtet. Der Wert soll sich 1 annähern. Da es hierfür jedoch keine exakte Güteskala gibt, wird ergänzend der p-Wert des Modells zur Beurteilung herangezogen. Dessen Wert soll kleiner als das Signifikanzniveau α ($= 0,05$) sein. Der p-Wert des „lack of fit“ (Mangel an Anpassung) soll zwischen α und 1 liegen. Der Einfluss der Einflussfaktoren auf die Zielgrößen wird mittels F-Wahrscheinlichkeit (p-Wert) bestimmt. Ist der Wert kleiner als α , liegt ein signifikanter Einfluss vor. Je höher der F-Wert, desto größer der Einfluss auf die Zielgröße. Es besteht auch die Möglichkeit, dass Wechselwirkungen zwischen zwei Einflussgrößen vorliegen. Das bedeutet, ändert sich der Wert des einen Faktors, ändert sich der Wert des Anderen ebenfalls. Ist der p-Wert der Wechselwirkung kleiner als α , ist diese signifikant. (Walser 2011)

Mit der Statistiksoftware Design Expert® 8 Free Trial werden alle Daten des Versuchsplanes der Substrate Bagasse und Landschaftspflegematerial statistisch ausgewertet, für das Modellsubstrat die Daten des flächenzentrierten, zentral zusammengesetzten Versuchsplanes.

Um den Zusammenhang von Zuckerkonzentration und Bildung von tNP und Melanoidinen besser erkennbar zu machen und zu verstehen, werden alle drei Zielgrößen in einem Diagramm dargestellt. Diese Diagramme werden mit dem Programm Microsoft Excel 2007 Excel erstellt.

3.3.2 Mikrowellenaufschluss

Der Hochdruckmikrowellenautoklav dient zur Einstellung der gewünschten Temperaturen, die für die Aufschlüsse benötigt werden.

3.3.2.1 Material und Geräte

- Mikrowelle: UltraCLAVE, Hochdruckmikrowellenautoklav (Mikrowellenlaborsysteme)
- Software: easyCLAVE 5
- Teflongefäße mit Rondell
- Teflontopf

- Laborwaagen (SCALTEC SBA41 Max 320 g; d = 0,001 g; Sartorius GP 6100-G Max 6100 g; d = 0,1 g)
- Schwefelsäure 0,5 M (1N) FIXANAL (Riedel-de-Haen)
- Last zum Wärmeübertrag
 - ◆ 320 mL H₂O
 - ◆ 30 mL H₂O₂
 - ◆ 5 mL H₂SO₄ (98 %)

3.3.2.2 Durchführung

Jedes Substrat wird in Vierfachbestimmung analysiert.

Herstellung der Schwefelsäurelösungen

Für die Versuche werden durch entsprechendes Verdünnen einer 0,5 M Schwefelsäure, Lösungen in neun unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt.

Aufschluss

Die berechnete Probenmenge wird in ein Teflongefäß eingewogen, die entsprechende Schwefelsäure zugegeben (Substrat muss vollständig bedeckt sein) und mit einem Teflondeckel verschlossen. Der Teflontopf wird mit ca. 350 ml Last befüllt. Mit dem Starten des Softwareprogrammes EasyCLAVE 5 erfolgt die Vorbehandlung unter Druck in einem abgedichteten Hochdruckmikrowellenautoklav. Abbildung 14 zeigt ein beispielhaftes Vorbehandlungsprofil, welches aus einer Aufwärmphase, der Verweilzeit und einer Abkühlphase besteht. Nach Beenden des Profils werden die Proben bis zur weiteren Analyse in einen 4 °C-Kühlraum gelagert.

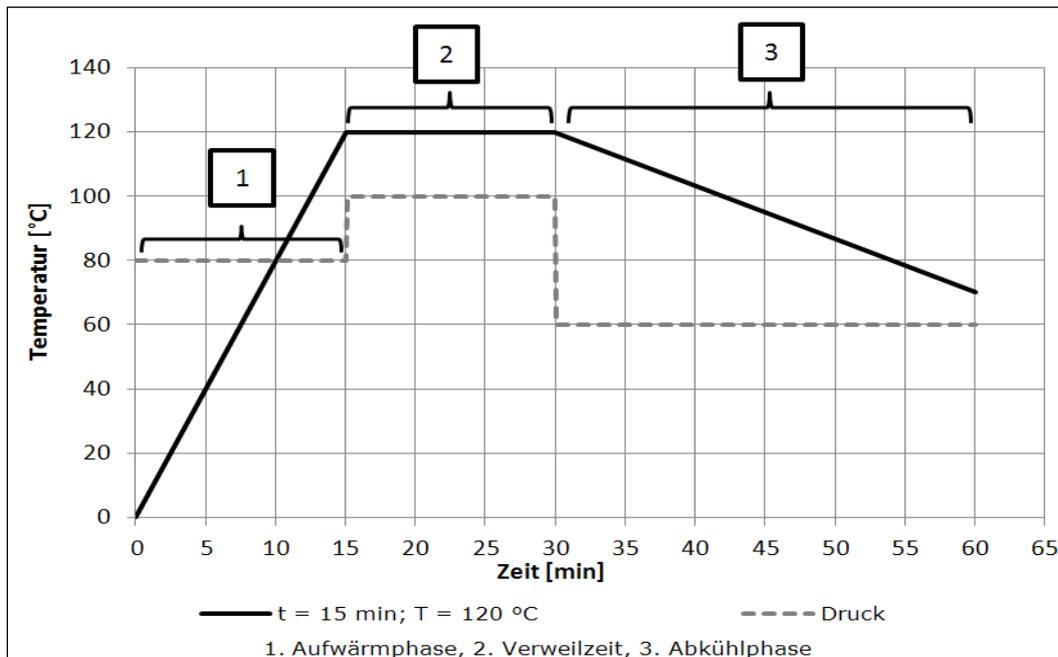


Abbildung 14: Beispielhafte Darstellung eines Temperatur-Zeit-Profiles für einen Mikrowellenaufschluss

3.3.3 Bestimmung der Zucker und thermischer Nebenprodukte mittels HPLC-RI

3.3.3.1 Durchführung

Die gekühlten Proben werden auf Raumtemperatur gebracht, zentrifugiert und der Überstand für die Analyse herangezogen. Die Bestimmung der Zuckerkonzentration und der thermischen Nebenprodukte erfolgt wie in Kapitel 2.1.3 beschrieben.

3.3.3.2 Auswertung

Die Disaccharide Maltose und Cellobiose können aufgrund eines hohen Hintergrundrauschens zum Zeitpunkt der Elution nicht eindeutig identifiziert und quantifiziert werden. Ausgewertet werden nur die Monosaccharide.

$$\text{Zucker oder tNP [g/100 g TS]} = \frac{c_{\text{HPLC}}}{1000} * V_{\text{Hydrolyse}} * 100$$

c_{HPLC} Zuckerkonzentration oder Konzentration thermischer Nebenprodukte in der HPLC-Probe [mg/l]

$V_{\text{Hydrolyse}}$ Flüssigkeitsvolumen der Hydrolyse

EW Einwaage Substrat [g]

3.3.4 Extinktionsmessung zum Nachweis der Bildung von Melanoidinen

Melanoidine sind braun. Diese Farbe absorbiert Licht bei einer Wellenlänge von etwa 420 bis 490 nm. Für die photometrische Bestimmung der Melanoidine wird eine Wellenlänge von 420 nm gewählt und die Bräunungsintensität mittels Messung der Extinktion bestimmt.

3.3.4.1 Material und Geräte

- Kolbenhubpipetten (100-1000 µL) mit Spitzen
- Mikroküvetten
- UV/VIS Spektrometer (Perkin Elmer, Lambda 25; Genauigkeit: ± 0,005A)

3.3.4.2 Durchführung

Die gekühlten Proben werden auf Raumtemperatur gebracht, zentrifugiert und der Überstand in die Mikroküvetten überführt. Die Probelösungen werden im UV/VIS Spektrometer bei einer Wellenlänge von 420 nm gemessen. Liegt der Extinktionswert über 0,9 wird eine Verdünnung der Probe gemessen.

3.3.4.3 Auswertung

Um einen Vergleich zu ermöglichen, wie die Einflussgrößen die Bildung der Melanoidine beeinflussen, muss die gemessene Extinktion auf die Menge der Probe bezogen werden. Da sich die Extinktion mit dem Flüssigkeitsvolumen ändert, wird diese ebenfalls in der Berechnung berücksichtigt. In dieser Arbeit wird als Extinktion die berechnete Extinktion bezeichnet.

$$E_{berechnet} = \frac{E_{gemessen} * V_{Hydrolyse}}{EW} * 100$$

$E_{gemessen}$	Extinktion
cHPLC	Zuckerkonzentration in der HPLC-Probe [mg/l]
$V_{Hydrolyse}$	Flüssigkeitsvolumen der Hydrolyse
EW	Einwaage Substrat [g]

4. Ergebnisse

4.1 Aufbau Modellsubstrat

Im Zuge der Substratcharakterisierung wurden die Anteile der Hauptkomponenten Cellulose und Hemicellulose, Lignin und Protein (Gesamtstickstoff abzüglich Ammoniumstickstoff) bestimmt. Da die Substrate inhomogen sind, ist die genaue Zusammensetzung in einem Reaktionsgefäß nicht bekannt. Daraus ergeben sich Unsicherheiten in der Interpretation der Ergebnisse. Um die Vorgänge der Maillard-Reaktion (MR) genauer zu untersuchen, wurde ein homogenes Modellsubstrat mit genau bekannter Zusammensetzung und ohne Störstoffe erstellt.

Das Modellsubstrat war den organischen Substraten nachempfunden. Für die Komponenten Hemicellulose und Protein wurden Ersatzsubstanzen herangezogen. Als Hauptbestandteil der Hemicellulose wurde das Polysaccharid Xylan gewählt, für die Komponente Protein das pflanzliche Gluten. Lignin wurde nicht berücksichtigt. Die Zusammensetzung zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6: Zusammensetzung des Modellsubstrates

Hauptkomponente	Ersatzsubstanz
Cellulose	Cellulosepulver MN 100 (Macherey-Nagel)
Hemicellulose	Xylan aus Buchenholz (Roth)
Protein	Gluten, 80% Protein (Roth)

Die Mengen der einzelnen Substanzen wurden an jene der Substratcharakterisierung angelehnt. Die Ergebnisse der Substratcharakterisierung sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Die Werte (außer die TM) beziehen sich jeweils auf die trockenen Proben.

Tabelle 7: Ergebnisse der Substratcharakterisierung

Substrat	TM [%]	oTS [%]	Cellulose [%]	Hemicellulose [%]	Lignin [%]	NH ₄ -N [%]	TKN [%]
BT* Ottakringer 09	20,5 ± 0,06	19,7 ± 0,18	18,5 ± 0,43	24,1 ± 0,20	19,8 ± 0,34	0,38 ± 0,004	3,6 ± 0,09
BT* Ottakringer 12	19,9 ± 0,34	18,9 ± 0,32	19,0 ± 0,48	22,9 ± 0,30	19,3 ± 0,56	0,58 ± 0,008	3,7 ± 0,07
BT* Weißbier	22,9 ± 0,02	21,9 ± 0,03	17,2 ± 0,58	18,3 ± 0,64	17,1 ± 0,14	1,10 ± 0,148	5,0 ± 0,08

Substrat	TM [%]	oTS [%]	Cellulose [%]	Hemicellulose [%]	Lignin [%]	NH ₄ -N [%]	TKN [%]
BT* Wieselburger	20,5 ± 0,15	19,1 ± 0,13	18,2 ± 0,70	20,7 ± 0,33	17,9 ± 0,22	0,46 ± 0,017	4,0 ± 0,09
Bagasse	93,1 ± 0,20	89,1 ± 0,11	40,2 ± 0,30	21,0 ± 0,18	23,2 ± 0,42	0,04 ± 0,002	0,3 ± 0,03
Maisstroh	91,7 ± 0,65	87,5 ± 0,27	40,2 ± 2,83	21,6 ± 1,26	17,8 ± 0,03	0,06 ± 0,006	0,5 ± 0,01
Weizenstroh	93,4 ± 0,42	90,1 ± 0,36	37,6 ± 1,56	21,9 ± 0,85	24,3 ± 1,08	0,05 ± 0,005	0,6 ± 0,02
LPM**	31,0 ± 0,95	26,0 ± 0,89	21,4 ± 1,02	9,6 ± 0,40	29,1 ± 0,80	0,25 ± 0,010	2,3 ± 0,02

* Biertreber

**Landschaftspflegematerial

Aus diesen Daten wurden die zwei Verhältnisse Polysaccharide/Protein und Cellulose/Hemicellulose von jedem Substrat berechnet und für die Zusammensetzung des Modellsubstrates herangezogen. Es wurden die Verhältnisse 15:1 (Polysaccharide/Protein) und 2:1 (Cellulose/Hemicellulose) gewählt. Tabelle 8 zeigt die einzelnen Ergebnisse. Der Anteil an Polysacchariden ist die Summe aus Cellulose und Hemicellulose. Da der durchschnittliche Stickstoffgehalt einer Probe bei etwa 16% liegt, wurde für die Berechnung des Proteingehaltes der organischen Stickstoffanteil mit dem Umrechnungsfaktors 6,25 ($N \cdot 100 / 16$) multipliziert. Die Werte der Substratcharakterisierung wurden gerundet und die Daten der einzelnen Biertreber, sowie die Daten der beiden Strohsorten zusammengefasst.

Tabelle 8: Parameter zur Erstellung des Modellsubstrates

	Biertreber	Bagasse	LPM	Stroh	Modell
Cellulose [%]	20	40	20	40	63
Hemicellulose [%]	20	20	10	20	31
Protein [%]	22	2	13	3	6
Polysaccharide/Protein	2:1	30:1	2:1	20:1	15:1
Cellulose/Hemicellulose	1:1	2:1	2:1	2:1	2:1

4.2 Thermo-chemische Vorbehandlung

4.2.1 Konzentrationsverlauf mit der Temperatur

Im Zuge der Maillard-Reaktion werden die während der thermo-chemischen Vorbehandlung freigesetzten Zucker zu thermischen Nebenprodukten (tNP) abgebaut und im weiteren Verlauf braune Melanoidine gebildet. Dies hat den Verlust von freien Zuckern zur Folge. Dieses Kapitel zeigt den Zusammenhang der Zielgrößen Zuckerkonzentration, Konzentration von tNP und Extinktion. Es wird der Verlauf mit steigender Temperatur dargestellt, sowie der Einfluss der Faktoren Temperatur, Säurekonzentration, Trockensubstanz (TS) und Verweilzeit auf den Verlauf.

Modellsubstrat

Thermo-chemische Vorbehandlungen wurden mit dem Modellsubstrat in einem Temperaturbereich von 120 bis 200 °C und einer Dauer von 30 min. durchgeführt.

Der Einfluss der TS wird in Abbildung 15 dargestellt. Ein Anstieg der TS auf 20% führt ab 160 °C zu einer deutlich erhöhten Bildung von Melanoidinen. Folglich sinkt auch die Konzentration freier Zucker stärker. Die Konzentration der tNP ist bei beiden TS nahezu ident.

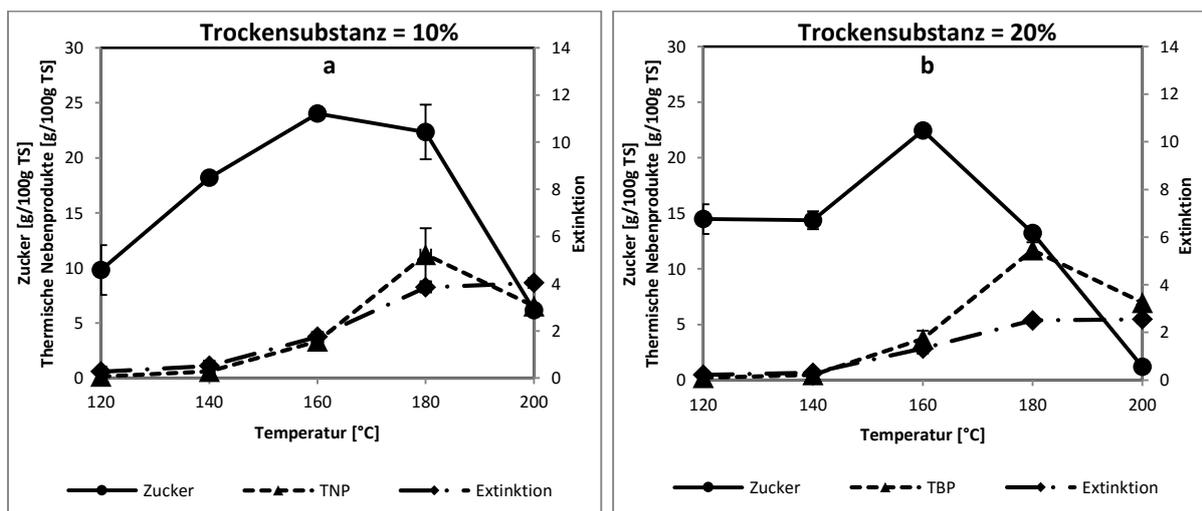


Abbildung 15: Einfluss der Trockensubstanz auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für das Modellsubstrat; $c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,75 \text{ mmol/g TS}$

Ein Anstieg der Säurekonzentration führt zu einer Erhöhung der Zuckerausbeute (Abbildung 16). Bei einer geringeren Säurekonzentration von 0,15 mmol/g TS ist die Konzentration der freien Zucker über den gesamten Temperaturverlauf wesentlich geringer. Da auch weniger tNP und Melanoidine gebildet werden, ist anzunehmen, dass die Polysaccharide Cellulose und Xylan schlechter aufgeschlossen werden.

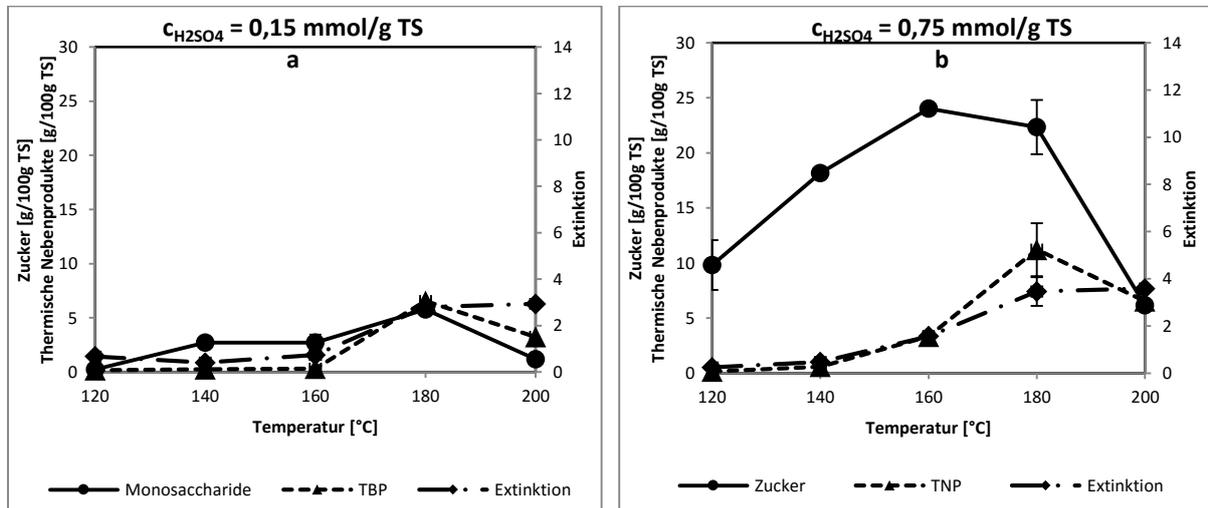


Abbildung 16: Einfluss der Säurekonzentration auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für das Modells substrat; TS = 10%

Bagasse

Das Substrat Bagasse wurde in einem Temperaturbereich von 120 bis 160 °C für 15 und 30 min thermo-chemisch aufgeschlossen.

Der Einfluss der Trockensubstanz (TS) auf die Zielgrößen ist bei einer höheren Säurekonzentration von 0,75 mmol/g TS deutlich stärker als bei einer geringeren Säurekonzentration von 0,15 mmol/g TS (Abbildung 17). Bei einer geringeren Säurekonzentration führt eine Erhöhung der TS zu einer erhöhten Zuckerausbeute bei 160 °C. Die Konzentration der tNP und die Werte der Extinktion werden durch die TS nicht beeinflusst (Abbildung 17 a-c). Bei einer höheren Säurekonzentration steigt die Zuckerausbeute mit Erhöhung der TS bereits bei 120 °C. (Abbildung 17 d-f). Bei einer TS von 10% werden ab 140 °C mehr tNP gebildet und die Konzentration freier Zucker sinkt wieder.

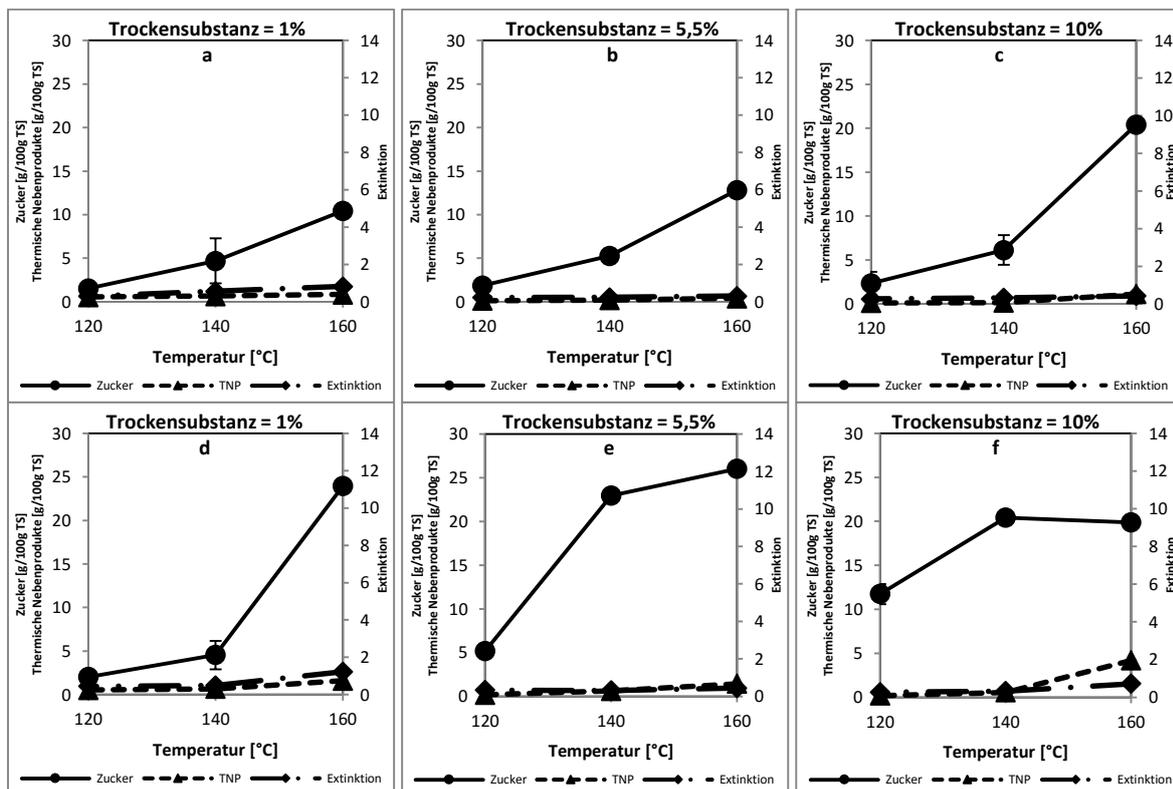


Abbildung 17: Einfluss der Trockensubstanz auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Bagasse; Verweilzeit: 30 min; Grafik a-c: $\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,15 \text{ mmol/g TS}$, Grafik d-f: $\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,75 \text{ mmol/g TS}$

Ein Ansteigen der Säurekonzentration führt zu einer erhöhten Konzentration freier Zucker. Bei einer geringen TS von 1% (Abbildung 18 a-c) werden erst bei einer Temperatur von 160 °C mehr Zucker freigesetzt, bei einer TS von 10% (Abbildung 18 d-f) bereits bei 120 °C. Die Konzentrationen der tNP und die Extinktion steigen ab 140 °C. Bei einer TS von 10% und einer Säurekonzentration von 0,75 mmol/g TS führt dies zu einem leichten Absinken der Zuckerkonzentration.

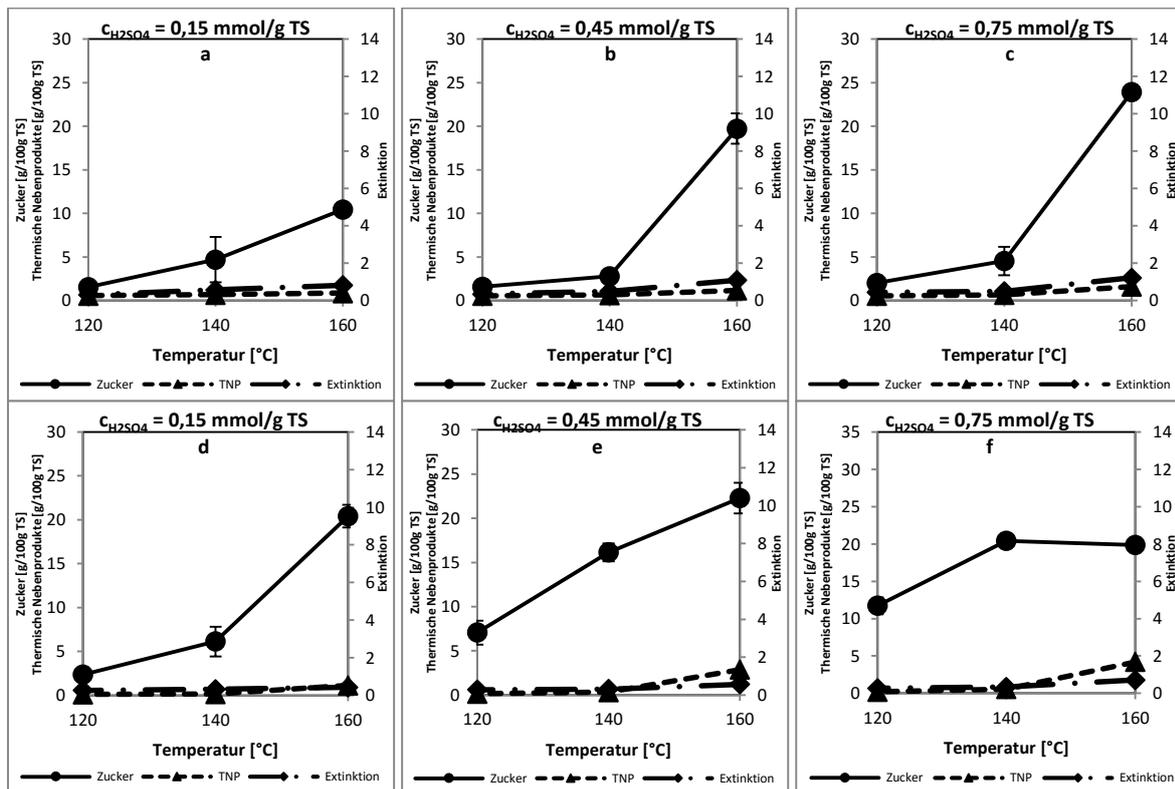


Abbildung 18: Einfluss der Säurekonzentration auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Bagasse; Verweilzeit: 30 min; Grafik a-c: TS = 1%, Grafik d-f: TS = 10%

Die Verweilzeit hat bei einer Temperatur von 160 °C den stärksten Einfluss (Abbildung 19). Bei einer geringeren Säurekonzentration von 0,15 mmol/g TS werden bei 160 °C deutlich mehr freie Zucker nach 30 minütiger Vorbehandlung freigesetzt als bei 15 min (Abbildung 19 a-b). Bei einer erhöhten Säurekonzentration von 0,75 mmol/g TS (Abbildung 19 c-d) führt die Verlängerung der Verweilzeit auf 30 min bei 160 °C zu einer Zunahme der tNP und der Extinktion. Dies hat eine geringere Zuckerausbeute zur Folge.

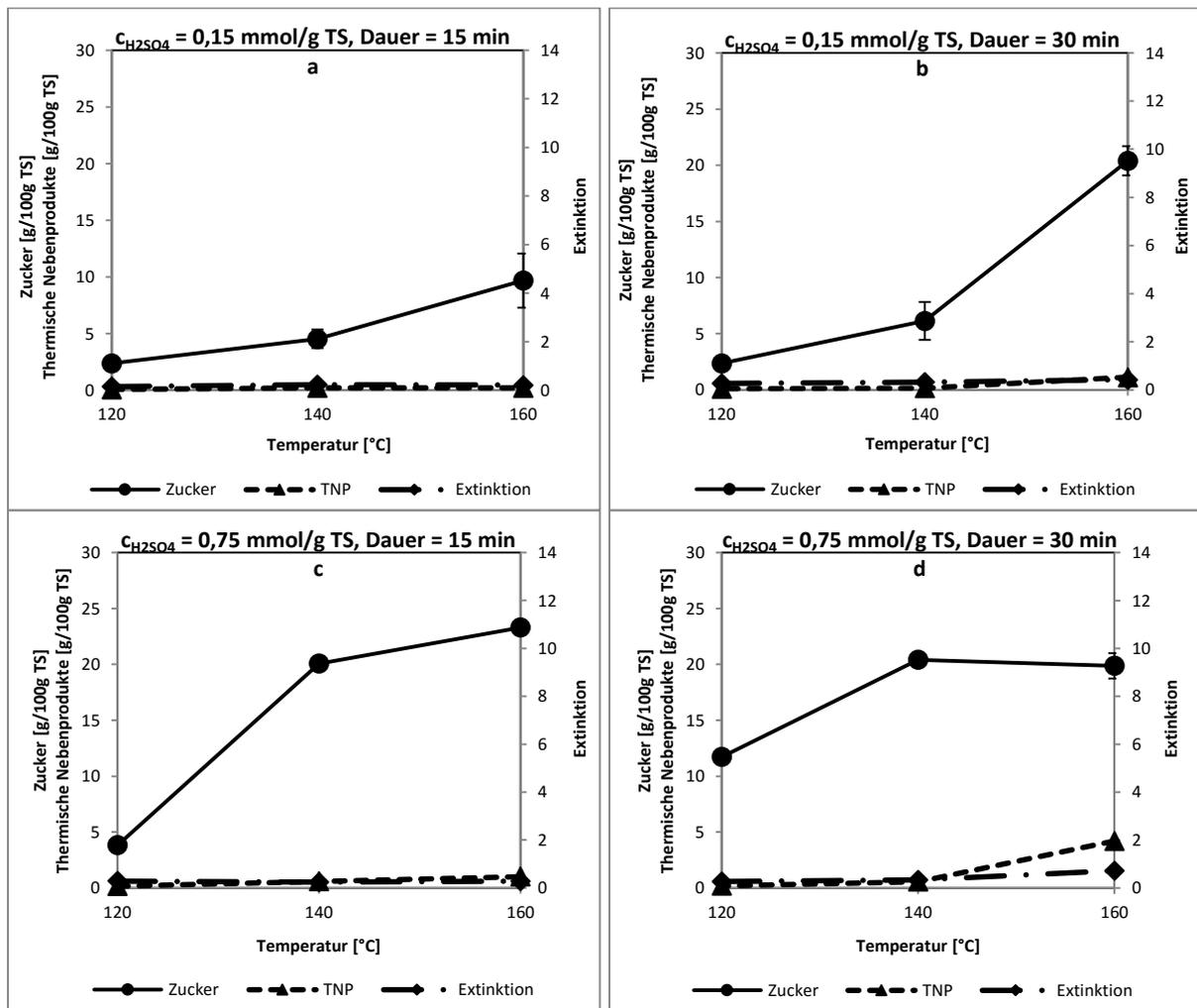


Abbildung 19: Einfluss der Verweildauer auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Bagasse; TS = 10%

Landschaftspflegematerial

Das Substrat Landschaftspflegematerial wurde in einem Temperaturbereich von 120 bis 160 °C für 15 und 30 min thermo-chemisch aufgeschlossen.

Die Trockensubstanz (TS) hat starken Einfluss auf die Bildung der Melanoidine (Abbildung 20). Bei einer geringeren Säurekonzentration von 0,15 mmol/g TS ist ein deutliches Absinken der Extinktion bei Erhöhung der TS erkennbar. Mit dem Ansteigen der Temperatur werden freie Zucker vermehrt zu Melanoidinen abgebaut. Die Extinktion steigt mit der Temperatur, während die Zuckerkonzentration sinkt (Abbildung 20 a-c). Bei einer höheren Säurekonzentration von 0,75 mmol/g TS werden deutlich weniger Melanoidine gebildet. Im Vergleich zur geringeren Säurekonzentration ist der Einfluss der TS geringer (Abbildung 20 d-f). Freie Zucker und tNP sind nur in geringen Konzentrationen vorhanden.

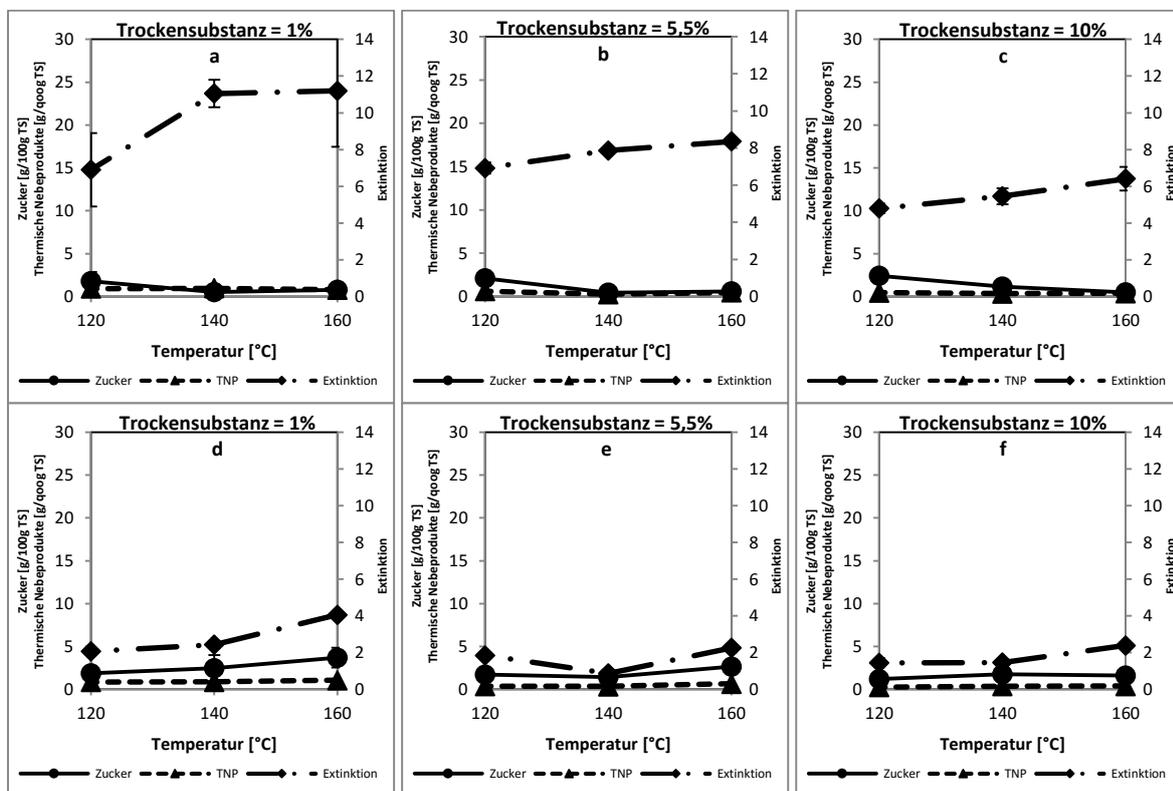


Abbildung 20: Einfluss der Trockensubstanz auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Landschaftspflegematerial; Verweilzeit: 30 min; Grafik a-c: $\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,15$ mmol/g TS, Grafik d-f: $\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,75$ mmol/g TS

Eine Erhöhung der Säurekonzentration führt zu einer geringeren Bildung von Melanoidinen (Abbildung 21). Die Konzentration der tNP bleibt nahezu unverändert.

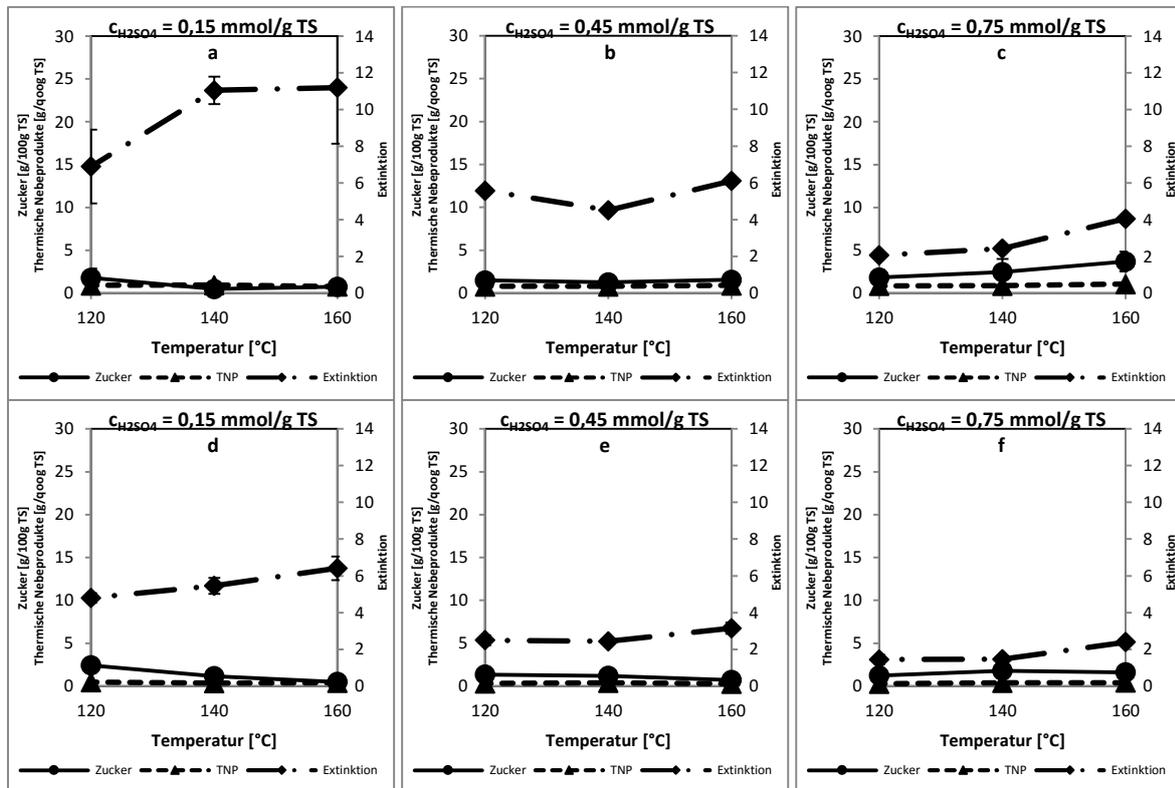


Abbildung 21: Einfluss der Säurekonzentration auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Landschaftspflegematerial; Verweilzeit: 30 min; Grafik a-c: TS = 1%, Grafik d-f: TS = 10%

Die Verweilzeit hat nur geringen Einfluss auf den Temperaturverlauf (Abbildung 22).

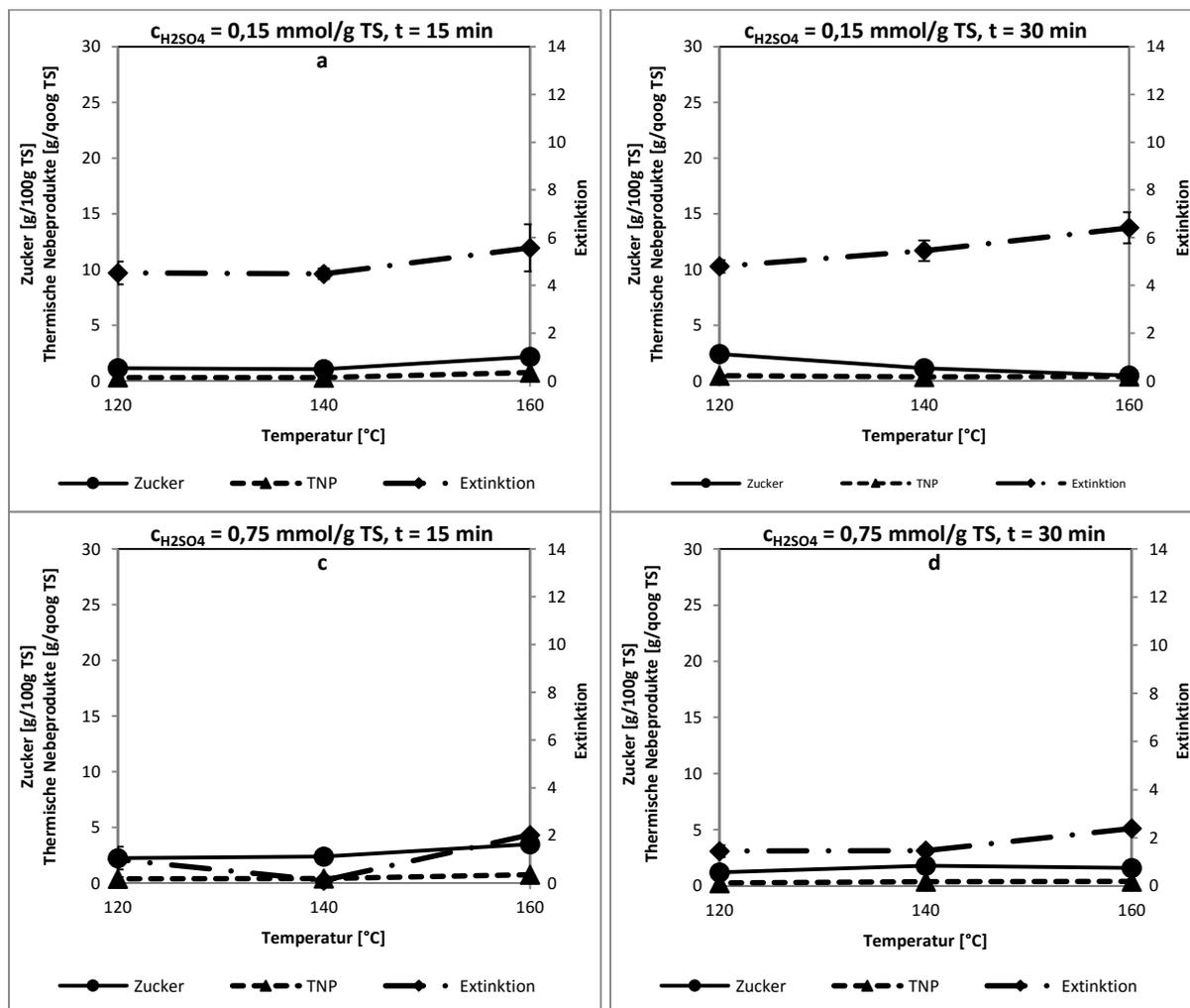


Abbildung 22: Einfluss der Verweildauer auf die Bildung freier Zucker, thermischer Nebenprodukte und der Extinktion über den Temperaturverlauf für Landschaftspflegematerial; TS = 10%

4.2.2 Einflüsse auf die Zuckerausbeute

Die statistische Auswertung der Daten mit dem Programm Design Expert[®] 8 Free Trial zeigt die Korrelation der Einflussfaktoren mit der Zielgröße Zuckerkonzentration. Basierend auf den gemessenen Daten wurden mathematische Simulationsmodelle erstellt.

Modellsubstrat

Die Daten wurden transformiert und erfüllen die statistischen Bedingungen. Der F-Test der Einflussparameter zeigt, dass die Säurekonzentration den größten Einfluss auf die Zuckerkonzentration hat. Die TS hat keinen signifikanten Einfluss (Tabelle 9).

Tabelle 9: Statistische Daten des Modells der Zuckerkonzentration für das Modellsubstrat

		30 min	
Transformation		Quadratwurzel ($y'=\sqrt{y}$)	
mathematisches Modell		linear	
R ²		0,9182	
adjustiertes R ²		0,8978	
prognostiziertes R ²		0,8658	
adequate Genauigkeit		20,4860	
p-Wert (Modell)		< 0,0001	
p-Wert (lack of fit)		0,0425	
STABW		0,42	
Mittelwert		2,83	
C.V. %		14,85	
PRESS		3,47	
ANOVA der Einflussparameter		F-Wert	p-Wert
Modell		44,90	< 0,0001
A-Temperatur		16,03	0,0017
B-TS		1,92	0,1908
C-c H2SO4		116,75	< 0,0001

Der große Einfluss der Säurekonzentration wird in der grafischen Darstellung durch die starke Steigung der Zuckerkonzentration deutlich (Abbildung 23). Es ist eine Wechselwirkung zwischen Temperatur und Säurekonzentration erkennbar. Bei einem Anstieg der Temperatur nimmt der Einfluss der Säurekonzentration zu. Die höchste Zuckerkonzentration wird bei 160 °C und einer Säurekonzentration von 0,75 mmol/g TS erreicht.

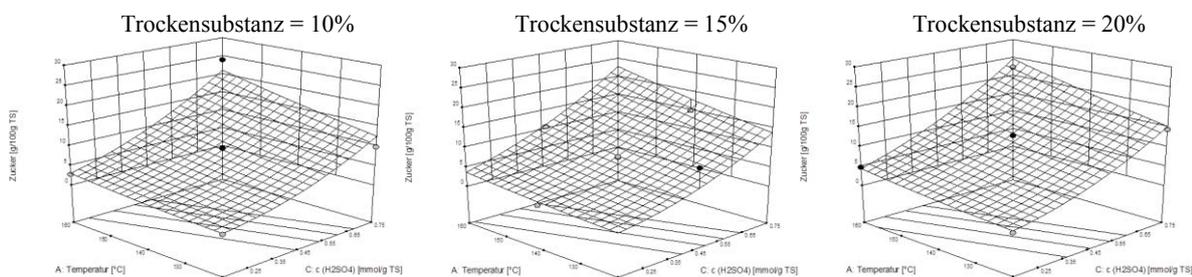


Abbildung 23: Einflüsse auf die Zuckerkonzentration für das Modellsubstrat; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenslänge: 120-160; y-Achse: Zucker [g/100g TS], Skalenslänge: 0-30; z-Achse: c_{H2SO4} [mmol/g TS], Skalenslänge: 0,15-0,75

Bagasse

Die Daten wurden transformiert und erfüllen die statistischen Bedingungen. Der F-Test der Einflussparameter zeigt, dass alle drei Einflussparameter signifikanten Einfluss auf die Zuckerkonzentration haben. Den größten Einfluss hat die Temperatur (Tabelle 10).

Tabelle 10: Statistische Daten des Modells der Zuckerkonzentration für Bagasse

	15 min		30 min	
Transformation	nat. log ($y' = \log 10(y+k)$)		Quadratwurzel ($y' = \sqrt{y}$)	
mathematisches Modell	linear		linear	
R ²	0,8107		0,8256	
adjustiertes R ²	0,7971		0,8038	
prognostiziertes R ²	0,7479		0,7701	
adequate Genauigkeit	21,4350		21,2650	
p-Wert (Modell)	< 0,0001		< 0,0001	
p-Wert (lack of fit)	0,1163		0,0954	
STABW	0,40		0,60	
Mittelwert	1,71		3,18	
C.V. %	23,19		18,85	
PRESS	5,28		11,38	
ANOVA der Einflussparameter	F-Wert	p-Wert	F-Wert	p-Wert
Modell	36,36	< 0,0001	37,87	< 0,0001
A-Temperatur	70,19	< 0,0001	81,29	< 0,0001
B-TS	17,47	0,0003	15,01	0,0007
C-c H ₂ SO ₄	21,43	0,0001	17,30	0,0004

Der große Einfluss der Temperatur ist in der grafischen Darstellung der Modelle erkennbar (Abbildung 24). Die Steigung der Zuckerkonzentration ist bei einem Anstieg der Temperatur am größten. Der Einfluss der Säurekonzentration ist geringer, nimmt aber mit steigender Temperatur zu. Es liegt eine Wechselwirkung der beiden Parameter vor. Die TS hat den geringsten Einfluss. Beim Vergleich von 15 und 30 min zeigt sich, dass ab einer TS von 5,5%, bei Temperaturen unter 160 °C der Zeitfaktor wichtig ist. Die Zuckerkonzentrationen sind bei einer längeren Verweilzeit höher. Der Vergleich zeigt ebenfalls, dass die Wechselwirkung von Temperatur und Säurekonzentration bei 15 min stärker ist, ebenso der Einfluss der TS. Die höchste Zuckerkonzentration liegt bei einer Temperatur von 160 °C, einer Säurekonzentration von 0,75 mmol/g TS, einer TS von 5,5% und einer Verweilzeit von 15 min vor.

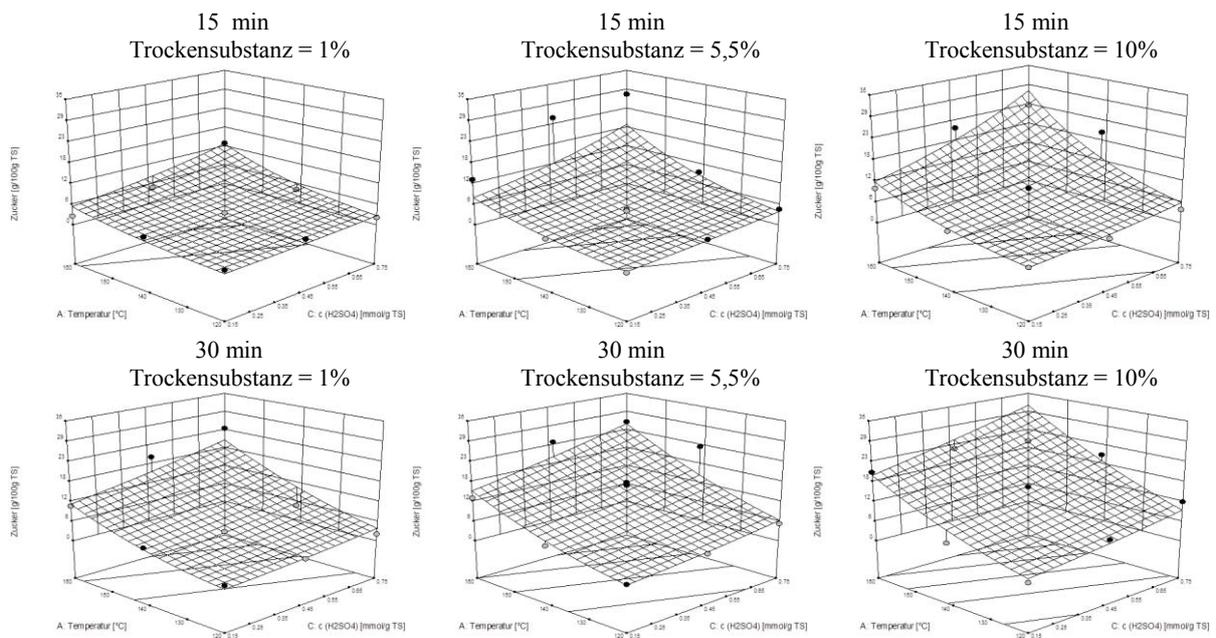


Abbildung 24: Einflüsse auf die Zuckerkonzentration für Bagasse; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Zucker [g/100g TS], Skalenlänge: 0-30; z-Achse: CH_2SO_4 [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75

Landschaftspflegematerial

Die Daten erfüllen die statistischen Bedingungen. Die Auswertung von 15 minütigen Aufschlüssen zeigt, dass nur die Säurekonzentration signifikanten Einfluss auf die Zuckerkonzentration hat. Bei einer Verweildauer von 30 min liegt zusätzlich ein signifikanter Einfluss der Temperatur sowie Wechselwirkungen der einzelnen Einflussparameter vor. Am bedeutendsten ist die Wechselwirkung zwischen Temperatur und Säurekonzentration (Tabelle 11).

Tabelle 11: Statistische Daten des Modells der Zuckerkonzentration für Landschaftspflegematerial

	15 min		30 min	
Transformation	keine ($y'=y$)		Quadratwurzel ($y'=\sqrt{y}$)	
mathematisches Modell	linear		quadratisch	
R^2	0,5998		0,8419	
adjustiertes R^2	0,5497		0,7628	
prognostiziertes R^2	0,4305		0,6255	
adequate Genauigkeit	11,3740		12,8720	
p-Wert (Modell)	< 0,0001		0,0055	
p-Wert (lack of fit)	0,1847		0,863	
STABW	0,42		0,16	
Mittelwert	1,78		1,18	
C.V. %	23,74		13,38	
PRESS	6,10		1,07	
ANOVA der Einflussparameter	F-Wert	p-Wert	F-Wert	p-Wert
Modell	11,99	< 0,0001	10,65	< 0,0001
A-Temperatur	3,23	0,0848	7,38	0,0141

	15 min		30 min	
B-TS	3,76	0,0643	3,81	0,0668
C-c H2SO4	28,79	< 0,0001	34,77	< 0,0001
AB	-	-	4,27	0,0535
AC	-	-	23,53	0,0001
BC	-	-	7,87	0,0117
A ²	-	-	9,04	0,0076
B ²	-	-	0,01	0,9233
C ²	-	-	4,16	0,0563

Der Einfluss der Säurekonzentration auf die Zuckerausbeute ist in Abbildung 25 erkennbar. Die Konzentration freier Zucker nimmt mit steigender Säurekonzentration zu. Wie bereits aus den statistischen Daten hervorgegangen, hat bei einer Verweilzeit von 30 min auch die Temperatur Einfluss auf die Zuckerkonzentration. Im Vergleich zu 15 min sinkt die Zuckerkonzentration bei einer Säurekonzentration von 0,15 mmol/g TS mit der Temperatur. Die TS hat nach statistischer Auswertung keinen signifikanten Einfluss auf die Zuckerausbeute. In der grafischen Darstellung ist jedoch bei einer Verweilzeit von 30 min ein Absinken der Zuckerkonzentration bei 160 °C mit Erhöhung der TS erkennbar. Die höchste Zuckerkonzentration wird bei 160 °C, einer Säurekonzentration von 0,75 mmol/g TS, einer TS von 1% und einer Verweildauer von 30 min erreicht.

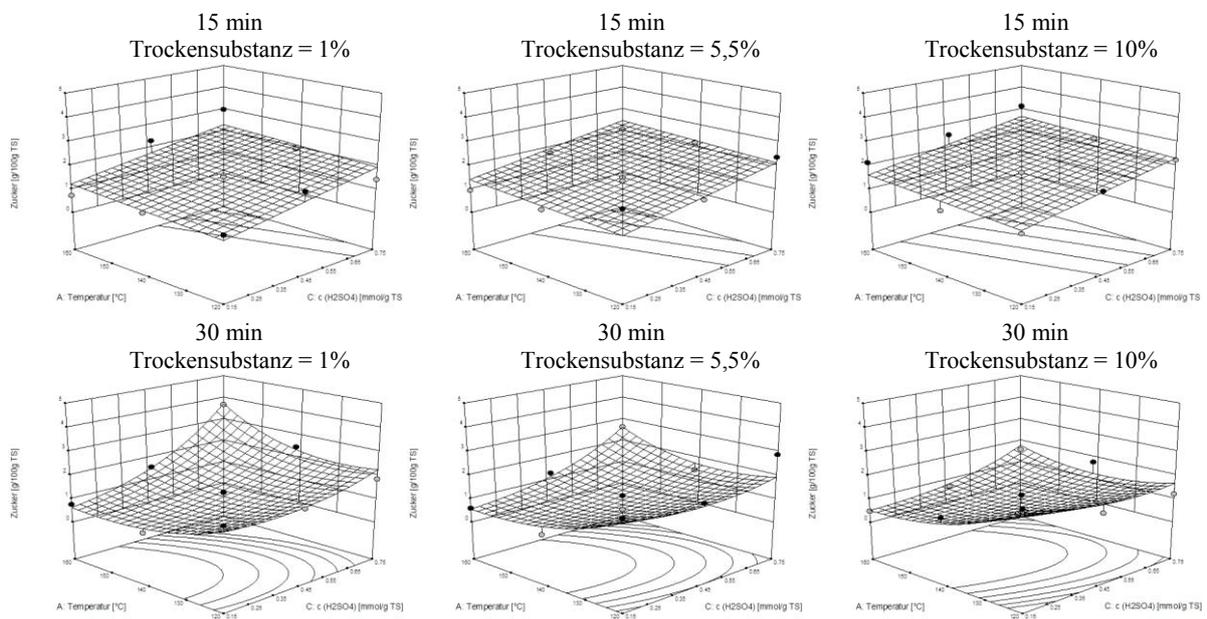


Abbildung 25: Einflüsse auf die Zuckerkonzentration für Landschaftspflegematerial; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Zucker [g/100g TS], Skalenlänge: 0-5; z-Achse: CH_2SO_4 [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75

4.2.3 Einflüsse auf die Bildung thermischer Nebenprodukte

Die statistische Auswertung der Daten mit dem Programm Design Expert® 8 Free Trial zeigt die Korrelation der Einflussfaktoren mit der Zielgröße Konzentration thermischer Nebenprodukte. Basierend auf den gemessenen Daten wurden mathematische Simulationsmodelle erstellt.

Modellsubstrat

Die Daten wurden transformiert und erfüllen die statistischen Bedingungen. Der Faktor Temperatur hat den bedeutendsten Einfluss auf die Bildung der tNP. Die TS hat keinen signifikanten Einfluss. Der Test zeigt ebenfalls, dass eine starke Wechselwirkung zwischen Temperatur und Säurekonzentration vorliegt (Tabelle 12).

Tabelle 12: Statistische Daten des Modells der Konzentration thermischer Nebenprodukte vom Modellsubstrat

		30 min	
Transformation		nat. log ($y' = \ln(y+k)$)	
mathemat. Modell		quadratisch	
R ²		0,9470	
adj R ²		0,8675	
prog R ²		0,5799	
adeq Genauigkeit		10,7380	
p-Wert (Modell)		0,0362	
p-Wert (lack of fit)		0,1284	
STABW		0,41	
Mittelwert		-1,06	
C.V. %		38,32	
PRESS		7,85	
ANOVA der Einflussparameter		F-Wert	p-Wert
Modell		11,92	0,0035
A-Temperatur		7,84	0,0339
B-TS		0,29	0,6068
C-c H2SO4		3,85	0,0975
AB		0,45	0,5258
AC		10,24	0,0186
BC		0,07	0,7973
A ²		8,13	0,0291
B ²		0,13	0,7281
C ²		1,55	0,2595

Die grafische Darstellung der Daten verdeutlicht die Wechselwirkung von Temperatur und Säurekonzentration. Bei der höchsten getesteten Säurekonzentration von 0,75 mmol/g TS und der höchsten Temperatur von 160 °C nimmt die Konzentration thermischer Nebenprodukte stark zu und erreicht hier ihr Maximum (Abbildung 26).

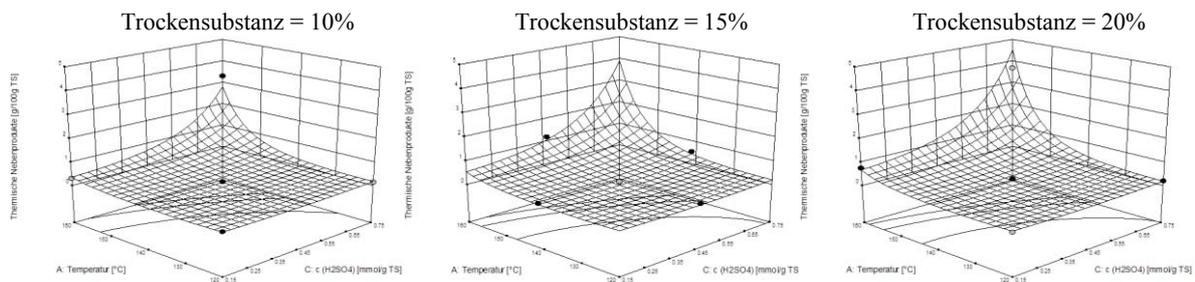


Abbildung 26: Einflüsse auf die Konzentration thermischer Nebenprodukte für das Modellsubstrat; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: thermische Nebenprodukte [g/100g TS], Skalenlänge: 0-5; z-Achse: $\text{c}_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75

Bagasse

Die Daten wurden transformiert und erfüllen die statistischen Bedingungen. Alle drei Einflussgrößen haben signifikanten Einfluss auf die Konzentration der tNP. Den größten Einfluss hat die Temperatur. Zwischen allen drei Einflussgrößen liegen Wechselwirkungen vor. Am bedeutendsten ist die Wechselwirkung zwischen Temperatur und Säurekonzentration (Tabelle 13).

Tabelle 13: Statistische Daten des Modells der Konzentration thermischer Nebenprodukte von Bagasse

	15 min		30 min	
Transformation	inverse Quadratwurzel ($y' = 1/\sqrt{y}$)		natürlicher log ($y' = \ln y$)	
mathematisches Modell	2FI		quadratisch	
R^2	0,7665		0,9677	
adjustiertes R^2	0,6998		0,9516	
prognostiziertes R^2	0,6636		0,9241	
adequate Genauigkeit	12,7140		31,3680	
p-Wert (Modell)	0,0001		< 0,0001	
p-Wert (lack of fit)	0,2388		0,1401	
STABW	0,40		0,21	
Mittelwert	1,71		-0,71	
C.V. %	23,34		29,43	
PRESS	4,80		1,83	
ANOVA der Einflussparameter	F-Wert	p-Wert	F-Wert	p-Wert
Modell	36,36	< 0,0001	59,98	< 0,0001
A-Temperatur	70,19	< 0,0001	316,91	< 0,0001
B-TS	17,47	0,0003	21,57	0,0002
C-c H ₂ SO ₄	21,43	0,0001	49,78	< 0,0001
AB	-	-	73,55	< 0,0001
AC	-	-	12,89	0,0021
BC	-	-	12,94	0,0021
A ²	-	-	10,76	0,0042
B ²	-	-	38,32	< 0,0001
C ²	-	-	1,44	0,2454

Der Einfluss der Temperatur und der Säurekonzentration ist in den grafischen Darstellungen der Modelle durch die Steigung der Konzentration der tNP erkennbar (Abbildung 27). Er ist bei 160 °C am stärksten. Die Verweilzeit hat erst bei einer TS von 10% Einfluss auf die Bildung thermischer Nebenprodukte.

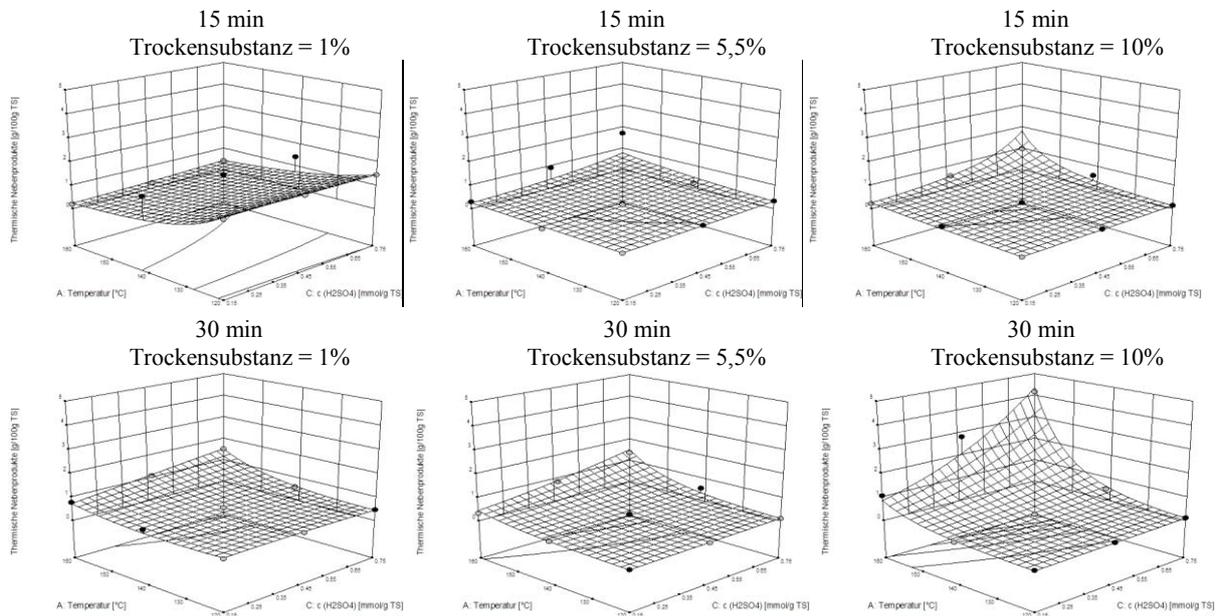


Abbildung 27: Einflüsse auf die Konzentration thermischer Nebenprodukte für Bagasse; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Thermische Nebenprodukte [g/100g TS], Skalenlänge: 0-5; z-Achse: CH_2SO_4 [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75

Landschaftspflegematerial

Die Daten erfüllen die statistischen Bedingungen. Bei einer Verweilzeit von 15 min haben die Temperatur und die TS signifikanten Einfluss auf die Bildung thermischer Nebenprodukte. Die TS hat den größten Einfluss. Bei einer Verweilzeit von 30 min hat nur die TS signifikanten Einfluss (Tabelle 14).

Tabelle 14: Statistische Daten des Modells der Konzentration thermischer Nebenprodukte von Landschaftspflegematerial

	15 min	30 min
Transformation	keine ($y' = y$)	keine ($y' = y$)
mathematisches Modell	quadratisch	quadratisch
R^2	0,8414	0,9142
adjustiertes R^2	0,7621	0,8713
prognostiziertes R^2	0,5083	0,8013
adequate Genauigkeit	11,1890	15,1270
p-Wert (Modell)	< 0,0001	0,0001
p-Wert (lack of fit)	0,2799	0,0853

	15 min	30 min		
STABW	0,12	0,09		
Mittelwert	0,56	0,55		
C.V. %	21,73	17,05		
PRESS	0,82	0,37		
ANOVA der Einflussparameter	F-Wert	p-Wert	F-Wert	p-Wert
Modell	10,61	< 0,0001	21,31	< 0,0001
A-Temperatur	12,25	0,0026	0,28	0,6048
B-TS	58,08	< 0,0001	148,61	< 0,0001
C-c H2SO4	0,14	0,7141	0,65	0,4299
AB	0,87	0,3631	0,29	0,5979
AC	1,28	0,2736	4,45	0,0492
BC	2,81	0,1109	0,93	0,3488
A ²	5,56	0,0300	5,60	0,0294
B ²	12,66	0,0022	20,54	0,0003
C ²	1,56	0,2279	6,38	0,0211

Die grafische Darstellung der Modelle zeigt, dass sich die Konzentrationen der tNP kaum ändern (Abbildung 28). Der höchste Wert wird bei einer Temperatur von 160 °C, einer TS von 1%, einer Säurekonzentration von 0,45 mmol/g TS und einer Verweilzeit von 15 min erreicht.

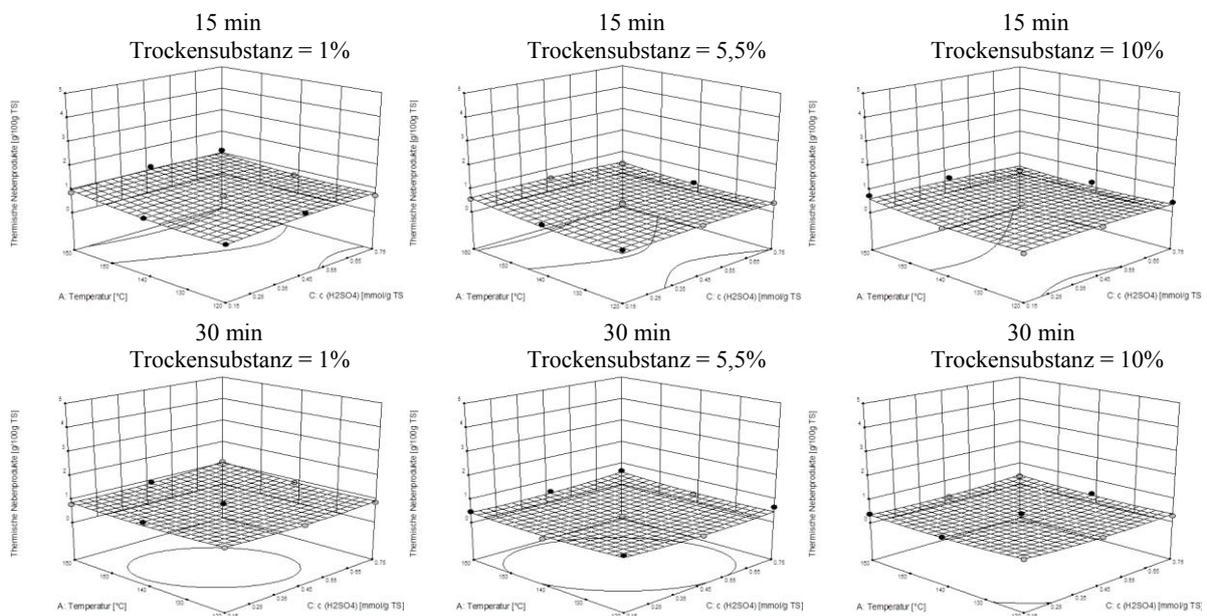


Abbildung 28: Einflüsse auf die Konzentration thermischer Nebenprodukte für Landschaftspflegematerial; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: thermische Nebenprodukte [g/100g TS], Skalenlänge: 0-5; z-Achse: CH_2SO_4 [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75

4.2.4 Einflüsse auf den Abbau von HMF und Furfural

Modellsubstrat

In dieser Arbeit sind die thermischen Nebenprodukte als Summe von 5-Hydroxymethylfurfural (HMF), Furfural und ihrer Abbauprodukte Lävulinsäure und Ameisensäure definiert. Folgende Abbildungen sollen den Einfluss der Säurekonzentration und der Trockensubstanz (TS) auf die Verteilung der einzelnen Komponenten über den Temperaturverlauf darstellen.

Durch eine Erhöhung der Säurekonzentration auf 0,75 mmol/g TS werden ab 160 °C deutlich mehr thermische Nebenprodukte gebildet (Abbildung 29a). HMF und Furfural werden bei dieser Säurekonzentration verstärkt zu Lävulinsäure und Ameisensäure abgebaut. Der Vergleich der TS von 10% und 20% zeigt, dass eine Erhöhung der TS ab 160 °C den Abbau von HMF und Furfural zu ihren Abbauprodukten forciert (Abbildung 29b). Die Gesamtmenge an tNP unterscheidet sich nur gering.

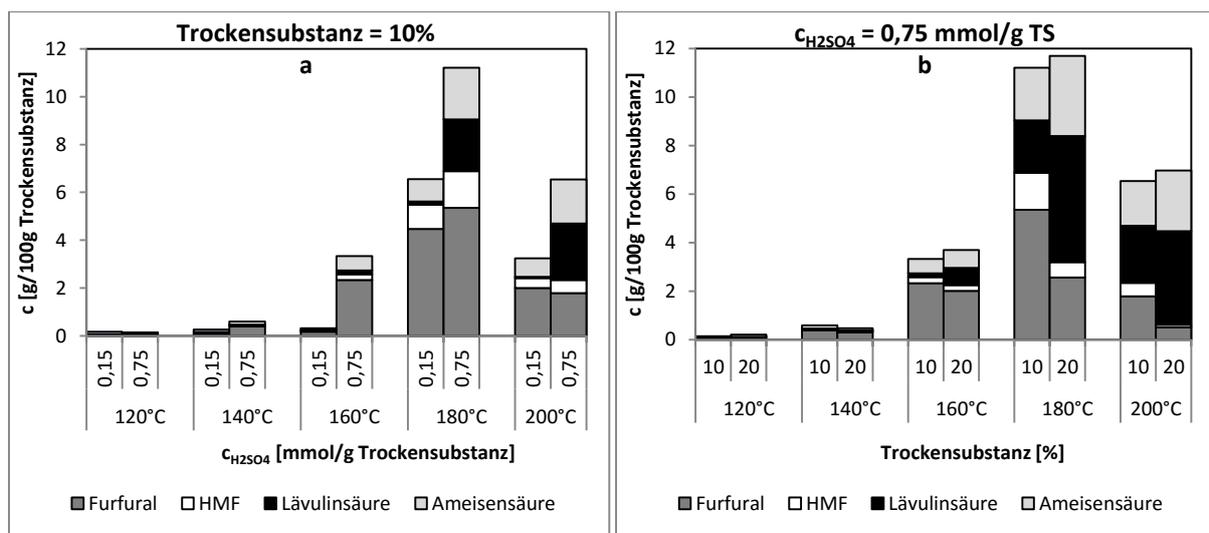


Abbildung 29: Einflüsse auf den Abbau von HMF und Furfural für das Modellsubstrat; Verweilzeit = 30 min

Bagasse

Ein Anstieg der Säurekonzentration führt zu einer erhöhten Bildung von thermischen Nebenprodukten (Abbildung 30a). Es wird vor allem mehr Furfural gebildet. Wird die TS erhöht, ist bei 120 und 140 °C nur ein geringer Unterschied in der Gesamtmenge erkennbar, während bei 160 °C deutlich mehr Furfural vorhanden ist (Abbildung 30b). Bei einer TS von 1% wird bei 120 und 140 °C nur Ameisensäure gebildet.

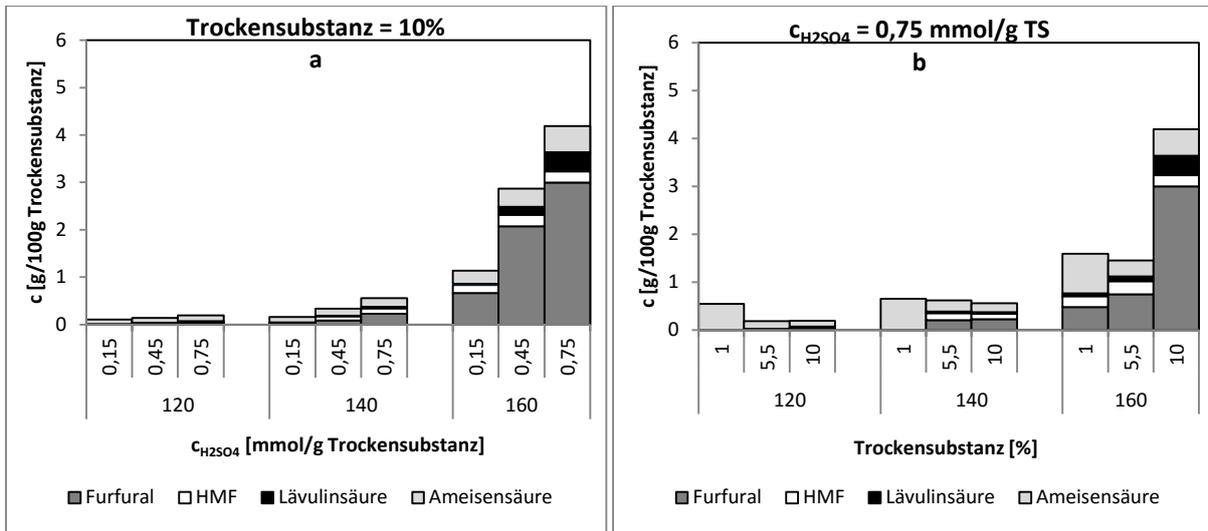


Abbildung 30: Einflüsse auf den Abbau von HMF und Furfural für Bagasse; Verweilzeit = 30 min

Landschaftspflegematerial

Bei thermo-chemischen Aufschlüssen von Landschaftspflegematerial werden nur geringe Mengen an thermischen Nebenprodukten gebildet. Der Hauptbestandteil ist Ameisensäure. Ein Anstieg der Säurekonzentration hat keinen deutlichen Einfluss auf die Konzentrationen (Abbildung 31a). Der Vergleich der TS zeigt, dass bei einer geringeren TS von 1% mehr tNP gebildet wird (Abbildung 31b). Bei 120 und 140 °C ist nur Ameisensäure vorhanden.

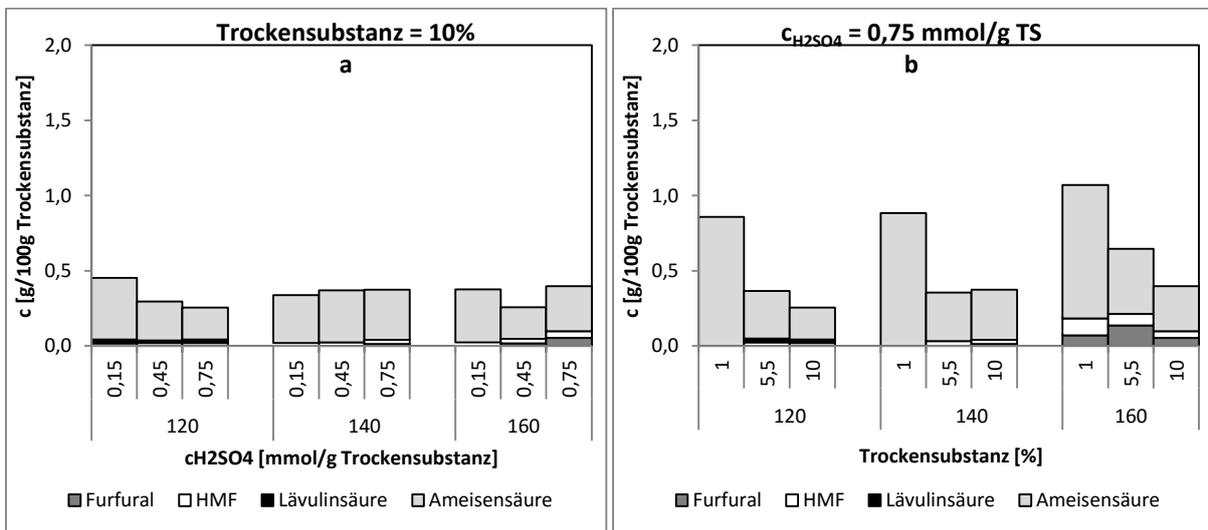


Abbildung 31: Einflüsse auf den Abbau von HMF und Furfural für Landschaftspflegematerial; Verweilzeit = 30 min

4.2.5 Einflüsse auf die Bildung von Melanoidinen

Die statistische Auswertung der Daten mit dem Programm Design Expert® 8 Free Trial zeigt die Korrelation der Einflussfaktoren mit der Zielgröße Extinktion. Basierend auf den gemessenen Daten wurden mathematische Simulationsmodelle erstellt.

Modellsubstrat

Die Daten erfüllen die statistischen Bedingungen. Der F-Test zeigt, dass nur die Temperatur signifikanten Einfluss auf die Extinktion hat (Tabelle 15).

Tabelle 15: Statistische Daten des Modells der Extinktion vom Modellsubstrat

		30 min	
Transformation		keine ($y' = y$)	
mathematisches Modell		quadratisch	
R ²		0,9470	
adjustiertes R ²		0,8675	
prognostiziertes R ²		0,5799	
adequate Genauigkeit		10,7380	
p-Wert (Modell)		0,001	
p-Wert (lack of fit)		0,0595	
STABW		0,41	
Mittelwert		-1,06	
C.V. %		38,32	
PRESS		7,85	
ANOVA der Einflussparameter		F-Wert	p-Wert
Modell		24,45	0,0005
A-Temperatur		23,15	0,0030
B-TS		0,62	0,4611
C-c H2SO4		3,83	0,1184
AB		0,05	0,8169
AC		0,60	0,4678
BC		1,81	0,2271
A ²		42,70	0,0006
B ²		0,26	0,6293
C ²		0,36	0,5729

In der grafischen Darstellung ist der Einfluss der Temperatur erkennbar. Die Extinktion steigt mit der Temperatur (Abbildung 32).

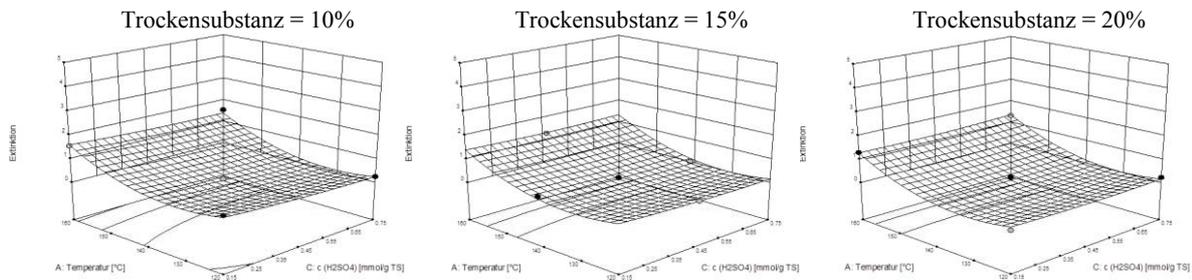


Abbildung 32: Einflüsse auf die Extinktion für das Modellsubstrat; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Extinktion, Skalenlänge: 0-5; z-Achse: $c_{H_2SO_4}$ [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75

Bagasse

Die Daten wurden transformiert und erfüllen die statistischen Bedingungen. Alle drei Einflussgrößen haben signifikanten Einfluss auf die Extinktion. Den größten Einfluss hat die Temperatur (Tabelle 16).

Tabelle 16: Statistische Daten des Modells der Extinktion von Bagasse

	15 min		30 min	
Transformation	natürlicher log		natürlicher log	
Formel	$y' = \ln(y + k)$		$y' = \ln(y + k)$	
mathemat. Modell	2FI		quadratisch	
R^2	0,8860		0,9429	
adjustiertes R^2	0,8534		0,9357	
prognostiziertes R^2	0,8102		0,9224	
adequate Genauigkeit	18,5350		34,1680	
p-Wert (Modell)	0,0003		0,0002	
p-Wert (lack of fit)	0,3941		0,2807	
STABW	0,15		0,22	
Mittelwert	-1,22		-1,82	
C.V. %	12,51		12,00	
PRESS	0,82		1,56	
ANOVA der Einflussparameter	F-Wert	p-Wert	F-Wert	p-Wert
Modell	27,21	< 0,0001	13,45	< 0,0001
A-Temperatur	68,45	< 0,0001	51,71	< 0,0001
B-TS	40,72	< 0,0001	24,66	< 0,0001
C-c H ₂ SO ₄	25,04	< 0,0001	6,53	0,0199
AB	27,17	< 0,0001	2,20	0,1552
AC	1,83	0,1904	0,78	0,3903
BC	0,01	0,8913	0,01	0,9002
A ²	-	-	6,18	0,0229
B ²	-	-	26,92	< 0,0001
C ²	-	-	0,002	0,9633

Die grafische Darstellung der Daten verdeutlicht die statistische Auswertung. Die Extinktion nimmt mit der TS ab, aber mit Temperatur, Säurekonzentration und Verweildauer zu. Die TS

beeinflusst die Extinktion vor allem bei 160 °C. Die Verweildauer beeinflusst die Extinktion hauptsächlich bei einer TS von 1%.

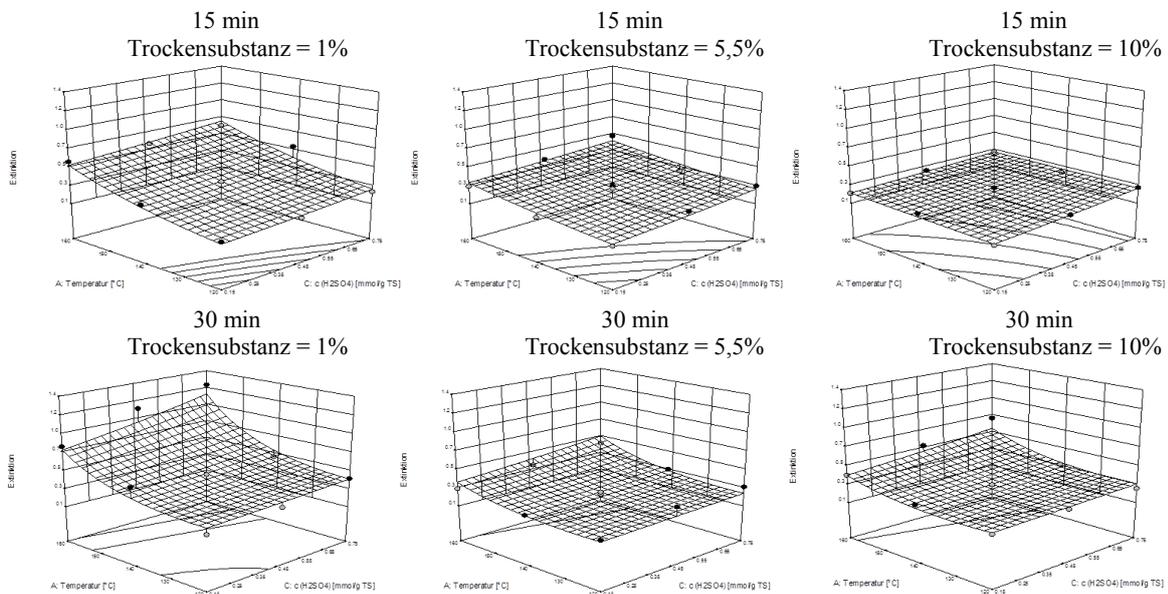


Abbildung 33: Einflüsse auf die Extinktion für Bagasse; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Extinktion, Skalenlänge: 0-1,4; z-Achse: $\text{c}(\text{H}_2\text{SO}_4)$ [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75

Landschaftspflegematerial

Die Daten erfüllen die statistischen Bedingungen. Alle drei Faktoren haben signifikanten Einfluss auf die Extinktion. Den größten Einfluss hat die Säurekonzentration. Die Wechselwirkung der TS mit der Säurekonzentration ist ebenfalls signifikant (Tabelle 17).

Tabelle 17: Statistische Daten des Modells der Extinktion für Landschaftspflegematerial

	15 min		30 min	
Transformation	keine		Quadratwurzel	
Formel	$y' = y$		$y' = \sqrt{y}$	
mathematisches Modell	quadratisch		quadratisch	
R^2	0,9694		0,9714	
adjustiertes R^2	0,9541		0,9571	
prognostiziertes R^2	0,9277		0,9274	
adequate Genauigkeit	28,2660		30,2710	
p-Wert (Modell)	0,0001		0,0067	
p-Wert (lack of fit)	0,5322		0,0192	
STABW	0,46		0,52	
Mittelwert	3,69		2,77	
C.V. %	12,53		18,65	
PRESS	9,11		12,19	
ANOVA der Einflussparameter	F-Wert	p-Wert	F-Wert	p-Wert
Modell	63,31	< 0,0001	54,81	< 0,0001
A-Temperatur	27,82	< 0,0001	18,29	0,0005
B-TS	126,97	< 0,0001	78,03	< 0,0001

	15 min		30 min	
C-c H2SO4	372,18	< 0,0001	372,37	< 0,0001
AB	0,58	0,4576	0,39	0,5405
AC	0,16	0,6941	0,01	0,9108
BC	5,68	0,0283	7,29	0,0147
A ²	7,04	0,0162	4,33	0,0520
B ²	9,16	0,0072	3,67	0,0714
C ²	15,85	0,0009	6,82	0,0177

Der große Einfluss der Säurekonzentration wird in der grafischen Darstellung der Modelle deutlich. Die Extinktion nimmt mit Erhöhung der Säurekonzentration ab. Mit steigender Temperatur ist eine leichte Zunahme der Extinktion erkennbar. Die Verweildauer hat vor allem bei einer Säurekonzentration von 0,15 mmol/g TS Einfluss. Bei 30 min werden mehr Melanoidine gebildet. Ebenfalls deutlich wird die Wechselwirkung der TS und der Säurekonzentration. Der Einfluss der Säurekonzentration nimmt mit Zunahme der TS ab.

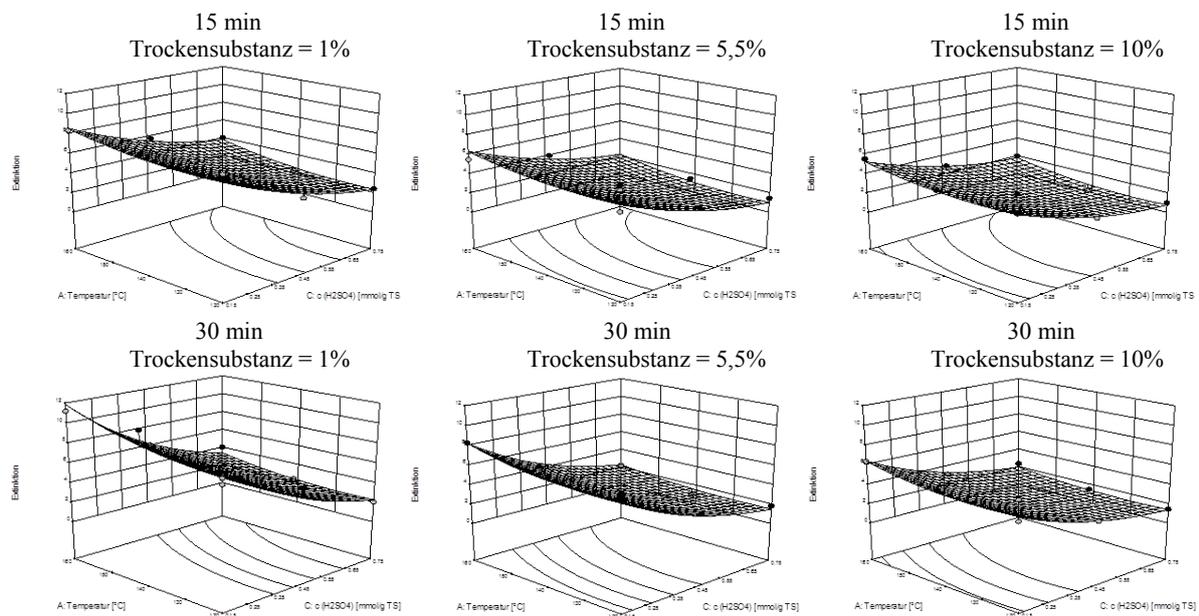


Abbildung 34: Einflüsse auf die Extinktion für Landschaftspflegematerial; x-Achse: Temperatur [°C], Skalenlänge: 120-160; y-Achse: Extinktion, Skalenlänge: 0-12; z-Achse: $\text{c}_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ [mmol/g TS], Skalenlänge: 0,15-0,75

4.2.6 Optimierung der Einflussgrößen

Die Versuche des thermo-chemischen Aufschlusses sollen ermitteln, welche Parameter eine hohe Zuckerausbeute, eine niedrige Konzentration thermischer Nebenprodukte und eine geringe Menge an Melanoidinen (geringe Extinktion) liefern. Das Programm Design Expert berechnet nach Eingabe der gewünschten Bedingungen die beste Parametereinstellung um

diese Bedingungen zu erfüllen. Die Ergebnisse sind für jedes Modell in Tabelle 18 angegeben.

Tabelle 18: Empfohlene Parametereinstellung

Modell	Temperatur [°C]	TS [%]	CH_2SO_4 [mmol/g TS]	Zucker [g/100 g TS]	tNP [g/100 g TS]	Extinktion
Bagasse 15 min	160	10,0	0,43	17	1	0,2
Bagasse 30 min	148	7,9	0,75	21	1	0,4
LPM* 15 min	140	10,0	0,75	3	0	1
LPM* 30 min	160	6,7	0,75	2	1	2

*Landschaftspflegematerial

4.2.7 Korrelation von thermischen Nebenprodukten und Extinktion

Ist die Korrelation der Konzentration thermischer Nebenprodukten und der Extinktion linear, kann zur Bestimmung der tNP die Extinktionsmessung eingesetzt werden. Ein linearer Zusammenhang ermöglicht die Erstellung einer Kalibriergeraden. Es wurde hier die gemessene Extinktion (Kapitel 2.3.4.3) zur Auswertung herangezogen. Die Daten der Substrate Modellsubstrat, Bagasse und Landschaftspflegematerial werden im Folgenden beschrieben.

Modellsubstrat

In einem Temperaturbereich von 120°C bis 160 °C ist die Korrelation von thermischen Nebenprodukten und der Extinktion linear (Abbildung 35a). Diese Linearität gilt jedoch für nur jeweils eine TS und eine Säurekonzentration. Die größte Abweichung der Daten ergibt sich durch eine Änderung der Säurekonzentration. Bei einer geringeren Konzentration von 0,15 mmol/g TS ist die Steigung deutlich stärker. Es werden im Vergleich mehr Melanoidine gebildet. Ab 180 °C weichen die Daten vom linearen Verlauf ab (Abbildung 35b).

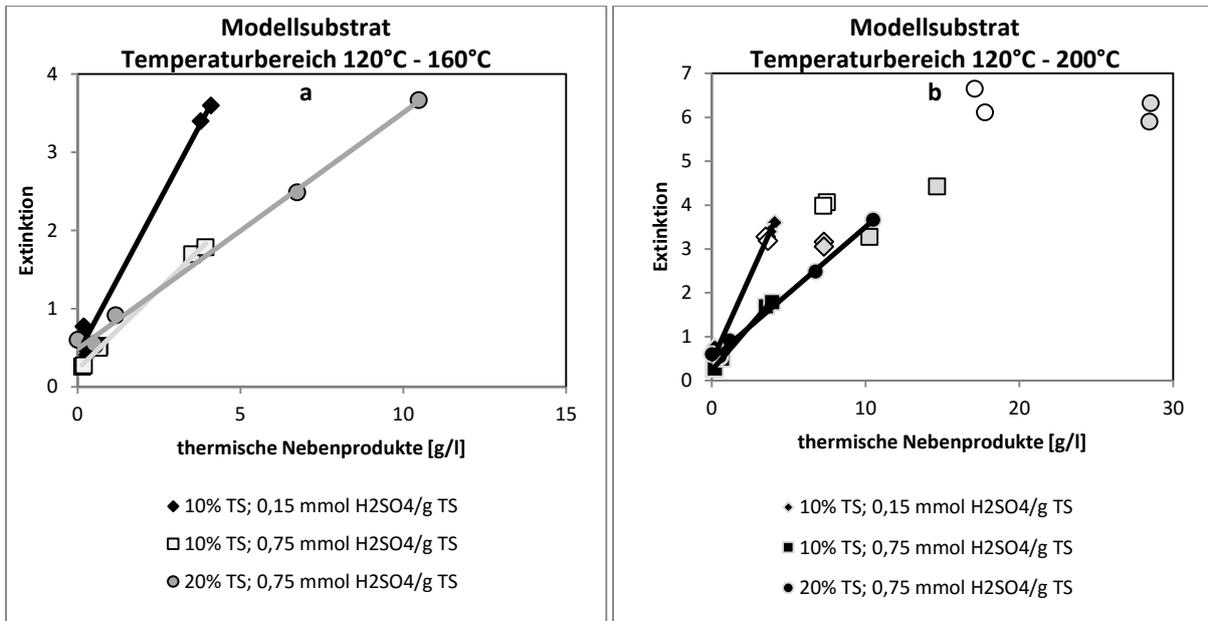


Abbildung 35: Korrelation der Konzentration thermischer Nebenprodukte und der Extinktion für das Modellsubstrat; Grafik b: graue Datenpunkte = 180°C, weiße Datenpunkte = 200°C

Bagasse und Landschaftspflegematerial

Die Werte der Bagasse und des Landschaftspflegematerialies zeigen keinen linearen Verlauf (Abbildung 36).

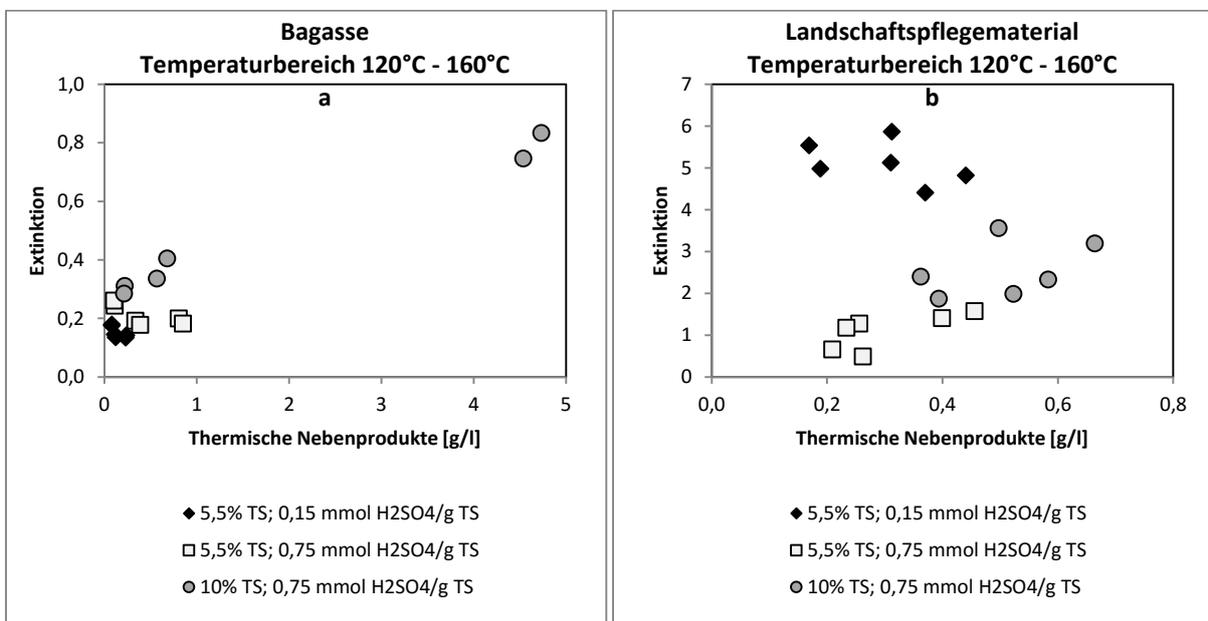


Abbildung 36: Korrelation der Konzentration thermischer Nebenprodukte und der Extinktion für Bagasse und Landschaftspflegematerial

5. Diskussion und Ausblick

5.1 Optimale Parametereinstellung

Während der thermo-chemischen Vorbehandlung werden Cellulose und vor allem Hemicellulose teilweise zu Zuckern hydrolysiert. Diese werden im Zuge der Maillard-Reaktion zu thermischen Nebenprodukten (tNP) abgebaut und es bilden sich braune, hochmolekulare Melanoidine. Da diese eine inhibierende Wirkung auf den Biogasprozess haben können, wurde für die Vorbehandlung eine optimale Parametereinstellung ermittelt, die eine hohe Zuckerausbeute und eine geringe Konzentration an tNP und Melanoidinen ermöglicht (Tabelle 18).

Der Polysaccharidabbau wird vor allem durch die Faktoren Temperatur und Säurekonzentration beeinflusst. Durch eine Erhöhung der beiden Faktoren wird der Abbau forciert und die Zuckerausbeute steigt. Anhand der Quantifizierung der einzelnen Zucker ist erkennbar, dass vor allem Hemicellulose abgebaut wird (Anhang Tabelle 22 bis 25). Die Pentose Xylose macht den größten Anteil an freien Zuckern aus. Cellulose wird nur zu einem geringen Teil abgebaut. Dies wird bestätigt durch die Analyse der thermischen Nebenprodukte (Kapitel 3.4.2). Die Konzentration der Abbauprodukte von Hemicellulose (Furfural und Ameisensäure) ist deutlich höher als die Konzentration der Abbauprodukte von Cellulose (HMF und Lävulinsäure). Diese Ergebnisse decken sich mit der Studie von Foston und Ragauskas (2010). Sie konnten zeigen, dass die Hemicellulose während einer thermo-chemischen Vorbehandlung fast vollständig hydrolysiert wird, während die Cellulose aufgrund ihrer Struktur nur schwer abbaubar ist.

Die freien Zucker werden verstärkt bei hohen Temperaturen und hohen Säurekonzentrationen zu tNP abgebaut. Die Bildung von Melanoidinen wird durch längere Verweilzeiten und höhere Temperaturen forciert. Bei den Substraten Bagasse und Landschaftspflegematerial (LPM) konnte auch ein Einfluss der Trockensubstanz (TS) festgestellt werden. Das Modellsubstrat zeigt, dass Temperaturen über 160 °C nicht mehr zu empfehlen sind. Die Bildung der Maillard-Reaktionsprodukte wird stark forciert und hat eine deutliche Verringerung der Zuckerausbeute zur Folge.

Eine allgemeine optimale Parametereinstellung ist aufgrund der unterschiedlichen Substratbeschaffenheit von Bagasse und LPM nicht möglich. Diese werden im Folgenden einzeln betrachtet.

Bagasse

Um die optimalen Parametereinstellungen von Temperatur, Schwefelsäurekonzentration und Trockensubstanz zu ermitteln, wurden mathematische Modelle für Verweilzeiten von 15 und 30 min berechnet. Bei einer längeren Verweilzeit von 30 min kann eine höhere Zuckerausbeute mit annähernd gleich niedriger Konzentration an tNP und Extinktion erreicht werden. Diese Ausbeute ist im Vergleich zu 15 min bei einer niedrigeren Temperatur und einer geringeren TS erreichbar, erfordert jedoch eine höhere Säurekonzentration (Tabelle 18).

Kürzere Verweilzeiten und niedrigere Temperaturen sind grundsätzlich zu favorisieren, da sie einen geringeren Energieaufwand benötigen und daher kostengünstiger sind. Auch ist zu bedenken, dass eine hohe Schwefelsäurekonzentration eine Hemmung der Mikroorganismen und folglich eine geringere Biogasausbeute zur Folge haben kann (Hendriks und Zeeman 2009).

Landschaftspflegematerial

Mit einer kürzeren Verweilzeit von 15 min kann eine höhere Zuckerausbeute bei gleichzeitig niedrigerer Konzentration an tNP und niedrigerer Extinktion erreicht werden. Das optimale Ergebnis kann im Vergleich zu 30 min bei einer geringeren Temperatur und einer höheren TS erreicht werden. Beide Verweilzeiten erfordern die höchste Säurekonzentration von 0,75 mmol/g TS (Tabelle 18). Eine längere Verweilzeit führt zu einer deutlich verstärkten Bildung von Melanoidinen und einer daraus resultierenden geringeren Zuckerausbeute und ist daher nicht zu empfehlen.

Vergleich von Bagasse und Landschaftspflegematerial

Die Zuckerausbeute ist bei dem Substrat LPM deutlich geringer als bei der Bagasse. Es werden auch weniger tNP gebildet. Der größere Verlust von Zuckern durch die thermo-chemische Vorbehandlung des LPM folgt aus einer deutlich verstärkten Bildung von Melanoidinen. Vergleicht man die beiden Substrate zeigt sich, dass das LPM ein deutlich niedrigeres Verhältnis von Kohlenhydraten zu Proteinen als die Bagasse hat und somit mehr Proteine bzw. Aminosäuren der Reaktion zur Verfügung stehen. Am Modells substrat ist jedoch erkennbar, dass das nicht der ausschlaggebende Faktor für die verstärkte Bildung von Melanoidinen ist. Es weist ebenfalls ein niedrigeres Verhältnis auf, zeigt aber der Bagasse ähnliche Werte. Es ist anzunehmen, dass der pH-Wert entscheidend ist. Während der Vorbehandlung werden aufgrund von Abbaureaktion der Hemicellulose und des Lignins Säuren gebildet, die den pH-Wert absenken (Jönsson und Martín 2016). Ein Vergleich der

pH-Werte von wässrigen Extraktionen der unbehandelten Substrate mit den vorbehandelten Substraten zeigt, dass der pH-Wert bei der Bagasse während der Vorbehandlung stärker sinkt (Anhang Tabelle 21 bis 25). Dies resultiert in einem um zwei Einheiten höheren pH-Wert des LPM nach dem Aufschluss. Ein höherer pH-Wert forciert die Bildung von Melanoidinen. Da er auch den Abbau zu tNP hemmt, erklärt dieser auch die geringere Konzentration an tNP. Eine mögliche Erklärung des geringeren Anstiegs des pH-Wertes beim LPM ist der deutlich geringere Gehalt an Hemicellulose. Bei der Hydrolyse der Acetylgruppen der Hemicellulose wird Essigsäure gebildet (Jönsson und Martín 2016). Ist der Gehalt an Hemicellulose geringer, wird auch weniger Essigsäure gebildet. Ein weiterer Grund kann der höhere Gehalt an Lignin sein. Lamminpää, Ahola, und Tanskanen (2015) untersuchten den Einfluss von Lignin auf den säurekatalysierten Abbau von Xylose. Sie konnten eine Pufferwirkung des Lignins nachweisen, welche einen geringeren Anstieg des pH-Wertes zur Folge hatte.

5.2 Korrelation von Extinktion und thermischen Nebenprodukten

Wird die Maillard-Reaktion forciert, werden mehr tNP und Melanoidine gebildet. Am Modellsubstrat kann gezeigt werden, dass in einem Temperaturbereich von 120°C-160°C zwischen der Entstehung von tNP und Melanoidinen ein linearer Zusammenhang besteht (Abbildung 35). Dieser ist für jeweils eine TS und eine Säurekonzentration gegeben. Im Vergleich zu einer höheren Säurekonzentration werden bei gleicher Konzentration an tNP mehr Melanoidine gebildet. Dies bestätigt den Einfluss des pH-Wertes auf die Maillard-Reaktion. Die niedrigere Säurekonzentration forciert die Bildung der Melanoidine und hemmt die Entstehung von tNP.

Für die Substrate Bagasse und LPM konnte kein linearer Zusammenhang zwischen tNP und Melanoidinen festgestellt werden. Von den unbehandelten Substraten wurde eine wässrige Extraktion von allen drei Trockensubstanzen durchgeführt und die Extinktion gemessen (Anhang Tabelle 19). Die Werte sind teilweise höher als die der vorbehandelten Substrate. Es wird angenommen, dass neben der Bildung von Melanoidinen gleichzeitig ein Abbau der natürlich vorkommenden Farbstoffe der Substrate stattfindet und somit der lineare Zusammenhang nicht mehr erkennbar ist.

Ein linearer Zusammenhang von Extinktion und tNP ermöglicht die Erstellung einer Kalibriergerade, mit welcher tNP quantitativ mittels einfacher und schneller photometrischer Bestimmung erfassbar sind. Für ein Modellsubstrat ohne Eigenfärbung und Störsubstanzen

kann eine Kalibriergerade erstellt werden. Für die Substrate Bagasse und LPM ist dies nicht möglich.

5.3 Vergleich unbehandeltes und vorbehandeltes Substrat

Ein Vergleich der Analysen von wässrigen Extraktionen der unbehandelten Substrate mit vorbehandelten Substraten zeigt, dass ein Abbau der Polysaccharide zu Zuckern bereits bei einer niedrigen Parametereinstellung stattfindet. Thermische Nebenprodukte werden erst während der Vorbehandlung gebildet. Mit einer Vorbehandlung der Bagasse konnte eine Zuckerausbeute von 27,82 g/100 g Trockensubstanz bzw. 45,45 g/100 g Kohlenhydrate erreicht werden. Mit einer Vorbehandlung des LPM wurde eine Ausbeute von 3,69 g/100 g Trockensubstanz bzw. 11,92 g/100 g Kohlenhydrate erreicht.

Abbildung 37 zeigt die Ergebnisse von Biomethanpotential-Tests, welche mit vorbehandelten und nicht vorbehandelten Substraten durchgeführt wurden. Da diese Versuche jedoch den Umfang dieser Arbeit überschritten hätten, erfolgte die Durchführung im Zuge weiterer Masterarbeiten. Die Ergebnisse der Bagasse zeigen, dass mit einer thermo-chemischen Vorbehandlung die gesamte Methanausbeute nicht erhöht werden kann. Die Ausbeute liegt bei 255 bis 260 Nm³/t VS. Das Gas wurde jedoch schneller produziert. Die Zeit um die gesamte Methanausbeute zu erreichen kann um 20% gesenkt werden. Mit der Vorbehandlung von LPM ist eine Erhöhung der gesamten Methanausbeute um 20% möglich. Die Ausbeute liegt bei 192 Nm³/t VS für unbehandeltes Substrat und bei 230 Nm³/t VS für vorbehandeltes. Die Geschwindigkeit der Methanproduktion ist vergleichbar.

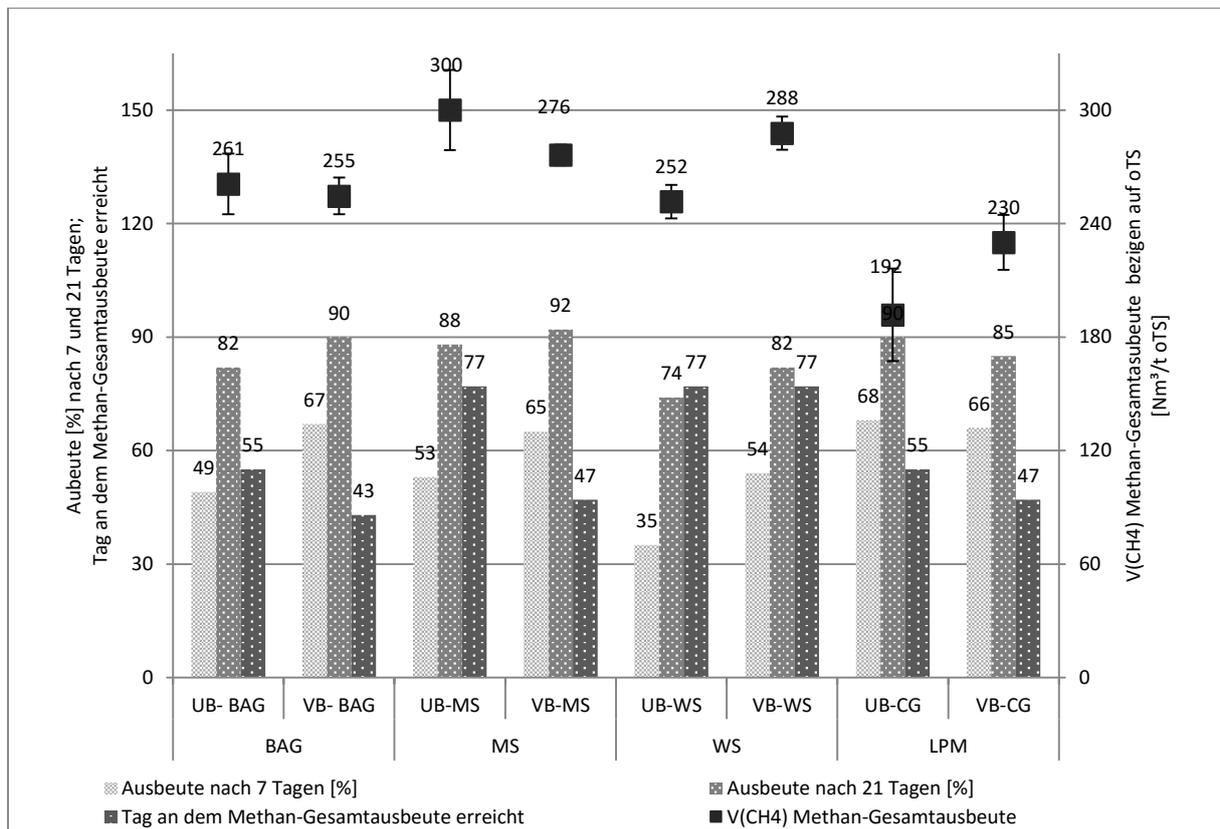


Abbildung 37: Vergleich der Biomethan-Potentialtests von unbehandelten und vorbehandelten Substraten (Scheidl, Rachbauer, und Ortner 2015)

5.4 Ausblick

Aufbauend auf den Ergebnissen dieser Arbeit müssen weitere BMP-Tests durchgeführt werden, um den positiven Effekt einer Vorbehandlung mit der ermittelten optimalen Parametereinstellung auf die Biogasausbeute nachzuweisen.

Um den Einfluss der MRP auf die Methanausbeute zu erforschen, sollten höhere Vorbehandlungstemperaturen getestet werden. BMP-Tests mit stark erhitzten Substraten müssen durchgeführt und mit niedrigeren Temperaturen verglichen werden. Pandey (2011) empfiehlt Temperaturen von 160 bis 260 °C.

Um den Einfluss der Melanoidine auf die Biogasproduktion zu bestimmen, werden Methoden zur Isolierung und Quantifizierung der Melanoidine benötigt. Diese können dann gezielt dem Biogasreaktor zugeführt und die hemmende Konzentration bestimmt werden. Für die Entwicklung einer Standardmethode zur Bestimmung der Melanoidine, muss die Erforschung ihrer Struktur forciert werden. Da diese je nach Ausgangsstoffen und Reaktionsbedingungen variiert, ist erst wenig über sie bekannt.

Ist eine Quantifizierung der Melanoidine möglich, können Versuche zur Bestimmung eines Extinktionskoeffizienten bei verschiedenen Wellenlängen durchgeführt werden. Dieser ermöglicht die Erstellung einer Kalibriergeraden zur Bestimmung der Konzentration von Melanoidinen mittels Extinktionsmessung.

6. Literaturverzeichnis

- Abdel-Halim, E. S. 2014. „Chemical modification of cellulose extracted from sugarcane bagasse: Preparation of hydroxyethyl cellulose“. *Arabian Journal of Chemistry*. Zugriffen Mai 21. doi:10.1016/j.arabjc.2013.05.006.
- Al Seadi, Teodorita, Dominik Rutz, Rainer Janssen, und Bernhard Drogg. 2013. „2 - Biomass resources for biogas production“. In *The Biogas Handbook*, herausgegeben von Arthur Wellinger Jerry Murphy David Baxter, 19–51. Woodhead Publishing. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857094988500026>.
- Baltes, Werner. 2000. *Lebensmittelchemie*. 5. Aufl. Berlin: Springer-Verlag.
- Belitz, Hans-Dieter, und Werner Grosch. 2013. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Springer-Verlag.
- Bischofsberger, Wolfgang, Norbert Dichtl, Karl-Heinz Rosenwinkel, Carl Franz Seyfried, und Böhnke, Hrsg. 2005. *Anaerobtechnik*. 2. Auflage. Springer-Verlag.
- Bolado-Rodríguez, Silvia, Cristina Toquero, Judit Martín-Juárez, Rodolfo Travaini, und Pedro Antonio García-Encina. 2016. „Effect of thermal, acid, alkaline and alkaline-peroxide pretreatments on the biochemical methane potential and kinetics of the anaerobic digestion of wheat straw and sugarcane bagasse“. *Bioresource Technology* 201 (Februar): 182–90. doi:10.1016/j.biortech.2015.11.047.
- Cämmerer, B., und L.W. Kroh. 1995. „Investigation of the influence of reaction conditions on the elementary composition of melanoidins“. *Food Chemistry* 53 (1): 55–59. doi:10.1016/0308-8146(95)95786-6.
- Da Costa Gomez, Claudius. 2013. „1 - Biogas as an energy option: an overview“. In *The Biogas Handbook*, herausgegeben von Arthur Wellinger, Jerry Murphy, und David Baxter, 1–16. Woodhead Publishing. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857094988500014>.
- da Silva, Ayla Sant’Ana, Hiroyuki Inoue, Takashi Endo, Shinichi Yano, und Elba P.S. Bon. 2010. „Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation“. *Bioresource Technology* 101 (19): 7402–9. doi:10.1016/j.biortech.2010.05.008.
- Deublein, Dieter, und Angelika Steinhauser. 2011. *Biogas from Waste and Renewable Resources*. 2. Auflage. Weinheim: WILEY-VCH Verlag.
- Drogg, Bernhard, Rudolf Braun, Günther Bochmann, und Teodorita Al Saedi. 2013. „3 - Analysis and characterisation of biogas feedstocks“. In *The Biogas Handbook*, herausgegeben von Arthur Wellinger Jerry Murphy David Baxter, 52–84. Woodhead Publishing. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857094988500038>.
- Dussán, Kelly J., Débora D.V. Silva, Victor H. Perez, und Silvio S. da Silva. 2016. „Evaluation of oxygen availability on ethanol production from sugarcane bagasse hydrolysate in a batch bioreactor using two strains of xylose-fermenting yeast“. *Renewable Energy* 87, Part 1 (März): 703–10. doi:10.1016/j.renene.2015.10.065.
- „Energienstatus Österreich 2015: Entwicklung bis 2013“. 2015. Bundesministerium für Wissenschaft, Forschung und Entwicklung.
- „Energiestrategie Österreich: Energiewende 2013-2030-2050“. 2015. Dachverband Erneuerbare Energie Österreich.
- Foston, Marcus, und Art J. Ragauskas. 2010. „Changes in lignocellulosic supramolecular and ultrastructure during dilute acid pretreatment of Populus and switchgrass“. *Current and Potential Capabilities of Wood Production Systems in the Southeastern U.S.* 34 (12): 1885–95. doi:10.1016/j.biombioe.2010.07.023.
- Girisuta, Buana. 2007. „Levulinic acid from lignocellulosic biomass“. University Library Groningen][Host].

- Heldt, Hans-Walter, und Birgit Piechulla. 2015. *Pflanzenbiochemie*. 5.Auflage Aufl. Springer-Verlag.
- Hendriks, A.T.W.M., und G. Zeeman. 2009. „Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass“. *Bioresource Technology* 100 (1): 10–18. doi:10.1016/j.biortech.2008.05.027.
- Hodge, J. E. 1953. „Dehydrated Foods, Chemistry of Browning Reactions in Model Systems“. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1 (15): 928–43. doi:10.1021/jf60015a004.
- Hollnagel, Anke. 2000. „Beiträge zur Chemie der nichtenzymatischen Bräunung von oligomeren Kohlenhydraten“. Diss., Techn. Univ. Berlin
- Høltermand, A. 1966. „The Browning Reaction“. *Starch - Stärke* 18 (10): 319–28. doi:10.1002/star.19660181004.
- Hwang, In Guk, Hyun Young Kim, Koan Sik Woo, Junsoo Lee, und Heon Sang Jeong. 2011. „Biological activities of Maillard reaction products (MRPs) in a sugar–amino acid model system“. *Food Chemistry* 126 (1): 221–27. doi:10.1016/j.foodchem.2010.10.103.
- Jönsson, Leif J., und Carlos Martín. 2016. „Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects“. *Pretreatment of Biomass* 199 (Jänner): 103–12. doi:10.1016/j.biortech.2015.10.009.
- Kaltschmitt, Martin, und Hans Hartmann, Hrsg. 2001. *Energie aus Biomasse: Grundlagen, Techniken und Verfahren*. Springer-Verlag.
- Kleppmann, Wilhelm. 2003. *Taschenbuch Versuchsplanung: Produkte und Prozesse optimieren*. 3. Aufl. Praxisreihe Qualitätswissen. München Wien: Carl Hanser Verlag.
- Lamminpää, Kaisa, Juha Ahola, und Juha Tanskanen. 2015. „Acid-catalysed xylose dehydration into furfural in the presence of kraft lignin“. *Bioresource Technology* 177 (Februar): 94–101. doi:10.1016/j.biortech.2014.11.074.
- Larsson, Simona, Eva Palmqvist, Bärbel Hahn-Hägerdal, Charlotte Tengborg, Kerstin Stenberg, Guido Zacchi, und Nils-Olof Nilvebrant. 1999. „The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood“. *Enzyme and Microbial Technology* 24 (3–4): 151–59. doi:10.1016/S0141-0229(98)00101-X.
- Larsson, Simona, Alexis Quintana-Sáinz, Andres Reimann, Nils-Olof Nilvebrant, und Leif J. Jönsson. 2000. „Influence of lignocellulose-derived aromatic compounds on oxygen-limited growth and ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*“. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 84 (1): 617–32. doi:10.1385/ABAB:84-86:1-9:617.
- Ledl, Franz, und Erwin Schleicher. 1990. „New Aspects of the Maillard Reaction in Foods and in the Human Body“. *Angewandte Chemie International Edition in English* 29 (6): 565–94. doi:10.1002/anie.199005653.
- Liedke, Ralf. 2000. „Bildung von Alpha-Dicarbonylverbindungen beim Abbau von Amadori-Umlagerungsprodukten“. Diss., Westfäl. Wilhelms-Univ. Münster
- Matissek, R., G. Steiner, und M. Fischer. 2013. *Lebensmittelanalytik*. Springer Berlin Heidelberg.
- Mauron, J. 1981. „The Maillard Reaction in Food; a Critical Review from the Nutritional Standpoint“. *Progress in Food & Nutrition Science* 5 (1-6): 5–35.
- Meine, Niklas, Jakob Hilgert, Mats Kaldstrom, Roberto Rinaldi, und Ferdi Schüth. 2013. „Katalytisches Vermahlen: Ein neuer Zugang für Lignocellulose-Bioraffinerien“. Forschungsbericht. Max-Planck-Institut für Kohlenforschung. https://www.mpg.de/6698004/JP_20132?c=7291695.
- Möller, Maria, und Uwe Schröder. 2013. „Hydrothermal production of furfural from xylose and xylan as model compounds for hemicelluloses“. *RSC Advances* 3 (44): 22253–60. doi:10.1039/C3RA43108H.

- Murphy, Jerry D., und Thanasit Thamsiriroj. 2013. „5 - Fundamental science and engineering of the anaerobic digestion process for biogas production“. In *The Biogas Handbook*, herausgegeben von Arthur Wellinger Jerry Murphy David Baxter, 104–30. Woodhead Publishing. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857094988500051>.
- Nursten, H. 2011. „Lactose and Oligosaccharides | Maillard Reaction“. In *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*, herausgegeben von John W. Fuquay, 217–35. San Diego: Academic Press. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123744074002776>.
- Pachauri, Rajendra K., und Leo Meyer. 2014. „Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change“. IPCC.
- Pandey, Ashok. 2011. *Biofuels: Alternative feedstocks and conversion processes*. 1. Aufl. Amsterdam: Academic Press.
- Richter, Gerhard. 1997. *Stoffwechselfysiologie der Pflanzen: Physiologie und Biochemie des Primär- und Sekundärstoffwechsels*. 6. Auflage. Stuttgart, New York: Thieme.
- Roussev, Manol. 2003. *Nichtenzymatische Bräunungsreaktionen von D-Glucose und D-Fructose: Bildung und Nachweis von Alpha-Dicarbonylverbindungen in Moellsystemen und Lebensmitteln*. Berlin: Logos Verlag Berlin.
- Rufián-Henares, José A., und Silvia P. de la Cueva. 2009. „Antimicrobial Activity of Coffee Melanoidins—A Study of Their Metal-Chelating Properties“. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (2): 432–38. doi:10.1021/jf8027842.
- Rurián-Henares, Jose A., und Francisco J. Morales. 2008. „Antimicrobial Activity of Melanoidins against Escherichia coli Is Mediated by a Membrane-Damage Mechanism“. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (7): 2357–62. doi:10.1021/jf073300+.
- Scheidl, Stefanie, Lydia Rachbauer, und Markus Ortner. 2015. „Deliverable 2.2 - Data on thermo-chemical pretreatment process of further substrates“. Ergebnisbericht des Projektes TherChem.
- Silván, José Manuel, Jürgen van de Lagemaat, Agustín Olano, und Maria Dolores del Castillo. 2006. „Analysis and biological properties of amino acid derivatives formed by Maillard reaction in foods“. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Nutraceuticals Analysis*, 41 (5): 1543–51. doi:10.1016/j.jpba.2006.04.004.
- „Umweltbundesamt: Internationale und EU-Klimapolitik“. 2016. Zugegriffen Jänner 6. <http://www.umweltbundesamt.de/themen/klima-energie/internationale-eu-klimapolitik>.
- Walser, Hans. 2011. *Statistik für Naturwissenschaftler*. 1. Auflage. Haupt Verlag.
- Wan, Ching-Yun. 2014. „Evaluation eines thermo-chemischen Aufschlussverfahrens für zellulosereiche Biomasse mittels RSM“.
- Wang, He-Ya, He Qian, und Wei-Rong Yao. 2011. „Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity“. *Food Chemistry* 128 (3): 573–84. doi:10.1016/j.foodchem.2011.03.075.
- Westphal, G., und L. Kroh. 1985. „Zum Mechanismus der „frühen Phase“ der Maillard-Reaktion 1. Mitt. Einfluß der Struktur des Kohlenhydrats und der Aminosäure auf die Bildung des N-Glycosids“. *Food / Nahrung* 29 (8): 757–64. doi:10.1002/food.19850290808.

7. Anhang

Tabelle 19: Ergebnisse der wässrigen Extraktion der unbehandelten Substrate (Zucker und tNP in [g/100 g TS])

	Bagasse			Landschaftspflegematerial		
	Trockensubstanz [%]			Trockensubstanz [%]		
	1	5,5	10	1	5,5	10
Glucose	0,21	0,17	0,18	0,00	0,01	0,00
Fructose	0,32	0,25	0,27	0,00	0,02	0,01
Xylose	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01
Arabinose	0,10	0,03	0,03	0,11	0,01	0,01
HMF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Furfural	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Lävulinsäure	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ameisensäure	0,00	0,00	0,08	0,00	0,17	0,08
Zucker gesamt	0,64	0,46	0,49	0,11	0,05	0,04
tNP gesamt	0,00	0,00	0,08	0,00	0,17	0,08
Extinktion gemessen	0,00	0,20	0,40	0,50	2,60	5,00

Tabelle 20: pH-Werte nach thermo-chemischer Vorbehandlung für das Modellsubstrat; t = 30 min

Temperatur [°C]	TS [%]	H ₂ SO ₄ [mmol/g TS]	pH
120	10	0,15	2
	15	0,45	1
140	10	0,45	1
	15	0,45	2
	15	0,75	1
	20	0,45	1
	20	0,75	1
160	10	0,15	3
	10	0,45	3
	15	0,45	2
	20	0,15	3
200	10	0,15	3
	10	0,75	2
	20	0,75	2

Tabelle 21: pH-Werte nach thermo-chemischer Vorbehandlung für die Substrate Bagasse und Landschaftspflegematerial

Temperatur [°C]	TS [%]	H ₂ SO ₄ [mmol/g TS]	Bagasse		Landschaftspflegematerial	
			pH		pH	
			15 min	30 min	15 min	30 min
120	1	0,15	6	5	4	3
	1	0,45	5	4	2	2
	1	0,75	4	3-4	2	2
	5,5	0,15	5	5	2	2
	5,5	0,45	5	4	1	1-2
	5,5	0,75	3	3	1	1
	10	0,15	5	4	2	2
	10	0,45	4	4	1	1
	10	0,75	3	3	1	1
140	1	0,15	5	6	4	3
	1	0,45	4	5	2	2
	1	0,75	3	3-4	2	2
	5,5	0,15	5	5	1-2	1-2
	5,5	0,45	4	4-5	1	1
	5,5	0,75	3	3	1	1
	10	0,15	5	5	k.D.*	2
	10	0,45	4	4	k.D.*	1
	10	0,75	3	3	k.D.*	1
160	1	0,15	6	6	3	2
	1	0,45	5	5	2	3
	1	0,75	4	3	2	2
	5,5	0,15	5	5	k.D.*	2
	5,5	0,45	4	4	k.D.*	1
	5,5	0,75	3	3	k.D.*	1
	10	0,15	5	5	1	1
	10	0,45	4	4	1	1
	10	0,75	3	3	1	1

* keine Daten vorhanden

Tabelle 22: Ergebnisse der thermo-chemischen Vorbehandlung von Bagasse für 15 min (Zucker und tNP in [g/100 g TS])

	CH ₂ SO ₄ = 0,15 mmol/g TS			CH ₂ SO ₄ = 0,45 mmol/g TS			CH ₂ SO ₄ = 0,75 mmol/g TS		
	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C
TS = 1%									
Glucose	0,62	1,09	0,50	0,93	0,91	0,41	0,64	0,52	1,09
Xylose	0,01	0,07	0,28	0,02	0,31	2,28	0,02	1,38	8,81
Fructose	1,01	1,27	0,70	1,33	1,02	0,56	0,81	0,64	1,30
Arabinose	0,42	0,84	1,01	0,59	0,95	1,41	0,65	1,27	1,56
HMF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
Furfural	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,06
Lävulinsäure	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ameisensäure	1,55	1,48	0,21	1,53	1,48	0,23	1,48	1,43	0,26
Zucker gesamt	2,06	3,27	2,48	2,88	3,19	4,65	2,11	3,81	12,76
tNP gesamt	1,55	1,48	0,21	1,53	1,48	0,24	1,48	1,43	0,43
Extinktion <small>berechnet</small>	0,20	0,34	0,60	0,19	0,37	0,61	0,25	0,57	0,64
TS = 5,5%									
Glucose	0,33	0,70	1,13	0,36	0,65	3,01	0,69	0,82	3,93
Xylose	0,04	0,16	9,08	0,37	1,05	19,41	1,28	5,36	20,98
Fructose	0,63	0,96	1,23	0,82	0,90	1,07	0,89	0,90	0,79
Arabinose	0,32	0,96	1,54	1,27	1,33	1,83	1,61	1,57	2,12
HMF	0,00	0,00	0,09	0,00	0,04	0,29	0,02	0,05	0,36
Furfural	0,00	0,00	0,08	0,00	0,03	0,35	0,00	0,00	0,91
Lävulinsäure	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,04	0,00	0,00	0,13
Ameisensäure	0,24	0,14	0,14	0,29	0,17	0,26	0,32	0,18	0,34
Zucker gesamt	1,32	2,78	12,99	2,81	3,94	25,32	4,47	8,65	27,82
tNP gesamt	0,24	0,14	0,30	0,29	0,24	0,94	0,34	0,23	1,74
Extinktion <small>berechnet</small>	0,15	0,19	0,31	0,26	0,30	0,41	0,31	0,27	0,51
TS = 10%									
Glucose	0,62	0,75	0,92	0,46	0,88	2,26	0,61	1,86	3,21
Xylose	0,08	1,41	6,21	0,31	5,93	16,21	1,10	14,47	17,51
Fructose	0,94	0,88	1,04	0,70	0,83	0,81	0,83	0,82	0,55

	$\text{C}_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,15 \text{ mmol/g TS}$			$\text{C}_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,45 \text{ mmol/g TS}$			$\text{C}_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,75 \text{ mmol/g TS}$		
	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C
Arabinose	0,76	1,29	1,51	1,10	1,51	2,01	1,27	1,76	2,02
HMF	0,00	0,03	0,06	0,00	0,05	0,15	0,02	0,13	0,21
Furfural	0,00	0,00	0,04	0,00	0,02	0,19	0,00	0,11	0,49
Lävulinsäure	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,03	0,00	0,03	0,08
Ameisensäure	0,09	0,20	0,12	0,13	0,19	0,19	0,13	0,30	0,22
Zucker gesamt	2,40	4,33	9,69	2,57	9,16	21,29	3,81	18,90	23,29
tNP gesamt	0,09	0,23	0,23	0,13	0,27	0,56	0,15	0,58	1,00
Extinktion <small>berechnet</small>	0,16	0,23	0,22	0,22	0,28	0,26	0,28	0,24	0,28

Tabelle 23: Ergebnisse der thermo-chemischen Vorbehandlung von Bagasse für 30 min (Zucker und tNP in [g/100 g TS])

	$\text{C}_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,15 \text{ mmol/g TS}$			$\text{C}_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,45 \text{ mmol/g TS}$			$\text{C}_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,75 \text{ mmol/g TS}$		
	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C
	TS = 1%								
Glucose	0,30	0,60	0,86	0,21	0,36	1,61	0,24	0,39	2,75
Xylose	0,07	2,19	7,26	0,07	0,52	15,51	0,34	2,14	18,34
Fructose	0,38	0,78	1,01	0,28	0,49	1,03	0,29	0,47	1,07
Arabinose	0,80	1,13	1,31	1,03	1,41	1,58	1,15	1,55	1,77
HMF	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,23
Furfural	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,27	0,00	0,00	0,48
Lävulinsäure	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06
Ameisensäure	0,55	0,67	0,69	0,55	0,63	0,76	0,54	0,66	0,83
Zucker gesamt	1,55	4,70	10,45	1,59	2,78	19,72	2,02	4,54	23,94
tNP gesamt	0,55	0,67	0,86	0,55	0,63	1,16	0,54	0,66	1,59
Extinktion <small>berechnet</small>	0,31	0,57	0,82	0,34	0,49	1,09	0,44	0,49	1,22
	TS = 5,5%								
Glucose	0,37	0,39	1,05	0,43	1,24	2,85	0,43	2,37	3,73
Xylose	0,13	3,01	9,17	0,71	13,29	18,63	2,69	17,90	19,22
Fructose	0,43	0,48	1,03	0,54	0,83	0,89	0,50	0,74	0,89

	$c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,15 \text{ mmol/g TS}$			$c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,45 \text{ mmol/g TS}$			$c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,75 \text{ mmol/g TS}$		
	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C
Arabinose	0,95	1,41	1,57	1,36	1,66	1,92	1,53	1,91	2,16
HMF	0,00	0,02	0,08	0,00	0,07	0,20	0,02	0,14	0,27
Furfural	0,00	0,02	0,10	0,00	0,08	0,39	0,00	0,21	0,75
Lävulinsäure	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,04	0,01	0,03	0,10
Ameisensäure	0,14	0,17	0,21	0,14	0,19	0,28	0,16	0,23	0,33
Zucker gesamt	1,87	5,29	12,82	3,03	17,02	24,28	5,16	22,93	26,01
tNP gesamt	0,14	0,20	0,40	0,14	0,35	0,92	0,18	0,62	1,45
Extinktion <small>berechnet</small>	0,24	0,24	0,31	0,34	0,25	0,37	0,33	0,32	0,44
TS = 10%									
Glucose	0,37	0,51	2,24	0,60	1,50	3,79	0,78	2,32	4,78
Xylose	0,38	3,71	15,57	4,36	12,09	16,16	8,55	15,42	13,02
Fructose	0,47	0,56	0,98	0,63	0,84	0,55	0,63	0,66	0,43
Arabinose	1,12	1,35	1,61	1,47	1,71	1,79	1,77	2,00	1,65
HMF	0,01	0,02	0,17	0,03	0,09	0,24	0,04	0,11	0,24
Furfural	0,00	0,02	0,67	0,00	0,08	2,07	0,02	0,22	3,00
Lävulinsäure	0,00	0,01	0,02	0,01	0,02	0,17	0,01	0,04	0,40
Ameisensäure	0,10	0,11	0,28	0,11	0,15	0,38	0,12	0,19	0,55
Zucker gesamt	2,35	6,13	20,40	7,06	16,15	22,29	11,73	20,40	19,87
tNP gesamt	0,11	0,16	1,14	0,14	0,34	2,87	0,19	0,56	4,19
Extinktion <small>berechnet</small>	0,27	0,33	0,42	0,28	0,31	0,56	0,27	0,33	0,72

Tabelle 24: Ergebnisse der thermo-chemischen Vorbehandlung von Landschaftspflegematerial für 15 min (Zucker und tNP in [g/100 g TS])

	$\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,15 \text{ mmol/g TS}$			$\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,45 \text{ mmol/g TS}$			$\text{CH}_2\text{SO}_4 = 0,75 \text{ mmol/g TS}$		
	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C
TS = 1%									
Glucose	0,26	0,23	0,07	0,39	0,43	0,34	0,32	0,36	0,29
Xylose	0,10	0,10	0,02	0,26	0,15	0,37	0,15	0,28	0,50
Fructose	0,51	0,37	0,21	0,84	0,50	0,63	0,53	0,61	0,52
Arabinose	0,21	0,24	0,43	0,33	0,44	0,95	0,42	0,68	1,69
HMF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
Furfural	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08
Lävulinsäure	0,06	0,08	0,00	0,06	0,05	0,00	0,07	0,07	0,00
Ameisensäure	0,59	0,62	0,89	0,83	0,65	1,16	0,62	0,70	0,95
Zucker gesamt	1,07	0,95	0,73	1,82	1,52	2,29	1,42	1,94	3,00
tNP gesamt	0,65	0,70	0,89	0,89	0,70	1,16	0,69	0,77	1,13
Extinktion <small>berechnet</small>	7,72	7,99	8,39	3,68	3,95	5,80	2,43	2,31	4,08
TS = 5,5%									
Glucose	0,48	0,25	0,21	0,38	0,30	0,29	0,58	0,38	0,35
Xylose	0,43	0,25	0,19	0,28	0,25	0,29	0,44	0,36	0,34
Fructose	1,08	0,48	0,37	0,71	0,65	0,71	1,12	0,94	0,73
Arabinose	0,09	0,10	0,17	0,11	0,23	0,47	0,23	0,55	0,64
HMF	0,01	0,02	0,03	0,02	0,03	0,06	0,02	0,04	0,04
Furfural	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,02
Lävulinsäure	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03
Ameisensäure	0,43	0,38	0,49	0,36	0,31	0,48	0,35	0,31	0,35
Zucker gesamt	2,08	1,08	0,95	1,48	1,44	1,75	2,37	2,22	2,07
tNP gesamt	0,47	0,44	0,56	0,41	0,37	0,61	0,39	0,39	0,45
Extinktion <small>berechnet</small>	4,68	5,87	5,52	2,67	2,58	4,01	1,47	1,45	8,66
TS = 10%									
Glucose	0,29	0,27	0,57	0,57	0,44	0,64	0,74	0,58	0,79
Xylose	0,27	0,24	0,42	0,31	0,28	0,48	0,37	0,41	0,62
Fructose	0,52	0,46	0,92	0,86	0,84	1,04	0,98	1,04	1,31

	$c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,15 \text{ mmol/g TS}$			$c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,45 \text{ mmol/g TS}$			$c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,75 \text{ mmol/g TS}$		
	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C
Arabinose	0,06	0,07	0,23	0,08	0,16	0,40	0,16	0,36	0,79
HMF	0,01	0,02	0,04	0,01	0,02	0,06	0,01	0,03	0,10
Furfural	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,03	0,00	0,01	0,06
Lävulinsäure	0,03	0,03	0,07	0,02	0,03	0,05	0,02	0,03	0,05
Ameisensäure	0,25	0,24	0,62	0,29	0,30	0,51	0,36	0,36	0,56
Zucker gesamt	1,14	1,04	2,14	1,83	1,72	2,56	2,25	2,39	3,51
tNP gesamt	0,29	0,29	0,73	0,32	0,35	0,66	0,40	0,43	0,77
Extinktion <small>berechnet</small>	4,52	4,48	5,57	1,73	1,92	2,87	1,00	0,11	2,02

Tabelle 25: Ergebnisse der thermo-chemischen Vorbehandlung von Landschaftspflegematerial für 30 min (Zucker und tNP in [g/100 g TS])

	$c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,15 \text{ mmol/g TS}$			$c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,45 \text{ mmol/g TS}$			$c_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0,75 \text{ mmol/g TS}$		
	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C
TS = 1%									
Glucose	0,41	0,09	0,12	0,37	0,11	0,14	0,31	0,30	0,24
Xylose	0,37	0,01	0,03	0,25	0,09	0,15	0,27	0,64	0,52
Fructose	0,73	0,14	0,22	0,55	0,53	0,23	0,82	0,56	1,18
Arabinose	0,29	0,28	0,39	0,34	0,55	1,03	0,45	0,97	1,75
HMF	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
Furfural	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07
Lävulinsäure	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Ameisensäure	0,91	0,95	0,79	0,80	0,80	0,91	0,86	0,88	0,89
Zucker gesamt	1,80	0,51	0,76	1,50	1,28	1,56	1,86	2,46	3,69
tNP gesamt	0,91	0,95	0,79	0,80	0,80	0,91	0,86	0,88	1,07
Extinktion <small>berechnet</small>	6,90	11,05	11,19	5,59	4,52	6,11	2,07	2,44	4,06
TS = 5,5%									
Glucose	0,56	0,08	0,08	0,82	0,08	0,14	0,33	0,13	0,29
Xylose	0,46	0,10	0,07	0,63	0,14	0,21	0,28	0,24	0,57
Fructose	0,86	0,18	0,24	1,30	0,39	0,32	0,74	0,43	0,50

	$c_{H_2SO_4} = 0,15 \text{ mmol/g TS}$			$c_{H_2SO_4} = 0,45 \text{ mmol/g TS}$			$c_{H_2SO_4} = 0,75 \text{ mmol/g TS}$		
	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C	120°C	140°C	160°C
Arabinose	0,19	0,08	0,20	0,14	0,23	0,62	0,37	0,64	1,30
HMF	0,00	0,03	0,02	0,02	0,03	0,05	0,02	0,03	0,08
Furfural	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,14
Lävulinsäure	0,04	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00
Ameisensäure	0,57	0,24	0,45	0,59	0,22	0,40	0,32	0,32	0,43
Zucker gesamt	2,08	0,44	0,59	2,89	0,84	1,29	1,73	1,43	2,66
tNP gesamt	0,61	0,27	0,47	0,65	0,25	0,49	0,37	0,36	0,65
Extinktion <small>berechnet</small>	6,92	7,86	8,35	3,22	3,17	3,99	1,85	0,87	2,26
TS = 10%									
Glucose	0,77	0,20	0,08	0,36	0,23	0,07	0,21	0,33	0,16
Xylose	0,47	0,24	0,11	0,23	0,30	0,13	0,19	0,33	0,28
Fructose	1,10	0,54	0,17	0,65	0,46	0,19	0,55	0,59	0,46
Arabinose	0,08	0,15	0,12	0,09	0,19	0,30	0,26	0,53	0,70
HMF	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,04
Furfural	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	0,05
Lävulinsäure	0,03	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
Ameisensäure	0,41	0,32	0,35	0,26	0,35	0,21	0,21	0,33	0,30
Zucker gesamt	2,42	1,14	0,48	1,32	1,17	0,69	1,21	1,78	1,60
tNP gesamt	0,45	0,34	0,38	0,30	0,37	0,26	0,26	0,37	0,40
Extinktion <small>berechnet</small>	4,79	5,46	6,41	2,49	2,44	3,15	1,45	1,46	2,39