



Eine Mitarbeiterin aus dem Projekt bereitet einen Hochdruckmikrowellenaufschluss (Gesamtaufschluss) vor. Sie hängt ein Probenkarussell mit Proben ein.

FOTO: IFA TULLN

Bioverfügbarkeit von Spurenelementen messen

Ein neues Analyseverfahren zur Nährstoffbestimmung in Biogasfermentern auf Basis schrittweiser Extraktion wurde am IFA Tulln entwickelt. Es liefert genauere Aussagen über die Bioverfügbarkeit von Mikronährstoffen als herkömmliche Verfahren.

Von Markus Ortner

Mikronährstoffe, wie zum Beispiel Eisen, Nickel oder Zink sowie einige weitere Elemente, sind für die Funktion einer bakteriellen Zelle essentiell. Viele Enzyme, und besonders die für die Methanbildung verantwortlichen, tragen in ihrem aktiven Zentrum ein Metall-Ion beziehungsweise benötigen es als Co-Faktor für ihre katalytische Aktivität. Die Zelle hat zur Aufnahme dieser Nährstoffe unter-

schiedliche Transportsysteme zur Verfügung. Neben der passiven Aufnahme durch einfache Diffusion oder Träger-vermittelte Diffusion gibt es auch noch den aktiven Transport durch membrangebundene Proteinsysteme.

Damit solche Mikronährstoffe von der Zelle aufgenommen werden können, müssen sie aber bioverfügbar, das heißt in ionischer beziehungsweise komplexierter Form vorlie-

gen. Als Komplexbildner können anorganische (wie zum Beispiel Hydroxid-Ionen) oder organische Verbindungen (wie zum Beispiel Aminosäuren, Peptide, Zitronensäure, EDTA) beziehungsweise die bakteriospezifischen Siderophore dienen.

Im Rahmen der Methanogenese beispielsweise ist Nickel das Zentralelement in den für die Methanbildung verantwortlichen Enzymen CO-Dehydrogenase und Methyl-

CoM-Reduktase. Zahlreiche Untersuchungen aus der Literatur belegen, dass eine unzureichende Versorgung der bakteriellen Biomasse signifikante Prozesseinschränkungen verursacht. Spurenelemente sind als Mikronährstoffe daher essentiell für das Wachstum und die Substratabbauaktivität der mikrobiellen Biomasse im Fermenter. Genauer gesagt ist die quantitative Aufnahme bestimmter Spurenelemente ein wichtiger Parameter für die quantitative Substratabbauaktivität der beteiligten Mikroorganismen.

Es gibt unterschiedliche Wege, um Spurenelemente im Fermenter zu quantifizieren. In der Regel wird eine repräsentative Fermenterprobe getrocknet, vermahlen und ein Königswasserauszug (aqua regia) mittels spektroskopischen Verfahren (AAS, ICP-OES) vermessen. Das Ergebnis wird in Milligramm pro Kilogramm Trocken-/Frischmasse angegeben. Dieses Standardverfahren ist in der Methode nach DIN 38406 (Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung) beschrieben. Hier ist zwar eine Filtration der Originalprobe mit anschließender separater Analyse von Filtrat und Rückständen vorgesehen, jedoch wird in der Praxis darauf meist aufgrund der schwierigen Filtrierbarkeit verzichtet.

Solche Methoden haben zwar den großen Vorteil, dass sie etabliert sind und routinemäßig von vielen Analytiklaboratorien vorgenommen werden können, aber auch den großen Nachteil, dass sie als Ergebnis Gesamtkonzentrationen liefern und daher nur unzureichende Aussagen über die tatsächliche biologische Versorgung von Elementen im Fermenter zulassen. Die Messung der Gesamtkonzentration liefert einzig und allein und nur dann Informationen über die Bioverfügbarkeit, wenn der Gesamtgehalt eines Elements selbst niedriger als sein Bedarf ist.

Zustand der Spurenelemente beeinflusst Bioverfügbarkeit

In einem Fermenter laufen grundsätzlich eine Vielzahl von (bio-)chemischen Prozessen ab, die von unterschiedlichsten Parametern (Temperatur, pH-Wert, Pufferkapazität u.v.m) beeinflusst werden. Aufgrund thermodynamischer und kinetischer Gesetzmäßigkeiten ergeben sich daraus verschiedene Zustände der Spurenelemente, die allesamt unterschiedliche Einflüsse auf ihre Bioverfügbarkeit ausüben.

Betrachtet man das Schicksal eines Spurenelements in einer Fermenter-Matrix, so kön-

Abbildung 1: Verteilung der Spurenelemente im Fermenter und deren Flüsse untereinander

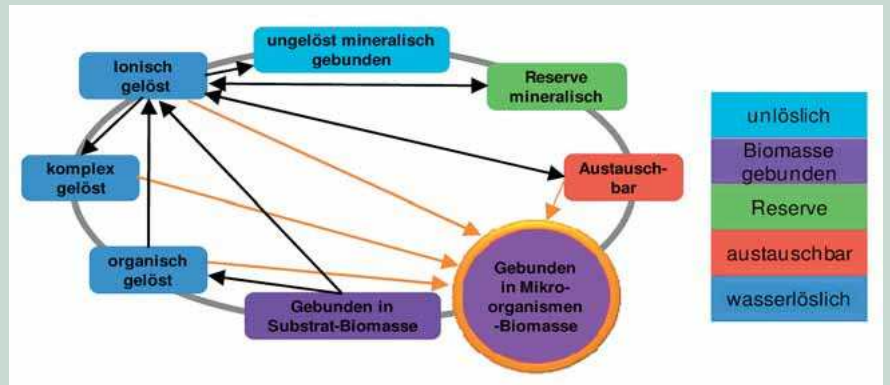
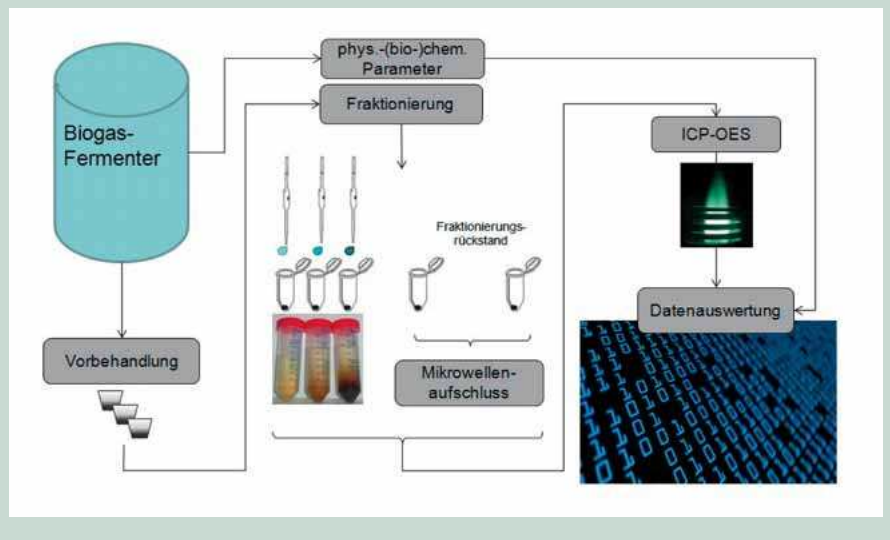


Abbildung 2: Verfahrensschema der fraktionierten Spurenelementanalyse von Fermenter-inhalten



nen sich daraus unterschiedliche Gleichgewichte und „Flussrichtungen“ ergeben (siehe Abbildung 1). Elemente können gelöst, an Partikeln adsorbiert (austauschbar), organisch gebunden im Substrat sowie in der mikrobiellen Biomasse, mobilisierbar in einer Reservefraktion oder ungelöst in einer vollständig festgelegten Fraktion auftreten. Abhängig von der Zusammensetzung des Fermenter-inhaltes und den physikalisch-chemischen Randbedingungen. Zum Beispiel sind Carbonate und teilweise frisch gefällte Sulfide durch schwache Säuren mobilisierbar und daher in der Reservefraktion anzutreffen. In der Abbildung 1 zeigen die „Flüsse“ zur Fraktion „gebunden in Mikroorganismen-Biomasse“ die Aufnahme der Elemente in die Zelle und damit deren Bioverfügbarkeit an.

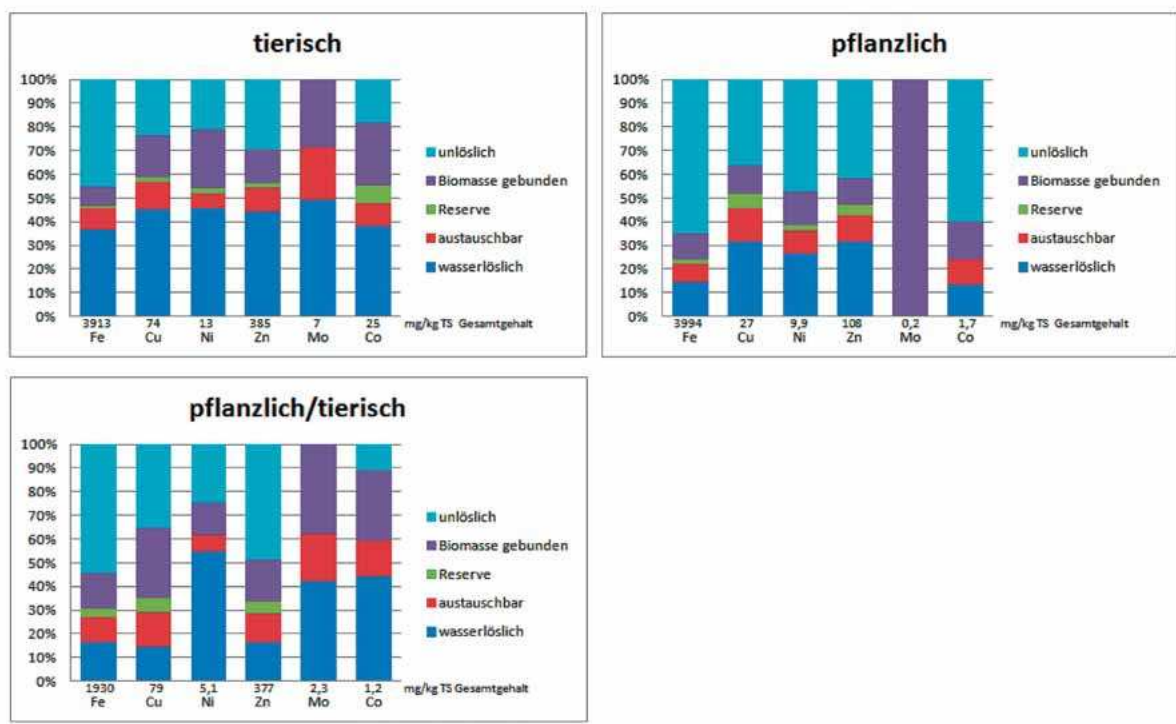
Da üblicherweise von Fermenter-inhalten nur der Gesamtgehalt, allenfalls noch der gelöste Anteil gemessen wird, kann daher bisher nicht unterschieden werden, in wel-

chen Fraktionen und mit welchem Mobilisierungsgrad das gemessene Element vorliegt. Das wäre aber wichtig, um den Anteil der bioverfügbaren Formen zu kennen, die sich aus ihrer Mobilisierbarkeit ergeben. Der bioverfügbare Anteil könnte mit dem mikrobiologischen Bedarf am jeweiligen Element verglichen werden und die Beurteilung erleichtern, ob eine Biogasanlage ausreichend mit Spurenelementen versorgt ist, und ob beziehungsweise in welcher Menge eine Zudosierung notwendig ist.

Messmethode der Bioverfügbarkeit erarbeitet

Am Institut für Umweltbiotechnologie (IFA Tulln/BOKU Wien) gemeinsam mit dem Kompetenzzentrum Bioenergy 2020+ wird schon seit einiger Zeit an der Erforschung dieses Sachverhalts gearbeitet. In einem in Kürze abgeschlossenen Projektvorhaben wurde eine Messmethode zur Ermittlung der Bioverfügbarkeit von Spurenelementen

Abbildung 3: Fraktionierungsmuster ausgewählter Substrate



seepex.com
all things flow

Mischen und Fördern für Biogasanlagen.

seepex als international führender Anbieter von Produkten und Dienstleistungen zur Flüssigkeitsförderung und -behandlung bietet eine Vielzahl von Lösungen, die zum wirtschaftlichen Erfolg ihrer Biogasanlage beitragen.

Eine gründliche Durchmischung der festen und flüssigen Gärprodukte ist die Basis für eine maximale Gasausbeute. Die ideale Lösung stellt das seepex „Biosubstrat-Mischsystem“ dar – bestehend aus einer robusten Einlauftrichterpumpe der Produktgruppe T, einer Standardpumpe der Baureihe BN sowie der Steuerung „Biogas Control“. seepex bietet Ihnen verschiedene Ausführungen von Einlauftrichterpumpen, die auf die Eigenschaften der Inputstoffe abgestimmt sind.



in Fermenterhalten erfolgreich etabliert. Dabei wurde großer Wert auf Kosteneffizienz der Methode, Reproduzierbarkeit und auf eine breite Anwendbarkeit sowohl für landwirtschaftliche und Co-Fermentationsanlagen als auch für Industrieanlagen gelegt. Die Methode wird von zwei Säulen getragen. Zum einen durch eine Fraktionierung der Fermenterprobe und daraus resultierende Kompartimentierung der Elemente und zum anderen in der Messung der relevanten Einflußparameter. Durch das Zusammenspiel dieser beiden Säulen können genauere Aussagen zur Bioverfügbarkeit von Spurenelementen getroffen werden.

Für Elementanalysen von Böden und Sedimenten werden bereits seit längerem sequentielle Fraktionierungen angewendet. A. Tessier aus Kanada war einer der ersten Forscher, der die sequentielle Fraktionierung als Analyseverfahren in das Gebiet der Bodenanalytik einführte (1979). Die Übertragbarkeit auf anaeroben Körnerschlamm wurde von van Hullebusch evaluiert (van Hullebusch et al. 2005). Die Autoren verglichen dabei unterschiedliche Fraktionierungsmethoden für UASB-Fermenterproben und befanden die modifizierte

Charakterisierung der Fermenterproben

	tierisch	tierisch/pflanzlich	pflanzlich
Substrat	Schlachtabfälle	Gülle/Maissilage	Gras/Maissilage
pH	8	7,6	7,6
T-Ferm. [°C]	38	39	48
TS [%]	3,3	7,3	12,8
oTS [%]	2,7	5,9	9,6
NH ₄ -N [g/kg]	6,5	4,6	2,1
NH ₄ -N/TKN	0,82	0,52	0,39
Gesamt S [mg/kg TS]	5530	5300	4057

Tessier-Methode als am besten reproduzierbar und geeignet.

Die Extraktionsstufen der modifizierten Tessier-Methode sind:

- Wasserlösliche und austauschbare Stoffe,
- Reservestoffe (mobilisierbar durch schwache Säuren),
- Organisch gebunden in Biomasse,
- Rückstand.

Die Empfehlung für die Methode nach Tessier durch van Hullebusch besteht seit 2005 und ist bis heute durch keine andere Metho-

de übertroffen worden. Die Methode wurde am IFA Tulln hinsichtlich der Probenvorbereitung und des Extraktionsverfahrens weiter optimiert und unter anderem auch durch eine fünfte Fraktion (wasserlöslich) ergänzt. Die einzelnen Fraktionierungsstufen werden durch eine schrittweise Absenkung des pH-Werts bei unterschiedlichen Extraktionsmitteln erreicht. Die Dauer der einzelnen Extraktionsstufen liegt zwischen ein und drei Stunden und wird zwischen 20 und 35 Grad Celsius vorgenommen. ▶



Mit VollGas in die Energieproduktion

LandGreen® Gibt VollGas!

VollGas 120 BG - Das einjährige Biogasklee gras für alle Standorte

VollGas 121 BG - Viel Methan auch in trockenen Lagen

VollGas 220 BG - Die überjährige Biogaslösung für Masse pur

VollGas 230 plus - Damit es im Frühjahr gleich weitergast

VollGas 240 BG - Das Biogas gras für hohe Ansprüche

VollGas 240 Sprint - Masse von Anfang an

Riesenweizengras Szarvasi
Sorghum-Hirse Green Grazer
Biogasmais mit hoher Methanausbeute
GeoVital-Zwischenfrüchte



Fünf Fraktionen geben Auskunft

Am IFA werden die erhaltenen Konzentrationen in den einzelnen Fraktionierungsstufen mit den (bio-)chemischen beziehungsweise chemisch-physikalischen Parametern (wie beispielsweise pH-Wert, Fermentertemperatur, Alkalinität uvm.) in Zusammenhang gebracht und daraus entsprechende Interpretationen hinsichtlich der Mobilisierbarkeit respektive der Bioverfügbarkeit der einzelnen Elemente abgeleitet. Grundsätzlich sind die ersten beiden Fraktionen (wasserlöslich + austauschbar) bioverfügbar, die dritte Fraktion (Reserve) kann bei entsprechenden Säure/Basen-Verhältnissen mobilisiert werden. Die vierte Fraktion gibt Auskunft darüber, welcher Anteil sowohl im Substrat als auch in der mikrobiellen Biomasse beziehungsweise als Sulfidpräzipitat vorliegt. Elemente, die in der fünften Fraktion (ungelöster Rückstand) vorliegen, sind in der Regel nicht bioverfügbar.

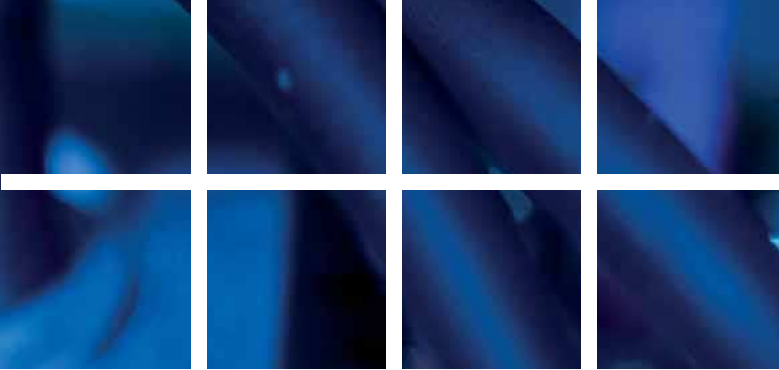
Um die Anwendbarkeit der Methode auf ein breites Substratspektrum zu gewährleisten, wurden Fermenterproben aus unterschiedlich beschickten Biogasanlagen herangezogen. Es wurde zwischen rein pflanzlichen, rein tierischen und Mischungen aus pflanzlichen und tierischen Substraten unterschieden. Stellvertretend für die rein pflanzlichen Substrate wurden Proben aus Biogasanlagen gezogen, die hauptsächlich Gräser und/oder Maissilage verwerten. Als Vertreter für rein tierische Substrate wurde eine Schlachtabfall verwendende Biogasanlage herangezogen und für die Mischform pflanzlich/tierisch Biogasanlagen, die Schweine-/Rindergülle und NawaRo vergären.

In der Tabelle sind die nachfolgend beschriebenen Proben charakterisiert. Die ausgewählten Fermentationstypen unterscheiden besonders stark im TS-Gehalt, im Ammoniumgehalt sowie im Verhältnis von mineralischem zum Gesamtstickstoff. Die gewählten Substratkategorien sollten erwartungsgemäß deutliche Unterschiede im Fraktionierungsmuster ergeben, da die Bindungsformen von Elementen zwischen pflanzlichem und tierischem Material stark divergieren.

Hohe Wiederfindungsrate einzelner Elemente

Die Proben wurden als Triplikat fraktioniert und analysiert, um unter anderem die Reproduzierbarkeit der Methode zu gewährleisten. Die Wiederfindungsraten der einzelnen Elemente lagen zwischen 90 und 110 Prozent, was im Angesicht der teilweise im ppb-Bereich angesiedelten Konzentrationen als sehr gut zu betrachten ist. Die Wiederfindungsrate ist definiert als der Quotient aus der Summe der einzelnen Konzentrationen in den Fraktionen und der Konzentration aus einem Gesamtaufschluss.

In den Darstellungen der Abbildung 3 werden die Ergebnisse des Fraktionierungsprozesses der eben beschriebenen Proben für die essentiellen Spurenelemente Eisen, Kupfer, Nickel, Zink, Molybdän und Kobalt dargestellt. Diese Ergebnisse erlauben bereits eine erste Aussage hinsichtlich der Bioverfügbarkeit. Man kann unter anderem sehen, dass bestimmte Elemente bis zu 60 Prozent (unlöslich) nicht bioverfügbar sind. Der Fermentationsinhalt mit tierischem Substrat (siehe Abbildung 3, tierisch) zeigt wesentlich höhere Gehalte an Nickel, Cobalt und Molybdän, die allerdings



**Der Methangehalt ist zu niedrig?
Der Schwefelgehalt ist zu hoch?
Die Luft ist raus?**



**Zeit, dass Sie
die Kontrolle übernehmen.**



Gasanalyse • Automatisierung • Messtechnik • Entschwefelung



Grünseiboldsdorfer Weg 5
D-85416 Langenbach
Tel. +49 8761 72162-0
Fax +49 8761 72162-11
info@awite.de
www.awite.de

durch eine zusätzliche Zugabe dieser Spurenelemente erklärbar sind.

Generell weist diese Probe bei allen betrachteten Elementen einen bioverfügbaren Anteil (wasserlöslich + austauschbar) von fast der Hälfte der Gesamtgehalte auf, wohingegen dies beim pflanzlichen Substrat nur bei den Elementen Cu und Zn gegeben ist. Molybdän wird nur in sehr geringen Konzentrationen gefunden und fehlt gänzlich in der unlöslichen sowie in der Reservefraktion. Es ist daher vollständig biologisch aktiv, jedoch weist die pflanzliche Probe einen eklatanten Mangel an Mo auf, der durch das Fehlen der wasserlöslichen und austauschbaren Fraktionen gekennzeichnet ist. Auch Cobalt fehlt hier, wie durch das niedrige Verhältnis von wasserlöslicher zu unlöslicher Fraktion angezeigt wird. Um aber eine vollständige Interpretation der Bioverfügbarkeit (hier nicht dargestellt) einzelner Elemente in einem Fermenter abgeben zu können, müssen die thermodynamischen und (bio-)chemischen Einflussfaktoren, die auf den Fraktionierungsprozess wirken, mit einbezogen werden. Generell ist Vorsicht geboten mit dem Umgang von Ergebnissen aus Fraktionierungsprotokollen und deren Interpretationen. Es ist zu erwarten, dass durch Variationen der Analysemethode Verschiebungen der Elemente innerhalb der Fraktionen hervorrufen, was bedeutet, dass Elemente teilweise in einer „falschen“ Fraktion wiedergefunden werden. Weitere Problemfelder der sequentiellen Analyse sind die Bildung von Artefakten sowie Readsorptionseffekte.

Fazit: Am IFA Tulln wurde in Zusammenarbeit mit dem Kompetenzzentrum Bioenergy 2020+ ein Analyseverfahren etabliert, das wesentlich differenziertere Aussagen zur Verfügbarkeit von Spurenelementen in Biogasanlagen zulässt, als dies durch die derzeit etablierte Praxis der Gesamtanalytik möglich ist. Die Analyseverfahren, die bereits seit Jahrzehnten im Bereich der Boden- und Sedimentanalytik angewendet wird, konnte erfolgreich auf eine gänzlich anders beschaffene Probenart (Fermenterinhalt) übertragen und weiterentwickelt werden.

Im Gegensatz zu Böden, die hohe TS-Gehalte und vorwiegend anorganische Strukturen aufweisen, sind Fermenterinhalt hauptsächlich aus wässriger, nicht stabiler Organik zusammengesetzt und verhalten sich daher in der analytischen Prozedur anders. Die gute Wiederfindungsrate und Reproduzierbarkeit der Methode rechtfertigt ihre Anwendung in der Praxis. Sie gibt damit auch dem Betreiber ein Instrument in die Hand, Zugaben zusätzlicher Spurenelemente zielgerichteter und sparsam im Sinne des Umwelt- und Bodenschutzes vorzunehmen. ◀

Autor

Markus Ortner

IFA-Tulln

BOKU - University of Natural Resources

and Life Sciences, Vienna Institute for

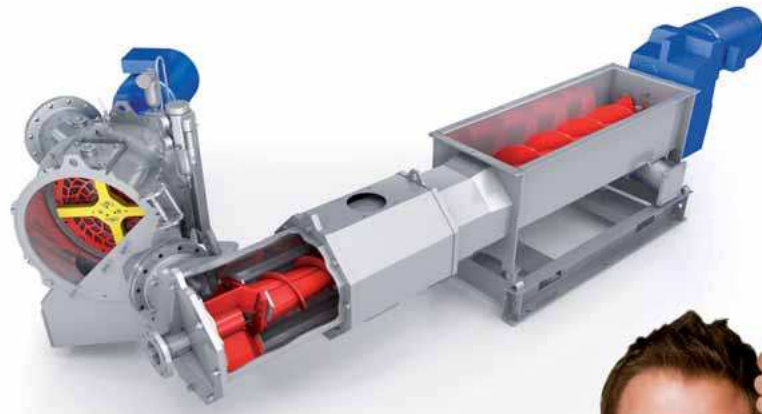
Environmental Biotechnology

Konrad Lorenz Str. 20 · A-3430 Tulln

Tel. 0043 2272 66280 536

E-Mail: markus.ortner@boku.ac.at

www.ifa-tulln.ac.at



www.energyjet.de

EnergyJet – problemlos und wirtschaftlich

- **fremdkörperunempfindlich** und **verschleißarm** wie eine Feststoffschnelle
- **hoher Gasertrag** und **niedriger Eigenenergiebedarf** wie eine Nassfütterung
- vereint die **Vorteile der flüssigen und trockenen Feststoffdosierung**



Erleben Sie die neue
Generation der
Feststoffdosier-
technik
live!

07.-11.5.2012 | München | Halle B3 | Stand 516



VOGELSHANG
ENGINEERED TO WORK

Hugo Vogelsang Maschinenbau GmbH
D-49632 Essen/Oldb.