



ZÜRCHER HOCHSCHULE FÜR ANGEWANDTE WISSENSCHAFTEN

DEPARTEMENT LIFE SCIENCES UND FACILITY MANAGEMENT

INSTITUT FÜR UMWELT UND NATÜRLICHE RESSOURCEN

Laktofermentation von Fischgülle

Bachelorarbeit HS 2012 SBUI_09

von

Pascal Schmid

Bachelorstudiengang Umweltingenieurwesen 2009-2012

Abgabedatum: 20.12.2012

Fachkorrektoren:

Andreas Schönborn, ZHAW

Alex Mathis, ZHAW

Zusammenfassung

Fischzucht wird vermehrt in Kreislaufanlagen ausserhalb der Landwirtschaftszone betrieben. Die UrbanFarmers AG plant Aquaponic-Dachfarmen im urbanen Raum. Um die Kreisläufe weiter zu schliessen, soll auch die Fischgülle weiterverwertet werden. Diese Arbeit zeigt, unter welchen Bedingungen eine Laktofermentation von Fischgülle möglich ist, damit sie ohne Geruchsemissionen stabilisiert und gelagert werden kann.

Die Versuche wurden im Labormassstab durchgeführt. Angeimpft wurden die Ansätze mit *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* und *Pediococcus acidilactici*. Die Fischgülle wurde während 12 Tagen bei 37 °C fermentiert. Vor und nach der Fermentation wurden Lactat, die flüchtigen Fettsäuren, die titrierbare Gesamtsäure und die Trockenrückstände analysiert. Der pH-Wert und die Gasentwicklung wurden täglich gemessen.

Zuerst wurde der optimale Glukoseanteil im Gärgut ermittelt. Angeimpft wurde mit 2.39×10^8 KbE / g Ausgangsmaterial. Die besten Ergebnisse werden mit einem Glukoseanteil von 2 % und 2.5 % im Gärgut erzielt. Der pH sinkt am ersten Tag unter 4 und stabilisiert sich bei einem Wert von 3.63 bis 3.76. Die Laktofermentation verläuft zwar mit höheren Glukoseanteilen (5 %; 7.5 %; 10 % Glukose) besser, nach 4 Tagen findet jedoch eine starke CO₂-Entwicklung statt. Unterhalb von 2 % Glukose findet keine Milchsäuregärung mehr statt. Bei 1 % und 1.5 % Glukose wird vor allem Butyrat gebildet.

Anschliessend wurde bei einem Glukoseanteil von 2 % die optimale Bakterienzahl zum Animpfen ermittelt. Die Laktofermentation läuft bei allen Konzentrationen von 3.0×10^6 KbE / g bis 2.43×10^8 KbE / g ab. Je mehr Bakterien jedoch als Starterkultur zugegeben werden, desto schneller stabilisiert sich der pH auf einem tieferen pH. Dazu kommt, dass mehr Lactat und weniger Acetat und Butyrat gebildet wird.

Die Versuche zeigen, dass eine Stabilisierung und somit eine geruchsneutrale Lagerung von Fischgülle durch Laktofermentation möglich ist.

Abstract

Recirculation systems are gaining increased popularity amongst fisheries outside of the agricultural zone. Urban Farmers AG is planing aquaponic rooftop farms in urban areas. In order to close more material cycles, the fish manure should also be recycled. This work shows under which conditions fish manure can be stabilized and stored without odour emission by performance of lacto-fermentation.

All experiments were performed on laboratory scale. The experiments were inoculated with *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* and *Pediococcus acidilactici*. The fish manure was fermented for 12 days at 37 °C. Before and after the fermentation, lactate, volatile fatty acids, total titratable acid and the dry residues were analyzed. Gas formation and pH values were monitored daily.

At first, the optimal glucose level was determined in the digestate, for which the inoculation took place with 2.39E+08 cfu / g of starting material. Best results are obtained with a glucose level of 2 % and 2.5 % in the digestate. On the first day the pH drops below 4 and then stabilizes at a value of 3.63 to 3.76. It is shown that the lacto-fermentation works better with higher proportions of glucose (5 %, 7.5 % and 10 % glucose). But after 4 days, there is a strong evolution of CO₂. A ratio of glucose below 2 % is more favourable due to suppression of lactic acid fermentation. For even lower ratios of glucose between 1 % and 1.5 % mainly butyrate is formed.

Subsequently, with a glucose content of 2 %, the optimal number of bacteria for inoculation was determined. The lacto-fermentation runs at all tested concentrations from 3.0E+06 cfu / g to 2.43E+08 cfu / g. The more bacteria are added as a starter culture, the faster the pH stabilizes at a lower pH which is in favour of lactate whilst less acetate and butyrate are formed.

The hereby performed experiments show that stabilization and odorless storage of fish manure by lacto-fermentation is possible.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	8
2	Grundlagen.....	10
2.1	Milchsäurebakterien	10
2.2	Milchsäuregärung	10
2.3	Silierung.....	11
2.4	Hygienisierende Wirkung der Laktofermentation	12
2.5	Stand der Forschung bei der Laktofermentation von Fäkalstoffen	13
2.5.1	Verwendete Milchsäurebakterien	13
2.5.2	Zugabe von Molasse	13
2.5.3	Zugabe von Kohle.....	14
2.5.4	Analyseparameter.....	14
3	Material und Methoden	15
3.1	Material	15
3.1.1	Stämme	15
3.1.2	Medium	15
3.1.3	Glukose.....	15
3.1.4	Fischgülle.....	16
3.2	Vorgehen	16
3.2.1	Bakterien.....	16
3.2.2	Versuche.....	17
3.2.3	Analytik	19
4	Resultate.....	21
4.1	Vorversuche 2 (VV2)	21
4.1.1	Fragestellung	21
4.1.2	pH-Verlauf und Gasentwicklung	21
4.1.3	TR/oTR	22
4.1.4	Lactat / flüchtige Fettsäuren	23
4.1.5	Fazit VV2	24
4.2	HV1.....	24
4.2.1	Fragestellung	24
4.2.2	pH-Verlauf / Gasentwicklung	25
4.2.3	TR/oTR	26
4.2.4	Lactat / flüchtige Fettsäuren	27

4.2.5	Fazit HV1	28
4.3	Hauptversuche 2	28
4.3.1	Fragestellung	28
4.3.2	pH-Verlauf / Gasentwicklung	28
4.3.3	TR / oTR	29
4.3.4	Lactat / flüchtige Fettsäuren	30
4.3.5	Fazit HV2	31
4.4	Hauptversuche 3 (HV3)	31
4.4.1	Fragestellung	31
4.4.2	pH-Verlauf / Gasentwicklung	32
4.4.3	TR / oTR	33
4.4.4	Lactat / flüchtige Fettsäuren	34
4.4.5	Fazit HV3	35
4.5	Langzeitstabilität	35
5	Diskussion	37
5.1	Einfluss der Glukose-Konzentration	37
5.1.1	pH-Verlauf / Gasvolumen	37
5.1.2	Trockenrückstände	37
5.1.3	FFS und Lactat	38
5.1.4	Geruch	38
5.1.5	Empfohlene Glukose-Konzentration	38
5.2	Einfluss der Anzahl MSB als Starterkultur	39
5.2.1	pH-Verlauf / Gasvolumen	39
5.2.2	Trockenrückstände	39
5.2.3	FFS	39
5.2.4	Geruch	39
5.2.5	Empfohlene Anzahl MSB als Starterkultur	39
5.3	Einfluss der Temperatur	40
5.4	Langzeitstabilität	40
5.5	Vergleichende Betrachtung mit Resultaten aus der Literatur	41
5.6	Weiteres Vorgehen zur Anwendung auf der UrbanFarm	42
5.7	Fazit	42
6	Literaturverzeichnis	43

Liste der Abkürzungen

Déion.	Deionisiert
FFS	Flüchtige Fettsäuren
FG	Fischgülle
Glu	Glukose
HV1	Hauptversuch 1
HV2	Hauptversuch 2
HV3	Hauptversuch 3
L. casei	<i>Lactobacillus casei</i> LMG 6904
L. plantarum	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 20174
Lb.c.	<i>Lactobacillus casei</i> LMG 6904 (in Diagrammen)
Lb.p.	<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 20174 (in Diagrammen)
M.R.S.	De Man, Rogosa; Sharpe
MO	Mikroorganismen
MSB	Milchsäurebakterien
oTR	Organischer Trockenrückstand
P. acidilactici	<i>Pediococcus acidilactici</i> LMG 11384
Pe.a.	<i>Pediococcus acidilactici</i> LMG 11384 (in Diagrammen)
RT	Raumtemperatur
TGS	Titrierbare Gesamtsäure
TR	Trockenrückstand
TUHH	Technische Universität Hamburg
VV2	Vorversuch 2

1 Einleitung

Fischgülle entsteht als Nebenprodukt bei der Fischzucht. Sie besitzt einen hohen Nährstoffanteil an Phosphor und Stickstoff und gilt landwirtschaftsrechtlich als Hofdünger. Sie kann auf einem Bauernhof also problemlos in der Jauchegrube gesammelt und aufs Feld ausgebracht werden. In Zukunft werden jedoch immer mehr Fischzuchten als Kreislaufanlagen betrieben werden. Da dies unabhängig von Gewässeranbindung und Zonenplanung möglich ist, gibt es immer mehr Fischzuchten ausserhalb der Landwirtschaftszone.

Das Problem dabei ist die Lagerung der Fischgülle. Wenn sie aerob in einem offenen Behälter gelagert wird, ist dies mit einer störenden Geruchsemission verbunden. Wird sie jedoch anaerob in einem verschlossenen Behälter gelagert, beginnt die Methangasgärung. Dies führt zur Bildung von flüchtigen Fettsäuren, CO_2 , H_2 , Methan und H_2S , welche aus dem Behälter entweichen müssen. Dies ist wiederum mit einer Geruchsemission verbunden. Eine Idee wäre nun, die Fischgülle durch eine Laktofermentation anaerob zu stabilisieren.

Die Laktofermentation ist durch die Haltbarmachung von Nahrungsmitteln und der Grünfuttersilage bestens bekannt (Axelsson, 2004; Mayo et al., 2010; Thaysen, 2001; Wang et al., 2002). Dabei werden wasserlösliche Kohlenhydrate durch Milchsäurebakterien in organische Säuren umgewandelt. Durch diese pH-Absenkung wird die Silage oder das Nahrungsmittel konserviert. Es wird zwischen einer hetero- und einer homofermentativen Laktofermentation unterschieden. Bei der homofermentativen Milchsäuregärung wird Glukose zu Laktat abgebaut. Dieser Vorgang verläuft anaerob und im Vergleich zum heterofermentativen Weg ohne Gasentwicklung (Axelsson, 2004).

Die Laktofermentation hat durch die pH-Absenkung eine hygienisierende Wirkung auf das Gärgut (Krüger & Scheinemann, 2010). Bei Behandlungen von Pouletabfällen (Deshmukh & Patterson, 1997; El-Jalil, Zinedine, & Faid, 2008), Fischereiabfällen (Faid et al., 1997) und Nahrungsmittelabfällen (Yang et al., 2005) mit MSB konnten die Pathogene grösstenteils entfernt werden (siehe Kapitel 2.4). Eine weitere interessante Anwendung findet die Laktofermentation im Bereich der „Terra Preta Sanitation“. Dort werden die Fäkalstoffe gesammelt und zusammen mit Kohle, MSB oder EM (effizienten Mikroorganismen) und Gesteinsmehl während 3 Wochen einer Laktofermentation unterzogen. Anschliessend wird das Material wurmkompostiert (Factura et al., 2010; Krüger & Scheinemann, 2010; Yemaneh et al., 2012).

Die geruchsneutrale Lagerung und auch die „Terra Preta Sanitation“ bieten eine Schnittstelle zu der UrbanFarmers AG, durch welche diese Arbeit finanziert wird. Die UrbanFarmers AG wurde 2011 gegründet und bereits mit dem Schweizer Nachhaltigkeitspreis «Prix Nature» ausgezeichnet (Kulawik, 2012). Die UrbanFarmers haben das Potential der Schweizer Fischzucht bemerkt. Der Import von Fisch betrug 2011 69'985 t (Wert 654 Mio. Fr.). Dazu kommt, dass der jährliche Ver-

zehr von Fisch in den letzten 20 Jahren um 15 % auf 9 kg/Person zugenommen hat (Schweizerischer Bauernverband, 2012). Sie möchten deshalb auf ungenutzten Dachflächen in der Stadt Aquaponic-Anlagen betreiben. So werden die Lebensmittel gleich dort produziert, wo sie auch verbraucht werden. Weite Transportwege entfallen. Das Zusammenspiel aus Fischzucht und Pflanzenanbau bringt den Vorteil, dass das Fischabwasser gleich als Dünger für die Pflanzen dient. Somit ist für das Pflanzenwachstum praktisch kein zusätzlicher Dünger erforderlich. Das Fischwasser wird durch einen Biofilter und Pflanzenkulturen gereinigt. Trotzdem muss noch ein Trommelfilter verwendet werden. Nach diesem fällt Fischgülle an, welche weiterbehandelt werden muss. Ein interessanter Ansatzpunkt für die UrbanFarmers wäre die Stabilisierung der Fischgülle durch Laktofermentation. Anschliessend kann sie z.B. wurmkompostiert und als Wurmerde weiterverkauft werden.

Diese Arbeit soll abklären, unter welchen Bedingungen eine Laktofermentation von Fischgülle möglich ist. Dies würde eine geruchsneutrale Stabilisierung und Lagerung der Fischgülle ermöglichen.

2 Grundlagen

2.1 Milchsäurebakterien

Die MSB umfassen gram-positive, nicht sporulierende, fakultativ anaerobe Kokken oder Stäbchen, welche als Hauptendprodukt aus der Fermentation von Kohlenhydraten Laktat bilden (Axelsson, 2004). Die typischen Vertreter sind die Gattungen *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Enterococcus* und *Leuconostoc* (Mayo et al., 2010).

Die MSB können je nach Stoffwechselweg in drei verschiedene Gruppen unterteilt werden (Brookes & Buckle, 1992).

Gruppe 1: Obligat homofermentativ: Hexosen werden im Embden-Meyerhof-Parnas-Weg in Laktat umgewandelt. Pentosen und Glukonat können nicht umgewandelt werden.

Gruppe 2: Fakultativ heterofermentativ: Im Normalfall wird Hexose homofermentativ zu Laktat umgewandelt. Bei bestimmten Bedingungen wird jedoch ein Gemisch aus Milch-, Essig-, Ameisensäure und Ethanol gebildet. Pentose wird heterofermentativ zu Laktat und Acetat abgebaut.

Gruppe 3: Obligat heterofermentativ: Hexose wird zu Laktat, CO₂ und Acetat oder Ethanol fermentiert. Pentose zu Laktat und Acetat.

Lb. plantarum und *Lb. casei* sind fakultativ heterofermentative MSB, *Pediococci* sind homofermentativ (Axelsson, 2004).

2.2 Milchsäuregärung

Bei der Milchsäuregärung werden wasserlösliche Kohlenhydrate durch Milchsäurebakterien in organische Säuren (hauptsächlich Laktat) umgewandelt. Zucker ist dabei die Energie- und Kohlenstoffquelle für die MSB. Bevor die Polysaccharide jedoch verwertet werden können, müssen sie durch Hydrolyse in Monosaccharide zerlegt werden. In Abbildung 1 sind die verschiedenen Wege des Glukose-Abbaus aufgeführt (Mayo et al., 2010).

Bei der homofermentativen Fermentation, dem Embden-Meyerhof-Parnas-Weg (A), wird 1 Hexose zu 2 Laktat abgebaut, wobei 2 ATP frei werden. CO₂ wird nicht gebildet. Unter bestimmten Bedingungen, wie z.B. der Kohlenstofflimitierung, kann sich die homofermentative Gärung in eine Mixed-acid Gärung (B) verändern. In diesem Fall werden neben Laktat auch Formiat, Ethanol, Acetat und CO₂ gebildet. Die maximale Acetatproduktion von *Lb. plantarum* findet bei aeroben Bedingungen unter Glukosemangel statt. In diesem Fall wird das Acetat aus Laktat gebildet.

Bei der heterofermentativen Milchsäuregärung, dem Phosphoketolase-Weg (C), wird 1 Pentose zu 1 Lactat und 1 Acetat abgebaut und 2 ATP freigesetzt. Im Falle von Hexosen wird 1 Glukose oder 1 Fructose zu 1 Lactat, 1 Ethanol und 1 CO₂ abgebaut, wobei 1 ATP frei wird. Energetisch gesehen lohnt sich der Abbau von Pentosen für die heterotrophen MSB mehr, da pro Molekül Zucker 1 ATP mehr gebildet wird.

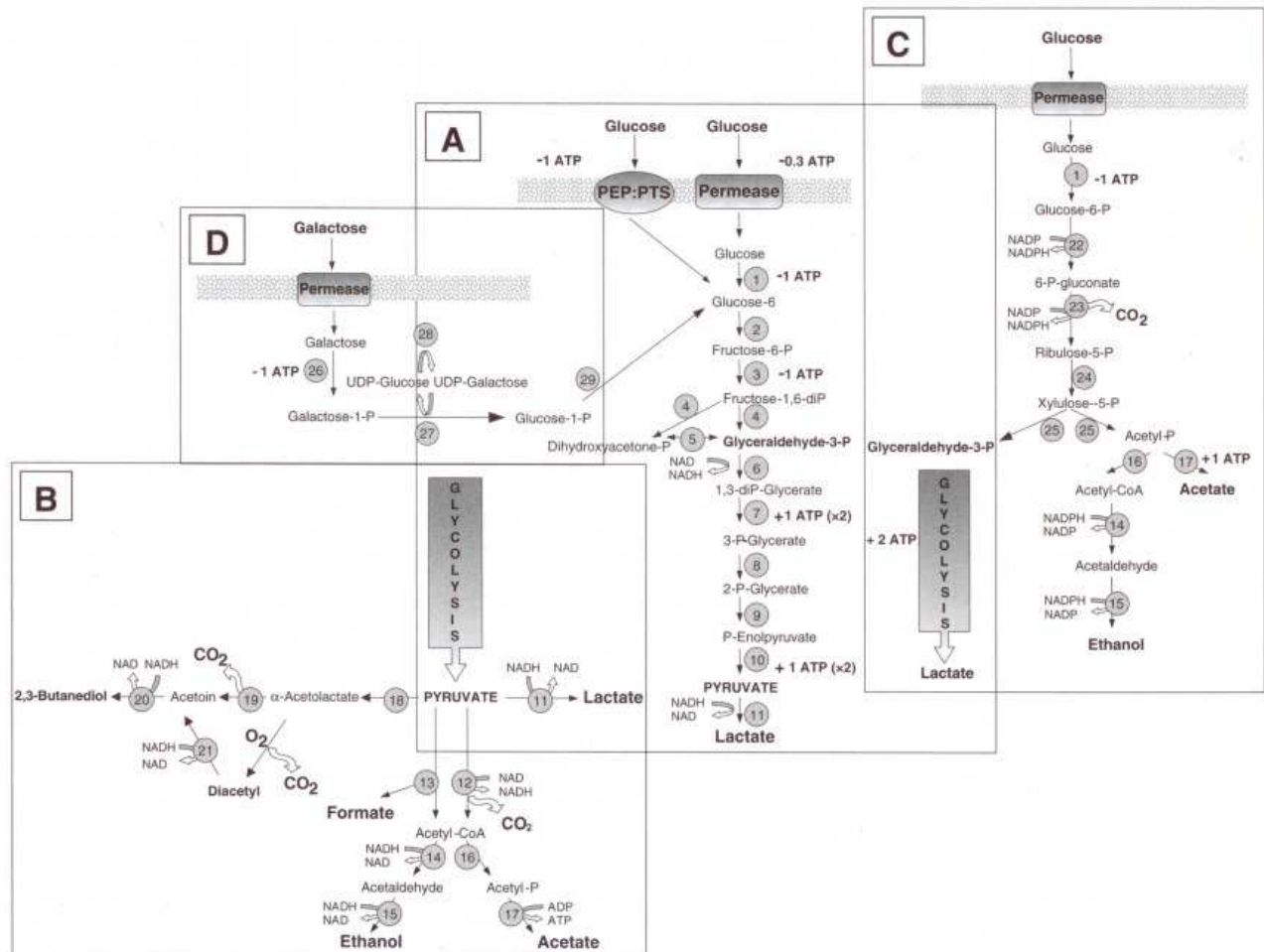


Abbildung 1: Wege des Glukose Metabolismus. A. Homofermentativ; B. Mixed-acid Metabolismus; C. Heterofermentativ; D. Leloir Weg (Mayo et al., 2010)

2.3 Silierung

Die Silage dient der Konservierung von Futtermitteln, wobei durch minimale Nährstoffverluste ein Futtermittel mit hohem Futterwert erreicht wird (McDonald, Henderson & Heron, 1991). Der Vorgang basiert auf der Laktofermentation durch MSB, welche wasserlösliche Kohlenhydrate, Proteine und Faserbestandteile anaerob zu organischen Säuren hydrolisieren (Pitt, 1992). Dies führt zu einer Senkung des pH-Wertes und somit zu einer Hemmung anderer unerwünschter Mikroorganismen (siehe Kapitel 2.4). Die Silage ist stabil, wenn in anaerobem Verhältnis keine Veränderung mehr auftritt. Bei der Entnahme können Probleme auftreten, wenn durch die Verbindung mit Luft-

sauerstoff die aeroben Mikroorganismen (v.a. Hefen Schimmelpilze, Bazillen und Essigsäurebakterien) reaktiviert werden (Weinberg & Muck, 1996).

Bei einem ungenügenden pH-Abfall besteht die Gefahr, dass sich Clostridien vermehren. Dies führt zu der Sekundär- oder Buttersäuregärung, bei welcher die Milchsäure zu Buttersäure und die Aminosäuren zu NH_3 umgewandelt werden. Dies führt zu einem Anstieg des pH-Wertes und zu Trockenmassenverlusten (Pahlow & Honig, 1986).

Die Silierung läuft besser ab, je höher der Gehalt an wasserlöslichen Kohlenhydraten, bzw. leicht vergärbaren Zuckern ist (Lang, Looser & Kühbauch, 1972). Für eine optimale Laktofermentation sollte der Anteil an wasserlöslichen Kohlenhydraten im Gärsubstrat mindestens 2 bis 3 % der Frischmasse ausmachen (Henderson & McDonald, 1984).

Vergärbarkeitskoeffizient nach Schmidt et al., (1971): $\text{VK} = \text{TM} + 8 \times \text{Z} / \text{PK}$. Dabei ist TM die Trockenmasse in Prozent des Gärguts, Z der Zuckergehalt in Prozent der TM und PK die Pufferkapazität, welche diejenige Menge an Milchsäure ausdrückt, welche benötigt wird, um 100 g Frischmaterial auf pH 4 einzustellen. Wenn der VK höher als 45 liegt und der NO_3 -Gehalt über 0.5 g/kg TM liegt, oder ein Keimbesatz von mindestens 10^5 MSB/g Frischmasse herrscht, ist mit grosser Wahrscheinlichkeit eine Buttersäurefreie Silage möglich (Weissbach & Honig, 1996).

Für die Animpfung der Silage genügt meist eine Konzentration von 10^5 – 10^6 lebenden Zellen pro Gramm Gärgut (Weinberg & Muck, 1996).

2.4 Hygienisierende Wirkung der Laktofermentation

Tabelle 1 zeigt die Hemmwirkung von *Lactobacillus plantarum* und *Pediococcus acidilactici* auf gesundheitsgefährdende MO's in Poulet Abfällen. Dazu wurden die Abfälle mit den MSB angeimpft und während 7-10 Tagen bei 30 °C bebrütet (El-Jalil, Zinedine & Faid, 2008).

Tabelle 1: Hemmwirkung von *Lb. plantarum* und *Pe. acidilactici* auf Bakterien, abgeändert (El-Jalil, Zinedine & Faid, 2008)

	% Hemmung	
	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Pe. acidilactici</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	75	50
<i>Lisrteria sp.</i>	100	100
<i>E. fecalis</i>	60	40
<i>Escherichia coli</i>	80	0
<i>Proteus sp.</i>	0	0
<i>Shigella dysenteria</i>	50	0
<i>Salmonella enteritica</i>	50	0
<i>Pseudomonas aerugenosa</i>	60	0

Bei einem pH-Wert von 4,1-4,5 kann *E. coli* noch Zellteilungen durchführen, solange andere Bedingungen nicht zusätzlich limitierend wirken, wie etwa eine Laktatkonzentration in der Umgebung die über 25-50 mmol (ca. 2,25- 4,5g/l) beträgt (Presser, Ratkowsky & Ross, 2007).

Weiter haben Versuche an der veterinärmedizinischen Fakultät in Leipzig gezeigt, dass sich durch die „Terra Preta“-Technologie *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Anatum*, *Salmonella Senftenberg*, *E. coli* O157 und *Staphylococcus aureus* innerhalb von drei Tagen inaktivieren. ECBO-Viren werden innerhalb von 1-2 Wochen und **Spulwurmeier innerhalb von 8 Wochen inaktiviert** (Krüger & Scheinemann, 2010).

2.5 Stand der Forschung bei der Laktofermentation von Fäkalstoffen

2.5.1 Verwendete Milchsäurebakterien

Versuche an der TUHH in Hamburg ergaben, dass sich die Kombination von *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* und *Pediococcus acidilactici* am besten für die Laktofermentation von menschlichen Fäkalien eignet. Bei Zugabe von 10% Molasse wurde der pH schneller abgesenkt und stabilisierte sich am Ende der Fermentation auf einem tieferen Wert (3.92), als wenn jedes MSB einzeln verwendet wurde (Yemaneh et al., 2012).

2.5.2 Zugabe von Molasse

Weiter ergaben die Versuche, dass bei einer Zugabe von 10 % (g/g) Molasse der pH in den ersten 5 Tagen von 5.2 auf einen Wert kleiner 4 fällt und bis zum Ende der Fermentation so bleibt. Weiter steigt die Konzentration von Milchsäure und von titrierbarer Gesamtsäure an, während die Produktion von flüchtigen Fettsäuren zurückgeht. Der Fäkalgestank wird durch einen säuerlichen Geruch ersetzt, welcher tolerierbar ist. Die E.coli-Bakterien sind nach 5 Tagen Fermentation eliminiert. Bei der TS und oTS sind keine Unterschiede erkennbar. (Yemaneh et al., 2012). FFS sind zu ca. 90 % für den schlechten Geruch verantwortlich (Sato et al., 2001).

Bei Zugabe von 5% (g/g) Molasse sinkt der pH-Wert auf 4.7 und der Fäkalgestank wird nicht vollständig eliminiert. Die E. coli sind nach 5 Tagen noch vorhanden, nach 3 Wochen jedoch auch eliminiert (Yemaneh et al., 2012).

Wenn nur die MSB ohne Molasse zugegeben werden, findet praktisch keine Veränderung in den Analyseparametern statt, da sich in den Fäkalien zu wenig Zucker befindet. Es ist jedoch möglich andere Zuckerquellen zu verwenden. So z.B. Küchenabfälle, deren Kohlenhydrate zuvor durch Hydrolyse in Monosacchariden aufgeschlossen wurden (Yemaneh et al., 2012).

2.5.3 Zugabe von Kohle

Wenn zusätzlich zu 10 % Molasse noch 10 % Kohle zugegeben werden, hat das einen positiven Effekt auf den Geruch. Er verschwindet praktisch vollständig und hat ausser einem leichten Anstieg des pH-Wertes keinen Einfluss auf die Fermentation (Yemaneh et al., 2012).

2.5.4 Analyseparameter

Der pH-Wert genügt nach den aktuellen Forschungen der veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig für die Beurteilung der Fermentation. Denn mit Start der Fermentation steigt die Azidität an. Wichtig ist, dass je nach Ausgangssubstrat das anaerobe Milieu und der tiefe pH für eine Gewisse Zeit aufrechterhalten wird (Krüger & Scheinemann, 2010).

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Stämme

Verwendet wurden die gefriergetrockneten Stämme *Pediococcus acidilactici* LMG 11384 und *Lactobacillus casei* LMG 6904, welche bei der BCCM (Belgian Co-ordinated Collections of Microorganisms) bestellt wurden. Sowie der Stamm *Lactobacillus plantarum* DSM 20174 als Reinkultur auf Agar, welcher vom ILGI (Institut für Lebensmittel- und Getränkeinnovation) der ZHAW Wädenswil bezogen wurde (Kontaktinformation siehe Anhang Seite 48).

3.1.2 Medium

Für die Kultivierung der MSB wurde die M.R.S. Bouillon der Firma OXOID mit der Produktnummer CM0359B verwendet. Es ist ein nicht-selektives Medium speziell für das Wachstum von MSB.

Tabelle 2: Inhaltsstoffe in g/l

Pepton aus Casein	10
Fleischextrakt	8
Hefeextrakt	4
D(+)-Glucose	20
Tween 80	1 ml
di-Kaliumhydrogenphosphat	2
Natriumacetat x 3 H ₂ O	5
Triammoniumcitrat	2
Magnesiumsulphat x 7 H ₂ O	0.2
Mangansulphat x 4 H ₂ O	0.05
pH 6.2 ± 0.2 bei 25 °C	

3.1.3 Glukose

Die Glukose wurde im Coop Wädenswil gekauft. Sie ist dort mit einem Glukosegehalt von 91 % in 180 g Päckchen erhältlich.

3.1.4 Fischgülle



Abbildung 2: Sammlung der FG

Die Fischgülle stammt aus dem Tilapiabecken der ZHAW Wädenswil. Gefüttert werden die Fische mit dem Futter Hokovit Tilapia Vegi. Das Wasser wird mit einem Trommelfilter gereinigt. Das in Intervallen anfallende Rückspülwasser wird durch ein Vlies gefiltert, welches an einer Bäckerkiste angebracht wurde (Abbildung 2). Die so anfallende Fischgülle wird eine Woche lang gesammelt und anschliessend während 24 h abgetropft.

Tabelle 3: Elementaranalyse des TR der verwendeten Fischgülle [% vom TR]

	C _{total} [%]	C _{org} [%]	H [%]	N [%]	P [%]
Fischgülle vom 22.11.12	42.1	41.3	5.31	5.53	2.1

3.2 Vorgehen

3.2.1 Bakterien

In diesen Versuchen wird mit Reinkulturen gearbeitet. Deshalb werden alle Arbeitsschritte mit sterilem Material im Flow Bench ausgeführt. Arbeitsmaterial und Medium werden im Autoklaven während 15 min bei 121 °C sterilisiert.

Präparation: Die MSB werden in einem 200 ml Erlenmeyerkolben in 100 mL M.R.S.-Broth suspendiert. Bei *Pe. acidilactici* und *Lb. casei* wird dabei wie in der Anleitung vom BCCM beschrieben vorgegangen (siehe Anhang Seite 52). *Lb. plantarum* wird mit einem Spatel von der Agar-Platte ins Medium transferiert. Anschliessend werden die Erlenmeyerkolben mit Alufolie zugedeckt und in einem Schüttler bei 37 °C bebrütet. Nach 24 h werden die Bakterien noch einmal überimpft. Dazu wird von jedem Stamm 1 ml Bakteriensuspension in 100 ml frisches Medium gegeben und wieder bei 37 °C im Schüttler bebrütet. Nach 20 h befinden sich die MSB im exponentiellen Wachstum (Yemaneh et al., 2012) und können weiterverwendet werden.

Kulturerhaltung: Die MSB werden im Gefrierschrank bei -86 °C eingelaagert. Dazu wird die Bakteriensuspension im exponentiellen Wachstum mit steril filtriertem Glycerin versetzt, so dass eine Endkonzentration von 15 % Glycerin entsteht. Das Glycerin wird vor der Filtration 1:1 mit H₂O deion. verdünnt, damit es besser handhabbar ist. Anschliessend werden von jedem Stamm 5 Portionen à 7 ml in 15 ml Falcon Tubes abgefüllt und eingefroren. Da Glycerin für die MSB toxisch ist, sollten sie nach dem Vermischen schnell eingefroren werden.

Animpfen: Die gefrorenen MSB werden dem Gefrierschrank entnommen und bei Raumtemperatur aufgetaut. Anschliessend werden je 1 ml in einem 200 ml Erlenmeyerkolben in 100 ml Medium suspendiert. Die Kolben werden mit Alufolie zugedeckt und im Schüttler bei 37 °C bebrütet. Nach 24 h werden je 1 ml der Bakterien in einem 300 ml Erlenmeyerkolben in 200 ml Medium suspendiert und 20 h im Schüttler bei 37 °C bebrütet. Anschliessend wird mit dem OD600 die Bakterien-dichte ermittelt und je nach Ansatz die entsprechende Anzahl MSB zugegeben.

3.2.2 Versuche



Abbildung 3: Ansätze der Hauptversuchsreihe 3

Die Ansätze einer Versuchsreihe werden entsprechend der Zusammensetzung (Tabelle 4 bis Tabelle 7) gemischt. Jeder Ansatz wird doppelt durchgeführt. Dazu wird die 2.5-fache Menge des Ansatzes in 1 l Schottflaschen gemischt und gut geschüttelt. Dann wird die entsprechende Menge in je 2 Soda-Club Flaschen abgefüllt. Das restliche Material wird für die Startwert-Analysen verwendet. So kann sichergestellt werden, dass die beiden Ansätze das gleiche Mischverhältnis aufweisen. Anschliessend werden die Flaschen verschlossen und geschüttelt während 12 Tagen bei 37 °C fermentiert.

VV2

Tabelle 4: Übersicht über die Ansätze des VV2

		FG [g]	Glu 91% [g]	Lb.p [ml]	Lb.c [ml]	Pc.a [ml]
1	FG	250.0	0	0	0	0
1-D	FG	250.0	0	0	0	0
2	FG / 10%Glu	222.5	27.5	0	0	0
2-D	FG / 10%Glu	222.5	27.5	0	0	0
3	FG / MSB	250.0	0	11.7	10.5	7.8
3-D	FG / MSB	250.0	0	11.7	10.5	7.8
4	FG / 10%Glu / MSB	222.5	27.5	11.7	10.5	7.8
4-D	FG / 10%Glu / MSB	222.5	27.5	11.7	10.5	7.8

Die zugegebene MSB-Menge entspricht je Stamm 2.07E+08 KbE / g Ausgangsmaterial.

HV1

Tabelle 5: Übersicht über die Ansätze des HV1

		FG [g]	Glu 91% [g]	Lb. p [ml]	Lb. c [ml]	Pc. a [ml]
1	FG	400.0	0	0	0	0
2	FG / MSB	400.0	0	7.5	8.1	8.4
3	FG / 2.5%Glu / MSB	389.0	11.0	7.5	8.1	8.4
4	FG / 5%Glu / MSB	378.0	22.0	7.5	8.1	8.4
5	FG / 7.5%Glu / MSB	367.0	33.0	7.5	8.1	8.4
6	FG / 10%Glu / MSB	356.0	44.0	7.5	8.1	8.4

Die zugegebene MSB-Menge entspricht je Stamm 7.98E+07 KbE / g Ausgangsmaterial

HV2

Tabelle 6: Übersicht über die Ansätze des HV2

		FG [g]	Glu 91% [g]	Lb.p [ml]	Lb.c [ml]	Pc.a [ml]
1	FG	400.0	0	0	0	0
2	FG / 0.5%Glu / MSB	397.8	2.2	8.2	6.5	5.0
3	FG / 1%Glu / MSB	395.6	4.4	8.2	6.5	5.0
4	FG / 1.5%Glu / MSB	393.4	6.6	8.2	6.5	5.0
5	FG / 2%Glu / MSB	391.2	8.8	8.2	6.5	5.0
6	FG / 2.5%Glu / MSB	389.0	11.0	8.2	6.5	5.0

Die zugegebene MSB-Menge entspricht je Stamm 7.98E+07 KbE / g Ausgangsmaterial

HV3

Tabelle 7: Übersicht über die Ansätze des HV3

		FG [g]	Glu 91% [g]	Lb.p [ml]	Lb.c [ml]	Pc.a [ml]	Lb.p [KbE/g]	Lb.c [KbE/g]	Pc.a [KbE/g]
1	FG	400.0	0	0	0	0	0	0	0
2	1.00E+06	391.2	8.8	0.161	0.103	0.095	1.00E+06	1.00E+06	1.00E+06
3	3.00E+06	391.2	8.8	0.482	0.308	0.286	3.00E+06	3.00E+06	3.00E+06
4	9.00E+06	391.2	8.8	1.446	0.923	0.859	9.00E+06	9.00E+06	9.00E+06
5	2.70E+07	391.2	8.8	4.337	2.769	2.578	2.70E+07	2.70E+07	2.70E+07
6	8.10E+07	391.2	8.8	13.012	8.308	7.733	8.10E+07	8.10E+07	8.10E+07

3.2.3 Analytik

Druck/Gasentstehung: Der Druck in der Soda-Clubflasche wird während der Fermentationszeit täglich gemessen. Durch das bekannte Volumen der Gasphase in der Flasche kann das entstandene Gasvolumen berechnet werden. Dieses wird bei Normalbedingungen angegeben ($p_0 = 101'325 \text{ Pa}$; $T_0 = 273.15 \text{ K}$). Dazu wird folgende Formel verwendet: $pV = nRT$. Das entstandene Gas wird anschliessend in einen Gassack abgelassen und mit dem Manometer analysiert. Dazu ist jedoch eine Gasmenge von mindestens einem Liter notwendig.



Abbildung 4: Gasvolumen

pH: Nach der Gasmessung wird der pH-Wert direkt im Reaktionsbehälter gemessen. Gemessen wird vor der Fermentation und täglich während der 12 tägigen Fermentationszeit. Nach der Messung wird die Flasche 2 Mal mit der Vakuumpumpe auf -700 mbar evakuiert und mit N₂ geflutet. Anschliessen werden die Flaschen wieder bei 37 °C geschüttelt. Nach 30 min wird das durch den Temperaturanstieg ausgedehnte Gas aus der Flasche abgelassen.

HPLC / GC: Die Proben werden in 50 ml Falcon-Tubes 15 min bei 9'000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird anschliessend in ein neues 50 ml Falcon Tube geleert und bei -18 °C gelagert. Für die Analyse werden die Proben bei Raumtemperatur aufgetaut und in 15 ml Falcon Tubes bei 12'000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird mit 20 ml Spritzen durch 0.45 µm Filteraufsätze gepresst.

Die genauen Analyse-Methoden für GC und HPLC können dem Anhang auf den Seiten 53 und 54 entnommen werden.

Titrierbare Gesamtsäure: Wird vor und nach der Fermentation ermittelt. Die unfiltrierten Proben werden mit H₂O déion. im Verhältnis 1:1 verdünnt und im Kühlschrank auf 4-6 °C abgekühlt. Anschliessend werden sie mit 0.1 molarer NaOH bis zum pH 8.3 (Umschlagspunkt Phenolphthalein) titriert.

Trockenrückstand: Die Proben werden in Aluschalen gefüllt, so dass der Boden überall bedeckt ist. Anschliessend werden sie im Trockenschrank bei 105 °C über Nacht getrocknet.

Organische Trockenmasse: Den TR wird im Mörser zerkleinert und gleichmässig in eine Aluschale verteilt. Anschliessend wird ca. 2 ml Ethanol 70 % zugegeben und entzündet. Dann wird die Aluschale mit TR 60 Minuten im vorgeheizten Muffelofen bei 550 °C verglüht. Die Schalen werden entnommen und im Exsikkator ausgekühlt.

Geruch: Der Geruch wird vor und nach der Fermentation mit der menschlichen Nase beurteilt.

OD600: Die Bakteriensuspension wird 25-fach verdünnt. Dazu wird 5 ml der Bakteriensuspension in einem 25 ml Messkolben mit Medium auf 25 ml aufgefüllt. Davon werden 0.8 ml entnommen und zusammen mit 3.2 ml Medium in eine Küvette gegeben. Dann wird mit einem Photospektrometer die Extinktion bei einer Wellenlänge von 600 nm ermittelt. Als Nullwert wird das Medium gemessen.

4 Resultate

4.1 Vorversuche 2 (VV2)

4.1.1 Fragestellung

Die Vorversuche 2 wurden durchgeführt, um abzuklären, ob Fischgülle einer Lactofermentation unterzogen werden kann. Auch soll abgeklärt werden, ob das tägliche Öffnen der Ansätze den Versuch beeinflussen. Deshalb wurde die tägliche pH-Messung nur bei den Ansätzen 1,2,3 und 4 durchgeführt. Die Ansätze mit der Zusatzbezeichnung D wurden während der 12 tägigen Fermentationszeit nicht geöffnet. Die Rohdaten des VV2 befinden sich im Anhang ab Seite 55.

4.1.2 pH-Verlauf und Gasentwicklung

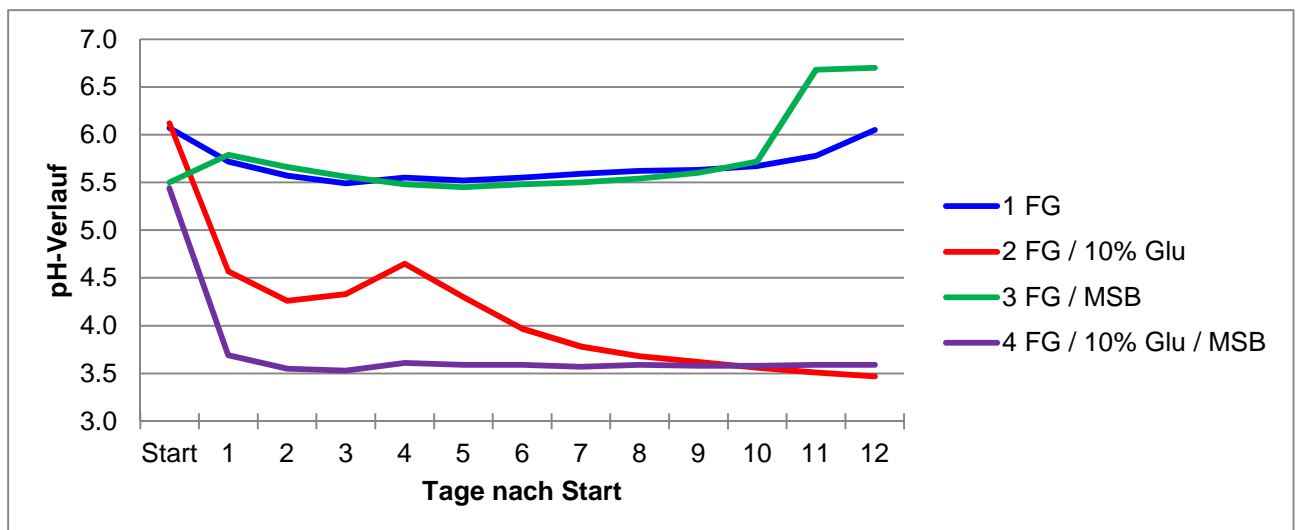


Abbildung 5: pH-Verlauf des VV2

Der pH der Ansätze 2 und 4 mit 10 % Glukose sinkt schon am 1. Tag massiv ab (Abbildung 5). Bei Ansatz 4 auf einen Wert von 3.69. Nach der 12 tägigen Fermentationszeit weist Ansatz 2 einen pH von 3.47 auf und befindet sich noch am Sinken. Ansatz 4 stabilisiert sich nach 5 Tagen bei einem pH-Wert von 3.59. Die Ansätze 1 und 3 ohne Glukose stabilisieren sich bis zum Ende der Messung nicht. Ihr pH verläuft fast identisch. Nur, dass der Ansatz mit MSB aufgrund des sauren Mediums bei einem tieferen Wert startet. Ohne Glukose beträgt der minimale Messwert 5.45 nach 5 Tagen. Danach steigt der pH wieder an, wobei die Zunahme am Schluss am höchsten ist (siehe Anhang Seite 56).

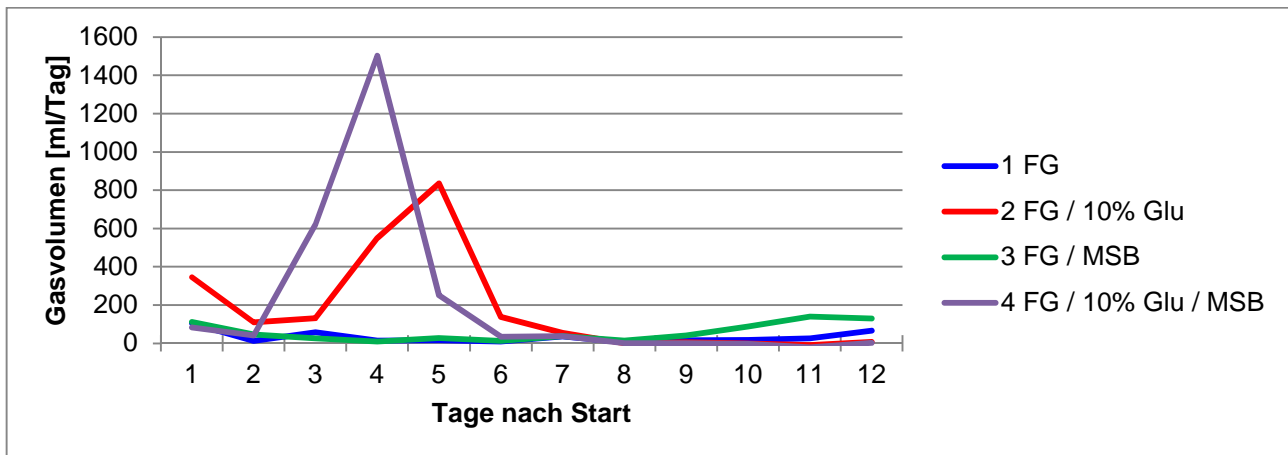


Abbildung 6: Durchschnittliche Gasentwicklung des VV2

Die Ansätze 2 und 4, mit 10% Glukose, haben während 2 Tagen eine hohe CO₂ Entwicklung (Abbildung 6). Diese ist bei Ansatz 4 am höchsten und beträgt am 4. Tag 1.5 l/Tag. Ab dem 8. Tag stabilisiert sich die Gasentwicklung bei Werten zwischen -21 und 8 ml/Tag. Die Ansätze 1 und 3 stabilisieren sich bis zu Messende nicht. Die Gasentwicklung steigt gegen Schluss bei Ansatz 1 auf 67 ml/Tag an. Bei Ansatz 3 auf 129 ml/Tag.

Tabelle 8: Gesamte durchschnittliche Gasentwicklung während den 12 Tagen [ml]

FG	FG / 10% Glu	FG / MSB	FG / 10% Glu / MSB
384	2172	687	2549

Die gesamte Gasentwicklung während den 12 Tagen ist bei den Ansätzen mit 10 % Glukose am höchsten. MSB führt zu einer höheren Gasentwicklung (Tabelle 8).

4.1.3 TR/oTR

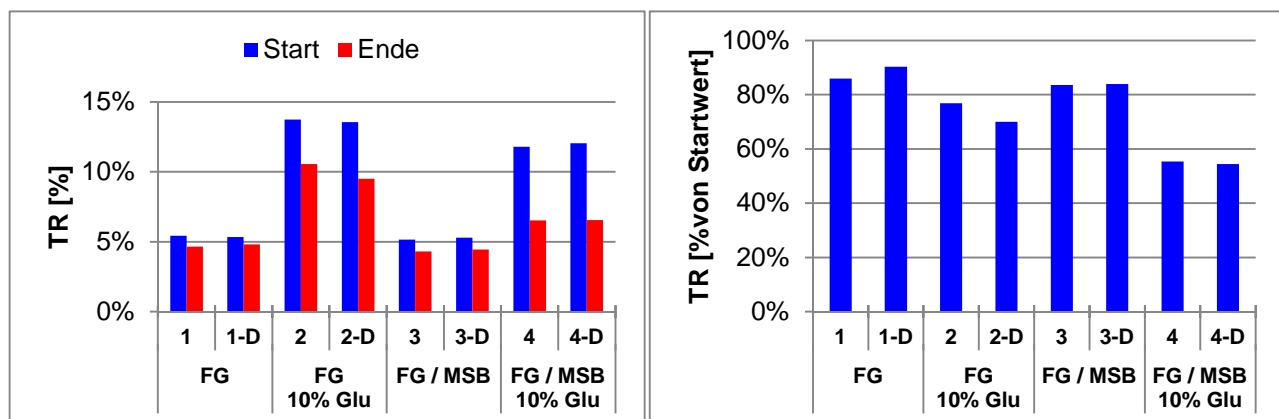


Abbildung 7: TR des VV2; rechts der Endwert in Abhängigkeit vom Startwert

Durch die Fermentation nimmt der TR bei den Ansätzen 2 und 4 stärker ab, als bei 1 und 3 ohne Glukose (Abbildung 7). Der Vergleich zwischen Ansatz 2 und 4 zeigt, dass der TR durch die Zugabe von MSB, im Vergleich zum Startwert, um ca. 15 % mehr auf 55 % abnimmt.

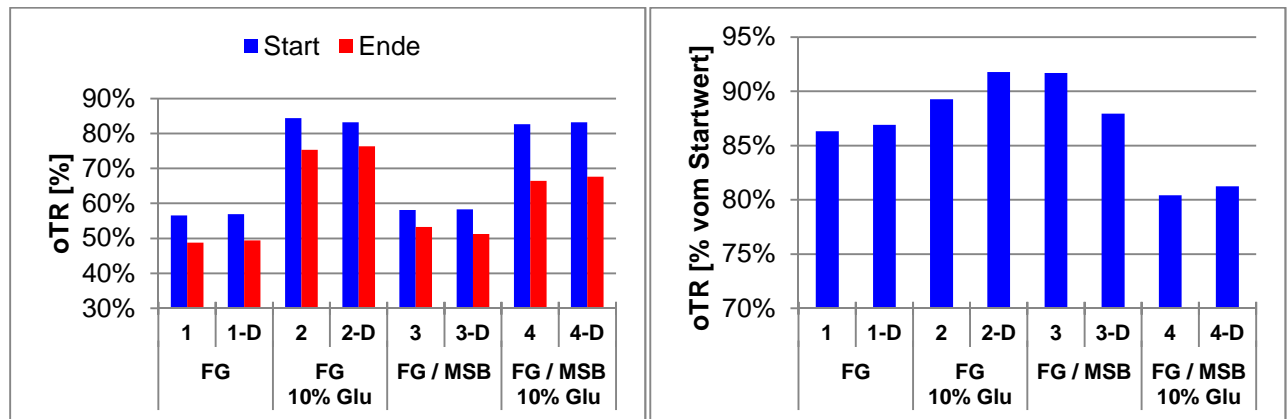


Abbildung 8: oTR des VV2; rechts der Endwert in Abhängigkeit vom Startwert

Der oTR ist bei den Ansätzen mit Glukose höher als bei den Anderen (Abbildung 8). Der oTR am Fermentationsende beträgt bei den Ansätzen 1-3 zwischen 86 % und 92 % vom Startwert. Bei Ansatz 4 beträgt er mit 81 % vom Startwert am wenigsten.

4.1.4 Lactat / flüchtige Fettsäuren

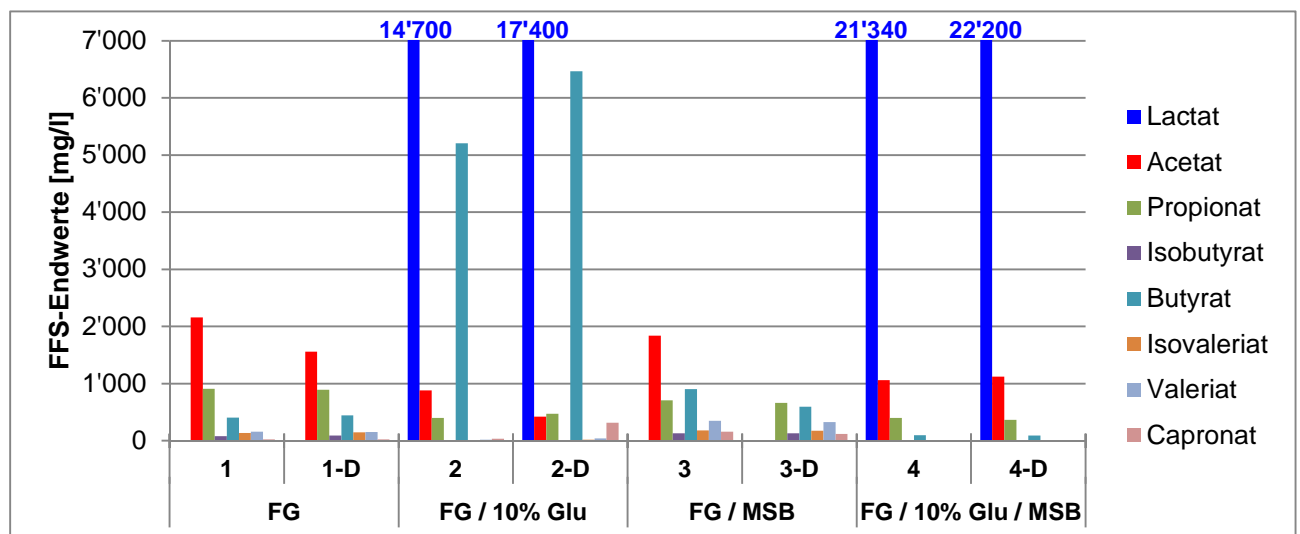


Abbildung 9: Übersicht über die Endwerte der FFS des VV2 (FFS im Detail siehe Anhang Seite 57)

Bei den Versuchen 2 und 4 Milchsäure ist entstanden (Abbildung 9). Beim 2 ist auch noch eine grosse Menge Buttersäure entstanden. Die 3. Häufigste FFS ist Acetat, gefolgt von Propionat. Bei Versuch 4 sind nach Abzug von Laktat am wenigsten FFS entstanden (Tabelle 9).

Tabelle 9: Durchschnittliche Summe der FFS ohne Lactat bei Fermentationsende [mg/l]

FG	FG / 10% Glu	FG / MSB	FG / 10% Glu / MSB
3'588	7'128	3'137	1'600

Lactat: Wird nur bei den Versuchen 2 und 4 gebildet. Beim Ansatz 4 wird mehr als 21 g/l gebildet.

Acetat: Beim Ansatz 2 wird am wenigsten gebildet. Auffallend ist, dass Ansatz 3-D am Ende kein Acetat aufweist.

Propionat: Ansatz 4 bildet am wenigsten Propionat. Grundsätzlich kann gesagt werden, dass die Zugabe von Glukose und/oder die Zugabe von MSB dazu führt, dass weniger Propionat gebildet wird.

Isobutyrat: Wird nur bei den Ansätzen 1 und 3 gebildet.

Butyrat: Bei Ansatz 4 ist die Endkonzentration mit 93 mg/l am tiefsten. Bei Ansatz 1 beträgt sie schon 400 mg/l. Bei Ansatz 2 ist sie am höchsten und beträgt mehr als 5.2 g/l.

Isovaleriat: Wird vor allem bei den Ansätzen 1 und 3 gebildet. Bei Ansatz 4 ist die Endkonzentration mit 10 mg/l sehr gering.

Valeriat: Wird vor allem bei Ansatz 1 (154 mg/l) und Ansatz 3 (326 mg/l) gebildet. Bei Ansatz 4 beträgt die Endkonzentration 13 mg/l.

Capronat: Wird bei Ansatz 3 und 2-D gebildet. Bei Ansatz 4 ist die Endkonzentration am kleinsten.

4.1.5 Fazit VV2

Die VV2 zeigen, dass mit FG eine Laktofermentation durchgeführt werden kann. Die Versuchsreihe mit der Bezeichnung D weist keine regelmässigen Abweichungen von den täglich geöffneten Ansätzen auf. Somit kann gesagt werden, dass die Analysen keinen Einfluss auf die Versuche haben.

4.2 HV1

4.2.1 Fragestellung

Aus den VV2 ist bekannt, dass die FG mit Zugabe von Glukose und MSB stabilisiert werden kann. Ein Problem ist jedoch noch die hohe CO₂-Entwicklung, welche auf Glukose zurückzuführen ist. Die Hauptversuche 2 sollen nun die optimale Glukosekonzentration im Fermentationsmaterial abklären. Nachfolgend die Resultate des HV1. Die Rohdaten dazu befinden sich im Anhang ab Seite 58.

4.2.2 pH-Verlauf / Gasentwicklung

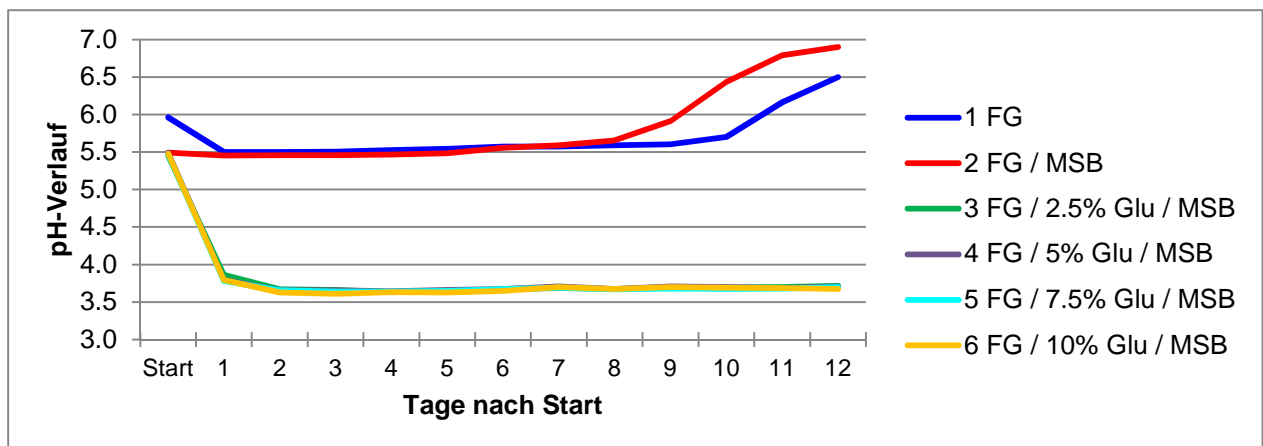


Abbildung 10: Durchschnittlicher pH-Verlauf des HV1

Bei einer Zugabe von 2.5 % bis 10 % Glukose besteht kein Unterschied im pH-Verlauf (Abbildung 10). Der pH der Ansätze 3-6 sinkt in den ersten 24 h bereits unter einen Wert von 3.86 und stabilisiert sich nach 3 Tagen bei Werten zwischen 3.61 bis 3.71 (Anhang Seite 59).

Die Kontrollen 1 und 2 verhalten sich in den ersten 8 Tagen gleich (Ansatz 2 startet aufgrund der MSB jedoch bei einem tieferen pH-Wert). Anschliessend steigt der pH an und befindet sich nach 12 Tagen auf einem Wert von 6.9, Tendenz steigend. Ansatz 1 beginnt nach 10 Tagen zu steigen und befindet sich nach 12 Tagen auf einem Wert von 6.5, Tendenz steigend. Der tiefste Wert beträgt 5.46 am 2. Tag.

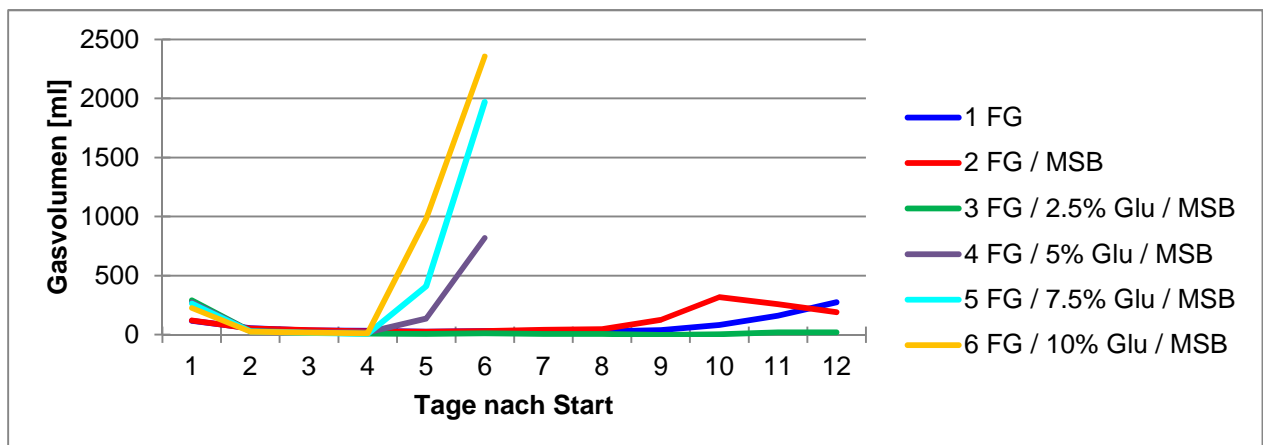


Abbildung 11: Durchschnittliche Gasentwicklung des HV1

Bei Glukosekonzentrationen von mehr als 2.5 % nimmt die Gasentwicklung mit der Glukosekonzentration zu (Abbildung 11). Bei den Ansätzen 5b und 6b ist die CO₂-Entwicklung am 5. Und 6. Tag so hoch, dass der maximale Messwert des Manometers von 5.194 bar überschritten wird. Daraufhin wird die Druckmessung für die Versuche 4-6 abgebrochen. Ansatz 3 mit 2.5 % Glukose

pendelt sich ab dem 3. Tag bei einem Wert zwischen -2 und 20 ml/Tag ein. Bei Ansatz 1 entsteht ab dem 10. bei Ansatz 2 ab dem 9. Tag Methangas.

4.2.3 TR/oTR

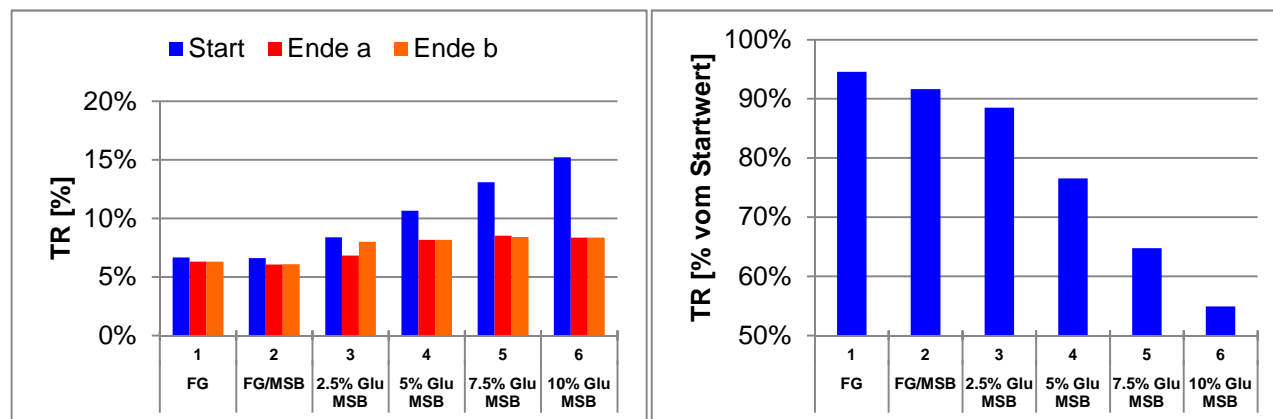


Abbildung 12: TR des HV1; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit vom Startwert

Der Start-TR steigt, je mehr Glukose zugegeben wird (Abbildung 12). Der TR am Fermentationsende ist bei den Ansätzen 3-6 mit Glukose ungefähr gleich gross. Daher ist der End-TR im Vergleich zum Startwert kleiner, je mehr Glukose zugegeben wird.

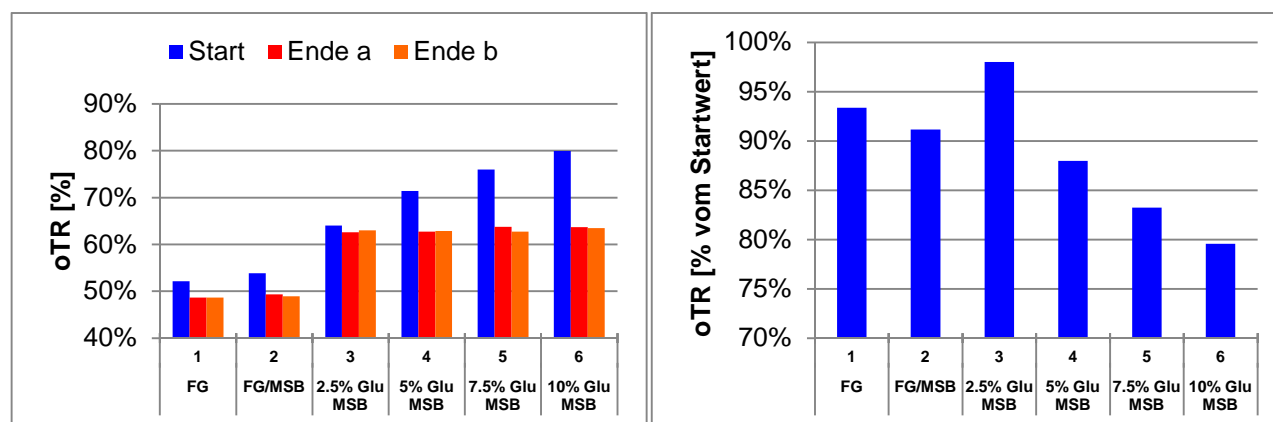


Abbildung 13: oTR des HV1; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit vom Startwert

Der oTR der Ansätze 3-6 steigt, je mehr Glukose zugegeben wird (Abbildung 13). Der oTR nach Fermentationsende beträgt bei diesen Ansätzen um die 62 %. Beim Ansatz 3 mit 2.5 % Glukose beträgt der oTR nach der Fermentation noch 98 % des Startwerts. Bei den Versuchen 3-6 nimmt er im Verhältnis zum Startwert stärker ab, je mehr Glukose enthalten ist.

4.2.4 Lactat / flüchtige Fettsäuren

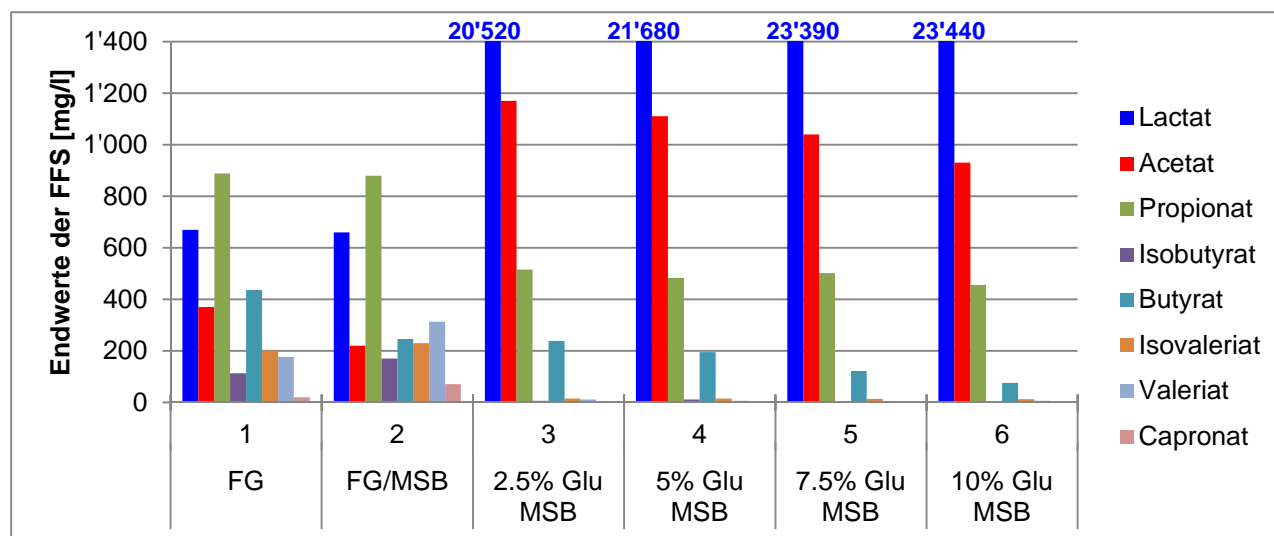


Abbildung 14: Übersicht über die durchschnittlichen Endwerte der FFS des HV1 (FFS im Detail Anhang Seite 60)

Abbildung 14 zeigt, dass nach der Fermentation alle Ansätze mit Glukose eine Laktatkonzentration von über 20 g/l aufweisen. Während bei den beiden Kontrollen 1+2 sämtliche FFS vertreten sind, sind es bei den Ansätzen 3-6 neben dem Laktat vor allem Acetat, Propionat und Buttersäure.

Tabelle 10: Durchschnittliche Endkonzentration der FFS ohne Laktat der HV1 [mg/l]

FG	FG / MSB	2.5% Glu MSB	5% Glu MSB	7.5% Glu MSB	10% Glu MSB
2'205	2'131	1'958	1'822	1'689	1'481

Nachfolgend die FFS im Detail. Falls nicht anders angegeben, handelt es sich bei den Wertangaben um durchschnittliche Endwerte der Ansätze a+b.

Lactat: Wird bei den Ansätzen 3-6 gebildet. Am meisten bei Ansatz 6 mit 23.4 g/l. Mit der Glukosekonzentration steigt auch der Produktion von Lactat.

Acetat: Wird vor allem bei den Ansätzen 3-6 gebildet. Die höchste Endkonzentration hat Ansatz 3 mit 1.17 g/l. Mit Erhöhung der Glukosekonzentration sinkt die Endkonzentration des Acetats. Ansatz 6 hat nur noch 0.93 g/l. Bei Ansatz 2 beträgt die Endkonzentration ca. ¼ des Startwertes.

Propionat: Bei den Ansätzen 3-6 beträgt die Endkonzentration zwischen 516 mg/l und 456 mg/l. Mit Erhöhung der Glukosekonzentration nimmt Propionat tendenziell leicht ab. Bei den Ansätzen 1 (888 mg/l) und 2 (880 mg/l) beträgt die Konzentration ca. gleich viel. Nur MSB ohne Glukose hat also keinen Einfluss.

Isobutytrat: Wird vor allem bei den Versuchen 1 (113 mg/l) und 2 (170 mg/l) gebildet.

Butyrat: Am höchsten ist die Endkonzentration bei Ansatz 1 mit 436 mg/l. Von Ansatz 3 (239 mg/l) bis Ansatz 6 (76 mg/l) nimmt sie ziemlich gleichmässig ab.

Isovaleriat: Wird vor allem bei den Ansätzen 1 (201 mg/l) und 2 (230 mg/l) gebildet.

Valeriat: Wird vor allem bei den Ansätzen 1 (177 mg/l) und 2 (313 mg/l) gebildet.

Capronat: Wird nur bei den Ansätzen 1 (20 mg/l) und 2 (71 mg/l) gebildet.

4.2.5 Fazit HV1

Die HV1 zeigen, dass bei Glukosekonzentrationen von 2.5 % bis 10 % eine Milchsäuregärung stattfindet. Bei 2.5 % Glukose findet auch die extreme CO₂-Entwicklung nicht statt. Die minimale Glukosekonzentration welche für eine Laktofermentation benötigt wird, konnte noch nicht ermittelt werden. Daher ist es noch nicht möglich zu sagen, wie viel Glukose der Fermentation optimaler Weise zugegeben werden soll.

4.3 Hauptversuche 2

4.3.1 Fragestellung

Die Hauptversuche 2 werden durchgeführt, um die minimale Glukosekonzentration zu ermitteln, welche für eine Laktofermentation von Fischgülle benötigt wird. Nachfolgend sind die Resultate des HV2 aufgeführt. Die Rohdaten befinden sich im Anhang ab Seite 61.

4.3.2 pH-Verlauf / Gasentwicklung

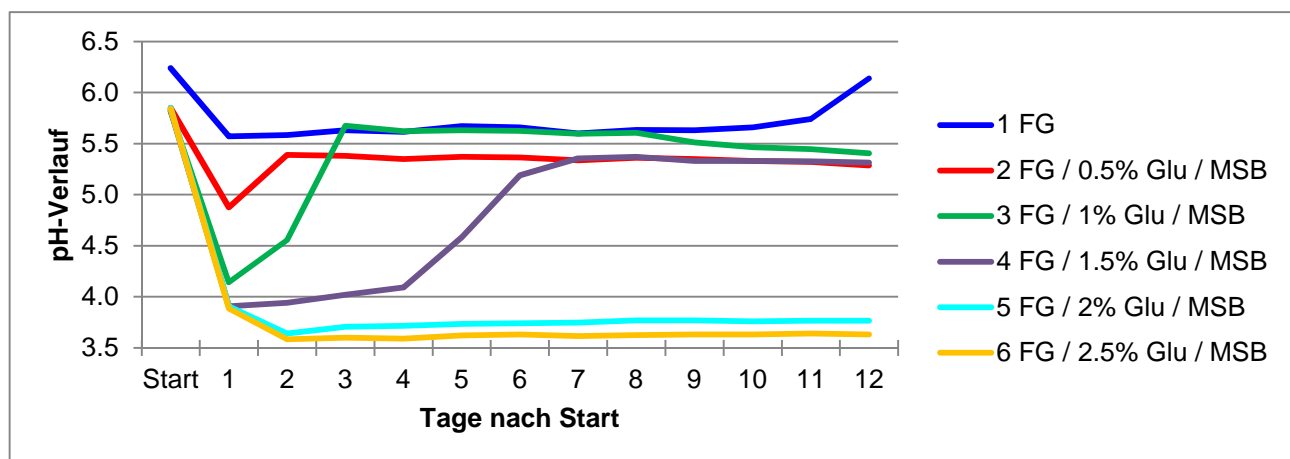


Abbildung 15: Durchschnittlicher pH-Verlauf des HV2

Der pH der Versuche 5+6 fällt innert 24 h auf einen Wert kleiner 4 (Abbildung 15). Ansatz 5 pendelt sich bei einem Wert von 3.76 ein und Ansatz 6 stabilisiert sich bei einem Wert von 3.63. Bei den Ansätzen 2-5 fällt der pH am ersten Tag auch, doch am 2. Tag beginnt er schon wieder zu steigen und befindet sich am 12. Tag bei einem Wert von 5.29 bis 5.41. Ansatz 1 fällt am ersten

Tag auf 5.52 und steigt dann bis zum 11. Tag kontinuierlich auf einen Wert von 5.74 an. Am 12. Tag beträgt der pH 6.14, Tendenz steigend (Anhang Seite 62).

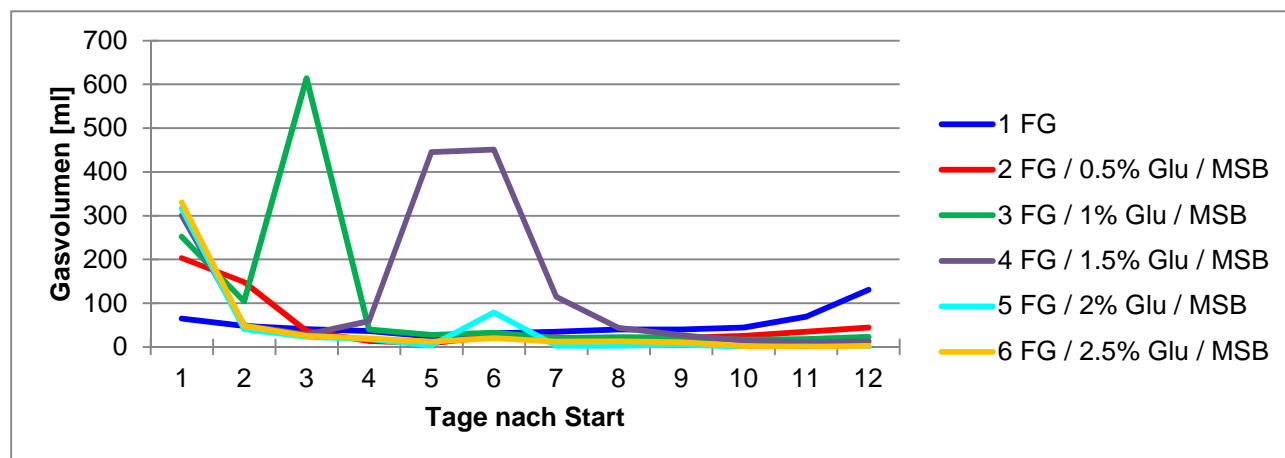


Abbildung 16: Durchschnittliche Gasentwicklung des HV2

Ansatz 3 weist am 3. Tag und Ansatz 4 am 5. und 6. Tag eine CO₂-Entwicklung von über 450 ml pro Tag auf (Abbildung 16). Weiter ist die CO₂-Entwicklung am 1. Tag grösser, wenn mehr Glukose im Fermentationsmaterial enthalten ist. Die Ansätze 5 und 6 pendeln sich ab dem 10. Tag auf einem Wert zwischen -1 ml/Tag und 2 ml/Tag ein. Auf der anderen Seite steigt bei den Ansätzen 1 und 2 die Gasentwicklung ab dem 10. Tag an. Die totale durchschnittliche Gasentwicklung ist bei den Ansätzen mit 2% und 2.5% Glukose am geringsten (Tabelle 11).

Tabelle 11: Gesamte durchschnittliche Gasentwicklung über die 12 Tage [ml]

FG	0.5% Glu / MSB	1% Glu / MSB	1.5% Glu / MSB	2% Glu / MSB	2.5% Glu / MSB
604	598	1192	1555	494	496

4.3.3 TR / oTR

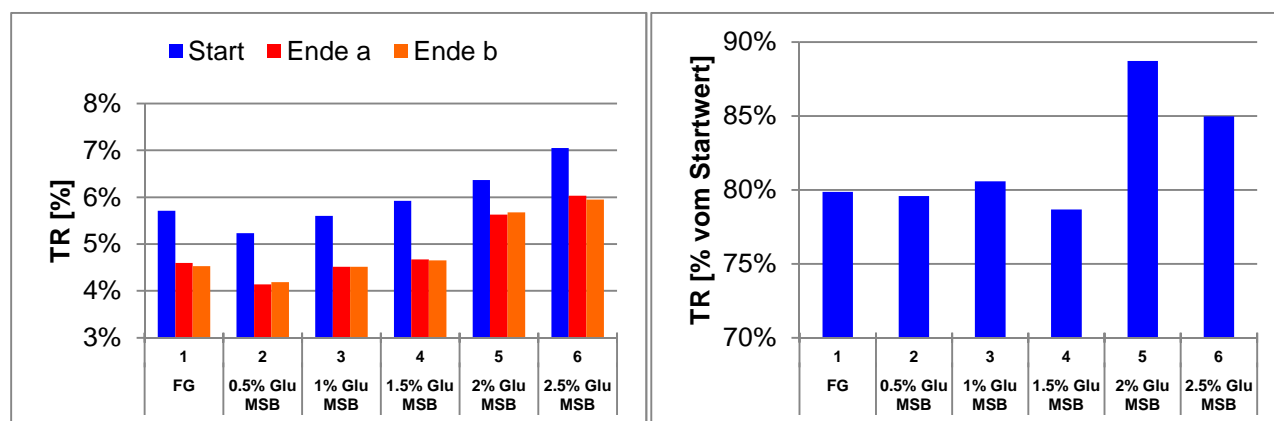


Abbildung 17: TR des HV2; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit vom Startwert

Der Start-TR steigt mit Zugabe von Glukose (Abbildung 17). Bei Ansatz 4 mit 1.5 % Glukose nimmt der TR im Vergleich zum Startwert am meisten ab. Bei Ansatz 5 mit 2 % Glukose am wenigsten.

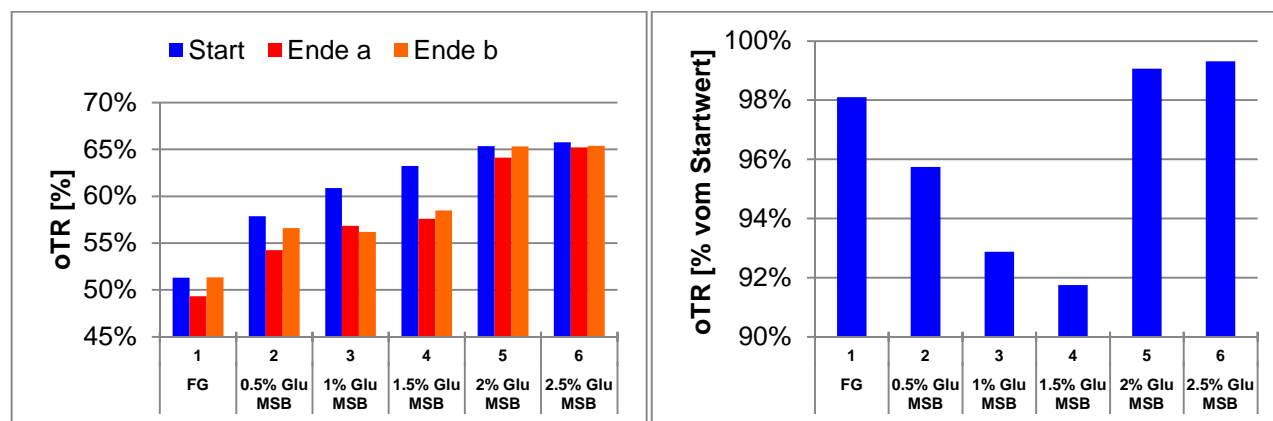


Abbildung 18: oTR des HV2; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit vom Startwert

Der oTR steigt durch Zugabe von Glukose an (Abbildung 18). Der oTR beträgt beim Ansatz 4 92 % vom Startwert und nimmt somit am meisten ab. Die Ansätze 5 und 6 sind mit 99 % vom Startwert praktisch unverändert.

4.3.4 Lactat / flüchtige Fettsäuren

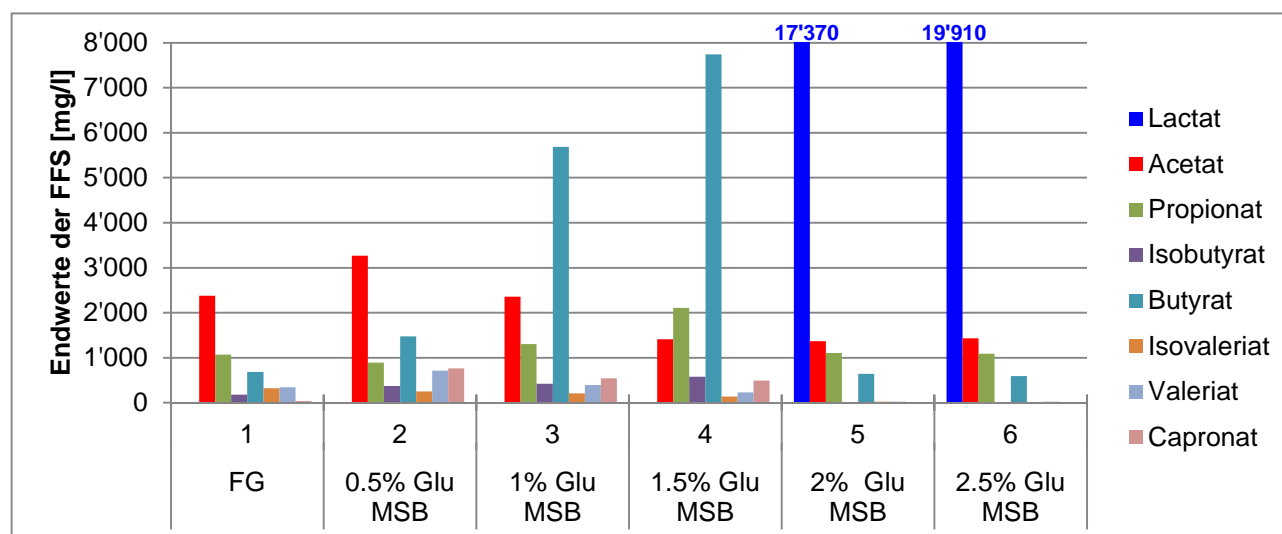


Abbildung 19: Übersicht über die durchschnittlichen Endwerte der FFS des HV2 (FFS im Detail Anhang Seite 64)

Abbildung 19 zeigt, dass nur bei einer Glukosekonzentration von 2 % - 2.5 % Lactat gebildet wird. Bei den Ansätzen 3 und 4 wird vor allem Butyrat gebildet, bei Ansatz 1+2 vor allem Acetat. Bis zu einer Glukosekonzentration von 1.5 % werden sämtliche FFS gebildet, bei 5 und 6 vor allem Lactat, Acetat Propionat und Butyrat. Bei den Ansätzen 5+6 werden am wenigsten FFS gebildet, wenn Lactat abgezogen wird (Tabelle 12).

Tabelle 12: Summe der FFS ohne Lactat [mg/l]

FG	0.5% Glu / MSB	1% Glu / MSB	1.5% Glu / MSB	2% Glu / MSB	2.5% Glu / MSB
4983	7746	10919	12702	3194	3165

Nachfolgend die FFS im Detail. Falls nicht anders angegeben, handelt es sich bei Wertangaben um durchschnittliche Endwerte der Ansätze a+b.

Lactat: Wird nur bei den Ansätzen 5 (17.4g/l) und 6 (19.9 g/l) gebildet.

Acetat: Am wenigsten wird bei den Ansätzen 4 bis 6 gebildet (1.37 -1.43 g/l), am meisten bei Ansatz 2 (3.72 g/l).

Propionat: Am meisten wird bei Ansatz 4 gebildet (2.1 g/l), am wenigsten bei Ansatz 2 (0.9 g/l).

Isobutyrat: Von Ansatz 1 (180 mg/l) bis Ansatz 4 (578 mg/l) nimmt die Endkonzentration stetig zu. Bei Ansatz 5+6 wird kein Isobutyrat gebildet.

Butyrat: Die Ansätze 5 (647 mg/l) und 6 (591 mg/l) weisen die niedrigste Endkonzentration auf. Bei 3 (5.7 g/l) und 4 (7.7 g/l) ist sie am höchsten.

Isovaleriat: Bei den Ansätzen 1 (323mg/l) bis 4 (141 mg/l) nimmt die Konzentration stetig ab. Bei 5+6 wird kein Isovaleriat gebildet.

Valeriat: Bei den Ansätzen 5 (25 mg/l) und 6 (21 mg/l) ist die Konzentration am geringsten. Bei Ansatz 2 (711 mg/l) am höchsten.

Capronat: Bei den Ansätzen 5 und 6 wird keine Capronat gebildet. Bei Ansatz 1 (40 mg/l) wenig. Bei den Ansätzen 2 bis 4 zwischen 762mg/l und 492 mg/l.

4.3.5 Fazit HV2

Die minimale Glukosekonzentration, welche für die Lactofermentation von Fischgülle benötigt wird, beträgt 2 % Glukose.

4.4 Hauptversuche 3 (HV3)

4.4.1 Fragestellung

Der optimale prozentuale Anteil von Glukose im Fermentationsmaterial ist nach HV1 und HV2 bekannt und beträgt 2 % bis 2.5 %. Nun soll diese Versuchsreihe noch abklären, mit welcher Anzahl MSB die Lactofermentation angeimpft werden muss, damit sie gut abläuft. Nachfolgend sind die Resultate des HV3 aufgeführt. Die Rohdaten dazu befinden sich im Anhang ab Seite 65.

4.4.2 pH-Verlauf / Gasentwicklung

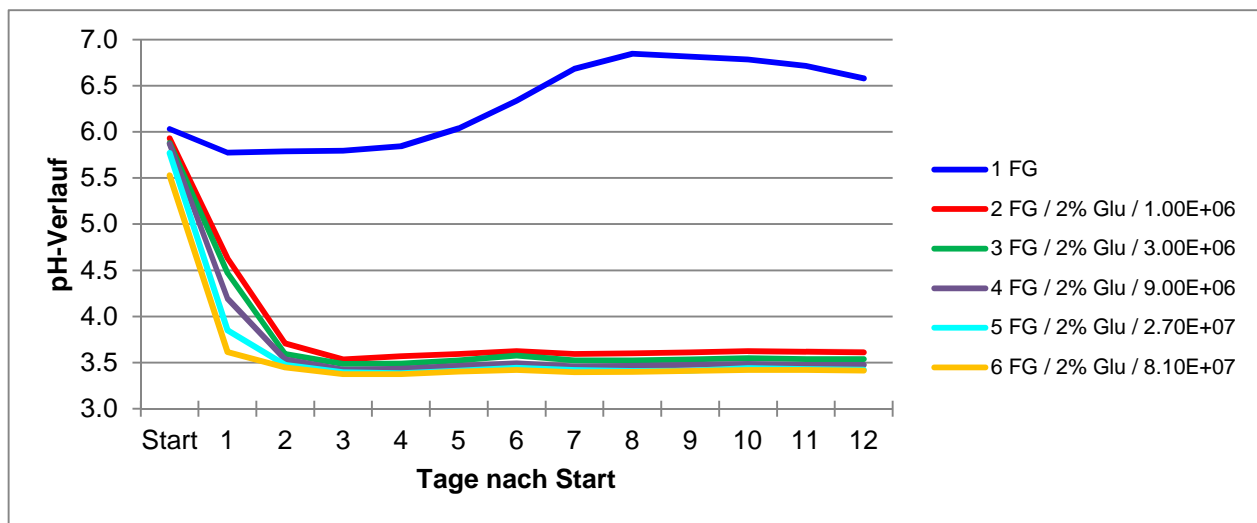


Abbildung 20: Durchschnittlicher pH-Verlauf des HV3

Der Start-pH ist tiefer, je mehr MSB dazugegeben werden (Abbildung 20). Dies aufgrund des sauren Mediums. Je mehr MSB zugegeben werde, desto schneller sinkt der pH des Fermentationsmaterials ab. So beträgt der pH der höchsten MSB-Konzentration nach einem Tag 3.62, der pH der niedrigsten MSB-Konzentration nach einem Tag 4.63. Am 2. Tag befindet sich der pH aller Ansätze mit MSB auf einem Wert kleiner 4. Ab dem 3. Tag stabilisieren sich die Ansätze 2-6 auf Werten zwischen 3.42 und 3.62, wobei der tiefste pH der höchsten MSB Zugabe entspricht. Die Kontrolle 1 stabilisiert sich nicht (Anhang 66).

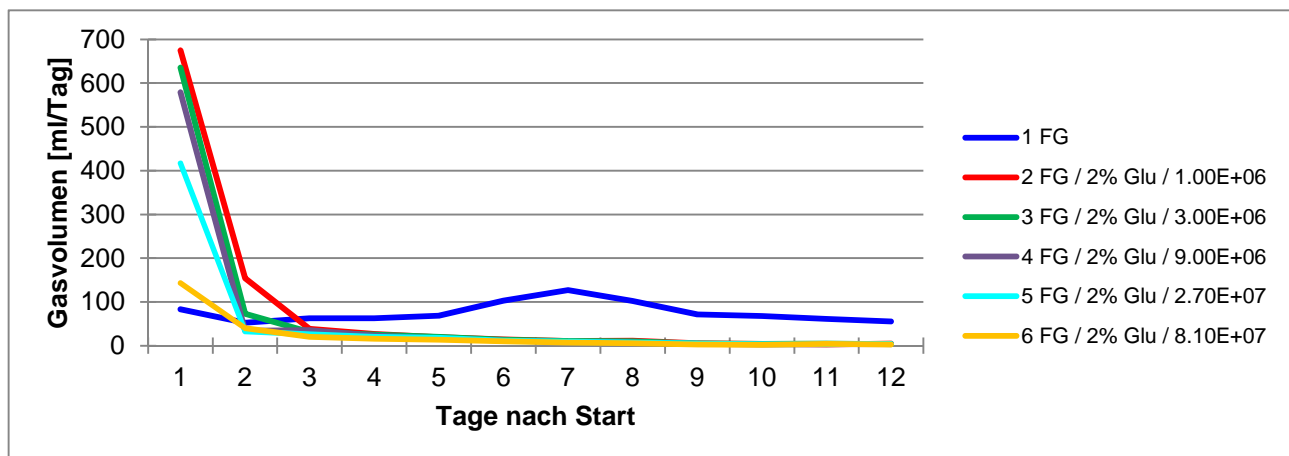


Abbildung 21: Durchschnittliche Gasentwicklung des HV3

Am ersten Tag besteht die höchste CO_2 -Entwicklung (Abbildung 21). Sie beträgt zwischen 675 ml/Tag und 143 ml/Tag, wobei sie umso höher ist, je weniger MSB zum Animpfen verwendet werden. Die Kontrolle 1 entwickelt am Anfang am wenigsten CO_2 . Ab dem 6. Tag verlaufen die Ansätze 2-6 praktisch identisch und stabilisieren sich ab dem 9. Tag bei Werten zwischen 2 und 5 ml/Tag.

Tabelle 13: Gesamte entstandene Gasmenge in 12 Tagen [ml]

FG	1.00E+06	3.00E+06	9.00E+06	2.70E+07	8.10E+07
917	967	837	730	557	267

Je höher die MSB-Konz. zum Animpfen ist, desto weniger CO₂ wird während der Laktofermentation produziert (Tabelle 13), da sich die Gasentwicklung schneller auf einem tiefen Wert einpendelt.

4.4.3 TR / oTR

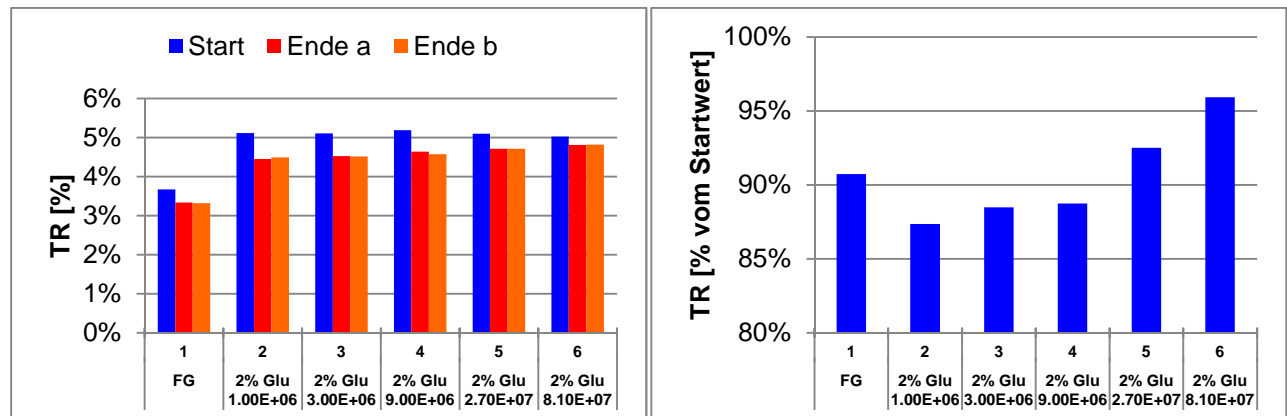


Abbildung 22: TR des HV3; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit von Startwert

Der Start TR nimmt durch die Verdünnung mit dem Medium ab, je mehr MSB zugegeben werden. Der End-TR nimmt von Ansatz 2 (4.47 %) bis Ansatz 6 (4.82 %) stetig zu. Je mehr MSB zum Animpfen zugegeben werden, desto höher ist der Endwert im Vergleich zu Startwert (Abbildung 22).

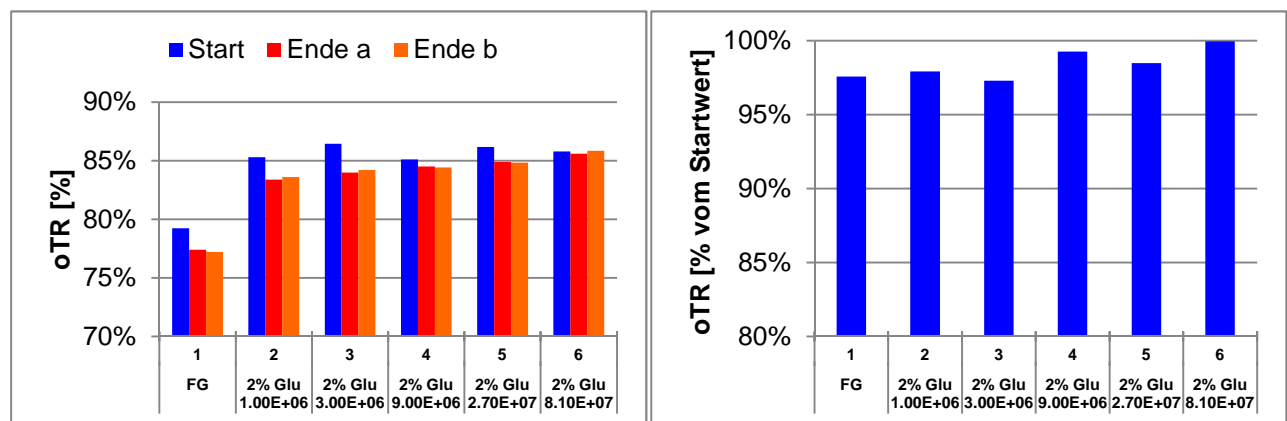


Abbildung 23: oTR des HV3; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit vom Startwert

Der End-oTR nimmt minim zu, je mehr MSB zugegeben werden (von 83.4 % auf 85.9 %). Der End-oTR bewegt sich bei allen Ansätzen zwischen 97.3 % und 100 % vom Startwert (Abbildung 23).

4.4.4 Lactat / flüchtige Fettsäuren

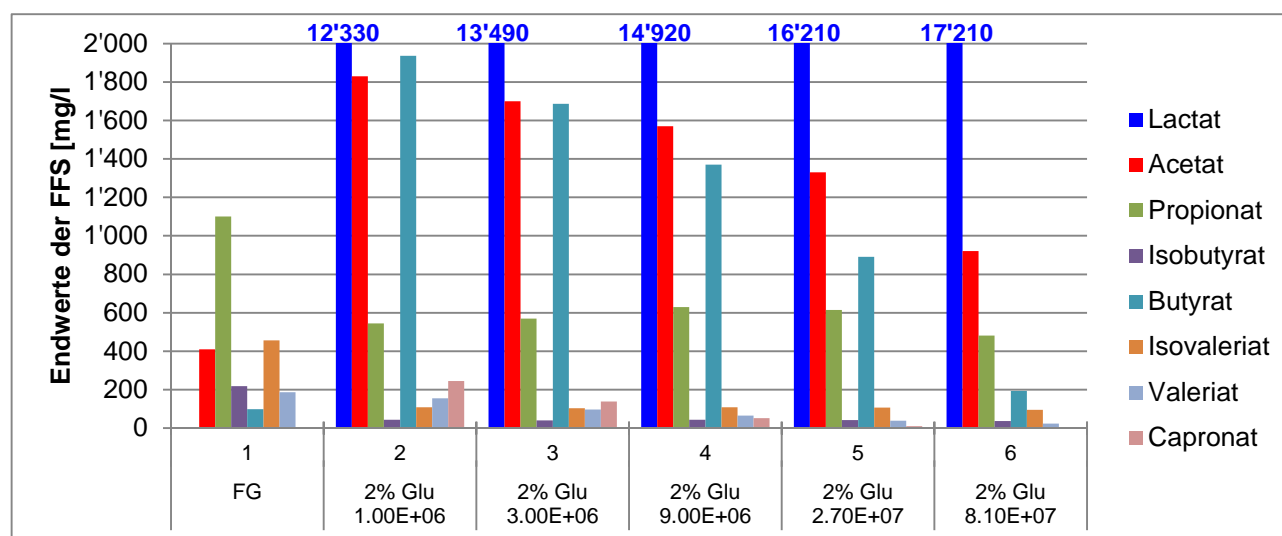


Abbildung 24: Übersicht über die durchschnittlichen Endwerte der FFS des HV3 (FFS im Detail Anhang Seite 67)

Abbildung 24 zeigt, dass sich bei den Ansätzen 2 bis 6 Lactat bildet. Weiter entsteht vor allem Acetat, Butyrat und Propionat. Je mehr MSB zugegeben werden, desto weniger FFS ausser Lactat entstehen (Tabelle 14).

Tabelle 14: Summe der FFS ohne Lactat [mg/l]

FG	1.00E+06	3.00E+06	9.00E+06	2.70E+07	8.10E+07
2'471	4'862	4'336	3'838	3'033	1'749

Nachfolgend die FFS im Detail. Falls nicht anders angegeben, handelt es sich bei Wertangaben um durchschnittliche Endwerte der Ansätze a+b.

Lactat: Entsteht nur bei den Ansätzen 2 (12.3 g/l) bis 6 (17.2 g/l) und nimmt gleichmässig zur MSB-Konzentration zu.

Acetat: Entsteht bei den Ansätzen 2 (1.83 g/l) bis 6 (0.92 g/l). Je höher die MSB-Zahl beim Animpfen ist, desto weniger Acetat entsteht. Bei der Kontrolle 1 nimmt Acetat ab.

Propionat: Wird vor allem bei der Kontrolle 1 gebildet.

Isobutytrat: Wird vor allem bei der Kontrolle 1 gebildet.

Butyrat: Wird bei Ansätzen 2 (1.9 g/l) bis 6 (193 mg/l) gebildet. Endkonzentration nimmt ab, je mehr MSB zum Animpfen verwendet werden.

Isovaleriat: Wird vor allem bei Kontrolle 1 gebildet.

Valeriat: Wird bei Ansatz 1 (187 mg/l) bis Ansatz 5 (39mg/l) gebildet. Je mehr MSB zum Animpfen verwendet werden, desto weniger entsteht.

Capronat: Wird bei Ansatz 2 (244 mg/l) bis 5 (11 mg/l) gebildet. Je mehr MSB zum Animpfen verwendet werden, desto weniger entsteht.

4.4.5 Fazit HV3

Die Milchsäuregärung läuft bei allen angeimpften Ansätzen ab. Bei einer höheren Anzahl zum Animpfen steigt die Lactatkonzentration an und sinkt die Butyrat- und Acetatkonzentration ab.

4.5 Langzeitstabilität

Die Ansätze 5 und 6 des HV2, bei welchen die Laktofermentation erfolgreich ist, werden anaerob bei 37 °C für 3 Wochen weiter geschüttelt. Anschliessend werden nochmals die Analysen durchgeführt und mit den Resultaten vom Fermentationsende verglichen. Die Rohdaten dazu befinden sich im Anhang auf Seite 63.

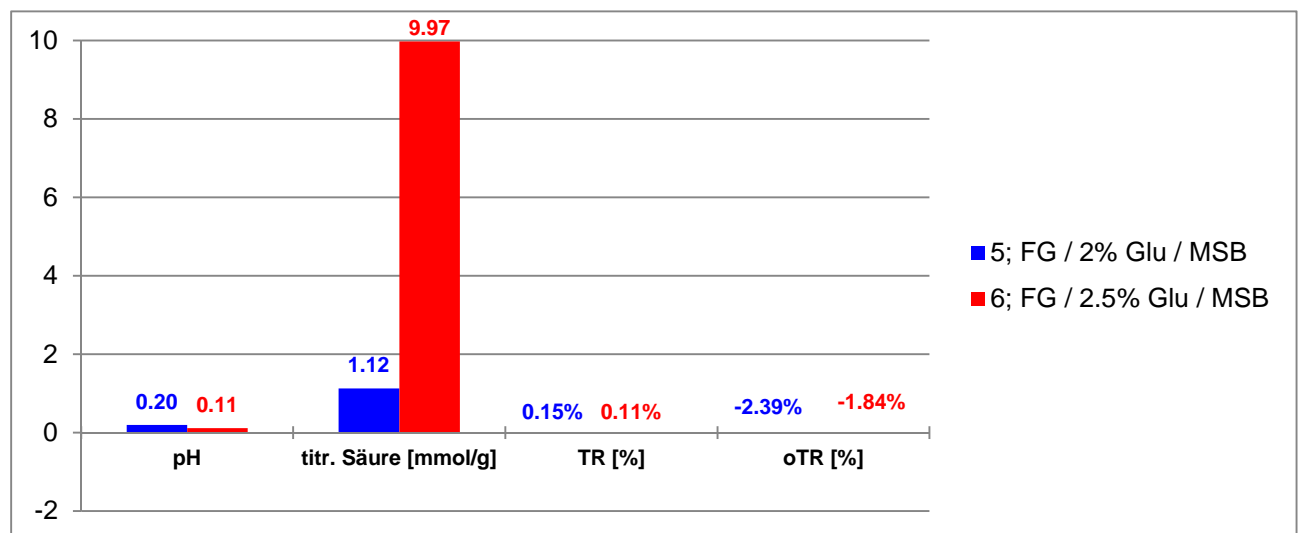


Abbildung 25: Durchschnittliche Veränderung der Ansätze 5+6 des HV2, 3 Wochen nach Fermentationsende

Der pH steigt bei beiden Ansätzen leicht an. Bei Ansatz 5 mit 0.2 Einheiten mehr wie bei Ansatz 6 (0.11). Die TGS steigt bei beiden Ansätzen an bei Ansatz 6 um 9.97 mmol/g. Der TR steigt bei beiden Ansätzen leicht an, der oTR sinkt bei beiden Ansätzen leicht ab (Abbildung 25).

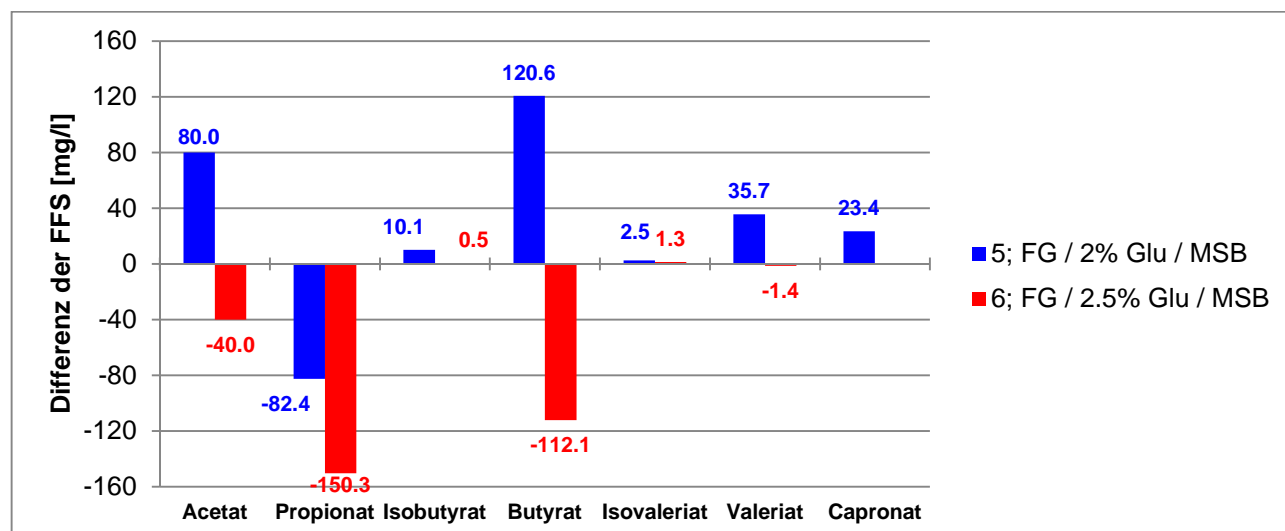


Abbildung 26: Durchschnittliche Veränderung der FFS der Ansätze 5+6 des HV2, 3 Wochen nach Fermentationsende. Ohne Lactat.

Bei Ansatz 5 sinkt Lactat um 340 mg/l ab, während Acetat (+80 mg/l) und Butyrat (+126 mg/l) ansteigen. Bei Ansatz 6 verhält es sich genau umgekehrt. Bei 6 steigt Lactat um 1470 mg/l an, während Acetat (-40 mg/l) und Butyrat (-112.1 mg/l) sinken. Propionat sinkt bei beiden Ansätzen ab. Bei 6 (-150.3 mg/l) stärker. Auffallend bei Ansatz 5 sind auch die Zunahmen von Valeriat (+35.7 mg/l) und Capronat (+23.4 mg/l). Isovaleriat verändert sich bei beiden Ansätzen nicht signifikant (Abbildung 26).

5 Diskussion

5.1 Einfluss der Glukose-Konzentration

5.1.1 pH-Verlauf / Gasvolumen

Ab 2 % Glukose im Gärgut sinkt der pH bereits am ersten Tag auf einen Wert von < 4 . Dies ist für eine optimale Stabilisierung notwendig. Denn unterhalb einem pH-Wert von 4.5 werden Clostriden gehemmt (Thöni, 1988). Oberhalb von 2 % Glukose stabilisiert sich der pH bei einem Wert unter 3.78.

Bei 2 % Glukose wird über die Fermentationsdauer von 12 Tagen am wenigsten Gas gebildet. Dies ist für die Lagerung in einem verschlossenen Kübel und wegen der kleinsten Gärverluste am besten geeignet.

Bei Glukoseanteilen im Gärgut von 5 %, 7.5 % und 10 % wird nach 4 Tagen eine starke CO_2 -Entwicklung beobachtet. Dies, obwohl der pH-Wert bereits zwischen 3.6 und 3.7 liegt. Die Ursache dafür könnte eine Hefe sein, welche die übriggebliebene Glukose vergärt. Bei Grassilagen ist das oftmals ein Problem, wenn in der Silage hohe Restzuckergehalte enthalten sind, wie sie bei einer rein homofermentativen Silierung auftreten können (BARNETT, PAYNE & YARROW, 2000). Nach Thöni (1988) können Hefen bis zu einem pH-Wert von 3 auftreten.

Interessant ist, dass bei 1 % und 1.5 % ein gleichzeitiger Anstieg des pH und der CO_2 -Entwicklung stattfindet. Die CO_2 -Entwicklung wird durch die Buttersäuregärung ausgelöst. Der pH steigt vermutlich an, weil durch die Umwandlung von Glukose die Substratbelastung sinkt, was zu einem geringeren H_2 -Partialdruck führt (Bischofberger et al., 2005). Die gebildete Buttersäure liegt aufgrund des pKs von 4.82 in undissoziiertem Zustand vor (Banemann, 2010).

5.1.2 Trockenrückstände

Bei 2 % und 2.5 % Glukose wird im Vergleich zum Startwert am wenigsten TR und oTR abgebaut. Dies wird als optimal erachtet, da dies am wenigsten Gärverluste bedeutet.

Bei 5 % bis 10 % nimmt die Abnahme des TR und des oTR mit der Glukosekonzentration zu. Dies, weil der Restzucker zu CO_2 umgewandelt wird.

Bei den Glukosekonzentrationen von 1 % und 1.5 % nimmt der TR und oTR im Vergleich zum Startwert ab. Dies hängt mit der Buttersäuregärung zusammen, welche die Glukose umsetzt, wobei CO_2 und H_2 entsteht.

5.1.3 FFS und Lactat

Lactat wird erst ab einem Glukoseanteil von 2 % im Gärsubstrat gebildet. Grundsätzlich kann gesagt werden, je mehr Glukose im Substrat enthalten ist, desto mehr Lactat wird gebildet. Die restlichen flüchtigen Fettsäuren nehmen ab, je mehr Lactat gebildet wird. So wird von 2.5 % bis 10 % Glukose neben Lactat noch Acetat und Propionat gebildet. Die restlichen FFS sind nicht mehr nennenswert. Voraussetzung dafür ist jedoch, dass der pH bereits am ersten Tag auf einen Wert unter 4 sinkt und das Gärgut mit MSB angeimpft wird.

Wenn im Gärgut 1 % und 1.5 % Glukose enthalten ist, wird vor allem Butyrat gebildet. Dies wird auf eine ungenügende pH-Absenkung am Anfang zurückgeführt. Nach Bischofberger et al., (2005) ist die Zusammensetzung der org. Gärsäuren sehr stark vom Substrat abhängig. Herrscht ein Substratüberschuss, führt die zu höheren Wasserstoffpartialdrücken (schwach saurer pH). Dies führt zur vermehrten Bildung von Propion- und Buttersäure. Wenn der pH unter 4.5 liegt, wird vorwiegend Milchsäure gebildet.

Bei einem Glukoseanteil von 0.5 % im Gärsubstrat wird hauptsächlich Acetat gebildet. Wenn während der Versäuerungsphase eine geringe Substratbelastung herrscht, wird durch den niedrigen Wasserstoffpartialdruck ($p_{H_2} < 10^{-4}$; neutraler pH) vorwiegend Essigsäure, H_2 und CO_2 aus der Glukose gebildet (Bischofberger et al., 2005).

Isovaleriat, Valeriat und Capronat werden überwiegend bei 0.5 % bis 1.5 % Glukose gebildet. Und zwar am meisten bei 0.5 % und am wenigsten bei 1.5 % Glukose. Dies hängt wieder mit dem Wasserstoffpartialdruck zusammen. Denn je höher der Wasserstoffpartialdruck ist, desto mehr reduzierte Verbindungen wie Propion-, Butter- Valerian oder Capronsäure werden gebildet (SCHERER, 1995).

5.1.4 Geruch

Ab einer Glukose Konzentration von 2 % riecht das Gärgut Silage ähnlich. Wegen dem intensiven säuerlichen Geruch konnten keine Unterschiede festgestellt werden.

Unterhalb von 2 % Glukose riecht das Gärgut unverkennbar faulig nach Mist.

5.1.5 .Empfohlene Glukose-Konzentration

Empfohlen wird eine Glukosekonzentration im Gärgut von 2 %. Der pH liegt nach 24 h bei einem Wert von 3.91 und stabilisiert sich anschliessend bei einem Wert von 3.77. Dies ist die geringste getestete Glukose-Konzentration, bei welcher die Lactofermentation noch abläuft. Die Gasentwicklung und der Massenverlust sind bei dieser Konzentration am geringsten.

5.2 Einfluss der Anzahl MSB als Starterkultur

Dieser Abschnitt bezieht sich auf den HV3. Die Versuche wurden mit einer Glukosekonzentration von 2 % durchgeführt.

5.2.1 pH-Verlauf / Gasvolumen

Der pH sinkt umso schneller ab, je mehr MSB zum Animpfen verwendet werden. Wird mit mehr als 2.7×10^7 KbE/g Stamm angeimpft, sinkt der pH-Wert bereits am ersten Tag auf einen Wert <4 . Bei 9.0×10^6 KbE/g je Stamm und weniger, sinkt der pH erst am 2 Tag auf einen Wert kleiner 4.

Solange der pH höher als 4.5 liegt, werden flüchtige Fettsäuren gebildet. Dies ist mit einer CO_2 - und H_2 - Entwicklung verbunden (Cimatoribus, C., Fischer, K. & Kranert, M. 2010). Je höher die Anzahl MSB beim Animpfen ist, desto weniger Gasentwicklung findet während der Fermentation statt. Deshalb ist in diesem Fall die Anzahl von 8.1×10^7 am besten geeignet.

5.2.2 Trockenrückstände

Der TR nimmt im Vergleich zum Startwert mehr ab, wenn mit weniger MSB angeimpft wird. Dies ist auf den verzögerten Eintritt der homofermentativen Milchsäuregärung zurückzuführen, welche kein CO_2 produziert (siehe Kapitel 2.2.).

5.2.3 FFS

Grundsätzlich kann gesagt werden, dass die Lactatkonzentration im Gärgut steigt, je mehr MSB zum Animpfen verwendet werden. Gleichzeitig nehmen Essigsäure und Buttersäure ab. Dies ist wiederum auf die Wasserstoffpartialdrücke im Gärgut zurückzuführen. Bei geringem H_2 - Partialdruck wird zuerst Essigsäure gebildet. Anschliessend sinkt der pH und es wird Buttersäure gebildet, bis der pH unter 4.5 fällt. Dann wird Milchsäure produziert (Bischofberger et al., 2005).

5.2.4 Geruch

Alle angeimpften Ansätze riechen Silage ähnlich. Wegen dem intensiven teils stechenden Geruch konnten keine Unterschiede festgestellt werden.

Die Kontrolle riecht unverkennbar faulig nach Mist.

5.2.5 Empfohlene Anzahl MSB als Starterkultur

Hier müssen einige Faktoren gegeneinander abgewogen werden. Auf der einen Seite haben wir die schnelle pH-Absenkung und die damit verbundene geringe Gasentwicklung, wenn das Gärgut

mit $8.1\text{E}+07$ KbE/g je Stamm angeimpft wird. Auf der anderen Seite wird mehr Medium für die Anzucht der Bakterien benötigt. Bei $8.1\text{E}+07$ KbE/g je Stamm wird pro kg Gärgut 75 ml M.R.S.-Broth benötigt.

Dazu kommt, dass es für die Langzeitstabilität ev. von Vorteil sein kann, wenn im Gärgut mehr Essig- und Buttersäure enthalten ist. Denn bei einer Silage liegt die Milchsäure ($\text{pKs} = 3,86$) bei einem pH von 3.3 – 4.2 grösstenteils dissoziiert vor. Essigsäure als schwache Säure ($\text{pKs} = 4.75$) liegt jedoch grösstenteils undissoziiert vor (Banemann, 2010). Und nach (Adams & Hall, 1988) sind es die undissoziierten Säuren, welche die eigentliche Hemmwirkung auslösen.

Aufgrund dieser Faktoren wird als Starterkultur eine Anzahl von $2.7\text{E}+07$ KbE/g je Stamm empfohlen. Dies entspricht 25 ml Medium für 1 kg Gärgut.

5.3 Einfluss der Temperatur

Die Versuche wurden im Labor bei 37 °C durchgeführt. Die Temperatur wurde aufgrund der Möglichkeiten im Labor so gewählt, damit alle Ansätze unter gleichen Bedingungen, geschüttelt ablaufen können. Nun stellt sich die Frage, welche Veränderungen zu erwarten sind, wenn die Versuche bei 20 °C durchgeführt werden.

Die Versäuerungs- und Acetogene-Bakterien haben eine optimale enzymatische und mikrobielle Aktivität bei 35 °C und 55 °C (Cimatoribus, C., Fischer, K. & Kranert, M. 2010). Aus diesem Grund kann man davon ausgehen, dass sich der pH bei tieferen Temperaturen nicht so schnell absenkt.

Bei der Versäuerung saccharidhaltiger Abwässer kann ein Einfluss der Temperatur auf die Stoffwechselprodukte nachgewiesen werden. Bei Temperaturen kleiner 30 °C wird das Gleichgewicht in Richtung Milch-, Propion- und Buttersäure verschoben. Bei Temperaturen über 30 °C wird überwiegend Essig- und Buttersäure gebildet (Taddigs, 2000). Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Versuchen wurde deutlich mehr Acetat und Butyrat als Propionat gebildet. Es kann also angenommen werden, dass bei tieferen Temperaturen mehr Lactat und Propionat gebildet wird.

5.4 Langzeitstabilität

Die Langzeitstabilität wurde nur bei den Ansätzen getestet, welche erfolgreich einer Laktofermentation unterzogen wurden. Dies war bei HV1 (bei 2.5 % Glukose) und HV2 (2 % und 2.5 % Glukose) der Fall.

Der Ansatz der HV1 wurde aerob aufbewahrt und verschimmelte während des Tests. Dies ist darauf zurückzuführen, dass durch die Sauerstoffzufuhr der pH anstieg und Schimmelsporen aktiviert wurden.

Bei 2 % Glukose sinkt die Lactatkonzentration, während Acetat und Butyrat gebildet werden. Bei 2.5 % Glukose verhält es sich genau umgekehrt. Auffallend bei 2 % Glukose sind auch die Zunahmen von Valeriat und Capronat. Der pH der beiden Ansätze hat sich nur minim um 0.1 bis 0.2 erhöht. Bei 2 % Glukose ist ev. Eine Sekundärgärung abgelaufen, welche Lactat in Butyrat umwandelt. Hier sind weitere Versuche durchzuführen (ist mit den HV3 im Gange).

5.5 Vergleichende Betrachtung mit Resultaten aus der Literatur

Die Veterinärmedizinische Fakultät in Leipzig führte Versuche zur Laktofermentation von Kuhdung mit EM durch. Die Resultate der FFS werden mit den Resultaten aus dem HV2 verglichen. Interessant ist, dass beim Ansatz mit EM bei 37 °C die Lactatkonzentration geringer ist als bei 21 °C. Die Begründung nach Krüger & Scheinemann, (2010) ist, dass das Lactat von Lactatpaltern verstoffwechselt wird. Dies erklärt auch die erhöhte Buttersäurekonzentration. Der Vergleich von EM; 37 °C und dem HV2 zeigt, dass die Laktofermentation besser abläuft, wenn mit MSB-Reinkulturen angeimpft wird und die Gärung homofermentativ abläuft.

Tabelle 15: Vergleich zwischen den Endwerten der FFS des HV2 (2 % und 2.5 % Glukose bei 37 °C) und einer Laktofermentation von Kuhdung mit EM bei 21 °C und 37 °C (Krüger & Scheinemann, 2010).

	EM ; 21 °C	EM ; 37 °C	HV2; 5 2 % Glu	HV2; 6 2.5 % Glu
Milchsäure [g/kg OS]	26.0	6.7	17.4	19.9
Essigsäure [g/kg OS]	11.2	9.8	1.4	1.4
Propionsäure [mg/kg OS]	2000	1290	1105	1089
i-Buttersäure [mg/kg OS]	100	90	14	13
n-Buttersäure [mg/kg OS]	900	4690	647	591
i-Valeriansäure [mg/kg OS]	100	100	23	21
n-Valeriansäure [mg/kg OS]	< 50	790	25	21
n-Caprinsäure [mg/kg OS]	< 50	2670	11	NN

Die TUHH Hamburg macht Versuche im Bereich „Terra Preta Sanitation“. Eine Erkenntnis von Yemaneh et al., (2012) ist, dass die Laktofermentation von menschlichen Fäzes besser abläuft, wenn zum Animpfen *Lb. plantarum*, *Lb. casei* und *Pe. acidilactici* kombiniert verwendet werden. Bei Versuchen mit Fäzes erreichten sie bei Raumtemperatur einen pH von 3.92 und eine Milchsäurekonzentration von 38.73 g/l. Die Versuche in dieser Arbeit erreichten mit einem pH zwischen 3.42 und 3.81 tiefere Werte, bildeten jedoch mit maximal 23.4 g/l weniger Lactat. Die Ursache für den tieferen pH-Wert wird in der höheren Temperatur und der damit zusammenhängenden höheren Aktivität der Versäuerungs Bakterien gesehen (Cimattoribus, C., Fischer, K. & Kranert, M. 2010). Die höhere Lactat-Konzentration könnte aufgrund der Fermentation bei einer Temperatur unter 30 °C entstanden sein (Taddigs, 2000).

5.6 Weiteres Vorgehen zur Anwendung auf der UrbanFarm

Die Versuche haben gezeigt, dass mit Fischgülle eine Laktofermentation durchführbar ist. Es fehlen jedoch die praktischen Versuche. Diese sollten schnellst möglich durchgeführt werden, um abzuklären, ob die Laktofermentation auch bei 20 ° ungeschüttelt abläuft. Aufgrund der Aussagen in Kapitel 5.3 und 5.5 ist nicht mit grösseren Schwierigkeiten zu rechnen. Abzuklären ist auch die Langzeitstabilität dieser Versuche.

Ein weiterer wichtiger Punkt ist auch das Handling der MSB. In diesen Versuchen wurden die drei Stämme immer kombiniert zum Animpfen verwendet, weil die Laktofermentation so am effektivsten abläuft (Yemaneh et al., 2012). Ev. wäre es für die UrbanFarmers einfacher, nur mit einem Stamm zu arbeiten. Deshalb wäre es sinnvoll, eine Versuchsreihe durchzuführen, bei welcher jeder Stamm einzeln zum Animpfen verwendet wird. Wenn der pH auch am ersten Tag unter einen Wert von 4 fällt, könnte auch mit diesem Stamm alleine gearbeitet werden. Weiter muss abgeklärt werden, wie die Fischgülle angeimpft werden soll. Ev. ist es möglich, direkt mit den tiefgefrorenen MSB anzuimpfen, ohne dass sie in frisches Medium überimpft werden.

Wichtig, im Hinblick auf eine Kompostierung des fermentierten Materials, ist die Abklärung, ob die benötigten 10 % Kohle für eine „Terra Preta“-ähnliche Komposterde schon vor der Fermentation zugegeben werden sollen. Interessant dabei ist, dass durch die Zugabe der Kohle der Geruch des Gärguts noch besser unterdrückt wird (Yemaneh et al., 2012). Ev. kann dann mit weniger MSB angeimpft werden, ohne dass es durch die erhöhte FFS-Konzentration zu Geruchsemissionen kommt.

5.7 Fazit

Die Versuche zeigen, dass die Fischgülle durch Laktofermentation stabilisiert werden kann.

Empfohlen wird eine Glukosekonzentration im Gärgut von 2 %. Der pH liegt nach 24 h bei einem Wert von kleiner als 4 und stabilisiert sich anschliessend bei einem Wert unter 3.8. Als Starterkultur wird eine Anzahl von 2.7×10^7 KbE/g je Stamm empfohlen. Dies entspricht 25 ml Medium für 1 kg Gärgut.

6 Literaturverzeichnis

- ADAMS, M. R., HALL, C. J., (1988). Growth inhibition of foodborne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. *International Journal of Food Science & Technology*, 23(3), S. 287 – 291.
- Axelsson, L. (2004). *Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology*. In S. Salminen, A. Wright & A. Ouwehand (Hrsg.), *Lactic Acid Bacteria Microbial and Functional Aspects* (Third Edition). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Banemann, D. (2010). Einfluss der Silierung und des Verfahrensablaufs der Biomassebereitstellung auf den Methanertrag unter Berücksichtigung eines Milchsäurebakteriensilierungsmittels.
- BARNETT, J. A., PAYNE, R.W. & YARROW, D., (2000). *Yeasts Characteristics and identification*. *Mycopathologia*, 149(3), S159-160.
- Bischofsberger, W., Dichtl, N., Rosenwinkel, K. H., Seyfried, C. F. & Böhnke, B. (2005). *Anaerob-technik*. Berlin: Springer.
- Brookes, R. M. & Buckle, A. E. (1992). Lactic acid bacteria in plant silage. In: J. Thaysen (Hrsg.), *Einfluss von Milchsäurebakterien (Lactobacillus plantarum) und Melasse auf die Qualität von Grassilagen und die Leistung von Milchkühen*.
- Cimatoribus, C., Fischer, K. & Kranert, M. (2010). *Biologische Verfahren*. In: M. Kranert & K. C. Landwehr (Hrsg.), *Einführung in die Abfallwirtschaft* (4. Auflage). Wiesbaden: Vieweg + Teubner.
- Deshmukh, A. C. & Patterson, P. H. (1997). Preservation of Hatchery Waste by Lactic Acid Fermentation. 1. Laboratory Scale Fermentation. *Poultry Science*, 76(9), S. 1212-19.
- El-Jalil, M.H., Zinedine, A. & Faid, M. (2008). Some Microbiological and Chemical Properties of Poultry Wastes Manure After Lactic Acid Fermentation. *Int. Journal of Agriculture & Biology*, 10(4), S. 405–411
- Factura, H., Bettendorf, T., Buzie, C., Pieplow, H., Reckin, J. & Otterpohl, R. (2010). Terra Preta Sanitation: re-discovered from an ancient Amazonian civilisation - integrating sanitation, bio-waste management and agriculture.
- Faid, M., Zouiten, A., Elmarrakchi, A. & Achkari-Begdouri A. (1997). Biotransformation of fish waste into a stable feed ingredient. *Food Chemistry*, 60(1), S. 13-18.
- Henderson, A. R. & McDonald, P. (1984). The effect of a range of commercial inoculants on the biochemical changes during the ensilage of grass in laboratory studies. In: J. Thaysen

(Hrsg.), Einfluss von Milchsäurebakterien (*Lactobacillus plantarum*) und Melasse auf die Qualität von Grassilagen und die Leistung von Milchkühen.

Krüger, M. & Scheinemann, H. (2010). Labor- und Felduntersuchung zur Abfall-/Klärschlammverwertung aus dezentralen Abwasserbehandlungen für die Herstellung hochwertiger Schwarzerdeböden (Terra Preta).

Kulawik, M. (2012). Lebensmittel von der Dachfarm. *Haustech*, 25 (1/2), S. 53-54.

Lang, V., Looser, S. & Kühbauch, W. (1972). Zum Einfluss einiger Faktoren auf den Gehalt an löslichen Kohlenhydraten im Aufwuchs einer Weidelgras-Weisskleeweide. In: J. Thaysen (Hrsg.), Einfluss von Milchsäurebakterien (*Lactobacillus plantarum*) und Melasse auf die Qualität von Grassilagen und die Leistung von Milchkühen.

Mayo, B., Piekarczyk, T. A., Fernández, M., Kowalczyk, M., Álvarez, P. & Bardowsky, J. (2010). Updates in the Metabolism of Lactic Acid Bacteria. In: F. Mozzi, R. R. Raya & G. M. Vignolo (Hrsg.). Iowa: Wiley-Blackwell.

McDonald P., Henderson, N. & Heron, S. (1991). The biochemistry of silage, II. Edition. In: J. Thaysen (Hrsg.), Einfluss von Milchsäurebakterien (*Lactobacillus plantarum*) und Melasse auf die Qualität von Grassilagen und die Leistung von Milchkühen.

Pahlow, G. & Honig, H. (1986). Wirkungsweise und Einsatzgrenzen von Silage-Impfkulturen aus Milchsäurebakterien. In: J. Thaysen (Hrsg.), Einfluss von Milchsäurebakterien (*Lactobacillus plantarum*) und Melasse auf die Qualität von Grassilagen und die Leistung von Milchkühen.

Pitt, R.E., (1992). Microbial and enzymatic additives for ensiling. In: J. Thaysen (Hrsg.), Einfluss von Milchsäurebakterien (*Lactobacillus plantarum*) und Melasse auf die Qualität von Grassilagen und die Leistung von Milchkühen.

Presser, K. A., Ratkowsky, D. A., & Ross, T. (2007). Modelling the Growth Rate of *Escherichia coli* as a Function of pH and Lactic Acid Concentration. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 63 (6), S. 2355–2360.

Sato, H., Hirose, T., Kimura, T., Moriyama, Y. & Nakashimab, Y. (2001). Analysis of malodorous volatile substances of human waste: Feces and urine. *Journal of Health Science*, 47(5), S. 483-490.

SCHERER P., (1995). Vergärung. In: Thomé-Kozmiensky, K. J. (Hrsg.), Biologische Abfallbehandlung. Berlin: EF-Verlag für Energie- und Umwelttechnik.

Schmidt, L., Weissbach, F., Wernecke, K. D. & Hein, E. (1971). Erarbeitung von Parametern für die Vorhersage und Steuerung des Gärverlaufs bei der Grünfuttersilierung. In: J. Thaysen

- (Hrsg.), Einfluss von Milchsäurebakterien (*Lactobacillus plantarum*) und Melasse auf die Qualität von Grassilagen und die Leistung von Milchkühen.
- Schweizerischer Bauernverband (2012). Statistik zu Produktion und Verbrauch von Fisch. © BFS - Statistisches Lexikon der Schweiz.
- TADDIGS, T. (2000). Untersuchung der Versäuerung und des Einsatzes von Hydrozyklonen in Anaerobanlagen. In: D. Banemann (Hrsg.), Einfluss der Silierung und des Verfahrensablaufs der Biomassebereitstellung auf den Methanertrag unter Berücksichtigung eines Milchsäurebakteriensilierungsmittels.
- Thaysen, J. (2001). Einfluss von Milchsäurebakterien (*Lactobacillus plantarum*) und Melasse auf die Qualität von Grassilagen und die Leistung von Milchkühen.
- Thöni, E. (1988): Lebensgrundlagen von Mikroorganismen. In: D. Banemann (Hrsg.), Einfluss der Silierung und des Verfahrensablaufs der Biomassebereitstellung auf den Methanertrag unter Berücksichtigung eines Milchsäurebakteriensilierungsmittels.
- Wang, Q., Narita, J., Xie, W., Ohsumi, Y., Kusano, K., Shirai, Y. & Ogawa, H. I. (2002). Effects of anaerobic/aerobic incubation and storage temperature on preservation and deodorization of kitchen garbage. *Bioresource Technology*, 84(3), S. 213-220.
- Weinberg, Z. G. & Muck, R. E. (1996). New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews*, 19(1), S. 53–68.
- Weissbach, F. & Honig, H. (1996). Über die Vorhersage und Steuerung des Gärverlaufs bei der Silierung von Grünfütter aus extensivem Anbau. In: J. Thaysen (Hrsg.), Einfluss von Milchsäurebakterien (*Lactobacillus plantarum*) und Melasse auf die Qualität von Grassilagen und die Leistung von Milchkühen.
- Yang, S.Y., Ji, K.S., Baik, Y.H., Kwak, W.S. & McCaskey T.A. (2005). Lactic acid fermentation of food waste for swine feed. *Bioresource Technology*, 97(15), S. 1858–1864.
- Yemaneh, A., Bulbo, M., Factura, H., Buzie, C. & Otterpohl, R. (2012). Development of System for Waterless Collection of Human Excreta by Application of Lactic Acid Fermentation Process in Terra Preta Sanitation System. Unveröffentlicht.

Verzeichnis der Bilder

Abbildung 1: Wege des Glukose Metabolismus. A. Homofermentativ; B. Mixed-acid Metabolismus; C. Heterofermentativ; D. Leloir Weg (Mayo et al., 2010)	11
Abbildung 2: Sammlung der FG	16
Abbildung 3: Ansätze der Hauptversuchsreihe 3	17
Abbildung 4: Gasvolumen	19
Abbildung 5: pH-Verlauf des VV2	21
Abbildung 6: Durchschnittliche Gasentwicklung des VV2	22
Abbildung 7: TR des VV2; rechts der Endwert in Abhängigkeit vom Startwert	22
Abbildung 8: oTR des VV2; rechts der Endwert in Abhängigkeit vom Startwert	23
Abbildung 9: Übersicht über die Endwerte der FFS des VV2 (FFS im Detail siehe Anhang Seite 57)	23
Abbildung 10: Durchschnittlicher pH-Verlauf des HV1	25
Abbildung 11: Durchschnittliche Gasentwicklung des HV1	25
Abbildung 12: TR des HV1; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit vom Startwert	26
Abbildung 13: oTR des HV1; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit vom Startwert	26
Abbildung 14: Übersicht über die durchschnittlichen Endwerte der FFS des HV1 (FFS im Detail Anhang Seite 60)	27
Abbildung 15: Durchschnittlicher pH-Verlauf des HV2	28
Abbildung 16: Durchschnittliche Gasentwicklung des HV2	29
Abbildung 17: TR des HV2; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit vom Startwert	29
Abbildung 18: oTR des HV2; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit vom Startwert	30
Abbildung 19: Übersicht über die durchschnittlichen Endwerte der FFS des HV2 (FFS im Detail Anhang Seite 64)	30
Abbildung 20: Durchschnittlicher pH-Verlauf des HV3	32
Abbildung 21: Durchschnittliche Gasentwicklung des HV3	32
Abbildung 22: TR des HV3; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit von Startwert	33
Abbildung 23: oTR des HV3; rechts der durchschnittliche Endwert in Abhängigkeit vom Startwert	33
Abbildung 24: Übersicht über die durchschnittlichen Endwerte der FFS des HV3 (FFS im Detail Anhang Seite 67)	34
Abbildung 25: Durchschnittliche Veränderung der Ansätze 5+6 des HV2, 3 Wochen nach Fermentationsende	35
Abbildung 26: Durchschnittliche Veränderung der FFS der Ansätze 5+6 des HV2, 3 Wochen nach Fermentationsende. Ohne Lactat.	36

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Hemmwirkung von <i>Lb. plantarum</i> und <i>Pe. acidilactici</i> auf Bakterien, abgeändert (El-Jalil, Zinedine & Faid, 2008)	12
Tabelle 2: Inhaltsstoffe in g/l.....	15
Tabelle 3: Elementaranalyse des TR der verwendeten Fischgülle [% vom TR]	16
Tabelle 4: Übersicht über die Ansätze des VV2.....	18
Tabelle 5: Übersicht über die Ansätze des HV1.....	18
Tabelle 6: Übersicht über die Ansätze des HV2.....	18
Tabelle 7: Übersicht über die Ansätze des HV3.....	19
Tabelle 8: Gesamte durchschnittliche Gasentwicklung während den 12 Tagen [ml].....	22
Tabelle 9: Durchschnittliche Summe der FFS ohne Lactat bei Fermentationsende [mg/l]	23
Tabelle 10: Durchschnittliche Endkonzentration der FFS ohne Laktat der HV1 [mg/l]	27
Tabelle 11: Gesamte durchschnittliche Gasentwicklung über die 12 Tage [ml].....	29
Tabelle 12: Summe der FFS ohne Lactat [mg/l]	30
Tabelle 13: Gesamte entstandene Gasmenge in 12 Tagen [ml]	33
Tabelle 14: Summe der FFS ohne Lactat [mg/l]	34
Tabelle 15: Vergleich zwischen den Endwerten der FFS des HV2 (2 % und 2.5 % Glukose bei 37 °C) und einer Laktofermentation von Kuhdung mit EM bei 21 °C und 37 °C (Krüger & Scheinemann, 2010).....	41

Anhang

Kontaktinformationen MSB

Kontaktinformation: Nadine Tollens
University Gent - Faculty of Sciences
BCCMtm/LMG Bacteria Collection
B-9000 Gent
Tel. +32-9-2645107
Nadine.Tollens@UGent.be
BCCM: <http://bccm.belspo.be/>

Birgit Oechslin
ZHAW Wädenswil
CH-8810 Wädenswil
Tel. +41-58-9345480
oech@zhaw.ch

Verwendete Materialien

Bakterien

Präparation

- Autoklav CV-EL 18 I GS der CERTOCLAV Sterilizer GmbH
- Flow Bench von Köttermann
- Bunsenbrenner
- Glasstab
- Glasschneider
- Pasteurpipetten
- Kolbenhubpipette mit 1000 µl Spitzen
- Schüttler
- 6 x 200 ml Erlenmeyerkolben
- Alufolie
- Spatel

Kulturerhaltung

- Gefrierschrank -86 °C
- sterile 20 ml Einwegspritze
- steriler 0.45 µm Filteraufsatz für Spritze
- 15 x 15 ml Falcon Tubes

Animpfen

- Autoklav CV-EL 18 I GS der CERTOCLAV Sterilizer GmbH
- Flow Bench von Köttermann
- Schüttler
- Kolbenhubpipette mit 1000 µl Spitzen
- 3 x 200 ml Erlenmeyerkolben
- 3 x 300 ml Erlenmeyerkolben
- Alufolie

Versuche

- Soda-Club Flaschen
- Gummistopfen
- Spritzennadel (Kanüle)
- Hahn
- Swiffel

- Alu Verschraubdeckel
- Schüttler
- 1 l Glasschottflaschen mit Deckel
- Laborwaage von Mettler Toledo Genauigkeit 0.01 g
- Trichter
- Spatel
- Pipetten
- Membranvakuumpumpe
- Digitales Manometer LEO 2 von Keller Genauigkeit 0,1 % FS
- N₂-Flasche

Analytik

Druckmessung

- Manometer LEO 2 von Keller Genauigkeit 0,1 % FS
- Dräger X-am 7000
- 3 l SKC-Gas Säcke

pH-Messung

- Metrohm pH-Meter 691
- Membranvakuumpumpe
- N₂-Flasche
- Manometer LEO 2 von Keller Genauigkeit 0,1 % FS

HPLC / GC

- 50 ml Falcon Tubes
- Hettich Zentrifuge Universal 320 R
- Gefrierschrank -18 °C
- 15 ml Falcon Tubes
- 20 ml Einwegspritzen
- 0.45 µm Filteraufsätze
- Vials

Titrierbare Gesamtsäure

- 100 ml Bechergläser
- Magnetrührer mit Rührstäbchen
- Metrohm pH-Meter 691
- Dosimat 665 von Metrohm

- Laborwaage von Mettler Toledo Genauigkeit 0.01 g
- 25 ml Messzylinder
- Kühlschrank 4-6 °C


TR / oTR

- Aluschalen
- Waage von Mettler Toledo PJ360 Delta Range Genauigkeit bis 60 g 0.001 g
- Heraeus Trockenschrank UT6120
- Heraeus Muffelofen MR170
- Exikator
- Greifzange
- Streichhölzer

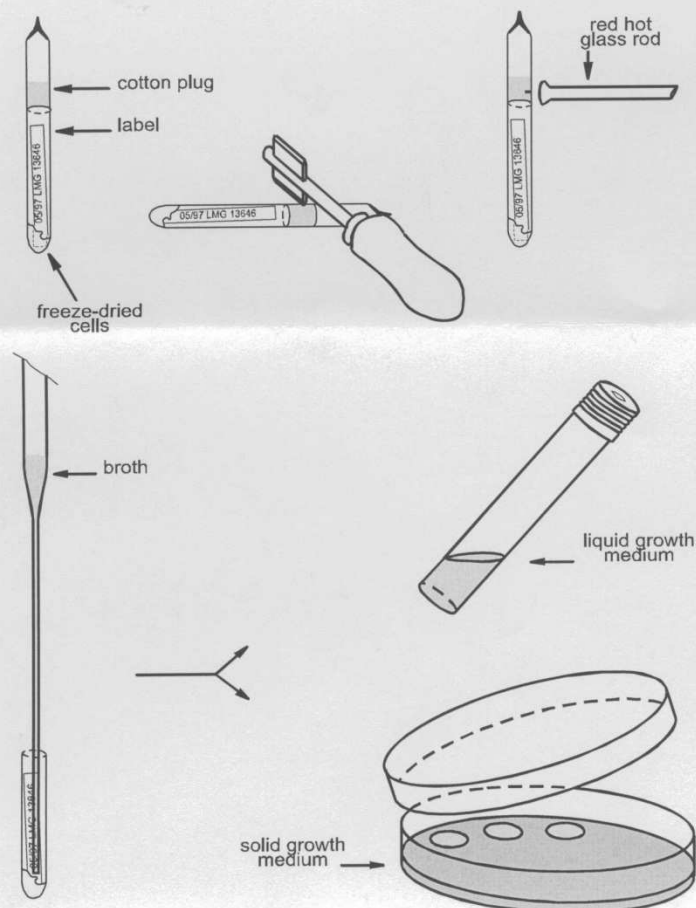
OD600

- Spectrophotometer Hach Lange DR3800
- 3 x 25 ml Messkolben
- 5 ml Kolbenhubpipette mit Spitzen
- 1 ml Kolbenhubpipette mit Spitzen
- Greiner Küvetten

Belebung der gefriergetrockneten Bakterien

	REVIVAL OF FREEZE-DRIED CULTURES	F109 B
		10/06/2008
		Pagina 1 van 1

Freeze-dried cultures are supplied in vacuum-sealed ampoules. Ampoules can be opened in an ordinary transfer cabinet if cultures belong to hazard group 1. In other cases ampoules should be opened in a biohazard safety cabinet of the appropriate level.



Make a small file mark on the ampoule near the middle of the cotton wool plug. Touch the file mark with a red hot glass rod till the glass cracks. Wait a few seconds to allow air to enter into the ampoule. Remove the upper part of the ampoule and the cotton plug.

Add approximately 0.5 ml of appropriate broth with a sterile Pasteur pipette to the dried material after flaming the open end of the ampoule. Mix the contents gently with the tip of the Pasteur pipette, and transfer the contents to one or more suitable solid and/or liquid media (follow the medium indications given in the list of strains). Allow the cells to rehydrate slowly on solid media. It is advisable to include a general medium in order to detect possible air-borne contaminants which may have been introduced during the opening of the ampoule. All ampoule remains should be sterilized before discarding.

Cultures need at least two times subculturing before they can be optimally used in experiments.

Freeze dried cultures stored in their intact glass ampoules at 4°C to 6°C in the dark, generally remain viable for many years after production.

Bestimmung von organischen Säuren mittels Gas Chromatographie (GC)

Säule	HP_Innovax Länge 60 m, ID 0.25 und Film 0.25 µm Agilent, Art.Nr. 19091N-136m
Detektor	FID (250 °C Wasserstoff 25 ml/min)
Trärgas	Wasserstoff, const. Flow 2.3 ml/min, Druck 150 kPa
Inlett	Split 5:1, 200 °C
Temperatur Programm	60 °C Hold 3 Min, Rampe 5 °C/min 230 °C, Hold 5 Min
Injectionsvolumen	1 µl
Retentions-Zeit	<p>Propansäure: 16.4 Min</p> <p>Isobuttersäure: 17.1 Min</p> <p>Buttersäure: 18.5 Min</p> <p>Isovaleriansäure: 19.5 Min</p> <p>Valeriansäure: 21.0 Min</p> <p>Hexansäure: 23.3 Min</p> <p>Int. Std. Oenantsäure: 25.5 Min</p>
Proben-vorbereitung	<p>0.6 g Kaliumchlorid werden in einem 8 ml Vial mit Schraubverschluss vorgelegt. 3 ml Gülle und 60 µl Phosphorsäure 85 % werden dazu pipettiert. Die Vials werden geschlossen und so lange geschüttelt, bis sich das Kaliumchlorid gelöst hat.</p> <p>Danach werden 3 ml Hexan MTBE 1:1 mit 50 mg/l Oenantsäure (interner Standard) dazu pipettiert. Die Vials müssen schnell geschlossen werden, um eine Verdunstung des Lösungsmittels zu vermeiden. Die Proben werden geschüttelt und anschliessend so lange stehen gelassen, bis sich die zwei Phasen trennen.</p> <p>Die obere Phase wird für die Analytik verwendet.</p>

Bestimmung von Lactat und Acetat mittels HPLC

Säule	Aminex HPX-87H Ion Exclusion Column 300 x 7.8 mm, 9 µm Bio-Rad Nr.: 125-0140
Vorsäule	Micro-Guard Catio-Cartridge, Bio-Rad Nr.: 125-0129
Detektor	Brechungsindex-Detektor
Eluent	2.5 mmol/l H ₂ SO ₄
Fluss	0.6 ml/Min
Temperatur	40 °C
Injectionsvolumen	25 µl
Kalibration HPLC	Lactat: 200 - 30'000 mg/l Acetat: 200 - 30'000 mg/l
Retentions-Zeit	Lactat: ≈13 Min Acetat: ≈15 Min
Probenvorbereitung	Die Proben werden 1:1 verdünnt, filtriert und direkt eingespritzt.

Rohdaten der Vorversuche 2

Startwerte

		pH	titr. Säure	TR	oTR	Lactat	Acetat	Propionat	Isobutyrat	Butyrat	Isovaleriat	Valeriat	Capronat	Geruch
			[mmol/l]	[%]	[%]	[g/l]	[g/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	
FG	1	6.07	11.33	5.42%	56.52%	NN	0.76	284	NN	67	NN	NN	NN	Gülle / Mist
	1-D	6.07	11.33	5.33%	56.89%	0.36	1.14	266	NN	62	NN	NN	NN	Gülle / Mist
FG / 10% Glu	2	6.12	12.64	13.73%	84.37%	0.26	0.58	457	NN	110	15	11	NN	Gülle / Mist
	2-D	6.12	12.64	13.56%	83.23%	0.24	0.58	418	NN	95	NN	11	NN	Gülle / Mist
FG / MSB	3	5.50	24.32	5.14%	58.11%	1.92	1.02	358	NN	87	11	NN	NN	Gülle / Mist
	3-D	5.50	24.32	5.29%	58.32%	1.82	0.96	279	NN	65	NN	NN	NN	Gülle / Mist
FG / 10% Glu / MSB	4	5.44	24.18	11.79%	82.63%	1.76	0.86	342	NN	72	NN	NN	NN	Gülle / Mist
	4-D	5.44	24.18	12.05%	83.20%	1.74	0.82	260	NN	54	NN	NN	NN	Gülle / Mist

Endwerte

		pH	titr. Säure	TR	oTR	Lactat	Acetat	Propionat	Isobutyrat	Butyrat	Isovaleriat	Valeriat	Capronat	Geruch
			[mmol/l]	[%]	[%]	[g/l]	[g/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	
FG	1	6.05	13.17	4.66%	48.78%	NN	2.16	908	82	405	133	157	26	Gülle / Mist
	1-D	6.10	17.63	4.82%	49.45%	NN	1.56	891	89	443	146	154	24	Gülle / Mist
FG / 10% Glu	2	3.47	257.79	10.54%	75.31%	14.7	0.88	397	NN	5205	NN	15	34	Silage
	2-D	3.54	246.10	9.50%	76.39%	17.4	0.42	469	NN	6466	16	40	315	Silage
FG / MSB	3	6.70	8.25	4.30%	53.28%	NN	1.84	705	131	904	181	347	157	Gülle / Mist
	3-D	6.76	12.99	4.44%	51.27%	NN	NN	661	129	597	177	326	119	Gülle / Mist
FG / 10% Glu / MSB	4	3.59	171.41	6.53%	66.44%	21.34	1.06	400	NN	95	10	12	10	Silage
	4-D	3.61	184.47	6.55%	67.60%	22.2	1.12	368	NN	91	10	13	12	Silage

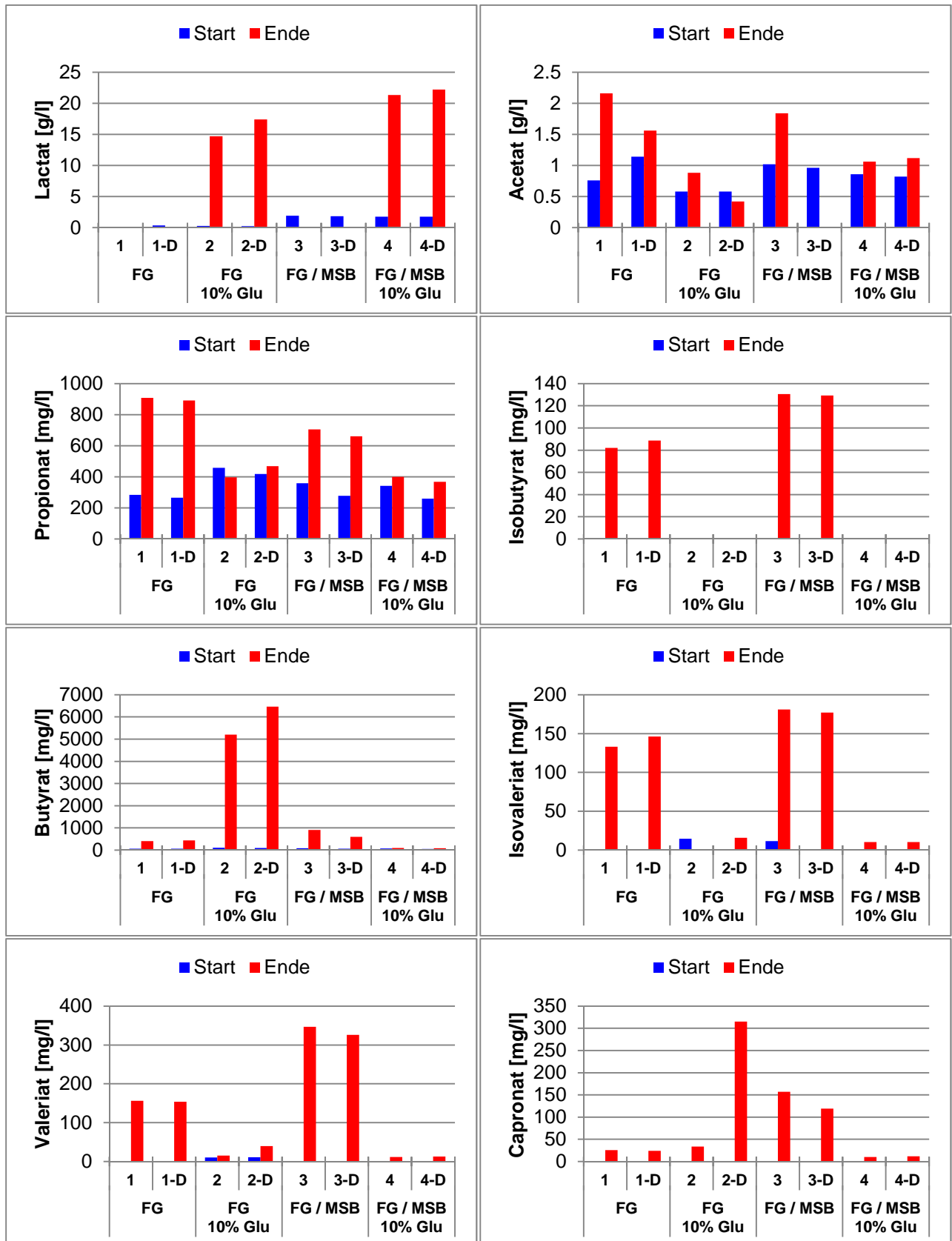
pH-Verlauf

		Start	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag
FG	1	6.07	5.72	5.57	5.49	5.55	5.52	5.55	5.59	5.62	5.63	5.67	5.78	6.05
FG / 10% Glu	2	6.12	4.57	4.26	4.33	4.65	4.30	3.97	3.78	3.68	3.62	3.56	3.51	3.47
FG / MSB	3	5.50	5.79	5.66	5.56	5.48	5.45	5.48	5.50	5.54	5.60	5.72	6.68	6.70
FG / 10% Glu / MSB	4	5.44	3.69	3.55	3.53	3.61	3.59	3.59	3.57	3.59	3.58	3.58	3.59	3.59

Druck-Verlauf

		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag
FG	1	104	26	108	28	29	17	73	6	27	27	31	84
	1-D	209	10	63	15	20	11	35	14	22	26	46	116
FG / 10% Glu	2	524	86	224	820	853	43	109	0	18	7	-6	18
	2-D	465	230	151	752	1535	352	47	3	-1	-8	-20	5
FG / MSB	3	157	93	54	20	36	14	55	2	26	46	102	218
	3-D	179	48	26	9	48	23	60	43	98	219	318	171
FG / 10% Glu / MSB	4	187	58	1636	2308	92	27	80	0	3	-2	-24	12
	4-D	58	63	207	2154	650	74	30	1	-1	-4	-38	-4

FFS der VV2 im Detail



Rohdaten HV1

Startwerte

		pH	titr. Säure	TR	oTR	Lactat	Acetat	Propionat	Isobutyrat	Butyrat	Isovaleriat	Valeriat	Capronat	Geruch
			[mmol/l]	[%]	[%]	[g/l]	[g/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	
FG	1	5.96	13.63	6.66%	52.10%	NN	0.66	280	NN	57	15	12	NN	Gülle / Mist
FG / MSB	2	5.49	21.17	6.61%	53.87%	0.96	0.82	256	NN	50	11	NN	NN	Gülle / Mist
FG / 2.5% Glu / MSB	3	5.45	21.35	8.37%	64.05%	0.8	0.54	246	NN	48	9	NN	NN	Gülle / Mist
FG / 5% Glu / MSB	4	5.49	21.48	10.65%	71.39%	0.78	0.58	303	10	52	10	NN	NN	Gülle / Mist
FG / 7.5% Glu / MSB	5	5.47	21.32	13.07%	75.99%	1.54	0.94	390	NN	69	14	NN	NN	Gülle / Mist
FG / 10% Glu / MSB	6	5.48	21.43	15.21%	79.93%	1.04	0.58	287	NN	59	12	10	NN	Gülle / Mist

Endwerte

		pH	titr. Säure	TR	oTR	Lactat	Acetat	Propionat	Isobutyrat	Butyrat	Isovaleriat	Valeriat	Capronat	Geruch
			[mmol/l]	[%]	[%]	[g/l]	[g/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	
FG	1a	6.40	6.97	6.29%	48.64%	1.02	0.74	1012	95	379	179	163	18	Gülle / Mist
	1b	6.60	5.61	6.31%	48.64%	0.32	NN	763	131	493	224	191	22	Gülle / Mist
FG / MSB	2a	6.92	3.63	6.05%	49.33%	0.66	0.2	979	180	318	235	325	72	Gülle / Mist
	2b	6.88	3.45	6.07%	48.89%	0.66	0.24	780	160	174	225	301	70	Gülle / Mist
FG / 2.5% Glu / MSB	3a	3.72	171.36	6.83%	62.57%	20.34	1.2	461	NN	201	16	10	NN	Silage
	3b	3.71	171.94	7.98%	62.98%	20.7	1.14	571	12	277	14	12	NN	Silage
FG / 5% Glu / MSB	4a	3.71	175.44	8.16%	62.75%	22.16	1.12	421	12	220	15	13	NN	Silage
	4b	3.71	168.01	8.15%	62.87%	21.2	1.1	546	10	172	14	NN	NN	Silage
FG / 7.5% Glu / MSB	5a	3.71	174.59	8.51%	63.72%	22.98	1	564	10	122	14	11	NN	Silage
	5b	3.69	183.34	8.41%	62.75%	23.8	1.08	439	NN	123	14	NN	NN	Silage
FG / 10% Glu / MSB	6a	3.68	171.36	8.35%	63.71%	23.48	0.92	456	NN	76	13	14	NN	Silage
	6b	3.67	168.60	8.34%	63.51%	23.4	0.94	456	NN	75	13	NN	NN	Silage

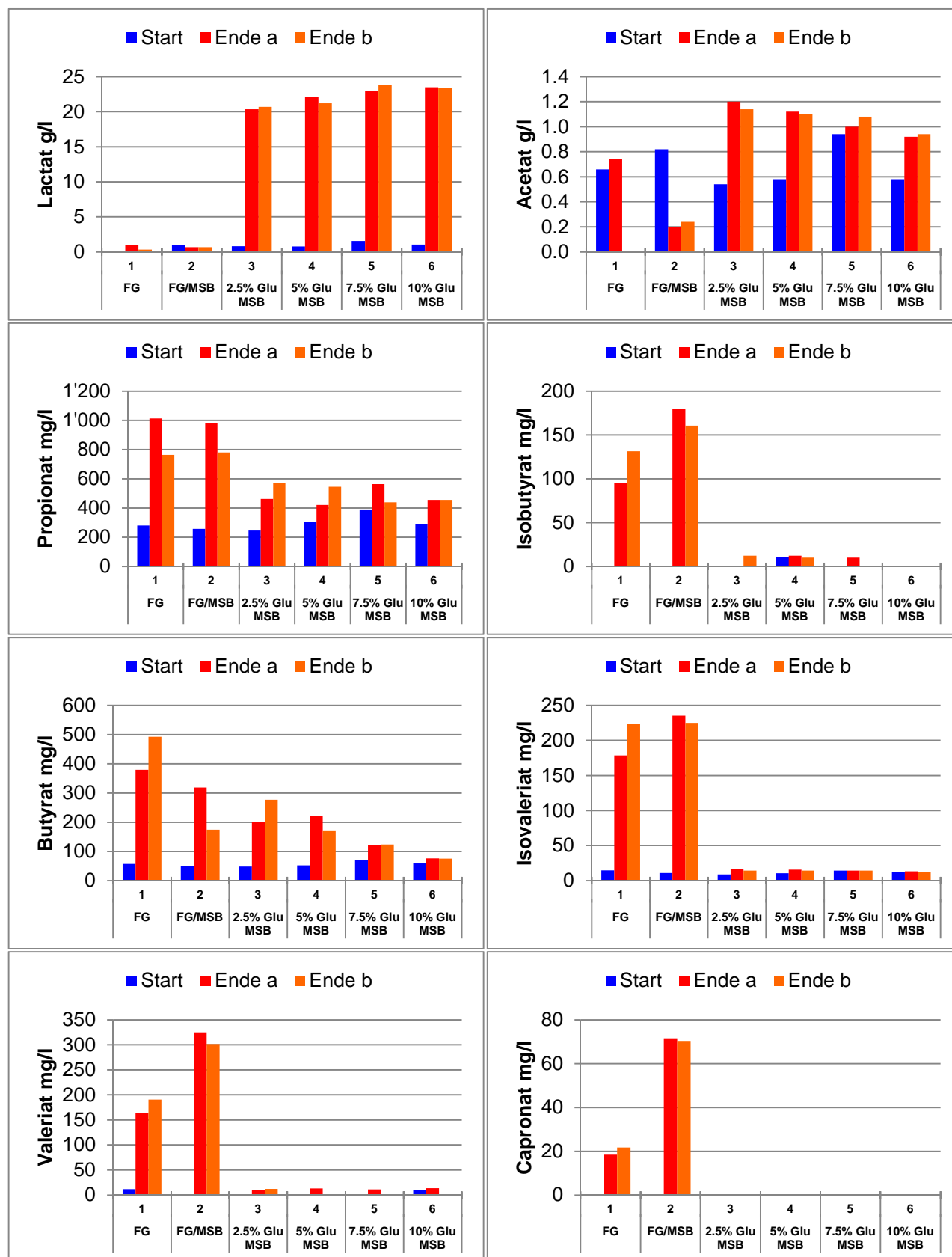
pH-Verlauf

		Start	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag
FG	1a	5.96	5.51	5.51	5.51	5.54	5.55	5.58	5.57	5.59	5.58	5.69	6.06	6.40
	1b	5.96	5.49	5.49	5.50	5.51	5.54	5.57	5.58	5.59	5.63	5.71	6.26	6.60
FG / MSB	2a	5.49	5.45	5.46	5.45	5.45	5.48	5.56	5.58	5.66	5.86	6.34	6.78	6.92
	2b	5.49	5.46	5.46	5.47	5.48	5.49	5.55	5.60	5.65	5.96	6.53	6.80	6.88
FG / 2.5% Glu / MSB	3a	5.45	3.84	3.67	3.67	3.63	3.64	3.67	3.68	3.67	3.69	3.70	3.70	3.72
	3b	5.45	3.88	3.67	3.65	3.63	3.65	3.67	3.69	3.68	3.70	3.69	3.70	3.71
FG / 5% Glu / MSB	4a	5.49	3.80	3.66	3.65	3.64	3.66	3.67	3.71	3.67	3.70	3.69	3.68	3.71
	4b	5.49	3.79	3.65	3.66	3.65	3.66	3.68	3.71	3.68	3.72	3.71	3.69	3.71
FG / 7.5% Glu / MSB	5a	5.47	3.77	3.66	3.64	3.64	3.65	3.66	3.69	3.67	3.68	3.68	3.68	3.71
	5b	5.47	3.79	3.65	3.64	3.64	3.65	3.69	3.69	3.67	3.68	3.67	3.68	3.69
FG / 10% Glu / MSB	6a	5.48	3.79	3.63	3.62	3.63	3.63	3.65	3.70	3.68	3.70	3.69	3.68	3.68
	6b	5.48	3.80	3.62	3.60	3.63	3.62	3.65	3.70	3.67	3.70	3.69	3.69	3.67

Druck-Verlauf

		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag
FG	1a	222	97	66	60	47	63	72	62	72	130	250	486
	1b	215	105	70	65	44	55	57	43	76	179	347	536
FG / MSB	2a	237	102	76	55	47	63	80	82	216	605	558	346
	2b	231	102	72	57	47	59	84	97	272	627	443	395
FG / 2.5% Glu / MSB	3a	565	50	35	16	13	21	15	18	-4	9	66	62
	3b	563	70	35	24	15	24	14	5	-2	9	13	16
FG / 5% Glu / MSB	4a	546	63	41	55	208	577						
	4b	513	60	33	21	315	2585						
FG / 7.5% Glu / MSB	5a	516	55	30	8	471	2413						
	5b	501	52	32	14	1111	5194						
FG / 10% Glu / MSB	6a	448	47	30	24	1668	3900						
	6b	425	47	34	22	2120	5194						

FFS der HV1 im Detail



Rohdaten HV2

Startwerte

		pH	titr. Säure	TR	oTR	Lactat	Acetat	Propionat	Isobutyrat	Butyrat	Isovaleriat	Valeriat	Capronat	Geruch
			[mmol/l]	[%]	[%]	[g/l]	[g/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	
FG	1	6.24	10.75	5.71%	51.29%	NN	0.54	358.74	16.86	128.30	27.01	19.51	NN	Gülle / Mist
FG / 0.5% Glu / MSB	2	5.85	18.56	5.23%	57.88%	0.72	0.64	348.22	13.85	144.32	19.00	17.58	NN	Gülle / Mist
FG / 1% Glu / MSB	3	5.82	19.23	5.60%	60.86%	0.76	0.66	364.17	13.93	141.59	21.87	18.03	NN	Gülle / Mist
FG / 1.5% Glu / MSB	4	5.83	19.23	5.92%	63.24%	0.74	0.64	370.21	14.57	106.79	20.81	15.67	NN	Gülle / Mist
FG / 2% Glu / MSB	5	5.85	19.20	6.37%	65.34%	0.74	0.64	376.15	18.50	119.04	29.07	20.34	NN	Gülle / Mist
FG / 2.5% Glu / MSB	6	5.84	19.01	7.05%	65.76%	0.74	0.64	377.88	15.55	151.27	23.00	20.35	NN	Gülle / Mist

Endwerte

		pH	titr. Säure	TR	oTR	Lactat	Acetat	Propionat	Isobutyrat	Butyrat	Isovaleriat	Valeriat	Capronat	Geruch
			[mmol/l]	[%]	[%]	[g/l]	[g/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	
FG	1a	6.20	22.47	4.59%	49.32%	NN	2.18	1152.32	192.35	679.22	340.86	358.56	21.52	Gülle / Mist
	1b	6.08	20.76	4.53%	51.32%	NN	2.58	993.59	168.12	689.48	304.31	328.00	57.60	Gülle / Mist
FG / 0.5% Glu / MSB	2a	5.25	41.40	4.14%	54.23%	NN	3.3	967.12	365.74	1517.97	246.17	748.95	744.24	Gülle / Mist
	2b	5.32	38.56	4.19%	56.59%	NN	3.24	823.66	387.73	1439.49	257.41	673.94	780.43	Gülle / Mist
FG / 1% Glu / MSB	3a	5.41	32.97	4.52%	56.85%	NN	2.34	1257.88	367.71	5651.01	199.76	381.55	553.72	Gülle / Mist
	3b	5.40	33.28	4.51%	56.19%	NN	2.38	1347.31	476.27	5715.73	222.16	404.83	540.86	Gülle / Mist
FG / 1.5% Glu / MSB	4a	5.34	46.66	4.67%	57.58%	NN	1.38	2160.60	543.84	7736.59	139.49	230.91	489.51	Gülle / Mist
	4b	5.29	50.50	4.65%	58.47%	NN	1.44	2052.41	613.06	7741.50	141.79	230.04	505.20	Gülle / Mist
FG / 2% Glu / MSB	5a	3.75	146.66	5.63%	64.12%	17.38	1.32	1120.21	12.16	615.84	22.80	22.06	NN	Silage
	5b	3.78	145.85	5.67%	65.33%	17.36	1.42	1089.30	15.08	677.17	22.55	26.99	11.46	Silage
FG / 2.5% Glu / MSB	6a	3.64	172.97	6.03%	65.22%	20.2	1.46	1113.17	13.78	590.93	21.37	22.41	NN	Silage
	6b	3.62	170.89	5.95%	65.38%	19.62	1.4	1064.87	12.15	590.52	19.87	20.06	NN	Silage

pH-Verlauf

		Start	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag
FG	1a	6.24	5.65	5.63	5.69	5.67	5.74	5.70	5.59	5.63	5.63	5.68	5.82	6.20
	1b	6.24	5.49	5.54	5.57	5.56	5.60	5.62	5.61	5.64	5.63	5.64	5.66	6.08
FG / 0.5% Glu / MSB	2a	5.85	5.00	5.42	5.39	5.35	5.37	5.36	5.34	5.35	5.34	5.31	5.29	5.25
	2b	5.85	4.75	5.36	5.37	5.35	5.37	5.37	5.33	5.37	5.36	5.35	5.35	5.32
FG / 1% Glu / MSB	3a	5.82	4.16	4.56	5.67	5.62	5.64	5.63	5.62	5.62	5.50	5.47	5.45	5.41
	3b	5.82	4.12	4.55	5.68	5.62	5.62	5.62	5.57	5.59	5.52	5.46	5.44	5.40
FG / 1.5% Glu / MSB	4a	5.83	3.91	3.96	4.04	4.13	4.80	5.34	5.39	5.38	5.34	5.35	5.35	5.34
	4b	5.83	3.90	3.92	4.00	4.05	4.37	5.04	5.32	5.36	5.32	5.31	5.30	5.29
FG / 2% Glu / MSB	5a	5.85	3.89	3.63	3.70	3.71	3.72	3.72	3.75	3.76	3.75	3.74	3.75	3.75
	5b	5.85	3.92	3.65	3.71	3.72	3.75	3.76	3.74	3.78	3.79	3.78	3.78	3.78
FG / 2.5% Glu / MSB	6a	5.84	3.89	3.60	3.61	3.59	3.62	3.64	3.62	3.62	3.63	3.63	3.65	3.64
	6b	5.84	3.88	3.57	3.59	3.59	3.62	3.62	3.61	3.63	3.63	3.63	3.63	3.62

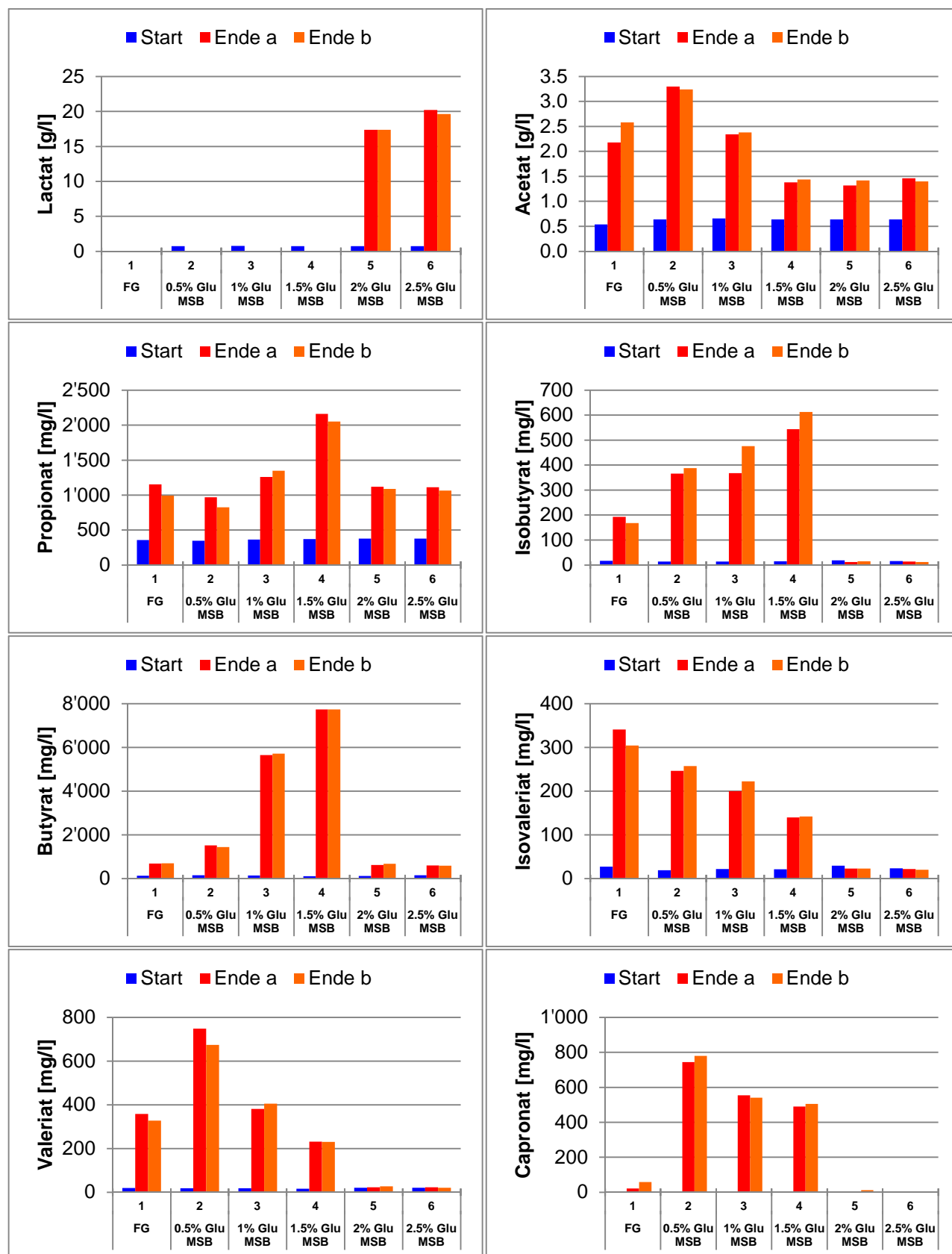
Druck-Verlauf

		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag
FG	1a	133	95	82	70	53	74	86	103	93	91	157	248
	1b	109	82	69	64	36	42	43	45	55	73	101	237
FG / 0.5% Glu / MSB	2a	392	232	71	50	36	42	44	40	46	53	93	119
	2b	386	337	67	2	-4	52	40	25	33	43	42	51
FG / 1% Glu / MSB	3a	477	198	1190	83	55	62	36	41	47	32	33	46
	3b	489	203	1166	70	51	63	41	44	36	31	35	42
FG / 1.5% Glu / MSB	4a	578	102	51	144	1144	644	151	75	51	28	15	20
	4b	573	87	58	82	564	1085	288	91	53	27	25	29
FG / 2% Glu / MSB	5a	600	83	40	31	5	20	3	3	7	-3	4	3
	5b	613	73	49	39	9	283	7	8	14	5	2	-3
FG / 2.5% Glu / MSB	6a	641	100	51	36	4	9	-3	2	0	-4	3	6
	6b	626	85	47	40	44	68	49	47	42	11	-5	3

3 Wochen nach Fermentationsende

		pH	titr. Säure	TR	oTR	Lactat	Acetat	Propionat	Isobutyrat	Butyrat	Isovaleriat	Valeriat	Capronat
			[mmol/l]	[%]	[%]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]
FG / 2% Glu / MSB	5a	3.93	149.55	5.74%	62.77%	17280	1360	1114.24	33.69	652.30	30.04	50.26	18.32
	5b	3.99	145.20	5.86%	61.91%	16780	1540	930.40	13.74	881.95	20.31	70.12	39.95
FG / 2.5% Glu / MSB	6a	3.71	180.63	6.22%	63.08%	22160	1400	901.68	12.09	440.71	19.90	18.35	0.00
	6b	3.77	183.17	5.98%	63.83%	20600	1380	975.77	14.93	516.53	23.96	21.34	0.00

Endwerte der HV2 im Detail



Rohdaten HV3

Startwerte

		pH	titr. Säure	TR	oTR	Lactat	Acetat	Propionat	Isobutyrat	Butyrat	Isovaleriat	Valeriat	Capronat	Geruch
			[mmol/l]	[%]	[%]	[g/l]	[g/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	
FG	1	6.03	22.39	3.67%	79.22%	NN	0.54	477.28	44.73	115.02	118.11	28.44	NN	Gülle/Mist
FG / 2% Glu / 1.00E+06	2	5.93	42.83	5.11%	85.28%	NN	0.6	525.58	41.26	127.02	109.21	27.77	NN	Gülle/Mist
FG / 2% Glu / 3.00E+06	3	5.88	42.03	5.10%	86.45%	NN	0.6	523.09	38.74	113.36	102.15	26.56	NN	Gülle/Mist
FG / 2% Glu / 9.00E+06	4	5.87	41.01	5.19%	85.09%	0.24	0.62	518.59	39.28	113.07	99.55	26.68	NN	Gülle/Mist
FG / 2% Glu / 2.70E+07	5	5.77	43.11	5.10%	86.17%	0.44	0.64	497.70	38.89	112.83	100.03	26.51	NN	Gülle/Mist
FG / 2% Glu / 8.10E+07	6	5.53	60.90	5.02%	85.77%	1	0.68	485.52	35.19	100.85	91.58	23.41	NN	Gülle/Mist

Endwerte

		pH	titr. Säure	TR	oTR	Lactat	Acetat	Propionat	Isobutyrat	Butyrat	Isovaleriat	Valeriat	Capronat	Geruch
			[mmol/l]	[%]	[%]	[g/l]	[g/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	[mg/l]	
FG	1a	6.57	10.87	3.33%	77.39%	NN	0.46	1088.72	223.84	143.38	440.04	190.71	NN	Gülle/Mist
	1b	6.59	10.77	3.32%	77.20%	NN	0.36	1111.44	212.60	53.54	474.39	183.72	NN	Gülle/Mist
FG / 2% Glu / 1.00E+06	2a	3.61	168.86	4.45%	83.39%	12.46	1.84	528.50	43.65	2040.69	110.28	152.66	233.68	Silage
	2b	3.61	166.76	4.49%	83.61%	12.2	1.82	560.08	43.05	1832.04	108.10	156.22	254.84	Silage
FG / 2% Glu / 3.00E+06	3a	3.54	172.58	4.52%	83.97%	13.46	1.7	594.72	39.99	1693.67	100.26	96.23	141.63	Silage
	3b	3.54	173.26	4.51%	84.20%	13.52	1.7	544.77	42.15	1679.53	105.20	97.28	136.00	Silage
FG / 2% Glu / 9.00E+06	4a	3.47	179.73	4.63%	84.51%	15.02	1.64	673.55	45.25	1285.62	110.91	66.09	53.78	Silage
	4b	3.48	180.21	4.57%	84.41%	14.82	1.5	586.53	41.90	1453.73	105.84	62.70	49.83	Silage
FG / 2% Glu / 2.70E+07	5a	3.41	185.85	4.71%	84.89%	16.52	1.34	655.08	44.00	968.85	111.98	41.08	10.86	Silage
	5b	3.44	179.06	4.71%	84.82%	15.9	1.32	572.80	39.28	812.74	102.37	36.79	NN	Silage
FG / 2% Glu / 8.10E+07	6a	3.41	183.24	4.81%	85.61%	17.44	0.92	475.27	36.55	189.07	92.65	23.06	NN	Silage
	6b	3.42	172.58	4.82%	85.85%	16.98	0.92	487.21	37.32	196.95	96.96	23.84	NN	Silage

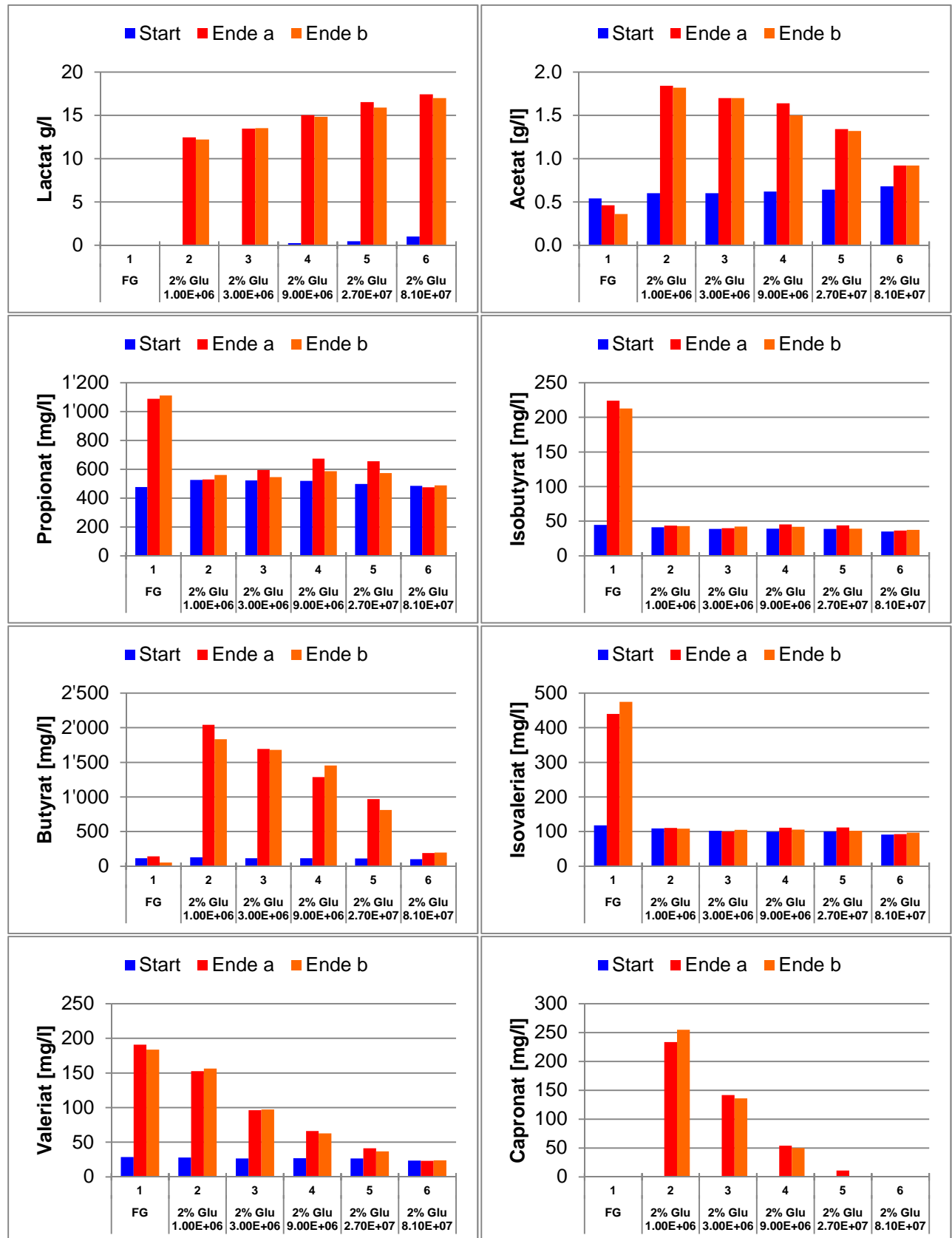
pH-Verlauf

		Start	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag
FG	1a	6.03	5.79	5.82	5.79	5.83	6.03	6.33	6.73	6.85	6.82	6.78	6.71	6.57
	1b	6.03	5.76	5.76	5.80	5.86	6.05	6.34	6.64	6.84	6.81	6.79	6.72	6.59
FG / 2% Glu / 1.00E+06	2a	5.93	4.64	3.72	3.51	3.56	3.58	3.61	3.58	3.59	3.60	3.62	3.62	3.61
	2b	5.93	4.62	3.70	3.56	3.58	3.61	3.64	3.61	3.61	3.62	3.63	3.62	3.61
FG / 2% Glu / 3.00E+06	3a	5.88	4.46	3.67	3.48	3.49	3.53	3.58	3.52	3.53	3.53	3.55	3.53	3.54
	3b	5.88	4.48	3.65	3.49	3.49	3.52	3.57	3.53	3.52	3.54	3.55	3.55	3.54
FG / 2% Glu / 9.00E+06	4a	5.87	4.19	3.54	3.43	3.44	3.46	3.49	3.47	3.47	3.47	3.49	3.48	3.47
	4b	5.87	4.20	3.57	3.42	3.43	3.47	3.50	3.45	3.46	3.48	3.48	3.47	3.48
FG / 2% Glu / 2.70E+07	5a	5.77	3.89	3.50	3.39	3.39	3.41	3.44	3.41	3.39	3.41	3.43	3.42	3.41
	5b	5.77	3.81	3.51	3.40	3.38	3.42	3.45	3.43	3.43	3.42	3.45	3.44	3.44
FG / 2% Glu / 8.10E+07	6a	5.53	3.62	3.44	3.38	3.37	3.40	3.42	3.39	3.39	3.41	3.42	3.42	3.41
	6b	5.53	3.61	3.45	3.37	3.38	3.41	3.42	3.40	3.41	3.41	3.42	3.42	3.42

Druckverlauf

		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag
FG	1a	149	105	119	119	131	200	239	184	130	123	119	105
	1b	159	90	114	113	124	181	233	196	135	128	107	101
FG / 2% Glu / 1.00E+06	2a	1243	288	68	53	35	30	24	24	13	9	4	8
	2b	1261	283	76	47	38	22	17	18	7	6	7	9
FG / 2% Glu / 3.00E+06	3a	1184	140	61	50	40	26	20	18	8	8	9	5
	3b	1179	131	56	44	36	24	19	18	10	8	8	9
FG / 2% Glu / 9.00E+06	4a	1058	61	81	43	28	21	17	12	7	6	3	7
	4b	1101	67	51	44	34	23	16	14	8	3	11	6
FG / 2% Glu / 2.70E+07	5a	791	62	48	40	37	21	18	16	8	6	8	6
	5b	780	60	50	36	31	23	17	12	9	7	6	9
FG / 2% Glu / 8.10E+07	6a	277	76	38	34	28	20	14	11	6	3	7	4
	6b	280	80	42	29	24	18	13	12	5	4	9	7

Endwerte der HV3 im Detail



Aufgabenstellung

Studienjahrgang		SBUI 09
Titel		Anaerobe Vergärung von Fäkalstoffen mit Milchsäurebakterien
6.1.1.1 Vertraulich		<input type="checkbox"/> ja <input checked="" type="checkbox"/> nein
Fachgebiet		NNRE
Namen	Student	Pascal Schmid , Tel: 077 447 35 06, schmipa1@students.zhaw.ch
	1. Korrektor	Andreas Schönborn ZHAW Wädenswil, GE 205, Tel: 058 934 58 10, sand@zhaw.ch
	2. Korrektor	Alex Mathis ZHAW Wädenswil, GP 100, Tel: 058 934 59 16, mase@zhaw.ch
	3. Korrektor	Ralf Otterpohl TUHH Hamburg, Institut für Abwasserwirtschaft und Gewässerschutz, ro@tuhh.de
Ausgangslage		<p>Wasserlose Toiletten (z.B. Komposttoiletten) sind aus Sicht des Gewässerschutzes sehr erwünscht da mit ihnen die Entstehung von Abwasser komplett vermieden wird. In vielen Ländern ohne geregelte Abwasserentsorgung wären solche Toilettensysteme ein grosser Fortschritt im Vergleich zu heute. In der Praxis haben wasserlose Toiletten oft den Ruf, unhygienisch zu sein und schlecht zu riechen. Komposttoiletten jedoch riechen nicht, wenn sie richtig betrieben werden. Aber genau das ist häufig das Problem.</p> <p>Im System der „Terra Preta Sanitation“ werden rohe Fäkalien unter Luftabschluss mit Milchsäurebakterien vergoren. Da dies weitgehend geruchsneutral abläuft, eröffnet sich eine neue Möglichkeit für eine wasserlose Sanitärtechnologie, die sich prinzipiell auch in dicht überbauten Städten umsetzen liesse, an denen heute keine Kanalisation besteht.</p> <p>Eine andere denkbare Anwendung wäre die Vorkonditionierung von Klärschlamm für die Weiterverarbeitung in der hydrothermalen Karbonisierung (HTC), welche heute bei Klärschlamm mit starken Geruchsemissionen verbunden ist.</p>

Zielsetzungen	<p>Es sollen systematische Versuche zur Milchsäurevergärung von Fäkalmaterialien durchgeführt werden. Dazu soll zunächst die Milchsäuregärung an sich, sowie ihr Einsatz im Bereich der „Terra preta sanitation“ recherchiert werden.</p> <p>Um das Risiko des Kontakts mit Humanpathogenen möglichst klein zu halten, sollen die Versuche zunächst mit Schweinefäkalien (z.B. Gülle) durchgeführt werden. Diese haben den Vorteil, leicht und in grosser Menge verfügbar zu sein. Es sollen parallele Versuche angesetzt werden, um verschiedene Stämme von Milchsäurebakterien (z.B. EM, Mischung von J. Reckin), Volumenverhältnisse, Co-Substrate und Reaktionsbedingungen auszutesten. Der Gärfortschritt soll mittels olfaktorischem Monitoring, mit der Messung von Gasen im Überstand, sowie von pH und wenn möglich verschiedenen Säuren im Substrat überwacht werden.</p> <p>Die erfolgversprechendsten Ansätze sollen, wenn möglich, mit menschlichen Fäkalien in einem Praxistest getestet werden.</p>
Erwartete Resultate	<p>Bachelorarbeit gemäss Weisungen der ZHAW</p> <p>Poster</p> <p>Mündliche Prüfung</p> <p>Spezieller Inhalt:</p> <ul style="list-style-type: none">- Literaturrecherche zu Milchsäuregärung und Terra preta sanitation- Praxisnahe Versuche mit Schweinefäkalien- Praxistest mit menschlichen Fäkalien- Beurteilung der Versuche mit analytischen Messungen

Inhaltsverzeichnis	Abstract
(provisorisch)	
	Inhaltsverzeichnis
	Liste der Abkürzungen
	1. Einleitung und Fragestellung
	2. Grundlagen
	2.1. Komposttoiletten
	2.2. Fäkalstoffe: Zusammensetzung und Problematik der Vergärung
	2.3. Terra preta sanitation
	2.4. Milchsäuregärung
	3. Material und Methoden
	3.1. Verwendete Materialien
	3.2. Materialbeschaffung
	3.3. Versuchsvarianten / Durchführung
	3.4. Messparameter
	3.5. Vergleichswerte ermitteln
	4. Ergebnisse und Diskussion
	4.1. Versuch 1
	4.2. Versuch 2
	4.3. Versuch 3
	4.4. Referenzwerte
	4.5. Praxisversuch
	5. Schlussfolgerungen
	5.1. Fazit aus den Versuchen
	5.2. Ausblick
	6. Literatur
	6.1. Bücher und Zeitschriften
	6.2. Internet
	7. Verzeichnis der Bilder
	Anhang

Termine		Juli			August				September				Oktober				November				Dezember					
		27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	1	2	3	4
Aufgabenanalyse																										
Literaturrecherche																										
Versuchsplanung																										
Versuche																										
Auswertung																										
Schreiben																										
Abwesenheiten																										
- Pascal																										
- Andreas																										
- Alex																										
- Urs Baier																										
Besprechungen																										

★

Meilensteine: 1. Besprechung der Versuchsplanung

2. Besprechung der 1. Versuchsreihe

3. Halbzeitgespräch

4. Abgabe der Vorabversion

5. Abgabe der Arbeit

hellgrau = Nebentätigkeit

dunkelgrau = Haupttätigkeit

Donnerstag, 20. Dezember 2012, 12.00 Uhr

Bemerkungen	Personal:	Analyse (über Labor Umweltanalytik)
	Material:	Komposttoilette, EM, Substrate, Fäkalien, Ansatzgefässe
	Finanzen:	Ja (gemäss Budgetplan)
Arbeitsort	Zu Hause, Labor Umweltbiotechnologie in Wädenswil	
Unterschrift Korrektor 1		Unterschrift Korrektor 2
Unterschrift Student		

Plagiate verstossen gegen die Urheberrechte, eine Verletzung dieser Rechte wird gemäss der Studien- und Prüfungsordnung für die Bachelorstudiengänge der Hochschule Wädenswil vom 01.09.2006 in § 38, 39 geregelt

Plagiatserklärung

ERKLÄRUNG

**betreffend das selbständige Verfassen einer Bachelorarbeit
im Departement Life Sciences und Facility Management**

Mit der Abgabe dieser Bachelorarbeit versichert der/die Studierende, dass er/sie die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst hat.

Der/die unterzeichnende Studierende erklärt, dass alle verwendeten Quellen (auch Internetseiten) im Text oder Anhang korrekt ausgewiesen sind, d.h. dass die Bachelorarbeit keine Plagiate enthält, also keine Teile, die teilweise oder vollständig aus einem fremden Text oder einer fremden Arbeit unter Vorgabe der eigenen Urheberschaft bzw. ohne Quellenangabe übernommen worden sind.

Bei Verfehlungen aller Art treten der Paragraph 38*) (Unredlichkeit und Verfahren bei Unredlichkeit) der Studien- und Prüfungsordnung für die Bachelor-Studiengänge der Hochschule Wädenswil vom 1. September 2006 sowie die Bestimmungen der Disziplinar massnahmen der Hochschulordnung in Kraft.

Ort, Datum:

Unterschrift:

.....

.....

Das Original dieses Formulars ist bei der ZHAW-Version aller abgegebenen Bachelorarbeiten zu Beginn der Dokumentation nach dem Abstract bzw. dem Management Summary mit Original-Unterschriften und -Datum (keine Kopie) einzufügen.

***) 38. Unredlichkeit**

Bei Unredlichkeit gilt die Prüfung, Arbeit oder jede andere zu erbringende Leistung als nicht bestanden, eine Note wird nicht erteilt. Unredlichkeiten können den Ausschluss von der Prüfung, die Ungültigerklärung eines Leistungsnachweises sowie die Verweigerung oder die Ungültigerklärung des Diploms zur Folge haben.

In der Regel ist die ganze Prüfung, Arbeit oder andere zu erbringende Leistung anlässlich des nächsten ordentlichen Termins zu wiederholen. Über Ausnahmen entscheidet die Leitung der Fachabteilung und die Leiterin Studium.

Laktofermentation von Fischgülle

Verfasst von Pascal Schmid, Bachelor Studiengang Umweltingenieurwesen 2009-2012



Einleitung

Flachrucht wird vermehrt in Kreislaufanlagen ausserhalb der Landwirtschaftszone betrieben. Die Urbanfarmers AG plant Aquaponik-Dachfarmen im urbanen Raum. So werden die Nahrungsmittel dort produziert, wo sie verbraucht werden. Um die Nährstoffkreisläufe weiter zu schliessen, soll die Flachgülle weiterverwertet werden, so dass nur Produkte das Dach verlassen. Das Problem ist jedoch die Lagerung der Flachgülle ohne störende Geruchsemissionen.

Ziele der Arbeit

- Anerobes Stabilisierung der Fleischgülle durch Laktofermentation
- Wenig Gärentwicklung während der Fermentation
- Keine Geruchsemissionen bei der Lagerung der Fleischgülle
- Bedingungen für eine erfolgreiche Laktofermentation erfassen

Vorteile einer Lactofermentation von Fischgülle

Milchsäurebakterien hydrolisieren wasserlösliche Kohlenhydrate, Proteine und Faserbestandteile anaerob zu organischen Säuren. Dies führt zu einer Senkung des pH-Wertes und somit zu einer Hemmung anderer unerwünschter Mikroorganismen → **anaerobe Stabilisierung**

Bei einer homofermentativen Milchsäuregärung 1 Hexose zu 2 Lactat abgebaut. Dieser Vorgang verläuft ohne CO_2 -Entwicklung

Wenn schnell ein pH unter 4,5 erreicht wird, wird vor allem Lactat gebildet und nicht andere flüchtige Fettsäuren, welche zu 90 % für unangenehme Gerüche verantwortlich sind → **Unterdrückung schlechter Gerüche**

Vorgehen

Die Versuche wurden im Labormassstab durchgeführt. Angewandt wurden die Ansätze mit *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* und *Pedococcus acidilactici*. Die Flüssigphase wurde während 12 Tagen bei 37 °C fermentiert. Vor und nach der Fermentation wurden Lactat, die flüchtigen Fettsäuren, die flüchtige Gesamtsäuren und die Trockenrückstände analysiert. Der pH-Wert und die Gasentwicklung wurden täglich gemessen.

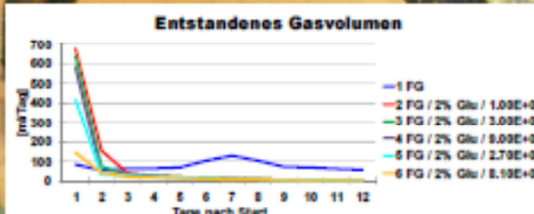


Qualitative research

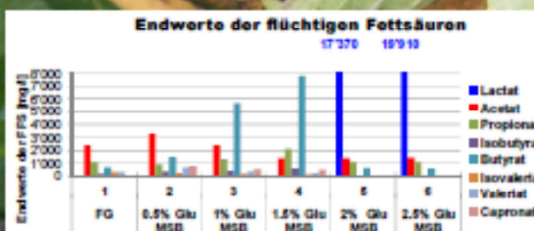
Mayo, R., Pelczarski, T. A., Fernández, M., Kowalczyk, M., Álvarez, P. & Berdowski, J. (2012). Updates in the Microbiology of Lactic Acid Bacteria. In: F. Maggi, R. R. Ross & G. M. Viorio (Hrsg.), *Lower*. Wiley-Blackwell.

Seto, H., Hirose, T., Kikura, T., Moriyama, Y. & Nakashimazu, Y. (2001). Analysis of melonoidous volatile substances of human waste: Faeces and urine. *Journal of Health Science*, 47(5), 5, 493-499.

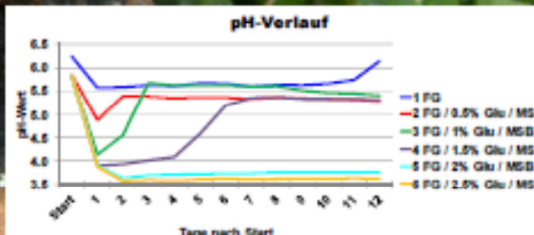
PE, R.F. (1992). Microbial and enzymatic activities for ensiling. In: J. Thoenen (Hrsg.), Einfluss von Milcherzeugnissen (*Lactobacillus plantarum*) und Melasse auf die Qualität von Grassilagen und die Leistung von Milchkühen.



Dieses Diagramm zeigt auf, dass die Gasentwicklung kleiner ist, wenn mit mehr Bakterien angelimpft wird. Gegen Fermentationsende findet fast keine Gasentwicklung mehr statt.



Dieses Diagramm zeigt auf, dass bei 2 % und 2,5 % Glukose am meisten Laktat und am wenigsten andere flüchtige Fettsäuren gebildet werden.



Dieses Diagramm zeigt auf, dass sich die Flaschgülle mit 2 % und 2.5 % Glukose auf einem pH von 3.63 bis 3.73 stabilisiert.

Resultate und Diskussion

Zuerst wurde der optimale Glukoseanteil im Gärgut ermittelt. Die besten Ergebnisse werden mit einem Glukoseanteil von 2 % und 2,5 % im Gärgut erzielt. Der pH sinkt am ersten Tag unter 4 und stabilisiert sich bei einem Wert von 3,63 bis 3,76. Die Laktofermentation verläuft zwar mit höheren Glukoseanteilen (5 %; 7,5 %; 10 % Glukose) besser, nach 4 Tagen findet jedoch eine starke CO₂-Entwicklung statt. Unterhalb von 2 % Glukose findet keine Milchsäuregärung mehr statt. Bei 1 % und 1,5 % Glukose wird vor allem Butyrat gebildet.

Anschließend wurde bei einem Glukoseanteil von 2 % die optimale Bakterienzahl zum Anpflanzen ermittelt. Die Laktofermentation läuft bei den Konzentrationen von 3.0×10^6 KE/g bis 2.42×10^8 KE/g ab. Je mehr Bakterien jedoch als Starterkultur zugegeben werden, desto schneller stabilisiert sich der pH auf einem tieferen pH. Dazu kommt, dass mehr Lactat und weniger Acetat und Butyrat gebildet wird.