Die approbierte Originalversion dieser Diplom-/Masterarbeit ist an der Hauptbibliothek der Technischen Universität Wien aufgestellt (http://www.ub.tuwien.ac.at).

The approved original version of this diploma or master thesis is available at the main library of the Vienna University of Technology (http://www.ub.tuwien.ac.at/englweb/).



TECHNISCHE UNIVERSITÄT WIEN Vienna University of Technology

DIPLOMARBEIT

Heisswasservorbehandlung von Stroh

Methodenentwicklung zur Ausführung und Auswertung im Labormaßstab

ausgeführt zum Zwecke der Erlangung des akademischen Grades eines Diplom-Ingenieurs

unter der Leitung von

Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Anton Friedl Dipl.-Ing. Philipp Kravanja

am Institut für Verfahrenstechnik, Umwelttechnik und techn. Biowissenschaften der

Technischen Universität Wien

von

Felix Weinwurm Matr. Nr. 0426721 Am Berg 8, 2126 Ladendorf

Wien, am 15. November 2010

Felix Weinwurm

ERKLÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, dass ich meine Diplomarbeit nach den anerkannten Grundsätzen für wissenschaftliche Abhandlungen selbständig ausgeführt habe und alle verwendeten Hilfsmittel, insbesondere die zugrundegelegte Literatur genannt habe. Weiters erkläre ich, dass ich dieses Diplomarbeitsthema weder im In- noch im Ausland (einer Beurteilerin/einem Beurteiler zur Begutachtung) in irgendeiner Form als Prüfungsarbeit vorgelegt habe und dass diese Arbeit mit der vom Begutachter beurteilten Arbeit übereinstimmt.

Wien, am 15. November 2010

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mich während der Verfassung dieser Diplomarbeit und des gesamten Studiums begleitet und unterstützt haben. Im Besonderen gilt mein Dank Herrn Professor Anton Friedl und Philipp Kravanja für die umfassende Betreuung. Darüber hinaus seien meine Eltern erwähnt, die mich immer moralisch und finanziell unterstützt haben. Dank auch an meine Studienkollegen, mit denen ich ein einige tolle Jahre verbringen durfte.

Kurzzusammenfassung

Angetrieben durch Diskussionen um den Klimawandel und zukünftige Treibstoffknappheit beschäftigt sich die Wissenschaft seit einiger Zeit schon mit der Frage wie aus alternativen, erneuerbaren Quellen Kraftstoffe und weitere Produkte gewonnen werden können. Ein vielversprechender Vertreter dieser ist der sogenannte "Bio-Ethanol" also Ethanol aus biogenen Rohstoffen. Die Produktion umfasst gewöhnlich die Verfahrensschritte Vorbehandlung, Verzuckerung und Fermentation. Bei der Verwendung von lignozellulosischen Rohstoffen nimmt der energie- und chemikalienintensive Vorbehandlungschritt einen entscheidenden Faktor der Wirtschaftlichkeit des gesamten Prozesses ein.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten weniger die chemischen Vorgänge bei der Vorbehandlung, als die apparative Handhabung und Prozessführung beleuchtet werden. Zu diesem Zweck wurden verschiedene gängige Vorbehandlungsarten auf Basis der Literatur auf Durchführbarkeit und Erfahrungsgenerierung durch ein Versuchsprogramm untersucht. Der experimentelle und methodische Teil dieser Arbeit umfasste die Inbetriebnahme eines Hochdruckreaktors, Entwurf und Durchführung eines Versuchsprogrammes, Entwicklung und Durchführung eines geeigneten Analysenprogrammes, sowie die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse.

Um aus den Versuche möglichst geeignete Ergebnisse für eine statistische Auswertung zu erhalten wurden Methoden des "Design of Experiments" herangezogen, die in einen Versuchsplan vom Typ "Central Composite Design" mündeten.

Erwartungsgemäß zeigte sich, dass bei der durchgeführten Heisswasserbehandlung (Liquid Hot Water, kurz LHW, Treatment) bevorzugt die Zucker der Hemizellulose, im Besonderen Xylose aus dem Lignozelluloseverband gelöst wurden. Auffällig, aber nicht ungewöhnlich war, dass die Zucker generell hauptsächlich als Oligomere in Lösung gingen. Von der Xylose wurden gesamt rund 6 bis 40% der theoretisch möglichen Menge aus dem Rohstoff gelöst. Im Vergleich zur Literatur wurde etwa die Hälfte der Xylose gelöst. Es wurde gleichzeitig aber auch weniger als halb so viel der Glukose gelöst wie in den Literaturstellen angegeben wird. Die Modellierung funktionierte am Besten für die Ausbeute monomerer und oligomerer Xylose sowie deren Folgeprodukt Furfural. Weiters wurde untersucht, ob eine Abhängigkeit der Ergebnisse vom Summenparameter "Severity Factor" gefunden werden konnte. Dies gelang für mono- und oligomere Xylose sowie die Abbauprodukte relativ gut.

Sollten weitere Arbeiten auf diesem Gebiet durchgeführt werden sollten diese zum Fokus haben, die Analyseprozedur weiter zu verfeinern und die darauf gründenden Fehler zu minimieren. Des weiteren könnten auch andere Vorbehandlungsmethoden (z.B. basierend auf Organosolvverfahren oder ionischen Flüssigkeiten) untersucht werden.

Abstract

Driven by discussions around climate change and future fuel shortage, science engaged for some time now in the issue of gaining fuels and other products from alternative, renewable sources. A promising substitute is found in "bio-ethanol", that is ethanol made from biogenic feedstock. Production usually consists of the steps pretreatment, saccharification and fermentation. When lignocellulosic feedstock is used, pretreatment is a key factor in profitability of the whole process.

This thesis should focus on technical handling and management of the pretreatment process, instead of chemical processes. Therefore literature research on common pretreatment techniques was conducted, which were then evaluated for feasability and gain in experience. The experimental and methodic part of this thesis consists of commisioning a high pressure reactor, design and execution of a series of experiments, design and execution of the proper analysis procedure and statistical evaluation of the experimental results.

To get most suitable results for the statistical evaluation, methods of "design of experiments" were applied, which led to an experimental design of the "Central Composite Design" type.

As expected, the conducted Liquid Hot Water treatment mainly led to solubilization of hemicellulose-derived sugars, mainly xylose, from the lignocellulosic compound. Noticeable, but not unusual was that in general, the sugars were mainly solubilized as oligomers. About 6 to 40% of the theoretical maximum of xylose were solubilized from the feedstock. Compared to selected literature, thats about half the amount that was reached in similar experiments. Simultaneously, also less than half the amount of glucose was solubilized as stated in literature. Modeling showed the best results for yields of monomeric and oligomeric xylose and their degradation product furfural. It has been investigated furthermore, if a dependency of the results on the combined parameter "severity factor" can be found. This worked well for mono- and oligomeric xylose, as it did for the degradation products.

Should further work in this field be conducted, it should focus on refining the analytic prosedure. Furthermore, different types of pretreatment methods (e.g. organosolv processes or ionic liquid based methods) could be investigated.

Inhaltsverzeichnis

Da	anksa	gung		iii
Κι	urzzus	sammei	ıfassung	iv
Ał	ostrac	t		v
Ał	obildu	ngsverz	zeichnis	ix
Та	belle	nverzei	chnis	xi
Ve	erwen	dete Ze	eichen und Abkürzungen	xii
1.	Einf	ührung		1
	1.1.	Motiva		1
	1.2.	Ziel de	r Arbeit	4
	1.3.	wani	ler/des vertanfen(s)	Э
2.	Gru	ndlagen		6
	2.1.	Lignoz	ellulosische Biomasse	6
	2.2.	Ethan	olprozess und Bioraffinerie	8
		2.2.1.	Bioethanol	8
			2.2.1.1. Gewinnung von Ethanol aus Biomasse	8
			2.2.1.2. Eignung von Ethanol als Kraftstoff	10
	2.3.	Vorbel	andlung	12
		2.3.1.	Chemische Vorgänge	13
			2.3.1.1. Hydrolyse der Polysaccharide	13
			2.3.1.2. Abbaureaktionen bei der Vorbehandlung	14
		2.3.2.	Hydrothermale Verfahren	16
			2.3.2.1. Heisswasserbehandlung	16
			2.3.2.2. Steam Explosion	16
		2.3.3.	Säurekatalysierte Vorbehandlung	17
		2.3.4.	Basischer Aufschluss	17
		2.3.5.	Organosolv-Verfahren	17
		2.3.6.	Biotechnologische Vorbehandlung	18
		2.3.7.	Ionische Flüssigkeiten	18
		2.3.8.	Summenparameter: Severity	18
	2.4.	Statist	ik und ANOVA	19

Inhaltsverzeichnis

		2.4.1. Statistische Größen und Regressionsmodelle			19
		2.4.2.	Modellbey	$\operatorname{vertung}$	20
			2.4.2.1.	Diagnose-Plots	21
3.	Exp	eriment	eller Teil		24
	3 .1.	Appar	atives Set-	Up	24
		3.1.1.	Reaktor	•	24
		3.1.2.	Zur Aufar	beitung und Analyse verwendete Apparate	27
	3.2.	Rohste	off		28
	3.3.	Liquid	Hot Wate	r Treatment \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots	28
	3.4.	Versue	hsaufarbei	tung und Messverfahren	29
	0.1	3.4.1.	Analysep	ogramm	29
		3.4.2.	Erläuteru	ngen zu den einzelnen Messungen	35
			3.4.2.1.	Fest/Flüssigtrennung der dekantierten Flüssigfraktion	35
			3.4.2.2.	Trockensubstanzbestimmung der Flüssigfraktion	36
			3.4.2.3.	Trockensubstanzbestimmung der Feststofffraktion	37
			3.4.2.4.	Messung von Zuckern, Neben- und Abbauprodukten	38
		3.4.3.	Rohstoffa	nalvse	40
		3.4.4.	Verwende	te Ausrüstung und Chemikalien	41
		3.4.5.	Berechnu	ngen	42
		0.101	3.4.5.1.	Verfolgung der Massenströme und Gesamtbilanzierung	42
			3.4.5.2.	Erzeugte Wertstoffe und Nebenprodukte	44
			3.4.5.3.	Zusammensetzung des Rohstoffs	47
	3.5.	Vorvei	suche		47
		3.5.1.	Ermittelu	ng der Aufheizcharakteristik	48
		3.5.2.	Minimieru	ng der Abbauprodukte	52
		3.5.3.	Versuchsp	lan der Vorversuche	53
		3.5.4.	Ergebniss	e der Vorversuche	54
		3.5.5.	Schlussfol	gerung	56
	3.6.	Erstell	lung des Ve	ersuchsplans der finalen Versuchsreihe	56
		3.6.1.	Central C	omposite Design	57
		3.6.2.	Festlegung	g der Parameter	58
		3.6.3.	Verwende	ter Versuchsplan	60
4	Froe	hnisse			61
••	41	Rohste	off		61
	4.2.	Versue	she		61
		, or but			01
5.	Disk	ussion	der Ergeb	nisse und statistische Auswertung	64
	5.1.	Model	lbildung .		64
	5.2.	Auswe	ertung über	den Severity-Faktor	79
	5.3.	Zusam	menfassen	de Diskussion der Ergebnisse	85
6.	Zusa	ammen	fassung un	d Ausblick	88

In halts verz eichnis

Literaturverzeichnis 9			
A. Anhang 95			
A.1. Verwendete Ausrüstung und Chemikalien			
A.2. HPLC-System			
A.2.1. Beschreibung $\dots \dots \dots$			
A.2.1.1. Systemkomponenten			
A.2.1.2. Entgaser (DGU) $\ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots $ 97			
A.2.1.3. Laufmittelpumpen (LC)			
A.2.1.4. Niederdruckgradientenmodul (LPGE)			
A.2.1.5. Laufmittelmischer			
A.2.1.6. Autosampler (SIL) $\ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots $ 98			
A.2.1.7. Ofen (CTO)			
A.2.1.8. Säulenschaltventile (FCV)			
A.2.1.9. Photodiodenarray-Detektor (SPD)			
A.2.1.10. Differenzrefraktometer (RID)			
A.2.1.11. Controller (CBM)			
A.2.2. Schaltbild \ldots			

Abbildungsverzeichnis

1.1.	Emissionen im Jahr 2020 gegenüber 2005 in % [Kommission, 2010]	2
1.2.	Entwicklung der Treibhausgasemissionen Österreichs von 1990 bis 2007	3
1.3.	CO_2 -Emissionen nach Sektoren, 1990 und 2007	3
0.1		-
2.1.	Aufbau lignozellulosischer Materialien	7
2.2.	Fermentation durch Hetepilze	9
2.3.	Vom Rohstoff zum Ethanol	10
2.4.	Hydrolyse von Polysacchariden	13
2.5.	Abbauprodukte aus Lignozellulose	15
2.6.	Beispiel für einen Q-Q Plot	21
2.7.	Beispiel eines Predicted vs. Actual Plots	22
2.8.	Beispiel eines Box-Coxl Plots	23
3.1.	Hochdruckautoklay	25
3.2.	Reaktionsraum	$\frac{-0}{25}$
3.3.	Messdatenwandler	$\frac{-0}{25}$
3.4	Installation des Messdatenwandlers am Autoklaven	$\frac{-0}{25}$
3.5	Messdatenerfassing in LabVIEW [©]	26
3.6	Temperaturverlauf eines Centerpoint-Versuchs	$\frac{-0}{27}$
3.7	Abstandhalter	29
3.8	Analysenweg Teil 1/3	31
3.9	Analysenweg Teil 2/3	32
3 10	Analysenweg Teil 3/3	33
3 11	Proben für die HPLC	35
3 1 2	Chromatogramm der neutralisierten Probe	30
3.12.	Chromatogramm der hydrolisierten Probe	30
3.14	Chromatogramm des Sugar Becovery Standards	40
3.14.	Chromatogramm Abbauprodukte	40
3.10.	Sankov Diagramm der Massenströme	40
9.10. 9.17	Dankey-Diagrammi der Massenströme	40
0.17	Stahlbachen in nature	40
0.10. 2.10	Stambecher in natura	40
0.19. 2.00	Skizze von Reaktor und Einsatz	49
5.20.	Temperaturveriaui mit und onne wasser als warmeleiter	00 F 1
3.21.	Temperaturveriauf mit und ohne Silikonol als Warmeleiter	51
3.22.	Temperaturverlauf bei verschiedenen Füllständen	52
3.23.	Graphische Darstellung der Vorversuche	54

Abbildungsverzeichnis

3.24.	Vorversuche: Furfural	55
3.25.	Vorversuche: 5-Hydroxymethylfurfural	55
3.26.	Central Composite Design	58
5.1.	Transformation von Versuchsdaten	65
5.2.	3D-Plot der Xyloseausbeute	66
5.3.	Modell für Xylose gegen experimentelle Werte	67
5.4.	3D-Plot der Ausbeute an oligomerer Xylose	68
5.5.	Modell für oligomere Xylose gegen experimentelle Werte	68
5.6.	3D-Plot der Glukoseausbeute	69
5.7.	Modell für Glukose gegen experimentelle Werte	70
5.8.	Q-Q Plot der Residuen des Modells für die Ausbeute an oligomerer Glukose	71
5.9.	3D-Plot der Essigsäureausbeute	72
5.10.	Modell für Essigsäureausbeute gegen experimentelle Werte	72
5.11.	Q-Q Plot der Residuen des Modells für Essigsäureausbeute	73
5.12.	3D-Plot des Modells für HMF-Ausbeute	74
5.13.	Modell für HMF-Ausbeute gegen experimentelle Werte	74
5.14.	Q-Q Plot der Residuen des Modells für HMF-Ausbeute	75
5.15.	3D-Plot des Modells für Furfuralausbeute	76
5.16.	Furfuralmodell gegen experimentelle Werte	76
5.17.	Q-Q Plot der Residuen des Modells für gelöste Trockensubstanz	77
5.18.	Q-Q Plot der Residuen des Modells für ungelöste Trockensubstanz	78
5.19.	Q-Q Plot der Residuen des Modells für gesamte Trockensubstanz	79
5.20.	Glukoseausbeute über Severity	80
5.21.	Xyloseausbeute über Severity	81
5.22.	Oliogoglukoseausbeute über Severity	81
5.23.	Oligoxyloseausbeute über Severity	82
5.24.	Essigsäureausbeute über Severity	83
5.25.	Furfuralausbeute über Severity	83
5.26.	HMF-Ausbeute über Severity	84
5.27.	Trockensubstanzwiederfingung über Severity	84
5.28.	Isoausbeuten von Oligoxylose und Furfural	86
A.1.	HPLC-Schaltbild Teil 1	101
A.2.	HPLC-Schaltbild Teil 2	102

Tabellenverzeichnis

2.1.	Zusammensetzung einiger lignozellulosischer Rohstoffe 8
2.2.	Eigenschaften von Ethanol, Benzin und Diesel
2.3.	Auswirkung verschiedener Vorbehandlungsmethoden
3.1.	Verwendete Apparate
3.2.	Bedingungen der Vorversuche
3.3.	Abbauproduktion in Vorversuchen
3.4.	Kodierte und reale Temperaturwerte
3.5.	Kodierte und reale Versuchsdauern
3.6.	Versuchsplan
4.1.	Zusammensetzung von Weizenstroh
4.2.	Ergebnisse
5.1.	Optimierung der Versuchsbedingungen
A.1.	Verwendete Ausrüstung und Chemikalien

Verwendete Zeichen und Abkürzungen

Zeichen	Bedeutung	Kapitel
Ac	Acetat	3.4.5.3
AcOOH	Essigsäure	3.4.5.3
ADP	Adenosin-Diphosphat	2.2.1.1
AFEX	Ammonia Fibre Explosion	2.3
ATP	Adenosin-Triphosphat	2.2.1.1
ANOVA	Analysis of variance, Varianzanalyse	2.4
c	Konzentration	3.4.5.2
DoE	Design of Experiments, Versuchsplanung	3.6
D_m	Änderung der Masse	3.4.1
ETBE	Ethyl- <i>tertiär</i> -Butylether	2.2.1.2
(5-)HMF	(5-)Hydroxymethylfurfural	2.3.1.2
HPLC	High performance (pressure) liquid chromatography	
	Hochleistungs(druck)-flüssigchromatografie	3.1.2
LAP	Laboratory analytical Procedure, Analysevorschrift	3.4.1
LHW	Liquid Hot Water	2.3.2.1
MTBE	Methyl-tertiär-Butylether	2.2.1.2
NREL	(US) National Renewable Energy Laboratory	3.4.1
PRESS	Predicted Residual Sum of Squares, Fehlerquadratsumme	2.4.2
R^2	Bestimmtheitsmaß	2.4
R_0	Severity Factor	2.3.8
ROZ	Research Oktanzahl	2.2.1.2
\mathbf{SR}	Sugar Recovery	3.4.5.2
SRS	Sugar Recovery Standard	3.4.1
SS	Sum of Squares, Fehlerquadratsumme	2.4.2
TS	Trockensubstanz	3.4.1
w	Massenanteil	3.4.5.2
Vx	Versuchsnummer	3.4.5.2
Y_a	Ausbeute von a (Yield)	3.4.5.2
\hat{y}	Modellwert für y	2.4.1
$ar{y}$	Mittelwert für y	2.4.1
% w	Massenanteil	3.4.1

1.1. Motivation

Die Europäische Kommission weist in ihrem Gesamtbericht über die Tätigkeit der Europäischen Union 2009 [Kommission, 2010] darauf hin, dass sich die Auswirkungen des Klimawandels sowohl global, als auch in Europa zunehmend bemerkbar machen. Steigende Meeresspiegel, Waldbrände, sowie immer extremere Überschwemmungen und Dürreperioden sind zu beobachten. In der Folge kommt es immer häufiger zu Beeinträchtigungen in der Landwirtschaft, im Verkehr, bei der Wasserversorgung und im Tourismus.

Die global steigende Energienachfrage sowie die Veränderlichkeit der Energieversorgung, hauptsächlich Verknappung und Förderquotenschwankungen fossiler Rohstoffe, werden an Europa nicht vorübergehen. Die Auswirkungen der Verwendung fossiler Brennstoffe und ein verschärfter Wettbewerb um begrenzte Ressourcen können für Privathaushalte, Unternehmen und Regierungen bedeuten, dass Energie teurer und knapper wird, so die Europäische Kommission. Die EU hat sich darum bis zum Jahr 2020 eine Reihe an Zielen gesetzt, die auf die sich verändernde Energiesituation eingehen sollen. So will die EU ihre eigenen Treibhausgasemissionen gegenüber dem Stand von 1990 um 20% reduzieren. Für die Republik Österreich bedeutet dies eine verordnete Einsparung von ca. 16% gegenüber dem Stand von 2005 (Siehe Abbildung 1.1). Dies soll einhergehen mit einer EU-weiten Erhöhung des Anteils erneuerbarer Energien am Gesamtenergieverbrauchs von 9% auf 20%. Weiters peilt die EU eine Verringerung des Primärenergieverbrauchs um 20% an. Zur Erreichung dieser Ziele hat die EU ein Klima- und Energiepaket beschlossen, welches im April 2009 in Kraft trat. Dieses beinhaltet:

- eine Richtlinie zur Verbesserung und Ausweitung des Gemeinschaftssystems für den Handel mit Treibhausgasemissionszertifikaten
- eine Entscheidung über die Anstrengungen der Mitgliedstaaten zur Reduktion ihrer Treibhausgasemissionen
- eine Richtlinie über eine Rahmenregelung für die Abscheidung und Speicherung von Kohlendioxid
- eine Richtlinie zur Förderung der Nutzung von Energie aus erneuerbaren Quellen

Ergänzend wurden gleichzeitig zwei weitere Rechtsakte beschlossen:

- eine Richtlinie zur Reduzierung der CO_2 -Emissionen neuer Straßenfahrzeuge
- eine überarbeitete Richtlinie zur Verpflichtung von Kraftstoffherstellern, Treibhausgasemissionen aus der Kraftstoffproduktionskette zu reduzieren



Abbildung 1.1.: Emissionen im Jahr 2020 gegenüber 2005 in % [Kommission, 2010]

Die Republik Österreich hat es sich in seiner nationalen Klimastrategie (erstellt 2002, überarbeitet 2007) vorrangig zum Ziel gemacht, die Vereinbarungen des Kyoto-Protokolls zu erfüllen. Das Kyoto-Protokoll sieht eine Reduktion der Treibhausgase Kohlendioxid (CO_2) , Methan (CH_4) , Distickstoffoxid (Lachgas, N_2O), teilhalogenierte und perfluorierte Fluorkohlenwasserstoffe (H-FKW, HFCs) und Schwefelhexafluorid (SF_6) vor, und ist rechtlich bindend. Mit der Ratifizierung des Kyoto-Protokolls hat sich Österreich verpflichtet, die Treibhausemissionen bis zum Jahr 2012 gegenüber den Emissionen aus dem Jahr 1990 um 13% zu senken, wobei der CO_2 -Wert als Referenz herangezogen wird. Österreich ist noch weit von der Erfüllung der Kyoto-Ziele entfernt. Im Jahr 2006 betrugen die Treibhausgasemissionen Österreichs 91,1 Mio. Tonnen Kohlendioxid-Äquivalente, was einer Zunahme von 15,1 Prozent gegenüber dem Kyoto-Basisjahr 1990 entspricht (Abbildung 1.2). Man muss dazu jedoch erwähnen, dass es von 2005 bis 2006 zu einer Reduktion der Treibhausgasemissionen von 2,3 Prozent kam. Schlussendlich beträgt das zu erreichende Kyoto-Ziel in Österreich 68,8 Mio. Tonnen Kohlendioxid-Äquivalente. Im

Jahr 2006 lagen die Kohlendioxid-Äquivalente um 22,3 Mio. Tonnen über dem Kyotoziel. Hauptverantwortlich für die starke Steigerung der Treibhausgase ist der Verkehr, dessen Emissionen im Zeitraum 1990-2006 um 83 Prozent an Kohlendioxid-Äquivalenten zugenommen haben (Abbildung 1.3).[Lebensministerium, 2010]



Abbildung 1.2.: Entwicklung der Treibhausgasemissionen Österreichs von 1990 bis 2007 [Lebensministerium, 2010]



CO2-Emissionen nach Sektoren 1990 und 2007

Abbildung 1.3.: CO₂-Emissionen nach Sektoren, 1990 und 2007 [Lebensministerium, 2010]

Der größte Anteil der Treibhausgasemissionen (ca. 85%) entsteht durch Verkehr, Industrie und Energieversorgung, wovon wiederum der Großteil der Emissionen auf Treibund Brennstoffe zurückzuführen ist. Angesichts dessen ist die Forschung gefordert, alternative Energiequellen zu erschließen, beziehungsweise deren Verwendung im großen Maßstab gegenüber dem Einsatz von konventionellen, fossilen Energieträgern zur Wirtschaftlichkeit zu verhelfen. Es besteht natürlich die Möglichkeit, die derzeit verwendeten Treib- und Brennstoffe wie Benzin, Diesel und Heizöle zumindest teilweise durch Erneuerbare Energieträger zu ersetzen. Aufgrund seiner günstigen Eigenschaften würde Ethanol als möglicher Ersatzbrennstoff für Ottomotoren in Frage kommen.

Neben der Produktion von Treibstoffen steht die Option offen, aus eben jenen lignozellulosischen Rohstoffen diverse Wertstoffe zu gewinnen, was derzeit auch in Koproduktion bei der Bioethanolherstellung praktiziert wird. Aus ihrer Zusammensetzung eröffnet sich die Möglichkeit zur Gewinnung von verschiedenen C6 und C5 Zuckern, sowie deren Folgeprodukte aus zellulosischem und hemizellulosischem Anteil, sowie von Phenolen bzw. phenolischen Polymeren aus Lignin.

Traditionell wird Bioethanol durch Fermentation aus zucker- oder stärkereichen Agrarprodukten gewonnen. Dies hat freilich zur Folge, dass diese nicht als Nahrungs- bzw. Futtermittel zur Verfügung stehen (Biotreibstoff erster Generation). Angesichts dessen sollte vermehrt darauf geachtet werden, Rohstoffe zu verwenden, die nicht im Konflikt zur Nahrungsmittelproduktion stehen (Biotreibstoffe zweiter Generation). Hierbei würden sich auch Abfallprodukte der Nahrungsmittelproduktion anbieten, wie zum Beispiel Stroh und andere lignozellulosische Materialien. Der Nachteil an diesen Rohstoffen ist, dass ihr Aufbau eine chemikalien- beziehungsweise energieintensive Vorbehandlung erforderlich macht, um die fermentierbaren Bestandteile für die Bioethanolproduktion zugänglich zu machen.

Dieser Vorbehandlungsschritt hat eben dadurch maßgeblichen Einfluss auf die Wirtschaftlichkeit des gesamten Prozesses. Er beeinflußt sowohl den wirtschaftlichen Aufwand direkt durch die dabei verbrauchten Ressourcen, aber auch die Folgekosten aus nachfolgenden Produktionsschritten. Denn werden beim Pretreatment ungünstige Bedingungen für die weitere Verarbeitung, zum Beispiel Fermentation, geschaffen, so wird diese klarerweise kostenintensiver oder bei gleichem Aufwand weniger ertragreich. Angesichts dessen ist die Vorbehandlung lignozellulosischer Biomasse für weitere Verwendung ein durchaus erforschenswertes Fachgebiet, was auch zahlreiche Publikationen belegen.

1.2. Ziel der Arbeit

Im Rahmen dieser Arbeit sollen weniger die chemischen Vorgänge bei der Vorbehandlung, als die apparative Handhabung und Prozessführung beleuchtet werden. Zu diesem Zweck sind zuerst verschiedene gängige Vorbehandlungsarten zu recherchieren und auf Durchführbarkeit und Erfahrungsgenerierung durch ein Versuchsprogramm zu prüfen. Der experimentelle und methodische Teil dieser Arbeit umfasst die Inbetriebnahme eines Hochdruckreaktors, Entwurf und Durchführung eines Versuchsprogrammes, Entwicklung und Durchführung des Analysenprogrammes, sowie die statistische Auswertung der Ver-

suchsergebnisse.

Die Literaturrecherche soll einen Überblick über Wirkung und Prozessparameter verschiedener Vorbehandlungsarten zum Ergebnis haben. Auf dieser Basis soll dann im Einklang mit apparativen und analysetechnischen Ressourcen die weiteren Arbeitspakete geplant werden. Diese umfassen die Auswahl einer oder mehrerer Vorbehandlungsarten, die experimentell untersucht werden, die Bedingungen und Anzahl der Versuche (Versuchsplan) sowie die Entwicklung und Durchführung eines geeigneten Analyseprogramms. Da viele Parameter bei der Vorbehandlung variiert werden können (Temperatur, Zeit, Massenverhältnisse, Zusatzstoffe, etc.), ist es angebracht, eine systematische Versuchsplanung ("Design of Experiment", kurz DoE) durchzuführen. Diese ermöglicht eine sehr aufschlussreiche Auswertung durch Varianzanalyse und daraus entspringende Modellierung. Man könnte die Aufgabenstellung so verstehen, dass die Arbeit eine Art Handbuch über Theorie, Durchführung und Auswertung der Vorbehandlung von lignozellulosischer Biomasse darstellen soll.

1.3. Wahl der/des Verfahren(s)

Im Rahmen dieser Arbeit sollten erste praktische Erfahrungen der Arbeitsgruppe auf dem Gebiet des Lignozelluloseaufschlusses gesammelt werden. Anlagentechnisch wären mit dem zur Verfügung stehenden Autoklaven prinzipiell alle chemisch-physikalischen Vorbehandlungsmethoden, mit Einschränkungen bei der Steam Explosion, durchführbar. Der Mangel an Studien zum Aufschluss von Lignozellulose mittels ionischen Flüssigkeiten in einer technischen Aufgabenstellung ließ die Untersuchung dieser Variante besonders attraktiv erscheinen. Gleichzeitig sprachen die fehlende Erfahrung über Handhabung, Rückgewinnung und Analysen, sowie die für realistische Versuchsbedingungen (Korngröße der Biomasse im Zentimeterbereich, Menge an Flüssigkeit) doch hohen Kosten dagegen, sodass die Vorbehandlung mit ionischen Flüssigkeiten als Thema verworfen wurde.

Die Fülle an wässrigen Vorbehandlungsmethoden wurde radikal eingeschränkt, indem ein System untersucht werden sollte, auf dem weiterführende Arbeiten aufgebaut werden können. Die einfachsten Systeme sind die der hydrothermalen Verfahren, also Steam Explosion und Liquid Hot Water. Da die Steam Explosion mit dem zur Verfügung stehenden Autoklaven nicht in definitionsgemäßer Weise durchgeführt werden kann, verblieb das Liquid Hot Water Pretreatment als sinnvolle Variante, mit der Möglichkeit, die untersuchten Parameter um Hilfsstoffe (Säure, organische Lösungsmittel) zu erweitern.

2.1. Lignozellulosische Biomasse

Lignozellulosische Biomasse ist jene Biomasse, die hauptsächlich aus den Bestandteilen Zellulose, Hemizellulose und Lignin aufgebaut ist. Genauer gesagt, bestehen bei Pflanzen die Zellwände und Fasern aus Lignozellulose. Zellulose besteht aus Ketten von Glukosemolekülen, die β -1,4 glykosidisch (die Bindung zwischen einer Glykosyl- und einer -OR Gruppe Nic et al. [2009]) verbunden sind. Mehrere solcher Ketten (etwa 40) lagern sich antiparallel zusammen werden durch Wasserstoffbrückenbindungen zusammengehalten wodurch sogenannte Mikrofibrillen geformt werden. Hemizellulose ist ein Polymer, welches aus Xylose, Arabinose, Galaktose, Mannose, sowie geringen Anteilen anderer C5 und C6 Zuckereinheiten besteht. Die Zusammensetzung der Hemizellulose ist von Rohstoff zu Rohstoff unterschiedlich. Neben den (Poly-)Sacchariden enthält die Hemizellulose etwa pro fünf Xyloseeinheiten eine Acetatgruppe. Lignin hat die komplexeste Struktur der Hauptkomponenten. Lignin ist ein aromatisches Polymer aus über Sauerstoffbrücken und C-C Bindungen verbundenen Phenylpropanen. [Larsson, 2000, Bidlack et al., 1992].

Die hochkristallinen Zellulosefibrillen bilden die Grundstruktur des gesamten Aufbaus. Dazwischen liegen kürzere Hemizellulosestücke, welche mit den Zelluloseketten über Wasserstoffbrückenbindugnen verbunden sind. Untereinander sind die Hemizellulosestränge über Querverbindungen, etwa aus Pektin, verbunden. Der Verbund wird komplettiert durch das Lignin, welches zwischen Zellulosefibrillen und Hemizellulose eingelagert, und chemisch mit der Hemizellulose verbunden ist [Larsson, 2000, Bidlack et al., 1992]. Die Hemizellulose kann also als Verbindungsglied zwischen Zellulose und Lignin angesehen werden. Die Struktur lignozellulosischer Materialien aus Zellulose und Lignin wird gerne mit Stahlbeton verglichen, wobei die Zellulose den Stahl, und das Lignin den Beton wiederspiegelt. Eine grafische Darstellung von Lignozellulose findet sich in Abbildung 2.1

Weiters enthält Biomasse noch geringere Anteile an Extrakstoffen und Asche. Extraktstoffe sind per Definition solche Substanzen, die sich mit einem geeigneten Lösungsmittel aus dem Rohmaterial extrahieren lassen. Unter diese Gruppe fallen etwa Harze (besonders bei Holz) und Phenole [Larsson, 2000]. Asche ist der Rest aus anorganischen Bestandteilen, der bei Verbrennung des Rohstoffs zurückbleibt.



Abbildung 2.1.: Aufbau lignozellulosischer Materialien [Bidlack et al., 1992]

In Tabelle 2.1 werden noch einige lignozellulosische Rohstoffe und deren typische Zusammensetzungen aufgelistet. Generell enthällt Biomasse um die 40 Prozent Zellulose, etwa 20 Prozent Hemizellulose und etwa 20 Prozent Lignin. Man sieht, die Anteile der Hauptbestandteile (und in weiters deren chemische Zusammensetzung) variiert mit der Art der Pflanze. Am Beispiel des Weizenstrohs, welches auch in dieser Arbeit verwendet wurde wird deutlich, dass die Zusammensetzung der Biomasse auch innerhalb einer Pflanzenart deutlichen Schwankungen unterliegt

	0	0 0			
	Glukan	Xylan	Lignin	Asche	Extraktstoffe
	(Zellulose $)$	(Hemizellulose)			
Mais o. Kolben ¹	37.5	22.4	17.6		
Mais Faser ¹	14.28	16.8	8.4		
$Kiefernholz^1$	46.4	8.8	29.4		
$Pappelholz^1$	49.9	17.4	18.1		
$Rutenhirse^1$	31.0	20.4	17.6		
Büropapier ¹	68.6	12.4	11.3		
$Weizenstroh^1$	38.2	21.2	23.4		
$Weizenstroh^2$	$38.9 {\pm} 0.2$	23.5	$18.0{\pm}0.5$	$9.70{\pm}0.03$	$4.5 {\pm} 0.5$
$Weizenstroh^3$	31	24.2	25		
$Weizenstroh^4$	$28.4{\pm}4.2$	22.5	$15.9{\pm}0.3$	$6.39{\pm}0.04$	

Tabelle 2.1.: Zusammensetzung einiger lignozellulosischer Rohstoffe

¹: Mosier et al. [2005]

²: Carvalheiro et al. [2009]

³: Kabel et al. [2007]

⁴: Nabarlatz et al. [2007]

2.2. Ethanolprozess und Bioraffinerie

2.2.1. Bioethanol

2.2.1.1. Gewinnung von Ethanol aus Biomasse

Wie der Name schon andeutet, wird Bioethanol aus Biomasse erzeugt. Ethanol kann zwar auch aus fossilen Rohstoffen über Ethen hergestellt werden, wird aber weltweit hauptsächlich auf biochemischem Weg gewonnen. Da durch alkoholische Gärung ausschließlich Zucker zu Alkohol umgewandelt werden kann, kommen drei Arten von Rohstoffen für die großtechnische Herstellung von Alkohol aus Biomasse in Frage. Erstens zuckerhältige Agrarprodukte, wie Zuckerrohr oder Zuckerrübe, die den Zucker in leicht verwertbarer Form bereitstellen. Zweitens Rohstoffe, wie Getreide, deren Stärke zur Alkoholerzeugung genutzt werden kann. Und drittens liefern zellulosehältige Materialen wie Holz und Stroh einen Rohstoff für die Fermentation.

Liegt Zucker als Monomer oder Dimer vor, kann daraus direkt über die alkoholische Gärung Alkohol gewonnen werden. Dabei werden unter Sauerstoffausschluss durch das Zusammenwirken mikrobieller Enzyme Kohlenhydrate in Alkohol und Kohlendioxid gespalten (schematisch in Abbildung 2.2). Die nötigen Mikroorganismen sind in der Technik meist Hefen (*Saccharomyces Cerevisiae*), da diese vergleichsweise robust und leicht kultivierbar sind. Die Fermentation zu Alkohol läuft nach folgender Summenformel ab:

$$C_6H_{12}O_6 + 2 P_i + 2 ADP \longrightarrow 2 C_2H_5OH + 2 CO_2 + 2 ATP + Energie$$

Ein Mol Glukose wird also zu gleichen Teilen in je zwei Mol Ethanol und Kohlendioxid gespalten. Die dabei frei werdende Energie wird zum Teil für den Stoffwechsel der Zelle verwendet, der Rest geht als Wärme verloren. Die Reaktionsgleichung stellt einen idealisierten Sachverhalt der realen Vorgänge dar, denn was hier nicht berücksichtigt wird

ist, dass ein Teil des Zuckers für das Hefewachstum verwendet wird, und dass andere Stoffwechselprodukte (Glyzerin, Milchsäure, Bernsteinsäure) - wenn auch in vergleichsweise geringen Ausmaßen - erzeugt werden [Jacques et al., 2003]. Je nach verwendetem Mikroorganismus muss darauf geachtet werden, ihm möglichst optimale Bedingungen (Temperatur, Nährstoff- und Produktkonzentrationen etc.) zu bieten.

Stärke aus Agrarprodukten ist ein Rohstoff, der ebenfalls zur Alkoholproduktion herangezogen werden kann. Stärke kann zwar als solche nicht von Hefen verarbeitet werden, kann durch geeignete Vorbehandlung aber zu fermentierbarem Material umgewandelt werden. Diese Tatsache beruht darauf, dass Stärke ein Polysaccharid ist. Sie besteht ausschließlich aus langen Ketten α -1,4 verknüpfter Glukosemonomere, welche durch Einsatz von geeigneten Enzymen in die Monomereinheiten gespalten werden können. Dabei werden die Polymere zuerst, bei der "enzymatischen Stärkeverflüssigung" in Oligomere gespalten, und in Folge bei der "enzymatischen Stärkeverzuckerung" in monomere und dimere Zuckermoleküle heruntgergebrochen. Diese Zuckereinheiten können dann von Mikroorganismen wie bei Zucker zu Ethanol umgewandelt werden.



Abbildung 2.2.: Fermentation durch Hefepilze [Jacques et al., 2003]

Kraftstoffe aus zucker- sowie stärkehaltigen Rohstoffen und pflanzlichen Ölen werden unter dem Begriff Biokraftstoffe 1. Generation geführt [Pu et al., 2008]. Ein Nachteil

an ihnen ist, dass sie mit der Nahrungs- und Futtermittelproduktion um den Rohstoff konkurrieren.

Biokraftstoffe 2. Generation werden dagegen unter Einsatz fortschrittlicher Technologien durch Verarbeitung von lignozellulosischem Ausgangsmaterial erzeugt [Antizar-Ladislao and Turrion-Gomez, 2008]. Dazu gehören Rohstoffe wie Holz sowie der Teil von Nutzpflanzen, der nicht zur Nahrungsmittelgewinnung genutzt werden kann (Stroh, Blätter, etc.). Der große Vorteil dieser Art von Ausgangsmaterial ist, dass sie nicht nur nicht im Konflikt mit der Nahrungsmittelproduktion stehen, sondern auch dass er (im Fall der Lebensmittelproduktion) in rauen Mengen als Abfallprodukt anfällt, wodurch die Rohstoffkosten drastisch sinken.

Lignozellulosisches Material kann jedoch nicht ohne Weiteres zu Ethanol fermentiert werden, da z.B. Hefepilze die sehr komplexe, kristalline und kompakte Struktur nicht angreifen können. Es muss daher ein Vorbehandlungsschritt durchgeführt werden, der das Rohmaterial in einer Weise verändert, sodass der Abbau durch Mikroorganismen gewährleistet werden kann. Im Laufe der Zeit wurden verschiedene mechanische, chemische, thermische und biologische Verfahren mit diesem Ziel erforscht. Aus all diesen wurden einige zur näheren Untersuchung im Rahmen dieser Diplomarbeit angedacht, in Abschnitt 2.3 werden diese erklärt. Nach diesem Vorbehandlungsschritt kann die Zellulose mittels Enzymen aufgeschlossen (Hydrolisiert), und in Folge fermentiert werden [Kaltschmitt et al., 2009].

Abbildung 2.3 zeigt den Weg verschiedener Rohstoffe zum Bioethanol.



Abbildung 2.3.: Vom Rohstoff zum Ethanol

2.2.1.2. Eignung von Ethanol als Kraftstoff

Um sich als Alternative gegenüber den etablierten Kraftstoffen Benzin und Diesel behaupten zu können, muss ein neuer Treibstoff geeignete Eigenschaften mitbringen, die den Einsatz in dem Stand der Technik entsprechenden Motoren begünstigen. Einige wichtige kraftstofftechnische Eigenschaften von Ethanol, Benzin und Diesel seien in Tabelle 2.2 gegenübergestellt.

	Ethanol	Benzin	Diesel
Heizwert, massebezogen in MJ/kg	26,8	42,7	42,5
volumsbezogen in MJ/l	$21,\!3$	ca. 32	ca. 36
Dichte bei 15° C in kg/l	0,794	0,72-0,78	$0,\!815 \text{-} 0,\!855$
Siedepunkt in °C	78	25 - 215	180 - 360
Flammpunkt in °C	$12,\!8$	-42,8	68
Zündtemperatur in °C	420	ca. 300	ca. 250
Spezifische Verdampfungswärme in kJ/kg	904	380 - 500	ca. 250
Oktanzahl ROZ	107	93	-

Tabelle 2.2.: Eigenschaften von Ethanol, Benzin und Diesel

Quellen: Kaltschmitt et al. [2009], Larsen et al. [2009]

Ungünstig fällt die geringere Energiedichte des Ethanols auf, die nur etwa 65% derer des Benzins und Diesels beträgt, was eine kürzere Reichweite mit der gleichen Tankfüllung bedeutet. Weiters weist Ethanol einen niedrigeren Dampfdruck und eine höhere Verdampfungswärme auf, was einen erhöhten Energieaufwand für die Verdampfung des Treibstoffs bedeutet. Dieses Problem schwindet mit der Beifügung von Benzin oder Ethern, und ist bei Benzin-Ethanolgemischen nicht weiter von Bedeutung. Ein weiteres Problem des Ethanols besteht in seiner Eigenschaft als Lösungsmittel. Der Alkohol diffundiert in Kunststoffe wodurch diese aufweichen und quellen und Abtragung begünstigt wird. Außerdem begünstigt der saure Charakter des Ethanols im Beisein von Wasser die Korrosion von Metallen.

Für die Verwendung von Ethanol in Ottomotoren spricht die höhere Oktanzahl von 107 gegenüber 93 in Normalbenzin. Die Oktanzahl ist eine Kenngröße für die Resistenz des Kraftstoffes, verfrüht zu Zünden (was sich als "Klopfen" bemerkbar macht). Alkohol kann damit Additive zur Klopffestigkeitserhöhung ersetzen, bzw. können alkoholbetriebene Motoren deswegen höhere Wirkungsgrade erzielen, welcher mit der höheren möglichen Kompression zusammenhängt.

Ethanol hat auch den Vorteil, dass es sich um einen flüssigen Energieträger handelt. Die höhere (Energie-)Dichte verringert die technologischen Anforderungen an Infrastruktur und Motoren, denn es ist keine Kompression nötig, um den Treibstoff effizient zu lagern, transportieren und abzufüllen. Es kann also die bestehende Infrastruktur, gegebenenfalls nach Anpassung an die chemischen Eigenschaften des Ethanols, verwendet werden.

Ethanol wird weltweit nach lokalen Anforderungen in unterschiedlichen Verhältnissen mit Benzin, Diesel und Wasser gemischt. Etwa die Hälfte des weltweiten Kraftstoffethanols wird in Konzentrationen von 5-10% zu Benzin gemischt.

Um Ethanol als Reinkraftstoff verwenden zu können, werden eigens entwickelte Reinethanolmotoren benötigt, da Ethanol in großen Mengen nicht in normalen Ottomotoren verwendet werden kann. Die derzeit sinnvollste Methode besteht darin, Ethanol als Reinkomponente in einer Benzinmischung zu verwenden. Bis zu einem Ethanolgehalt von maximal 25% sind keine signifikanten Änderungen am Motor nötig, um das Treib-

stoffgemisch verwenden zu können. Eine Weitere Möglichkeit ist die Zumischung von Ethanol zu einem Treibstoffgemisch nach chemischer Umwandlung zu MTBE oder ET-BE, was jedoch keine entscheidenden Vorteile bringt. [Kaltschmitt et al., 2009, Larsen et al., 2009]

Zur Zeit wird Ethanol überwiegend aus Rohstoffen 1. Generation gewonnen, es wird jedoch viel Forschung betrieben, um die Ausweitung von Biokraftstoffen 2. Generation voranzutreiben. [Eisentraut, 2010]

2.3. Vorbehandlung

Der dichte und komplexe Aufbau der Lignozellulose führt, wie oben erwähnt, dazu, dass Mikroorganismen und Enzyme den Rohstoff nur sehr langsam abbauen können. Es muss also, bevor der Rohstoff verzuckert und fermentiert wird, ein Vorbehandlungsschritt zwischengeschaltet werden, der die Verwertung durch Mikroorganismen begünstigt. Im Laufe der Zeit wurde eine Vielzahl von Verfahren entwickelt, die die Struktur der Lignozellulose durch den Einsatz von Mikroorganismen, Chemikalien, thermischer oder mechanischer Energie - oder einer Kombination daraus - aufbrechen, und dadurch tiefes und schnelles Eindringen von Enzymen, und somit bessere Aufschlussergebnisse ermöglichen. Je nach Methode treten die folgenden Effekte verschieden stark in Erscheinung.

- **Delignifizierung**, d.h. das Lignin wird aus dem Verband gelöst; je nach Verfahren wird es mehr oder weniger stark fragmentiert
- **Abbau der Hemizellulose**, d.h. die Polysaccharide der Hemizellulose werden zu kleineren Einheiten - Mono- und Oligomere - hydrolisiert
- Zelluloseaufschluss einerseits kann die kristalline Struktur der Zellulose zerstört werden, andererseits die Zellulose in kleinere Zuckereinheiten aufgebrochen werden.

In Tabelle 2.3 sind die Auswirkungen verschiedener Vorbehandlungsmethoden zusammengefasst.

	vergrößert zugängliche Oberfläche	entkristallisiert Zellulose	entfernt Hemizellulose	entfernt Lignin	ändert Ligninstruktur
uncatalyzed					
Steam Explosion	••		••		•
Liquid Hot Water	••	n.b.	••		•
pH controlled Hot Water	••	n.b.	••		n.b.
Dilute Acid	••		••	•	•
AFEX	••	••	•	••	••
Kalk	••	n.b.	•	••	••

Tabelle 2.3.: Auswirkung verschiedener Vorbehandlungsmethoden

 $\bullet \bullet :$ starker Effekt

•: schwacher Effekt

Quelle: Mosier et al. [2005]

n.b.: nicht bestimmt

In jedem Fall ist es wichtig, die Vorbehandlungsmethode passend zum gewünschten Produkt zu wählen. Sollen die aromatischen Biopolymere des Lignins gewonnen werden, wird man versuchen, eben jenes möglichst selektiv herauszulösen, ohne die Biopolymere zu zerstören. Will man die Zucker nach enzymatischem Aufschluss der (Hemi-) Zellulose fermentieren, wird es sinnvoll sein, die anderen Bestandteile der Lignozellulose abzutrennen, und dabei möglichst wenig der Zucker zu verlieren. Im Folgenden sollen einige wichtige Methoden erläutert werden, die zum Aufschluss von lignozellulosehältigem Material eingesetzt werden.

2.3.1. Chemische Vorgänge

Bei der Vorbehandlung treten eine Reihe chemischer Reaktionen auf, deren Umfang den Rahmen dieser Arbeit bei weitem übersteigt. Im Folgenden sollen die wichtigsten kurz erläutert werden.

2.3.1.1. Hydrolyse der Polysaccharide

Der Mechanismus der Depolymerisation der Polysaccharide durch Spaltung der glykosidischen Bindungen nennt sich Hydrolyse. Das bedeutet formal, dass sich Wasser in die Verbindungen der Zuckereinheiten einlagert, wobei diese gespalten werden [Li et al., 2005]. Hydrolysereaktion am Beispiel von Glukan:

$[C_6 H_{10} O_5]_n$	$+ n H_2O$	$\longrightarrow n \ C_6 H12O_6$
Zellulose	Wasser	Glukose

Dabei geht ein H^+ des Wassers an eines der neugebildeten Kettenenden, und das korrespondierende OH^- an das andere. Die Hydrolysereaktion ist in Abbildung 2.4 anhand von Zellulose und Xylan stellvertretend für alle anderen Zuckerketten dargestellt.



Abbildung 2.4.: Hydrolyse von Polysacchariden [Li et al., 2005]

2.3.1.2. Abbaureaktionen bei der Vorbehandlung

Bei bestimmten Bedingungen bilden sich aus den Bestandteilen der Lignozellulose neben den mehr oder weniger gewünschten Bruchstücken von Zellulose, Hemizellulose und Lignin weitere Substanzen, die sogenannten Neben- und Abbauprodukte. Eine graphische Zusammenfassung der Reaktionen bietet Abbildung 2.5. Die Produktion dieser führt klarerweise zur Verringerung der Zuckerausbeute, aber auch durch gärungsinhibierende Wirkung zu weniger Alkoholausbeute.

Bei erhöhten Temperaturen reagieren die C5-Zucker aus der Hemizellulose (Xylose und Arabinose) unter Wasserabgabe zu Furfural.

 $C_5H_{10}O_5 \longrightarrow C_5H_4O_2 + 3 H_2O$ C5-Zucker Furfural + Wasser

Wird das Furfural weiterhin harten Bedingungen ausgesetzt, bildet sich Ameisensäure daraus. Aus C6-Zucker aus Zellulose und Hemizellulose (Galaktose, Mannose und Glukose) formt sich wiederum unter Wasserabspaltung 5-Hydroxymethylfurfural (HMF, bzw. 5-HMF).

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow C_6H_6O_3 + 3 H_2O$$

C6-Zucker 5-HMF + Wasser

Hydroxymethylfurfural zerfällt in weiterer Folge zu gleichen Teilen in Ameisensäure und Levulinsäure. Die Acetatgruppen der Hemizellulose gehen als Essigsäure in Lösung. [Palmqvist and Hahn-Hägerdal, 2000, Larsson, 2000, Larsson et al., 1999] Diese Reaktionen haben alle auf Hydrolyse basierenden Prozesse (Hydrothermale und säurekatalysierte Verfahren) gemein.

Der Vollständigheit halber sei noch erwähnt, dass sich neben den genannten Subsanzen weitere Abbauprodukte wie Ketone und organische Säuren, sowie phenolische Abbauprodukte aus Lignin auftreten.





2.3.2. Hydrothermale Verfahren

Bei hydrothermaler Vorbehandlung wird ausschließlich Wasser als Prozessmittel eingesetzt. Dadurch sinken die Kosten für die Chemikalien an sich, aber auch die Anforderungen an Korrosionsbeständigkeit der Apparatur, Reinigung des behandelten Materials beziehungsweise Rückgewinnung des Hydrolysemediums und des Arbeitsschutzes. Die hydrothermalen Verfahren bewirken hauptsächlich Abbau der Hemizellulose.

2.3.2.1. Heisswasserbehandlung

Bei der Heisswasserbehandlung (englisch: Liquid Hot Water, kurz LHW Treatment) wird die Biomasse mit Wasser auf Temperaturen von etwa 160 bis 240°C aufgeheizt, wobei das Wasser durch Druck im flüssigem Aggregatzustand gehalten wird, und dann bis zu etwa einer Stunde auf dieser Temperatur gehalten. Bei diesen hohen Temperaturen katalysiert der geringere pH- Wert des Wassers hydrolytische Reaktionen. Daneben wurde bemerkt, dass die Acetatgruppen der Hemizellulose freigesetzt werden und im Wasser Essigsäure bilden, was die Hydrolyse weiter begünstigt. Bei höheren Temperaturen und Verweilzeiten werden die Zucker aus der Hemizellulose zu immer größeren Teilen zu Abbauprodukten, insbesondere Furfural (aus C5-Zuckern) und Hydroxymethylfurfural (aus C6-Zuckern) abgebaut. [da Costa Sousa et al., 2009, Negro et al., 2003]

Die Wiederfindung der Feststoffe nach LHW Behandlung beträgt üblicherweise zwischen 50 und 90%. Dabei werden bis zu 20% der Zellulose, bis zu 60% des Lignins und der Großteil (bis zur Vollständigkeit) der Hemizellulosezucker (zum Großteil als Oligomere) im Wasser gelöst [Cara et al., 2007] [Mosier et al., 2005]

2.3.2.2. Steam Explosion

Steam Explosion stellt eine Erweiterung des Liquid Hot Water Treatments dar. Der Rohstoff wird eine Zeit lang (einige Sekunden bis zu etwa 15 Minuten) mit heißem (160-290°C) Dampf beaufschlagt. Die hohen Temperaturen im Beisein von Wasser bewirken wie beim Liquid Hot Water Treatment die Hydrolyse großer Teile der Hemizellulose. Im Anschluss wird der Druck schlagartig auf Umgebungsniveau verringert, wobei der bereits in den Rohstoff diffundierte Wasserdampf expandiert und dabei - explosionsartig - die Struktur der Biomasse aufbricht. Die Druckminderung führt zur Abkühlung des Reaktors und damit zum Ende der Hydrolysereaktionen und zur Kondensation des enthaltenen Wasserdampfs, in dem die gelösten Hemizellulosezucker vorliegen. Die Hydrolyse kann durch Zugabe von sauren Hilfsmitteln wie SO_2 oder H_2SO_4 beschleunigt und optimiert werden [Kaltschmitt et al., 2009, Negro et al., 2003, Mosier et al., 2005, da Costa Sousa et al., 2009]

Etwa die Hälfte der Biomasse bleibt als Feststoff bestehen, dabei gehen 5 bis 40% der Zellulose in Lösung. Die Hemizellulose wird bei geeigneten Bedingungen quantitativ aus dem Verbund gelöst. [Cara et al., 2008, Ruiz et al., 2008]

2.3.3. Säurekatalysierte Vorbehandlung

Hydrothermale Vorbehandlungen fallen strenggenommen zwar in diese Kategorie, in diesem Fall ist jedoch das sogenannte "Dilute Acid Pretreatment" gemeint. Hier werden dem Hydrolysemedium Wasser einige Prozent Säure beigemengt. Üblicherweise ist das Schwefelsäure, es wurden aber auch verdünnte Salpetersäure, Salzsäure und Phosphorsäure untersucht. Die Säure führt zur Hydrolyse der Hemizellulose zu Xylose und anderen Zuckern und in weiterer Folge zur Bildung von Furfural aus Xylose. Bei üblichen Temperaturen von 160-220°C und Verweildauern bis zu einigen Minuten wird der Großteil der Hemizellulose (20-95%) und ein geringer Teil der Zellulose abgebaut. Für die Fermentation muss der verbleibende Feststoff gründlich gewaschen werden. [Kaltschmitt et al., 2009, Mosier et al., 2005, da Costa Sousa et al., 2009, Jeong et al., 2010, Laser et al., 2009]

2.3.4. Basischer Aufschluss

Basische Vorbehandlungen verwenden alkalische Katalysatoren, wie Kalk, Ammoniak oder Natronlauge. Im Gegensatz zu den säure- und autokatalysierten Aufschlussverfahren bewirken die basischen Vorbehandlungen hauptsächlich eine Delignifizierung der Biomasse. Der zweite große Unterschied besteht darin, dass die basischen Verfahren bei teilweise weit niedrigeren Temperaturen betrieben werden. Für die basischen Verfahren werden hier stellvertretend zwei wesentliche Vertreter beschrieben. Erstens "Ammonia Fiber Explosion" wo der Rohstoff mit konzentriertem Ammoniak unter Druck bei Temperaturen von 60 bis 140 gekocht wird. Daraufhin wird der Druck schlagartig auf Umgebungsniveau gesenkt, worauf der Ammoniak verdampft und so leicht rückgewonnen werden kann. Die Biomasse wird dabei hochgradig und selektiv delignifiziert, d.h. vor einer Fermentation der Zellulose muss noch die Hemizellulose enzymatisch entfernt werden. Bei der sogenannten Kalk-Vorbehandlung wird eine wässrige Kalklösung auf die Biomasse gesprüht, und die Menge einige Stunden bis Tage bei erhöhter Temperatur (80-150°C) gelagert. Die Delignifizierung kann durch das Beisein von Sauerstoff oder Luft noch verbessert werden. [Mosier et al., 2005, Kaltschmitt et al., 2009]

2.3.5. Organosolv-Verfahren

Eine weiteres mögliches Hydrolysemedium ist eine Mischung aus Wasser und einem organischen Lösungsmittel. Aus Gründen der Mischbarkeit, Rückgewinnbarkeit und Kosten sind dies meist einfache Alkohole Ester, Ketone, Glykole, organische Säuren, Phenole oder Ether, die mit Wasser in einer üblicherweise 40-60%igen Mischung zum Einsatz kommen. Oft wird auch hier eine kleine Menge Säure, etwa ein Gewichts-Prozent, bezogen auf die Biomasse, zugesetzt um die Ergebnisse zu verbessern oder die Betriebsbedingungen milder zu halten. Die Organosolv Verfahren erzeugen eine weitgehend entlignifizierte Biomasse. Daneben werden teilweise noch große Anteile der Hemizellulose entfernt. Die Biomasse wird mit dem Hydrolysemedium unter Druck erhitzt, danach kann das Produkt in eine zellulosereiche Feststofffraktion, und eine flüssige Fraktion mit

gelösten Hemizellulosenzucker und Lignin getrennt werden. Das Lignin kann wiederum gezielt aus der Lösung gefällt werden. Die Temperatur liegt üblicherweise im Bereich von 150 bis 200°C, die Verweildauer beträgt bis zu etwa 1,5 Stunden. Während der Behandlung löst sich etwa die Hälfte des Feststoffs, der verbleibende Teil besteht bei günstigen Bedingungen aus bis zu >99% Zellulose. [Araque et al., 2008, Munoz et al., 2007, Pan et al., 2005, Taherzadeh and Karimi, 2008, Teramoto et al., 2008, Kaltschmitt et al., 2009]

2.3.6. Biotechnologische Vorbehandlung

Analog zum unerwünschten Befall von Pflanzen in der Natur, kann lignozellulosische Biomasse auch mit Mikroorganismen, hauptsächlich Pilzen für die Verwendung in Bioraffinerien vorbehandelt werden. Die biologischen Vorbehandlungen sind wenig energieintensiv, außerdem kann je nach Pilz selektiv das Lignin oder die Hemizellulose abgebaut werden. Andererseits benötigen die verwendeten Mikroorganismen neben sorgfältiger Überwachung der Wachstumsbedingungen eine lange Einwirkdauer von einigen Stunden bis zu 14 Tagen. Weiters verbrauchen die Mikroben üblicherweise einen Teil der Kohlehydrate, was die Zuckerausbeute mindert. Diese Art der Vorbehandlung erscheint folglich nicht wirtschaftlich attraktiv. [da Costa Sousa et al., 2009, Chandra et al., 2007]

2.3.7. Ionische Flüssigkeiten

Ionische Flüssigkeiten sind relativ neue Substanzen mit erstaunlichen Eigenschaften. Im wesentlichen sind dies Salze mit sehr niedrigen Schmelzpunkten. Studien haben gezeigt, dass je nach verwendetem Ionic Liquid verschiedene Effekte auf Biomasse zu beobachten sind. Es ist nahezu selektives Lösen von Lignin, Hemizellulose und Cellulose, als auch komplettes Lösen der Probe möglich. Die gelösten Stoffe werden im Anschluss in einem wiedergewonnen werden, indem die Lösung mit einem Nichtsolvens (Wasser) verdünnt wird, wobei die Biopolymere ausfallen. Der Vorteil in dieser Methode liegt in der größtenteils chemisch unveränderten Biomasse und milden Betriebsbedingungen. Der derzeit noch hohe Preis und der Aufwand für Rohstoffaufbereitung (Mahlen) und quantitativer Rückgewinnung der ionischen Flüssigkeiten sprechen gegen deren Verwendung. Die Temperaturen bei der Vorbehandlung betragen 80 - 150°C, die Verweilzeiten etwa 10 Minuten bis zu einigen Stunden. [Lee et al., 2009, Dadi et al., 2006, Zhao et al., 2009, Kilpeläinen et al., 2007]

2.3.8. Summenparameter: Severity

Die Bedingungen der Vorbehandlung können rechnerisch miteinander zu einem Summenparameter kombiniert werden. Aus Temperatur und Dauer wird der sogenannte "Severity Factor" (Gleichung 2.1) gebildet.

$$R_0 = \int_0^t e^{\left(\frac{T(t) - 100}{14.75}\right)} dt$$
(2.1)

Dabei ist T die Temperatur des Slurrys in °C, die auf eine Referenztemperatur von 100°C bezogen wird, da man annimmt, das die Reaktionen unter dieser Temperatur zu vernachlässigen sind, und die Berechnung des Severity Factors erst darüber erfolgt. Der Faktor von 14,75 stammt aus der Herleitung. Die Herleitung erfolgt über einen reaktionskinetischen Ansatz [Overend et al., 1987, Carvalheiro et al., 2009].

Es können auch weitere Parameter wie Katalysatorkonzentration mit einbezogen werden, man spricht dann von einer "combined Severity"

2.4. Statistik und ANOVA

Zur Auswertung der Versuchsergebnisse wurde auf softwaregestützte Varianzanalyse (englisch: Analysis of variance, kurz: ANOVA) zurückgegriffen. Für das Verständnis der Auswertung sollten einige Begriffe bekannt sein. Im Folgenden werden kurz die wichtigsten Größen und Rechnungen der Auswertung, sowie zur Validierung der berechneten Modelle erklärt.

2.4.1. Statistische Größen und Regressionsmodelle

Bei der Regression versucht man, Messwerte y_i (auch: Response-Werte) aus n Messungen (Design Points), die von der Einstellgröße x (unabhängige Variable) abhängen, durch Modellwerte \hat{y}_i zu approximieren.

Die klassische Regression beschreibt den Zusammenhang zwischen einer abhängigen Variable y und einer unabhängigen Variable x durch eine Funktion der Form:

$$\hat{y} = b_0 + b_1 x + \varepsilon \tag{2.2}$$

Ist y von mehreren unabhängigen Variablen abhängig wird multiple lineare Regression (MLR) angewandt. Das Ergebnis ist ein Modell der Form

$$\hat{y} = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_3 x_3 + \dots + b_n x_n + \varepsilon$$
(2.3)

wird nichtlineares Verhalten erwartet, müssen entsprechende Terme berücksichtigt werden. Im einfachsten Fall werden Terme 2. Ordnung eingefügt, man spricht von einem quadratischen Modell.

$$y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum b_{ij} x_i x_j + \sum c_i x_i^2 + \varepsilon$$
(2.4)

Für Gleichung 2.2 bis 2.4 gilt:

a, b, c	Regressionskoeffizienten
x_i, x_j	Einstellgrößen, wobei $i\neq j$
ε	Fehlerterm

2.4.2. Modellbewertung

Die Abweichung des Modells von den Response-Werten werden als Residuen e_i bezeichnet. Es gilt:

$$e_i = y_i - \hat{y}_i \tag{2.5}$$

Die Summe der Fehlerquadrate (Quadrate der Residuen) oder auch PRESS (Predicted Residual Sum of Squares) [Kessler, 2007] berechnet sich dann zu:

$$PRESS = \sum_{i=1}^{n} (y_i - \hat{y}_i)^2$$
(2.6)

Aus der Summe der Fehlerquadrate lassen sich einige statistische Größen berechnen, darunter das Bestimmtheitsmaß.

Das **Bestimmtheitsmaß** R^2 drückt den durch die unabhängige Variable (x) erklärbaren Anteil der Varianz der abhängigen Variable y aus. R^2 kann nur Werte von 0 bis 1 einnehmen. Ein Bestimmtheitsmaß von 1 bedeutet, dass die Modellwerte genau gleich den Messwerten sind, die Residuen also alle 0 sind.

$$R^{2} = \frac{\sum_{i=1}^{n} (\hat{y}_{i} - \bar{y})^{2}}{\sum_{i=1}^{n} (y_{i} - \bar{y})^{2}} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n} (y_{i} - \hat{y}_{i})^{2}}{\sum_{i=1}^{n} (y_{i} - \bar{y})^{2}} = \frac{PRESS}{SS_{Modell} + PRESS}$$
(2.7)

Mit dem Mittelwert $\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^{n} y_i}{n}$

Weiters wird das sogenannte **"korrigierte Bestimmtheitsmaß** \bar{R}^{2} " verwendet. Dies stellt eine Erweiterung des Bestimmtheitsmaß dar, die die Anzahl der Modellterme berücksichtigt. Das korrigierte Bestimmtheitsmaß sinkt, wenn zusätzliche Terme keinen Beitrag zur Qualität des Modells liefern. Das korrigierte Bestimmtheitsmaß ist immer kleiner als R^2 (Sonderfall: $R^2 = \bar{R}^2 = 1$) und kann auch negative Werte annehmen. Dieses sollte bei einem guten Modell eine maximale Differenz von 0,2 zum sogenannten **"vorhergesagten Bestimmtheitsmaß**" aufweisen. Dieses beschreibt, wie gut ein Modell neue Beobachtungen beschreibt. Dazu werden die Design Points systematisch aus dem Modell entfernt und überprüft, wie gut das Modell den jetzt "neuen" Messwert vorhersagt (Kreuzvalidierung). [Minitab®, Stat-Ease]

Der "Lack of Fit" ist eine weitere Kenngröße der Güte der Regression. Beim Lack of Fit-Test wird die modellbedingte Abweichung des Models von den Messwerten mit dem reinen Fehler (Schwankung des Messwerts) verglichen. Sind die Varianzen in etwa gleich, so geht man davon aus, dass der Lack of Fit nicht signifikant ist, beziehungsweise das die Messwerte vom Modell gut angenähert werden [Freund et al., 2006, Stat-Ease]

Ob Modell, einzelne Modellterme sowie Lack of Fit signifikant oder nicht sind, wird durch einen "F-Test" überprüft. Der F-Test ist ein Werkzeug der Statistik um die Varianz zweier Grundgesamtheiten zu vergleichen. Sind die beiden Varianzen deutlich verschieden, so schließt man daraus, dass zwischen den beiden Grundgesamtheiten ein Unterschied besteht, der durch einen bestimmten Einflussfaktor hervorgerufen wurde.

2.4.2.1. Diagnose-Plots

Zur Bewertung des Modells wurden im wesentlichen drei Arten von Plots herangezogen.

Wahrscheinlichkeitsnetz (Q-Q Plot) für die Residuen Hiermit wurde überprüft, ob die Abweichung des Modells von den experimentellen Ergebnissen einer Normalverteilung unterliegt. Eine Abweichung von dieser Streuung würde auf einen Trend hindeuten, der im Modell nicht berücksichtigt wird. Abbildung 2.6 zeigt ein Beispiel für einen Q-Q Plot. Auf der Abszisse wird die zu untersuchende Größe, z.B. ein Messwert oder die Abweichung vom Mittelwert einer Messserie aufgetragen. Auf der Ordinate wird die kumulierte Wahrscheinlichkeit aufgetragen, wobei die Skalenabstände proportional der Verteilungsfunktion der Standardnormalverteilung sind. Wenn die Messwerte einer normalverteilten Grundgesamtheit entspringen, kommen die Wertepaare auf einer Geraden zu liegen.



Abbildung 2.6.: Beispiel für einen Q-Q Plot

Vergleich von Modellwerten und Messwerten (Predicted vs. Actual) Die experimentellen Ergebnisse (Actual) werden auf der x-Achse, die korrespondierenden, vom Modell berechneten Werte (Predicted) auf der y-Achse aufgetragen. Ein gutes Modell sollte die Versuchsergebnisse möglichst genau wiedergeben, und darum die Schnittpunkte von Modell- und Versuchswerten auf einer 45°-Geraden liegen. In



Abbildung 2.7 ist ein Beispiel für einen solchen Plot zu sehen.

Abbildung 2.7.: Beispiel eines Predicted vs. Actual Plots

Box-Cox-Plot Die Software kann vorschlagen, die Response Werte einer Transformation zu unterziehen, um einen besseren Fit zu erreichen. Dabei wird die Response Werte der Transformation $T(y) = \frac{y^{\lambda}-1}{\lambda}$ unterzogen. Der Wert von λ wird variiert, mit den transformierten Werten die Residuen des Modells für das jeweilige λ berechnet und über λ aufgetragen. Das λ , bei welchem die Residuen ein Minimum aufweisen, bestimmt dann die Transformation (Potenzierung, Logarithmierung) der Responsewerte [NIST, 2010]. Abbildung reffig:boxcox zeig ein Beispiel eines Box-Cox Plots. Auf der Abszisse wird λ aufgetragen, auf der Ordinate die Residuen ein des Modells. In diesem Fall liegt das Minimum der Residuen nahe bei $\lambda = 0, 5,$ das Programm schlägt auf Grund dessen die Quadratwurzel als Transformation vor.





Abbildung 2.8.: Beispiel eines Box-Coxl Plots

3. Experimenteller Teil

Zur Untersuchung der apparativen Handhabung und Prozessführung des Vorbehandlungsschritts sollen einige Versuche durchgeführt werden. Planung, Durchführung und Auswertung der Versuche sollen dann sowohl Erkenntnisse über das System, als auch die Grundlage für weitere Arbeiten liefern.

3.1. Apparatives Set-Up

Die Durchführung des experimentellen Teils dieser Arbeit erforderte einen gewissen Apparativen Aufwand. Dem Ziel der Arbeit entspringt, dass auf dem verwendeten Reaktor besonderes Augenmerk gerichtet werden sollte. Den übrigen Teil des Set-Ups nehmen die Geräte zur Aufarbeitung und Analyse der Produkte ein.

3.1.1. Reaktor

Die Versuche wurden mit einem Hochdruckautoklaven der Firma Zirbus durchgeführt. Der Autoklav verfügt über fest verbaute elektrische Mantelheizung und Kühlwasserkreislauf, und ist für einen maximalen Druck von 60 bar ausgelegt. Der Antriebsmotor für das Rührwerk ist abnehmbar und um Dichtheit zu gewährleisten ist die Rührwelle mit der Motorwelle über eine Magnetkupplung verbunden.

Der Reaktionsraum selbst ist zylindrisch mit einem Durchmesser von 80mm und einer Tiefe von 20cm. Er wird oben mit einem Blindflansch verschlossen. In diesen Deckel sind der Sensor für die Produkttemperatur sowie, Zu- und Ableitungen und die Rührerwellenkopplung eingebaut. Weiters verlaufen vom Blindflansch weg Rohrleitungen zu Drucksensor und Manometer, sowie dem Sicherheitsventil.

Die Steuerung der Anlage und Messwertanzeige erfolgt über ein Bedienfeld mit Display am Schaltkasten auf der linken Seite des Apparates.




Abbildung 3.2.: Reaktionsraum

Abbildung 3.1.: Hochdruckautoklav

Im Laufe des Projekts wurde vom händischen protokollieren der Messwerte auf eine elektronische Messwerterfassung mittels LabVIEW[©] gewechselt. Dazu wurde ein Redlab 1208LS USB-Messdatenwandler installiert und die gewandelten Werte mittels LabVIEW[©] aufgezeichnet (Abbildungen 3.3 bis 3.5).



Abbildung 3.3.: Messdatenwandler



Abbildung 3.4.: Installation des Messdatenwandlers am Autoklaven



Abbildung 3.5.: Messdatenerfassung in LabVIEW[©]

Reaktorregelung

Die Regeleinheit des Autoklaven ist lediglich in der Lage, ein einfaches Programm aus Aufheizphase, Haltephase und Abkühlung zu durchlaufen. Das Verweilen auf mehreren Temperaturniveaus, noch wichtiger aber das Festlegen bestimmter Aufheiz- und Abkühlraten sowie eine Regelung der Kammertemperatur sind (ohne externe Stellwertvorgabe) nicht möglich.

Die Aufheizrate ergibt sich aus der eingestellten Manteltemperatur und der Befüllung der Kammer; die Abkühlrate aus Befüllung sowie Kühlwasserdurchfluss und -temperatur.

Temperaturprogramm

Zur Festlegung des Programmes müssen vorerst folgende Parameter in die Steuereinheit eingegeben werden:

- Produkttemperatur
- Manteltemperatur
- Haltezeit
- Kühlendwert Produkt
- Zieltemperatur des Mantels bei Kühlung
- Drehzahl des Rührwerks

Nach der Eingabe dieser Eckdaten kann das Programm gestartet werden, und die Aufheizphase beginnt. Abbildung 3.6 zeigt einen typischen Verlauf von Mantel- und Kammertemperatur.

Der Mantel wird bis zur angegebenen Manteltemperatur (hier 202° C) elektrisch erwärmt, und, von leichten Schwankungen von $\pm 3^{\circ}$ C abgesehen, auf dieser Temperatur gehalten.





Abbildung 3.6.: Temperaturverlauf eines Centerpoint-Versuchs. Phasen: ①:Aufheizen des Mantels, ②:Aufheizen des Produkts, ③:Haltephase, ④:Kühlphase

Je nach Manteltemperatur, Isolierung, Aussentemperatur und Reaktorbefüllung steigt die Produkttemperatur an. Ist die zuvor eingegebene Produkttemperatur erreicht (in diesem Beispiel 170°C), beginnt die Haltephase. Dies bedeutet lediglich, dass nach Ablaufen der angegebenen Haltezeit das Magnetventil im Kühlwasserkreislauf geöffnet wird. Dies bedeutet nicht, dass die Regeleinheit des Autoklaven die Produkttemperatur auf dem angegebenen Niveau hält. Im Gegenteil, die Produkttemperatur hängt nach wie vor von Mantel- und Aussentemperatur, Isolierung und Befüllung ab. Folglich wird die Produkttemperatur nach dem Beginn der Haltezeit noch steigen, je nach Temperaturdifferenz zum Mantel. Ist die Haltezeit abgelaufen, wird die Heizung deaktiviert, und Kühlwasser um den Reaktor geleitet, um Mantel und Produkt auf die angegebenen Temperaturen herunter zu kühlen. Wiederum wird die Manteltemperatur geregelt, die Produkttemperatur stellt sich dementsprechend ein. Erreicht die Produkttemperatur den angegebenen Wert, wird das Programm beendet. Wird die Produktendtemperatur unter die Kühltemperatur des Mantels gelegt, so kann diese nie erreicht werden, und das Programm wird nicht beendet. Dies hat den Vorteil, dass das Produkt in der Kammer weiterhin gekühlt wird, anstatt durch die im Deckel gespeicherte Wärme wieder aufgeheizt zu werden.

3.1.2. Zur Aufarbeitung und Analyse verwendete Apparate

In Tabelle 3.1 sind sämtliche Geräte aufgelistet, die für die *Aufarbeitung und Analyse* des bei den Versuchen untersuchten Materials zum Einsatz kamen. Die Verwendung der Geräte wird in Abschnitt 3.4.1 erläutert.

Apparat	Typ	Einstellung	Anmerkung
Waage	Mettler PE22		auf 0,1g genau
Analysenwaage	Mettler AB184-A3		auf 0,1mg genau
Trockenschrank	k/A	$105^{\circ}\mathrm{C}$	Temperaturschwankungen
			zwischen 90 und $115^{\circ}C$
Automatischer	Sartorius MA 150		auf 1mg genau
Feuchtebestimmer			
Laborzentrifuge	Sigma $4K15$	5100 U/min	
Tischautoklav	Certoklav CV-EL 12L	$121^{\circ}\mathrm{C}$	
Magnetrührer			
HPLC System	Shimadzu LC-20 Prominence		

Tabelle 3.1.: Verwendete Apparate

3.2. Rohstoff

Das verwendete Weizenstroh stammt aus dem niederösterreichischen Ort Dürnkrut im Weinviertel. Es wurde über Monate bei Raumtemperatur als Ballen gelagert und dabei bis auf einen Feuchtegehalt von etwa 10% getrocknet, und ein bis zwei Wochen vor der Verwendung zu 1-2 cm langen Stücken geschnitten. Feuchtegehalt und Zusammensetzung des Strohs wurden laut Abschnitt 3.4.3 bestimmt.

3.3. Liquid Hot Water Treatment

Die Vorversuche und Versuche wurden im, in Abschnitt 3.1.1 erläuterten Autoklaven durchgeführt. Pro Versuch wurden, wenn nicht anders angegeben, 30g Stroh eingesetzt, das Wasser:Stroh-Verhältnis betrug in allen Versuchen 11:1 (w:w, bezogen auf feuchtes Stroh). Das Stroh wurde während des Versuchs mittels eines Abstandhalters im unteren Drittel des Reaktorraums gehalten, um den Kontakt von Flüssigkeit und Rohstoff während des Versuchs zu gewährleisten (Siehe Abbildung 3.7). Die Versuchsparameter wurden wie in Abschnitten 3.5 und 3.6 erläutert variiert. Nach Beendigung der Vorbehandlung wurde das Produkt während der Kühlung bis 40°C weiter gerührt, die weitere Kühlung erfolgte ohne Rührereinsatz um die groben Stücke nicht unnötig zu zerreiben.



Abbildung 3.7.: Abstandhalter

3.4. Versuchsaufarbeitung und Messverfahren

3.4.1. Analyseprogramm

Als Leitfaden für die Aufarbeitung und Analyse der der erhaltenen Produkte wurden die "Laboratory Analytical Procedures" (LAPs) des US National Renewable Energy Laboratory (NREL) verwendet [NREL, 2010]. Daraus wurde ein, auf die Möglichkeiten der Arbeitsgruppe und die Versuche abgestimmtes, Aufarbeitungs- und Analysenprogrammm erstellt.

Für diese Arbeit wurde die Beschränkung der (chemischen) Analyse auf die erhaltene Flüssigphase als ausreichend erachtet. Durch diese Schritte war es bereits möglich die allein durch das Pretreatment gelösten Einfach- und Mehrfachzucker sowie einige der entstandenen Neben- und Abbauprodukte zu bestimmen. Der Ablauf der Analyseprozedur ist in den Abbildungen 3.8 bis 3.10 zu finden.

Nach dem Durchlaufen des Temperaturprogrammes wurde das Produkt auf 20-30°C abgekühlt. Das Gewicht der durch das Pretreatment erhaltene Maische wurde ermittelt (gesamte Wiederfindung in g). Die Flüssige Phase wurde dekantiert und das Gewicht der beiden Phasen (slurry dekantiert in g und liquor dekantiert in g) notiert. Fünf bis zehn Gramm der festen, vorher durchmischten, Fraktion wurden zur Trockensubstanzbestimmung (TS Slurry in %w) bei 105°C im Trockenofen getrocknet (siehe 3.4.2.3. Die Flüssigfraktion wurde durch Schwenken homogenisert, und ca. fünf Gramm davon zur Trockensubstanzbestimmung (TS liquor in %w) mittels automatischem Feuchtebestimmer vom Typ Sartorius MA 150 (Trockenwaage mit Infrarotheizung) herangezogen (siehe 3.4.2.2). Der restliche Teil wurde gleichmäßig nach Gewicht auf vier 100ml Zentrifugen-

fläschchen aufgeteilt. Diese wurden in einer SIGMA 4K15 Zentrifuge bei 5100 U/min für 30 Minuten zentrifugiert. Durch die verwendeten Zentrifugenfläschchen bzw. den dazugehörigen Rotor war die maximale Drehzahl auf diesen Wert beschränkt. Reichte dies nicht, um eine klare Flüssigphase zu erhalten, wurde die Zentrifugation wiederholt (siehe 3.4.2.1). Die so erhaltene Flüssigfraktion wurde vorsichtig in ein tariertes Becherglas abdekantiert und gewogen (*liquor nach Zentrifuge* in g). Analog zur nicht zentrifugierten Flüssigfraktion wurde wiederum der Feststoffgehalt (*TS liquor nach Zentrifuge* in %w) per Feuchtebestimmer ermittelt.

Die restliche Flüssigfraktion wurde im Anschluss auf monomere Zucker und Gesamtzuckergehalt, sowie auf Neben- und Abbauprodukte analysiert. Die Analyse wurde in Anlehnung an die LAP "Determination of Sugars, Byproducts, and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples" [Sluiter et al., 2006] durchgeführt. Näheres unter 3.4.2.4.



Abbildung 3.8.: Analysenweg Teil1/3



Abbildung 3.9.: Analysenweg Teil 2/3



Bestimmung des Gehalts an Neben-und Abbauprodukten: Etwa 1ml der zentrifugierten Flüssigfraktion wurde durch einen $0,2\mu$ m Spritzenfilter in ein Autosampler-Fläschchen gepresst und mittels HPLC auf Essigsäure, Milchsäure, Ethanol, Furfural und 5-Hydroxymethylfurfural untersucht. Verwendet wurden eine Shodex SH1011 Säule bei einem Fluss von 0,6ml/min und 50°C, mit 0,01 normaler Schwefelsäure als Laufmittel. Gemessen wurde mit einem Refraktionsindexdetektor bei 40°C. Das injizierte Probenvolumen betrug 5 μ l.

Bestimmung des Gehalts an monomeren Zuckern und Cellobiose: Ca. 10ml der zentrifugierten Flüssigfraktion wurden in einen 25ml Erlenmeyerkolben übergeführt und der pH-Wert der Lösung bestimmt (meistens etwa pH 4). Um die Probe auf Zucker untersuchen zu können musste sie auf einen pH-Wert möglichst nahe bei 7 eingestellt werden, da die verwendete Säule sehr empfindlich gegen freie Ionen ist. Die Neutralisation wurde unter starkem Rühren durch Zugabe von $Ba(OH)_2$ durchgeführt. $Ba(OH)_2$ reagiert nach folgender Reaktionsgleichung mit der Schwefelsäure zu schwerlöslichem Bariumsulfat und Wasser.

$$Ba(OH)_2 + H_2SO_4 \longrightarrow BaSO_4 + H_2O$$

Die neutralisierte Probe war ziemlich trüb und musste nochmals ca. 10 Minuten bei 5100 U/min zentrifugiert werden. Nach der Abtrennung der Feststoffe wurde ca. 1ml durch einen $0,2\mu$ m Spritzenfilter (Die Filter bestehen aus einer porösen PVDF-Membran mit 15mm Durchmesser in einem Kunststoffgehäuse) in ein Autosampler-Fläschchen gepresst und mittels HPLC auf Cellobiose, Xylose, Glukose, Galaktose, Arabinose und Mannose untersucht. Das injizierte Probenvolumen betrug 5μ l, die verwendete Säule für Zuckeranalytik war eine Shodex SP0810 bei 80°C und einem Fluss von 0,6ml/min mit vollentsalztem Wasser als Laufmittel. Die Konzentration wurde wurde mit einem Refraktionsindexdetektor bei 40°C gemessen. Näheres siehe 3.4.2.4

Bestimmung des Gehalts an oligomeren Zuckern: Um die Probe mit der gleichen Säule auf oligomere Zucker analysieren zu können, müssen diese in ihre monomeren Einheiten heruntergebrochen werden. Es wird also der Gesamtzuckergehalt gemessen. Die Differenz zwischen dem Gesamtzuckergehalt und dem zuvor gemessenen Gehalt an monomeren Zuckern ergibt dann den Gehalt an oligomeren Zuckern. Die Aufspaltung der Oligomere wird durch eine saure Hydrolyse mit Schwefelsäure erreicht. Für die Hydrolyse wurden genau 10ml der Probe in ein druckfestes Glasröhrchen pipettiert und genau 1ml 4,598 molare Schwefelsäure hinzugefügt. Um den Abbau von Zuckern bei der Hydrolyse zu berücksichtigen, wurden ebenfalls 10ml eines "Sugar Recovery Standard" (SRS) und 1ml der 4,598 molaren Schwefelsäure in ein Druckröhrchen gefüllt. Die Druckröhrchen wurden fest verschlossen und eine Stunde bei 121°C autoklaviert. Sowohl Probe, als auch SRS wurden in doppelter Ausführung hydrolisiert, wobei im Mittel 16% der Zucker abgebaut wurden. Nach der Hydrolyse wurden die Fläschchen langsam an Luft bis zur Raumtemperatur abgekühlt. Die Proben mussten anschließend von einem pH-Wert von ca. 0 auf pH 6-7 neutralisiert werden, was wieder mit $Ba(OH)_2$ bewerkstelligt wurde.

Die neutralisierten Proben mussten für ca. 10 Minuten bei 5100 U/min zentrifugiert werden, um die Feststoffen abzutrennen. Von der klaren Flüssigkeit wurde nochmals der pH-Wert kontrolliert und dann ca. 1ml davon durch einen $0,2\mu$ m Spritzenfilter in Autosamplerfläschchen gepresst. Die Proben wurden mittels HPLC auf Cellobiose, Xylose, Glukose, Galaktose, Arabinose und Mannose untersucht. Das injizierte Probenvolumen betrug 5μ l, die verwendete Säule für Zuckeranalytik war eine Shodex SP0810 bei 80°C und einem Fluss von 0,6ml/min mit vollentsalztem Wasser als Laufmittel. Gemessen wurde mit einem Refraktionsindexdetektor bei 40°C. Die verschiedenen Proben eines Versuchs sind in Abbildung 3.11 zu sehen. Neutralisation und Säurehydrolyse verändern offensichtlich die Farbe der Proben.



Abbildung 3.11.: Proben zur Analyse mittels HPLC. V.l.n.r.: unbehandelte Probe, neutralisierte Probe, hydrolisierte Probe (2x), SRS (2x)

3.4.2. Erläuterungen zu den einzelnen Messungen

3.4.2.1. Fest/Flüssigtrennung der dekantierten Flüssigfraktion

Für die Trennung von festem und flüssigem Anteil des Produkts konnte die LAP "Determination of Insoluble Solids in Pretreated Biomass" [Sluiter et al., 2008c] als Leitfaden herangezogen werden. Diese sieht entweder eine Vakuumfiltration oder eine Trennung mittels Zentrifuge vor. Bei Vorversuchen hat sich gezeigt, dass für eine Filtration das Vakuum nötig ist. Da keine Vakuumquelle zur Verfügung stand, wurde auf die Zentrifugationsmethode zurückgegriffen. Es zeigte sich auch, dass das Produkt nicht ohne einen weiteren vorgeschalteten Aufbearbeitungsschritt aufzutrennen war. Das Stroh wurde im Versuch nicht weit genug zersetzt um zufriedenstellend getrennt zu werden. Daher wurde die Flüssige Phase vorher durch ein grobes Kunststoffsieb mit einer Porengröße von 1mm abdekantiert. Das Filtrat wurde von diesem Punkt an als flüssige Fraktion geführt. Der Rückstand im Sieb wurde mit dem übrigen Produkt vereinigt, und weiterhin als feste Fraktion bezeichnet. Die stark trübe flüssige Fraktion konnte nach diesem Schritt mittels der Zentrifuge aufbereitet werden. In der LAP ist eine Drehzahl von mindestens 9000 U/min vorgesehen, mit dem verwendeten Rotor war diese jedoch nicht zulässig. Es ließ sich jedoch auch mit der maximal zulässigen Drehzahl von 5100 u/min eine in fast allen Fällen zufriedenstellende Trennung bewerkstelligen.

Auf der anderen Seite führte die geringe Drehzahl jedoch dazu, dass der abgesetzte

Feststoff nicht allzu gut verfestigt wurde. Dies hatte zur Folge, dass die gereinigte Flüssigkeit nicht quantitativ abdekantiert werden konnte, da sich, sobald der Flüssigkeitsspiegel über die Feststoffoberfläche strich, Teile dieser lösten und mit ins Auffangbehältnis geschwemmt werden könnten.

3.4.2.2. Trockensubstanzbestimmung der Flüssigfraktion

Laut LAP "Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples" [Sluiter et al., 2008a] sollte bei flüssigen Proben die Trocknung im Konvektionsofen erfolgen. Aufgrund der erwarteten Menge an Proben und der geringen Größe des Trockenofens wurde jedoch die automatische Trockensubstanzbestimmung per Infrarot-Feuchtebestimmer Sartorius MA 150 vorgezogen. Laut LAP sollte die Bestimmung folgendermaßen erfolgen:

- 1. Einstellen einer Standby-Temperatur von 70°C, einer Trockentemperatur von 105°C und Ende der Messung bei einer Gewichtsänderung von weniger als 0,05% in einer Minute
- 2. Aufwärmen der Heizelemente
- 3. Tarieren eines vorgetrockneten Wägeschälchens
- 4. Aufbringen der Probe. Die Probe sollte rasch und gleichmäßig aufgebracht werden.
- 5. Sobald die Waage stabil bleibt, soll das Programm gestartet werden
- 6. Das Gerät beendet die Analyse selbsttätig

Im Unterschied zur LAP wurde die Standbytemperatur auf 40°C gestellt, und die Analyse jedes mal von diesem "kalten" Zustand aus gestartet. Zwischen Messungen wurde die Abdeckung geöffnet, und genügend Zeit zum Abkühlen des Geräts eingehalten. Die Bedingung für die Beendigung der Messung wurde weniger streng auf 1% Gewichtsänderung pro Minute festgelegt. Weiters schreibt die LAP vor, dass Flüssigkeitsproben vor der Analyse durch einen Filter mit einem Porendurchmesser von 0.2μ m gefiltert werden sollen. Da die Messung in diesem Fall aber sowohl gelösten, als auch suspendierten Feststoff berücksichtigen sollte, wurde auf diesen Schritt verzichtet. Eine Filter mit diesem Porendurchmesser würde ausserdem bei der Feststoffbeladung der Proben vor dem Zentrifugierschritt augenblicklich verstopft werden. In Vorversuchen zeigte sich, dass die Trockensubstanzbestimmung inkonsistent war, wenn die Probe direkt auf das Wägeschälchen aufgebracht wurde. Dies ist auf Haut- beziehungsweise Krustenbildung durch die in der Probe gelösten Stoffe, vordergründig der Zucker, zurückzuführen. Um dies zu vermeiden, wurden die Schälchen mit etwas loser Glaswolle ausgelegt (im Gegensatz zu Glaswollepads in der LAP), welche die Flüssigkeit aufnehmen sollte.

Trotz dieser Maßnahme sind die Ergebnisse der Trockensubstanzbestimmung mit erhöhter Vorsicht zu genießen, wie in Kapitel 5 ausgeführt wird.

3.4.2.3. Trockensubstanzbestimmung der Feststofffraktion

Die Trockensubstanzbestimmung der Feststofffraktion wurde mittels Trockenofen durchgeführt. Die LAP [Sluiter et al., 2008a] sieht für diese Prozedur häufige Wechsel von Trocken- und Abkühlperioden vor, was einen relativ hohen Aufwand bedeutet. Darum wurde eine vereinfachte Methodik zur Trocknung der Proben verwendet. Laut LAP läuft die Trockensubstanzbestimmung in folgenden Schritten ab:

- 1. Wägeschälchen für mindestens vier Stunden bei $105 \pm {}^{\circ}C$ trocknen und in einem Exsikkator abkühlen lassen.Gewicht auf 0,1mg genau notieren.
- 2. Probe gut mischen und eine geeignete Menge auf das Wägeschälchen transferieren. Gewicht auf 0,1mg genau notieren. Die Proben sollten mindestens in zweifacher Ausführung analysiert werden.
- 3. Wägeschälchen und Probe sollten bei 105 $\pm 3^{\circ}$ C für mindestens vier Stunden im Trockenofen platziert werden. Danach sollte es in einem Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt werden. Das Gewicht von Schälchen mit Probe ist auf 0,1mg genau zu notieren.
- 4. Die Probe ist weiter bis zu konstantem Gewicht zu trocknen. Gewichtskonstanz wird definiert als eine Änderung des Gewichts von weniger als 0,1% über eine Verweilzeit im Ofen von einer Stunde. Bei sehr feuchten Proben wird eine Trocknung über Nacht als üblicherweise nötig angesehen.

Die Vereinfachte Prozedur umfasst dagegen:

- Die Wägeschälchen wurden entweder nach Reinigung über Nacht im Trockenofen belassen, oder frisch aus der Verpackung entnommen.
- Durch die beschränkte Kapazität des Ofens wurden die Proben nur einfach analysiert.
- Die Proben wurden generell mindestens über Nacht im Trockenofen belassen und im Laufe des Vormittags entnommen und gewogen. Zwei Proben wurden zum Test nach der Wägung eine weitere Woche im Ofen belassen. Die Gewichtsänderung betrug etwa 0,3 bzw. 0,5%. Zum Einen ist dieser Fehler akzeptabel, zum Anderen kann angenommen werden, dass das Kriterium für Gewichtskonstanz der LAP auch bei der Trocknung über Nacht erfüllt wurde.
- Das Abkühlen im Exsikkator entfiel aufgrund des Aufwandes.

Unglücklicherweise trägt der verwendete Trockenschrank selbst zur Messwertunsicherheit bei. Die Temperatur schwankte, durch die Regelung des Geräts bedingt, zwischen 90 und $115^{\circ}\mathrm{C}$

3.4.2.4. Messung von Zuckern, Neben- und Abbauprodukten

Zur Analyse der Zucker und Abbauprodukte wurde ein "Shimadzu LC-20A prominence" Flüssigkeitschromatographiesystem verwendet. Betrieb und Analyse der Anlage wurden per PC mit der Software "Shimadzu LC Solution" durchgeführt. Dieses modulare System besteht aus zwei Entgasern, zwei Laufmittelpumpen, eine davon ausgestattet mit einer Niederdruckgradienteneinheit, Autosampler, Säulenofen, ausgestattet mit Mischer, den Trennsäulen und zwei 6-Wege Säulenschaltventilen. Das Niederdruckgradientenmodul kann 4 verschiedene Laufmittel in die HPLC leiten, somit ergibt sich eine Gesamtzahl von fünf möglichen Laufmitteln (4 durch das Gradientenmodul + 1 aus der zweiten Pumpe) plus eine Spülflüssigkeit für den Autosampler. Ein Photodiodenarray sowie ein Differenzrefraktometer sind als Detektoren verfügbar.

Die Messdaten wurden per Refraktionsindexmessung erfasst. Dieses Prinzip beruht auf der Abhängigkeit des Brechungsindex vom durchstrahlten Medium. Ein Lichtstrahl wandert durch Linse und Schlitz, danach durch die Messzelle, wird von einem Spiegel reflektiert und in einem anderen Winkel wieder durch die Zelle auf das Photodiodenarray gesendet. Die Messzelle besteht aus einer Probenseite und einer Referenzseite. Wenn sich der Brechungsindex in der Probenseite ändert, wandert das Bild des Schlitzes horizontal auf dem Detektor. Die Änderung der Lichtverteilung auf dem Detektor ist zum Brechungsindex proportional.

Um vom Messwert auf Konzentrationen bzw. Stoffmengen schließen zu können, muss eine Kalibrationsgerade erstellt werden. Dazu wurden 3-5 (je nach Bandbreite der Messergebnisse des jeweiligen Stoffes) Standardlösungen verschiedener Konzentration zubereitet, die den gesamten Messbereich abdeckten. Den HPLC Messungen der Standards wurden dann die bekannten Konzentrationen zugeordnet und daraus die Kalibrationsgerade erstellt.

Da zwei verschiedene Säulen im selben System verwendet wurden, welche mit verschiedenen Laufmitteln betrieben werden, wurde zwischen den Messungen von Neben- und Abbauprodukten und Zuckern eine Spülsequenz geschaltet. Weiters wurde vor jedem Probenblock eine Dummyprobe injiziert, um die Beeinträchtigung der Messung durch Verunreinigungen auf Injektionsnadel oder Säule auszuschließen.

Die Säule für die Trennung von Neben- und Abbauprodukten (Shodex SH1011) arbeitet durch Kombination von Größenausschluss- und Ionenausschlusschromatografie. Das heisst, kleine und gegensätzlich geladene Teilchen werden bevorzugt zurückgehalten, und eluieren später. Die Säule für die Zuckertrennung (Shodex SP0810) arbeitet nach den Prinzipien des Größenausschlusses und des Ligandenaustausches. Größere und mit dem Füllmaterial stärker wechselwirkende Teilchen werden bevorzugt zurückgehalten.

Die Chromatogramme wurden von der Software automatisch ausgewertet. Bei unerwarteten Ergebnissen wurden die Chromatogramme genauer betrachtet und die Integrationsparameter gegebenenfalls per Hand nachjustiert.

Nach der Hälfte der Versuche wurde die Kalibration des Systems durch Aufgabe der Kalibrationsstandards überprüft. Diese waren nach Kalibration des Geräts eingefroren worden, um eine Veränderung der Konzentrationen auszuschließen.

Stellvertretend für alle Versuche zeigen Abildungen 3.12 bis 3.15 Chromatogramme



aller Einzelproben eines Versuchs bei Centerpoint-Bedingungen.

Abbildung 3.12.: Chromatogramm einer neutralisierten Centerpointprobe zur Analyse der monomeren Zucker. Säule: Shodex SP0810. Vor den bekannten Zuckern eluieren nicht hydrolisierte, höhermolekulare Bruchstücke des Rohstoffs



Abbildung 3.13.: Chromatogramm einer hydrolisierten Centerpointprobe zur Analyse des Gesamtzuckergehalts. Säule: Shodex SP0810. Die Verschiebung der Peaks zu den untersuchten Zuckern durch die Säurehydrolyse ist offensichtlich.



Abbildung 3.14.: Chromatogramm eines Sugar Recovery Standards. Säule: Shodex SP0810. Vor der Glukose sieht man deutlich eine Anhäufung undefinierter Hydrolyseprodukte



Abbildung 3.15.: Chromatogramm einer Centerpointprobe zur Analyse der Abbauprodukte. Säule: Shodex SH1011. Vor den untersuchten Abbauprodukten liegen deutlich erkennbar die Peaks der verschiedenen Zucker

3.4.3. Rohstoffanalyse

Bestimmung des Feuchtegehalts Etwa ein Gramm des vorbereiteten Rohstoffs, wurde auf einem im automatischen Feutebestimmer vorgetrockneten Wägeschälchen eingewogen. Nach Starten der Analyse wurde der Feuchtegehalt automatisch bestimmt. Das Ende der Messung wurde bei einer Gewichtsänderung von unter einem Prozent über den Zeitraum von einer Minute festgelegt.

Bestimmung der strukturellen Kohlenhydrate Die Analyse wurde in Anlehnung an die LAP "Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass"[Sluiter et al., 2008b] mittels einer zweistufigen Säurehydrolyse durchgeführt. Es wurde jedoch auf die Bestimmung von Lignin und Asche verzichtet.

Das Stroh wurde per Schneidmühle zerkleinert, bis die Probe durch ein Sieb mit 1mm Maschenweite fiel und bis zur weiteren Verwendung am folgenden Tag in einem luftdichten Probenbehälter bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Für die erste Hydrolysestufe wurden 300±10 mg des gemahlenen Rohstoffs in ein druckfestes Röhrchen gefüllt und mit 3ml 72-prozentiger Schwefelsäure Versehen. Die Mischung wurde mit einem Glasstab gründlich verrührt, und im Anschluss 60 Minuten unter wiederholtem Rühren in einem Wasserbad bei 30°C belassen. Nach dieser ersten Hydrolysestufe wurde die Säurekonzentration durch Zugabe von 84 ml vollentsalztem Wasser auf vier Prozent abgesenkt.

Es wurde ein Sugar Recovery Standard vorbereitet und mit auf 11ml vierprozentiger Schwefelsäure in einem weiteren Druckröhrchen aufgefüllt. Die Druckröhrchen wurden veschlossen, geschüttelt, und eine Stunde lang bei 121°C autoklaviert. Nach Ende der Autoklavierung wurden die Druckröhrchen langsam auf Raumtemperatur abgekühlt.

Proben und Sugar Recovery Standards wurden 10 bis 20 ml entnommen und in einem Erlenmeyerkolben mit $Ba(OH)_2$ auf pH 6 bis 7 neutralisiert. Die neutralisierten Proben wurden 10 Minuten bei 5100 U/min zentrifugiert um die festen Bestandteile abzuscheiden.

Die Proben und Standards wurden über $0,2 \ \mu m$ Spritzenfilter in Autosamplerfläschchen gefüllt und anschließend mittels HPLC analysiert. Die Proben wurden auf Cellobiose, Xylose, Glukose, Galaktose, Arabinose und Mannose untersucht. Das injizierte Probenvolumen betrug 5 μ l, die verwendete Säule für Zuckeranalytik war eine Shodex SP0810 bei 80°C und einem Fluss von 0,6ml/min mit vollentsalztem Wasser als Laufmittel. Gemessen wurde mit einem Refraktionsindexdetektor bei 40°C.

Probe und Sugar Recovery Standards wurden in doppelter Ausführung hydrolisiert und analysiert und die Mittelwerte zu weiteren Berechnungen herangezogen.

Bestimmung des Acetylgehalts Etwa 1ml der hydrolisierten, aber nicht neutralisierten Probe wurde durch einen 0.2μ m Spritzenfilter in ein Autosampler-Fläschchen gepresst und mittels HPLC auf Essigsäure untersucht. Verwendet wurden eine Shodex SH1011 Säule bei einem Fluss von 0.6ml/min und 50° C, mit 0.01 normaler Schwefelsäure als Laufmittel. Gemessen wurde mit einem Refraktionsindexdetektor bei 40° C. Das injizierte Probenvolumen betrug 5μ l.

3.4.4. Verwendete Ausrüstung und Chemikalien

Die bei der Versuchsaufarbeitung verwendeten Materialen sind im Anhang in Tabelle A.1 aufgelistet.

3.4.5. Berechnungen

Die Berechnungen im Rahmen dieser Arbeit lassen sich grob in drei wesentliche Bereiche einteilen. Erstens die Verfolgung der Massenströme durch Prozess und Aufbereitung und dessen Gesamtbilanzierung. Zweitens die Ermittlung der Menge an gewonnenen Substanzen und die Bestimmung der Ausbeute aus den Ausgangsstoffen. Drittens die statistische Auswertung aller relevanten Daten und die Erstellung mathematischer Modelle.

3.4.5.1. Verfolgung der Massenströme und Gesamtbilanzierung

Es stellt sich zuallererst die Frage, wie die Systemgrenzen bei der Bilanzierung gesetzt werden, beziehungsweise bis in welche Tiefe die Massenströme in ihre Komponenten aufgeschlüsselt werden sollen. Eine allzu grobe Betrachtung kann interessante Informationen verbergen, eine sehr detaillierte hingegen kann zu hohem Aufwand führen und bietet mehr Anfälligkeiten für Fehler. Es stellt sich weiter die Frage wie aussagekräftig, wie richtig, Werte einer aus detaillierten Rechnung sind, insbesondere wenn es sich um einen Prozess handelt, über den noch wenig Erfahrung gesammelt werden konnte, und bei dem gewisse Schwankungen und Fehler nicht ausgeschlossen, sondern eher erwartet werden können.

In dieser Arbeit wurde versucht, die Vorteile beider Möglichkeiten zu nutzen. Dadurch sollte sowohl eine solide Bilanz über den gesamten Vorbehandlungsprozess inklusive Aufarbeitung geschlossen werden, als auch eine möglichst gute Aufrechnung der erhaltenen Einzelkomponenten erstellt werden.

Für den einen Teil, die Bilanz über Prozess und Aufarbeitung, können die auftretenden Stoffe grob in vier Gruppen aufgeteilt werden:

- **Grobe Biomasse** Jener Teil, der weitgehend ähnliche Konsistenz und Aussehen wie das Ausgangsmaterial aufweist. Die chemische Zusammensetzung ist bei dieser Einteilung kein Kriterium. In diese Gruppe fällt der Rückstand vom Dekantieren unmittelbar nach dem Versuch, und natürlich das Ausgangsmaterial.
- **Suspendiertes** Partikel, Flocken und einige größere Biomassefragmente, die beim Dekantieren in der flüssigen Fraktion landen, aber bei der Zentrifugation abgeschieden werden.
- **Gelöstes** Hierunter Fallen alle in der Flüssigkeit gelösten Substanzen. Unter Anderem gehören die gemessenen Zucker, sowie deren Neben- und Abbauprodukte in diese Gruppe
- **Flüssigkeit** Das im Versuch verwendete Hydrolysemedium, in diesem Fall destilliertes Wasser

Auf dieser Einteilung beruhend sind die Stoffströme in Abbildung 3.16 als Sankey-Diagramm schematisch dargestellt. Demnach beginnt der Versuch mit Biomasse und Wasser. Ein gewisser Verlust bei der Befüllung und Entleerung des Reaktors ist leider unvermeidlich. Während des Versuchs werden Teile der Biomasse vom Verband gelöst



Abbildung 3.16.: Sankey-Diagramm der Massenströme in der Versuchsaufbereitung (nicht maßstabsgetreu)

und gehen in die Flüssigphase über. Dabei bleibt ein Teil als Partikel bestehen ("Suspendiertes"), der Rest geht in Lösung ("Gelöstes"). Es wird angenommen, dass sich Suspendiertes und Gelöstes gleichmäßig in der gesamten Flüssigkeit verteilen. Dies hat zur Folge, dass der grobe Rückstand nach dem Dekantieren auch Partikel und gelöste Substanzen, entsprechend seinem Feuchtegehalt enthält. Folglich enthält die flüssige Fraktion die gesamte suspendierte und gelöste Biomasse, abzüglich dem im Feuchtegehalt der Feststofffraktion gelösten beziehungsweise suspendierten Anteil.

Da, wie zuvor schon erwähnt, nach der Zentrifugation nicht die gesamte Flüssigkeit gesammelt werden konnte, muss auch im Zentrifugenrückstand neben dem ursprünglich suspendierten Material ein entsprechender Teil der gelösten Stoffe enthalten sein. Der verbleibende Teil der gelösten Stoffe befindet sich in der klaren Flüssigkeit.

Die Feststoffbilanz setzt sich nun also wie folgt zusammen

$$TS_{Einwaage} - TS_{ungelöst} - TS_{gelöst} -TS_{Verlust} - TS_{Zentrifugenverlust} = 0$$

$$(3.1)$$

Wobei die Terme dieser Bilanz folgendermaßen aus den aufgenommenen Messwerten erstellt werden:

$$TS_{Einwaage} = m_{Einwaage} * TS_{Einwaage,\%} \tag{3.2}$$

$$TS_{ungelöst} = TS_{Slurry \ dekantiert} - TS_{Liquor \ in \ Slurry} =$$

$$= m_{Slurry \ dekantiert} * TS_{Slurry \ dekantiert,\%}$$

$$- (1 - TS_{Slurry \ dekantiert,\%}) * m_{Slurry \ dekantiert} * TS_{Liquor \ nach \ Zentr.,\%}$$
(3.3)

$$TS_{gelöst} = TS_{Liquor nach Zentr.} + TS_{Liquor in Slurry} =$$

$$= m_{Liquor nach Zentr.} * TS_{Liquor nach Zentr.,\%}$$

$$+ (1 - TS_{Slurry dekantiert,\%}) * m_{Slurry dekantiert} * TS_{Liquor nach Zentr.,\%}$$

$$(3.4)$$

 $TS_{Verlust}$ und $TS_{Zentrifugenverlust}$ konnten nicht bestimmt werden, beziehungsweise wurden nicht bestimmt. Die beiden Terme werden zum Gesamtverlust zusammengefasst. Damit ergibt sich eine Gesamtwiederfindung aus den anderen drei Termen, und ein gesamter Verlust als Differenz auf die Einwaage.

$$TS_{Einwaage} = TS_{Gesamtwiederfindung} + TS_{Verlust,ges}$$
(3.5)

3.4.5.2. Erzeugte Wertstoffe und Nebenprodukte

Während die Gesamtbilanz zwar einen generellen Überblick über Vorbehandlung und Aufarbeitung verschafft, liefert sie keine Aussagen über die Qualität, d.h. die Zusammensetzung des Produkts. Schlussendlich sollte der Prozess ja, auf Basis der durchgeführten

Experimente, hinsichtlich Brauchbarkeit und in weiterer Folge hinsichtlich Wirtschaftlichkeit beurteilt werden können. Um dies tun zu können, muss bekannt sein, welche, und wie viel des jeweiligen Wertstoffs gewonnen werden konnte. Dem gegenüberzustellen sind die unerwünschten Produkte. Zwar sind bei gleichbleibenden Edukten die, per HPLC gemessenen Konzentrationen aussagekräftig, ein wertvolleres Ergebnis erhält man aber erst, wenn die Ausbeuten und Umsätze bestimmt sind.

Das Ziel der Berechnungen ist also, aus den gemessenen Konzentrationen ein Ergebnis auszuarbeiten, das angibt wie viel Prozent eines Ausgangsstoffs zu einem Wertstoff umgewandelt wurden, wie viel möglich gewesen wäre und wie viel in weiterer Folge zu Abbau- und Nebenprodukten umgewandelt wurde (siehe Kapitel 2.3.1).

Die Analyse wurde auf folgende Substanzen durchgeführt:

Untersuchte Zucker

- Glukose
- Xylose
- Arabinose
- Galaktose
- Mannose
- Cellobiose

Ausser Cellobiose wurden alle Zucker in monomerer und oligomerer bzw. verketteter Form berücksichtigt.

Neben- und Abbauprodukte

- Essigsäure
- Milchsäure
- 5-Hydroxymethylfurfural
- Furfural

Die Konzentrationen dieser Substanzen wurde wie in 3.4.1 beschrieben per HPLC ermittelt. Werden die monomeren Zucker sowie die Neben- und Abbauprodukte betrachtet, können diese ohne weitere Rechnungen auf das gewünschte Edukt bezogen werden. Jedoch bleiben die Konzentration der Wertstoffe über die Versuchsaufarbeitung nicht völlig konstant. Es gilt zwar die Annahme, dass diese sich gleichmäßig in der Flüssigkeit lösen, jedoch fließt vor der Zentrifugation immer das Gewicht der suspendierten Partikel mit ein. Man könnte dies nun vernachlässigen und die Konzentrationen auf die ursprüngliche Menge an Flüssigkeit und Biomasse beziehen um die gesamte gelöste Menge zu

bestimmen. Die zweite Variante ist, lediglich auf die zur Analyse per HPLC herangezogene Flüssigkeitsmenge zu beziehen, und dazu die im Feuchtegehalt des Slurrys gelöste Menge zu addieren. Das ist zwar umständlicher und verlustbehaftet, im Gegenzug aber ehrlicher, und wurde darum gewählt. Der Rechenweg zur Ermittlung der Ausbeute von monomeren Zuckern, sowie Neben- und Abbauprodukten ist somit:

$$Y_{i} = \left(\frac{c_{i} * m_{liquor nach Zentr.}}{m_{Edukt}} + \frac{\left(1 - (TS_{Slurry dekantiert,\%}/100)\right) * m_{Slurry dekantiert * c_{i}}}{m_{Edukt}}\right) * 100$$
(3.6)

in Gramm pro 100 Gramm Ausgangsstoff.

Der Rechenweg für die oligomeren Zucker ist etwas aufwändiger. Wie in Kapitel 3.4.1 ausgeführt, müssen die oligomeren Zucker erst in ihre Monomereinheiten aufgespalten werden, bevor sie durch die HPLC-Säule getrennt werden können. Um den eventuellen Abbau von Zuckern Rechnung zu tragen, müssen Sugar Recovery Standards angefertigt werden, die dann in die Rechnung einfließen. Weiters muss die Verdünnung vor der Hydrolyse berücksichtigt werden. Im Rechenweg muss zuerst die gemessene Konzentration (bei Mehrfachmessungen der Mittelwert dieser) gemäß Sugar Recovery Standard und Verdünnung korrigiert werden:

$$c_{i,ges,korr} = \frac{\bar{c}_{i,ges}}{SR_{i,Vx}} * f_{dilution}$$

mit der Sugar Recovery $SR_{i,Vx}$ für jede Substanz und jeden Versuch und dem Verdünnungsfaktor $f_{dilution}$. $SR_{i,Vx}$ ist der Faktor, um den die Konzentration des Zuckers *i* in einer Lösung (Probe sowie SRS) bei der Säurehydrolyse vermindert wird. Sie ergibt sich aus dem Mittel der gemessenen Zuckerkonzentration der hydrolisierten SRS beim jeweiligen Versuch Vx ($\bar{c}_{SRS,i,Vx}$) und der bekannten Zuckerkonzentration des Standards vor der Hydrolyse ($c_{SRS,i,std}$). Im Schnitt gehen etwa 16% der Zucker verloren.

$$SR_{i,Vx} = \frac{\bar{c}_{SRS,i,Vx}}{c_{SRS,i,std}} * f_{dilution} \qquad f_{dilution} = \frac{m_{Probe+S\"aure}}{m_{Probe}}$$
$$\approx \frac{V_{Probe+S\Huge{aure}}}{V_{Probe}} = \frac{11ml}{10ml} = 1, 1$$

Im Weiteren kann dann die Formel für monomere Zucker mit einer kleinen Änderung verwendet werden. Da die Messung den gesamten Zuckergehalt liefert, muss der Gehalt an Monozuckern abgezogen werden, um den Wert für Oligomere zu erhalten.

$$Y_{i,oligo} = \left(\frac{(c_{i,ges,korr} - c_i) * m_{liquor nach Zentr.}}{m_{Edukt}} + \frac{(1 - (TS_{Slurry dekantiert\%}/100)) * m_{Slurry dekantiert} * (c_{i,ges,korr} - c_i)}{m_{Edukt}}\right) * 100$$

$$(3.7)$$

3.4.5.3. Zusammensetzung des Rohstoffs

Analog zu Abschnitt 3.4.5.2 muss der Abbau der Zucker bei der Hydrolyse über die Sugar Recovery Standards korrigiert werden. Zuerst wird die Sugar Recovery $SR_{i,Roh}$ bestimmt, also wie viel des jeweiligen Zuckers nicht abgebaut wurde.

$$SR_{i,Roh} = \frac{\bar{c}_{SRS,i,Roh}}{c_{SRS,i,std}} * f_{dilution}$$

Und weiter dann die um den Abbau korrigierte Konzentration $c_{i,Roh,korr}$

$$c_{i,Roh,korr} = \frac{\bar{c}_{i,Roh}}{SR_{i,Roh}} * f_{dilution}$$

Der Anteil des jeweiligen Zuckers im Rohstoff wird dann durch Bezug auf die eingesetzte Menge an wasserfreiem Stroh und das Volumen des Hydrolisats (3ml Schwefelsäure plus 83ml Wasser, also 87ml gesamt, siehe 3.4.3) berechnet.

$$w_{i,Rohstoff,mono} = \frac{c_{i,Roh,korr} * f_{Umwandlung} * 87ml}{m_{Rohstoff} * TS_{Rohstoff}} * 100 \quad \text{als Monozucker}$$
(3.8)

bzw.

$$w_{i,Rohstoff} = \frac{c_{i,Roh,korr} * f_{Umwandlung} * 87ml}{m_{Rohstoff} * TS_{Rohstoff}} * 100 \quad \text{als Polysaccharid} \quad (3.9)$$

Der Umwandlungsfaktor $f_{Umwandlung}$ berücksichtigt dabei die Addition von Wasser an die Monomereinheiten bei der Spaltung der Polysaccharide zu Monozuckern, und beträgt für die 6-er Zucker (Glukose, Galaktose, Mannose) 0,9 und für die 5-er Zucker (Xylose, Arabinose) 0,88.

Der Acetatgehalt der Biomasse kann direkt aus der gemessenen Essigsäurekonzentration im Hydrolisat bestimmt werden. Dabei muss der Umwandlungsfaktor von Essigsäure zu Acetat (0,683, der LAP entnommen [Sluiter et al., 2008b]) berücksichtigt werden.

$$w_{Ac,Rohstoff} = \frac{c_{AcOOH,Roh} * 87ml * 0,683}{m_{Rohstoff} * TS_{Rohstoff}} * 100$$
(3.10)

3.5. Vorversuche

Zur Planung der durchzuführenden Versuche ist es vorerst nötig, sowohl den Autoklaven, als auch das Vorbehandlungsergebnis einschätzen zu können. Zu diesem Zweck wurden Vorversuche in zwei Versuchsreihen durchgeführt. Die erste sollte Informationen über die Aufheiz- und Abkühlcharakteristik, also den Verlauf der Temperatur über der Zeit, der Anlage liefern. Die zweiten Versuchsreihe hatte das Ziel, den zu untersuchenden Bereich der Betriebsbedingungen einzugrenzen. Aus den Erkenntnissen der beiden Versuchsreihen sollte dann der Plan für die eigentlichen Versuche entwickelt werden.





Abbildung 3.17.: Becherdesign

Abbildung 3.18.: Stahlbecher in natura

3.5.1. Ermittelung der Aufheizcharakteristik

Die Aufheizcharakteristik hängt klarerweise mit der Befüllung des Reaktors zusammen. Das macht es leider nötig, einige bauliche Aspekte gemeinsam mit der Temperaturcharakteristik zu behandeln.

Um das Material nach dem Versuch möglichst rückstandsfrei aus dem Reaktor wiedergewinnen zu können, wurde angedacht, die Biomasse und das Vorbehandlungsmedium – also meist eine wässrige Lösung – schon vor dem Versuch in einen geeigneten Einsatz zu füllen, und diesen dann in den Reaktor zu stecken. Durch die Geometrie des Reaktors bedingt, sollte dieser Einsatz ebenfalls zylindrischer Form sein. Um auch bei eingebautem Einsatz das Rührwerk verwenden zu können, wurde von einer verschließbaren Bauweise, beziehungsweise einem Deckel abgesehen. Um den Becher aus dem Reaktor heben zu können wurde ein Löcherpaar vorgesehen, durch welches ein Greifwerkzeug geführt, oder Schrauben eingeschraubt werden können, um den Einsatz daran zu heben. Der Entwurf und dessen Realisierung ist in Abbildung 3.17 und Abbildung 3.18 zu sehen.

Um die Auswirkungen auf den Wärmeübergang zwischen Mantel und Inhalt zu untersuchen, mussten Testversuche durchgeführt werden. Zu diesem Zweck wurde der Reaktor zwei mal, befüllt mit der gleichen Menge Wasser - einmal in einem Bechereinsatz, einmal ohne - mit dem gleichen Temperaturprogramm in Betrieb genommen. Das Testprogramm gestaltete sich wie folgt: Heizen des Mantels auf 250°C, bei Erreichen der Produkttemperatur von 200°C wird ohne Haltezeit die Kühlung eingeleitet. Dabei wurden Startzeit und der Zeitpunkt, an dem die Kühlung aktiviert wurde notiert, und durch Subtraktion der beiden die Aufheizdauer ermittelt. Die Versuche zeigten, dass der Wärmeübergang

bei Verwendung eines Stahlbechers, im Vergleich zum Aufheizen ohne Becher, stark abnahm. Durch die Verschlechterung verlängerte sich die Aufheizzeit bei einer Füllmenge von ca 500ml Wasser von ca. 45 Minuten auf ca. zweieinhalb Stunden. Diese extreme Zunahme kann auf den Spalt zwischen Becher und Reaktorwand (siehe Abbildung 3.19), in dem Luft, beziehungsweise Wasserdampf mit ihren geringen Wärmeleitfähigkeiten den Wärmeübergang behindern, zurückgeführt werden.



Abbildung 3.19.: Skizze von Reaktor und Einsatz

Folgerichtig müsste der Spalt mit einem gut wärmeleitenden Material gefüllt werden, um bei Verwendung eines Einsatzes akzeptable Aufheizdauern zu erreichen. Es wurden in der Folge verschiedene Materialien zur Verbesserung des Wärmeübergangs getestet, wobei das Temperaturprogramm (Manteltemperatur 250°C, Kammertemperatur 200°C, keine Haltezeit) beibehalten wurde. Um die Aufheizcharakteristik des Reaktors genauer zu erfassen, wurden Mantel- sowie Kammertemperatur und Druck in 10-Minutenintervallen aufgezeichnet.

Die einfachste, aber am wenigsten Erfolg versprechende, Möglichkeit besteht darin, zusätzlich zur Füllung des Bechers den Spalt mit Wasser zu auffüllen. Merkliche Erfolge konnten damit nicht erzielt werden, wie in Abbildung 3.20 zu sehen ist.





Abbildung 3.20.: Temperaturverlauf bei Befüllung des Reaktors mit 400ml Wasser einerseits, und bei Verwendung eines mit 400ml Wasser gefüllten Bechers und 100ml Wasser als Wärmeleiter zwischen Becher und Reaktorwand andererseits

Da Metalle im Allgemeinen eine gute thermische Leitfähigkeit aufweisen, lag es nahe, eines zur Verbesserung des Wärmeleitungsproblems heranzuziehen. Zur Verfügung standen Bronzekügelchen mit einem mittleren Durchmesser von etwa 100μ m. Diese wurden rund um den Becher in den Reaktor gefüllt. Die Bronzekügelchen bewirkten zwar eine deutliche Verringerung der Aufheizzeit auf etwa eine Stunde und 10 Minuten, jedoch ließ sich der Becher nach dem Versuch nicht einmal unter größter Kraftaufwendung aus dem Reaktor ziehen. Sie mussten in mühsamer Kleinarbeit aus dem Reaktor entfernt werden. Da die Kügelchen jedoch nicht zusammenklebten, wurde ein Zusammenhang mit Schmelz- oder Sintervorgängen ausgeschlossen. Eine Ursache für das "Festkleben" des Bechers im Reaktor wurde in der Wärmeausdehnung der Kugeln, bzw. des Reaktors und des Bechers, und in der Folge ein Verkeilen im Reaktor, gesehen. Zum Test wurden sowohl Reaktor und Becher auf 50° C, sowie die Bronzekügelchen seperat auf 150°C, vorgewärmt. Danach erst wurde der Reaktor mit den Bronzekügelchen befüllt, und der Versuch wie gewohnt durchgeführt. Neben dem vermehrten Aufwand zeigte sich jedoch keine Anderung. Dies ließ vermuten, dass Haft- und Reibkräfte an den Kugeloberflächen den Becher wie angeschweißt erscheinen ließen. Um diese zu minimieren, mussten möglichst große Kugeln verwendet werden. Wegen der besseren Leitfähigkeit und der Vermeidung von Schmelz- und Sintervorgängen sollten nach Möglichkeit Kügelchen aus reinem Kupfer herangezogen werden. Die Firma ECKA Granules stellte auf Anfrage 1,5kg sphärisches Kupfergranulat mit Korngrößen zwischen 315 und 630μ m zur Verfügung, von denen durch Sieben die Fraktion unter $400\mu m$ abgetrennt wurde. Der Testversuch scheiterte jedoch wiederum an den Haft- und Reibungskräften. Die einzige Möglichkeit, den Becher einfach aus dem Reaktor herauszubekommen, bestand darin, den gesamten Aufbau zu kippen, wobei sich die Kugelschüttung löste. Für eine Versuchs-

serie ist dies keine akzeptable Variante.

Weiters wurde untersucht, ob temperaturbeständiges Silikonöl als Wärmeleiter zwischen Reaktorwand und Becher verwendet werden könnte. Die Versuche zeigten, dass der Wärmeübergang bei dieser Konfiguration noch akzeptabel war. Jedoch konnte nicht vermieden werden, dass das Öl in den Becher - und damit bei Versuchen unweigerlich ins Produkt - gelangt. Der Temperaturverlauf ist in Abbildung 3.21 dargestellt.



Abbildung 3.21.: Temperaturverlauf bei Befüllung des Reaktors mit 400ml Wasser einerseits, und bei Verwendung eines mit 400ml Wasser gefüllten Bechers und Silikonöl als Wärmeleiter zwischen Becher und Reaktorwand andererseits

Nachdem all diese Varianten nicht zufriedenstellend funktionierten, musste auf die Verwendung der Stahlbecher verzichtet werden. In Folge dessen wurde ein der Reaktorgeometrie angepasster Löffel gefertigt, um Rückstände möglichst vollständig aus dem Reaktor entfernen zu können.

Um die optimale Füllmenge, also jene, bei der die Maximaltemperatur am schnellsten erreicht wird, und gleichzeitig gewährleistet wird, dass der eingesetzte Rohstoff noch von Flüssigkeit benetzt bleibt, zu finden, wurde die Füllmenge variiert und das von vorhin bekannte Testprogramm durchlaufen. Aus Abbildung 3.22 ist ersichtlich, dass sich die Aufheizdauer bei verschiedenen Füllmengen von 20 bis 850ml nicht dramatisch ändert. Zu bemerken ist, dass bei einer Befüllung mit 20ml Wasser die gesamte Menge verdampft, was sich am flacheren Druckverlauf zeigt. Weiters weisen die Versuche mit mittleren Füllmengen eine leicht kürzere Aufheizdauer auf. Darum wurde für die weiteren Versuche eine Wassermenge von 300 bis 400ml für geeignet befunden.



Abbildung 3.22.: Temperatur
verlauf bei Befüllung des Reaktors mit verschiedenen Wassermengen von 20 bis 850ml, normiert auf eine gemeins
ame Anfangstemperatur von 50°C

3.5.2. Minimierung der Abbauprodukte

Ein Ziel der Arbeit besteht darin, jene Versuchsparameter zu ermitteln, bei denen die Ausbeute an gewünschten Wertstoffen ein Maximum erreicht. Im Hinblick auf die Weiterverwendung der gewonnenen Stoffe liegt auf der Hand, dass die verschiedenen Zucker diese Wertstoffe darstellen.

Wie aus der Literatur herausgeht steigt die Ausbeute an Zuckern nicht stetig mit Temperatur und Versuchsdauer an, es zeigt sich im Gegenteil ein Maximum bei moderaten Bedingungen. Mildere Bedingungen reichen nicht aus, um die Reaktionen in Gang zu setzen die das Lösen der gewünschten Zucker im Hydrolysemedium bewirken. Bei verschärften Bedingungen schwindet die Ausbeute wiederum, weil die gelösten Zucker zu anderen Produkten weiter reagieren.

Eine hohe Ausbeute an Zuckern geht also mit einer geringen Ausbeute an Abbauund Nebenprodukten einher (siehe 2.3.1.2). Folglich müssen jene Bedingungen ermittelt werden, bei denen diese nur in geringem Ausmaß auftreten. Anders gesagt, sind die Grenzen, die einen brauchbaren Arbeitsbereich einfassen, abzustecken.

Die zur Verfügung stehende Anlage bietet mehrere Möglichkeiten zur Variation der

Versuchsbedingungen:

- Produkt- bzw. Mantel-Temperatur
- Versuchsdauer oder Haltedauer
- Rührerdrehzahl
- Füllmenge
- Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis

Von diesen Parametern wurde bei den Versuchen zur Findung des besten Wärmeübergangs einer, nämlich die Füllmenge, schon untersucht. Dabei zeigte sich, dass bei einer mittlere Füllmenge die höchsten Aufheizraten erzielt werden konnten.

3.5.3. Versuchsplan der Vorversuche

Da es sich hier um eine Reihe an Vorversuchen handelte, sollte die Anzahl an Versuchen nicht zu groß werden. Demnach wurden die zu untersuchenden Parameter etwas eingeschränkt. Die Rührerdrehzahl wurde für alle Versuche auf den gleichen Wert von $330min^{-1}$ eingestellt. Der Einfluss des Rührers wurde als binäre Größe untersucht, also ob ein Unterschied bei Verwendung des Rührers im Gegensatz zu einem Versuch ohne Rührer bemerkbar ist. Ebenso wurde die Haltedauer bei diesen Vorversuchen immer bei einer halben Stunde belassen.

Nummer	Bezeichnung	T Mantel	Verhältnis	Rühren
		in $^{\circ}C$	Feststoff:Flüssig	ja/nein
1	T250R	250	1:11	ja
2	T235	235	1:11	nein
3	T220	220	1:11	nein
4	T250	250	1:11	nein
5	T250RmF	250	1:22	ja
6	T250RwF	250	1:44	ja
7	T250wF	250	1:44	nein
8	T220wF	220	1:44	nein
9	T200R	200	1:11	ja
10	T200	200	1:11	nein
11	T210	210	1:11	nein

Tabelle 3.2.: Bedingungen der Vorversuche

Die restlichen Parameter Temperatur, Feststoff-Flüssigkeitsverhältnis, und Füllmenge variiert, wobei die Menge an Wasser gleich belassen wurde, und nur die Menge an Stroh in drei Stufen untersucht wurde. Das Feststoff zu Flüssigkeitsverhältnis von 1:11 ergab sich dadurch, dass bei deinem Verhältnis von 1:10 noch keine ausreichende Benetzung

des Strohs mit Wasser gewährleistet werden konnte. Mit einer Wassermenge von 330g und den dazugehörenden Strohmengen wurde ein Kompromiss zwischen Messgenauigkeit und Aufwand bei der Probenvorbereitung sowie Platzangebot im Reaktor, und damit verbunden der Rührbarkeit der Füllung gefunden. Die durchgeführten Versuche und die jeweiligen Bedingungen sind in Tabelle 3.2 zusammengefasst und in Abbildung 3.23 dargestellt.



Abbildung 3.23.: Graphische Darstellung der Vorversuche

3.5.4. Ergebnisse der Vorversuche

Die Proben wurden nach der unter 3.4.1 beschriebenen Methode auf Essigsäure, 5-HMF und Furfural untersucht. Als direkte Abbauprodukte der 5er- und 6er Zucker wurden Furfural und 5-HMF als Bewertungskriterien für die Versuche hergenommen. Die Messwerte wurden mit einigen Literaturstellen verglichen. Weitere Abbauprodukte wurden nicht untersucht.

Bei Furfural lag der niedrigste Wert erwartungsgemäß bei der niedrigsten Temperatur von 200°C. Von 0,33g Furfural pro 100g Biomasse bei aktiviertem Rührwerk, beziehungsweise 0,66g /100g Biomasse ohne Rühren stieg die produzierte Menge bis zu einem Maximum bei 220°, von 3,16g pro 100g bei gleicher Feststoffkonzentration, beziehungsweise auf 3,8g Furfural pro 100g Biomasse bei dem geringsten Feststoff zu Flüssigkeitsverhältnis von 1:44.

Nach erreichen des Maximums fiel die Ausbeute an Furfural bis zur höchsten Temperatur von 250°C auf etwa 2,3 - 3g Furfural pro 100g Biomasse. Abbildung 3.24 zeigt den Verlauf der Furfuralausbeute. Die Furfuralproduktion fällt in den Literaturstellen um etwa zwei Drittel geringer aus, was auf die kürzere Versuchsdauer und andere Betriebsführung des Reaktors zurückgeführt werden kann.



Abbildung 3.24.: Vorversuche: Furfural

Die Messwerte für 5-HMF zeichnen ein etwas anderes Bild (Abbildung 3.25). Auch diese Kurve ist zwar gekrümmt, jedoch wird das Maximum in dem betrachteten Messbereich nicht erreicht. Die Ausbeute an 5-Hydroxymethylfurfural beginnt bei 200°C mit 0,04g pro 100g Biomasse und steigt stetig bis zur höchsten betrachteten Temperatur (250°C) auf 0,66g pro 100g Biomasse. Im Unterschied zum Furfural wurde weit weniger HMF produziert, als in vergleichbaren Literaturstellen ausgewiesen wird. Es ist möglich, dass durch die längere Versuchsdauer schon weitere Abbauprozesse zum tragen kamen.



Abbildung 3.25.: Vorversuche: 5-Hydroxymethylfurfural

Eine Zusammenfassung der Messungen und ausgewählter Literaturstellen bietet Tabelle 3.3

Tabelle 3.3.: Abbauproduktion der Vorversuche und Vergleich mit Literaturstellen. Angegebene Temperaturen bei den Literaturstellen sind deren Produkttemperaturen, plus 20°C zur Vergleichbarkeit mit den hier verwendeten Manteltemperaturen. Die angegebenen Zeitspannen sind die Haltedauern bei Produkttemperatur

Bezeichnung	AcOOH	Furfural	5-HMF	Anmerkung
bzw. Quelle	g/1	00g Bioma	sse	U
T250R	1,93	2,23	$0,\!65$	
T235	1,74	$3,\!04$	$0,\!48$	
T220	$1,\!67$	$3,\!16$	$0,\!38$	
T250	$2,\!09$	$2,\!43$	$0,\!63$	
T250RmF	$1,\!65$	$2,\!11$	$0,\!48$	
T250RwF	$1,\!89$	$3,\!06$	$0,\!66$	
T220wF	$1,\!56$	$_{3,8}$	$0,\!49$	
T200R	$1,\!08$	$0,\!33$	$0,\!04$	
T200	$1,\!14$	$0,\!66$	$0,\!04$	
T210	$1,\!38$	$1,\!8$	$0,\!14$	
Cara et al. [2007]		$1,\!2$	1	10 min bei 220°C
Cara et al. [2007]		$1,\!6$	$1,\!4$	10 min bei 230°C
Negro et al. [2003]		$2,\!38$	$0,\!93$	0 min bei 250°C
Negro et al. [2003]		0,03	$0,\!01$	0 min bei 200°C
Ballesteros et al. [2002]		0,026	0,2	4 min bei 200°C
Ballesteros et al. [2002]		0,34	$_{0,5}$	4 min bei 250°C

3.5.5. Schlussfolgerung

Betrachtet man die Ausbeute von Furfural und 5-HMF in Abhängigkeit von der Temperatur, fällt auf, dass das Maximum für Furfural schon überschritten wurde, und die Produktion von 5-HMF noch immer ansteigt. Da bei LHW Vorbehandlung vorrangig Xylose in Lösung gehen soll, und Furfural bei geeigneten Bedingungen daraus gebildet wird, ist erhöhte Bildung von Furfural nach Möglichkeit zu vermeiden. Bei den nachfolgenden Versuchen sollte daher die Obergrenze der Temperatur maximal bei 220-230°C im Reaktormantel liegen. Eine Untergrenze kann mit diesem Versuch nicht bestimmt werden, denn eine Produktion von 0 Furfural bedeutet nicht gleich, dass die maximal mögliche Menge Xylose im Hydrolysemedium gelöst wird. Da bei der geringsten, in den Vorversuchen betrachteten Manteltemperatur von 200°C noch Furfural und 5-HMF gebildet werden, wäre es nicht sinnvoll, diese als Untergrenze für einen zukünftigen Versuchsplan zu wählen.

3.6. Erstellung des Versuchsplans der finalen Versuchsreihe

Die Wahl der Parameter für die einzelnen Versuche der endgültigen Versuchsreihe sollte zwei Punkte berücksichtigen, nämlich: Erstens sollten die Versuche untereinander vergleichbar sein, und zweitens sollte die Wahl der Punkte ermöglichen, aussagekräftige

Modelle über die Auswirkungen der Versuchsparameter Temperatur und Zeit zu erstellen. Und natürlich sollten diese beiden Ziele mit möglichst wenig Versuchen realisiert werden. Grund genug, der Versuchsplanung einen höheren Stellenwert einzuberaumen.

Nachdem der Einfluss der Parameter Temperatur und Zeit auf die Produktion verschiedener Stoffe untersucht werden soll, lässt sich die Sache im dreidimensionalen Raum so darstellen: Temperatur und Zeit spannen in der Ebene den Versuchsbereich auf, in welcher die Versuche als Punkte liegen. Die beim jeweiligen Versuch erzielte Ausbeute kann dann entsprechend senkrecht zur Ebene aufgetragen werden. Werden die Ergebnisse einer ganzen Versuchsreihe in ein solches Diagramm eingetragen, kann über diese Punkte eine statistische Auswertung durchgeführt werden, die über Grad und Art der Einflüsse Auskunft gibt.

In der Versuchsplanung ("Design of Experiments", DoE) gibt es mehrere Möglichkeiten der Anordung von Versuchen (Design Points) für verschiedene Anwendungsfälle. Einige davon sind

- Full Factorial Design Alle Kombinationen der betrachteten (zweistufigen) Faktoren werden in der Versuchsserie durchgeführt. Es können viele Faktoren untersucht werden, jedoch ist die Auswertung auf lineare Zusammenhänge beschränkt. Im Gegensatz zu Fractional Designs können jedoch auch alle Wechselwirkungen berechnet werden.
- **Fractional Factorial Design** Ähnlich dem Full Factorial Design, nur wird ein Teil der Versuche weggelassen. Dadurch wird zwar der experimentelle Aufwand vermindert, jedoch verliert die Auswertung an Aussagekraft, da Wechselwirkungen höherer Ordnung mit anderen Effekten und dem Fehler vermengt werden. Diese Art von Design eignet sich gut, um aus vielen Faktoren die wichtigsten herauszufiltern.
- **Central Composite Design** Hier werden zu einem Factorial Design ausserhalb liegende Sternpunkte, und ein innerhalb liegenden Central Point addiert. Dadurch können nichtlineare Abhängigkeiten erfasst werden.

Bei den, im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen wurde von Vornherein nichtlineares Verhalten erwartet, was auch in den Vorversuchen bestätigt wurde. Somit schieden alle Arten von zweistufigen Versuchsplänen aus. Ein Central Composite Design wurde für geeignet befunden, die gewünschten Informationen über das System zu erhalten.

3.6.1. Central Composite Design

Ein Central Composite Design setzt sich, wie oben schon erwähnt, aus einem Factorial Design, mit den kodierten Höchst- und Tiefstwerten +1/-1, und zusätzlichen Sternpunkten (kodiert $+\alpha/-\alpha$) und Central Point (0), in der Mitte der Bereiche aller Faktoren, zusammen (siehe Abbildung 3.26. Der Central Point wird üblicherweise mehrfach realisiert, um den Fehler des Systems ermitteln zu können.

Die Werte +1, -1, $+\alpha$, $-\alpha$ nennt man "kodierte" Werte, sie bezeichnen die Stufen der Einflussgrößen. Das heisst -1 und +1 stehen für Tiefst- beziehungsweise Höchstwert des



Abbildung 3.26.: Central Composite Design

zugrunde liegenden Factorial Designs, und $-\alpha$ und $+\alpha$ die ausserhalb des Factorial Designs liegenden Sternpunkte, und 0 steht für den zentralen Versuchspunkt. Die Vorzeichen - und + bedeuten keinesfalls, dass die Einflussgrößen negative Werte einnehmen müssen, jedoch sollen die Relationen der realen Werte gleich denen der kodierten sein. Beispiel: wird der untersuchte Temperaturbereich mit $-1 = 0^{\circ}$ C bis $+1 = 20^{\circ}$ C eingeschränkt (also kodiert $0 = 10^{\circ}$ C), ergibt sich daraus bei einem kodierten $|\alpha| = 1,414$ ein realer Wert von $+\alpha = 1,414 * (20/2) + 10 = 24,14$. Diese Relationen sind von der Anzahl der Einflussgrößen abhängig und sollten für eine robuste Auswertung bestimmte Werte einnehmen (bei 2 Faktoren beträgt dieser Wert $\sqrt{2}$).

Central Composite Designs sind dafür gedacht, die realen Gegebenheiten nach einer ANOVA in einem quadratischen Modell der Form

$$Y = a_0 + \sum a_i X_i + \sum b_{ij} X_i X_j + \sum c_i X_i^2 + \varepsilon_0$$

abzubilden. Dabei sind X_i die unabhängigen Einflussgrößen, a_i die Linearfaktoren, b_{ij} die Wechsselwirkungsterme zwischen je zwei Einflussgrößen, c_i die quadratischen Anteile und ε_0 ein Fehlerterm (siehe Abschnitt 2.4).

Sollte kein quadratisches Modell (beziehungsweise lineares Modell wenn $b_{ij} = c_i = 0$) zufriedenstellend sein, besteht die Möglichkeit, die Messwerte Y zu transformieren, und die ANOVA auf die transformierten Werte anzuwenden (siehe auch Abschnitt 2.4.2.1).

3.6.2. Festlegung der Parameter

Relativ problemlos gestaltete sich die Festlegung der Einstellungsstufen für die Temperatur. Bei den Vorversuchen in Kapitel 3.5.2 zeigte sich, dass der Temperaturbereich über einer Manteltemperatur von 220-230°C nicht für die weiteren Versuche geeignet ist, da sich dabei zu viel Furfural bildete. Zieht man davon die übliche Temperaturdifferenz zwischen Mantel und Produkt von etwa 20°C ab, ergibt sich ein oberer Grenzwert für das zugrundeliegende Factorial Design von 200°C Produkttemperatur.

Die untere Grenze für die Temperatur konnte nicht mittels der durchgeführten Vorversuche gewählt werden. Stattdessen musste ein Wert gefunden werden, der einen Kompromiss aus Auflösung des Messbereichs, Schwankungsresistenz und möglichst der Erfassung des gesamten Bereichs der Zuckerentstehung bietet. 170°C Produkttemperatur wurden als Untergrenze für sinnvoll erachtet. Daraus ergibt sich für die Temperatur eine Staf-

felung von $164/170/185/200/206^{\circ}$ C. Kodierte und reale Werte sind nochmals in Tabelle 3.4 aufgelistst.

Tabelle 3.4.: Kodierte und reale	Temperaturwerte (gerundet)
----------------------------------	-------------------	----------	---

kodiert	real
$+\alpha$	$206 \ ^{\circ}\mathrm{C}$
+1	200 °C
0	185 °C
-1	170 $^{\circ}\mathrm{C}$
-α	$164 \ ^{\circ}\mathrm{C}$

Die Abstufung der Versuchsdauer gestaltete sich etwas aufwändiger. Das Problem gestaltete sich darin, dass die Versuche untereinander vergleichbar sein sollen. Die Regelung des Autoklaven ermöglichte es eben nicht, die gewünschte Produkttemperatur zu halten (Temperaturverlauf siehe Abbildung 3.6 aus Kapitel 3.1.1). Wenn nun die Haltezeit als Einflussgröße in den Versuchsplan aufgenommen wird, wird die Kammertemperatur den angegebenen Sollwert je nach Dauer mehr oder weniger weit überschreiten, und die im Versuchsplan angegebene Temperatur kann nicht mehr als für den Versuch repräsentativ angesehen werden. Wenn man die Manteltemperatur so anpasst, dass die Kammertemperatur nach dem Erreichen des Sollwerts nicht mehr stark steigt, wird durch die verringerte Temperaturdifferenz die Aufheizdauer stark verlängert. Die Folge ist, dass auch relativ große Haltezeiten von etwa einer Stunde gegenüber der Aufheizzeit an Bedeutung für den Versuch verlieren, da die Überwindung der letzten Grade verhältnismäßig viel Zeit in Anspruch nimmt, in der die Reaktionen schon fast auf dem Niveau der Solltemperatur laufen. Die Reaktionen während der Halteperiode hätte dann also wenig Anteil an der gesamten Ausbeute. Da also die Haltezeit in dieser Form nicht geeignet ist, als Einflussfaktor herzuhalten, wurde die gesamte Versuchsdauer als Parameter gewählt. Diese enthält Neben der Haltedauer auch Aufheiz- und Abkühlphase.

Damit die Temperatur für alle Versuche auf einer Stufe repräsentativ ist, erschien es sinnvoll, dass die Temperatur kurz vor Versuchsende bei dem Versuch mit der niedrigsten Versuchsdauer leicht unter dem Sollwert, und bei dem Versuch mit der längsten Versuchsdauer leicht darüber liegt. Nun musste der Versuchsplan noch in das Zeit-Temperatur Aufheizcharakteristiken des Autoklaven eingepasst werden. Zu diesem Zweck wurden für alle Temperaturstufen des Versuchsplans aufgenommen um einen Bereich zu finden, in dem der Temperaturanstieg nicht besonders groß, und die Versuchsdauer noch nicht zu lange war. Danach wurde eine "Haltedauer" bestimmt, die einerseits im Vergleich zur Aufheizdauer noch repräsentativ war, aber in welcher die Temperatur bei den späteren Versuchspunkten noch nicht zu viel über den Sollwert gestiegen war. Diese Begrenzungen wurden vorerst als $+\alpha$ und $-\alpha$ Stufen gewählt und daraus die Werte für die ± 1 und 0 bestimmt. Nach einigem Nachjustieren und Runden auf "schöne" Werte ergab sich die Staffelung für die Versuchsdauer von 60/66/81/96/102 Minuten. Kodierte und reale Werte sind nochmals in Tabelle 3.5 aufgelistet.

Tabelle 3.5.: Kodierte und reale Versuchsdauern (gerundet)

kodiert	real
$+\alpha$	$102 \min$
+1	$96 \min$
0	$81 \min$
-1	$66 \min$
- α	$60 \min$

3.6.3. Verwendeter Versuchsplan

Aus den gewählten Staffelungen für Temperatur und Versuchsdauer wurde ein Central Composite Design wie in Abbildung 3.26 erstellt werden. Die Versuchsplanung und Auswertung wurde mittels des Programms "Design Expert 6[©]" durchgeführt. Bei der Erstellung des Versuchsplans hilft Design-Expert insofern, dass es Ausgehend von den ± 1 oder $\pm \alpha$ automatisch die anderen Werte berechnet. Weiters automatisiert das Program die Randomisierung und Blockbildung der Versuchsreihenfolge. Neben der Eingabe der ± 1 Stufen und der Wahl von $|\alpha|$ wurde die Anzahl der Wiederholungen des Centerpoint Versuchs (Stufe "0") auf 5 belassen (Voreinstellung) und der endültige Versuchsplan (siehe Tabelle 3.6) erstellt.

Faktor 2	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 1		
Versuchsdauer	Temperatur	Versuchsdauer	Temperatur	Run	Versuchsnr.
odiert	ko	\min	$^{\circ}\mathrm{C}$		
0	0	81	185	1	11
$+\alpha$	0	102	185	2	8
0	$+\alpha$	81	206	3	6
+1	-1	96	170	4	3
-1	-1	66	170	5	1
$-\alpha$	0	60	185	6	7
0	0	81	185	7	10
0	0	81	185	8	13
0	0	81	185	9	9
0	$-\alpha$	81	164	10	5
0	0	81	185	11	12
+1	+1	96	200	12	4
-1	+1	66	200	13	2

Tabelle 3.6.: Versuchsplan
4. Ergebnisse

4.1. Rohstoff

Das verwendete Weizenstroh hatte einen Trockensubstanzanteil von etwa 91%. Die wasserfreie Biomasse setzte sich aus 24,9% Glucan, 25,2% Xylan, 12,5% Arabinan, 14,5% Mannan, 12% Galactan sowie unbestimmten Gehalten an Lignin, Asche und Extraktstoffen zusammen. Der Acetatanteil betrug 0,1

Im Vergleich zeigt sich, dass die gemessene Zusammensetzung von der in zuvor genannter Literatur abweicht (siehe Tabelle 4.1). Der Gehalt an Hemizellulosenzucker (Anteile von Xylan, Arabinan, Mannan und Galactan summiert) beträgt das Dreifache von üblichen Werten. Weiters bleiben nur etwa 10% für den Gehalt an Lignin, Asche und Extraktstoffen, was nicht korrekt sein kann.

	0				
Quelle	Mosier et al.	Carvalheiro	Kabel et al.	Nabarlatz	Analyse
	[2005]	et al. [2009]	[2007]	et al. [2007]	
Glucan	38,2	$38,9 \pm 0,2$	31	$28,4 \pm 4,2$	24,9
(Zellulose)					
Xylan	21,2	23,5	24,2	22,5	64,2
(Hemizellulose)					
Lignin	23,4	$18,0\ \pm 0,5$	25	$15,9\ \pm0,3$	
Asche		$9,70 \pm 0.03$		$6,39 \pm 0,04$	
Extraktstoffe		$4,5 \pm 0,5$, ,	

Tabelle 4.1.: Zusammensetzung von Weizenstroh laut verschiedenen Literaturstellen, in %

4.2. Versuche

Um aussagekräftige Daten zu gewinnen, wurden die mittels HPLC bestimmten Konzentrationen an gelösten Stoffen auf das jeweilige Edukt im Rohmaterial bezogen. Anders ausgedrückt, wurden die Umsätze der Ausgangsstoffe bestimmt. Eine Zusammenstellung dieser Ergebnisse Tabelle 4.2 zu finden.

Die Cellulose wurde über alle Versuche gemittelt zu ca. 1% als Monomer Glukose aus dem Verbund gelöst. Die Werte reichten dabei von 0% bei 164°C und 81 Minuten und 1,9% bei 200°C und 81 Minuten Versuchsdauer. Als Oligomer wurde weit mehr Cellulose frei. Minimal 3,5% und maximal 11,2%, im Mittel 6,6% der im Rohstoff enthaltenen 6-er Zucker fanden sich als oligomere Glukose im Hydrolysemedium wieder.

Aus gemittelt 0,12% der 6er-Zucker Glucan, Mannose und Galactose bildetete sich 5-Hydroxymethylfurfural (HMF). Bei 206°C, der höchsten Temperatur, und 81 Minu-

4. Ergebnisse

ten wurde der höchste Anteil (0,7%) der Zucker umgewandelt, bei den Versuchen mit "milderen" Bedingungen konnte die Bildung von HMF nicht gemessen werden.

Im Mittel wurden 2,4% des in der Hemizellulose enthaltenen Xylans zu monomerer Xylose umgewandelt. Das Maximum lag dabei bei 7,6% bei 185°C und 102 Minuten, bei zwei milden Bedingungen konnte keine monomere Xylose gemessen werden. Als Oligomer wurden durchschnittlich ca. 25,3% gelöst, maximal 37,6% bei einem Centerpoint Versuch (185°C, 81 Minuten), und minimal 1,6% bei 206°C und 81 Minuten.

Furfural wurde aus bis zu 10,1% der 5er-Zucker Xylan und Arabinan gebildet. Das Mittel lag dabei bei 2,2%. Die maximale Menge fällt dabei erwartungsgemäß mit der minimal gemessenen Menge an Xylose zusammen.

Gravimetrisch wurden durchschnittlich 97,7% der eingesetzten Trockensubstanz wiedergefunden, davon entfielen 23,4% auf den in Flüssigkeit gelösten, nicht suspendierten und 74,3% auf den ungelösten Anteil (siehe Kapitel 3.4.5.1).

Auffallend sind eine Reihe offensichtlich zu hoher, beziehungsweise zu niedriger Werte. Wie bereits bei den Messverfahren in Kapitel 3.4.2 erwähnt, ist die Trockensubstanzbestimmung mit einiger Unsicherheit behaftet, woraus sich Werte über 100% Wiederfindung erklären lassen. Zu klein fallen hingegen mehrere Werte beim Umsatz der Oligozucker aus, denn einen Negativen Umsatz kann es nicht geben. Die negativen Werte entstehen bei der Subtraktion der Konzentration an Monozuckern vor der Säurehydrolyse von der Gesamtzuckerkonzentration danach, und ist am wahrscheinlichsten auf eine unzureichende Berücksichtigung des Zuckerabbaus (durch Sugar Recovery Standards) zurückzuführen.

		$Galaktose \frac{\sigma}{100\sigma}$	5/ 1008	1,399	2,217	10,952	14,396	6,416	9,297	8,051	8,831	9,86	1,258	1,233	1,211	1,455	.odukt ¹	HMF	$\mathrm{g}/100\mathrm{g}$	0,7	0,58	n.m.	0,18	n.m.	n.m.	0,02	0,03	0,08	0,01	0,03	n.m.	n.m.	n Rohstoff
	ist ¹	Mannose $\sigma/100\sigma$	5/ 1005 1 01	1,84	2,26	n.m.	n.m.	n.m.	1,62	n.m.	n.m.	n.m.	0,62	2,37	1,81	1,09	zu Abbaupr	$\operatorname{Furfural}$	m g/100g	10,14	9,58	1,34	3,54	n.m.	n.m.	1,13	1,22	1,09	0,26	0,71	n.m.	n.m.	. wasserfreie
	nozucker gelö	$\operatorname{Arabinose}_{\sigma/100\sigma}$	8/ 1008	U, 89	0,84	3,01	2,54	4,51	5,53	3,44	3,33	3,1	3,08	0,54	3,12	3,55	% Edukt	$A_{c}OOH$	$\mathrm{g}/100\mathrm{g}$	100,84	115,86	72,81	74,94	74,83	57,18	43,66	73, 79	60,15	50,44	51, 36	40,46	48,45	behandelten
,	Moi	${ m Xylose}_{\sigma/100\sigma}$	8/ 1008 1 61	4,01	5,96	2,27	7,56	1,53	2,53	1,52	2,03	2,16	0,3	0,49	n.m.	n.m.		Galaktose	$\mathrm{g}/100\mathrm{g}$	0,16	-0,84	-6,24	-10,33	-3,99	-2,79	-4,21	-5,94	-1,66	4,95	4,77	3,08	3,52	stoffes im ur
		Glucose α /100 σ	8/ 1008 1 56	1,30	1,41	1,93	0,83	1,13	1,54	1,42	1,43	1,75	n.m.	0,3	0,1	n.m.	1	Mannose	m g/100g	1,93	1,02	3,45	3,72	1,76	2,69	2,87	1,16	2,88	1,89	-1,16	-0,28	0,07	an Auseanes
2	S	TS gesamt ~/100° TS	5/ TOUS TO	(9,40	81,57	106,55	104,3	104, 19	103,61	107,74	98,41	97,57	106,61	107,75	95,22	77,57	zucker gelöst	$\operatorname{Arabinose}$	$\mathrm{g}/100\mathrm{g}$	-0,21	-0,22	4,88	1,79	3,04	5,15	3,68	2,66	3,46	9,11	13, 32	4,85	5,87	des ieweili <i>g</i> e
	ederfindung T	ΓS ungelöst α/100α TS	CT 2007/2	00,39	57,51	80,73	78,41	80,50	74,57	73,68	72,78	71,08	87,52	86,38	81,13	61, 33	Oligoz	Xylose	$\mathrm{g}/100\mathrm{g}$	1,57	2,45	36,04	30,57	37, 34	36,15	35,24	32,58	37,59	31,08	29,58	7,71	11,27	uf den Gehalt
0	Wie	TS gelöst 7 ~/100 TS	5/ TUUS IN	CU, 81	24,05	25,82	25,89	23,7	29,04	34,06	25,63	26,48	19,08	21,37	14,08	16,24		Glucose	m g/100g	3,49	5,77	7,66	8,55	5,79	6,3	11,23	5,55	5,15	7,19	6,77	4,06	7,76	1: bezogen a
.: Ergebnisse		gungen	01	uim 18	$96 { m min}$	$66 \min$	$102 \min$	$81 \min$	$81 \min$	81 min	$81 \min$	$81 \min$	60 min	96 min	66 min	$81 \min$		gungen		81 min	$96 \min$	66 min	$102 \min$	$81 \min$	$81 \min$	$81 \min$	$81 \min$	$81 \min$	60 min	$96 \min$	66 min	$81 \min$	tht messbar.
Tabelle 4.2		$\operatorname{Bedin}_{}$		200 2	200 °C	200 °C	$185~^{\circ}C$	170 °C	170 °C	164 °C		Beding		206 °C	$200 \ ^{\circ}C$	$200 ^{\circ}\text{C}$	$185~^{\circ}C$	$185 ^{\circ}\mathrm{C}$	$185~^{\circ}C$	$185~^{\circ}C$	$185~^{\circ}C$	$185~^{\circ}C$	$185~^{\circ}C$	170 °C	170 °C	$164~^{\circ}C$	n.m.: nic						

4. Ergebnisse

63

Die Diskussion stellt in dieser Arbeit eine Auswertung der Versuchsergebnisse dar. Für die Ausbeuten der Hauptkomponenten Glukose und Xylose, deren Abbauprodukte HMF und Furfural, sowie die aus den Acetatgruppen gebildete Essigsäure werden mittels ANO-VA statistische Modelle erstellt. Die Wortwahl "Ausbeute" ist insofern problematisch, als sie nahelegt dass es sich beim betrachteten Stoff um ein Wunschprodukt handelt, was lediglich bei der Xylose der Fall ist. Ich weise hiermit darauf hin, dass der Begriff Ausbeute aufgrund der verwendeten Formeln geführt wird. Die Grundlage zur Berechnung der Zuckerausbeuten wurde der korrespondierende Zucker im Rohstoff - als Monomer - herangezogen. Bei den Abbauprodukten Furfural und HMF wurden der gesamte Anteil von C5- bzw. C6-Zuckern im Rohstoff verwendet. Die gebildete Essigsäure wurde auf den Acetatgehalt, umgerechnet auf Essigsäure, bezogen. Die Formel zur Berechnung der Ausbeute kann bei gleichen Molmassen von Produkt und Edukt und äquimolarer Reaktion in folgender Form verwendet werden:

$$Y_{Produkt} = \frac{m_{Produkt} - m_{Produkt,0}}{m_{Edukt}}$$
(5.1)

Die Modelle sollen sowohl Auskunft über den Einfluss von Temperatur und Zeit auf den Umsatz geben, als auch für die Planung von zukünftigen Projekten herangezogen werden können. Die Abhängigkeiten der übrigen Zucker und Abbauprodukte wurden nicht modelliert. Weiters soll neben dieser getrennnten Betrachtung der beiden Einflussgrößen ein gemeinsamer Parameter, der sogenannte "Severity Factor" auf seine Aussagekraft untersucht werden.

5.1. Modellbildung

Die Varianzanalyse und Modellbildung wurde mit Hilfe des Programms "Design-Expert 6" realisiert. Nach der Eingabe der Versuchsergebnisse konnte für die jeweilige Zielgröße (Response) das gewünschte Modell spezifiziert und aufgrund dessen eine Varianzanalyse erstellt werden. Es wurden mehrere Kennzahlen und Diagramme zur Bewertung des Modells herangezogen(siehe Kapitel 2.4):

- Bestimm
theitsmaß \mathbb{R}^2 und dessen Abwandlungen
- Lack of Fit
- Signifikanz des Modells und seiner Terme

- Wahrscheinlichkeitsnetz (Q-Q Plot) für die Residuen
- Vergleich von Modellwert und Messwert (Predicted vs. Actual)

War das Modell nicht zufriedenstellend, oder konnte es wesentlich verbessert werden, so wurde es entweder verändert (durch Reduzierung der Modellordnung bzw. Entfernung von insignifikanten Termen) oder die zugrundeliegenden Werte (die Ergebnisse der Versuche; Responses) einer geeigneten Transformation unterzogen (siehe Abbildung 5.1). Auf die transformierten Werte konnte manchmal ein besser passendes Modell angewandt werden, als auf die nicht transformierten. Vorschläge für eine solche Transformation lieferte Design Expert mit dem "Box-Cox"-Plot (z.B. Potenz, Logarithmus oder Kehrwert). Eine Transformation wurde jedoch nur angewendet, wenn sich dadurch eine wesentliche Verbesserung des Modells, also ein wesentlich höherer R^2 oder ein insignifikanter Lack of Fit einstellte.



Abbildung 5.1.: Transformation von Versuchsdaten

Im Folgenden wird die Modellbildung zu den genannten Stoffen, sowie Erläuterungen und Bewertungen dazu diskutiert.

Monomere Xylose löste sich erwartungsgemäß mit steigender Temperatur und längerer Verweildauer vermehrt aus dem Rohmaterial. Das Maximum wurde im betrachteten Bereich nicht erreicht. Das Modell wird in Abbildung 5.2 graphisch dargestellt.



Abbildung 5.2.: 3D-Plot des Modells für die Xyloseausbeute

Der Verlauf der Fläche deutet jedoch an, dass dieses eher in Richtung steigender Versuchsdauer zu finden ist, denn der Verlauf der Höhenlinien in Temperatur-Achsenrichtung deutet auf baldiges erreichen des Maximums. Die Rohdaten wurden in diesem Fall transformiert (logarithmiert), um ein mögllichst gutes Modell zu erhalten. Der quadratische Term der Versuchsdauer war nicht signifikant, und wurde aus dem Modell entfernt. Damit konnte ein korrigierter R^2 von 0,97 erreicht werden. Die Gleichung für die Ausbeute an monomerer Xylose aus Xylan lautet damit:

$$Y_{Xylose} = 10^{-58,4+0,527*T+0,121*t-1,2*10^{-3}*T^2-5,14*10^{-4}*T*t} - 0,0756$$

Es folgt die Gegenüberstellung von Modell- und experimentellen Werten in Abbildung 5.3.



Abbildung 5.3.: Modellwerte (Predicted) für Xylose gegen experimentelle Werte (Actual) (transformierte Response Werte)

Oligomere Xylose wurde zu einem viel größeren Ausmaß als das Monomer gebildet. Im Gegensatz zu diesem zeigt sich aber ein deutlicher Abfall an Produkt, wenn Temperatur und Versuchsdauer steigen, was auf einen Abbau zu Furfural oder Monomereinheiten schließen lässt. Der größte Teil davon dürfte auf die Produktion von Furfural entfallen, da die steigende Bildung von monomerer Xylose bei weitem nicht in dem Ausmaß des Abbaus festgestellt wurde. Der Verlauf deutet an, dass hier eine Auswertung über den Severity Factor sinnvoll sein kann, da die gelöste Menge anscheinend bei einem gewissen Verhältnis der Faktoren Temperatur und Zeit besonders hoch ist. Die beste Wiedergabe der experimentell ermittelten Werte lieferte ein vollständiges quadratisches Modell bei einem korrigierten R^2 von 0,96. Eine Transformation der Versuchsdaten war in diesem Fall nicht nötig. Das Modell zur Ausbeute von als oligomerer Xylose gelöstem Xylan lautet:

 $Y_{oligo-Xyose} = -3150 + 28,9 * T + 13,0 * t - 0,0649 * T^{2} - 0,0107 * t^{2} - 0,0616 * T * t^{2} - 0,0616 *$

Das Modell ist in Abbildung 5.4 dargestellt, die Gegenüberstellung von Modell- und experimentellen Werten liefert Abbildung 5.5.





Abbildung 5.4.: 3D-Plot des Modells für die Ausbeute an oligomerer Xylose



Abbildung 5.5.: Modellwerte (Predicted) für Oligoxylose gegen experimentelle Werte (Actual)

Glukose zeigte wie die Xylose das Verhalten, vermehrt als Oligomer in Lösung zu gehen. Dem Modell zufolge wurde mit dem Versuchsplan zeitmäßig der für die Glukoseproduktion relevante Bereich erfasst. Die maximal gelöste Menge ist jedoch bei über den Versuchsplan hinausgehenden, höheren Temperaturen zu erwarten (siehe Abbildung 5.6). Das Modell weist kleinere Unzulänglichkeiten auf. R^2 beträgt etwa 0,85 und das korrigierte R^2 0,77. Besonders das vorhergesagte R^2 von 0,42 spricht nicht für das Modell. Dies wird deutlich, wenn man die experimentellen gegen die vom Modell berechneten Werte aufträgt (siehe Abbildung 5.7). Die Punkte sind zum Teil recht weit von der 45° Geraden entfernt. Auch durch Transformation der Versuchsdaten konnte keine wesentliche Verbesserung des Modells erzielt werden. Die Entfernung des nicht signifikanten Wechselwirkungsterms aus dem Modell bewirkte eine leichte Verbesserung der R^2 Werte. Die Modellgleichung für die Ausbeute an monomerer Glukose lautet:



$$Y_{Glucose} = -58.0 + 0.457 * T + 0.319 * t - 1.12 * 10^{-3} * T^2 - 1.93 * 10^{-3} * t^2$$

Abbildung 5.6.: 3D-Plot des Modells für die Ausbeute an monomerer Glukose



Abbildung 5.7.: Modellwerte (Predicted) für Ausbeute an oligomerer Glukose gegen experimentelle Werte (Actual)

Oligomere Glukose wurde zwar über alle Versuche stärker aus der Cellulose herausgelöst als die Monomere, leider war es nicht möglich, ein zufriedenstellendes Modell zu erstellen. Es konnte kein Modell spezifiziert werden, welches ein zufriedenstellendes R^2 geschweige denn signifikante Modellterme aufwies. Jegliche Transformation der Versuchsdaten erwies sich als nutzlos. Die einzige Information, die aus den Daten geholt werden konnte, waren der Mittelwert von 6,56 g/100g und die Standardabweichung von 2,02 g/100g. Dass die Beschränkung auf den Mittelwert in Ordnung ist wird vom Residuenplot in Abbildung 5.8 bestätigt. Die Abstände der Messwerte vom Mittelwert liegen in etwa auf einer Geraden, sie liegen also einer Normalverteilung zugrunde, und es besteht kein ausgeprägter Trend im untersuchten Bereich.



Abbildung 5.8.: Q-Q Plot der Residuen des Modells für die Ausbeute an oligomerer Glukose

Acetat der Hemizellulose wird während der Versuche freigesetzt und als Essigsäure gelöst. Der Umsatz nimmt dabei mit steigender Temperatur und Dauer zu. Das geeigneteste Modell, um den Einfluss von Temperatur und Dauer auf die Bildung von Essigsäure zu beschreiben, ist laut ANOVA linear (siehe Abbildung 5.9), und hat die folgende Gleichung:

$$Y_{AcOOH} = -257 + 1,42 * T + 0,739 * t$$

Obwohl das lineare Modell die beste Lösung darstellt, beträgt der korrigierte R^2 nur 0,73. Dass die experimentell gewonnenen Daten durch das Modell nicht allzu gut beschrieben werden zeigt auch die Gegenüberstellung von Modell- und experimentellen Werten in Abbildung 5.10. Die Punkte liegen zwar nicht streng auf einer 45° Geraden, aber es lässt sich auch kein ausgeprägter Trend erkennen. Der Residuenplot in Abbildung 5.11 bestätigt, dass die Residuen etwa normalverteilt um die lineare Regression verteilt sind.

5. Diskussion der Ergebnisse und statistische Auswertung



Abbildung 5.9.: 3D-Plot des Modells für die Ausbeute Essigsäure



Abbildung 5.10.: Modellwerte (Predicted) für Ausbeute an oligomerer Glukose gegen experimentelle Werte (Actual)



Abbildung 5.11.: Q-Q Plot der Residuen des Modells für Essigsäureausbeute

5-HMF wird erst bei hohen Temperaturen und Verweildauern in größerem Ausmaß gebildet, wie man in Abbildung 5.12 sieht. Die Auswertung für HMF ist mit Vorsicht zu genießen. Ohne Transformation der Versuchsdaten ist der "Lack of Fit" signifikant, d.h. das berechneten Modellwerte liegen zu weit von den experimentell gewonnenen Daten entfernt, um eine Nachbildung der realen Gegebenheiten annehmen zu können. Die von Design-Expert vorgeschlagene Logarithmierung der Rohdaten hat zwar mit einem linearen Modell insignifikanten Lack of Fit zur Folge, jedoch verschlechtert sich der korrigierte R^2 von 0,86 auf 0,58, liegt aber dabei in besserer Übereinstimmung mit dem "vorhergesagten" R^2 von 0,41. Laut Modell folgt die Ausbeute von HMF aus den 6er-Zuckern der Biomasse nach der Formel

$$Y_{HMF} = 10^{-10,5+0,0335*T+0,0352*t} - 0,007$$

Die graphische Darstellung dieses Verlaufs ist in Abbildung 5.12 gezeigt. Wie ungenau das berechnete Modell ist, ist in den Abbildungen 5.13 und 5.14 erkennbar. In der Gegenüberstellung von Modell und Versuchsdaten streuen die Punkte in einem relativ großem Bereich um die 45°-Gerade, und weiters zeigt der Residuenplot, dass die Residuen teilweise doch stark von einer Normalverteilung abweichen. Möglich wäre, dass bei den geringen 5-HMF Konzentrationen (Daten nicht in dieser Arbeit) in den Proben die Messfehler der HPLC und Ungenauigkeiten bei der Peakerkennung deutlichen Beitrag zu den Messwerten lieferten. Diese Schwankungen hätten dann starken Einfluss auf die Modellierung und Qualität der Modelle.



Abbildung 5.12.: 3D-Plot des Modells für HMF-Ausbeute



Abbildung 5.13.: Modellwerte (Predicted) für HMF-Ausbeute gegen experimentelle Werte (Actual) (transformierte Werte)



Abbildung 5.14.: Q-Q Plot der Residuen des Modells für HMF-Ausbeute

Furfural wird ähnlich wie 5-HMF bei höheren Temperaturen und Versuchsdauern gebildet. Abbildung 5.15 stellt diese Tatsache anschaulich dar. Weiters ist festzuhalten, dass sich die Versuchsbedingungen, bei denen eine hohe Furfuralausbeute gefunden wurde, weitgehend mit jenen decken, bei denen die Konzentration an oligomerer Xylose wieder abfällt, was zu erwarten war. Die ANOVA führt für untransformierte Werte zu einem quadratischen Modell mit guten R^2 und nicht signifikantem Lack of Fit. Durch Entfernen des nicht signifikanten $Versuchsdauer^2$ Terms verschlechtert sich der korrigierte R^2 zwar ein wenig, dafür verbessert sich der vorhergesagte R^2 aber einigermaßen, und es wird mit korrigiertem $R^2 \approx 0,92$ und vorhergesagtem $R^2 \approx 0,79$ eine gute Übereinstimmung der beiden erzielt. Das Modell mit der Gleichung

$$Y_{Furfural} = +381 - 3,74 * T - 1,43 * t + 8,82 * 10^{-3} * T^{2} + 8,37 * 10^{-3} * T * t^{-3} * T * t^{-$$

ist also nicht perfekt wie die Gegenüberstellung von modellierten und experimentellen Werten in Abbildung 5.16 zeigt, aber noch akzeptabel.

5. Diskussion der Ergebnisse und statistische Auswertung



Abbildung 5.15.: 3D-Plot des Modells für Furfuralausbeute



Abbildung 5.16.: Modellwerte (Predicted) für Furfuralausbeute gegen experimentelle Werte (Actual)

Wiederfindung der Trockensubstanz ist, wie schon aus den Versuchsergebnissen in Tabelle 4.2 herauszulesen ist, ein oft fehlerbehaftetes Versuchsergebnis, da Werte von über 100% auftreten. Bei dem untersuchten System kann ausgeschlossen werden, dass sich die Trockensubstanz durch Eintragungen vergrößert, darum muss der Fehler aus der Messung oder Berechnung stammen. Höchstwahrscheinlich entstand der Großteil des Fehlers bei den Bestimmungen des Feststoffgehaltes der flüssigen Phase. Mehrere Messungen mussten wiederholt werden, weil die zentrifugierte Flüssigfraktion laut Feuchtebestimmer einen höheren Trockensubstanzgehalt aufwies als die dekantierte Flüssigfraktion, was auf weitere Messfehler schließen lässt. In der Auswertung wurde nur der Messwert für die zentrifugierte Flüssigfraktion verwendet, es entstanden also keine Rechenfehler durch Subtraktion der beiden Messwerte.

Für die Auswertung wurde die Trockensubstanz in zentrifugierter Flüssigphase und in abdekantierter Feststoffphase bestimmt. Unter der Annahme, dass sich die gelösten Substanzen in der gesamten Flüssigkeit gleichmäßig verteilten, wurde die im Wasseranteil der festen Phase gelöste Trockensubstanz der Flüssigphase zugerechnet. Mit diesen Werten wurden dann Modelle für die *Wiederfindung Trockensubstanz gelöst, Wiederfindung Trockensubstanz ungelöst,* und *Trockensubstanz Wiederfindung gesamt* erstellt.

Keine der drei Auswertungen lieferte ein zufriedenstellendes Modell. Für die Wiederfindung der gelösten Trockensubstanz zeigte sich, dass eine einfache Mittelwertbildung die geeigneteste Variante ist. Dass der Mittelwert von 23,4% die Messwerte ausreichen repräsentiert, zeigt der Residuenplot in Abbildung 5.17. Die Residuen liegen etwa normalverteilt um den Mittelwert verstreut.



Abbildung 5.17.: Q-Q Plot der Residuen des Modells für gelöste Trockensubstanz

Zwar bot laut Software ein quadratisches Modell die beste Approximation der Messwerte, jedoch ist in dem Modell nur der Temperatur²-Term signifikant, und korrigiertes R^2 und vorhergesagtes R^2 betragen nur 0,6 bzw. 0,33. Dieses Modell ist also weder genau, noch robust. Nachdem andere Modelle (niedriger Ordnung) noch schlechtere Werte liefern, sollte für die Wiederfindung gelöster Trockensubstanz auch der Mittelwert herangezogen werden. Die schlechte Modellierbarkeit der Messdaten lassen sich einerseits aus der vermutlich stark fehlerbehafteten Trockensubstanzbestimmung (siehe 3.4.2.2) erklären, andererseits könnten auch Verluste im Laufe der Versuchsdurchführung und -aufarbeitung das Messergebnis beeinflusst haben.

Ein ähnliches Bild zeigt sich bei der Modellierung für die Wiederfindung der ungelösten Trockensubstanz. Wiederum ist das quadratische Modell mit korrigiertem $R^2 \approx 0,7$ und vorhergesagtem $R^2 \approx 0,03$. Das Modell ist also nicht brauchbar. Es ist möglich, dass durch die abgeänderte Analyseprozedur (siehe 3.4.2.3) gewisse Fehler auftreten. Nachdem die anderen Modelle wieder niedrigere Werte liefern, sollte wieder auf den Mittelwert von 74,3% zurückgegriffen werden. Die Residuen streuen annähernd normalverteilt um diesen Mittelwert, wie der QQ-Plot in Abbildung 5.18 zeigt.



Abbildung 5.18.: Q-Q Plot der Residuen des Modells für ungelöste Trockensubstanz

Die gesamte Wiederfindung folgt diesem Trend. Die ANOVA liefert als beste Lösung ein quadratische Modell mit korrigiertem $R^2 \approx 0,78$ und vorhergesagtem $R^2 \approx 0,37$. Die einzige Alternative ist wiederum der Mittelwert, der 97,7% beträgt. Jedoch muss darauf hingewiesen werden, dass die Residuen nicht normalverteilt um den Mittelwert liegen

(siehe Abbildung 5.19), es liegt also ein Trend vor, der durch die gewonnenen Messwerte nicht mit ausreichender Sicherheit bestimmt werden kann.



Abbildung 5.19.: Q-Q Plot der Residuen des Modells für gesamte Trockensubstanz

Betrachtet man Tabelle 4.2 kann man jedoch einige Aussagen treffen. Erwartungsgemäß nimmt zu milderen Bedingungen der Anteil an ungelöstem Feststoff zu, und der Anteil an gelöster Trockensubstanz ab. Es zeigt sich, dass die Gesamtwiederfindung über die betrachteten Bedingungen - bis auf ein paar Ausnahmen - in etwa gleich bleibt, was zu erwarten war, denn egal bei welchen Bedingungen die Vorbehandlung durchgeführt wird, es gilt die Massenerhaltung.

5.2. Auswertung über den Severity-Faktor

Um zu untersuchen, ob die Kombination von Temperatur und Dauer für das Versuchsergebnis entscheidend war, wurde der sogenannte "Severity Factor" (siehe Abschnitt 2.3.8) herangezogen.

Durch die Messwerterfassung mittels LabVIEW konnte die Integration einfach durch eine Stufenintegration in Excel implementiert werden. Dabei wurden jene Messpunkte verwendet, die zwischen der ersten Überschreitung von 100°C beim Aufheizen und der ersten Unterschreitung beim Abkühlen lagen. Die experimentellen Werte wurden dann über den so berechneten Werten des Severity Factors aufgetragen.

Monomere Glukose und Xylose Der Abbau von Zellulose zu Glukosemonomeren steigt vorerst linear mit dem Severity Factor an, fällt aber nach Erreichen eines Maximums rapide ab, und steigt danach wieder an (siehe Abbildung 5.20). Der Verlauf kann dadurch erklärt werden, dass bei niedrigeren Severity-Werten die Freisetzung von Glukose überwiegt, und bei höheren der Abbau der Zucker zu HMF.



Abbildung 5.20.: Glukoseausbeute über Severity

Die Auswertung über den Severity Factor liefert für den Abbau des Xylans zu monomeren Xyloseeinheiten ein besseres Modell als für die Glukose. Entgegen des Verhaltens bei der Glukose steigt die Ausbeute bei den höchsten Severity-Werten nicht mehr an. Auch hier deckt sich der Verlauf mit der Vorstellung von Zuckerfreisetzung bei niedriger Severity, und Zuckerabbau bei erhöhter Severity. Das Maximum liegt im Gegensatz zur Glukose bei etwas höherer Severity. Der Verlauf (siehe Abbildung 5.21) kann bei einem $R^2 \approx 0,93$ näherungsweise durch

$$Y_{Xulose} = -1 * 10^{-12} R_0^3 + 7 * 10^{-08} R_0^2 - 0,0004 R_0 + 0,491$$

beschrieben werden.

5. Diskussion der Ergebnisse und statistische Auswertung



Abbildung 5.21.: Xyloseausbeute über Severity

Oligomere Glukose und Xylose Wie schon bei der Modellbildung im vorigen Kapitel konnte aus den Versuchsergebnissen kein zufriedenstellendes Modell für die oligomere Glukose erstellt werden. Man könnte den Verlauf zwar interpolieren die Streuung ist dann jedoch zu groß, um den Severity Factor für eine genaue Vorhersage heranziehen zu können.



Abbildung 5.22.: Oliogoglukoseausbeute über Severity

Für die Xylose kann mit einem R^2 von 0,86 eine objektiv bessere Regression erstellt

werden. Die Regressionsgleichung lautet

$$Y_{oligo-Xulose} = -1 * 10^{-07} R_0^2 + 0,0038 R_0 + 5,95$$

Abbildung 5.23 zeigt den tatsächlichen Verlauf und die zugehörige Regressionskurve. Wie zuvor ist zu sehen, dass die Freisetzung von Xyloseoligomere bei milderen Bedingungen mit der Severity bis zu einem Maximum ansteigt. Danach überwiegt der Abbau von Xylose zu Furfural, und die Ausbeute an oligomerer Xylose nimmt ab.



Abbildung 5.23.: Oligoxyloseausbeute über Severity

Bildung von Essigsäure, Furfural und HMF Die Bildung von Essigsäure aus den Acetatgruppen der Hemizellulose steigt, wie die anderen Abbauprodukte, von einigen Abweichungen bei den Centerpoint-Versuchen abgesehen, in etwa linear mit dem Severity Factor. Die drei Verläufe ähneln einander ziemlich (siehe Abbildungen 5.24 bis 5.26), der größte Unterschied ist der Bereich der Ausbeute. Acetat wird bis zur Gänze freigesetzt, die 5er-Zucker bis zu etwa 10% und die 6er-Zucker werden gar nur bis zu einem Prozent zu HMF abgebaut.

$Y_{AcOOH} = 0,0019R_0 + 41,6$	$R^2 \approx 0,84$
$Y_{Furfural} = 0,003R_0 - 1,94$	$R^2 pprox 0,95$
$Y_{HMF} = 2 * 10^{-5} R_0 - 0,149$	$R^2 \approx 0,92$



5. Diskussion der Ergebnisse und statistische Auswertung

Abbildung 5.24.: Essigsäureausbeute über Severity



Abbildung 5.25.: Furfuralausbeute über Severity





Abbildung 5.26.: HMF-Ausbeute über Severity

Wiederfindung der Trockensubstanz Bei der Wiederfindung Trockensubstanz zeigt sich das in Kapitel 5.1 besprochene Problem. Die Messdaten der drei Fraktionen (gelöst, ungelöst, gesamt) lassen sich durch lineare, quadratische oder kubische Regresssionen nicht mit zufriedenstellendem R^2 interpolieren. Bei mittlerer Severity zeigt sich ein Maximum bei ungelöster und gelöster Trockensubstanz, und in Folge auch bei der gesamten Wiederfindung. Bei niedriger und hoher Severity sinkt die Wiederfindung aller drei Fraktionen ab (siehe Abbildung 5.27).



Abbildung 5.27.: Trockensubstanzwiederfingung über Severity

Allgemein sollte bei der Regression über den Severity-Faktor bedacht werden, dass der verwendete Versuchsplan nicht auf die zugrundeliegende Exponentialfunktion zugeschnitten ist. Dadurch ergibt sich die in den Abbildungen ersichtliche Häufung der Design Points in der unteren Hälfte des betrachteten Severity-Bereichs. Daraus folgt, dass diese Regressionen nur bedingt als Darstellung der realen Gegebenheiten geeignet sind. Soll das System einer Auswertung, basierend auf dem Severity Faktor, unterzogen werden, müsste auch der Versuchsplan auf diesen ausgerichtet sein.

5.3. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse

Wie gemäß einiger Literaturstellen zu erwarten war, konnte bestätigt werden, dass sich bei den Versuchen großteils oligomere Zucker lösten. Von der Xylose wurden gesamt rund 6 bis 40% der theoretisch möglichen Menge aus dem Rohstoff gelöst. Das Maxiumum wurde dabei bei den Centerpoint Einstellungen (185°C und 81 Minuten) erreicht, jedoch wurden ähnlich große Ausbeuten auch bei anderen Bedingungen erreicht. Im Vergleich zu ausgewählten Literaturstellen (siehe 2.3.2.1) wurde weniger Xylose gelöst als erhofft (in etwa die Hälfte). Es wurde gleichzeitig aber auch weniger als halb so viel der Glukose gelöst wie in den Literaturstellen angegeben wird. Die vergleichsweise sehr niedrigen Werte der Xyloseausbeute können durch die fehlerhafte Rohstoffanalyse erklärt werden, bei der etwa der dreifache Hemizellulosegehalt von üblichen Werten festgestellt wurde. Das die Glukose ebenfalls in geringerem Ausmaß im Hydolisat gelöst war, kann bei ähnlichem Anteil im Rohstoff darauf zurückgeführt werden, dass die Dauer der Halteperioden in dieser Arbeit länger waren als in der Literatur, wodurch vermehrt Zeit für Abbaureaktionen vorhanden war.

Die Varianzanalysen zeigten, dass die Modelle die Messwerte oft nicht zufriedenstellend annäherten. Dies lässt auf Unzulänglichkeiten der Versuchsdurchführung, beziehungsweise bei der Analyse schließen.

Die Auswertung über den Severity Faktor ist anscheinend für die Saccharide nicht geeignet, für die Abbauprodukte und Trockensubstanzbilanz jedoch schon. Es ist jedoch möglich, dass mit einem auf den Severity Faktor zugeschnittenen Versuchsplan bessere Ergebnisse erzielt werden können.

Die Software ermöglicht die Optimierung der Prozess- beziehungsweise der Modellparameter. Das heisst, man lässt die Software die Bereiche des Modells ermitteln, die bestimmte, definierte Bedingungen erfüllen. Diese können Maxima, Minima, oder bestimmte Werte der Modellantwort, in diesem Fall der Ausbeuten, sein. Da eine möglichst zellulosereicher Feststoff, und möglichst xylosereiches Hydrolisat im Hinblick auf eine folgende Fermentation wünschenswert sind wurden die entsprechenden Maxima (Xylose und Oligoxyloseausbeute) und Minima (Glukose und Oligoklukoseausbeute) bestimmt. Das Programm liefert für jede Optimierung mehrere Ergebnisse, aus denen der arithmetische Mittelwert gebildet wurde, sofern diese nahe beieinander lagen.

Die Ausbeute an monomerer Xylose hat laut Modell bei einer Temperatur von 198°C und einer Versuchsdauer von 95 Minuten ihr Maximum von 7,67%. Der Verlauf der Ausbeute oligomerer Xylose (schwach ausgeprägter Sattel, siehe Abbildung 5.4) führt

zu zwei Stellen, an denen ein Maximum erreicht wird, nämlich 37,5% bei 191°C und 66 Minuten und 35,9% bei 177°C und 96 Minuten. Betrachtet man monomere und oligomere Xylose gleichzeitig, wird die maximale Ausbeute bei 183°C und 96 Minuten erreicht, und beträgt 3,7% monomere und 33,7% oligomere Xylose.

Die Bildung von Furfural aus Xylose lässt sich in Abbildung 5.28 schön bestätigen - die Bereiche steigender Furfuralausbeute und sinkender Oligoxyloseausbeute in der rechten oberen Hälfte sind beinahe Deckungsgleich.



Abbildung 5.28.: Isoausbeuten von Oligo-xylose und Furfural. Rot: Furfural, Schwarz: Oligoxylose

Monomere Glukose erreicht im betrachteten Bereich eine minimale Ausbeute von 0,02% bei 170°C und 66 Minuten. Da das Modell für die Ausbeute an oligomerer Glukose lediglich eine Mittelwertbildung ist, ist die Suche nach einem Minimum hinfällig. Das Minimum bei gleichzeitiger Betrachtung liegt folglich rein rechnerisch bei den gleichen Bediungungen wie bei der alleinigen Betrachtung der monomeren Glukose. Durch die großen Schwankungen bei der oligomeren Glukose ist dieses Minimum jedoch wenig aussagekräftig.

Bezieht man alle vier Größen in die Optimierungsrechnung mit ein, sucht man also die maximale Xyloseausbeute bei gleichzeitig minimaler Glukoseausbeute, findet die Software zwei Punkte, siehe Tabelle 5.1

Temperatur	Dauer	mono- Xylose	oligo- Xylose	mono- Glukose	oligo- Glukose
in $^{\circ}C$	in Minuten	in $\%$	in $\%$	in $\%$	in $\%$
190	66	1,12	37,34	1,09	6,56
175	96	$1,\!6$	35,75	$0,\!62$	$6,\!56$

Tabelle 5.1.: Optimierung der Versuchsbedingung nach Xylose- und Glukoseausbeuten

Aus diesen Optimierungsergebnissen kann man zwei Schlüsse ableiten. Erstens, dass entweder der Versuchsplan gut gewählt ist, und allein das Modell dazu führt, dass die maximalen Xyloseausbeuten an den Grenzen des Versuchsbereichs bei 96 und 66 Minuten liegen, bzw. darauf geschlossen werden kann, dass diese Ausserhalb des Versuchsbereichs liegen. Oder Zweitens, dass der Versuchsbereich hätte weiter gefasst, beziehungsweise zu anderen Werten hin verschoben werden sollen. Mit Hinblick auf die Unzulänglichkeiten mancher Modelle scheint es wahrscheinlicher, dass die Versuchsparameter gut gewählt sind. Um aussagekräftigere, exaktere Ergebnisse zu erhalten, ist es wahrscheinlich nötig, für Aufarbeitung und Analyse der Produkte mehr Aufwand zu betreiben.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde die Heißwasserbehandlung von Stroh im Labormaßstab untersucht und dabei folgende Punkte abgearbeitet, um das Thema möglichst umfassend zu behandeln.

- Inbetriebnahme eines Hochdruckreaktors
- Ausarbeitung eines Analysenplans
- Ausarbeitung eines Versuchsplans
- Durchführung von Versuchs- und Analysenplan
- Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

Die Inbetriebnahme gestaltete sich wegen starker Verschmutzung des Reaktors, sowie Dichtungsproblemen bei höheren Drücken langwierig, aber abgesehen davon nicht weiter kompliziert. Die frei zugänglichen LAPs erleichterten das Ausarbeiten der Analyseprozedur erheblich. Leider konnten, bzw. wurden die Analysen nicht eins zu eins umgesetzt (werden). Der apparative und zeitliche Aufwand der dazu nötig ist, hätte den Rahmen der Arbeit gesprengt. Die Abwandlungen der LAPs dürften sich jedoch negativ auf die Ergebnisse ausgewirkt haben, wie sich bei der Auswertung herausstellte. Um aus den Versuche möglichst geeignete Ergebnisse für eine statistische Auswertung zu erhalten wurden Methoden des "Design of Experiments" herangezogen, die in einen Versuchsplan vom Typ "Central Composite Design" mündeten. Um das Versuchsfeld, also die variierten Parameter, deren Einstellungen und die zu erfassenden Messgrößen abstecken zu können mussten einige Vorversuche durchgeführt werden. Diese umfassten eine Reihe an Versuchen zur Ermittlung der Temperatur-Zeit-Charakteristiken des Reaktors, sowie eine Reihe zur Einschränkung des Versuchsfeldes in Bezug auf Abbau der Wertstoffe. Bei der Erstellung des Versuchsplans war das Problem zu bewältigen, dass Temperatur und Dauer nicht unabhängig von einander eingestellt werden konnten respektive, dass es durch Temperatur-Zeit-Charakteristik des Reaktors nicht möglich ist, die interessanten Temperaturen über eine passende Dauer konstant zu halten, ohne dass der untersuchte Bereich massiv Bedeutung für den Versuch verlor. Um dennoch einen Versuchsplan durchführen zu können, der repräsentativ für die Versuche ist, wurden die "Design Points" in die Temperatur-Zeit-Charakteristiken des Autoklaven eingepasst.

Erwartungsgemäß zeigte sich, dass beim durchgeführten Liquid Hot Water Treatment bevorzugt die Zucker der Hemizellulose, im Besonderen Xylose aus dem Lignozelluloseverband gelöst wurden. Auffällig, aber nicht ungewöhnlich war, dass die Zucker generell

6. Zusammenfassung und Ausblick

hauptsächlich als Oligomere in Lösung gingen. Somit wäre, wenn man die oligomere Glukose und Xylose fermentieren will, ein weiterer Aufschlussschritt von Nöten. Da aber bei milden Bedingungen nur wenig monomere Xylose gebildet wird, und diese bei härteren Bedingungen leicht zu Furfural weiterreagiert, ist die Wirtschaftlichkeit dessen fraglich. Für eine fermentative Weiterverarbeitung der erhaltenen Lösung ist eine enzymatische Behandlung auf alle Fälle erforderlich.

Die Modellierung mittels ANOVA funktionierte am besten für die Ausbeute monomerer und oligomerer Xylose, sowie deren Folgeprodukt Furfural. Für die übrigen Modelle konnte kein Korrelationskoeffizient über 0,9 erreicht werden.

Die Regression über den Severity Factor gelang für mono- und oligomere Xylose sowie die Abbauprodukte relativ gut.

Für weiterführende Arbeiten auf diesem Gebiet empfiehlt es sich, die Analyseprozedur weiter zu verfeinern. Es ist angebracht, besonders die Trockensubstanzbestimmung sorgfältiger durchzuführen. Dazu sollte die grobe Feststofffraktion vor der Trockensubstanzbestimmung gewaschen werden, um anhaftende, gelöste und suspendierte Partikel zu entfernen. Um diese Anteile an der Bilanz nicht zu verlieren, sollte dies eine zusätzliche Messung darstellen. Weiters sollte auch der Trockensubstanzgehalt des Zentrifugenrückstandes erfasst werden. Die Trockensubstanz der flüssigen Fraktionen sollte per Trockenofen bestimmt werden, wie in der LAP [Sluiter et al., 2008a] angeführt wird.

Zusätzlich könnte auch die (gewaschene) grobe Feststoffraktion auf ihre Zusammensetzung untersucht werden. Das würde erlauben die Massenbilanz auch über die Komponenten zu schließen. Im Hinblick auf die Ethanolproduktion wäre auch angebracht, das vorbehandelte Material einer enzymatischen Hydrolyse und Fermentation zu unterziehen, um den Vorbehandlungsschritt zu validieren. Im Allgemeinen wäre es natürlich erstrebenswert, die Analysen möglichst LAP-getreu zu gestalten.

Weitere Arbeiten auf diesem Gebiet sollten zum Ziel haben, die Analyseprozedur weiter zu verfeinern und die darauf gründenden Fehler zu minimieren. Des weiteren könnten auch andere Vorbehandlungsmethoden (z.B. basierend auf Organosolvverfahren oder ionischen Flüssigkeiten) untersucht werden.

- B. Antizar-Ladislao and J. L. Turrion-Gomez. Second-generation biofuels and local bioenergy systems. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2(5):455–469, 2008. doi: 10.1002/bbb.97. URL http://dx.doi.org/10.1002/bbb.97.
- E. Araque, C. Parra, J. Freer, D. Contreras, J. Rodríguez, R. Mendonça, and J. Baeza. Evaluation of organosolv pretreatment for the conversion of pinus radiata d. don to ethanol. *Enzyme and Microbial Technology*, 43(2):214-219, Aug. 2008. ISSN 0141-0229. doi: 10.1016/j.enzmictec.2007.08.006. URL http://www.sciencedirect.com/ science/article/B6TG1-4PGY4V6-1/2/e5596cde75a4c7faebb11336be00c64d.
- I. Ballesteros, J. Oliva, M. Negro, P. Manzanares, and M. Ballesteros. Ethanol production from olive oil extraction residue pretreated with hot water. *Applied Biochemistry* and Biotechnology, 98-100(1):717-732, Mar. 2002. doi: 10.1385/ABAB:98-100:1-9:717. URL http://dx.doi.org/10.1385/ABAB:98-100:1-9:717.
- J. Bidlack, M. Malone, and R. Benson. Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. In Proc Okla Acad Sci, volume 72, page 51–56, 1992.
- C. Cara, I. Romero, J. M. Oliva, F. Sáez, and E. Castro. Liquid hot water pretreatment of olive tree pruning residues. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 137-140(1-12): 379-394, Apr 2007. doi: 10.1007/s12010-007-9066-y. URL http://dx.doi.org/10. 1007/s12010-007-9066-y.
- C. Cara, E. Ruiz, M. Ballesteros, P. Manzanares, M. J. Negro, and E. Castro. Production of fuel ethanol from steam-explosion pretreated olive tree pruning. *Fuel*, 87(6):692-700, May 2008. ISSN 0016-2361. doi: 10.1016/j.fuel.2007.05. 008. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/B6V3B-4NX2T38-6/ 2/689c58f930ead980837bef55a84087bd.
- F. Carvalheiro, T. Silva-Fernandes, L. Duarte, and F. Gírio. Wheat straw autohydrolysis: Process optimization and products characterization. *Applied Biochemistry* and Biotechnology, 153(1):84–93, May 2009. doi: 10.1007/s12010-008-8448-0. URL http://dx.doi.org/10.1007/s12010-008-8448-0.
- R. Chandra, R. Bura, W. Mabee, A. Berlin, X. Pan, and J. Saddler. Substrate Pretreatment: The Key to Effective Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosics?, pages 67–93. 2007. URL http://dx.doi.org/10.1007/10_2007_064.

- L. da Costa Sousa, S. P. Chundawat, V. Balan, and B. E. Dale. [']Cradle-to-grave' assessment of existing lignocellulose pretreatment technologies. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(3):339-347, June 2009. ISSN 0958-1669. doi: 10.1016/j.copbio.2009.05. 003. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/B6VRV-4WCWTNV-3/2/8da78ae4f9c5cc88a0c361d12e04bf16.
- A. P. Dadi, S. Varanasi, and C. A. Schall. Enhancement of cellulose saccharification kinetics using an ionic liquid pretreatment step. *Biotechnology and Bioengineering*, 95 (5):904–910, 2006. doi: 10.1002/bit.21047. URL http://dx.doi.org/10.1002/bit. 21047.
- A. Eisentraut. Sustainable production of second -generation biofuels potential and perspectives in major economies and developing countries. Technical report, IEA International energy agency, February 2010.
- R. J. Freund, W. J. Wilson, and P. Sa. Regression Analysis, Second Edition. Academic Press, 2006. ISBN 0120885972.
- K. Jacques, T. Lyons, and D. R. Kelsall. *The Alcohol Textbook*. Nottingham University Press, 4th edition, Oct. 2003. ISBN 1897676131.
- T. Jeong, B. Um, J. Kim, and K. Oh. Optimizing Dilute-Acid pretreatment of rapeseed straw for extraction of hemicellulose. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 161 (1):22–33, May 2010. doi: 10.1007/s12010-009-8898-z. URL http://dx.doi.org/10. 1007/s12010-009-8898-z.
- M. A. Kabel, G. Bos, J. Zeevalking, A. G. Voragen, and H. A. Schols. Effect of pretreatment severity on xylan solubility and enzymatic breakdown of the remaining cellulose from wheat straw. *Bioresource Technology*, 98(10):2034 – 2042, 2007. ISSN 0960-8524. doi: DOI:10.1016/j.biortech.2006.08.006. URL http://www.sciencedirect. com/science/article/B6V24-4M2WPOB-2/2/70ed2f63af79e32c0924db734bcb2ecc.
- M. Kaltschmitt, H. Hartmann, and H. Hofbauer, editors. *Energie aus Biomasse*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2009. ISBN 978-3-540-85094-6. URL http: //www.springerlink.com/index/10.1007/978-3-540-85095-3.
- W. Kessler. Multivariate Datenanalyse: Fur die Pharma, Bio und Prozessanalytik. Wiley-VCH Verlag GmbH, 2007. ISBN 3527312625.
- I. Kilpeläinen, H. Xie, A. King, M. Granstrom, S. Heikkinen, and D. S. Argyropoulos. Dissolution of wood in ionic liquids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (22):9142–9148, Oct. 2007. doi: 10.1021/jf071692e. URL http://dx.doi.org/10. 1021/jf071692e.
- E. Kommission. Gesamtbericht über die tätigkeit der europäischen union 2009, 2010.

- U. Larsen, T. Johansen, and J. Schramm. Ethanol as a fuel for road transportation. Technical report, Technical University of Denmark DTU and International Energy Agency? Advanced Motor Fuels Agreement IEA - AMF, May 2009.
- S. Larsson. Ethanol from Lignocellulose Fermentation Inhibitors, Detoxification and Genetic Engineering of Saccharomyces cerevisiae for Enhanced Resistance. PhD thesis, Department of Applied Microbiology, Lund University Sweden, 2000.
- S. Larsson, E. Palmqvist, B. Hahn-Hägerdal, C. Tengborg, K. Stenberg, G. Zacchi, and N. Nilvebrant. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. *Enzyme and Microbial Technology*, 24(3-4):151–159, 1999.
- M. Laser, H. Jin, K. Jayawardhana, and L. R. Lynd. Coproduction of ethanol and power from switchgrass. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 3(2):195–218, 2009. doi: 10.1002/bbb.133. URL http://dx.doi.org/10.1002/bbb.133.
- Lebensministerium. Bundesministeriums für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, 2010. URL www.lebensministerium.at.
- S. H. Lee, T. V. Doherty, R. J. Linhardt, and J. S. Dordick. Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(5):1368–1376, Apr. 2009. ISSN 1097-0290. doi: 10.1002/bit.22179. URL http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19090482. PMID: 19090482.
- J. Li, G. Henriksson, and G. Gellerstedt. Carbohydrate reactions during hightemperature steam treatment of aspen wood. Applied Biochemistry and Biotechnology, 125(3):175–188, Jun 2005.
- Minitab®. Interpreting the predicted r-squared (r-sq(pred)) in the regression output - id 983. Minitab Knowledgebase. URL http://www.minitab.com/de-DE/support/ answers/answer.aspx?ID=983.
- N. Mosier, C. Wyman, B. Dale, R. Elander, Y. Y. Lee, M. Holtzapple, and M. Ladisch. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96(6):673–686, Apr 2005. doi: 10.1016/j.biortech.2004.06.025. URL http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025.
- C. Munoz, R. Mendonça, J. Baeza, A. Berlin, J. Saddler, and J. Freer. Bioethanol production from bio- organosolv pulps of pinus radiata and acacia dealbata. *Journal* of Chemical Technology & Biotechnology, 82(8):767-774, 2007. doi: 10.1002/jctb.1737. URL http://dx.doi.org/10.1002/jctb.1737.
- D. Nabarlatz, A. Ebringerová, and D. Montané. Autohydrolysis of agricultural by-products for the production of xylo-oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 69(1):20 - 28, 2007. ISSN 0144-8617. doi: DOI:10.1016/j.carbpol.2006.08. 020. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/B6TFD-4M3J0TJ-2/ 2/9bae4b0d28b93fce1bfa943425e23600.

- M. J. Negro, P. Manzanares, I. Ballesteros, J. M. Oliva, A. Cabañas, and M. Ballesteros. Hydrothermal pretreatment conditions to enhance ethanol production from poplar biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 105 -108:87–100, 2003.
- M. Nic, J. Jirat, B. Kosata, A. Jenkins, and A. McNaught. *IUPAC Compendium of Chemical Terminology (the Gold Book)*. IUPAC, Research Triagle Park, NC, 2.1.0 edition, 2009. ISBN 0-9678550-9-8. URL http://goldbook.iupac.org.
- NIST. NIST/SEMATECH e-Handbook of Statistical Methods. September 2010. URL http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/.
- NREL. Standard biomass analytical procedures, 2010. URL http://www.nrel.gov/ biomass/analytical_procedures.html.
- R. P. Overend, E. Chornet, and J. A. Gascoigne. Fractionation of lignocellulosics by Steam-Aqueous pretreatments [and discussion]. *Philosophical Transactions* of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences, 321(1561):523-536, Apr. 1987. doi: 10.1098/rsta.1987.0029. URL http://rsta. royalsocietypublishing.org/content/321/1561/523.abstract.
- E. Palmqvist and B. Hahn-Hägerdal. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. ii: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*, 74(1):25-33, Aug. 2000. doi: 10.1016/S0960-8524(99)00161-3. URL http://www.sciencedirect.com/ science/article/B6V24-401HDXD-4/2/d1cb0af0b6b2df9221a223903b47ef9e.
- X. Pan, C. Arato, N. Gilkes, D. Gregg, W. Mabee, K. Pye, Z. Xiao, X. Zhang, and J. Saddler. Biorefining of softwoods using ethanol organosolv pulping: Preliminary evaluation of process streams for manufacture of fuel-grade ethanol and co-products. *Biotechnology and Bioengineering*, 90(4):473–481, 2005. doi: 10.1002/bit.20453. URL http://dx.doi.org/10.1002/bit.20453.
- Y. Pu, D. Zhang, P. M. Singh, and A. J. Ragauskas. The new forestry biofuels sector. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2(1):58–73, 2008. doi: 10.1002/bbb.48. URL http://dx.doi.org/10.1002/bbb.48.
- E. Ruiz, C. Cara, P. Manzanares, M. Ballesteros, and E. Castro. Evaluation of steam explosion pre-treatment for enzymatic hydrolysis of sunflower stalks. *Enzyme and Microbial Technology*, 42(2):160-166, 2008. URL http://www.scopus.com/scopus/ inward/record.url?eid=2-s2.0-36849060628\&partnerID=40\&rel=R8.2.0.
- A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, and D. Templeton. Determination of Sugars, Byproducts, and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples: Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory (NREL), December 2006. URL http://www.nrel.gov/biomass/analytical/ _procedures.html.

- A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, and D. Templeton. Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples: Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory (NREL), March 2008a. URL http://www.nrel.gov/biomass/analytical/ _procedures.html.
- A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, and D. Crocker. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory (NREL), April 2008b. URL http://www.nrel.gov/biomass/analytical/_procedures.html.
- A. Sluiter, D. Hyman, C. Payne, and J. Wolfe. Determination of Insoluble Solids of Pretreated Biomass Material: Laboratory Analytical Procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory (NREL), March 2008c. URL http://www.nrel.gov/ biomass/analytical_procedures.html.

Stat-Ease. Design-expert 6 (R) help system.

- M. J. Taherzadeh and K. Karimi. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 9:1621-1651, Sept. 2008. doi: 10.3390/ijms9091621. URL http://www.ncbi.nlm.nih. gov/pmc/articles/PMC2635757/.
- Y. Teramoto, S. Lee, and T. Endo. Pretreatment of woody and herbaceous biomass for enzymatic saccharification using sulfuric acid-free ethanol cooking. *Bioresource Technology*, 99(18):8856-8863, Dec. 2008. ISSN 0960-8524. doi: 10.1016/j.biortech.2008. 04.049. URL http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18508263. PMID: 18508263.
- H. Zhao, G. A. Baker, and J. V. Cowins. Fast enzymatic saccharification of switchgrass after pretreatment with ionic liquids. *Biotechnology Progress*, 2009. ISSN 87567938. doi: 10.1002/btpr.331. URL http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/122684452/main.html,ftx_abs.

A. Anhang

A.1. Verwendete Ausrüstung und Chemikalien

	Anzahl	Anmerkung
Ausrüstung		
Becherglas 1000ml	2	
Becherglas 400ml	1	
Speziallöffel	1	angefertigt entsprechend Reaktor
•		geometrie
Kunststoffsieb	1	
Messkolben 100ml	1	
Zentrifugengläser 100ml	4	
Zentrifugenbecher f. 1x100ml Gläser	4	
Zentrifugengläser 25ml	8	
Zentrifugenbecher f. 5x25ml Gläser	4	
Alu-Wägeschälchen Ø 100mm		
Glaswolle		
Messpipette 10ml	1	
Vollpipette 1ml	1	
ACE Druckröhrchen 100ml, Typ 8648-89	5	
Magnetrührstäbchen 1cm	1	
Erlenmeyerkolben 25ml	1	
Spatel		
Einmalspritzen 5ml		2-teilig, Luer Solo
Spritzenfilter $0,2\mu m$		PVDF Membran Ø15mm in Kunst
		stoffgehäuse, passend auf Einmal
		spritzen
Chemikalien		
Schwefelsäure 98%		
Zuckerstandards		
Glukose, Xylose, Arabinose, Cellobiose,		
Mannose		
Sonstige Standards		
Ethanol, Essigsäure, Milchsäure, Furfural,		
5-Hydroxymethylfurfural		
Bariumhydroxid		
pH-Teststreifen für pH 3,8 - 5,4		

Tabelle A.1.: Verwendete Ausrüstung und Chemikalien

pH-Teststreifen für pH 6,4 - 8
A.2. HPLC-System

A.2.1. Beschreibung

A.2.1.1. Systemkomponenten

- 2 Entgaser
- 2 Laufmittelpumpen
- 1 Niederdruckgradientenmodul, eingebaut in Pumpe 1
- Autosampler
- Ofen
- 2-teiliger LM-Mischer
- 2 6-Wege Kolonnenschaltventile
- Trennsäulen
 - Trennsäulen für Zucker und Abbauprodukte
 - Vorsäulen
- Detektoren
 - Photodiodenarray
 - Differenzrefraktometer
- Controller

Die Beschreibung der Komponenten erfolgt in Reihenfolge der Strömungsrichtung. Die Kürzel in Klammern sind die Artikelcodes der Komponenten ohne Versionsnummer, unter denen sie in den Manuals und auf den Komponenten selbst geführt werden.

A.2.1.2. Entgaser (DGU)

Entfernt gelöste und nicht gelöste Gase aus den Laufmitteln sowie der Autosamplerspülflüssigkeit. Arbeitet hörbar gleich nach dem Einschalten des Systems, das Geräusch sollte nach etwa einer halben Minute wieder abklingen.

A.2.1.3. Laufmittelpumpen (LC)

Die beiden Laufmittelpumpen sind als Doppelkolbenpumpen gebaut und befördern die Laufmittel durch die gesamte Anlage. Auf der Anzeige der Pumpen steht im Betrieb einerseits der Laufmittel-Volumenstrom und andererseits der Druck nach der Pumpe. Es kann entweder Volumenstrom oder Druck geregelt werden. Üblicherweise wird der Volumenstrom durch das System festgelegt und der Druck stellt sich durch die Strömungsverhältnisse ein. Der Druckverlauf ist zu beachten und zu protokollieren. Ein Anstieg

des Drucks kann eine Verlegung oder Beschädigung der verwendeten Säule zur Ursache haben. In diesem Fall müssen die Pumpen sofort gestoppt, und Wartungsschritte unternommen werden. Wenn angenommen werden kann, dass nur die Vorsäule etwas verlegt ist, sollte diese ausgebaut und mit geeignetem Laufmittel rückgespült werden. Dies sollte noch im frühen Stadium der Verschmutzung geschehen. Weiters sollte bei beiden Pumpen derselbe Maximaldruck eingestellt werden, in der Regel 20MPa. Der Druck darf nie 35MPa überschreiten, denn das ist der maximale Druck der Anlage. Weiters befindet sich in beiden Pumpen ein Kit zur Kolbenhinterspülung. Das destillierte Wasser sollte etwa jede Woche getauscht werden.

A.2.1.4. Niederdruckgradientenmodul (LPGE)

Das LPGE ermöglicht die Gradientenelution mit vier verschiedenen Laufmitteln. Das Modul ist nicht von außen zugänglich. Anzeige und Möglichkeiten zur Bedienung kann über das Pumpeninterface erfolgen.

A.2.1.5. Laufmittelmischer

Der Mischer besteht aus zwei Teilen, einem Vormischer und der Mischkammer. Hier werden die Laufmittelströme aus den beiden Pumpen vereinigt. Die beiden Komponenten sind in den Ofen eingebaut, und besitzen keine Möglichkeit zur Steuerung.

A.2.1.6. Autosampler (SIL)

Im Autosampler wird die Probe mittels einer Nadel aus dem gewünschten Probenfläschchen (vial) entnommen und in den Laufmittelstrom eingebracht. Er enthält zwei Trays für vials – eines mit 70 Plätzen und eines mit 10. Das kleinere wird auch als Standard-Tray bezeichnet, es ist aber nicht zwingend nötig Standards und Proben in verschiedene Racks zu ordnen. Der Übersichtlichkeit halber ist es aber nützlich. Vials tauschen bzw in die Racks einsetzen:

- 1. die große Autosampler Tür öffnen
- 2. Rack herausziehen
- 3. Schnappverschluss eindrücken und Rackabdeckung anheben
- 4. Vials herausnehmen und/oder einsetzen. Sicherstellen dass die vials ganz hinuntergeschoben werden
- 5. Abdeckung einfädeln (hinten) und wieder verschließen
- 6. Rack zurück in den Autosampler schieben und die Tür verschließen

Da der Autosampler gekühlt wird, muß die große Tür während des Betriebs geschlossen sein, um Schäden durch Kondenswasser zu vermeiden. Will man den Vorgang der Probenaufgabe beobachten, kann man das durch das Fenster hinter der oberen Tür tun. Im

Autosampler befinden sich zwei Ventile. Das obere ist ein Hochdruckventil und für die Probenaufgabe gedacht. Das zweite befindet sich im unteren Bereich des Autosamplers und ist für dessen Spülung ausgelegt. Es ist im Gegensatz zum anderen kein Hochdruckventil.

A.2.1.7. Ofen (CTO)

Stellt die für eine gute Trennwirkung nötige Säulentemperatur ein. Im Ofen befinden sich neben den Trenn- und Vorsäulen auch der Laufmittelmischer und die Säulenschaltventile. Die maximale Temperatur beträgt $85^{\circ}C$

A.2.1.8. Säulenschaltventile (FCV)

Die Stellung der Ventile bestimmt welche Säule durchströmt wird. Die Ventile besitzen je einen zentralen Anschluss und je sechs, von 1-6 durchnummerierte, äußere, wobei immer ein Strömungskanal zwischen einem der Äußeren mit dem Zentralen besteht. Es gibt also sechs Ventilstellungen. Zwischen den beiden Ventilen werden die Säulen eingebaut. Es ist sinnvoll, bei der Installation einer Säule stets die gleich nummerierten Ventilstellungen zu verwenden. Zur Zeit gilt folgende Konfiguration:

- 1-1: SH1011 Säule für Zuckerabbauprodukte
- 2-2: SP0810 Säule zur Zuckertrennung
- 6-6: Leerrohr zB zum Systemspülen

Die Ventile können nur mittels Software gesteuert werden. Die Ventile müssen immer gleichzeitig verstellt, und die Abstimmung von Laufmittel und Säule beachtet werden. Trenn- und Vorsäulen Die Säulen können zwar nicht gesteuert werden, doch gilt es, einige Dinge zu beachten.

- Säulen sind empfindliche Instrumente, sie können durch verschmutzte oder chemisch ungeeignete Laufmittel beschädigt oder zerstört werden. Darum muss die Auswahl und Bereitung der Laufmittel, der Proben und der Ventilstellungen mit größter Sorgfalt erfolgen.
- Vorsäulen sind in etwa aus dem selben Material wie die Trennsäule, sie haben die Aufgabe die Trennsäule vor Verschmutzung zu schützen und die Probe zu "konzentrieren"
- Für eine gute Trennleistung müssen Temperatur und Volumenstrom passen
- Manche Säulen erfordern eine sanfte Inbetriebnahme den Säulenhandbüchern zu entnehmen
- Druckanstieg ist ein Warnsignal für Säulenschäden.
- Ist bei Druckanstieg ein chemischer Angriff der Säule auszuschließen, sollte die Vorsäuleausgebaut und mit Wasser rückgespült werden, um Verschmutzungen herauszuwaschen.

A.2.1.9. Photodiodenarray-Detektor (SPD)

Der SPD führt eine UV-Vis Spektroskopie durch. Aufgrund der großen Datenmenge, die vom SPD produziert wird, hat dieser einen eigenen Netzwerkanschluss.

A.2.1.10. Differenzrefraktometer (RID)

Der RID vergleicht die Brechungsindeces von der Probe und einer Referenz. Für die Referenz sollte das aktuelle Laufmittel verwendet werden. Um dies bei verschiedenen Messungen zu erreichen, kann die Referenzzelle im Betrieb gespült werden.

A.2.1.11. Controller (CBM)

Der Controller hat die einzige Funktion, den Datenaustausch zwischen HPLC und Computer zu gewährleisten.

A.2.2. Schaltbild



Abbildung A.1.: HPLC-Schaltbild Teil 1



Abbildung A.2.: HPLC-Schaltbild Teil 2