

Potential von Holz-Presswasser für die Bioökonomie

Manfred J. Reppke, Klaus Richter, Elisabeth Windeisen-Holzhauser, J. Philipp Benz

Holz ist ein nachwachsender Rohstoff – dennoch steht dieser nicht uneingeschränkt zur Verfügung und muss effizient eingesetzt werden. Es ist daher sinnvoll, auch für anfallende Neben- und Restströme Nutzungsmöglichkeiten zu identifizieren. Das Presswasser, das bei der wieder vermehrt betriebenen mechanischen Trocknung von Waldhackgut und Sägenebenprodukten anfällt, stellt ein solches Nebenprodukt dar. Dessen Potentiale für eine stoffliche – chemische und biotechnologische – Wertschöpfung waren bislang unklar und wurden daher von der Holzforschung München analysiert.

Holzpresswasser – ein interessanter Nebenstrom der Sägeindustrie

In Sägewerken fallen verschiedene Nebenprodukte in großen Mengen an, z. B. Rinde, Schwarten, Hackschnitzel sowie Säge- und Hobelspäne. Die Gesamtproduktion von Hackschnitzeln, Spänen und Reststoffen erreichte in Deutschland im Jahr 2019 ein Volumen von etwa 10,97 Mio. m³ (FAO 2021). Diese Sägenebenprodukte sind ein wichtiger Rohstoff für die Holzwerkstoff- sowie für die Zellstoff- und Papierindustrie. Ein Großteil davon wird aber zur Energiegewinnung eingesetzt, entweder direkt in den Sägewerken, in Heizkraftwerken oder in privaten Holzpelletöfen (Gößwein et al. 2020).

Angesichts der aktuellen Energiekrise ist eine effiziente Nutzung von nachwachsenden biogenen Brennstoffen elementar. Um den Wirkungsgrad bei der Energiegewinnung zu verbessern, muss der Wassergehalt der Hackschnitzel gesenkt werden. Die mechanische Entwässerung in einer Quetsche (Walzenpresse) ist dabei eine innovative Technik, um den Gehalt an freiem Wasser zu senken und damit den Heizwert der Hackschnitzel in einem kontinuierlichen Prozess zu erhöhen. Das dabei in großen Mengen anfallende Presswasser (PW) hat allerdings einen hohen Anteil an gelösten und ungelösten organischen Substanzen sowie Mineralstoffen. Dies erschwert eine Entsorgung über Kläranlagen und führt zu zusätzlichen Kosten durch Abwasserabgaben. Jedoch ist es gerade diese hohe organische und anorganische Befruchtung, die das PW sowohl chemisch als auch biotechnologisch höchst interessant machen.

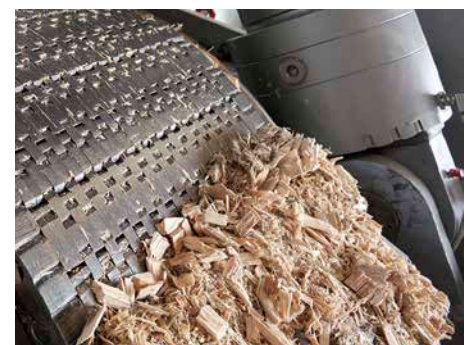
In einem Projekt der Holzforschung München (TUM) sollten neue Verwertungspfade für das anfallende PW ermittelt werden. Dabei standen sowohl die Identifizierung von potenziell wertvollen Inhaltsstoffen (chemische Wertschöpfung) als auch die Nutzung als Medienersatz zur Flüssigkultivierung von Pilzen (biotechnologische Wertschöpfung) im Zentrum (Abbildung 2). Das PW wurde aus sortenreinen Hackschnitzeln von Douglasie ohne Rinde (PWD), mit Rinde (PWDR) und Fichte (PWF) in Kooperation mit zwei Sägereien in Südwestdeutschland gewonnen. Dort haben Johannes Bohnert (Bohnert-Technik GmbH, Seebach) und Dr.-Ing. Christofer Gutmann (Pollux Edelstahlverarbeitung GmbH, Ottenhöfen) Hackgut-Quetschen entwickelt (VR-Innovations-Preis Mittelstand 2015), die mittlerweile im industriellen Maßstab hergestellt werden (Abbildung 1).



Mechanische Trocknung von Hackgut, wie geht das?

Eine technische Trocknung von Sägehackgut ist erforderlich, um eine geeignete Holzfeuchte zu erreichen, bei der das Wachstum von Mikroorganismen minimiert und eine hohe Brennstoffqualität gewährleistet wird (Schön et al. 2019; Kuptz et al. 2019). Herkömmliche Trocknungsverfahren nutzen meist thermische Energie zur Verdunstung der im Holz vorhandenen Feuchtigkeit. Dabei sind die Energieeffizienz und Trocknungsrate ein kritisches Problem (Dieckmann et al. 2016; Del Giudice et al. 2019), denn thermische Trocknung ist abhängig von der Oberflächenverdunstung und der Diffusion von Feuchtigkeit im Holz. Mechanisches Trocknen ist dagegen ein Entwässerungsprozess, bei dem das freie Wasser im Holz unter hohem Druck durch eine feste Struktur gepresst wird. Die Verdichtung drängt das freie Wasser über die Tüpfel oder Risse in den Zellwänden nach außen (Zhao et al. 2015, Liu and Haygreen 1985) und ist damit wesentlich schneller als thermische Methoden (Gezici-Koç et al. 2017). Dabei ist der Energieaufwand für die Kompression – und damit das Austreiben des freien Wassers – viel geringer als der Energieaufwand, um dieselbe Menge an Wasser zu verdampfen (Laurila et al. 2014). Durch mechanische Trocknung können jedoch nur Feuchtegehalte nahe dem Fasersättigungspunkt von Holz erreicht werden (circa 30% Feuchtegehalt).

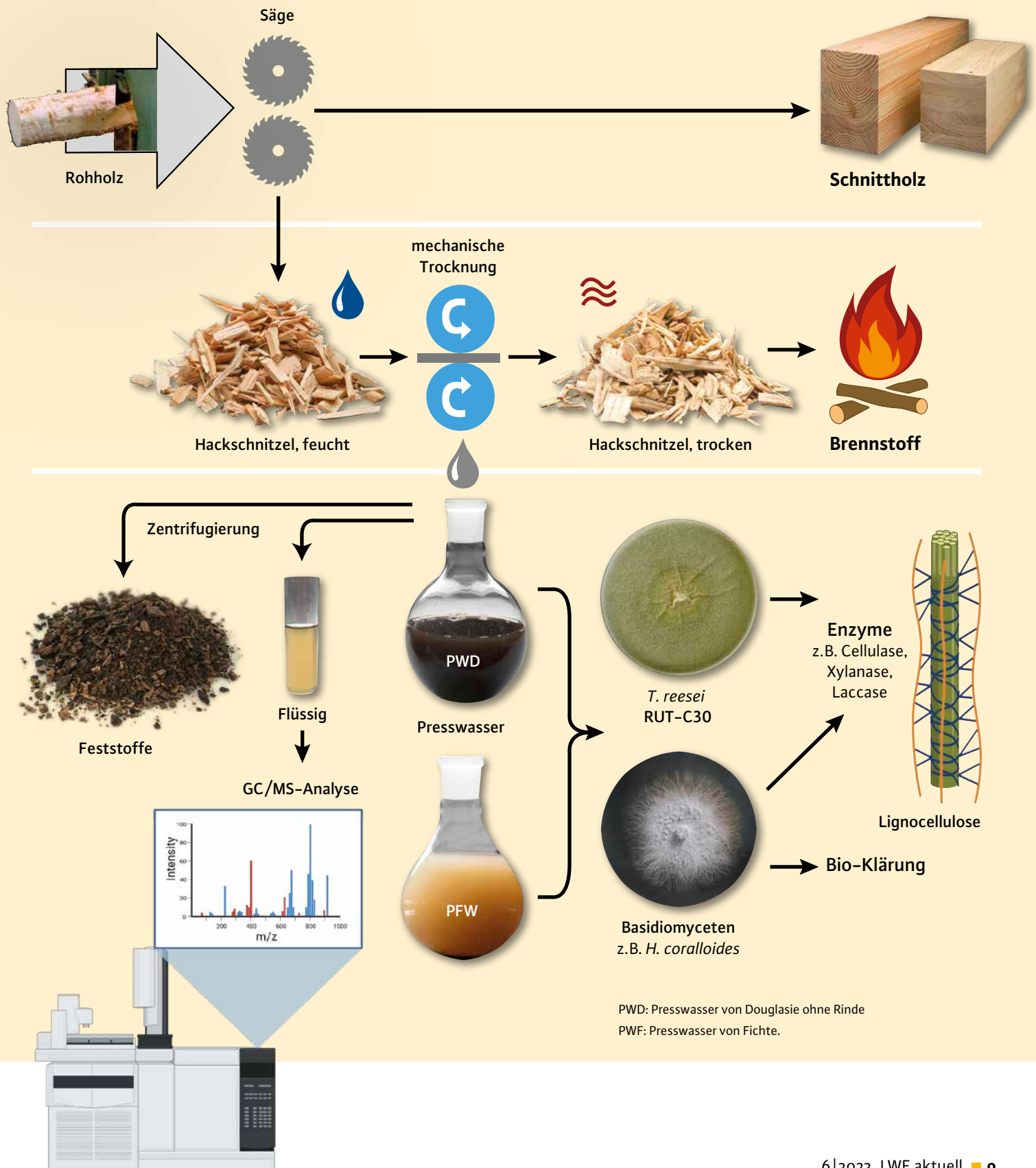
1 Hackschnitzelquetsche, rechts Detailaufnahme
Fotos: Bohnert Technik GmbH



Erste Untersuchungen zur mechanischen Entwässerung wurden schon in den 1980er Jahren durchgeführt (Haygreen 1981; Liu and Haygreen 1985). Die Schwierigkeit des Prozesses bestand hauptsächlich darin, die Hackschnitzel räumlich vom austretenden Presswasser

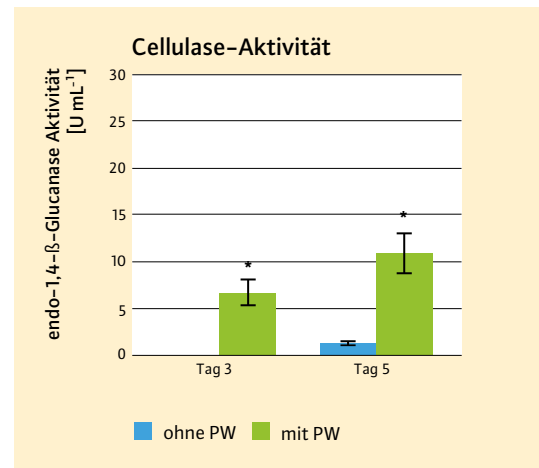
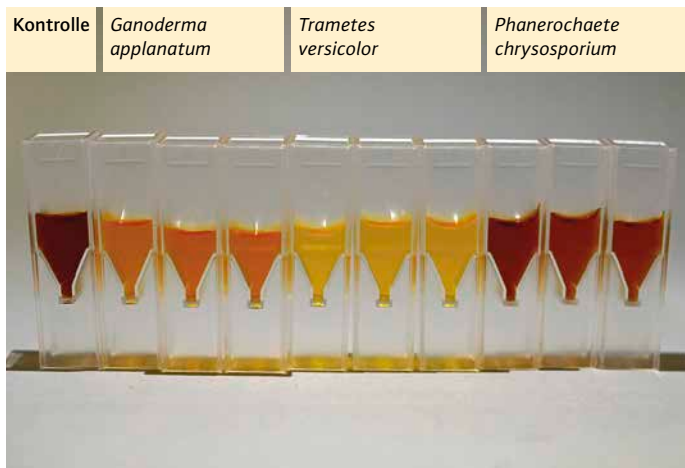
ser zu trennen, bevor der Druck auf die Hackschnitzel entlastet wird. Die faserige und porige Struktur des Holzes wirkt sonst wie ein Schwamm, und das ausgepresste flüssige Wasser wird erneut aufgenommen. Yoshida et al. (2010) entwickelten eine Walzenpresse und zeigten, dass

2 Schematische Darstellung der mechanischen Trocknung von Sägerestgut in Sägewerken sowie der Hauptlinien der verfolgten Potentialanalyse.
Fotos: Holzforschung München, TUM
Illustrationen: BioRender



3 links: Proben von Kulturüberständen mit PWDR aus Flüssigkulturen mit verschiedenen Weißfäule-Pilzen rechts: Cellulase-Aktivität von *T. reesei* RUT-C30 Flüssigkulturüberständen nach Kultivierung in Gegenwart von 75 % PW aus Douglasie (PW). Die Endoglucanase-Aktivitäten bei 75 % PW waren mehr als 8-mal höher an Tag 5 als in den Kontrollen.

Foto: Manfred Reppke, HFM



die Kombination aus mechanischer und thermischer Trocknung zu einer erheblichen Energieeinsparung im Vergleich zu einem rein thermischen Verfahren führen kann. Ein ähnliches Ergebnis wurde durch die Kombination einer kontinuierlichen mechanischen Trocknung mit einem Fließbettrockner erzielt, wodurch sich der Feuchtegehalt von Sägemehl bei einer Energieeinsparung von 50% von 52% auf 12,5% reduzieren ließ (Frodeson et al. 2019). Die von Bohnert-Technik GmbH entwickelte Hackschnitzelquetsche, die auch in diesem Projekt zum Einsatz kam, ist eine Walzenpresse mit einer patentierten Förderkette, die neben einer Transport- auch eine Entwässerungsfunktion erfüllt (Abbildung 1). Das Presswasser fließt durch die Spalten der Förderkette, während die obere Walze den maximalen Druck auf die Biomasse ausübt. Dadurch wird gewährleistet, dass die Hackschnitzel bei der Entspannung das Wasser nicht direkt wieder aufsaugen.

Warum Pilze für die Nutzbarmachung des Presswassers?

Die chemische oder physikalische Zersetzung von Holz ist besonders energieaufwändig und mit Gefahrstoffen verbunden. Deshalb steht die im Pilzreich weit verbreitete Fähigkeit, Lignocellulose enzymatisch zersetzen zu können, seit langem im Fokus der Forschung (Lacorte 2003). Ein bekannter Produktionsorganismus von zahlreichen cellulolytischen Enzymen ist der filamentöse Ascomyzet (Schlauchpilz) *Trichoderma reesei* (Bischof et al. 2016). Der Stamm RUT-C30 ist eine Mutante, die im Vergleich zum Wildtyp deutlich mehr Enzyme produzieren kann und in der Industrie sowie in der Forschung eingesetzt wird (Ellilä et al. 2017).

Holzabbauende Pilze aus der Abteilung der Basidiomyceten (Ständerpilze) werden normalerweise entweder als Weißfäule- oder Braunfäule-Pilze klassifiziert (Ayuso-Fernández et al. 2019; Ohm et al. 2014). Weißfäule-Pilze sind in der Lage, gezielt Lignin anzugreifen, um so den Zugang zur Cellulose und zu den Hemicellulosen in den Zellwänden freizulegen (Riley et al. 2014; Hatakka und Hammel 2011). Braunfäule-Pilze haben dagegen andere, nicht-enzymatische Wege entwickelt, um effektiv an die Polysaccharide zu gelangen (Riley et al. 2014; Goodell 2020).

Im Labor werden Pilze zwar in unterschiedlichen Medientypen kultiviert, aber alle Medien müssen bestimmte Grundbedürfnisse der Pilze abdecken. Eine Kohlenstoff- und eine Stickstoffquelle sind unerlässlich für das Wachstum und die Produktion von Enzymen. Insbesondere die Kohlenstoffquelle hat einen starken Einfluss auf die Art und Menge der Enzyme, die von den Pilzen produziert wird (Hassan and Reppke et al. 2017). Auch andere Komponenten wie Schwefel, Phosphor, Kalium, Calcium und Magnesium sind essenzielle Nährstoffe für Pilze. Zusätzlich sind geringe Konzentrationen von sogenannten Mikroelementen (z. B. Fe²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺, Co²⁺) nötig. Neben Holzabrieb enthält PW viele dieser Mikroelemente. Eine zentrale Hypothese des Projekts war daher, dass PW die Zugabe von Nährstoffen reduzieren und dadurch Kosten bei der Kultivierung einsparen helfen kann. Zudem müsste das PW bei einer biotechnologischen Nutzung, wie z. B. bei der Produktion von Enzymen in Pilzen, nicht extra als Abwasser behandelt werden, sondern würde »nebenbei« biologisch aufgereinigt.

Potentialanalyse zur chemischen Wertschöpfung des Presswassers

Da im PW sowohl gelöste als auch ungelöste Stoffe vorhanden sind, musste zunächst eine Fest-Flüssig-Trennung durchgeführt werden, bei der sich die suspendierten Feinstoffe nur durch Zentrifugation, gefolgt von einer Membranfiltration (0,2 µm) abtrennen ließen. Die Fraktion der gelösten Stoffe war anteilig jeweils die größte in den untersuchten PW-Arten, wobei sich deutliche Unterschiede zwischen Fichte (PWF) und Douglasie (PWD) sowie zu Douglasie mit Rinde (PWDR) zeigten. Die Zusammensetzung des PW kann noch von weiteren Faktoren beeinflusst werden, wie zum Beispiel dem Holzbereich (Splint, Kern), der Fällzeit und dem Standort der Bäume (Saffell et al. 2014). Die im PWD, PWDR und PWF gemessenen Ionenkonzentrationen waren nicht besonders hoch (im Bereich von 0,61 mg/L bis 130 mg/L). Auch die Zuckergehalte im PWDR (4,5 g/L), PWD (0,99 g/L) und PWF (0,05 g/L) waren gering im Vergleich zu anderen agroindustriellen Substraten wie z. B. Reisstroh (Takano and Hoshino 2018), jedoch hoch genug, um andere chemische Messungen zu beeinträchtigen. So mussten die im PW gelösten Zucker abgetrennt werden, um andere, in geringeren Konzentrationen vorhandene organische Substanzen spezifischer detektieren zu können. Dies erfolgte mit einer Festphasenextraktion (SPE) an einer C18-Kieselgelphase. In den erhaltenen Methanolfraktionen ließen sich dadurch im Falle des PW der Douglasie mittels Gaschromatographie mit Massenspektrometrie (GC/MS) insbesondere Flavonoide wie z. B. Taxifolin nachweisen (PWD: 7,4%; PWDR: 1,8%). Im PWDR wurden zudem

Catechin (2,2 %) und Epicatechin (2,5 %) gefunden, wodurch sich die Summe der Flavonoide im PWD auf 6,5 % erhöht. Das PWF enthielt überwiegend Hydroxyfettsäuren (gesättigt und ungesättigt), aber keine Flavonoide.

Insbesondere das Taxifolin, welches im PWD auch in etwas höheren Konzentrationen bestimmt wurde, könnte für eine Anwendung als Nahrungsergänzungsmittel und in der pharmazeutischen Industrie genutzt werden (Bernatova und Liskova 2021; Warlo et al. 2023). Die im PWF vorhandenen Fettsäuren sind möglicherweise für die Kosmetikindustrie interessant (Berardesca et al. 1997).

Potentialanalyse zur biotechnologischen Wertschöpfung des Presswassers

In unseren Versuchen wurde die Produktion cellulolytischer Enzyme von *T. reesei*-Kulturen in Abwesenheit oder Gegenwart von PW bestimmt. Eine der Bedenken beim Einsatz von PW in Flüssigkulturen war die Anwesenheit von möglichen Hemmstoffen wie phenolischen Verbindungen aus Lignin oder Tanninen (Valette et al. 2017; Ximenes et al. 2010), da *T. reesei* im Gegensatz zu den holzabbauenden Basidiomyceten keine ligninabbauenden Enzyme besitzt (Nagendran et al. 2009). Enthielt das Medium einen PWD-Anteil von bis zu 75 % (75 % PW: 25 % Standard-Medium), zeigte sich jedoch keine Hemmung, sondern im Gegenteil eine erhebliche Steigerung der messbaren Enzymaktivitäten im Vergleich zu Kontrollmedien ohne PW (Abbildung 3, rechts). Dabei erreichten PWD-Kulturen bereits nach 3 Tagen eine substanzielle Enzymaktivität, während in den Kontrollen ohne PW zu diesem Zeitpunkt noch keine Aktivität messbar war.

Alles in allem konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, PW als Mediumszusatz für die Produktion von cellulolytischen Enzymen mit *T. reesei* einzusetzen und dabei sowohl große Mengen an Wasser als auch an Nährelementen (z. B. Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) erfolgreich zu substituieren, was ein deutliches Einsparungspotential mit sich bringen könnte (Reppke et al. 2022).

Autoren

Manfred Reppke ist Doktorand an der Professur für Pilz-Biotechnologie in der Holzwissenschaft der Technischen Universität München (TUM), Prof. Dr. J. Philipp Benz leitet diese Professur; Prof. Dr. Klaus Richter ist Leiter der Holzforschung München und des Lehrstuhls für Holzwissenschaft der TUM, Dr. Elisabeth Windeisen-Holzhauser leitet den Forschungsbereich Rohstoff- und Produktchemie an diesem Lehrstuhl.

Bioklärung des Presswassers über Myzelfilter

Eine interessante Alternative zur konventionellen Abwasserbehandlung, die eine schnelle Lösung für die hohe Trübung und den hohen chemischen Sauerstoffbedarf (CSB) bieten könnte, ist die pilzgestützte Bioklärung von Presswasser. Filamentöse Pilze eignen sich aufgrund ihrer fadenförmigen Morphologie besonders für diese Aufgabe. Die Pilzzellen (Hyphen) bilden durch Verzweigungen eine netzartige Struktur (das Myzel), welches suspendierte Feststoffe im PW fangen und einschließen kann. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Trübung von PW nach einigen Tagen der Kultivierung erheblich reduziert wird (Abbildung 3 links) (Reppke et al. 2022). Pilzmyzelien könnten daher eine praktische Lösung sein, um längere Absetzzeiten oder eine umfangreiche Filtration zu vermeiden, denn sie lassen sich deutlich einfacher absieben (Zhang and Barzee 2018). Der Vorteil der Verwendung von holzabbauenden Basidiomyceten geht dabei über die Aufnahme von Schwebstoffen hinaus. Wir beobachteten eine Abnahme der Absorption über das gesamte sichtbare Spektrum (230–800 nm). Dies deutet auf einen Abbau von gelösten Stoffen im PW hin, der wahrscheinlich auf die Sekretion von ligninolytischen Enzymen zurückzuführen ist (Schwartz et al. 2018; Sharari et al. 2013; Dias et al. 2004).

Zusammenfassung

Angesichts knapper Ressourcen ist eine effiziente Nutzung von biogenen Stoffströmen essentiell. Die mechanische Trocknung ist eine innovative Technik, um den Heizwert von Holzhackschnitzeln energetisch zu erhöhen. Das anfallende Presswasser (PW) enthält gelöste und ungelöste organische Substanzen sowie Mineralstoffe, die eine Entsorgung über Kläranlagen erschweren. Obwohl interessante aromatische Moleküle im PW gefunden wurden, erscheint eine schnelle Wertschöpfung aktuell wenig realistisch. Die Zugabe von PW der Douglasie als Mediumbestandteil zu Flüssigkulturen von *T. reesei* führte dagegen zu erheblichen Verbesserungen der Enzymproduktion. Zudem könnten Weißfäule-Pilze zu einer unkomplizierten und schnellen Bio-Klärung von anfallendem PW beitragen.

Projekt

Das Projekt »Grüne Bioraffinerie von Sägerestgut/Hackgut (Xo43)« (Laufzeit 2018–2021) wurde durch das Bayerische Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten gefördert und in Kooperation mit Johannes Bohnert (Bohnert-Technik GmbH, Seebach) und Dr. Ing. Christoffer Gutmann (Pollux Edelstahlverarbeitung GmbH, Ottenhöfen) durchgeführt.

Links

www.lse.lw.tum.de/fungbio/forschung/projekte/gruene-bioraffinerie/
www.hackschnitzelquetsche.de

Ausblick

Die bisher identifizierten Substanzen in PWD, PWD und PWF stellen nur einen Teil der im PW vorhandenen Stoffe dar. Die eingesetzten Analysemethoden wie z. B. GC/MS beschränken sich auf niedermolekulare Substanzen. Um weitere Einsichten in die Zusammensetzung des PW zu erhalten, sollten ergänzende Analysen, unter anderem mittels Massenspektroskopie-gekoppelter Flüssigchromatographie (LC/MS) durchgeführt werden. Die Konzentration an potenziell verwertbaren organischen Inhaltsstoffen, die bislang im PW nachgewiesen wurden, lag nur im Falle der Douglasie in nennenswerten Bereichen. Allerdings war die Isolierung sehr aufwendig. Für eine Überführung in einen größeren, für die chemische Industrie rentablen Maßstab müssten zunächst geeignetere Verfahren ermittelt werden. Weitaus größeres Potential zeigten die Versuche zur biotechnologischen Wertschöpfung: Das PW wies eine stark induzierende Wirkung auf die Enzymproduktion in *T. reesei* auf. Weitere Wachstumsexperimente mit verschiedenen Fraktionen aus dem PW könnten aufzeigen, welche Komponente(n) im PW für diese erhöhte Enzymaktivität verantwortlich ist bzw. sind. Die Bio-Klärung des PW mit Weißfäule-Pilzen bot ebenfalls großes Potential, weshalb dieser Ansatz weiter untersucht werden soll. Dabei ließen sich Pilzstämme und Bedingungen finden, die eine komplette Entfärbung des PW erreichen und optimalerweise parallel industriell relevante Enzyme produzieren.