
2. Kurzfassung

Die anaerobe Vergärung von organischem Material wurde in den letzten Jahrzehnten intensiv untersucht. Bis dato wird sie jedoch zum Teil immer noch als eine Art „Black Box“ bezeichnet, bei der einige essentielle Informationen über die involvierten Mikroorganismen und Prozesse fehlen. Aus diesem Grund ist es nötig, den Stand des Wissens auf diesem Gebiet der erneuerbaren Energien zu erweitern.

Der Grundstein für die vorliegende Doktorarbeit wurde durch ein Projekt (geleitet von Prof. Paul Illmer) gelegt, welches sich mit der Evaluierung von Steuerungsparametern der Biogasanlage Roppen (Österreich) beschäftigte. In dem thermophilen Propfenstromreaktor mit einem Gesamtvolumen von 900 m³ wird Methan produziert, welches schlussendlich in das Gasnetz eingespeist wird. Das Ziel der Doktorarbeit war es, das Verständnis von potentiellen Effekten einiger abiotischer und biotischer Faktoren auf die Gesamtperformance des anaeroben Vergärungsprozesses zu vertiefen. Die Untersuchungen wurden überwiegend mittels Batch-Kultivierung in Serumflaschen geführt, und verdünnter Fermenterschlämme der zuvor erwähnten Biogasanlage wurde als Inokulum verwendet. Die wichtigsten Methoden ermöglichten die qualitative und quantitative Charakterisierung des produzierten Biogases (GC, Druckmessung und Gaszähler), die Bestimmung der Konzentration von gelösten Zwischenprodukten (HPLC), wie auch die Charakterisierung der mikrobiellen Gemeinschaften (Denaturierende Gradienten-Gelelektrophorese, quantitative PCR und verschiedene Arten der Mikroskopie).

Im ersten Teil der Arbeit wurde der Fokus auf abiotische Faktoren gelegt. Die hemmenden wie auch förderlichen Effekte von verschiedenen Konzentrationen von volatile Fettsäuren (VFAs) und Ammonium wurden bestimmt, und es zeigte sich, dass nur Formiat zu einer starken Methanproduktion innerhalb weniger Tage ohne nennenswerter lag-Phase führte. Weiters konnte eine Toleranz gegenüber hohen Formiat-Konzentrationen (bis zu etwa 100 mM) festgestellt werden. Auch bei Ammonium konnte eine hohe Toleranz ermittelt werden, höchstwahrscheinlich auf Grund hoher Konzentrationen im Fermenterschlämme. Darüber hinaus konnte belegt werden, dass die Schüttelgeschwindigkeit relevant für die Methanproduktion war, und zwar führte moderates Schütteln zur höchsten Methanproduktion. Während weiteren Experimenten wurde mittels analytischen und molekularbiologischen Methoden sowie thermodynamischen Berechnungen der Abbau von Formiat in einem Intervall von 12 h über 7 d verfolgt. Außerdem wurden die Effekte von elf Antibiotika und dem Methanogenen-Inhibitor 2-Bromethansulfonat (BES) auf den VFA-

Abbau, die Methanproduktion, und die Veränderung der Populationsstruktur von Archaea und Bacteria untersucht. Interessanterweise zeigten nur BES und die Antibiotika Neomycin, Gentamicin und Rifampicin, welche in die Proteinsynthese eingreifen, signifikante Effekte. Neomycin und BES inhibierten den Acetat-Abbau komplett und in einem gewissen Ausmaß auch den von Propionat und Butyrat. Gentamicin und Rifampicin führten zu einer kompletten Hemmung des Propionat- und Butyratabbaus, während die Methanogenese aus Acetat nicht beeinflusst wurde.

Während eines weiteren Teils der vorliegenden Arbeit konzentrierten wir uns auf den biotischen Hintergrund der anaeroben Vergärung, und hier wiederum auf potentielle „Schlüssel-Organismen“, die essentiell für die Prozesse sind. In einem ersten Schritt wurden mikrobielle Konsortien etabliert und in Bezug auf ihre Kapazität, den anaeroben Vergärungsprozess während verschiedenen Phasen zu verbessern, evaluiert.

Im Zuge des ersten Experimentes wurde einem anaeroben Vergärungsprozess nach einer 30-tägigen Stagnationsphase eine Acetat-abbauenden Anreicherungskultur zugegeben, die laut molekularbiologischen Untersuchungen vor allem aus Vertretern der acetoclastischen, methanogenen Gattung *Methanosarcina* bestand. Diese Bioaugmentation führte zu einer drastischen Reduktion der akkumulierten VFAs und zu einer Wiederaufnahme der Methanogenese. In einem weiteren Experiment wurden mikrobielle Konsortien aus dem Fermenterschlamm isoliert, mittels verschiedenen Strategien an erhöhte Acetatkonzentrationen adaptiert und anschließend hinsichtlich ihrer Toleranz gegenüber Acetat evaluiert. Obwohl eine hohe Abundanz der Vertreter der hydrogenotrophen Gattung *Methanoculleus* festgestellt werden konnte, was auf eine potentielle syntrophe Acetat-Oxidation hindeutete, wurden diese Organismen durch die verschiedenen Anreicherungsstrategien offensichtlich kaum beeinflusst. Jedoch bewirkten die Anreicherungen signifikant unterschiedliche Acetatabbau- und Methanogeneseraten. Somit konnte der beschleunigte Start-up unter hohen Acetatkonzentrationen dem bemerkenswerten Anstieg der Vertreter von *Methanosarcina* spp. zugeschrieben werden.

Die vorliegenden Resultate betonen das große Potential der acetoclastischen *Methanosarcina* spp. zur Methanogenese aber auch die Robustheit von Vertretern der hydrogenotrophen Gattung *Methanoculleus*. Obwohl die präsentierten Bioaugmentationen sehr erfolgsversprechend scheinen, um Prozesse zu verbessern und um verschlechterten Bedingungen entgegenzuwirken, sind noch weitere Untersuchungen nötig, ehe man ein „Upscaling“ hin zu Biogasanlagen beginnt.