

Karen Sensel-Gunke, Ulrike Schimpf, Josephine Getz und Manfred Krockner

# Enzymhaltiger Kot von Pflanzenfressern erhöht Biogasausbeute aus pflanzlicher Biomasse

Für eine Steigerung der Biogasausbeute muss der Abbau der Faserbestandteile in Energiepflanzen verbessert werden. Enzymatische Behandlungsverfahren rücken neben mechanischen und chemischen Aufschlussmöglichkeiten stärker in den Fokus der wissenschaftlichen Forschung. Hier gilt es, kostengünstige Quellen zur Gewinnung dieser Enzyme zu finden; eine mögliche Herkunft ist der speziell ausgerichtete Verdauungstrakt von Pflanzenfressern mit seinen auf den Faser-Abbau spezialisierten Mikroorganismen. Am Beispiel von Kaninchenkot wurde deren Einfluss auf den Abbau von Maissilage in Laborgärversuchen untersucht.

## Schlüsselwörter

Biogas, Kaninchenkot, Enzyme, Methanertrag, Lignocellulose

## Keywords

Biogas, rabbit faeces, enzymes, methane yield, lignocellulose

## Abstract

Sensel-Gunke, Karen; Schimpf, Ulrike; Getz, Josephine and Krockner, Manfred

Enzyme-containing faeces of herbivores increases biogas yield of energy crops

Landtechnik 68(2), 2013, pp. 112–116, 1 figure, 2 tables, 13 references

In order to increase the biogas yield of energy crops the degradation of fibrous constituents needs to be improved. In addition to mechanical and chemical procedures of treatment, more attention is given to research regarding enzymatic treatment. Therefore, efforts are concentrating on finding inexpensive sources for enzyme production. One source could be the digestive tract of herbivores which contains microorganisms and enzymes highly specialized in fibre degradation. The influence of such microorganisms and their enzymes on the degradation of maize silage has been demonstrated in anaerobic batch digestion tests using the example of rabbit faeces.

■ Im Zuge der Umstellung auf erneuerbare Energieträger werden landwirtschaftliche Flächen verstärkt zum ausschließlichen Energiepflanzenanbau genutzt. Auf über 2,5 Mio. ha wurden im Jahr 2011 Industrie- und Energiepflanzen angebaut. Davon entfielen 810 000 ha auf den Energiepflanzenanbau von Mais für den Einsatz in Biogasanlagen [1]. Das sind ca. 7 Prozent der Ackerfläche in Deutschland.

Lignocellulose bildet die Zellwand von Pflanzen und dient ihnen als Strukturgerüst. Die beiden Polysaccharide Hemicellulose und vor allem Cellulose formieren zunächst eine Struktur, in die beim Prozess der sogenannten Verholzung (Lignifizierung) nachträglich Lignine eingelagert werden. Lignine sind hoch verzweigte, biologisch schwer abbaubare Makromoleküle aus phenolischen Grundeinheiten. Vor allem unter den in Biogasanlagen herrschenden anaeroben Bedingungen kann dieser Lignocellulose-Komplex der Pflanzen nur sehr schwer mikrobiell abgebaut werden.

Aktuelle Untersuchungen zielen auf den verbesserten Aufschluss dieser Strukturen, um letztlich den mikrobiellen Abbau der Polysaccharide wie Cellulose bei simultaner Erhöhung der Biogas- bzw. Methanausbeute zu verbessern. Dabei sind enzymatische Aufschlussverfahren stärker in den Fokus der Untersuchungen gerückt. Hier gilt es, vor allem kostengünstige Quellen zur Gewinnung geeigneter Enzyme zu finden. Eine mögliche Quelle ist der Verdauungstrakt von Herbivoren; diese konsumieren pflanzliche Substrate – mit einem je nach Tierart unterschiedlichen Rohfaseranteil als Hauptenergielieferant. Die hierzu notwendigen Mikroorganismen und Enzyme befinden sich im Verdauungstrakt und sind auf den Rohfaser-Abbau spezialisiert. Über den Kot werden Mikroorganismen und Enzyme ausgeschieden. Kot von Herbivoren ist somit ein natürlicher Enzymträger.

Kaninchen bilden eine spezielle Gruppe der kleinen Herbivoren. Sie produzieren zwei verschiedene Arten von Kot, den Hartkot und den Blinddarmkot. Der Kot aus der Blinddarmfermentation wird sofort wieder gefressen. Das als Koprophagie (kotfressend) bezeichnete Verhalten bewirkt eine bessere Protein- und Faserverwertung der Nahrung durch die Aufnahme von mikrobiellem Protein. Der Blinddarm nimmt bei Kaninchen ca. 40 % des Verdauungssystems ein. Er ist Hauptort der bakteriellen Verdauung. Die dort symbiotisch lebenden Bakterien produzieren u. a. fibrolytische Enzyme, welche die Polysaccharid-Struktur der Zellwände der pflanzlichen Nahrung abbauen [2]. Die Hydrolyse von Lignocellulose zu einfachen Zuckern erfolgt meist durch einen Enzymkomplex aus Cellulase zusammen mit Enzymen, welche die nichtcellolytischen Polysaccharide Hemicellulose und Pektin attackieren [3]. Prinzipiell können Säugetiere keine pektinolytischen Enzyme produzieren. Bei sogenannten Blinddarm-Vergärern, wie z. B. Kaninchen und Pferd, wird jedoch der Blinddarm von anaeroben Bakterien besiedelt, die Pektin abbauende Enzyme produzieren. Untersuchungen ergaben eine pektinolytische Bakterienkonzentration im Blinddarminhalt von Kaninchen mit 108 kbE (koloniebildende Einheit) per g Frischmasse (FM) [4]. Im Blinddarm von Kaninchen wurde auch die höchste hydrolytische Gesamtzymaktivität des gesamten Verdauungssystems gemessen, die enzymabhängig 2- bis 6-mal höher ist als beispielsweise im Dickdarm [5].

Am Beispiel von Hart- und Blinddarmkot von Kaninchen wurde der Einfluss von Kot kleiner Herbivoren auf den Abbau von Maissilage in diskontinuierlichen Gärversuchen untersucht. Für die durchgeführten Versuche galten folgende Arbeitshypothesen:

- Bei Zugabe des Kots von Kaninchen zu rohfaservaltigen Substraten in Biogasanlagen kann deren Aufschluss verbessert werden. Hartkot und Blinddarmkot von Kaninchen sind Enzymträger. Diese Enzyme sind auf die Verdauung rohfaservaltiger Nahrung spezialisiert.
- Da Blinddarmkot höhere Enzymaktivitäten als Hartkot aufweist [5], sind hier bessere Aufschlüsse/Biogasausbeuten zu erwarten.

Folgende Fragestellungen standen daher im Mittelpunkt der Untersuchungen:

- Welche hydrolytischen Aktivitäten weisen beide Kaninchenkotarten bezüglich der Enzyme Pektinase, Cellulase und Xylanase auf?
- Gibt es einen kotabhängigen bzw. enzymabhängigen Einfluss auf die Vergärung lignocellulosereicher pflanzlicher Substrate?

## Material und Methoden

Der Hartkot wurde als Mischprobe von ca. 200 säugenden Hänsinnen (1-2 Jahre alt) und Jungtieren (10-12 Wochen alt) aus einem Kaninchenzuchtbetrieb in Brandenburg entnommen. Der Blinddarmkot wurde aus 60 Blinddärmen von geschlachteten Jungtieren (12-15 Wochen alt) eines Brandenburger Schlacht-

hofs am Tag der Schlachtung gewonnen. Beide Kotarten stammten ausschließlich von Kaninchen der Hybridrasse „Zika“.

Eine chemische Charakterisierung beider Kotarten sowie der Maissilage fand auf der Basis folgender Methoden statt: Die Bestimmung der Trockensubstanz und der organischen Trockensubstanz erfolgte nach VDLUFA Bd. III, Kap. 3.1 respektive VDLUFA Bd. III, Kap. 8.1. Die Stickstoff- und Ammoniumstickstoffbestimmung wurde nach der Kjeldahl-Methode VDLUFA Bd. III, Kap. 4.1.1 und VDLUFA Bd. III, Kap. 4.8.1 durchgeführt [6].

Für die Bestimmung ausgewählter Enzymaktivitäten wurden spezifische, hydrolytische Enzyme des Verdauungstrakts des Kaninchens mit vergleichsweise hohen Aktivitäten gewählt. Dazu gehören Pektinase, Cellulase und Xylanase. Gleichzeitig stellen diese Enzyme die Hauptakteure für den natürlichen Abbau des Lignocellulose-Komplexes dar. Im Rahmen der Arbeiten wurden die Enzymaktivitäten auf der Basis der Bildung von Glucoseäquivalenten (Reduktionsäquivalente) bestimmt und in Units je g FM Kot angegeben. Eine Unit (U) ist per Definition die Enzymkonzentration, welche 1 µmol Reduktionsäquivalente pro Minute freisetzt.

Die Probenvorbereitung erfolgte in Anlehnung an Gidene [7]. Probenaliquote vom Blinddarm- bzw. Hartkot wurden mit Citronensäure-Phosphat-Puffer (McIlvaine-Puffer, pH 7,5) versetzt. Diese Lösungen wurden für einen primären Zellaufschluss eingefroren und wieder aufgetaut. Anschließend wurden die Lösungen mit Ultraschall im Eisbad homogenisiert und zentrifugiert. Der Überstand wurde filtriert und der Rohextrakt bis zur Analyse eingefroren.

Die Enzymaktivitätsbestimmung im Kot erfolgte auf der Basis der Farbreaktion von Dinitrosalicylsäure mit aus Modellsubstraten freigesetzten reduzierenden Kohlenhydraten [8]. Die Rohextraktlösungen wurden unverdünnt bzw. 1:2 verdünnt mit den Modellsubstratlösungen Pektin (Fa. Herbstreith & Fox KG; 0,25%ig w/v), Carboxymethylcellulose CMC (Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH; 1-, 2- und 3%ig w/v) und Arabinoxylan (Fa. Megazyme International Ireland Ltd.; 0,25%ig w/v) inkubiert. Die Inkubationstemperatur betrug 38 °C bei einem pH-Wert von 7,5. Die Parameterauswahl orientierte sich dabei an den Kennwerten mesophil gefahrener, einstufiger Biogasanlagen. Die Inkubationszeiten betragen 20, 40 und 60 Minuten. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von Dinitrosalicylsäure gestoppt und die Absorption der Lösungen bei 530 nm spektralphotometrisch gemessen.

Diskontinuierliche Gärversuche zur Methanertragungspotenzialbestimmung wurden in Eudiometerapparaturen entsprechend den Vorgaben der VDI-Richtlinie 4630 durchgeführt [9]. Als Testsubstrat in den Gärversuchen wurde Maissilage der Agrargenossenschaft Trebbin eingesetzt. Als Inokulum diente Faulschlamm der Kläranlage Wansdorf. Folgende Varianten wurden untersucht:

- Methanertragungspotenzial von Maissilage (1 Variante)
- Methanertragungspotenzial von Maissilage bei Zugabe von Hartkot und Blinddarmkot in je zwei Konzentrationen: 10 g und 50 g Kot je kg FM Maissilage (4 Varianten)

- Methanertragspotenzial von Maissilage bei Zugabe von vorher autoklaviertem Hartkot und Blinddarmkot zu Maissilage in der höchsten Konzentration: 50 g steriler Kot je kg FM Maissilage (2 Varianten). Das Autoklavieren bei 121 °C für 30 Minuten diente der Inaktivierung der koteigenen Enzyme.

Die Zugabe des Kots erfolgte einmalig vor Versuchsstart. Alle Gärvarianten wurden in jeweils dreifacher Wiederholung durchgeführt. Die Vergärung erfolgte bei  $38 \pm 1$  °C und einer Verweildauer von 30 Tagen.

Tab. 1

Ausgewählte chemische Parameter von Hart- und Blinddarmkot  
Table 1: Specific chemical parameters of hard and soft faeces

Substrat Substrate	TS/DM %	oTS/VS % TS/DM	pH	$N_{\text{ges}}/N_t$ Kjeldahl	$NH_4\text{-N}$ Kjeldahl % FM/FW
Hartkot Hard faeces	27,27	86,78	7,7	0,90	0,17
Blinddarmkot Soft faeces	20,64	83,50	6,5	1,04	0,14

TS = Trockensubstanz, FM = Frischmasse, oTS = organische Trockensubstanz,  $N_{\text{ges}}$  = Stickstoff gesamt,  $NH_4\text{-N}$  = Ammonium-Stickstoff

DM = Dry Matter, FW = Fresh weight, VS = Volatile solids,  $N_t$  = Total nitrogen,  $NH_4\text{-N}$  = Ammonium nitrogen

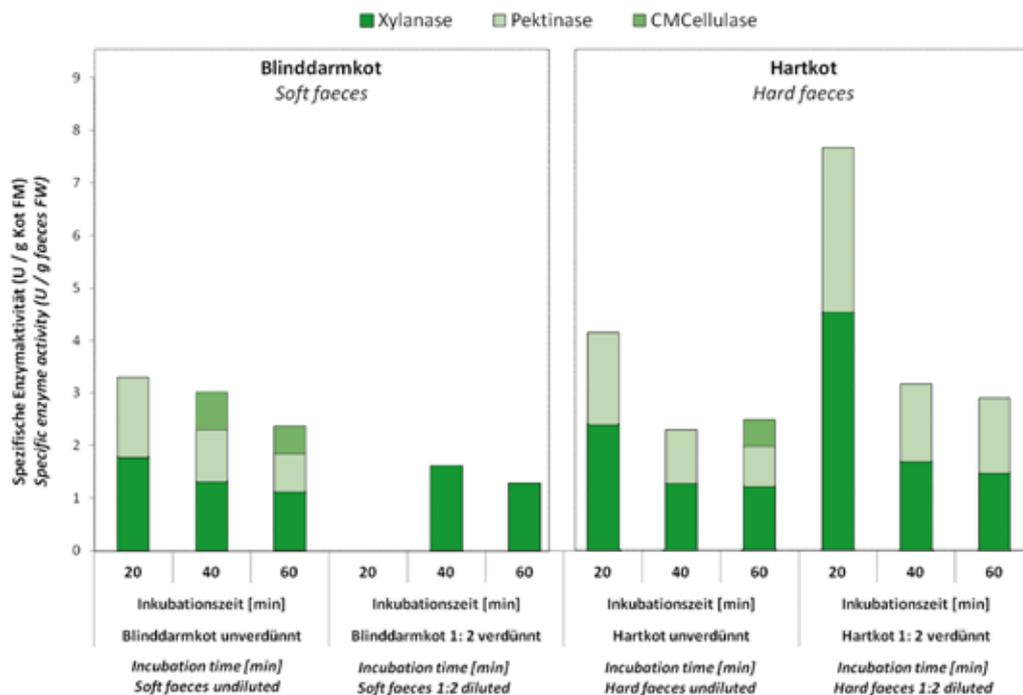
## Ergebnisse und Diskussion

Einen Überblick über die Zusammensetzung von Hart- und Blinddarmkot anhand ausgewählter Parameter gibt **Tabelle 1**. Der Blinddarmkot wies mit 20,64 % im Vergleich zum Hartkot (27,27 %) einen deutlich geringeren Gehalt an Trockensubstanz auf. Der pH-Wert im Blinddarmkot lag mit 6,5 um 1,2 Einheiten niedriger als im Hartkot.

Die Ergebnisse der Enzymaktivitätsbestimmung sind in **Abbildung 1** dargestellt. Es konnte in beiden Kotarten eine xylanolytische, pektinolytische sowie cellulolytische Enzymaktivität bestimmt werden. Die Enzymaktivitäten  $U\ g^{-1}$  Kot FM variierten sowohl hinsichtlich der untersuchten Enzyme als auch der Kotarten (**Abbildung 1**). Generell wurde eine geringfügig höhere Gesamtenzymaktivität im unverdünnten Hartkot der 1–2 Jahre alten Häsinnen im Vergleich zum unverdünnten Blinddarmkot der 12–15 Wochen alten Jungtiere festgestellt. Erklärbar ist dies etwa durch die mit dem Alter von Kaninchen zunehmenden Enzymaktivitäten im Verdauungssystem [5; 7].

Die höchsten Enzymaktivitäten wurden für Pektinase und Xylanase im unverdünnten und verdünnten Hartkot nach einer 20-minütigen Inkubation gemessen. Eine längere Inkubation führte zu einer Abnahme der spezifischen Enzymaktivitäten in beiden Kotarten. Im Fall von Hartkot bewirkte eine Verdünnung höhere spezifische Enzymaktivitäten bezüglich Xylanase und Pektinase. In der verdünnten Variante des Blinddarmkots konnte dagegen keine Pektinaseaktivität gemessen werden. Die CMCCellulase-Aktivitäten in beiden Kotarten waren gering,

Abb. 1



Enzymaktivitäten ( $U\ g^{-1}$  Kot FM) von Xylanase, Pektinase und CMCCellulase in unverdünntem und 1:2 verdünntem Hart- und Blinddarmkot in Abhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten

Fig. 1: Enzyme activities ( $U\ g^{-1}$  faeces FW) of xylanase, pectinase and CMCCellulase in undiluted and 1:2 diluted hard and soft faeces according to different incubation times

Tab. 2

Spezifische Methanertragspotenziale (NL kg<sup>-1</sup> oTS) von Maissilage mit und ohne Kotzusatz, Werte nach 30 Tagen der Vergärung bei 38 °C, Mittelwerte aus drei Wiederholungen

Table 2: Specific methane yields (NL kg<sup>-1</sup> VS) of maize silage with and without addition of faeces, final values after 30 days of digestion at 38 °C, average of three repetitions

	Einheit Unit	Maissilage unbehandelt Maize silage untreated	Maissilage mit Maize silage with					
			BK 10 SF 10	BK 50 SF 50	BK 50 Steril SF 50 sterile	HK 10 HF 10	HK 50 HF 50	HK 50 Steril HF 50 sterile
Norm-Methanertragspotenzial Specific methane yield	NL kg <sup>-1</sup> oTS NL kg <sup>-1</sup> VS	300	305	317	325	318	334	328
Standardabweichung der Wiederholungen Standard deviation of the replicates	%	3,0	13,1	0,9	7,7	3,5	2,4	9,5
Norm-Methanertragspotenzial abzüglich Eigengasproduktion des Kots Specific methane yield minus internal methane yield of faeces	NL kg <sup>-1</sup> oTS NL kg <sup>-1</sup> VS		304	314	323	317	330	324
Methanmehrertrag durch Kotzugabe im Vergleich zur unbehandelten Maissilage Additional methane yield by adding of faeces to maize silage in comparison to untreated maize silage	%		1,2	4,6	7,4	5,5	10,0	8,0

BK = Blinddarmkot, HK = Hartkot, 10 = 10 g Kot je kg Maissilage Frischmasse, 50 = 50 g Kot je kg Maissilage Frischmasse  
SF = Soft faeces, HF = Hard faeces, 10 = 10 g faeces kg<sup>-1</sup> maize silage fresh weight, 50 = 50 g faeces kg<sup>-1</sup> maize silage fresh weight

sodass die Messwerte z.T. nicht auswertbar waren. Auswertbare Ergebnisse für beide Kotarten wurden nur in den unverdünnten Varianten, bei höher konzentrierten CMC-Lösungen (2 bzw. 3 %ig) und bei längeren Inkubationszeiten von 40 bzw. 60 Minuten erzielt. Es wird deutlich, dass das Enzym-Substrat-Verhältnis eine wesentliche Rolle spielt. Weitere Untersuchungen zum Verhältnis von Enzym zu Substrat für den Aktivitätsnachweis, aber auch bezüglich eines optimalen Kot-Biogassubstrat-Verhältnisses sind notwendig.

In **Tabelle 2** sind die Norm-Methanertragspotenziale von Mais mit und ohne Zugabe von Blinddarm- und Hartkot zur Maissilage dargestellt. Im Fall der mit verschiedenen Kotarten behandelten Maissilage wurde die Eigengasproduktion des Kots separat berechnet und vom Gesamtmethanertrag subtrahiert. Durch einen Dunnett-T3-Test konnte in keiner der mit Kot behandelten Varianten ein signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) gegenüber der unbehandelten Variante festgestellt werden. Der Einsatz von Kot führte jedoch zu tendenziell höheren Methanerträgen. Insbesondere Hartkot erbrachte bei der Zugabe von 50 g Kot je kg Maissilage eine Ertragssteigerung um 10%. Mit kommerziellen, größtenteils hochkonzentrierten Enzympräparaten für den Einsatz in Biogasanlagen sind Methanertragssteigerungen um 4 bis 35% möglich [10]. In Untersuchungen konnte aufgezeigt werden, dass enzymhaltige Reststoffe wie Nebenprodukte der Speisepilzproduktion die Methanausbeute um 3 bis 24% steigern können [11]. Dabei wurde mit den gleichen Konzentrationen an enzymhaltigen Reststoffen, aber mit einem im Vergleich zu Maissilage lignocellulose-reichen,

mechanisch aufgearbeiteten Substrat aus Heu und Stroh gearbeitet. Damit befanden sich die hier dargestellten Ertragssteigerungen im Leistungsbereich derartiger Enzympräparate mit Ausnahme der Variante 10 g Blinddarmkot kg<sup>-1</sup> Maissilage FM. Auch durch die Zugabe von sterilem Kot wurde überraschend eine Erhöhung des Methanertrags von 7,4% (Blinddarmkot) und 8% (Hartkot) erzielt. Neben einer nicht ausreichenden Inaktivierung könnte unter Umständen das Autoklavieren auch zu einem thermischen Aufschluss der Faserbestandteile und damit zu einer besseren mikrobiellen Verfügbarkeit im Kot geführt haben [12]. Jüngste Untersuchungen an autoklavierter Rindergülle ergaben ein bis zu 21% höheres Methanbildungspotenzial [13]. Für zukünftige Versuche müssen daher die sterilen Kotvarianten in die Methanpotenzialbestimmung zwingend einbezogen werden.

Kot unterscheidet sich jedoch hinsichtlich kommerzieller Enzympräparate in der Enzymkonzentration. Bei hochkonzentrierten Enzymprodukten wird lt. Herstellerangaben derzeit bis 0,2 kg Produkt t<sup>-1</sup> oTS in Biogasanlagen eingesetzt. Für den Einsatz von beispielsweise Hartkot als Enzympräparat wären bezogen auf die Variante 50 g Kot kg<sup>-1</sup> FM umgerechnet ca. 200 kg t<sup>-1</sup> oTS bzw. 50 kg je Tonne FM notwendig. Alternativ könnten daher Enzyme aus dem Kot gewonnen bzw. aufkonzentriert werden. Derzeit hat Kot jedoch den Vorteil, dass er als Reststoff anfällt. Der Preis kommerzieller Enzympräparate für Biogasanlagen liegt im Durchschnitt bei ca. 30 Euro pro Kilogramm. Diese könnten kostengünstiger durch unbehandelten Kot ersetzt werden, wenn dieser am Standort der Biogasanlage anfällt.

### Schlussfolgerungen

Kot von Kaninchen ist ein natürlicher Träger von Enzymen, welcher für einen Aufschluss lignocellulosereicher Substrate geeignet ist. Die Versuche haben gezeigt, dass durch den Zusatz von Hart- und Blinddarmkot von Kaninchen zu Maissilage Methanertragssteigerungen um 4,6 bis 10 % erreicht werden können. Die in den Untersuchungen erzielten Mehrerträge liegen im Bereich kommerzieller Enzympräparate. Angesichts der jedoch dafür benötigten Kotmengen ist eine kostengünstige verfahrenstechnische Mengenreduktion bzw. Enzymaufkonzentrierung anzustreben. Die Ergebnisse ermöglichten eine erste Erfolg versprechende Annäherung an das eingangs benannte Thema. Weitere Versuche mit dem Kot von Kaninchen sind anzuraten. Dazu gehören neben diskontinuierlichen auch kontinuierliche Gärversuche sowie eine Aufbereitung des anfallenden Kots. Weitere Untersuchungen sollten auf den Einsatz von Kot als Hilfsstoff in der hydrolytischen Phase zweistufiger Anlagen fokussieren. Die dort herrschenden pH-Werte führen möglicherweise zu einer höheren Enzymwirkung. Auch ein Screening von Kotarten anderer Pflanzenfresser mit einer höheren Faserverdauungseffizienz erscheint für diesen Forschungsansatz vielversprechend.

### Literatur

- [1] Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (2011): Jahresbericht 2010/2011, Gülzow 2011. <http://mediathek.fnr.de/jahresbericht-2011-2012.html>, Zugriff am 10.1.2013
- [2] McLaughlin, C. A.; Chiasson, R. B. (1990): Laboratory Anatomy of the Rabbit. USA, Wm. C. Brown Publishers
- [3] Berlin, A.; Maximenko, V.; Gilkes, N.; Sessler J. (2007): Optimization of enzyme complexes for lignocellulose hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering* 97(2), pp. 287–296
- [4] Forsythe, S. J.; Parker D. S. (1985): Nitrogen metabolism by the microbial flora of the rabbit caecum. *Journal of Applied Microbiology* 58(4), pp. 363–369
- [5] Marounek, M.; Vovk, S. J.; Skrivanova, V. (1995): Distribution of activity of hydrolytic enzymes in the digestive tract of rabbits. *British Journal of Nutrition* 73, pp. 463–469
- [6] VDLUFA – Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (1997): Methodenbuch - Band III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Speyer, VDLUFA-Verlag
- [7] Gidenne, T.; Jehl, N.; Segura, M.; Michalet-Doreau, B. (2002): Microbial activity in the caecum of the rabbit around weaning: impact of a dietary fibre deficiency and of intake level. *Animal Feed Science and Technology* 99(1-4), pp. 107–118
- [8] Miller, G. L. (1959): Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31(3), pp. 426–428
- [9] VDI-Richtlinie 4630 (2006): Vergärung organischer Stoffe: Substratcharakterisierung, Probenahme, Stoffdatenerhebung, Gärversuche. Düsseldorf, Verein Deutscher Ingenieure
- [10] Gerhardt, M. (2007): The use of hydrolytic enzymes in agricultural biogas production, Proceedings of the International Conference on Progress in Biogas, 19.–22. September 2007, Hohenheim, S. 247–254
- [11] Schimpf, U. (2012): Biokatalysatoren zum Aufschluss von nachwachsenden Rohstoffen. 2. Öffentliches Symposium des Biogas Competence Networks (BCN) „BiogasPOTENZIALE: Erkennen, Erforschen, Erwirtschaften“, 29. Oktober 2012, Potsdam, In: Bornimer Agrartechnische Berichte 79, S. 76–86
- [12] Nesse, N., Wallick, J.; Harper, J. M. (1977): Pretreatment of cellulosic wastes to increase enzyme reactivity. *Biotechnology and Bioengineering* 19(3), pp. 323–336
- [13] Raju, C. S.; Sutaryo, S.; Ward, A. J.; Møller, H. B. (2012): Effects of high temperature isochoric pre-treatment on the methane yields of cattle manure, pig and chicken manure. *Environmental Technology* 34(2), pp. 239–244

### Autoren

**Dipl.-Ing. Karen Sensel-Gunke** und **Dipl.-Leb. Chem. Ulrike Schimpf** sind wissenschaftliche Mitarbeiterinnen in der Abteilung „Biogene Rohstoffe“ am Institut für Agrar- und Stadtökologische Projekte an der Humboldt-Universität zu Berlin (IASP), Philippstraße 13 (Haus 16), 10115 Berlin, E-Mail: [Karen.Sensel-Gunke@agrار.hu-berlin.de](mailto:Karen.Sensel-Gunke@agrار.hu-berlin.de)

**B. Sc. Josephine Getz** ist Studentin der Agrarwissenschaften und **Dr. Manfred Krockner** ist wissenschaftlicher Mitarbeiter des Fachgebietes Tierhaltungssysteme und Verfahrenstechnik an der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin