

Aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I
Justus-Liebig-Universität Gießen

**Biogasbildungspotenzial von
ausgewählten Nutzpflanzen aus der
Familie der Brassicaceae**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
(Doctor agriculturae – Dr. agr.)
im Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotoxikologie und
Umweltmanagement der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

BETTINA LESCHHORN

geb. Siekmann

aus Dortmund

Gießen, im Dezember 2015

Datum der Disputation: 7.12.2015

Prüfungskommission:

Vorsitzende: Prof. Gesine Lühken

Erstgutachter: Prof. Dr. Bernd Honermeier

Zweitgutachter: Prof. Dr. Günter Leithold

Prüferin: Prof. Dr. Gertrud Morlock

Prüfer: PD Dr. Feng Yan

*Die Wissenschaft fängt eigentlich erst da an,
interessant zu werden, wo sie aufhört.
(Justus von Liebig)*

INHALTSVERZEICHNIS

ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	6
FORMELVERZEICHNIS	7
TABELLENVERZEICHNIS	8
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	10
1 EINLEITUNG.....	12
2 LITERATURÜBERSICHT	15
2.1 Botanische Charakterisierung	15
2.2 Glucosinolate.....	17
2.2.1 Struktur, Synthese und Vorkommen von Glucosinolaten.....	17
2.2.2 Abbau von Glucosinolaten	18
2.2.3 Bioaktive Effekte der Spaltprodukte von Glucosinolaten	19
2.3 Biogasbildung.....	23
3 MATERIAL UND METHODEN.....	27
3.1 Feldversuche	27
3.1.1 Standortbedingungen	27
3.1.2 Versuchsanlage.....	29
3.2 Laboranalyse der Isothiocyanat-Verbindungen	34
3.2.1 Extraktion	34
3.2.2 Gaschromatographische Analyse.....	36
3.3 Biogasbildungspotenzial	41
3.4 Biogasversuche.....	43
3.5 Statistische Auswertung.....	45
4 ERGEBNISSE.....	47
4.1 Ergebnisse der Feldversuche mit Zwischenfrucht-Arten	47
4.1.1 Zwischenfrüchte 2009.....	47

4.1.3	Zwischenfrüchte 2010	49
4.2	Ergebnisse der Feldversuche mit Kohlarten	51
4.2.1	Feldversuch mit Kohl 2009	51
4.2.2	Feldversuch mit Kohl 2010	52
4.2.3	Feldversuch mit Kohl 2012	52
4.3	Isothiocyanat-Gehalte	54
4.3.1	Zwischenfrüchte 2009 und 2010 (silierte Proben)	54
4.3.2	Zwischenfrüchte 2010 (gefrorene Proben)	55
4.3.3	Kohl 2009 (silierte Proben)	58
4.3.4	Kohl 2012 (gefrorene Proben)	59
4.4	Biogasbildungspotenzial	61
4.4.1	Zwischenfrüchte 2010 (gefrorene Proben)	61
4.4.2	Zwischenfrüchte 2010 (silierte Proben)	62
4.4.3	Kohl 2010 (gefrorene Proben)	63
4.5	Biogasversuche	65
4.5.1	Zwischenfrüchte 2010 (gefrorene Proben)	65
4.5.2	Zwischenfrüchte 2010 (silierte Proben)	67
4.5.3	Kohl 2010 (gefrorene Proben)	70
4.5.4	Kohl 2010 (silierte Proben)	72
5	DISKUSSION	75
5.1	Biomasse-Erträge	75
5.2	Isothiocyanat-Gehalte	76
5.2.1	Einfluss von Erntebedingungen und Lagerung	76
5.2.2	Einfluss der Stickstoff-Düngung und der Witterung	77
5.2.3	Isothiocyanat-Gehalte in Zwischenfrüchten und Kohl-Arten ...	79
5.3	Biogasbildungspotenzial	80
5.4	Biogasversuche	81
5.4.1	Vergleich von Zwischenfrüchten und Kohl-Arten mit Mais	81

5.4.2 Einfluss auf die Methanbildung.....	83
5.5 Fazit	86
ZUSAMMENFASSUNG	88
SUMMARY	90
REFERENZEN.....	92
ANHANG	99
DANKSAGUNG	110
ERKLÄRUNG	111

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 2.1:	Grundstruktur der Glucosinolate.....	18
Abb. 2.2:	Hydrolyse von Glucosinolat.....	19
Abb. 2.3:	Chemische Strukturen und Molekülmassen von ITCs und Goitrin.....	23
Abb. 2.4:	Anaerober Abbau organischen Materials zu Biogas.....	24
Abb. 3.1:	Chromatogramm der Standard-Mischung, Skalierung bis 3 MCounts	40
Abb. 3.2:	Chromatogramm der Standard-Mischung, Skalierung bis 60 kCounts	40
Abb. 4.1:	Verlauf der Methanbildung von gefrorenen Zwischenfrüchten.....	67
Abb. 4.2:	Verlauf der Methanbildung von silierten Zwischenfrüchten.....	69
Abb. 4.3:	Verlauf der Methanbildung von gefrorenem Kohl.....	71
Abb. 4.4:	Verlauf der Methanbildung von siliertem Kohl.....	74
Abb. 5.1:	Typische Verläufe von Gasbildungskurven.....	84
Abb. A.2:	Massenspektrum von A-ITC.....	99
Abb. A.3:	Massenspektrum von 3-B-ITC.....	100
Abb. A.4:	Massenspektrum von P-ITC.....	100
Abb. A.5:	Massenspektrum von B-ITC.....	101
Abb. A.6:	Massenspektrum von 4-Mtb-ITC.....	101
Abb. A.7:	Massenspektrum von Iberin.....	102
Abb. A.8:	Massenspektrum von PE-ITC.....	102
Abb. A.9:	Massenspektrum von Goitrin.....	103
Abb. A.10:	Massenspektrum von Sulforaphan.....	103
Abb. A.11:	Kalibrierfunktion von A-ITC.....	104
Abb. A.12:	Kalibrierfunktion von 3-B-ITC.....	104
Abb. A.13:	Kalibrierfunktion von P-ITC.....	105
Abb. A.14:	Kalibrierfunktion von B-ITC.....	105
Abb. A.15:	Kalibrierfunktion von 4-Mtb-ITC.....	106
Abb. A.16:	Kalibrierfunktion von PE-ITC.....	106
Abb. A.17:	Kalibrierfunktion von Goitrin.....	107
Abb. A.18:	Kalibrierfunktion von Iberin.....	107
Abb. A.19:	Kalibrierfunktion von Sulforaphan.....	108

FORMELVERZEICHNIS

Formel 3.1: Gleichung zur Berechnung des KOVÁTS-Indexes	38
Formel 3.2: Gleichung zur Berechnung der FoTM von Maisganzpflanzen, Lieschkolben und Maiskorn, Maissilagen	42
Formel 3.3: Gleichung zur Berechnung der FoTM von Kreuzblütlern	42
Formel A.1: Korrektur des TM-Gehaltes von Silagen.....	109
Formel A.2: Umrechnung von $\mu\text{mol g}^{-1}$ TM in $\mu\text{mol 100 g}^{-1}$ TM.....	109
Formel A.3: Umrechnung von $\mu\text{g g}^{-1}$ FM in $\mu\text{mol 100 g}^{-1}$ TM	109

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 2.1:	Vorkommen von Glucosinolaten.....	16
Tab. 3.1:	Nährstoffversorgung des Bodens, pH-Wert und Grunddüngung der Versuchsfläche mit Zwischenfruchtarten	27
Tab. 3.2:	Nährstoffversorgung des Bodens, pH-Wert und Grunddüngung der Versuchsflächen mit Kohlarten.....	28
Tab. 3.3:	Klimadaten (Temperatur und Niederschlag)	28
Tab. 3.4:	Charakterisierung der verwendeten Zwischenfruchtarten und -sorten .	30
Tab. 3.5:	Charakterisierung der verwendeten Kohlarten und -sorten	32
Tab. 3.6:	Einsatz von Pflanzenschutzmittel	32
Tab. 3.7:	Glucosinolate, ihre Spaltprodukte und deren chemische Identität	37
Tab. 3.8:	Temperaturprogramm zur Trennung von Isothiocyanaten am GC.....	37
Tab. 3.9:	Identifizierte Isothiocyanate	39
Tab. 3.10:	Übersicht über die durchgeführten Batchversuche	44
Tab. 4.1:	Biomasseerträge und TM-Gehalte von Zwischenfrüchten, 2009, Aussaat I.....	47
Tab. 4.2:	Biomasseerträge und TM-Gehalte von Zwischenfrüchten, 2009, Aussaat II	48
Tab. 4.3:	Biomasseerträge und TM-Gehalte von Zwischenfrüchten, 2010, Aussaat I.....	50
Tab. 4.4:	Biomasseerträge und TM-Gehalte von Zwischenfrüchten, 2010, Aussaat II	51
Tab. 4.5:	Biomasseerträge und TM-Gehalte von Kohl, 2009	51
Tab. 4.6:	Biomasseerträge und TM-Gehalte von Kohl, 2010	53
Tab. 4.7:	Biomasseerträge und TM-Gehalte von Kohl, 2012	53
Tab. 4.8:	ITC-Gehalte von silierten Zwischenfrüchten, 2009	54
Tab. 4.9:	ITC-Gehalte von silierten Zwischenfrüchten, 2010	55
Tab. 4.10:	ITC-Gehalte von gefrorenen Zwischenfrüchten, 2010, Aussaat I, Düngungsstufe I.....	56
Tab. 4.11:	ITC-Gehalte von gefrorenen Zwischenfrüchten, 2010, Aussaat I, Düngungsstufe II.....	57
Tab. 4.13:	ITC-Gehalte von siliertem Kohl, 2009.....	59
Tab. 4.14:	ITC-Gehalte von gefrorenem Kohl, 2012	60
Tab. 4.15:	Gasbildungspotenzial von gefrorenen Zwischenfrüchten, 2010.....	61

Tab. 4.16: Gasbildungspotenzial von silierten Zwischenfrüchten, 2010,.....	63
Tab. 4.17: Gasbildungspotenzial von gefrorenem Kohl, 2010	64
Tab. 4.18: Biogaserträge und Schwefelwasserstoffbildung von gefrorenen Zwischenfrüchten	65
Tab. 4.19: Biogaserträge und Schwefelwasserstoffbildung von silierten Zwischenfrüchten	68
Tab. 4.20: Biogaserträge und Schwefelwasserstoffbildung von gefrorenem Kohl.....	70
Tab. 4.21: Biogaserträge und Schwefelwasserstoffbildung von siliertem Kohl.....	73
Tab. A.1: Konzentrationen [$\mu\text{mol ml}^{-1}$] der ITC-Standards	108

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

3-B-ITC	3-Butyl-Isothiocyanat
4-Mtb-ITC	4-Methylthiobutyl-Isothiocyanat
A	Alkohole
A-ITC	Allyl-Isothiocyanat
ANOVA	Analysis of variance (dt.: univariate Varianzanalyse)
ASS	Ammonsulfatsalpeter
BBCH	Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und chemische Industrie
BBP	Biogasbildungspotenzial
B-ITC	Benzyl-Isothiocyanat
BSA	Bundessortenamt
CAS	Chemical-Abstracts-Services
CH ₄	Methan
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
DM	dry matter
DM _k	adjusted dry matter of ensiled samples (fermentation losses considered)
DSV	Deutsche Saatveredlung
EC	Enzyme Commission
EEG	Erneuerbare-Energien-Gesetz
ESP	Epithiospecific protein
FFS	Freie Fettsäuren
FM	Frischmasse
FoTM	Fermentierbare organische Trockenmasse
GC	Gaschromatograph
GC/MS	Gaschromatograph mit angeschlossenem Massenspektrometer
GD	Grenzdifferenz
GSL	Glucosinolat
H ₂ S	Schwefelwasserstoff
Hb-ITC	p-Hydroxybenzyl-Isothiocyanat
i. D.	im Durchmesser
ITC	Isothiocyanat
KI	Kováts-Index
KTBL	Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft
KWS	Kleinwanzlebener Saatzucht
LHL	Landesbetrieb Hessisches Landeslabor
L _n	Normliter
LSD	Least significance difference (dt.: Grenzdifferenz)
IM	langjähriges Mittel
M	Molekülmassen

m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
MBP	Methanbildungspotenzial
MS	Massenspektrometer
N	Stickstoff
NPZ	Norddeutsche Pflanzenzucht
NS	Niederschlag
ns	nicht signifikant
oTM	organische Trockenmasse
oTM _k	organische Trockenmasse von Silagen (Gärverluste berücksichtigt)
PE-ITC	Phenylethyl-Isothiocyanat
P-ITC	Phenyl-Isothiocyanat
PTFE	Polytetrafluorethylen
RG	Reifegruppe
Rt	Retentionszeit
S	Schwefel
SFP	Sulforaphan
TM	Trockenmasse
TM _k	korrigierte Trockenmasse von Silagen (Gärverluste berücksichtigt)
TM _n	normale Trockenmasse
XA	Rohasche
XF	Rohfaser

1 Einleitung

Allgemeines über Biogasproduktion

Aus Biomasse wurden im Jahr 2013 10 % der weltweiten Primärenergie produziert. Sie stellte damit nach Öl, Kohle und natürlichen Gasreserven die viertgrößte globale Quelle für Energie dar (REN, 2013). In Deutschland wurden 2013 aus erneuerbaren Energien 318 GWh für Strom, Wärme und Biokraftstoffe verbraucht, 12,6 % davon wurden aus Biogas erzeugt (AGEE-STAT, 2014). Somit wurde die Biogasproduktion zu einem bedeutenden Produktionszweig für die Landwirtschaft, insbesondere durch die stetig wachsende Nachfrage nach pflanzlichem Material als Co-Substrat in den vom Fachverband Biogas (2013) für 2015 prognostizierten 8005 installierten Biogasanlagen in Deutschland (DJATKOV et al., 2012). Nachweislich wurden durch die Nutzung von Biomasse für die Energieproduktion mit 40,2 % im Jahr 2013 der größte Teil an ersparten CO₂-äquivalenten Treibhausgasemissionen durch erneuerbare Energien erreicht (AGEE-STAT, 2014). Demzufolge kann die Biogasproduktion helfen, die Klimaerwärmung zu „entschleunigen“. Hinzu kommt, dass die komplette Pflanze zur Biogasproduktion eingesetzt werden kann und die Gärrückstände als Dünger wieder auf die Anbauflächen der Energiepflanzen ausgebracht werden können. Somit entsteht ein geschlossener Produktionskreislauf (AMON et al., 2007c).

Problemstellung

Silomais stellt mengenmäßig das wichtigste Co-Substrat dar, das in Deutschland in Biogasanlagen eingesetzt wird. Die Vorzüge von Silomais liegen in seinen hohen Biomasse-Erträgen, die je nach Standort ein Niveau von 200-250 dt TM ha⁻¹ erreichen, sowie in den sehr guten Biogas- und Methanausbeuten, die mit Mais in Biogasanlagen erzielt werden (AMON et al., 2007c). Die Zunahme der Biogasproduktion in landwirtschaftlichen Betrieben hat in den letzten Jahren dazu beigetragen, dass sich die Anbaufläche mit Silomais in Deutschland auf 2.092.600 ha erweitert hat (DESTATIS, 2015). Den Vorzügen des Maisanbaus, wie zum Beispiel den hohen Biomasse-Erträgen und dem guten Futterwert, stehen aber auch einige produktionsökologische Nachteile entgegen. Hierzu zählen der Humusabbau im Boden (insbesondere bei Silomais), die Erosionsgefährdung sowie die Emission von Spurengasen und der größer werdende Schädlingsdruck. Eine Konsequenz dieser Entwicklung ist die Begrenzung der Verwendung von Mais in Biogasanlagen laut EEG (2012) (§27 (5) Nr.1) auf max. 60 %. Aus diesem Grund kommt der Suche nach Alternativen zum Mais eine große Bedeutung zu.

Neben dem Silomais werden als Co-Substrate in Biogasanlagen auch Getreide-Ganzpflanzen-Silagen (Weizen, Triticale, Roggen), Zuckerrüben und Futterpflanzen (Gräser) eingesetzt (BRAUN et al., 2009). Darüber hinaus wurde in den letzten Jahren auch die Eignung von Futter-Sorghum für die Verwendung in Biogasanlagen geprüft (BRAUN, 2007; MAHMOOD & HONERMEIER, 2012).

Relativ geringe Erfahrungen zur Eignung für die Biogas-Produktion liegen mit Pflanzen der Brassicaceae vor. Diese Pflanzenfamilie repräsentiert eine vergleichsweise große Gruppe von Kulturpflanzen (z. B. Raps, Rübsen, Senf-Arten, Ökrettich, Stoppelrübe, Ölrauke, Gemüse-Kohlarten, Futter-Kohl u. a.), die den hiesigen Standortbedingungen gut angepasst sind.

Alle Pflanzen der Brassicaceae enthalten im gesamten Spross schwefel- und stickstoffhaltige Glucosinolate, die nach Zerstörung der Pflanzenmasse in verschiedene Spaltprodukte (u. a. Isothiocyanate und Nitrile) zerfallen. Der Gehalt an Glucosinolaten kann dabei ein Prozent der Trockenmasse in Geweben von Brassica-Gemüse ausmachen. In Samen mancher Arten sind sogar zehn Prozent möglich (FAHEY et al., 2001). Für einige der Spaltprodukte dieser Verbindungen sind antimikrobielle Wirkungen nachgewiesen (BEEVI et al., 2009; BROWN & MORRA, 2009; VIG et al., 2009). Ob diese antimikrobielle Wirkung auch die Aktivität von methanbildenden Mikroorganismen einschließt, wurde bislang kaum untersucht. Neben einer möglichen antimikrobiellen Wirkung glucosinolathaltiger Pflanzen könnte allerdings auch eine erhöhte Bildung von Schwefelwasserstoff zur Inhibierung der Methanproduktion in einem Reaktor beitragen.

Aufgrund der geringen Forschungsdaten konnte bisher nicht geklärt werden, ob sich Biomasse von Nutzpflanzen aus der Familie der Brassicaceae als Co-Substrat für die Biogasgewinnung eignet und welches Potenzial diese dafür in sich birgt.

Zielstellung

Aus der vorgenannten Problemstellung leiten sich folgende Fragestellungen ab, die mit verschiedenen Kulturpflanzen der Brassicaceae beantwortet werden sollen.

1. Welchen Einfluss haben variierende Saattermine und N-Aufwandmengen auf die Biomasse-Produktion von *Brassica*-Zwischenfrüchten?
2. Welche Biomasse-Erträge werden mit Kohl-Arten, die als Feldgemüse produziert werden, erzielt?
3. Wie hoch ist der Isothiocyanat-Gehalt in silierten und gefrorenen Zwischenfrüchten und Kohl-Arten?
4. Welche Ausbeuten an Methan sind für Zwischenfrüchte und Kohl-Arten zu erwarten?
5. Welche Biogas- und Methan-Erträge werden mit Zwischenfrüchten und Kohl-Arten aus der Familie der Brassicaceae im Vergleich zu Mais erzielt?
6. Besteht ein Zusammenhang zwischen den Gehalten an Isothiocyanaten und der Methan-Ausbeute?
7. Wie hoch ist die Schwefelwasserstoff-Belastung im Fermenter bei Verwendung von Arten der Brassicaceae als Co-Substrat?

2 Literaturübersicht

2.1 Botanische Charakterisierung der ausgewählten Nutzpflanzen

Zur Pflanzenfamilie der Brassicaceae (Kreuzblütler) gehören viele Nutzpflanzen, die vielseitig verwendet werden können. So gibt es eine große Auswahl an Gemüse, wie die Kohlarten, aber auch Wurzel- und Knollengemüse, wie Rettich und Kohlrübe. Zudem werden einige Arten auch als Gewürzpflanzen genutzt, insbesondere die Senf- und Meerretticharten sowie Gartenkresse und Rauke. In der Landwirtschaft werden die Brassicaceae meist als Körner-Ölpflanzen (z. B. Raps, Krambe und Leindotter) genutzt. Darüber hinaus werden viele Arten auch zur Futternutzung oder zur Gründüngung angebaut (Markstammkohl, Rübsen, Futterraps, Weißer Senf, Ölrettich).

Die Verwandtschaft der Nutzpflanzen erschließt sich jedoch nicht aus dem verwendeten Pflanzenorgan. Manche Arten haben sich in Subspezies unterteilt, von denen eine zur Ölgewinnung und die andere als Gemüse verwertet werden kann. Dies ist der Fall bei *Brassica napus*, deren Unterart Raps (*B. napus* var. *napus*) bekanntermaßen zur Ölgewinnung angebaut wird, während die Kohlrübe (*B. napus* var. *rapifera*) eine Wurzel ausbildet, die als Lebensmittel verwendet wird. Aber auch *Raphanus sativus* teilt sich in unterschiedlich genutzte Unterarten auf, den Ölrettich (*R. sativus* var. *oleiformis*) zur Körnernutzung und die Wurzelgemüse, zu denen Radies (*R. sativus* var. *sativus*) und Rettiche (*R. sativus* var. *niger*) gehören.

Kreuzblütler besitzen die Eigenschaft, dass sie im Gewebe Glucosinolate synthetisieren. Glucosinolate wurden in 16 dikotylen Familien der Ordnung Capparales gefunden. Alle Familien enthalten Gattungen, welche Benzyl- oder Hydroxybenzyl-Glucosinolate aus Phenylalanin oder Tyrosin synthetisieren. Glucosinolate, die vom Methionin abstammen, sind nur in Kreuzblütlern und in wenigen Gattungen der Capparaceae enthalten, obwohl sie ein Drittel aller bekannten Glucosinolate ausmachen (MITHEN, 2001).

Die Glucosinolate fungieren als Repellentien gegen Fraßfeinde wie Vögel, Säugetiere und Schnecken. Darüber hinaus können sie auch eine toxische Wirkung auf Pilz-Pathogene ausüben (MITHEN, 2001) (siehe Kapitel 2.2.3).

Die verwandtschaftliche Beziehung zwischen den Arten und Unterarten spiegelt sich teilweise in der Zusammensetzung von Glucosinolaten in der Pflanze wieder (Tab. 2.1).

Tab. 2.1: Vorkommen von Glucosinolaten in sechs *Brassica*-Arten, sowie in *Raphanus sativus* und *Sinapis alba* (Zusammenstellung nach mehreren Autoren)

Gruppe*	GSL	Spaltprodukt	<i>Brassica juncea</i>	<i>Brassica napus</i>	<i>B. napus var. rapifera</i>	<i>B. oleracea var. capitata</i>	<i>B. oleracea var. acephala</i>	<i>B. rapa</i>	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Sinapis alba</i>
aliphatisch	Sinigrin	Allyl-ITC	2, 3, 4	-	-	4, 7, 10, 13	4, 5, 7, 11, 12, 13	6, 7, 9	1, 3	10
	Iberverin	3-Methylthiopropyl-ITC	-	-	-	10	-	6	-	-
	Glucouberin	Iberin	-	-	-	4, 7, 13	4, 11, 12, 13	-	-	4
	Glucouphasatin	4-methylthio-3-butenyl-ITC	-	-	-	-	-	-	3	-
	Glucounapin	3-Butenyl-ITC	2, 3, 4	2, 3, 4, 8	10	5, 10, 13	4, 5, 11, 12	3, 6, 10	-	2, 6
	Progoitrin	Goitrin	-	2, 3, 4, 8	10, 13	5, 10, 13	4, 5, 11, 12, 13	3, 6	-	2, 4, 6
	Erucin	4-Methylthiobutyl-ITC	-	2	-	10	-	9	1	2, 3
	Brassicinapin	4-Pentenyl-ITC	4	4, 8	-	5	-	6	-	3, 4
	Glucounapoleiferin	2-Hydroxy-4-pentenyl-ITC	4	4, 8	10	-	-	-	-	-
	Raphanin	Sulforaphan	-	4	10, 13	5, 10	4, 5, 11, 12, 13	-	-	4
Alyssin	5-methylsulphinyl-pentyl-ITC	-	-	-	-	11	-	-	4	
aromatisch	Glucotropaeolin	Benzyl-ITC	4	-	-	-	4	-	-	2, 3, 4, 6
	Sinalbin	<i>p</i> -Hydroxybenzyl-ITC	-	8	-	-	-	-	-	2, 6, 7
	Glucouasturtiin	Phenylethyl-ITC	2,3,4	2, 3, 4, 8	13	4, 5	4, 5, 11, 12	3, 9	1, 3	2, 3, 4, 6, 10
Indolyl	Glucobrassicin	3-Indolmethyl-ITC	2, 4	2, 3, 4	10	4, 5, 7, 10	4, 5, 7	-	-	2, 4, 10
	4-Hydroxyglucobrassicin	4-Hydroxy-3-indolylmethyl-ITC	2, 4	4	10	4, 5, 10	4, 5	-	-	2, 10
	4-Methoxyglucobrassicin	4-Methyl-3-indolylmethyl-ITC	2, 4	4	10	4, 5, 10	4, 5	-	-	2, 4, 10
	Neobrassicin	1-Methoxy-3-indolylmethyl-ITC	4	4	10	4, 5	4, 5	-	-	4

*Mithen 1992 und Rosa et al. 1997; GSL = Glucosinolate; ITC = Isothiocyanate; 1 = Blazevic und Mastelic (2009); 2 = Brown und Morra (2009); 3 = Cole (1976); 4 = Kirkegaard und Sawar (1998); 5 = Kushad et al. (1999); 6 = Lockwood und Belkhirri (1991); 7 = Mikus-Plescher et al. (2011); 8 = Olsen und Sorensen (1980); 9 = Petersen et al. (2001); 10 = Sang et al. (1984); 11 = Song et al. (2005); 12 = Song und Thornally (2007); 13 = Tiedink et al. (1988)

Die Gehalte an Glucosinolaten sind nicht nur arten- und sortenabhängig (MITHEN et al., 1995), sondern auch innerhalb der Pflanze (organspezifisch) unterschiedlich verteilt. Außerdem kann die Zusammensetzung und Quantität der Glucosinolate vom Entwicklungsstadium der Pflanze abhängig sein (FAHEY et al., 2001); (HALLER et al., 2013) und (MITHEN et al., 1995). So wurde nachgewiesen, dass sich der Gehalt von Glucosinolaten in Blättern von Winterkresse (*Barbarea vulgaris*) von

August bis November erhöht (AGERBIRK et al., 2001), während in der Gartenkresse (*Lepidium sativum*) die Konzentration an Glucosinolaten in den Keimlingen am höchsten ist (SARIKAMIS & YANMAZ, 2011). Ebenso wurde ein höherer Glucosinolatgehalt in Sprossen von Brokkoli (*Brassica oleracea* ssp. *oleracea* convar. *botrytis* var. *italica*) gefunden im Vergleich zu niedrigeren Gehalten bei später geerntetem Gemüse (HALLER et al., 2013). FAHEY und STEPHENSON (1999) berichten von sehr großen Fluktuationen beim Vorkommen einzelner Glucosinolate innerhalb einer Vegetationsperiode. Dabei schwankten die Gehalte an Glucobrassicin und Glucoraphanin in Brokkoli teilweise um das Dreifache (FAHEY & STEPHENSON, 1999).

Daneben können auch die klimatischen Bedingungen den Glucosinolatgehalt beeinflussen (HALLER et al., 2013). Insbesondere bei Temperaturen unter 0 °C werden Glucosinolate langsam abgebaut (FAHEY & STEPHENSON, 1999). Ebenso entscheidet die Nährstoffversorgung mit über die Bildung von Glucosinolaten (HALLER et al., 2013). Es wurde beobachtet, dass der Gehalt an Benzyl-Isothiocyanat, ein Abbauprodukt von Glucotropaeolin, negativ mit der Stickstoffdüngung korreliert. Die Hypothese, dass Glucosinolate als Schwefelreservoir von der Pflanze angelegt werden und bei Schwefelmangel die Hydrolyse derselben induziert wird, konnte von GERENDAS et al. an Kohlrabi (09/2008), Gartenkresse (11/2008) und Sareptasenf (05/2009) widerlegt werden. Vielmehr wird der Glucosinolatgehalt vom Verhältnis zwischen Stickstoff- und Schwefelversorgung beeinflusst (GERENDAS et al., 2008a; GERENDAS et al., 2008b; GERENDAS et al., 2009).

2.2 Glucosinolate

2.2.1 Struktur, Synthese und Vorkommen von Glucosinolaten

Glucosinolate – auch Senfölglycoside genannt – sind wasserlösliche, schwefelhaltige Verbindungen, die zu den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen zählen. Sie bestehen aus einem β -Thioglucose-Rest, einer sulfonierten Oximgruppe und einer variablen Seitenkette, die von einer Aminosäure abstammt (MITHEN, 2001) (Abb. 2.1). Üblicherweise werden die einzelnen Verbindungen nach ihrem Trivialnamen oder der chemischen Struktur ihrer Seitenkette benannt. Sie liegen als stabile Verbindungen in den Vakuolen der Pflanzenzellen vor (HALLER et al., 2013).

Glucosinolate werden in drei Phasen gebildet: 1. Seitenkettenverlängerung von Aminosäuren, 2. Glucon-Biosynthese und 3. Seitenketten-Modifikationen. Einige Enzyme und Zwischenprodukte, die für diese Synthese notwendig sind, wurden bisher weder erkannt noch isoliert (MITHEN, 2001).

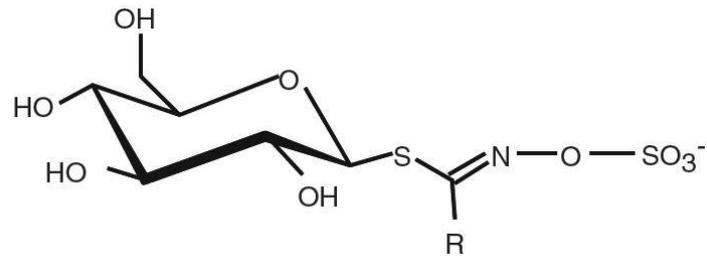


Abb. 2.1: Grundstruktur der Glucosinolate (HALLER et al., 2013)

Die meisten Glucosinolate entstehen aus Kettenverlängerungen der Aminosäuren Valin, Phenylalanin und Methionin (MITHEN, 2001). Abhängig von der Ausgangs-Aminosäure entstehen aus Phenylalanin und Tyrosin aromatische, aus Alanin, Leucin, Isoleucin, Methionin und Valin aliphatische und aus Tryptophan indole Verbindungen (MITHEN et al., 2000). Die Glucon-Biosynthese startet mit der Umwandlung einer Aminosäure in ein Oxim. Die Zwischenprodukte vom Oxim zu einem Thiohydroximat wurden bisher nicht identifiziert. Aus solchen Thiohydroxymaten entsteht ein Desulpho-Glucosinolat, das durch eine große Variation an Modifikationen zu einem der inzwischen über 120 identifizierten Glucosinolaten (FAHEY et al., 2001) abgewandelt wird (MITHEN, 2001). Diese werden – getrennt von der Myrosinase – in den Proteinspeicher-Vakuolen innerhalb von Zellen gespeichert, die denen der Aleuronschicht von Samen der Gramineen ähnlich sind (KELLY et al., 1998).

2.2.2 Abbau von Glucosinolaten

Bei einer Verletzung des intakten Pflanzengewebes, z. B. durch Schneiden oder Kauen, wird das Enzym Myrosinase (β -Thioglucosidase, EC 3.2.1.147, vor 2001: EC 3.2.3.1) freigesetzt (HALLER et al., 2013). Es handelt sich dabei um eine Hydrolase mit Untereinheiten von einer Molekülmasse von 75 kDa (XUE et al., 1992), die auf Thioglycoside spezialisiert ist ($1 \text{ Thioglycosid} + 1 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 1 \text{ Zucker} + 1 \text{ Thiol}$) (IUBMB, 2014). Myrosinase wurde ausschließlich an ihrem Syntheseort, den Myrosinzellen, gefunden (XUE et al., 1993).

Gelangt die Myrosinase durch die Zerstörung von Zellstrukturen in Kontakt mit Glucosinolaten, spaltet sie diese hydrolytisch in aquimolare Mengen an Glucose, Sulfat und Aglykon auf. Das durch die Hydrolyse entstehende Aglykon ist chemisch instabil und zerfällt spontan zu Isothiocyanat, Nitril oder Thiocyanat. (HALLER et al., 2013) (Abb. 2.2).

Welche spezifischen Produkte aus dem Aglykon entstehen, hängt neben der Seitenkette der ursprünglichen Glucosinolate stark von äußeren Bedingungen wie dem pH-Wert ab, oder auch von der Lagerung und den Konservierungsverfahren

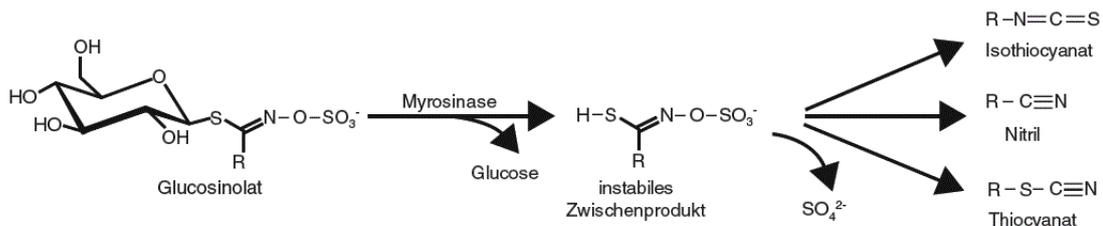


Abb. 2.2: Hydrolyse von Glucosinolat. Die Myrosinase katalysiert die Hydrolyse von Glucosinolat zu Glucose und einem instabilen Zwischenprodukt, das spontan zu Isothiocyanat, Nitril oder Thiocyanat umgesetzt wird (HALLER et al., 2013).

des Erntegutes. Bei einem neutralen pH-Wert werden vermehrt relativ instabile Isothiocyanate gebildet, während im sauren Milieu vorrangig Nitrile entstehen. Sind Eisenionen oder das ESP (epithiospecific protein) anwesend, entstehen weniger Isothiocyanate, sondern überwiegend Nitrile bzw. Epithionitrile. (HALLER et al., 2013)

Glucosinolate sind relativ hitzebeständig und werden daher bei verschiedenen Kochmethoden kaum abgebaut, insbesondere auch, da das abbauende Enzym Myrosinase durch die Hitzeeinwirkung in seiner Wirkung gestoppt wird. Beim Kochen im Wasser werden 58-77 % der Glucosinolate ins Kochwasser abgegeben (SONG & THORNALLEY, 2007). Myrosinase aus Weißem Senf (*Sinapis alba*) übersteht 70 °C bei einem Druck von 300 MPa und 60 °C bei 600 MPa (VAN EYLEN et al., 2006), während die thermische Inaktivierung von Myrosinase aus Grünkohl (*Brassica oleracea* var. *acephala*) bereits bei 35 °C beginnt (GHAWI et al., 2012). Zusätzlich ist die Aktivität der Myrosinase vom Substrat abhängig (PIEKARSKA et al., 2013).

Glucosinolate werden durchaus auch über die Zeit abgebaut, insbesondere bei Tiefkühlung (-85 °C) und umso mehr je kleiner die Probe gehäckselt wurde (SONG & THORNALLEY, 2007).

2.2.3 Bioaktive Effekte der Spaltprodukte von Glucosinolaten

Die Pflanze stellt Glucosinolate her, um Pflanzenfresser wie Vögel, Säugetiere und Weichtiere abzuschrecken (MITHEN, 2001). Dazu kommen toxische Effekte auf Eier und Larven von Insekten, auf Nematoden und andere Invertebraten (MITHEN et al., 1986; VIG et al., 2009; BOHINC et al., 2013). Eine wichtige Rolle spielen die Spaltprodukte der Glucosinolate in der Krankheitsresistenz (CHEW, 1988; MITHEN et al., 1986), z. B. indem sie eine toxische Wirkung auf die Pathogene *Leptosphaeria maculans* und *Alternaria* sp. *in vitro* ausüben (MITHEN et al., 1995). Aufgrund ihres rückstandsfreien Abbaus und der geringen Toxizität können die Spaltprodukte von Glucosinolaten auch als natürliche Pestizide gegen bodenbürtige Schädlinge und Pathogene wie Nematoden, Pilze und Bakterien eingesetzt werden (VIG et al., 2009). Dabei wirkt sich ein erhöhter Glucosinolatgehalt nicht in Form einer erhöhten

Resistenz der Pflanze, sondern vielmehr in einer höheren Toleranzgrenze aus (MITHEN, 2001).

Isothiocyanate können die Nitrifikation im Boden als auch nitrifizierende Organismen direkt hemmen. Die Wirkung ist bei den Pflanzen mit den höchsten Glucosinolat-Gehalten am stärksten. Dabei können additive und synergistische Effekte ebenfalls relevant sein (BROWN & MORRA, 2009). Ein Beispiel dafür wäre die Kombination von Allyl-Isothiocyanat (Spaltprodukt von Sinigrin) mit Dimethylsulfid, das ebenfalls in pflanzlichem Gewebe vorkommt. Zusammen hemmen sie die Nitrifikation. Einzeln hat Allyl-Isothiocyanat (A-ITC) nur eine geringe Wirkung, und Dimethylsulfid konnten keine eigenständigen Hemmwirkungen nachgewiesen werden. Zusammen jedoch ist die Inhibition stark ausgeprägt (BENDING & LINCOLN, 2000).

Ähnliche Hemmwirkungen durch *Raphanus sativus*-Extrakte beobachtete BEEVI (2009), sowohl an gram-positiven als auch an gram-negativen Bakterien. Wiederum spielten die einzelnen ITC-Verbindungen eine größere Rolle als der gesamte Isothiocyanatgehalt (BEEVI et al., 2009). Insgesamt wurde auch eine höhere Empfindlichkeit sowohl von gram-positiven als auch von gram-negativen Bakterien festgestellt (VIG et al., 2009).

Hemmwirkungen auf methanbildende Archaea, wie sie in Biogasfermentern vorkommen können, wurde bisher nur in Modellversuchen untersucht (RICHTER, 2010). Dabei zeigten Allyl-Isothiocyanat (A-ITC) und Phenylethyl-Isothiocyanat (PE-ITC) die stärkste Hemmung von *Methanosarcina barkeri*. Auch Benzyl-Isothiocyanat (B-ITC) und in geringerem Maße Phenyl-Isothiocyanat (P-ITC) verlangsamten das Wachstum. Eindeutig ist nicht, ob es sich um eine toxische Wirkung oder eine reversible Wachstumshemmung handelt. (RICHTER, 2010)

In den Modellversuchen mit dem Methanogen *Methanoculleus bourgensis* konnte ein signifikanter Unterschied in der Methanbildung zwischen Kontrolle und den Varianten mit A-ITC- bzw. PE-ITC-Zugabe erst nach 160 h festgestellt werden (KRAFT, 2012). In Tierversuchen reduzierte die Zugabe von A-ITC zum Futter die absolute tägliche Methanbildung von Wiederkäuern auf 59 % (SOLIVA et al., 2011). Einige Mikroorganismen können bereits die toxische Wirkung von hydrolysierten Glucosinolaten vermeiden, indem sie die hemmenden Substanzen abbauen (VIG et al., 2009).

Auch die antifungale Hemmwirkung von Isothiocyanaten wurde analysiert. VIG (2009) hat in seinem Review 50 verschiedene Pilz-Arten aus 22 Gattungen zusammengestellt, bei denen Hemmwirkungen durch Spaltwirkungen von Glucosinolaten festgestellt wurden. Unter anderem konnten antifungale Effekte bei *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Mucor* spp., *Peronospora* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp. und *Sclerotinia* spp. nachgewiesen werden (VIG et al., 2009). MARI (1993)

stellte Hemmwirkung von Sulforaphan (S), 3-Butenyl-Isothiocyanat (3-B-ITC), Allyl-Isothiocyanat (A-ITC), Benzyl-Isothiocyanat (B-ITC) und p-Hydroxybenzyl-Isothiocyanat (Hb-ITC) gegen die häufigsten Lagerpilze von Früchten und Gemüsen fest. Meist wurden aber nur A-ITC und 3-B-ITC untersucht (MARI et al., 1993).

Bei Versuchen mit Hefe zeigte wiederum das A-ITC die meiste Wirkung bis zur kompletten Hemmung der Sauerstoffaufnahme von Hefe. Untersucht wurden dabei auch Methyl-Isothiocyanat (M-ITC), Phenyl-Isothiocyanat (P-ITC) und 2-Phenylethyl-Isothiocyanat (PE-ITC) (KOJIMA & OGAWA, 1971). Die antimykotische Wirkung von Isothiocyanaten mit sulfathaltigem Rest (3-Methylsulphinylpropyl-, 4-3-Methylsulfonylpropyl-, und Methylthiobutyl-Isothiocyanat) ist im Vergleich zu anderen Isothiocyanaten erhöht (VIG et al., 2009).

Obwohl bereits traditionell *Brassica*-Arten, auch wegen ihrer reduzierenden Wirkung auf bodenbürtige Schädlinge (SERRA et al., 2002) und Krankheiten als Gründüngung eingesetzt wurden, stehen sie erneut im Interesse der Wissenschaft und Züchtung. Interessant sind sie z. B. als mögliche Kulturen zur Einsetzung für die so genannte Biofumigation, dem bewussten Einsatz von *Brassica*-Arten oder anderen antimikrobiell wirkenden Gründüngungskulturen zur Unterdrückung von bodenbürtigen Schädlingen und Krankheiten (GIMSING & KIRKEGAARD, 2006; KIRKEGAARD & SARWAR, 1998). Innerhalb dieses Forschungsgebietes konnte auch ein Mehrertrag von Weizen nach *Brassica*-Ölsaart festgestellt werden (KIRKEGAARD et al., 1994). Andererseits wird auch von einer Reduktion der Keimung bei Weizen (*Triticum aestivum*) berichtet (VAUGHN et al., 2006), denn Isothiocyanate können ferner auch allelopathisch auf andere Pflanzen, insbesondere Unkräuter, wirken (BROWN et al., 1991; HARAMOTO & GALLANDT, 2004; PETERSEN et al., 2001).

Neben anti-nutritiven Faktoren in der Tierproduktion, positiven Effekten als Pflanzenschutzmittel gegen Schädlinge, Krankheiten und Unkräuter (HARAMOTO & GALLANDT, 2004) wurden noch antimutagene, antikanzerogene und indirekte antioxidative Effekte durch Isothiocyanate nachgewiesen. Die antikanzerogene Wirkung von α -Naphthyl-, β -Naphthyl-, Phenyl-, Benzyl-, Phenethyl-, und anderen Arylalkyl-Isothiocyanaten gegen Tumorentwicklung in Leber, Lunge, Brustdrüse, Vormagen und Speiseröhre wurde bereits von ZHANG & TALALAY (1994) festgestellt. Bei VIG et al. (2009) wird außerdem noch von protektiven Wirkungen gegen Tumore in Blase, Dick- und Dünndarm berichtet.

Verallgemeinern kann man die antimikrobielle Wirkung von ITC nicht. Aufgrund von Unterschieden bezüglich ihrer Bioverfügbarkeit in Böden, ihrer Hydrophobie, und der molekülspezifischen Toxizität wirken sie unterschiedlich stark und in den verschiedenen Umgebungen auf unterschiedliche Weise. Zum Beispiel wird die Nitrifi-

kation nur in manchen Arten von Böden gehemmt, und in anderen nicht (BENDING & LINCOLN, 2000). Sicher ist, dass sie das soziale Gefüge von Mikroorganismen entscheidend beeinflussen können (RUMBERGER & MARSCHNER, 2003).

Isothiocyanate sind aufgrund der Reaktionsfähigkeit ihres zentralen Kohlenstoffatoms der N=C=S-Gruppe starke Elektrophile, welche bereitwillig mit Schwefel, Stickstoff und sauerstoffbasierten Nucleophilen reagieren (ZHANG & TALALAY, 1994). Besonders die flüchtigen Spaltprodukte der Glucosinolate zeigen in den verschiedenen Wirkungsbereichen hohe Wirksamkeiten. Außerdem hat BRESSAN (2009) Hinweise darauf gefunden, dass Isothiocyanate mit einer höheren Anzahl Kohlenstoffatome, sowie solche mit Sulfinyl-, Thio- und aromatischen Resten eine höhere Toxizität zumindest bei Insekten haben (BRESSAN et al., 2009). Dies bestätigte sich in den Versuchen von KRAFT (2012). Das Isothiocyanat mit dem höchsten Molekulargewicht im Versuch (PE-ITC) reduzierte das Wachstum von *Clostridium acetobutylicum* am stärksten (KRAFT, 2012). Auch gegen die Darmbakterien *Clostridium difficile* und *C. perfringens* erwies sich PE-ITC als vergleichsweise stark hemmende Substanz (KIM & LEE, 2009). Allerdings kann PE-ITC bereits innerhalb von 96 h von Boden-Mikroorganismen abgebaut werden (RUMBERGER & MARSCHNER, 2003) und ist daher in seiner Hemmwirkung zeitlich begrenzt.

Die Spaltprodukte der Glucosinolate sind durch unterschiedliche Strukturen (Seitenketten) und Molekülmassen gekennzeichnet. Eine Auswahl wichtiger ITC-Verbindungen (inkl. Goitrin) ist in Abb. 2.3 dargestellt.

Wie genau die Isothiocyanate in den verschiedenen Organismen agieren, konnte bisher nur teilweise entschlüsselt werden. Sicher ist, dass die Isothiocyanate abhängig von ihrer Seitenkette auch auf unterschiedliche Weise und an unterschiedlichen Angriffspunkten agieren, oft aber durch Veränderung von Proteinen, z. B. durch Inaktivierung der Thiol-Gruppe von essentiellen Enzymen, das Pathogen inhibieren (VIG et al., 2009).

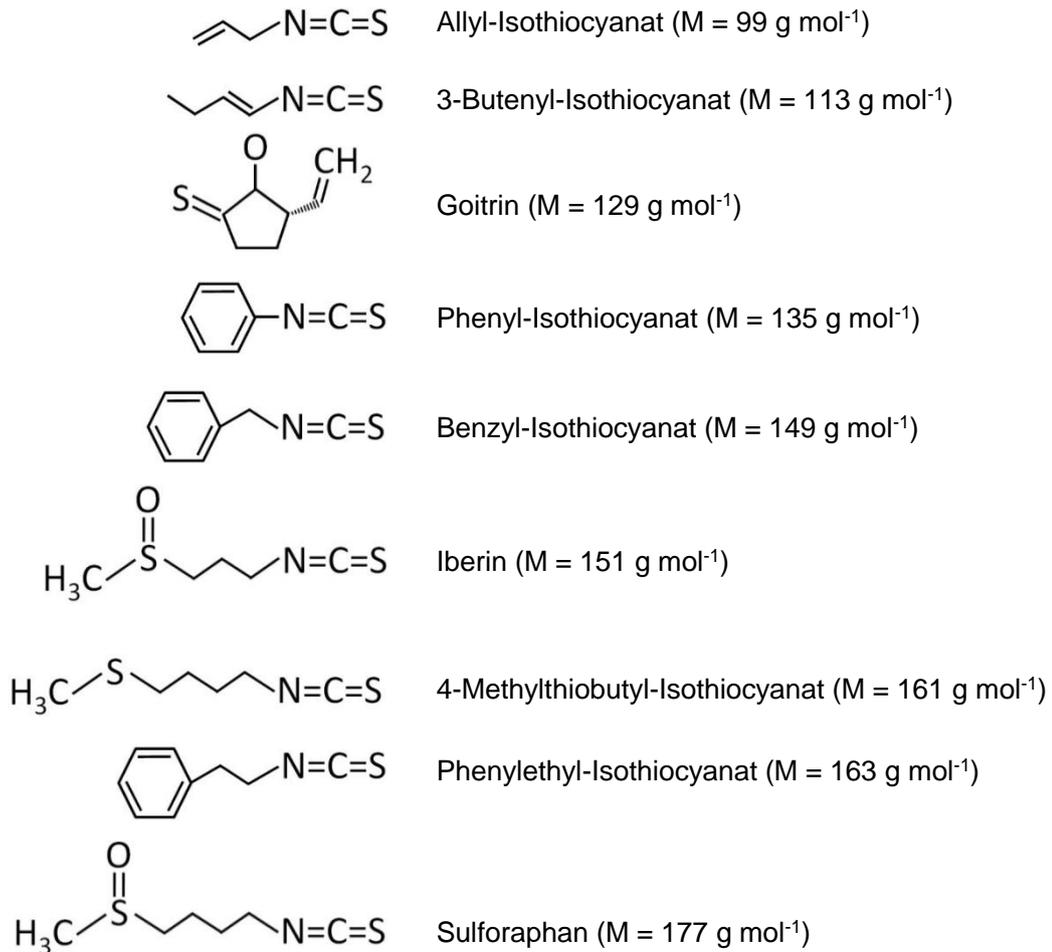


Abb. 2.3: Chemische Strukturen und Molekülmassen (M) von ausgewählten Isothiocyanaten und Goitrin (modifiziert nach JUGE et al., 2007 und N.N., 2013)

2.3 Biogasbildung

Die Qualität des Substrates für die Biogasproduktion wird bereits bei der Erzeugung des jeweiligen Pflanzenbestandes beeinflusst. Klima, Standort, Sorte, Kulturführung, Anbauverfahren und insbesondere der Erntezeitpunkt bzw. das Entwicklungsstadium der Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte können entscheidend die Vergärbarkeit des Substrates beeinflussen. Das Ernteverfahren selbst, die Zerkleinerung des Erntegutes und die darauf folgende Konservierung – möglicherweise mit Konservierungszusätzen – müssen ebenfalls dem Material angepasst werden. Wenn das konservierte Pflanzenmaterial zur Vergärung in Biogasanlagen eingesetzt wird, entscheidet das Gärverfahren mit dem entsprechenden Gärmilieu über den Grad der Effizienz der Vergärung. Dazu müssen die Temperatur und der pH-Wert optimiert und der Gehalt an methanbildenden Stoffen im Substrat und möglicher-

weise auftretende Hemmstoffen berücksichtigt werden (AMON et al., 2006). Überdies ist eine optimale Versorgung der beteiligten Mikroorganismen mit Nährstoffen und Spurenelementen für ihren eigenen Stoffwechsel notwendig, um eine effiziente Vergärung zu erreichen (AMON et al., 2007c; KALTSCHMITT, 2001).

Methan wird durch Vergärung von Rohprotein, Rohfett, Rohfaser und Kohlenhydraten gebildet (AMON et al., 2006), jedoch am meisten vom Rohprotein- und Rohfettgehalt beeinflusst (AMON et al., 2007c). Zudem bestimmt der Gehalt an Gerüstsubstanzen die Abbaufähigkeit, aber auch die Geschwindigkeit, mit der die organische Substanz abgebaut wird (AMON et al., 2007c). Nach AMON (2006) mindert der Gehalt an N-freien Extraktstoffen das Methanbildungsvermögen leicht.

Die Biogasproduktion im Fermenter erfolgt über vier anaerobe Abbauphasen (Abb. 2.4). Zuerst werden polymere organische Verbindungen (Proteine, Fette, Kohlenhydrat, usw.) zu Monomeren, wie z. B. Aminosäuren und Zucker hydrolysiert.

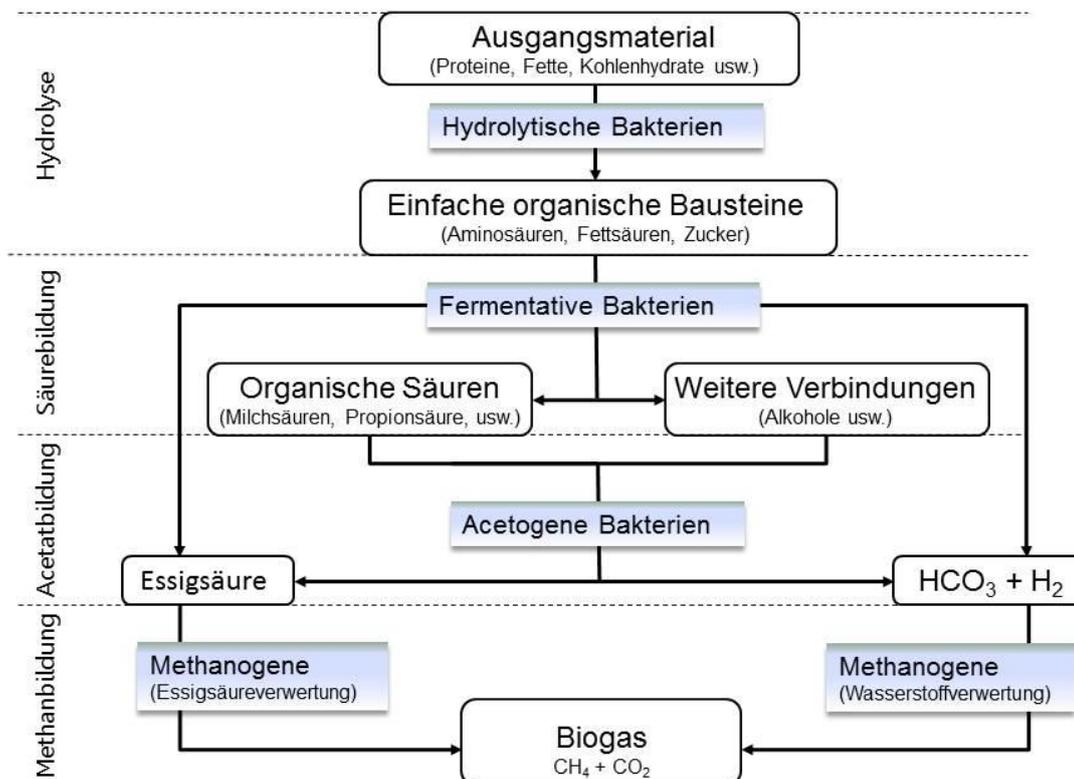


Abb. 2.4: Anaerober Abbau organischen Materials zu Biogas (modifiziert nach KALTSCHMITT, 2001)

In der Säurebildung werden diese einfachen Bausteine mittels fermentativer Bakterien zu organischen Säuren und anderen Verbindungen, wie z. B. Alkoholen, abgebaut. Bei einer niedrigen Wasserstoffkonzentration wird dabei viel Essigsäure gebildet, während hohe Konzentrationen durch einen höheren Partialdruck zur

vermehrten Bildung von Propion-, Butter- und Milchsäure sowie Ethanol führen (KALTSCHMITT, 2001).

Essigsäure wird auch im nächsten Schritt durch acetogene Bakterien gebildet. Ferner entstehen bei Stoffumwandlungen durch fermentative und acetogene Bakterien Hydrogencarbonat und Wasserstoff, die mit Essigsäure die Vorstufe von Biogas bilden. In der letzten Phase, der eigentlichen Methanbildung, bauen methanogene Archaea diese zum Endprodukt Methan ab, das zusammen mit Kohlenstoffdioxid als Gasgemisch (60 % CH₄; 40 % CO₂) anfällt (FRITSCH, 2002) und als Biogas bezeichnet wird.

Da die verschiedenen Organismengruppen im Fermenter aufeinander angewiesen sind, ist die Geschwindigkeit des Gesamtabbaus durch die jeweils am langsamsten wachsende Gruppe begrenzt (KALTSCHMITT, 2001). Deshalb können Hemmstoffe eine große Auswirkung auf den gesamten Gärprozess ausüben.

Zur weiteren Verwendung des Biogases ist ein hoher Anteil von Methan und damit eine gute Qualität des Biogases erstrebenswert (AMON et al., 2006). Mittels des Vergleiches der Methanbildung von Schafen und Ergebnissen aus Futtermittelanalysen ließ sich ein Mittelwert der Biogas- und Methanausbeute für verschiedene Substrate ermitteln. Kaum beeinflusst vom Fett- und Proteingehalte wurden für ein Kilogramm fermentierbare organische Trockenmasse (FoTM) 800 L Biogas bzw. 420 L Methan festgestellt. Dies entspricht einem Methangehalt von 52,1 % kg⁻¹ FoTM. Bei einem durchschnittlichen FoTM-Gehalt von 820 g kg⁻¹ TM können für Silomais etwa 360 L_n CH₄ kg⁻¹ organische Trockenmasse (oTM) erwartet werden (WEIßBACH, 2008). Zusätzlich zur Qualität des Biogases sollten die Gärrückstände zur Weiterverwertung als Dünger noch nährstoffreich sein (AMON et al., 2006).

Die Ausbeute an Biogas kann je nach Art etwa 500-600 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM betragen. Bei einem Methangehalt von 55 % entspricht dies 275-330 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM. In den Versuchen von AMON et al. (2007b) wurden aus Mais (*Zea mays*) je nach Reifezustand etwa 268-365 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM gebildet. HERRMANN berichtet von 333 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM für Mais und 292 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM für Ölrettich (HERRMANN et al., 2011). Auch *Brassica rapa*, *Raphanus sativus* und *Brassica oleracea* var. *capitata* wurden bereits in Fermentern auf ihre Biogasbildung untersucht. Diese Substrate produzierten etwa 300 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM (GUNASEELAN, 2004).

Für siliertes Pflanzenmaterial sind teilweise andere Ausbeuten charakteristisch. Ergebnisse eines Ringversuches zeigten 330-350 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM_k für Maissilage in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium (HERRMANN et al., 2011; KTBL, 2010). Bei einem Vergleich von silierter und grüner Mais-Biomasse führte die grüne Frisch-

masse mit $225 \text{ L}_n \text{ CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ zu einem deutlich geringeren Methanertrag als die silierte Variante mit $289 \text{ L}_n \text{ CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ (AMON et al., 2007b). Deutlich höhere Methanausbeuten ($359\text{-}422 \text{ L}_n \text{ CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$) konnten dagegen von AMON et al. (2007a) für verschiedene silierte Varietäten des Mais erreicht werden. In einem Forschungsprojekt von ZUBR (1986) konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Gasausbeute von frischem und siliertem Material nachgewiesen werden. Die Methanausbeute lag bei $300 \text{ L kg}^{-1} \text{ oTM}$ für frischen Senf und bei $326 \text{ L kg}^{-1} \text{ oTM}$ für silierten Senf. Frische Rapsblätter bildeten $352 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ und siliertes Raps $330 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$. Für frische Weißkohlblätter wurden $343 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ festgestellt und für silierten $382 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$. Der Methangehalt lag bei den untersuchten Arten zwischen 64,2 % und 72 % (ZUBR, 1986).

Für Mais (*Zea mays*), Sorghum-Hybriden (*Sorghum bicolor* x *sudanense*), Futterroggen (*Secale cereale*) und Triticale (x *Triticosecale*) konnte HERRMANN (2011) zeigen, dass während der Lagerungszeit Silageverluste von 2,4 % (Triticale) bis 6,8 % (Mais) der organischen Trockenmasse (oTM) und eine verringerte Silagequalität auftreten können. Allerdings stieg die Methanausbeute von Mais nach einem Jahr Lagerung von $329,9 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ frischen Materials auf $351,4 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ silierten Materials. Der Methangehalt erhöhte sich von 54,3 % auf 56,1 % innerhalb dieses Lagerungsjahres bei Mais, was durch eine erhöhte Konzentration fermentierbarer Produkte erklärt wird (HERRMANN et al., 2011).

Mit Kulturpflanzen aus der Familie der Brassicaceae wurden bislang nur wenige Untersuchungen zur Biogasbildung durchgeführt. Angaben dazu werden vom KTBL veröffentlicht, wonach zum Beispiel Raps, Ölrettich oder Senf Methanerträge von etwa $300\text{-}400 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ für silierte Substrate aufweisen (KTBL, 2010).

3 Material und Methoden

3.1 Feldversuche

3.1.1 Standortbedingungen

Alle Versuche wurden in der Versuchsstation Groß-Gerau (49° 45 min Nord, 8° 29 min Ost, Geländehöhe: 90 m über NN), südwestlich von Frankfurt/Main gelegen, durchgeführt. Der Boden besitzt eine Ackerzahl von 20-25 und weist in der Krume (0-30 cm) einen diluvialen, schwachhumosen Sand von geringem Puffervermögen auf. In den unteren Bodenschichten (ab ca. 50 cm) sind zum Teil lehmige bis tonige Ablagerungen aus dem Rotliegenden (Spremlinger Forst) vorhanden, die mit Kies zu einem festen Verband verkittet sind. Zudem wurden in unterschiedlicher Mächtigkeit bis 1 m Tiefe sekundäre Kalkausscheidungen gefunden.

Die Nährstoffversorgung des Bodens, auf dem die jeweiligen Versuche durchgeführt wurden, ist in den Tabellen Tab. 3.1 und Tab. 3.2 dargestellt. Die Versuchspartellen weisen zur Ernte alle eine Fläche von 10,5 m² auf.

Tab. 3.1: Nährstoffversorgung des Bodens, pH-Wert und Grunddüngung der Versuchsfläche der Feldversuche mit Zwischenfruchtarten, Groß-Gerau 2009 und 2010.

Merkmal		2009	2010
Bodenuntersuchungsbefund [mg 100 g ⁻¹] ¹	pH-Wert	6,3	7,3
	P	8,6	6,9
	K	12	11
	Mg	2,4	2,4
	Bor	0,210	0,210
N _{min} [kg ha ⁻¹] ²	0-30 cm	8	8
	30-60 cm	4	4
	60-90 cm	7	7
	Summe N _{min}	19	19
Grunddüngung [kg ha ⁻¹]	P ³	23	23
	K ³	134	134
	K ⁴	-	99

¹Probennahme in 0-30 cm Bodentiefe; N_{min} = NO₃ + NO₄ (3.10.08, 17.09.09); ²(2.03.09, 23.03.10); ³(25.02.09, 16.02.10); ⁴(10.03.2010)

Tab. 3.2: Nährstoffversorgung des Bodens, pH-Wert und Grunddüngung der Versuchsfläche der Feldversuche mit Kohlarten, Groß-Gerau 2009, 2010 und 2012.

Merkmal		2009	2010	2012
Bodenuntersuchungsbefund [mg 100 g ⁻¹] ¹	pH-Wert	6,3	6,7	6,5
	P	8,6	10,3	4,7
	K	11,6	30,6	10,7
	Mg	2,4	3,6	2,4
	Bor	0,210	0,0561	-
N _{min} [kg ha ⁻¹] ²	0-30 cm	8	16	11
	30-60 cm	4	19	8
	60-90 cm	7	19	10
	Summe N _{min}	19	54	29
Grunddüngung [kg ha ⁻¹] ³	P	23	23	24
	K	134	134	139
	Mg	-	-	24
	S	-	-	80

¹Probennahme in 0-30 cm Bodentiefe; N_{min} = NO₃ + NO₄ (3.10.08, 17.09.09, 17.11.11);

²(2.03.09, 23.02.10, 29.02.2012); ³(25.02.09, 10.02.10, 22.02.12)

Die Witterung des Standortes ist im 60-jährigen Mittel (1953-2013) durch eine Lufttemperatur von 9,8 °C (Jahresmittel) und eine Niederschlagsmenge von 607,5 mm gekennzeichnet (Tab. 3.3).

Tab. 3.3: Lufttemperatur und Niederschläge der Versuchsjahre 2009, 2010 und 2012 am Standort Groß-Gerau

Monat	Lufttemperatur [°C]				Niederschlag [mm]			
	IM	2009	2010	2012	IM	2009	2010	2012
Januar	0,9	-1,9	-1,2	4,2	36,4	26,8	34,6	60,9
Februar	1,8	2,4	2,3	-0,3	35,2	50,5	40,2	6,8
März	5,6	6,1	6,6	9,1	41,3	64,7	25,4	16,5
April	9,6	14,1	11,5	10,4	40,3	35,9	17,0	40,3
Mai	14,1	15,9	12,4	16,8	59,3	55,0	112,2	76,3
Juni	17,3	17,3	18,6	17,6	67,3	108,8	94,0	119,7
Juli	19,1	19,8	21,6	19,6	66,6	71,9	64,0	76,4
August	18,3	20,3	18,3	20,6	66,3	46,3	141,7	78,2
September	14,5	16,0	14,2	14,4	47,2	39,6	46,3	43,7
Oktober	9,6	9,8	8,4	9,4	50,7	47,4	22,2	59,4
November	4,9	8,6	6,1	6,1	48,0	76,7	74,5	49,0
Dezember	2,0	2,3	-2,3	3,5	48,9	75,1	87,1	83,2
Summe	117,7	130,7	116,5	131,4	607,5	698,7	759,2	710,4
Mittel	9,8	10,9	9,7	11,0				

IM = langjähriges Mittel (1953 - 2013)

Während der Vegetationszeit der Zwischenfrüchte (5. bzw. 6. August bis 3. November) waren geringe Unterschiede im Witterungsverlauf der jeweiligen Versuchsjahre zu beobachten. So war die Lufttemperatur im Jahr 2009

(August: 20,3 °C, September: 16,0 °C, Oktober: 9,8 °C) im Mittel etwas höher als in den Jahren 2010 (18,3 °C, 14,2 °C, 14,2 °C) und 2012 (20,6 °C, 14,4 °C, 9,4 °C) (Tab. 3.3). Minimaltemperaturen von unter null Grad wurden in der Vegetationszeit 2009 vom 14. bis 19. Oktober (Minimal -3,5 °C) und im folgenden Jahr vom 12. bis 29. Oktober (Minimal 6,3 °C) beobachtet, während beide Male der November bis zur Ernte etwas milder verlief.

Die Niederschlagsmengen (Summe der Werte von August, September und Oktober) lagen in den gleichen Zeiträumen bei 133,3 mm (2009), 210,2 mm (2010) und 181,3 mm (2012). Eine sehr hohe Niederschlagsmenge war im August 2010 (141,7 mm) zu verzeichnen.

Während der Vegetationszeit der Kohlpflanzen (22. April bis 12. Oktober 2009; 28. April bis 30. Juli 2010; 25. April bis 20. September 2012) waren die Unterschiede der Lufttemperatur in den jeweiligen Versuchsjahren gering. In den Monaten April bis Oktober 2009 war es im Mittel (16,2 °C) etwas wärmer als 2010 (15,0 °C) und 2012 (15,5 °C). Die Niederschlagsmengen hingegen schwankten im Vegetationszeitraum innerhalb der drei Versuchsjahre deutlich, wobei in den Jahren 2010 und 2012 etwa 90 mm mehr Niederschläge fielen als im ersten Versuchsjahr. Die höchste Niederschlagsmenge wurde im Jahr 2009 im Juni (108,8 mm), im Jahr 2010 im August (141,7 mm) und im Jahr 2012 im Juni (119,7 mm) gemessen.

3.1.2 Versuchsanlage

Feldversuche mit Zwischenfrucht-Arten

Die Feldversuche wurden in Form einer zweifaktoriellen Streifenanlage mit den Prüffaktoren A: Pflanzenart/Sorte ($k = 16$) und B: Stickstoff-Düngung ($k = 2$) jeweils an zwei Aussatterminen (I = früh und II = 2 Wochen später) durchgeführt. Die Aussattermine lagen im ersten Versuchsjahr 2009 am 5. und 19. August und im zweiten Versuchsjahr 2010 am 6. und 20. August. Es wurden insgesamt acht Pflanzenarten aus der Familie der Brassicaceae mit jeweils zwei Sorten ausgewählt, die sich potenziell für den Sommer-Zwischenfruchtanbau eignen (Tab. 3.4).

Der Prüffaktor Stickstoff-Düngung wurde im Jahr 2009 mit 40 kg N ha⁻¹ (Stufe I) und 80 kg N ha⁻¹ (Stufe II) und im zweiten Versuchsjahr mit 60 kg N ha⁻¹ (I) bzw. 100 kg N ha⁻¹ (II) umgesetzt. In beiden Jahren fanden die Versuche nach der Vorfrucht Winterroggen (Körnernutzung) statt.

Die Unkrautbekämpfung erfolgte in beiden Jahren im Voraufverfahren mit Butisan (1,4 L ha⁻¹) am 6. August 2009 bzw. 19. August 2010. Gegen Schadinsekten wurden Fastac (75 mL ha⁻¹) am 27. August 2009 bzw. 28. August 2010 und Karate Zeon (75 mL ha⁻¹) am 28. August 2009, 31. August 2009 bzw. 31. August 2010 eingesetzt.

Tab. 3.4: Charakterisierung der verwendeten Pflanzenarten und -sorten in den Feldversuchen mit Zwischenfrüchten

Art ¹ / Sorte	Züchter	Zulassung	Qualität ²	Blüh- neigung ³	Massenbildung im Anfang ³	TM- Ertrag ³
Sommerraps (<i>Brassica napus</i> var. <i>annua</i>)						
Liform	DSV	1997	1/1	1	7	8
Jumbo	Borries-Eckendorf	1981	1/1	1	5	6
Winterraps (<i>Brassica napus</i> var. <i>biennis</i>)						
Molino ⁴	Euro Grass	1998-2011	2/2	1	5	8
Emerald	Republik Irland	1973	2/2	1	5	6
Winterrübsen (<i>Brassica rapa</i> var. <i>sylvestris</i>)						
Lenox	NPZ	2002	2/2	1	6	5
Malwira	NPZ	1990	2/2	1	6	5
Chinakohlrübsen (<i>Brassica rapa</i> var. <i>hibernalis</i>)						
Buko	KWS SAAT	1987	2/2	1	6	5
Perko	KWS SAAT	1969	2/2	1	5	5
Herbstrübe (<i>Brassica rapa</i> var. <i>rapa</i>)						
Civasto	Euro Grass	-	-/-	-	-	-
Agressa	Nebelung	1989	-/-	-	-	5 ⁵
Weißer Senf (<i>Sinapis alba</i> spp. <i>alba</i>)						
Tango	Euro Grass	-	-/-	-	-	-
Sirtaki	Euro Grass	2004	2/-	3	6	-
Sareptasenf (<i>Brassica juncea</i>)						
Vitasso	KWS Lochow	1977	2/-	1	4	-
Energy	Petersen	2006	2/-	5	5	-
Ölrettich (<i>Raphanus sativus</i> var. <i>oleiformis</i>)						
Reset	Euro Grass	2007	-/-	3	4	-
Bento	Petersen	2003	-/-	4	6	-

¹laut SCHMEIL et al. (2003); ²Erucasäuregehalt (1 = frei; 2 = haltig) / Glucosinolatgehalt (1 = $\leq 25 \mu\text{mol g}^{-1}$ Korn; 2 = $> 25 \mu\text{mol g}^{-1}$ Korn); ³Boniturnote laut BSA (2001, 2009 und 2014); TM = Trockenmasse; ⁴laut PROPLANTA (2014) und BSA (2011); ⁵ganze Pflanze; DSV = Deutsche Saatveredlung AG; W. von Borries-Eckendorf GmbH Co. (Leopoldshöhe); NPZ = norddeutsche Pflanzenzucht H. G. Lembke KG; KWS SAAT AG (Einbeck); Euro Grass Breeding GmbH Co KG (Lippstadt); KWS Lochow GmbH (Bergen); P.H. Petersen Saatzucht Lundsgaard GmbH & Co. KG (Grundhof); - = nicht bekannt

Im Versuchsjahr 2009 war eine Beregnung der Pflanzenbestände in Höhe von 20 mm am 22. September 2009 erforderlich. Die Ernte der Pflanzen erfolgte versuchszeitspezifisch am 19. Oktober 2009 (Aussaat I) bzw. am 3. November 2009 (Aussaat II) sowie am 22. Oktober 2010 bzw. 3. November 2010. Daraus resultieren Vegetationszeiten von 76 Tagen (Aussaat I, 2009) und 77 Tagen (Aussaat II, 2009) bzw. von 78 Tagen (Aussaat I, 2010) und 75 Tagen (Aussaat II, 2010). Während der Wachstumsperiode der Pflanzen (Aussaat bis Ernte) betrug die Niederschlagsmenge insgesamt 155 mm (Aussaat I, 2009) und 128 mm (Aussaat II, 2009) bzw. 188 mm (Aussaat I, 2010) und 151 mm (Aussaat II, 2010).

Die Pflanzen wurden in beiden Saatzeiten und Jahren nach elf Wochen geerntet (19. Oktober und 3. November 2009, 22. Oktober und 3. November 2010). Die meis-

ten Pflanzenarten befanden sich zum Zeitpunkt der Ernte im Entwicklungsstadium der Blattrosette. Entwicklungsphysiologisch fortgeschritten waren dagegen die Sorten des Weißen Senfes, die bereits ins Blühstadium übergegangen sind.

Bis auf die Herbstrüben wurden die Pflanzen mit dem Versuchsmähdrescher ohne Druschvorgang geerntet und aufgefangen. Anschließend wurden sie mit einem Feldhäcksler gehäckselt. Die Herbstrüben wurden per Hand als ganze Pflanze geerntet und anschließend mit dem Feldhäcksler gehäckselt. Von jeder Parzelle wurde eine Probe zur Bestimmung der Trockenmasse (TM) genommen.

Feldversuche mit Kohl-Arten

Der Feldversuch mit Kohlarten wurde in den Jahren 2009, 2010 und 2012 in Form einer einfaktoriellen Blockanlage mit 10 Prüfstufen (in vier Wiederholungen) durchgeführt. Die Auswahl der Sorten erfolgte nach dem Ertragspotenzial (Kopfgewicht) und nach der Erntezeit (Tab. 3.5).

Die Kopfkohlarten und die Kohlrüben wurden in einer Reihenweite von 50 cm gesät (22. April 2009) und auf 40 cm Pflanzenabstand in der Reihe vereinzelt (25. Mai 2009) bzw. gepflanzt (28. April 2010, 25. April 2012). Die beiden Markstammkohlsorten wurden aufgrund ihrer Morphologie innerhalb der Reihe mit einem Abstand von 10 cm bei ebenfalls 50 cm Reihenweite gesät (2009) bzw. gepflanzt (2010, 2012).

Die erste N-Düngung (ASS) erfolgte unmittelbar zur Aussaat bzw. Pflanzung (25. Mai 2009, 3. Mai 2010 und 25. April 2012) mit 100 kg N ha^{-1} , gefolgt von einer zweiten N-Gabe von 100 kg N ha^{-1} (nur im Jahr 2012 am 24. Mai). Im Jahr 2010 erfolgte wegen der Vorfrucht Luzerne keine zweite N-Gabe. In den Jahren 2009 und 2012 fand der Kohlversuch nach der Vorfrucht Sommergerste statt.

Tab. 3.5: Charakterisierung der verwendeten Pflanzenarten und Sorten in den Feldversuchen mit Kohl-Arten

Art ¹ /Sorte	Züchter	Sortentyp ²	Zulassung ²	Erntetermin	Kopfgewicht ²	Pflanzengröße ²
Weißkohl (<i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i> f. <i>alba</i>)						
Bartolo	Bejo	Hybride	-	spät	5	7
Filderkraut	Wagner	-	-	früh	7	7
Rotkohl (<i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i> f. <i>rubra</i>)						
Integro	Bejo	-	-	spät	-	-
Subaro	Bejo	Hybride	1995	spät	6	5
Wirsing (<i>B. oleracea</i> var. <i>sabauda</i>)						
Produsa	Bejo	-	-	früh	-	-
Wirosa	Bejo	Hybride	1975	spät	5	7
Markstammkohl (<i>B. oleracea</i> var. <i>acephala</i> f. <i>medullosa</i>)						
Camaro ³	Peterson	-	1986	früh	7 (FM-Ertrag)	7 (TM-Ertrag)
Grüner Angeliter ³	Peterson	-	1956	früh	6 (FM-Ertrag)	6 (TM-Ertrag)
Kohlrübe (<i>B. napus</i> var. <i>rapifera</i>)						
Wilhelmsburger	Nebelung	-	-	spät	-	-
Helenor	Bejo	-	-	spät	-	-

¹laut SCHMEIL et al. (2003); ²Boniturnote laut BSA (2001); ³Boniturnote laut BSA (2009); FM = Frischmasse; TM = Trockenmasse; - = nicht bekannt; Bejo Zaden B.V. (Warmenhuizen, NL); Wagner GmbH (Heidelberg); P.H. PetersenSaatzucht Lunsgaard GmbH & Co. KG (Grundhof); Bruno Nebelung GmbH (Everswinkel)

Am 24. April 2009 bzw. am 5. Mai 2010 und 3. Mai 2012 wurden 1,5 L ha⁻¹ Butisan gegen Ungräser und Unkräuter eingesetzt. Als Insektizid gegen beißende und saugende Insekten, insbesondere gegen Weiße Fliegen kamen die Produkte Karate Zeon, Fastac, Calypso und Plenum an folgenden Terminen zum Einsatz (Tab. 3.6):

Tab. 3.6: Einsatz von Pflanzenschutzmittel in den Versuchsjahren 2009, 2010 und 2012

Pflanzenschutzmittel	Aufwandmenge	2009	2010	2012
Karate Zeon	0,75 L ha ⁻¹	24. April		19. Juni
Fastac	90 mL ha ⁻¹		14. Juni	
Calypso	200 mL ha ⁻¹		29. Juni	5. Juni
Plenum	400 g ha ⁻¹		30. Juni	19. Juni

Die Beregnung erfolgte im Jahr 2009 mit insgesamt 192 mm in 13 Teilgaben, im Jahr 2010 mit insgesamt 144 mm in sechs Teilgaben und im Jahr 2012 mit 96 mm in fünf Teilgaben. Die Ernte wurde getrennt an zwei unterschiedlichen Terminen zum Entwicklungsstadium BBCH 49 durchgeführt, um frühe und späte Sorten (siehe

Tab. 3.5) möglichst zu ihrer optimalen Reife zu ernten. Die frühen Sorten wurden am 14. September 2009 bzw. am 19. Juli 2010 geerntet und die Ernte der späten Sorten erfolgte am 12. Oktober 2009 und am 30. Juli 2010. Eine Ausnahme in der Ernteaufteilung bildet der Feldversuch im Jahr 2012. Die Ernte der Kohlrüben erfolgte am 30. Juli 2012. Die vier Kohl-Arten (*Brassica oleracea*) wurden auf Grund ihrer späten Pflanzenentwicklung erst am 20. September 2012 geerntet.

Die Kohlrüben wurden als ganze Pflanze geerntet, während bei den anderen Pflanzenarten nur der oberirdische Teil geerntet wurde. Für die Untersuchungen der Pflanzenproben wurden beim Markstammkohl insgesamt 15 Pflanzen und bei den Kopfkohlarten bzw. bei der Kohlrübe fünf Pflanzen per Hand aus der mittleren Reihe der Parzelle entnommen. Kranke und verkümmerte Pflanzen wurden nicht verwendet. Die entnommenen Proben wurden anschließend mit einem Feldhäcksler zerkleinert. Von jeder Parzelle wurde eine Probe zur Bestimmung der Trockenmasse (TM) genommen.

3.2 Laboranalyse der Isothiocyanat-Verbindungen

3.2.1 Extraktion

Pflanzenmaterial

Zur Durchführung der geplanten Laboranalysen wurden aus den Feldversuchen pro Parzelle eine Probe genommen, anschließend gehäckselt und in Gefriertüten verpackt und bei -20 °C tiefgefroren. Für die Analyse der Silage-Proben von Zwischenfrüchten wurden in beiden Versuchsjahren Mischproben aus den vier Feldwiederholungen der 2. Düngungsstufe der jeweils späteren Saatzeit entnommen und in 2-Liter-Einmachgläsern mit ca. 6 bar einsiliert. Aus dem Kohlversuch 2009 konnte für jede Parzelle eine Probe einsiliert werden. Die Gläser mit den Silagen wurden in einem dunklen und trockenen Raum aufbewahrt. Aus dem Feldversuch mit Kohlarthen 2012 wurden die Proben zusätzlich in verschiedene Pflanzenteile (Kopfkohl: äußere Blätter, Marktware und Strunk; Markstammkohl: Blätter und Strunk; Kohlrübe: Rübe und Spross) unterteilt. Zur Berechnung der Isothiocyanat(ITC)-Gehalte der gesamten Pflanze wurde ein Mittelwert für die gesamte geerntete Pflanze aus den ITC-Gehalten der jeweiligen Pflanzenteile unter Berücksichtigung der Relation ihrer Massen gebildet.

Es wurden folgende Geräte verwendet:

- Feinwaage: AT200 (Mettler-Toledo)
- Gefrierschrank: Med Line LGex 3410 (Liebherr-Elektronik GmbH)
- Mikropipette: Reference®, 100–1000 µL (Eppendorf AG)
- Mühle: Multimix Type MX 32 (Braun GmbH)
- pH-Meter: inoLab pH 720
(WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH)
- Pipettenspitzen: Ratiolab, 200-1000 µL (Ratiolab GmbH)
- Reagenzgläser: 15 mL, DURAN®-Glas und DURAN®-Hohlglas-Stopfen mit Schliff (Schott)
- Rüttler: Vortex REAX control (Heidolph Instruments GmbH & Co. KG)
- Schüttler: Gerhardt LS5 (Gerhard Analysetechnik GmbH)
- Spritze: Gastight® (gasdicht) Microliter™, #1010, 1,0-10,0 ml (Hamilton Bonaduz AG)
- Spritzenfilter: Rotilabo®-Spritzenfilter, PTFE, Porengröße 0,45 µm, Nenn-Ø 13 mm, (Carl Roth GmbH & Co. KG)
- Spritzennadel: NDL KF6/pk (Carl Roth GmbH & Co. KG)

- Trockenschrank: (Memmert GmbH + Co. KG)
- Vollpipette: 6 ml +/-0,015 ml Ex 20 °C + 5 sec
(Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG)
- Zentrifuge: Universal K25 (Hettich GmbH & Co. KG)

Neben den vorgenannten Geräten wurden folgende Chemikalien verwendet:

- McIlvain-Puffer: Zitronensäure-Monohydrat (Merck AG)
Di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat (Merck AG)
- Enzym: Myrosinase (β -Thioglucosidase, EC 3.2.1.147)
isoliert aus *Sinapis alba* (Sigma-Aldrich Co. LLC)
- Lösungsmittel: Cyclohexan ROTISOLV®, $\geq 99,9$ %
(Carl Roth GmbH & Co. KG)
Ethylacetat, $\geq 99,5$ % zur Synthese
(Carl Roth GmbH & Co. KG)
- Interner Standard: Phenyl-Isothiocyanate (P-ITC) (Sigma-Aldrich Co. LLC)
- Verschlussfolie: Nescofilm und Parafilm® "M" (Carl Roth GmbH & Co. KG)

Durchführung

Die Extraktion von Isothiocyanaten wurde auf der Grundlage von GERENDAS et al. (2008a) und KÜBLER (2010) in modifizierter Form durchgeführt.

Gefrorene Proben wurden bis zu ihrem konstanten Gewicht bei 55 °C luftgetrocknet. Das getrocknete Probenmaterial wurde, um mögliche Erhitzung zu vermeiden, nicht in einem Schritt, sondern dreimal je 10 s gemahlen. Davon wurde 1 g in ein Reagenzglas eingewogen. Dazu wurde eine Spatelspitze des Enzyms Myrosinase (β -Thioglucosidase) hinzugefügt, sowie 4 ml McIlvain-Puffer (pH 6) (ROMEIS, 1968). Nach der Homogenisierung mit Hilfe eines Vortex-Schüttlers wurden 1 ml Lösungsmittel (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1 v/v) und 1 ml interner Standard ($c = 0,115 \text{ mg ml}^{-1}$ Lösungsmittel) ins Reagenzglas pipettiert. Als interner Standard fungierte das bisher nicht in Kreuzblütlern gefundene Phenyl-Isothiocyanat (P-ITC), das sich zudem als das stabilste Isothiocyanat während der Methodenentwicklung herausstellte.

Um Verluste durch Verflüchtigungen des Lösungsmittels zu vermeiden, wurden die Reagenzgläser mit einem Glasdeckel verschlossen und mit Verschlussfolie abgedichtet. Während die Proben drei Stunden auf dem Schüttler bei einer Geschwindigkeit von 150 U min^{-1} bewegt wurden, spaltete das Enzym Myrosinase die in den Proben enthaltenen Glucosinolate in Isothiocyanate. Nach dem Schütteln wurden die Proben per Hand ausgeschüttelt, damit die gespaltenen Isothiocyanate komplett in das Lösungsmittel übergehen konnten. Anschließend wurden die Extrakte für

15 min bei 3000 U min⁻¹ zentrifugiert. Der Überstand wurde mit einer gasdichten 10 ml Glasspritze abgenommen. Die Extrakte wurden dann durch einen 0,45 µm PTFE-Spritzenfilter in ein koloriertes GC-Vial überführt und nach Möglichkeit direkt am Gaschromatograph-Massenspektrometer (GC-MS) analysiert oder bei -20 °C eingelagert. Alle Proben wurden in dreifacher Wiederholung extrahiert.

3.2.2 Gaschromatographische Analyse

Der Gehalt an Isothiocyanaten in den Pflanzen-Extrakten wurde mit einem Gaschromatographen mit angeschlossenen Massenspektrometer (GC-MS) bestimmt. Dazu wurden die nachfolgend aufgeführten Geräte und Chemikalien verwendet.

Verwendete Geräte:

- Autosampler: CP 8400 (Varian, Seriennummer: 01545)
- Gaschromatograph: 3900 (Varian, Seriennummer: 102330)
- Massenspektrometer: 2100 T (Varian, Seriennummer: 06355)
- Software: MS Workstation, Version 6 (Varian)
- Spritze: 10 µl (Hamilton und Agilent Technologies)
- Trennsäule: FactorFour™ fused silica (Quarzglas) capillary column VF-5ms, 30 m x 0,25 ml (i. D.) mit einer Filmdicke von 0,25 µm (Agilent Technologies)

Verwendete Chemikalien:

- Alkan-Standard C₈-C₂₀: Alkan Standard Lösung C₈-C₂₀, für GC (Fluka)
- Alkan-Standards: n-Octan (Alfa Aesor GmbH Co. KG)
- n-Nonan (Alfa Aesor GmbH Co. KG)
- n-Decan (Alfa Aesor GmbH Co. KG)
- Externe Standards: Allyl-Isothiocyanat, 95 % (Sigma-Aldrich Co. LLC)
Benzyl-Isothiocyanat, 98% (Sigma-Aldrich Co. LLC)
Gluconapin als Kaliumsalz (AppliChem GmbH)
Glucorucin als Kaliumsalz (PhytoLab GmbH & Co. KG)
Progoitrin als Kaliumsalz (PhytoLab GmbH & Co. KG)
Iberin (Santa Cruz Biotechnology)
Phenyl-Isothiocyanat, >99 % (Sigma-Aldrich Co. LLC)
Phenylethyl-Isothiocyanate, 99 % (Sigma-Aldrich Co. LLC)
Sulforaphan, 95 % (Sigma-Aldrich Co. LLC)
- Trägergas: Helium, Reinheitsgrad 5.0 (Praxair Deutschland GmbH)

Messung

Zur Trennung der Spaltprodukte von Glucosinolaten (8 Isothiocyanate und Goitrin, Tab. 3.7) im Gaschromatograph (GC) wurde eine FactorFour™ Quarzglas Kapillarsäule eingesetzt. Der Säulenfluss belief sich auf $1,2 \text{ ml min}^{-1}$ (Helium). Von den Extrakten wurde $1 \mu\text{l}$ injiziert mit einem Splitt-Verhältnis von 1:20 bei einer Injektor-Temperatur von $217 \text{ }^\circ\text{C}$. Eingespritzt wurde dabei mit einer Geschwindigkeit von $5 \mu\text{L s}^{-1}$. Der GC wurde entsprechend dem Temperaturprogramm in Tab. 3.8 erhitzt.

Tab. 3.7: Glucosinolate, ihre Spaltprodukte und deren chemische Identität

Glucosinolat	Spaltprodukt	Abkürzung	CAS-Nr.	Hauptfragmente
Sinigrin	Allyl-Isothiocyanat	A-ITC	57-06-7	99, 30, 72
Gluconapin	3-Butenyl-Isothiocyanat	3-B-ITC	3386-97-8	44, 40, 72
n.b.	Phenyl-Isothiocyanat	P-ITC	103-72-0	39, 135, 44
Glucotropaeolin	Benzyl-Isothiocyanat	B-ITC	622-78-6	91, 65, 35
Glucoerucin	4-(Methylthio)Butyl-Isothiocyanat	4-Mtb-ITC	4430-36-8	115, 61, 72
Gluconasturtiin	Phenethyl-Isothiocyanat	PE-ITC	2257-09-2	91, 105, 163
Progoitrin	Goitrin		500-12-9	129, 68, 41
Glucoiberin	Iberin		505-44-2	72, 45, 116
Glucoraphanin	Sulforaphan	SFP	4478-93-7	160, 72, 163

CAS-Nr. = Registrierungsnummer des Chemical-Abstracts-Services; n.b. = nicht bekannt

Tab. 3.8: Temperaturprogramm zur Trennung von Isothiocyanaten am GC (Varian 3900) in einer FactorFour™ Säule

Temperatur [°C]	Heizrate [°C min ⁻¹]	Haltezeit [min]	Gesamtzeit [min]
35	-	0,0	0,00
60	3	0,0	8,33
150	10	1,0	18,33
190	5	2,0	28,33

Die Isothiocyanate wurden mit einem Massenspektrometer (MS) detektiert, das ankommende Moleküle mit einer Energie von 70 eV ionisiert. Das MS scannt die Masse-zu-Ladung-Verhältnisse (m/z) von m/z 30 bis m/z 400. Zur Schonung des MS und gleichzeitigen Ausblendung der Lösungsmittel-Peaks startete das MS erst nach 3,8 min und scannte bis zur 28sten Minute. Die Fragmente der gesuchten Substanzen wurden mit einer Scanrate von 0,8 s detektiert. Die Peakflächen der gesuchten Isothiocyanate wurden mit einer Steigungsempfindlichkeit (slope sensitivity) von 20, einer Tangentenhöhe (tangent high) von 10 % und einer Anfangs- und Endpeakweite (Initial peak width) von 4,0 s integriert.

Identifizierung und Quantifizierung der Isothiocyanate

Die Identifizierung der Isothiocyanate (ITC) basierte auf Retentionszeiten von verfügbaren Standards (Abb. 3.1; Abb. 3.2) zusammen mit Vergleichen von Massenspektren aus wissenschaftlichen Datenbanken (NIST 98- und der Wiley 90, elektronische Versionen), sowie aus der Literatur (SPENCER & DAXENBICHLER, 1980). Einige Standards (3-B-ITC, 4-Mtb-ITC und Goitrin) wurden durch Spaltung von Glucosinolaten (Gluconapin, Glucoerucin und Progoitrin) mit Hilfe von Myrosinase analog zur Probenextraktion (siehe 3.2.1), jedoch ohne Filtrierung, hergestellt. Die Massenspektren der identifizierten Spaltprodukte sind im Anhang dargestellt (Abb. A.2: Massenspektrum von Allyl-Isothiocyanat (A-ITC) Abb. A.2 bis Abb. A.10).

Retentionsindizes zum geräteunabhängigen Vergleich wurden nach der KOVÁTS-Gleichung (Formel 3.1) relativ zu C₈-C₂₀ Alkanen berechnet (KOVÁTS, 1958); Tab. 3.9). Das entsprechende Chromatogramm ist im Anhang in Abb. A.1 abgebildet.

Formel 3.1: Gleichung zur Berechnung des KOVÁTS-Indexes (KOVÁTS, 1958)

$$KI = 100 \cdot N + 100 \cdot n \frac{\log_{t^A} - \log_{t^N}}{\log_{t^{N+n}} - \log_{t^N}}$$

KI = KOVÁTS Index

N = Anzahl der C-Atome des Alkans, das vor dem Analyt eluiert

n = Differenz zur Anzahl der C-Atome des nach dem Analyten eluierenen Alkans

A = Analyt

T' = relative Retentionszeit = Retentionszeit – Totzeit

Da sich die Kalibrierfunktionen der untersuchten Substanzen (Tab. 3.9) deutlich in ihrer Steigung unterscheiden (siehe Anhang, Abb. A.11 bis

Abb. A.19), wurde die Quantifizierung der Verbindungen mit externen Standards mit mindestens fünf Verdünnungsstufen für jede Komponente realisiert (Tab. A.1).

Tab. 3.9: Identifizierte Isothiocyanate mit Retentionszeit, KovÁTS Index, Kalibrierfunktion und Bestimmtheitsmaß

ITC	Rt. [min]	KI	Kalibrierfunktion	Bestimmtheitsmaß r^2
A-ITC	8,0	886	$9,4629e+4x$	0,99807
3-B-ITC	11,1	987	$5289,9961x-158,665$	0,91122
P-ITC	15,5	1213	$36933e+5x-3117,4456$	0,99979
B-ITC	18,0	1374	$9,8149e+5x-7,1016e+4$	0,99272
4-Mtb-ITC	19,1	1443	$5167,3013x+771,4784$	0,93777
PE-ITC	19,7	1477	$4,8739e+5x-1122,6302$	0,99995
Goitrin	21,0	1548	$1,8271e+4x-893,8705$	0,98694
Iberin	22,5	1624	$1,4790e+4x-1703,2837'$	0,97080
Sulforaphan	25,3	1769	$2,8873e+6x-3,1833e+4$	0,96422

ITC = Isothiocyanat; Rt. = Retentionszeit; KI = berechneter KovÁTS-Index

Für A-ITC wurden stets zwei Isomere (Rt. 7,6 min und 8,0 min) identifiziert, wobei nur mit dem größeren Peak bei einer Retentionszeit (Rt.) von 8,0 min kalibriert und gerechnet wurde.

Außerdem wurde eine mögliche Varianz beim Extraktionsvorgang durch einen internen Standard kompensiert. Als interner Standard wurde P-ITC ausgewählt, da dieses Isothiocyanat nicht in den untersuchten Pflanzenarten vorkommt und sich bei Testmessungen als sehr stabil erwies. Nach jeder dritten Probe wurde das Lösungsmittel als blank (solvent blank) eingegliedert. Gehalte unter $0,001 \text{ mg ml}^{-1}$ TM können vom Programm nicht berechnet werden und werden daher mit einem x (= in Spuren) angegeben. Die Werte wurden im Nachhinein von mg ml^{-1} auf $\mu\text{mol ml}^{-1}$ Extrakt umgerechnet, um sie so mit Literaturwerten vergleichen zu können.

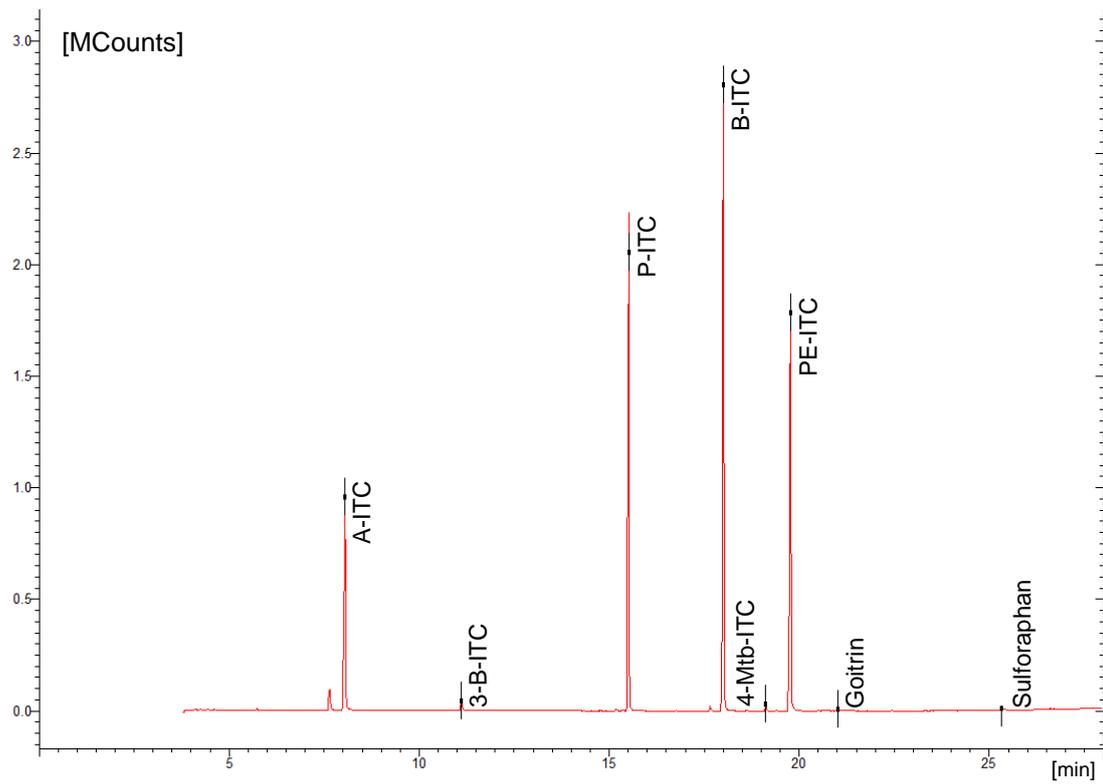


Abb. 3.1: Chromatogramm der Standard-Mischung, Skalierung bis 3 MCounts

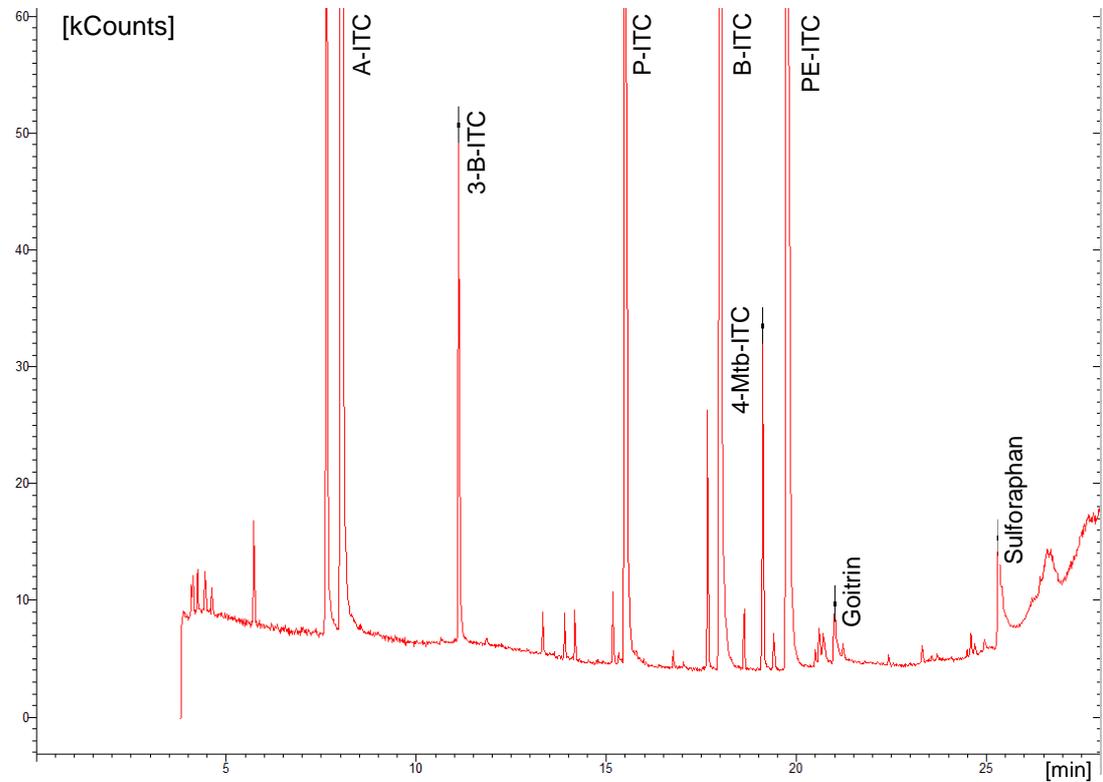


Abb. 3.2: Chromatogramm der Standard-Mischung, Skalierung bis 60 kCounts

3.3 Biogasbildungspotenzial

Verwendete Geräte und Chemikalien:

- Laborwaagen: Kern EW 600-2 (Kern & Sohn GmbH)
- Muffelofen: Typ N 11 (Nabertherm GmbH) mit dem Programm-controller C19 (Logotherm Regelsysteme GmbH)
- Schmelziegel: 38 mL, Porzellan (Carl Roth GmbH & Co. KG)
- Glasfiltertiegel: BRAND™ 1D1, 30 mL, Borosilikatglas (Sigma-Aldrich Co. LLC)
- Spitzkolben: 100 ml (Carl Roth GmbH & Co. KG)
- Soxhlet-Apparatur: Reihenheizbank, 6-stellig (Gerhardt)
Rückflusskühler, 300 mm, DURAN®-Glas (Schott)
Wasserstrahlpumpe (Carl Roth GmbH & Co. KG)
- Trockenschrank: Typ 18115300002020 (Binder GmbH)
- Essigsäuregemisch: Salpetersäure 65 % (Carl Roth GmbH & Co. KG)
Essigsäure 100 % (Carl Roth GmbH & Co. KG)
Trichloressigsäure (Merck AG)
- Wasserstrahlpumpe: Art.-Nr. 7366.1 (Carl Roth GmbH & Co. KG)

Berechnung

Zur Schätzung des Biogasbildungspotenzials wurden für die gefrorenen und silierten Proben aus dem Feldversuch „Zwischenfrüchte 2010“ und den gefrorenen Proben aus dem Kohlversuch desselben Jahres zusätzlich zur Trockenmasse auch der Aschegehalt und der Fasergehalt nach amtlichen Methoden (THALMANN, 2006) bestimmt.

Um Verluste von flüchtigen Gärprodukten zu berücksichtigen, wurde der Trockenmasse-Gehalt von Silagen nach WEIßBACH & KUHLA (1995) korrigiert (Formel A.1, S. 109). Die dazu nötige Bestimmung der Gehalte an flüchtigen Gär-säuren, Alkoholen und Ammoniak (Berthelot-Reaktion) wurde vom Gemeinschafts-labor Analytik der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin durchgeführt (WEIß, 2001; WEIß & KAISER, 1995; WILCOX et al., 1966).

Die fermentierbare organische Trockenmasse (FoTM) wurde für Mais und Kreuzblütler mit unterschiedlichen Formeln berechnet (Formel 3.2 und Formel 3.3).

Formel 3.2: Gleichung zur Berechnung der FoTM von Maisganzpflanzen, Lieschkolben und Maiskorn, Maissilagen (WEIßBACH, 2008)

$$FoTM = 984 - (XA) - 0.47 (XF) - 0.00104 (XF)^2 \text{ [g/kg DM resp. DM}_k \text{]}$$

Formel 3.3: Gleichung zur Berechnung der FoTM von Kreuzblütlern (WEIßBACH, 2012)

$$FoTM = 1000 - (XA) - 0.74 (XF) \text{ [g/kg DM resp. DM}_k \text{]}$$

- FoTM = fermentierbare organische Trockenmasse
XA = Rohasche
XF = Rohfaser
DM_n = normale Trockenmasse
DM_k = korrigierte Trockenmasse von Silagen (Gärverluste berücksichtigt)

Für ein Kilogramm fermentierbare organische Trockenmasse werden 420 L_n Methan bzw. 800 L_n Biogas angenommen (WEIßBACH, 2009). Dies impliziert einen konstanten Methangehalt von 52.5 % des zu erwartenden Biogasvolumens pro kg FoTM. Durch die Multiplikation von FoTM-Gehalt und Methan- bzw. Biogasvolumen wurde das Methanbildungs- bzw. Biogasbildungspotenzial berechnet.

3.4 Biogasversuche

Verwendete Geräte und Chemikalien:

- CH₄-Sensor: Infrarot Analysator GS IRM 100 (GS Messtechnik GmbH)
- Gas-Auffangbeutel: TECOBAG für Gasanalysen aus Aluminium, 60 L Volumen (Tesseraux Spezialverpackungen GmbH)
- Gasentfeuchter: Messgaskühler MGK 741 (Pronova Analysetechnik GmbH & Co. KG)
- H₂S-Sensor: Wärmeleitfähigkeitsanalysator GS 2900 M (GS Messtechnik GmbH)
- Heizung: MP Heater 300 Watt (Aquatic Nature IAT)
- Inoculum-Waage: Plattformwaage Kern VB 30/10 (Kern & Sohn GmbH)
- Laborfermenter: Typ Getränkefass (rund), 20 L Volumen, aus Polyethylen Durchmesser ca. 30 cm, Innenhöhe: 32 cm; (Speidel Tank- und Behälterbau GmbH)
- Laborwaagen: TM-Bestimmung, Substrateinwaage: Kern EW 600-2 Aschebestimmung: Kern 440-21A (Kern & Sohn GmbH)
- Muffelofen: Typ N 11 mit dem Steuerungstyp C290 (Nabertherm GmbH)
- Rührwerk: DC Motor und Getriebe DO1113763300 (Doga, S.A.) mit 8 mm Edelstahl-Rundeisen als Rührer (U-Form)
- Thermometer: Flüssigkeitsthermometer (Alkohol)
- Trockenschrank: Typ 18115300002020 (Binder GmbH)
- Trommel-Gaszähler: TG 1/5 mit Wasser als Sperrflüssigkeit (Dr.-Ing. Ritter Apparatebau GmbH & Co. KG)
- Unterwasserpumpe: Sera P400, regelbar, 400 L h⁻¹ (Sera GmbH)
- Wasserbad: 30 mm dicke Hartschaumplatten aus Polystyrol Länge: 239 cm, Breite: 42 cm, Höhe: 40 cm (7 Stück)
Länge: 160 cm, Breite: 42 cm, Höhe: 40 cm (1 Stück)

Verwendete Substrate:

- Inoculum: Gärrest aus dem Nachgärbehälter vom Hofgut Fiddemühle in 35282 Rauschenberg
- Kohl-Arten: Feldversuch 2010, eine Probe pro Parzelle (n = 40)
- Mais: Biomasseversuch 2009, Gießen, 2. Ernte (BBCH 85), 4. Feldwiederholung

- Prüfgas: Produkt A04010110, Gemisch-Nummer G3118253 (60 % CH₄, 40 % N, 0 ppm H₂S) (Westfalen AG)
- Zellulose: Cellulose Mikrokristallin PH 102 (Fragon GmbH & Co. KG)
- Zwischenfrüchte: Feldversuch 2010, Aussaat II (20. August 2010), N-Stufe II (100 kg N ha⁻¹), Mischung der 4 Feldwiederholungen (n = 16)

Aufbau und Durchführung

Zur Bestimmung von Methan- und Biogaserträgen verschiedener Proben aus den vorgenannten Feldversuchen wurde das Batch-Verfahren entsprechend der VDI RICHTLINE 4630 (2006) angewendet. Dazu wurden Labor-Fermenter genutzt, die in Eigenbau nach dem Vorbild der Labor-Fermenter des Landesbetriebs Hessisches Landeslabor (LHL) am Standort Schloss Eichhof (D-36251 Bad Hersfeld) erstellt wurden. Die Labor-Fermenter standen in Wasserbecken, deren Temperatur mit zwei Heizstäben geregelt wurde. Das in den Becken befindliche Wasser wurde auf 38 °C aufgeheizt und mit einer Unterwasserpumpe umgewälzt. Die Temperatur des Wassers wurde regelmäßig anhand eines im Wasser befindlichen Thermometers überprüft. Als Fermentationsbasis und Inoculum wurden Labor-Fermenter mit je 15 L ausgegastem Gärrest aus einem Nachgärbehälter einer mit Maissilage und Rindergülle betriebenen Biogasanlage einmalig befüllt (diskontinuierliches Verfahren). Die Substrate wurden in Form von aufgetauter Frischmasse (FM) eingewogen, jedoch wurde auf ein ähnliches Verhältnis des Trockenmassegehaltes geachtet (Tab. 3.10).

Tab. 3.10: Übersicht über die durchgeführten Batchversuche

Feldversuch	Lagerungsart	Lagerungsdauer [Monate]	Einwaage	Maisprobe	oTM-Anteil
Zwischenfrüchte 2010	gefroren	14,5	Kreuzblütler: 500 g FM Mais: 300 g FM	Mischungen aus den Sorten Gavott (RG 250), Deco (RG 290) und Agro Yoko (RG 240)	35,4 % oTM
	siliert	22,5	Kreuzblütler: 400 g FM Mais: 160 g FM		39,8 % oTM
Kohl 2010	gefroren	1. Ernte: 7,5 2. Ernte: 6,7	Kreuzblütler: 300 g FM Mais: 250 g FM	Sorte Filippo (RG 240)	60,0 % oTM
	siliert	1. Ernte: 9,5 2. Ernte: 8,5	Kreuzblütler: 300 g FM, Mais: 300 g FM		40,7 % oTM

oTM = organische Trockenmasse; FM = Frischmasse; RG = Reifegruppe

Die Mischproben von Mais und Zwischenfrüchten wurden im Verhältnis 1:1 der Trockenmasse gemischt. Zu den Varianten mit Kohl wurden jeweils 25 g gemahlener Mais (ganze Pflanze) hinzugefügt, um den Gärprozess anzuregen. In allen Versu-

chen wurden jeweils 100 g Zellulose zugesetzt. Alle Varianten wurden randomisiert. Trockenmasse und Aschegehalt der Substrate wurden nach amtlichen Methoden (THALMANN, 2006) determiniert. Ebenso wurde der pH-Wert der silierten Proben bestimmt.

Der Inhalt der Fermenter wurde automatisch alle 30 min für 15 min mit einem Rührwerk umgewälzt und regelmäßig kontrolliert. Die Dynamik der Biogasbildung wurde 2, 4, 7, 11, 17. und 24 Tage nach Versuchsbeginn gemessen. Die einzige Ausnahme war die Messung mit gefrorenen Zwischenfrüchten. Die Gasbildung wurde aufgrund eines Stromausfalles zu Beginn dieses Versuches, der eine langsamere Vergärung zur Folge hatte, nach 4, 7, 17 und 24 Tagen bestimmt. Für die jeweilige Bestimmung wurden die Gas-Auffangbeutel abgenommen und mit Druck über einen Gaszähler entleert. Das entstandene Gasvolumen wurde notiert und weiter durch die Sensoren für den Methangehalt (CH_4) und die Schwefelwasserstoffkonzentration (H_2S) sowie zuletzt über einen Gasentfeuchter nach draußen geleitet. Gleichzeitig wurde die Gastemperatur und der atmosphärische Druck notiert, um die gewonnenen Werte anschließend zur Standardisierung (Temperatur von $0\text{ }^\circ\text{C}$, Atmosphärendruck von 1013 hPa) in Normliter (L_n) umrechnen zu können. Die Methan- und Schwefelwasserstoffkonzentrationen wurden mit Hilfe von zertifiziertem Prüfgas korrigiert. Für die silierten Zwischenfrüchte konnte keine Messung der Schwefelwasserstoffkonzentration durchgeführt werden. Nach der jeweils letzten Probe eines Messtages wurde das Methanmessgerät erneut mit dem Prüfgas kontrolliert, um eventuelle Veränderungen festzustellen und diese ebenfalls bei der Auswertung berücksichtigen zu können.

Schließlich wurde der Mittelwert der von reinen Gärresten gebildeten Methan- bzw. Biogasvolumina von dem durch die Mischungen von Gärrest und Co-Substraten produzierten Gasvolumina abgezogen.

3.5 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse der erhobenen Daten wurde mit dem Statistikprogramm SPSS 20 durchgeführt. Zuerst wurden die Daten mittels Levené-Test auf ihre Normalverteilung getestet, gefolgt von einer univariaten Varianzanalyse (ANOVA). Fiel der Levené-Test signifikant aus, wurden die Daten weiter mit den Tests auf Normalverteilung durch Kolmogorov-Smirnoff bei einer Probenanzahl von über 50 bzw. Shapiro-Wilk bei $n < 50$ überprüft. Gegebenenfalls mussten Ausreißer aus den Daten entfernt werden. Wenn die ANOVA auf signifikante Unterschiede verwies, wurde wie folgt vorgegangen: balancierte Daten (Feldversuche, ITC-Gehalt) wurden mit dem Post-hoc-Test Tukey's b bezüglich der Sortenunterschiede ausgewertet, nicht-balancierte (Batchversuche) mit dem LSD-Test und der daraus berechneten Grenz-

differenz. Alle Berechnungen beruhen auf einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Die Variante mit purer Zellulose ist nicht in die statistischen Berechnungen mit einbezogen worden und diente allein der Überwachung des Gärverlaufes.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Feldversuche mit Zwischenfrucht-Arten

4.1.1 Zwischenfrüchte 2009

Aussaatzeit I

Die N-Düngungsstufen der Aussaatzeit I (Aussaat am 5.08.2009) unterschieden sich hochsignifikant in den Merkmalen FM-Ertrag und TM-Ertrag. Demgegenüber wurde der TM-Gehalt der geprüften Sorten bzw. Arten nicht durch die Stickstoffdüngung beeinflusst. Die höchsten FM- und TM-Erträge im ersten Versuch 2009 (Aussaatzeit I) wurden in beiden N-Düngungsstufen (40 kg N ha^{-1} , 80 kg N ha^{-1}) mit der Wasserrübe erreicht, deren Sorten in beiden N-Düngungsstufen mit über 300 dt ha^{-1}

Tab. 4.1: Biomasseerträge und TM-Gehalte von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten bei unterschiedlicher Stickstoffdüngung ($40 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$; $80 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$) im Feldversuch Groß-Gerau 2009, Aussaatzeit I (Aussaat am 5. August 2009, je zwei Sorten, 4 Wiederholungen)

Art	Sorte	$40 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$			$80 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$		
		FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]	FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]
Sommerraps	Liforum	137 a	13,3 abcd	18,0 abcd	204 abc	12,8 bc	26,0 abcd
	Jumbo	107 a	15,5 d	16,4 abc	171 abc	14,8 c	25,3 abcd
Winterraps	Molino	111 a	14,4 bcd	16,0 abc	224 bc	13,5 bc	30,3 bcd
	Emerald	97 a	13,8 abcd	13,3 abc	183 abc	13,5 bc	24,6 abcd
Winterrübsen	Lenox	60 a	15,0 cd	9,1 a	139 ab	13,2 bc	18,3 ab
	Malwira	45 a	15,7 d	7,1 a	101 a	14,4 c	14,2 a
Chinakohlrübsen	Buko	69 a	14,3 bcd	9,8 ab	144 ab	13,3 bc	19,1 abcd
	Perko	38 a	15,8 d	6,0 a	147 ab	13,2 bc	18,7 ab
Wasserrübe	Civasto	319 b	12,4 abc	39,7 f	527 d	11,7 ab	53,1 e
	Agressa	304 b	11,8 ab	35,7 f	551 d	9,9 a	54,5 e
Weißer Senf	Tango	132 a	20,9 e	27,2 cdef	185 abc	19,2 d	35,6 d
	Sirtaki	142 a	21,9 e	30,9 def	190 abc	19,8 d	37,5 d
Sareptasenf	Vitasso	120 a	12,4 abc	14,4 abc	201 abc	11,6 ab	23,8 abcd
	Energy	115 a	20,4 e	23,5 bcde	165 abc	20,1 d	32,9 cd
Örettich	Neu Reset	137 a	11,3 a	15,0 abc	221 bc	11,6 ab	25,4 abcd
	Bento	151 a	12,0 ab	18,3 abcd	264 c	11,3 ab	29,6 bcd
p-Wert Sorte		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
p-Wert N		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,003	< 0,001
Interaktion Sorte * N		< 0,001	0,487	0,884	< 0,001	0,487	0,884
Standardfehler		10,91	1,42	1,38	15,56	0,39	1,54
GD ($\alpha = 5\%$)		66,8	1,57	8,25	58,84	1,52	8,24

FM = Frischmasse; TM = Trockenmasse; GD = Grenzdifferenz; Unterschiedliche Buchstaben = signifikante Differenzen zwischen den Mittelwerten der Sorten (Tukey-Test)

(Düngungsstufe I) bzw. über 500 dt ha⁻¹ (Düngungsstufe II) mehr als das Doppelte an FM-Erträgen im Vergleich zu anderen Zwischenfrüchten erzielten (Tab. 4.1).

Aussaatzeit II

Im zwei Wochen später gesäten Feldversuch mit Zwischenfrüchten (Aussaat II) waren die Spannweiten innerhalb der Prüfmerkmale geringer als im Versuch Aussaat I (Tab. 4.2). Doch auch in diesem Versuch erreichten die Wasserrüben die

Tab. 4.2: Biomasseerträge und TM-Gehalte von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten bei unterschiedlicher N-Düngung (40 kg ha⁻¹ N; 80 kg ha⁻¹) im Feldversuch Groß-Gerau 2009,

Art	Sorte	40 kg ha ⁻¹ N			80 kg ha ⁻¹ N		
		FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]	FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]
Sommerraps	Liforum	177 bc	12,9 cdef	22,7 c	228 abc	12,1 bc	27,6 cde
	Jumbo	150 abc	14,1 f	21,0 bc	202 ab	12,6 c	25,4 abcd
Winterraps	Molino	159 abc	13,3 ef	21,0 bc	248 bcd	12,1 bc	30,0 de
	Emerald	146 abc	13,2 ef	19,4 abc	198 ab	12,1 bc	24,0 abcd
Winterrübsen	Lenox	132 abc	11,9 abcde	15,6 ab	186 a	10,4 ab	19,2 a
	Malwira	124 ab	11,3 abcd	13,7 ab	189 ab	10,9 abc	20,6 ab
Chinakohlrübsen	Buko	141 abc	12,1 bcde	17,0 abc	237 abc	10,7 abc	25,4 abcd
	Perko	106 a	13,0 def	13,7 ab	186 a	11,4 bc	21,2 abc
Wasserrübe	Civasto	389 d	12,0 bcde	46,8 e	452 e	10,9 abc	49,2 g
	Agressa	389 d	11,1 abc	43,3 e	501 f	9,5 a	47,5 g
Weißer Senf	Tango	190 c	17,5 h	33,1 d	239 abc	16,4 e	36,2 f
	Sirtaki	168 bc	17,7 h	29,7 d	228 abc	16,4 e	37,4 f
Sareptasenf	Vitasso	165 abc	12,7 cdef	21,0 bc	193 ab	12,1 bc	23,3 abc
	Energy	190 c	15,7 g	29,6 d	222 abc	14,3 d	31,7 e
Ölrettich	Neu Reset	176 bc	10,2 a	17,8 abc	295 d	9,1 a	26,7 bcde
	Bento	165 abc	10,6 ab	17,3 abc	266 cd	9,1 a	24,1 abcd
p-Wert Sorte		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
p-Wert Düngungsstufe		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,003	< 0,001
Interaktion Sorte * Düngung		0,004	0,976	0,070	0,004	0,976	0,070
Standardfehler		10,45	0,28	1,25	11,76	0,28	1,18
Grenzdifferenz		35,36	1,08	3,55	34,89	1,21	4,10

FM = Frischmasse; TM = Trockenmasse; GD = Grenzdifferenz; Unterschiedliche Buchstaben = signifikante Differenzen zwischen den Mittelwerten der Sorten (Tukey-Test)

Aussaatzeit II (Aussaat am 19. August 2009, je 2 Sorten, 4 Wiederholungen)

höchsten Biomasseerträge, sowohl in der FM (389 dt ha⁻¹) als auch im TM-Ertrag (46,8 dt ha⁻¹ bzw. 43,3 dt ha⁻¹). Die geringsten Biomasse-Erträge wurden in der ersten N-Düngungsstufe von der Chinakohlrübsensorte ‚Perko‘ mit 106 dt ha⁻¹ FM und 13,7 dt ha⁻¹ TM erzielt. In der zweiten N-Düngungsstufe wurde die niedrigste Biomasseproduktion sowohl beim Chinakohlrübsen ‚Perko‘ (21,2 dt ha⁻¹ TM) als

auch bei den Winterrübensorten ‚Lenox‘ (19,2 dt ha⁻¹ TM) und ‚Malwira‘ (20,6 dt ha⁻¹ TM) beobachtet (Tab. 4.2). Bei allen drei Prüfmerkmalen haben die unterschiedlichen N-Düngungsstufen zu hochsignifikanten Unterschieden geführt, dabei wurde mit der höheren N-Gabe im Mittel die FM-Produktion von 185 dt ha⁻¹ auf 255 dt ha⁻¹ gesteigert, der TM-Gehalt sank von 13,1 % auf 11,8 % (im Mittel) und der TM-Ertrag stieg von 23,9 dt ha⁻¹ auf 29,4 dt ha⁻¹ (im Mittel).

4.1.2 Zwischenfrüchte 2010

Sowohl im früh gesäten Feldversuch 2010 (Aussaat I) als auch im später gesäten Feldversuch 2010 (Aussaat II) hatte die N-Düngung in allen drei Prüfmerkmalen (FM-Ertrag, TM-Gehalt, TM-Ertrag) einen hochsignifikanten Einfluss auf die Bildung der Biomasse.

Aussaatzeit I

Die Sorten unterschieden sich innerhalb der beiden N-Düngungsstufen in allen drei Prüfmerkmalen hochsignifikant. Die Biomasseproduktion fiel in diesem Versuch deutlich geringer aus als in den Versuchen des Vorjahres (Tab. 4.3).

Abhängig von der Sorte wurde bei geringer N-Düngung ein FM-Ertrag von 22 dt ha⁻¹ (Winterrüben ‚Malwira‘) bis 176 dt ha⁻¹ (Wasserrübe ‚Agressa‘) festgestellt. Die getesteten Zwischenfruchtsorten wiesen TM-Gehalte von 11,9 % (Wasserrübe ‚Civasto‘) bis zu 21,5 % (Weißer Senf ‚Sirtaki‘) auf.

Mit einer N-Düngung von 100 kg ha⁻¹ N wurden 51 dt ha⁻¹ FM (Winterrüben ‚Malwira‘) bis 334 dt ha⁻¹ FM (Wasserrübe ‚Agressa‘) produziert. Mit 10,7 % bis maximal 19,4 % waren die TM-Gehalte etwas geringer als in der ersten N-Düngungsstufe. Die Zunahme der N-Aufwandmenge von 60 kg ha⁻¹ auf 100 kg ha⁻¹ hatte eine Erhöhung der TM-Erträge von 3,4-26,7 dt ha⁻¹ (60 kg N) auf 7,7-42,2 dt ha⁻¹ (100 kg N) zur Folge (Tab. 4.3).

Tab. 4.3: Biomasseerträge und TM-Gehalte von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten bei unterschiedlicher N-Düngung (60 kg ha⁻¹ N; 100 kg ha⁻¹ N) im Feldversuch Groß-Gerau 2010, Aussaatzeit I (Aussaat am 6. August 2009, je 2 Sorten, 4 Wiederholungen)

Art	Sorte	60 kg ha ⁻¹ N			100 kg ha ⁻¹ N		
		FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]	FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]
Sommererbsen	Liforum	72 abcd	13,7 abc	9,8 ab	167 bc	12,3 ab	20,3 abc
	Jumbo	51 abcd	14,5 abc	7,3 ab	109 ab	13,7 bc	14,8 a
Wintererbsen	Molino	40 abc	14,3 abc	5,7 a	88 ab	13,0 abc	11,1 a
	Emerald	36 abc	14,8 bc	5,3 a	93 ab	13,7 bc	12,3 a
Wintererbsen	Lenox	31 ab	16,2 cd	4,8 a	85 ab	13,1 abc	10,9 a
	Malwira	22 a	16,0 cd	3,4 a	51 a	15,2 cd	7,7 a
Chinakohlrüben	Buko	30 ab	14,3 abc	4,3 a	106 ab	13,0 abc	13,7 a
	Perko	28 a	15,6 cd	4,3 a	84 ab	13,9 bc	11,7 a
Wasserrübe	Civasto	121 bcde	12,7 ab	14,8 abcd	249 cd	11,7 ab	29,2 cd
	Agressa	176 e	11,9 a	20,5 cde	334 d	10,3 a	34,6 de
Weißer Senf	Tango	135 de	19,8 e	26,7 e	228 c	18,6 e	42,2 e
	Sirtaki	111 abcde	21,5 e	23,8 de	178 bc	19,4 e	34,5 de
Sareptasenf	Vitasso	73 abcd	13,7 abc	9,9 ab	130 ab	12,1 ab	15,5 ab
	Energy	54 abcd	17,4 d	9,3 ab	113 ab	17,2 de	19,4 abc
Ölrettich	Neu Reset	107 abcde	12,9 ab	13,3 abcd	259 cd	10,7 a	27,7 bcd
	Bento	124 cde	13,8 abc	16,8 bcde	252 cd	11,4 ab	28,5 cd
p-Wert Sorte		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
p-Wert Düngungsstufe		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Interaktion Sorte * Düngung		0,024	0,729	0,471	0,024	0,729	0,471
Standardfehler		7,05	0,344	1,03	11,1	0,35	1,42
Grenzdifferenz		52,9	1,55	6,21	60,2	1,70	8,03

FM = Frischmasse; TM = Trockenmasse; GD = Grenzdifferenz; Unterschiedliche Buchstaben = signifikante Differenzen zwischen den Mittelwerten der Sorten (Tukey-Test)

Aussaatzeit II

Auch bei einer verzögerten Saatzeit der Zwischenfrüchte (im Feldversuch Aussaatzeit II) waren bei allen drei Prüfmerkmalen signifikante Unterschiede zwischen den Düngungsstufen zu beobachten. Maximal wurden bei einer Düngung von 60 kg ha⁻¹ N 121 dt ha⁻¹ bzw. 110 dt ha⁻¹ (Wasserrüben) an FM erreicht, während die Düngung mit 100 kg ha⁻¹ N maximal 162 dt ha⁻¹ (Ölrettich ‚Bento‘) erreichte (Tab. 4.4). Der Gehalt an TM lag in der niedrigen Düngungsstufe im Bereich 12,5-17,0 % und in der höheren Düngungsstufe zwischen 11,2 % und 14,5 %. Die höchsten TM-Erträge erreichten der Weiße Senf ‚Tango‘ mit 15,1 dt ha⁻¹ und die Wasserrübe ‚Civasto‘ mit 15,0 dt ha⁻¹ in der niedrigeren N-Düngungsstufe. Demgegenüber wurden in der höheren Düngungsstufe die höchsten TM-Erträge mit dem Weißen Senf (je 22,3 dt ha⁻¹ bzw. 17,9 dt ha⁻¹) und mit der Ölrettich-Sorte ‚Bento‘ (17,7 dt ha⁻¹) erzielt (Tab. 4.4).

Tab. 4.4: Biomasseerträge und TM-Gehalte von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten bei unterschiedlicher Stickstoffdüngung (60 kg ha⁻¹ N; 100 kg ha⁻¹ N) im Feldversuch Groß-Gerau 2010, Aussaatzeit II (Aussaat am 20. August 2009, je 2 Sorten, 4 Wiederholungen)

Art	Sorte	60 kg ha ⁻¹ N			100 kg ha ⁻¹ N		
		FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]	FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]
Sommerrapss	Liforum	28 abcd	14,7 abcd	4,1 abc	56 abc	12,9 abcd	7,2 abc
	Jumbo	30 abcd	14,9 bcd	4,4 abc	49 abc	13,2 bcd	6,3 ab
Winterraps	Molino	20 ab	14,8 abcd	2,9 a	43 a	13,4 bcd	5,7 ab
	Emerald	15 ab	15,4 cd	2,3 a	38 a	13,9 bcd	5,2 a
Winterrübsen	Lenox	30 abcd	14,4 abc	4,3 abc	60 abc	13,6 bcd	8,0 abc
	Malwira	22 ab	14,3 abc	3,2 a	54 abc	13,6 bcd	7,0 abc
Chinakohlrübsen	Buko	36 abcd	14,6 abcd	5,2 abc	55 abc	13,8 bcd	7,6 abc
	Perko	14 ab	15,7 cd	2,2 a	62 abc	13,6 bcd	8,1 abc
Wasserrübe	Civasto	110 e	13,3 abc	14,4 d	128 bcd	12,0 ab	15,2 bcd
	Agressa	121 e	12,5 a	15,0 d	131 cd	12,2 abc	15,9 cd
Weißer Senf	Tango	90 e	17,0 d	15,1 d	153 d	14,5 d	22,3 d
	Sirtaki	72 bcde	16,7 d	11,9 d	127 bcd	14,1 cd	17,9 d
Sareptasenf	Vitasso	26 abc	14,9 bcd	3,8 ab	44 ab	14,1 bcd	6,1 ab
	Energy	10 a	15,3 cd	1,5 a	19 ab	14,4 d	2,7 a
Ölrettich	Neu Reset	84 de	12,8 ab	10,3 bcd	146 d	11,2 a	16,3 cd
	Bento	81 cde	13,6 abc	10,7 cd	162 d	11,2 a	17,7 d
p-Wert Sorte		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
p-Wert Düngungsstufe		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Interaktion Sorte *		0,405	0,317	0,704	0,405	0,317	0,704
Standardfehler		5,21	0,18	0,68	6,99	0,16	0,84
Grenzdifferenz		33,48	1,36	4,03	49,0	1,21	5,65

FM = Frischmasse; TM = Trockenmasse; GD = Grenzdifferenz; Unterschiedliche Buchstaben = signifikante Differenzen zwischen den Mittelwerten der Sorten (Tukey-Test)

4.2 Ergebnisse der Feldversuche mit Kohlarten

4.2.1 Feldversuch mit Kohl 2009

Im Jahr 2009 wurden mit den Weißkohlsorten ‚Bartolo‘ und ‚Filderkraut‘ die höchsten FM-Erträge (857 dt ha⁻¹ bzw. 820 dt ha⁻¹) erzielt, wobei zwischen den Prüfgliedern keine signifikanten Unterschiede bestanden (Tab. 4.5). Die TM-Gehalte der Kohlarten variierten von minimal 8,3 % (Kohlrübe ‚Helenor‘) bis maximal 13,2 % (Markstammkohl ‚Camaro‘). Daraus resultiert eine Spannweite der TM-Erträge von 55 dt ha⁻¹ (Wirsing ‚Wirosa‘) bis 101 dt ha⁻¹ (Weißkohl ‚Bartolo‘) (Tab. 4.5).

Tab. 4.5: Biomasseerträge und TM-Gehalte von ausgewählten Kohl-Arten im Feldversuch Groß-Gerau 2009, (je 2 Sorten, 4 Wiederholungen)

Art	Sorte	Vegetation [d]	FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]
Weißkohl	Bartolo	140	857	11,2 ab	101 b
	Filderkraut	112	820	10,1 ab	94 ab
Rotkohl	Integro	140	781	9,8 a	81 ab
	Subaro	140	661	11,2 ab	78 ab
Wirsing	Produsa	112	653	10,4 a	68 ab
	Wirosa	140	517	10,5 ab	55 a
Markstammkohl	Camaro	112	671	13,2 b	90 ab
	Grüner Angeliter	112	769	12,2 ab	93 ab
Kohlrübe	Wilhelmsburger	140	574	9,3 ab	64 ab
	Helenor	140	561	8,3 ab	60 ab
Standardfehler			32	2,3	3,5
p-Wert			0,202	0,043	0,010
GD ($\alpha = 5\%$)			ns	1.9	43,8

Vegetation = Wachstumszeit in Tagen; FM = Frischmasse; TM = Trockenmasse; GD = Grenzdifferenz; Unterschiedliche Buchstaben = signifikante Differenzen zwischen den Mittelwerten der Sorten (Tukey-Test)

4.2.2 Feldversuch mit Kohl 2010

Im Jahr 2010 wurden im Vergleich mit den anderen Versuchsjahren mit 823-1843 dt ha⁻¹ FM bzw. 89-200 dt ha⁻¹ TM die höchsten Biomasse-Erträge erzielt (Tab. 4.6). Die höchsten FM-Erträge erreichten die Weißkohlsorten ‚Bartolo‘ (1843 dt ha⁻¹) und ‚Filderkraut‘ (1749 dt ha⁻¹), deren TM-Erträge bei 200 bzw. 176 dt ha⁻¹ lagen. Hohe Erträge erreichte mit 153 dt ha⁻¹ TM (‚Grüner Angeliter‘) bzw. 163 dt ha⁻¹ TM (‚Camaro‘) auch der Markstammkohl (Tab. 4.6).

4.2.3 Feldversuch mit Kohl 2012

Die höchsten FM-Erträge wurden in diesem Versuch mit Weißkohl ‚Bartolo‘ (1035 dt ha⁻¹) und mit Rotkohl Sorte Integro (1026 dt ha⁻¹ FM) erzielt. Die TM-Gehalte der Kohl-Sorten variierte von minimal 9,8 % (Wirsing ‚Produsa‘) bis maximal 14,9 % (Markstammkohl ‚Camaro‘). Die höchsten TM-Erträge wurden beim Weißkohl ‚Bartolo‘ (138 dt ha⁻¹) bei beiden Sorten des Markstammkohls festgestellt (121 dt ha⁻¹ bzw. 125 dt ha⁻¹) (Tab. 4.7).

Tab. 4.6: Biomasseerträge und TM-Gehalte von ausgewählten Kohl-Arten im Feldversuch Groß-Gerau 2010, (je 2 Sorten, 4 Wiederholungen)

Art	Sorte	Vegetation [d]	FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]
Weißkohl	Bartolo	145	1843 c	10,8 bcd	200 c
	Filderkraut	117	1749 c	8,4 a	146 b
Rotkohl	Integro	145	1238 ab	8,7 ab	108 ab
	Subaro	145	1273 ab	10,9 bcd	137 ab
Wirsing	Produsa	117	1276 ab	9,8 abc	125 ab
	Wirosa	145	823 a	11,1 bcd	90 a
Markstammkohl	Camaro	117	1325 b	12,4 d	163 bc
	Grüner Angeliter	117	1287 ab	11,9 cd	153 bc
Kohlrübe	Wilhelmsburger	145	903 ab	9,8 abc	89 ab
	Helenor	145	1070 ab	11,0 bcd	120 ab
Statistik			56	0,2	6,2
p-Wert			<0,001	<0,001	<0,001
GD ($\alpha = 5\%$)			290	1,50	34,6

Vegetation = Wachstumszeit in Tagen; FM = Frischmasse; TM = Trockenmasse; GD = Grenzdifferenz; Unterschiedliche Buchstaben = signifikante Differenzen zwischen den Mittelwerten der Sorten (Tukey-Test)

Tab. 4.7: Biomasseerträge und TM-Gehalte von ausgewählten Kohl-Arten im Feldversuch Groß-Gerau 2012, (je 2 Sorten, 4 Wiederholungen)

Art	Sorte	Vegetation [d]	FM [dt ha ⁻¹]	TM [%]	TM [dt ha ⁻¹]
Weißkohl	Bartolo	148	1035 d	13,2 c	138 e
	Filderkraut	148	910 cd	10,9 ab	100 bc
Rotkohl	Integro	148	1026 d	10,9 ab	112 bcd
	Subaro	148	861 bc	11,6 b	100 bc
Wirsing	Produsa	148	765 ab	9,8 a	74 a
	Wirosa	148	630 a	11,1 b	70 a
Markstammkohl	Camaro	148	811 bc	14,9 d	121 cde
	Grüner Angeliter	148	855 bc	14,6 d	125 de
Kohlrübe	Wilhelmsburger	96	639 a	11,7 b	75 a
	Helenor	96	797 bc	11,2 b	90 ab
Statistik			25	0,28	4,14
p-Wert			<0,001	<0,001	<0,001
GD ($\alpha = 5\%$)			143	1,27	22,3

Vegetation = Wachstumszeit in Tagen; FM = Frischmasse; TM = Trockenmasse; GD = Grenzdifferenz; Unterschiedliche Buchstaben = signifikante Differenzen zwischen den Mittelwerten der Sorten (Tukey-Test)

4.3 Isothiocyanat-Gehalte

4.3.1 Zwischenfrüchte 2009 und 2010 (silierte Proben)

Bei der Analyse von silierten Pflanzenproben aus den Feldversuchen 2009 und 2010 konnten kaum nennenswerte Isothiocyanat-Gehalte festgestellt werden (Tab. 4.8, Tab. 4.9). In Silagen vom Sommerraps ‚Jumbo‘ wurde Phenylethyl-Isothiocyanat (PE-ITC) in Spuren gefunden (Tab. 4.8). Ebenso wurden im Sareptasenf ‚Energy‘ nur sehr geringe Gehalte an Allyl-Isothiocyanat (A-ITC) gefunden.

Tab. 4.8: ITC-Gehalte in $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten, silierte Proben (Mischproben aus vier Feldwiederholungen) aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2009, Aussaatzeit II (19.08.2009), Düngungsstufe II ($80 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$), (je 2 Sorten, 3 Laborwiederholungen)

Art	Sorte	A-ITC	3-B-ITC	B-ITC	4Mtb-ITC	PE-ITC	Goitrin	Iberin	SFP	ITC _{Total}
Sommerraps	Liforum	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Jumbo	0,0	0,0	0,0	0,0	x	0,0	0,0	0,0	x
Winterraps	Molino	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Emerald	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Winterrübsen	Lenox	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Malwira	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Chinakohl-rübsen	Buko	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Perko	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wasserrübe	Civasto	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Agressa	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Weißer Senf	Tango	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sirtaki	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Sareptasenf	Vitasso	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Energy	x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	x
Ölrettich	Reset	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Bento	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

A-ITC = Allyl-Isothiocyanat; 3-B-ITC = 3-Butenyl-Isothiocyanat; B-ITC = Benzyl-Isothiocyanat; 4Mtb-ITC = 4-Methylthiobutyl-Isothiocyanat; PE-ITC = Phenylethyl-Isothiocyanat; SFP = Sulforaphan; ITC_{Total} = Summe aller detektierten Isothiocyanate; x = in Spuren

In den Proben des Folgejahres wurden wiederum Spuren von Allyl-Isothiocyanat (A-ITC) im Sareptasenf ‚Energy‘ gefunden (Tab. 4.9). Außerdem konnten geringe Gehalte an 3-Butenyl-Isothiocyanat (3-B-ITC) in Chinakohlrübsen (‚Buko‘) und an Benzyl-Isothiocyanat (B-ITC) in beiden Sorten des Weißen Senfes detektiert werden. In der Wasserrübensorte ‚Civasto‘ fanden sich die gleichen Spaltprodukte von Glucosinolaten (PE-ITC und Goitrin) wieder wie in der Sorte ‚Agressa‘. Aber auch in ‚Civasto‘ konnten nur Spuren der ITC-Verbindungen festgestellt werden. Allein in der Wasserrübensorte ‚Agressa‘ wurden nennenswerte Gehalte an Isothiocyanaten (insgesamt $13,4 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) bestimmt. Auf Grund der insgesamt sehr geringen Gehalte wird vermutet, dass die Isothiocyanate während des Silierprozesses sowohl

im Jahr 2009 als auch im Jahr 2010 in den Silageproben von Winterraps- und Winterrübsensorten weitestgehend abgebaut wurden.

Tab. 4.9: ITC-Gehalte in $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten, silierte Proben (Mischproben aus vier Feldwiederholungen) aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2010, Aussaatzeit II (20.08.2010), Düngungsstufe II ($80 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$), (je 2 Sorten, 3 Laborwiederholungen)

Art	Sorte	A-ITC	3-B-ITC	B-ITC	4Mtb-ITC	PE-ITC	Goitrin	Iberin	SFP	ITC _{Total}
Sommeraps	Liforum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Jumbo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Winterraps	Molino	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Emerald	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Winterrübsen	Lenox	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Malwira	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chinakohl- rübsen	Buko	0,0	x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	x
	Perko	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Wasserrübe	Civasto	0,0	0,0	0,0	0,0	x	x	0,0	0,0	x
	Agressa	0,0	0,0	0,0	0,0	0,56	12,84	0,0	0,0	13,40
Weißer Senf	Tango	0,0	0,0	x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	x
	Sirtaki	0,0	0,0	x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	x
Sareptasenf	Vitasso	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Energy	x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	x
Ölrettich	Reset	0,0	0,0	x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	x
	Bento	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A-ITC = Allyl-Isothiocyant; 3-B-ITC = 3-Butenyl-Isothiocyant; B-ITC = Benzyl-Isothiocyant; 4Mtb-ITC = 4-Methylthiobutyl-Isothiocyant; PE-ITC = Phenylethyl-Isothiocyant; SFP = Sulforaphan; ITC_{Total} = Summe aller detektierten Isothiocyanate; x = in Spuren

4.3.2 Zwischenfrüchte 2010 (gefrorene Proben)

Aussaatzeit I, Düngungsstufe I

Die tiefgefrorenen Pflanzenproben aus dem ersten Feldversuch 2010 (frühe Aussaat, niedrige Düngungsstufe) waren durch hohe und sehr differenzierte ITC-Gehalte gekennzeichnet (Tab. 4.10). Von den untersuchten Pflanzenarten hatten der Ölrettich und der Weiße Senf vergleichsweise niedrige Gesamt-ITC-Gehalte ($0,90\text{-}55,5 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$). Alle anderen Pflanzenarten (Sommeraps, Winterraps, Winterrübsen, Chinakohlrübsen, Wasserrübe, Sareptasenf) wiesen in den Proben deutlich höhere Gesamt-ITC-Gehalte auf.

Das 3-Butenyl-Isothiocyant (3-B-ITC) war die am häufigsten nachgewiesene Verbindung, die vor allem im Sommeraps, Winterraps, Winterrübsen, Chinakohlrübsen und in der Wasserrübe detektiert wurde. Das Goitrin wurde dagegen nur im Sommeraps, Winterraps und in der Wasserrübe nachgewiesen. Das Benzyl-Isothiocyant (B-ITC) ist sowohl im Raps als auch in Winterrübsen, Chinakohlrübsen, Weißem Senf und im Ölrettich zu finden. Die für diese Verbindung detektierten

Gehalte wiesen zwischen den Pflanzenarten bzw. -sorten jedoch keine statistisch gesicherten Unterschiede auf (Tab. 4.10). Das A-ITC (vor allem in Sareptasenf) und das PE-ITC (vor allem in der Wasserrübe) wurden nur vereinzelt nachgewiesen. Bei diesen beiden Verbindungen konnten sortenspezifische Unterschiede beobachtet werden.

Tab. 4.10: ITC-Gehalte in $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten, gefrorene Proben aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2010, Aussaatzeit I (6.08.2010), Düngungsstufe I ($60 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$), (je 2 Sorten, 3 Feld- und 3-Laborwiederholungen)

Art	Sorte	A-ITC	3-B-ITC	B-ITC	PE-ITC	Goitrin	ITC _{Total}
Sommerraps	Liforum	0,64 a	73,6 ab	0,00 a	0,51 a	8,93 ab	83,7 abc
	Jumbo	0,82 a	318,0 cb	13,10 a	1,39 a	24,25 ab	357,5 d
Winterraps	Molino	0,07 a	248,2 bc	13,01 a	2,05 a	16,71 ab	280,0 cd
	Emerald	20,61 ab	1143,3 d	0,07 a	8,71 a	71,10 c	1243,8 e
Winterrüben	Lenox	0,00 a	180,4 abc	0,00 a	1,54 a	0,00 a	182,0 abcd
	Malwira	0,00 a	108,4 abc	12,92 a	0,95 a	0,00 a	122,3 abcd
Chinakohlrüben	Buko	16,68 a	107,8 abc	14,03 a	2,74 a	0,00 a	141,2 abcd
	Perko	0,00 a	132,2 abc	12,78 a	0,63 a	0,00 a	145,6 abcd
Wasserrübe	Civasto	0,00 a	149,5 abc	0,06 a	47,21 b	60,47 b	257,3 bcd
	Agressa	0,00 a	152,0 abc	0,00 a	4,00 a	26,38 c	182,4 abcd
Weißer Senf	Tango	0,00 a	0,17 a	39,67 b	0,00 a	0,00 a	39,8 ab
	Sirtaki	0,09 a	0,30 a	55,12 b	0,00 a	0,00 a	55,5 abc
Sareptasenf	Vitasso	46,16 b	96,1 ab	0,02 a	4,22 a	0,00 a	146,5 abcd
Ölrettich	Energy	16,01 a	0,11 a	0,00 a	0,82 a	0,00 a	16,9 a
	Neu Reset	0,83 a	0,07 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,9 a
	Bento	0,15 a	0,15 a	12,24 a	0,00 a	0,00 a	12,5 a
Standardfehler		2,64	42,22	2,83	1,79	3,69	45,0
p-Wert		0,07	<0,001	0,01	<0,001	<0,001	<0,001
GD ($\alpha = 5\%$)		26,97	225,63	24,14	10,17	25,88	237,7

A-ITC = Allyl-Isothiocyant; 3-B-ITC = 3-Butenyl-Isothiocyant; B-ITC = Benzyl-Isothiocyant; PE-ITC = Phenylethyl-Isothiocyant; ITC_{Total} = Summe aller detektierten Isothiocyanate; GD = Grenzdifferenz; Unterschiedliche Buchstaben = signifikante Differenzen zwischen den Mittelwerten der Sorten (GD-Test)

Aussaatzeit I, Düngungsstufe II

In den Proben aus der hohen Düngungsstufe des ersten Feldversuches 2010 (Aussaat I) wurden deutlich weniger Isothiocyanate quantifiziert als in der niedrigen Düngungsstufe des gleichen Versuches. Die Verteilung der einzelnen Verbindungen ist jedoch ebenfalls sehr unterschiedlich. Im Artenvergleich wiesen der Ölrettich und der Sareptasenf die niedrigsten Gesamt-ITC-Gehalte ($0,0\text{-}8,6 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ TM}$) auf (Tab. 4.11). In allen anderen Pflanzenarten (Sommerraps, Winterraps, Winterrüben, Chinakohlrüben, Wasserrübe, Weißer Senf) wurden deutlich höhere Gesamt-ITC-Gehalte detektiert.

Während Goitrin in diesen Proben nicht quantifiziert wurde, konnten A-ITC und PE-ITC nur in geringen Mengen gefunden werden. 3-B-ITC war dagegen in allen Arten bis auf Sareptasenf und Ölrettich durch hohe Gehalte gekennzeichnet.

Tab. 4.11: ITC-Gehalte in $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten, gefrorene Proben aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2010, Aussaatzeit I (6.08.2010), Düngungsstufe II ($100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$), (je 2 Sorten, 3 Feld- und 3 Laborwiederholungen)

Art	Sorte	A-ITC	3-B-ITC	B-ITC	PE-ITC	Goitrin	ITC _{Total}
Sommererbsen	Liforum	0,00 a	0,1 a	0,00 a	0,00 a	0,00	0,1 a
	Jumbo	0,09 a	43,5 a	0,00 a	0,00 a	0,00	43,6 a
Wintererbsen	Molino	0,08 a	45,8 a	11,85 a	0,58 ac	0,00	58,3 a
	Emerald	0,00 a	30,2 a	0,00 a	0,75 ac	0,00	30,9 a
Wintererbsen	Lenox	0,10 a	52,5 a	0,00 a	0,00 a	0,00	52,6 a
	Malwira	0,00 a	57,2 a	0,00 a	0,30 a	0,00	57,6 a
Chinakohlrübsen	Buko	0,00 a	85,1 a	0,00 a	0,69 ac	0,00	85,8 a
	Perko	0,07 a	953,9 b	0,00 a	6,41 c	0,00	960,4 b
Wasserrübe	Civasto	0,00 a	29,0 a	0,00 a	1,14 ac	0,00	30,1 a
	Agressa	0,00 a	12,0 a	0,00 a	2,01 b	0,00	14,1 a
Weißer Senf	Tango	0,00 a	33,87 a	31,77 b	0,00 a	0,00	65,6 a
	Sirtaki	0,06 a	72,57 a	35,82 b	0,70 ac	0,00	109,2 a
Sareptasenf	Vitasso	8,52 c	0,0 a	0,00 a	0,08 a	0,00	8,6 a
	Energy	4,24 b	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00	4,2 a
Ölrettich	Neu Reset	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00	0,0 a
	Bento	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00	0,0 a
Standardfehler		0,35	35,60	2,25	0,26	0,00	35,8
p-Wert		<0,001	<0,001	0,01	<0,001	-	<0,001
GD ($\alpha = 5\%$)		1,66	155,39	24,75	1,75	ns.	144,9

A-ITC = Allyl-Isothiocyant; 3-B-ITC = 3-Butenyl-Isothiocyant; B-ITC = Benzyl-Isothiocyant; PE-ITC = Phenylethyl-Isothiocyant; ITC_{Total} = Summe aller detektierten Isothiocyanate; GD = Grenzdifferenz; Unterschiedliche Buchstaben = signifikante Differenzen zwischen den Mittelwerten der Sorten (GD-Test)

Aussaatzeit II, Düngungsstufe II

In den Proben des später gesäten Versuches (Aussaat II, Düngungsstufe II) wurden ebenfalls nur wenig ITC-Verbindungen nachgewiesen. So wurde das A-ITC nur in Sareptasenf bestimmt, während das B-ITC in Sommererbsen und Weißem Senf gefunden und das PE-ITC in Wasserrübe und Sareptasenf detektiert wurde (Tab. 4.12). Goitrin wurde in diesem Versuch nicht identifiziert. Von allen ITC-Verbindungen wiesen das 3-B-ITC ($16,3 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ TM}$) und das A-ITC ($19,14 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ TM}$) die höchsten Gehalte auf. Dementsprechend wurden im Wintererbsen, Weißem Senf und Sareptasenf die höchsten ITC-Gehalte bestimmt, wobei keine statistisch gesicherten Unterschiede zwischen den Sorten festgestellt werden konnte.

Tab. 4.12: ITC-Gehalte in $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$ TM von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten, gefrorene Proben aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2010, Aussaatzeit II (20.08.2010), Düngungsstufe II (100 kg N ha^{-1}), (je 2 Sorten, 3 Feld- und 3 Laborwiederholungen)

Art	Sorte	A-ITC	3-B-ITC	B-ITC	PE-ITC	Goitrin	ITC _{Total}
Sommerrops	Liforum	0,00	0,0	0,00	0,00	0,00	0,0
	Jumbo	0,00	0,0	4,60	0,00	0,00	4,6
Winterraps	Molino	0,00	0,1	0,00	0,00	0,00	0,1
	Emerald	0,00	0,1	0,00	0,00	0,00	0,1
Winterrübsen	Lenox	0,00	8,2	0,00	0,00	0,00	8,2
	Malwira	0,00	16,3	0,00	0,00	0,00	16,3
Chinakohlrübsen	Buko	0,00	0,0	0,00	0,00	0,00	0,0
	Perko	0,00	0,1	0,00	0,00	0,00	0,1
Wasserrübe	Civasto	0,00	0,1	0,00	0,00	0,00	0,1
	Agressa	0,00	0,1	0,00	0,35	0,00	0,5
Weißer Senf	Tango	0,00	0,00	9,43	0,00	0,00	9,4
	Sirtaki	0,00	0,00	14,44	0,00	0,00	14,4
Sareptasenf	Vitasso	3,11	0,0	0,00	0,00	0,00	3,1
	Energy	19,14	0,15	0,00	0,50	0,00	19,8
Ölrettich	Neu Reset	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0
	Bento	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,0
Standardfehler		1,17	1,13	0,91	0,03	0,00	1,8
p-Wert		0,420	0,531	0,131	0,082	-	0,627
GD ($\alpha = 5\%$)		ns	ns	ns	ns	-	ns

A-ITC = Allyl-Isothiocyanat; 3-B-ITC = 3-Butenyl-Isothiocyanat; B-ITC = Benzyl-Isothiocyanat; PE-ITC = Phenylethyl-Isothiocyanat; ITC_{Total} = Summe aller detektierten Isothiocyanate; GD = Grenzdifferenz; ns = nicht signifikant

4.3.3 Kohl 2009 (silierte Proben)

In den silierten Proben des Feldversuchs mit Kohl im Jahr 2009 wurden sechs von acht Spaltprodukten der Glucosinolate wiedergefunden (Tab. 4.13). Das Goitrin war die mengenmäßig am stärksten nachgewiesene Verbindung, die in vergleichsweise hoher Konzentration ($22,92 \mu\text{mol g}^{-1}$ und $13,36 \mu\text{mol g}^{-1}$ TM) in der Kohlrübe detektiert wurde (Tab. 4.13). Die Verbindungen AITC, 3-B-ITC, B-ITC, PE-ITC (vor allem in der Kohlrübe) und das Sulforaphan wurden in den untersuchten Proben nur vereinzelt in Spuren nachgewiesen. Die Verbindungen 4-Mtb-ITC und Iberin wurden nicht detektiert. In den Silagen der Weißkohlsorte ‚Bartolo‘ sowie in der Wirsingsorte ‚Produsa‘ und im Markstammkohl ‚Grüner Angeliter‘ wurden keine Isothiocyanate detektiert (Tab. 4.13).

Tab. 4.13: ITC-Gehalte in $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ von ausgewählten Kohl-Arten, silierte Proben aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2009, (je 2 Sorten, 4 Feld- und 3 Laborwiederholungen)

Art	Sorte	A-ITC	3-B-ITC	B-ITC	4Mtb-ITC	PE-ITC	Goitrin	Iberin	SFP	ITC _{Total}
Weißkohl	Bartolo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Filderkraut	x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	x	x
Rotkohl	Integro	0,0	x	0,0	0,0	x	0,0	0,0	0,0	x
	Subaro	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	x	x
Wirsing	Produsa	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Wirosa	0,0	x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	x
Markstamm- kohl	Camaro	x	x	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	x	x
	Grüner Angeliter	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Kohlrübe	Wilhelmsburger	0,0	0,0	0,0	0,0	x	22,92	0,0	0,0	22,92
	Helenor	0,0	0,0	x	0,0	0,35	13,36	0,0	0,0	13,71

A-ITC = Allyl-Isothiocyanat; 3-B-ITC = 3-Butenyl-Isothiocyanat; B-ITC = Benzyl-Isothiocyanat; 4Mtb-ITC = 4-Methylthiobutyl-Isothiocyanat; PE-ITC = Phenylethyl-Isothiocyanat; SFP = Sulforaphan; ITC_{Total} = Summe aller detektierten Isothiocyanate;

4.3.4 Kohl 2012 (gefrorene Proben)

Die Gesamt-ITC-Gehalte von gefrorenen Proben aus dem Feldversuch 2012 lagen zwischen $8,5 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ (Wirsing) und $126,5 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ (Rotkohl) (Tab. 4.14). Die höchsten Gehalte an 3-B-ITC ($60,1 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$) wurden in der Rotkohlsorte ‚Subaro‘ nachgewiesen, dicht gefolgt von der Verbindung Iberin in der Weißkohlsorte ‚Filderkraut‘ ($58,8 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$). Die Kopfkohlarten enthielten insgesamt höhere Gehalte an Isothiocyanaten als Markstammkohl und Kohlrübe, wobei in der Kohlrübe ein mit Rotkohl vergleichbarer Gehalt an Goitrin nachgewiesen werden konnte. PE-ITC und 4-Mtb-ITC konnten in allen Proben bestimmt werden. 3-Butenyl-Isothiocyanat wurde in allen Sorten bis auf die Wirsingsorte ‚Wirosa‘ detektiert. Nur in Spuren wurde die Verbindung Sulforaphan (in Weißkohl und Rotkohl) nachgewiesen. Statistisch gesicherte Sortenunterschiede zeigen sich am deutlichsten zwischen den beiden Rotkohl-Sorten (Tab. 4.14). Hier fällt auf, dass sich die Sorten ‚Integro‘ und ‚Subaro‘ bei insgesamt drei ITC-Verbindungen signifikant voneinander unterschieden. Signifikante Sortenunterschiede innerhalb der jeweiligen Kohlarten wurden auch bei Weißkohl (Iberin), Wirsingkohl (Iberin) und bei der Kohlrübe (PE-ITC und Goitrin) beobachtet.

Tab. 4.14: ITC-Gehalte in $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$ TM von ausgewählten Kohl-Arten, gefrorene Proben aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2012, (je 2 Sorten, 4 Feld- und 3 Laborwiederholungen)

Art	Sorte	A-ITC	3-B-ITC	B-ITC	4Mtb-ITC	PE-ITC	Goitrin	Iberin	SFP	ITC _{Total}
Weißkohl	Bartolo	x	7,1 ab	0,00 a	4,97 ab	1,01 a	0,00 a	29,71 b	0,21	43,0 abc
	Filderkraut	x	19,1 ab	0,20 a	0,04 a	2,10 a	6,08 a	58,84 c	0,50	86,9 d
Rotkohl	Integro	x	26,0 b	5,05 b	4,57 ab	0,69 a	17,94 a	0,00 a	0,12	54,3 bcd
	Subaro	0,95	60,1 c	1,66 a	12,05 b	1,45 a	43,74 b	5,81 a	0,69	126,5 e
Wirsing	Produsa	1,54	4,5 a	0,11 a	1,55 a	0,12 a	0,72 a	0,00 a	0,00	8,5 a
	Wirosa	x	0,0 a	0,00 a	x a	1,89 a	0,00 a	44,45 bc	0,00	46,3 abcd
Markstammkohl	Camaro	x	13,5 ab	0,41 a	1,14 a	1,57 a	0,00 a	2,39 a	0,00	19,0 ab
	Grüner Angeliter	4,58	13,2 ab	0,00 a	0,53 a	1,41 a	1,14 a	0,81 a	0,00	21,7 abc
Kohlrübe	Wilhelmsburger	0,00	7,8 ab	0,00 a	0,30 a	3,25 a	16,73 a	0,00 a	0,00	28,1 abc
	Helenor	0,00	1,8 a	1,13 a	0,62 a	8,81 b	45,14 b	0,00 a	0,00	57,5 cd
Standardfehler		0,48	3,3	0,29	0,81	0,47	3,42	3,67	0,06	6,5
p-Wert		0,551	<0,001	<0,001	0,006	<0,001	<0,001	<0,001	0,079	<0,001
GD ($\alpha = 5\%$)		ns	20,6	1,68	5,97	2,89	21,71	15,96	ns	38,1

A-ITC = Allyl-Isothiocyanat; 3-B-ITC = 3-Butenyl-Isothiocyanat; B-ITC = Benzyl-Isothiocyanat; 4Mtb-ITC = 4-Methylthiobutyl-Isothiocyanat; PE-ITC = Phenylethyl-Isothiocyanat; SFP = Sulforaphan; ITC_{Total} = Summe aller detektierten Isothiocyanate; GD = Grenzdifferenz; Unterschiedliche Buchstaben = signifikante Differenzen zwischen den Mittelwerten der Sorten (GD-Test); x = in Spuren; ns = nicht signifikant

4.4 Biogasbildungspotenzial

4.4.1 Zwischenfrüchte 2010 (gefrorene Proben)

Die Werte für die fermentierbare organische Trockenmasse (FoTM) der analysierten Pflanzen variierten innerhalb der getesteten Zwischenfrüchte (ohne Mais bzw. Zellulose) von minimal 655 g kg⁻¹ oTM (Wasserrübe, Sorte 'Agressa') bis maximal 829 g kg⁻¹ oTM (Winterrübsen, Sorte 'Malwira') (Tab. 4.15). Betrachtet man die Pflanzenarten, dann bildete die Wasserrübe mit < 700 g FoTM kg⁻¹ oTM die geringsten Mengen an fermentierbarer organischer Trockenmasse. Relativ niedrige Werte wurden mit 683 bzw. 707 g FoTM kg⁻¹ oTM auch für die beiden Ölrettich-Sorten ermittelt.

Tab. 4.15: Gasbildungspotenzial von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten (mit je 2 Sorten) im Vergleich mit Mais; getrocknete Proben der TM-Bestimmung von Proben aus dem Batchversuch „Zwischenfrüchte 2010 (gefrorene Proben)“; Doppelbestimmung

Art	Sorte	FoTM [g kg ⁻¹ oTM]	MBP [L kg ⁻¹ oTM]	BBP [L kg ⁻¹ oTM]
Sommerraps	Liforum	792 fg	333 g	634 fg
	Jumbo	-	-	-
Winterraps	Molino	776 fg	326 efg	621 efg
	Emerald	768 de	323 de	614 de
Winterrübsen	Lenox	752 d	316 d	602 d
	Malwira	829 h	348 h	664 h
Chinakohlrübsen	Buko	749 d	315 d	599 d
	Perko	750 d	315 d	600 d
Wasserrübe	Civasto	686 b	288 b	549 b
	Agressa	655 a	275 a	524 a
Weißer Senf	Tango	792 fg	332 fg	633 fg
	Sirtaki	789 fg	331 fg	631 fg
Sareptasenf	Vitasso	-	-	-
	Energy	795 g	334 g	636 g
Ölrettich	Neu Reset	707 c	297 c	565 c
	Bento	683 b	287 b	546 b
Mais ¹ /Winterraps	mit Molino	821 h	345 h	657 h
Mais ¹ /Ölrettich	mit Bento	773 ef	325 ef	619 efg
Mais¹		865 i	363 i	692 i
Standardfehler		9,65	4,1	7,72
p-Wert		<0,001	<0,001	<0,001
GD (α = 5 %)		19,32	8,12	15,46

FoTM = Fermentierbare organische Trockenmasse; MBP = Methanbildungspotenzial; BBP = Biogasbildungspotenzial; oTM = organische Trockemasse;
¹ Mischprobe aus den Sorten Agro Yoko (RG 240), Gavott (RG 250) und Deco (RG 290); GD = Grenzdifferenz

Die Kontroll-Variante Mais erreichte mit 865 g FoTM kg⁻¹ oTM das höchste Niveau. Dieses Niveau wurde durch den Zusatz von Winterraps (Mais + Winterraps =

821 g FoTM kg⁻¹ oTM) bzw. durch den Zusatz von Ölrettich (Mais + Ölrettich = 773 g FoTM kg⁻¹ oTM) signifikant verringert.

Die Unterschiede zwischen den Pflanzenarten spiegeln sich in den Werten für das Methanbildungspotenzial (MBP) und das Biogasbildungspotenzial (BBP) wieder. So wurden für die Wasserrübe und für den Ölrettich die geringsten Werte für das Methanbildungspotenzial (< 300 L kg⁻¹ oTM) und für das Biogasbildungspotenzial (< 600 L kg⁻¹ oTM) ermittelt (Tab. 4.15). Alle anderen Pflanzenarten waren durch ein höheres Niveau an Biogas- bzw. an Methanbildung gekennzeichnet. Mit Mais wurden die Maximalwerte (363 bzw. 692 L kg⁻¹ oTM) für das Biogas- bzw. Methan-Bildungspotenzial erreicht. Die Mischung aus Mais plus Winterraps bzw. aus Mais plus Ölrettich führte zu einer statistisch gesicherten Abnahme der Biogas- und Methan-Werte, wobei die Mischung von Mais plus Winterraps der Kombination von Mais plus Ölrettich signifikant überlegen war. Auf der anderen Seite kann festgestellt werden, dass die Mischung von Mais plus Ölrettich zu einem höheren Biogas- und Methanbildungspotenzial führte als Ölrettich ohne Zusatz von Mais. Auch der Zusatz von Winterraps bewirkte eine Verbesserung des Biogas- und Methanbildungspotenzials im Vergleich mit Winterraps ohne Mais. Dieser Effekt war jedoch geringer als beim Ölrettich. Mit keiner der untersuchten Zwischenfrüchte wurde das Niveau des Biogas- bzw. Methanbildungspotenzials von Mais erreicht.

4.4.2 Zwischenfrüchte 2010 (silierte Proben)

Die Untersuchungen mit silierten Pflanzenproben aus dem Feldversuch mit Zwischenfrüchten 2010 verdeutlichten zunächst ebenfalls die Überlegenheit von Mais, mit dem die höchsten Werte für die fermentierbare organische Trockenmasse (FoTM) sowie für das Methan- und Biogasbildungspotenzial erreicht wurde (Tab. 4.16). Während der Mais bezüglich der FoTM-Werte allen kruziferen Arten überlegen war, zeigten die Maisproben dagegen im Methan- und Biogasbildungspotenzial ein ähnliches Niveau wie Chinakohlrübsen, Winterraps, Sommerraps („Jumbo“) und Wasserrübe („Civasto“). Die anderen Zwischenfrüchte waren dem Mais signifikant unterlegen. Die geringsten Werte erreichten der Sareptasenf (313 L CH₄ kg⁻¹ oTM, 325 L CH₄ kg⁻¹ oTM) und der Weiße Senf (318 L CH₄ kg⁻¹ oTM). Beim Ölrettich (silierte Proben, 356 L CH₄ kg⁻¹ oTM und 343 L CH₄ kg⁻¹ oTM) (Tab. 4.16) war das Niveau der potenziellen Biogas- und Methanbildung höher als bei den gefrorenen Proben (297 L CH₄ kg⁻¹ oTM, 287 L CH₄ kg⁻¹ oTM) (Tab. 4.15).

Tab. 4.16: Gasbildungspotenzial von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten (mit je 2 Sorten) im Vergleich mit Mais; getrocknete Proben der TM-Bestimmung von Proben aus dem Batchversuch „Zwischenfrüchte 2010 (silierte Proben)“; Doppelbestimmung

Art	Sorte	FoTM	MBP	BBP
		[g kg ⁻¹ oTM _k]	[L kg ⁻¹ oTM _k]	[L kg ⁻¹ oTM _k]
Sommerapps	Liforum	724 ef	348 bc	663 bc
	Jumbo	731 ef	364 def	693 def
Winterrapps	Molino	-	-	-
	Emerald	749 fg	366 defg	698 defg
Winterrübsen	Lenox			
	Malwira	722 e	366 defg	698 defg
Chinakohlrübsen	Buko	740 efg	378 g	720 g
	Perko PVH	731 ef	372 efg	709 efg
Wasserrübe	Civasto	595 a	364 def	693 def
	Agressa	-	-	-
Weißer Senf	Tango	-	-	-
	Sirtaki	673 cd	318 a	606 a
Sareptasenf	Vitasso	628 b	313 a	597 a
	Energy	686 d	325 a	619 a
Ölrettich	Neu Reset	686 d	356 bcd	678 bcd
	Bento	658 c	343 b	653 b
Mais ¹ /Winterrapps	mit Molino	-	-	-
Mais ¹ /Ölrettich	mit Bento	758 g	360 cde	686 cde
Mais¹		855 h	374 fg	712 fg
Standardfehler		11,87	4,0	7,62
p-Wert		<0,001	<0,001	<0,001
GD (α = 5 %)		26,63	13,25	25,23

FoTM = Fermentierbare organische Trockenmasse; MBP = Methanbildungspotential; BBP = Biogasbildungspotential; oTM_k = korrigierte organische Trockenmasse; GD = Grenzdifferenz; ¹ 41,4 % Trockenmasse;

4.4.3 Kohl 2010 (gefrorene Proben)

Für die eingefrorenen Proben vom Feldversuch 2010 mit Kohl wurde ein Niveau der FoTM-Werte errechnet, dass zwischen dem der gefrorenen (Tab. 4.15) und den silierten Zwischenfruchtproben (Tab. 4.16) zu finden ist. Von den Kohlarten enthielt der Rotkohl den höchsten Gehalt an FoTM (740 g kg⁻¹ oTM, 749 g kg⁻¹ oTM) und Markstammkohl die geringste FoTM (709 g kg⁻¹ oTM, 696 g kg⁻¹ oTM). Mais war bezüglich der FoTM (881 g kg⁻¹ oTM), des Methan- (384 L kg⁻¹ oTM) und des Biogasbildungspotenzials (731 L kg⁻¹ oTM) allen anderen Proben signifikant überlegen. Aufgrund des relativ hohen FoTM-Gehaltes erreichte der Rotkohl von allen Kohl-

Arten das höchste Methan- und Biogasbildungspotenzial. Der Markstammkohl erzielte dementsprechend die geringsten Werte bezüglich des Methan- und Biogasbildungspotenzials. Beim Methanbildungspotenzial waren die Unterschiede insgesamt geringer (Kohlarten: 335-365 L CH₄ kg⁻¹ oTM, Mais: 384 L CH₄ kg⁻¹ oTM), dennoch unterschieden sie sich signifikant.

Tab. 4.17: Gasbildungspotenzial von ausgewählten Kohl-Arten (mit je 2 Sorten) im Vergleich mit Mais; getrocknete Proben der TM-Bestimmung von Proben aus dem Batchversuch „Kohl 2010 (gefrorene Proben)“; Doppelbestimmung

Art	Sorte	FoTM	MBP	BBP
		[g kg ⁻¹ oTM]	[L kg ⁻¹ oTM]	[L kg ⁻¹ oTM]
Weißkohl	Bartolo	749 d	362 bc	689 bc
	Filderkraut	719 abc	353 b	673 b
Rotkohl	Integro	740 cd	358 bc	681 bc
	Subaro	749 d	360 bc	686 bc
Wirsing	Produsa	723 bcd	365 c	695 c
	Wirosa	742 cd	361 bc	687 bc
Markstammkohl	Camaro	709 ab	339 a	646 a
	Grüner Angeliter	696 a	335 a	639 a
Kohlrübe	Wilhelmsburger	717 abc	366 c	698 c
	Helenor	740 cd	364 c	694 c
Mais¹		881 e	384 d	731 d
Standardfehler		6,46	2,0	3,77
p-Wert		<0,001	<0,001	<0,001
GD (α = 5 %)		26,08	8,87	16,90

FoTM = Fermentierbare organische Trockenmasse; MBP = Methanbildungspotential; BBP = Biogasbildungspotential; oTM = organische Trockemasse;

¹ Mischprobe mit 62,23 % Trockenmasse; GD = Grenzdifferenz

4.5 Biogasversuche

4.5.1 Zwischenfrüchte 2010 (gefrorene Proben)

Das Maximum der Biogaserträge wurde in diesem Batch-Versuch mit der Wasserrübensorte 'Agressa' (558 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM, 812 L_n Biogas kg⁻¹ oTM) erreicht (Tab. 4.18). Auch die Ölrrettichsorten produzierten mehr Methan (496 L_n kg⁻¹ oTM, 494 L_n kg⁻¹ oTM) als Zellulose (417 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM), jedoch 50 L_n kg⁻¹ oTM weniger Biogas. Mit den Maisproben wurden im Vergleich mit Zellulose deutlich geringere Ausbeuten an Methan (348-403 L_n kg⁻¹ oTM) und an Biogas (591-644 L_n kg⁻¹ oTM) ermittelt. Mischproben aus Mais und Ölrrettich bzw. aus Mais und

Tab. 4.18: Biogaserträge und Schwefelwasserstoffbildung von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten (je 2 Sorten) im Vergleich mit Mais; Zwischenfrüchte, gefrorene Proben: Mischproben aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2010, Aussaatzeit II (20.08.2010), Düngungsstufe II (100 kg N ha⁻¹), Mais, gefrorene Proben: Mischproben mit 40,7 % oTM, Feldversuch Gießen 2009, 2. Ernte (25.09.2009)

Art	Sorte	Biogasertrag		Schwefelwasserstoff	
		Methan (Gasanteil) [L _n kg ⁻¹ oTM]	Biogas [L _n kg ⁻¹ oTM]	MW [mg L ⁻¹]	MAX (Tag) [mg L ⁻¹]
Sommerraps	Liform	-	-	-	-
	Jumbo	-	-	-	-
Winterraps	Molino	365 bcde (59,0 %)	619 def	46	146 (7)
	Emerald	461 defg (64,5 %)	714 fgh	36	105 (7)
Winterrübsen	Lenox	414 cdef (59,1 %)	701 efgh	52	150 (7)
	Malwira	69 ² a (62,7 %)	110 ³ a	2	11 (7)
Chinakohlrübsen	Buko	473 efg (65,2 %)	726 fgh	58	132 (7)
	Perko	416 cdef (63,0 %)	661 defg	57	156 (7)
Wasserrübe	Civasto	462 efg (68,0 %)	679 defg	35	118 (7)
	Agressa	558 g (68,7 %)	812 h	13	49 (7)
Weißer Senf	Tango	275 b (65,0 %)	423 b	23	83 (7)
	Sirtaki	316 bc (66,3 %)	477 bc	61	132 (7)
Sareptasenf	Vitasso	-	-	-	-
	Energy	387 bcdef (69,0 %)	561 cd	56	156 (7)
Ölrrettich	Neu Reset	496 fg (65,5 %)	757 gh	38	136 (7)
	Bento	494 fg (65,4 %)	756 gh	44	122 (7)
Mais ¹ /Winterraps	mit Molino	348 bcd (58,8 %)	591 cde	41	93 (7)
Mais ¹ /Ölrrettich	mit Bento	399 cdef (64,8 %)	616 def	37	94 (7)
Mais¹		403 cdef (62,7 %)	644 defg	9	30 (7)
Zellulose		471 (58,4 %)	806	11	29 (17)
Standardfehler		20	29	4	10,29
p-Wert		0,010	<0,001	0,090	0,164
GD (α = 5 %)		113	119	ns	ns

GD = Grenzdifferenz; MW = Mittelwert aus allen Messtagen; MAX = Höchster Mittelwert aller Messtage; oTM = organische Trockenmasse; ¹ 35,4 % oTM; ² Standardabweichung = 23,3 L_n kg⁻¹ oTM; ³ Standardabweichung = 42,6 L_n kg⁻¹ oTM; ns = nicht signifikant

Winterraps erreichten etwas geringere Biogasvolumina als reine Maisproben. Die Unterschiede zwischen den Werten der produktivsten Sorten waren jedoch nicht signifikant. Innerhalb der Zwischenfrüchte wurde eine hohe Biogasausbeute von $> 700 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ mit dem Örettich (beide Sorten), Winterraps (‚Emerald‘), Winterrübsen (‚Lenox‘) und der Wasserrübe (‚Agressa‘) erzielt. Entsprechend lag der Methanertrag bei diesen Pflanzen in der Regel deutlich über $400 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ und bei der Wasserrübe (Agressa) über $500 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$. Der Methananteil am gesamten Biogas war mit 69 % bei der Sareptasenf-Sorte ‚Energy‘ am höchsten, obwohl die Gasausbeute vergleichsweise gering ausfiel. Sehr gering war das gemessene Methan- und Biogasvolumen dagegen beim Weißen Senf (beide Sorten) mit Werten von 275 und $316 \text{ L}_n \text{ CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ bzw. mit 423 und $477 \text{ L}_n \text{ Biogas kg}^{-1} \text{ oTM}$. Extrem gering waren die Methan- und Biogasausbeuten der Winterrübsen-Sorte ‚Malwira‘ (Tab. 4.18). Diese Werte wurden trotz extremer Abweichung in die Auswertung mit einbezogen und nicht als Ausreißer bewertet, da in beide Wiederholungen eine ähnlich geringe Biogasausbeute gemessen wurden.

Die H_2S -Konzentrationen lagen bei den meisten Proben im Mittel in der Spanne zwischen 30 mg L^{-1} und 60 mg L^{-1} mit Maximalwerten von etwa $100\text{-}160 \text{ mg L}^{-1}$ an einzelnen Messtagen (Tab. 4.18). Deutlich geringer waren die Werte bei der Wasserrübe (‚Agressa‘) und beim Weißen Senf (‚Tango‘). Erwartungsgemäß wurde bei Mais und Zellulose im Mittel die geringste Schwefelwasserstoffemission (9 mg L^{-1} , 11 mg L^{-1}) gemessen (Tab. 4.18). Zwischen den Pflanzenarten bzw. -sorten wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Schwefelwasserstoffemissionen festgestellt, weder bei den Mittelwerten, noch bei den maximalen Werten.

Der Verlauf der Methanbildung über die Versuchsdauer von 24 Tagen (Abb. 4.1) zeigt keine Auffälligkeiten. Die Zellulose reagiert stark verzögert und steigt bis zum 17. Messtag in der Methanproduktion steil an. Der höchste Methanertrag – produziert von der Wasserrübe ‚Agressa‘ – wurde durch eine durchgängig starke Methanbildung erreicht. Von Anfang an bilden die Weiße Senf-Sorten ‚Tango‘ und ‚Sirtaki‘ relativ wenig Methan, während der Mais trotz des verzögerten Beginns der Methanbildung noch ein – für diesen Versuch – mittleres Niveau der Methanbildung erreicht.

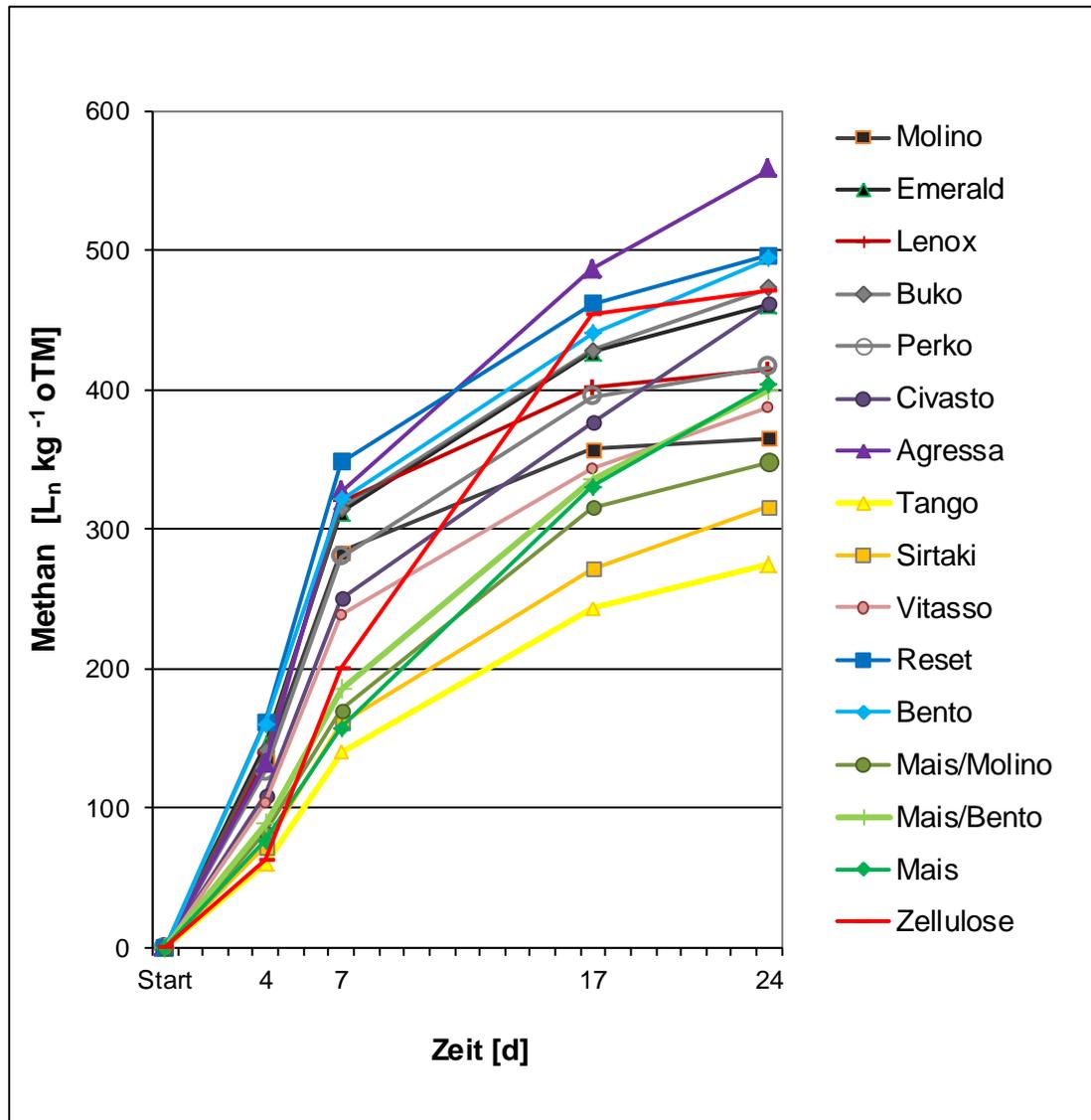


Abb. 4.1: Verlauf der Methanbildung von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten (je 2 Sorten) während des Batchversuches im Vergleich mit Mais; gefrorene Proben, Zwischenfrüchte: Wiederholungen aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2010, Aussaatzeit II (20.08.2010), Düngungsstufe II (100 kg N ha⁻¹), Mais: Mischproben mit 40,7 % oTM, Feldversuch Gießen 2009, 2. Ernte (25.09.2009)

4.5.2 Zwischenfrüchte 2010 (silierte Proben)

Alle Silagen wiesen einen niedrigen pH-Wert von 3,7 bis 4,1 auf. Die Methan- und Biogasausbeute war geringer als bei den gefrorenen Proben des selben Feldversuches (Tab. 4.19). Der Biogasertrag variierte von 336 L_n kg⁻¹ oTM_k (Weißer Senf) bis zu 734 L_n kg⁻¹ oTM_k (Wasserrübe). Darin waren 189-377 L kg⁻¹ oTM_k (Wasserrübe) Methan enthalten. Dies entspricht einem Methananteil am gesamten Biogas von minimal 51,4 % bis maximal 58,3 %. Mais unterschied sich nicht signifikant von den

Zwischenfruchtproben und lag mit einer Methanausbeute von $303 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ im unteren Drittel der Varianten, jedoch gleichauf mit der Zellulose ($301 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$). Die Maismischung mit Ölrettich produzierte deutlich weniger Methan und Biogas als seine einzelnen Komponenten.

Tab. 4.19: Biogaserträge und Schwefelwasserstoffbildung von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten (je 2 Sorten) im Vergleich mit Mais; silierte Proben, Zwischenfrüchte: Mischproben aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2010, Aussaatzeit II (20.08.2010), Düngungsstufe II (100 kg N ha^{-1}), Mais: Feldversuch Gießen 2009, 2. Ernte (25.09.2009)

Art	Sorte	Biogasertrag		Schwefelwasserstoff		
		Methan (Gasanteil) [$\text{L kg}^{-1} \text{ oTM}_k$]	Biogas [$\text{L kg}^{-1} \text{ oTM}_k$]	MW [mg L^{-1}]	MAX [mg L^{-1}]	
Sommerapps	Liform	291 abc	(50,4 %)	579 cde	-	-
	Jumbo	289 abc	(53,4 %)	541 bcd	-	-
Winterrapps	Molino	-		-	-	-
	Emerald	339 c	(55,9 %)	607 cde	-	-
Winterrübsen	Lenox				-	-
	Malwira	361 c	(58,3 %)	619 cde	-	-
Chinakohlrübsen	Buko	311 bc	(54,4 %)	572 cde	-	-
	Perko	363 c	(55,6 %)	653 de	-	-
Wasserrübe	Civasto	377 c	(51,4 %)	734 e	-	-
	Agressa	-		-	-	-
Weißer Senf	Tango	-		-	-	-
	Sirtaki	189 a	(56,4 %)	336 a	-	-
Sareptasenf	Vitasso	294 abc	(54,8 %)	536 bcd	-	-
	Energy	275 abc	(59,2 %)	465 abc	-	-
Ölrettich	Neu Reset	370 c	(53,2 %)	695 de	-	-
	Bento	302 abc	(53,1 %)	569 cde	-	-
Mais ¹ /Winterrapps	mit Molino	-		-	-	-
Mais ¹ /Ölrettich	mit Bento	217 ab	(57,7 %)	376 ab	-	-
Mais¹		303 abc	(55,7 %)	544 bcd	-	-
Zellulose		301	(47,4 %)	634	-	-
Standardfehler		12		22		
p-Wert		0,020		0,001		
GD ($\alpha = 5 \%$)		121		185		

GD = Grenzdifferenz; MW = Mittelwert aus allen Messtagen; MAX = Höchster Mittelwert aller Messtage; oTM_k = korrigierte organische Trockenmasse; ¹ Standardabweichung = $23,3 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}_k$; ² Standardabweichung = $42,6 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}_k$; ³ 41,4 % Trockenmasse; ns = nicht signifikant

In diesem Batchversuch mit silierten Zwischenfrüchten wurde der Großteil des Methans in den ersten sieben Tagen ab Versuchsbeginn produziert (Abb. 4.2). Zwischen dem siebten und dem elften Messtag konnte nur bei den Kontrollen Mais und Zellulose eine deutliche Steigerung des Methanertrages beobachtet werden. Bei den meisten Varianten bildete sich weiteres Methangas erst nach dem 17. Messtag. Mais und Zellulose lagen am Ende des Versuches mit ihrer Methanausbeute im Mittelfeld der Varianten.

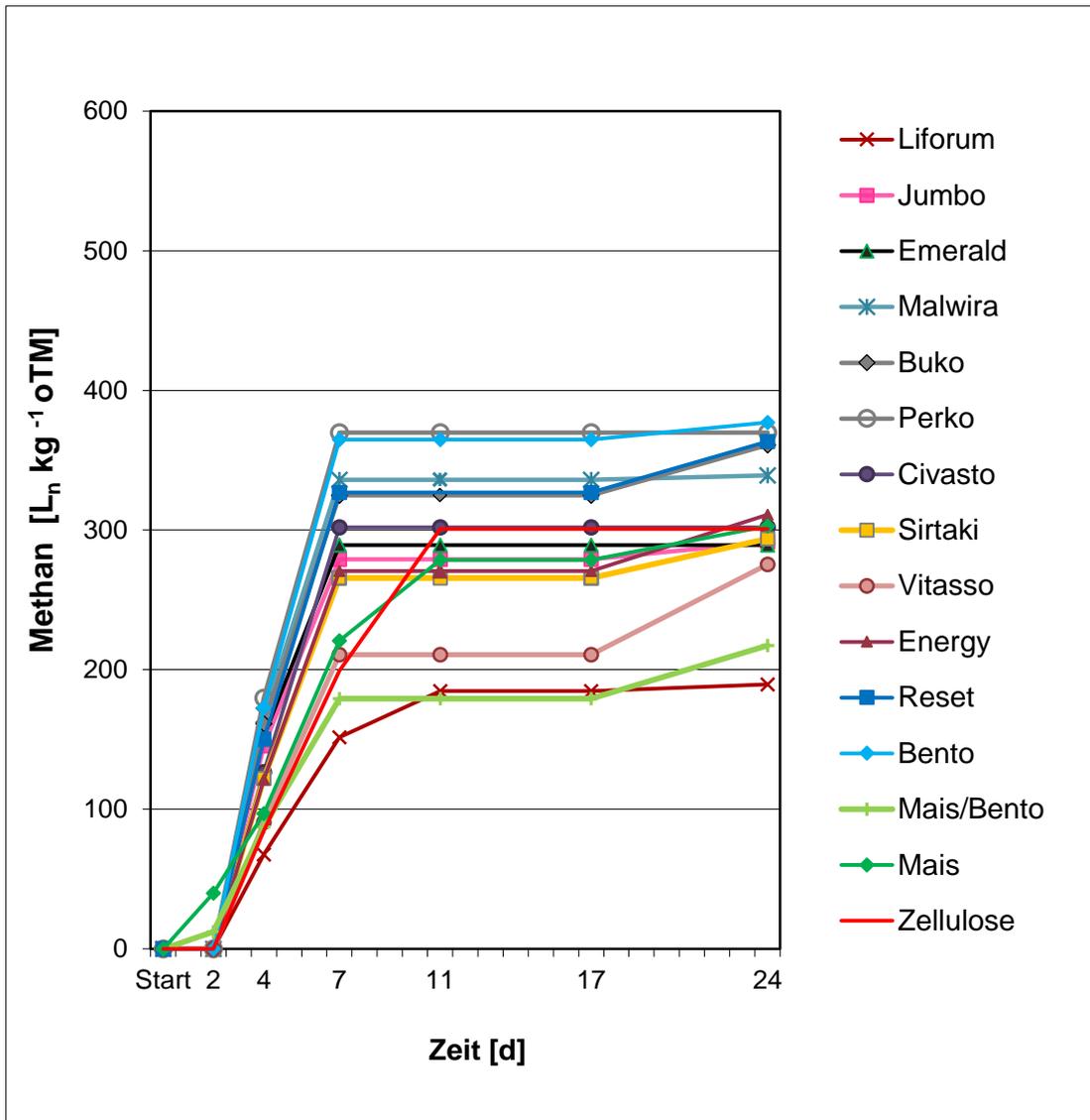


Abb. 4.2: Verlauf der Methanbildung von ausgewählten Zwischenfrucht-Arten (je 2 Sorten) während des Batchversuches im Vergleich mit Mais; Zwischenfrüchte: silierte Proben, Wiederholungen aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2010, Mais: gefrorene Proben, 39,8 % oTM; dargestellt sind die Messergebnisse an den Versuchstagen 2, 4, 7, 11, 17 und 24

4.5.3 Kohl 2010 (gefrorene Proben)

Das Methanvolumen im Batchversuch mit gefrorenen Kohlproben lag nach 24 Tagen zwischen 231 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM (Markstammkohl) und 386 L_n kg⁻¹ CH₄ oTM (Zellulose) (Tab. 4.20). Der Methangehalt erreichte dabei einen Anteil von 42,1 % (Rotkohl) bis 47,9 % (Markstammkohl) des gesamten Biogases (514-881 L_n kg⁻¹ oTM). In diesem Versuch wurden die geringsten Methangehalte bei der Sorte ‚Camaro‘ des Markstammkohls beobachtet (231 L_n kg⁻¹ oTM) sowie in der Rotkohlsorte ‚Subaro‘ (244 L_n kg⁻¹ oTM). Im Gegensatz dazu wurden die höchsten Werte bei der zweiten Rotkohlsorte ‚Integro‘ gemessen (315 L_n kg⁻¹ oTM). Der Wirsing ‚Produsa‘ folgte mit 306 L_n kg⁻¹ oTM und 313 L_n kg⁻¹ oTM. Erstaunlicherweise wurde der höchste Methananteil – trotz der geringen Methanausbeute – bei der Markstammkohlsorte ‚Grüner Angeliter‘ (47,9 %) festgestellt. Der Methananteil von Mais betrug 46,2 %. Dies entspricht einem Methanvolumen von 272 L_n kg⁻¹ oTM.

Die Rotkohlsorte ‚Integro‘ akkumulierte 709 L_n kg⁻¹ oTM Biogas in 24 Tagen (Tab. 4.20). Im Vergleich dazu wurden annähernd 700 L_n kg⁻¹ oTM vom Wirsing ‚Wirosa‘ erreicht, während der Mais mit 588 L_n kg⁻¹ oTM relativ wenig Biogas produziert hat.

Die Mittelwerte der Schwefelwasserstoff-Messung von Kohlvarianten während dieses Versuches zeigten eine Spannweite von 14,2-57,1 mg L⁻¹ (Tab. 4.20).

Tab. 4.20: Biogaserträge und Schwefelwasserstoffbildung von ausgewählten Kohl-Arten (je 2 Sorten) im Vergleich mit Mais; gefrorene Proben, Kohl: Feldversuch Groß-Gerau 2010, Mais: Feldversuch Gießen 2009, 2. Ernte (25.09.2009)

Art	Sorte	Biogasertrag		Schwefelwasserstoff		
		Methan (Gasanteil) [L kg ⁻¹ oTM]	Biogas [L kg ⁻¹ oTM]	MW [mg L ⁻¹]	MAX (Messtag) [mg L ⁻¹]	
Weißkohl	Bartolo	280	(43,3 %)	647	45,7	92,3 (4)
	Filderkraut	295	(46,0 %)	641	14,2	43,5 (4)
Rotkohl	Integro	315	(44,4 %)	709	18,1	59,8 (4)
	Subaro	244	(42,1 %)	579	41,9	81,5 (4)
Wirsing	Produsa	306	(46,3 %)	661	37,2	78,3 (4)
	Wirosa	313	(45,3 %)	691	57,1	101,7 (4)
Markstammkohl	Camaro	231	(45,0 %)	514	38,9	77,6 (4)
	Grüner Angeliter	292	(47,9 %)	610	36,0	87,0 (4)
Kohlrübe	Wilhelmsburger	290	(42,8 %)	677	21,0	57,1 (4)
	Helenor	276	(43,3 %)	638	29,4	62,9 (2)
Mais¹		272	(46,2 %)	588	28,7	51,2 (11)
Zellulose		386	(43,9 %)	881	10,0	27,9 (17)
Standardfehler		8,93		17,50	4,23	5,2
p-Wert		0,525		0,261	0,701	0,367
GD (α = 5 %)		ns		ns	ns	ns

oTM = organische Trockenmasse; MW = Mittelwert aus allen Messtagen; MAX = Höchster Mittelwert aller Messtage; GD = Grenzdifferenz; ¹ 60,0 % oTM; ² Standardabweichung = 23,3 L_n kg⁻¹ oTM; ³ Standardabweichung = 42,6 L_n kg⁻¹ oTM; ns = nicht signifikant

Die höchsten Mittelwerte wurden beim Wirsing beobachtet (37,2 mg H₂S L⁻¹ und 57,1 mg H₂S L⁻¹), gefolgt von der Weißkohlsorte ‚Bartolo‘ (45,7 mg H₂S L⁻¹). Für die Sorten des Weißkohls ergab die Messung sowohl den niedrigsten Maximalwert von

43,5 mg H₂S L⁻¹ (abgesehen von Zellulose mit 27,9 mg H₂S L⁻¹) als auch den höchsten maximalen Wert von 92,3 mg H₂S L⁻¹. Wieder zeigt Mais eine Schwefelwasserstoffemission im mittleren Niveau des Versuches (28,7 mg L⁻¹) und – in Relation zu den anderen Varianten dieses Versuches – einen geringen maximalen Wert (51,2 mg L⁻¹). Alles in allem wurden bei der statistischen Analyse dieses Batch-Versuches keine signifikanten Differenzen ermittelt.

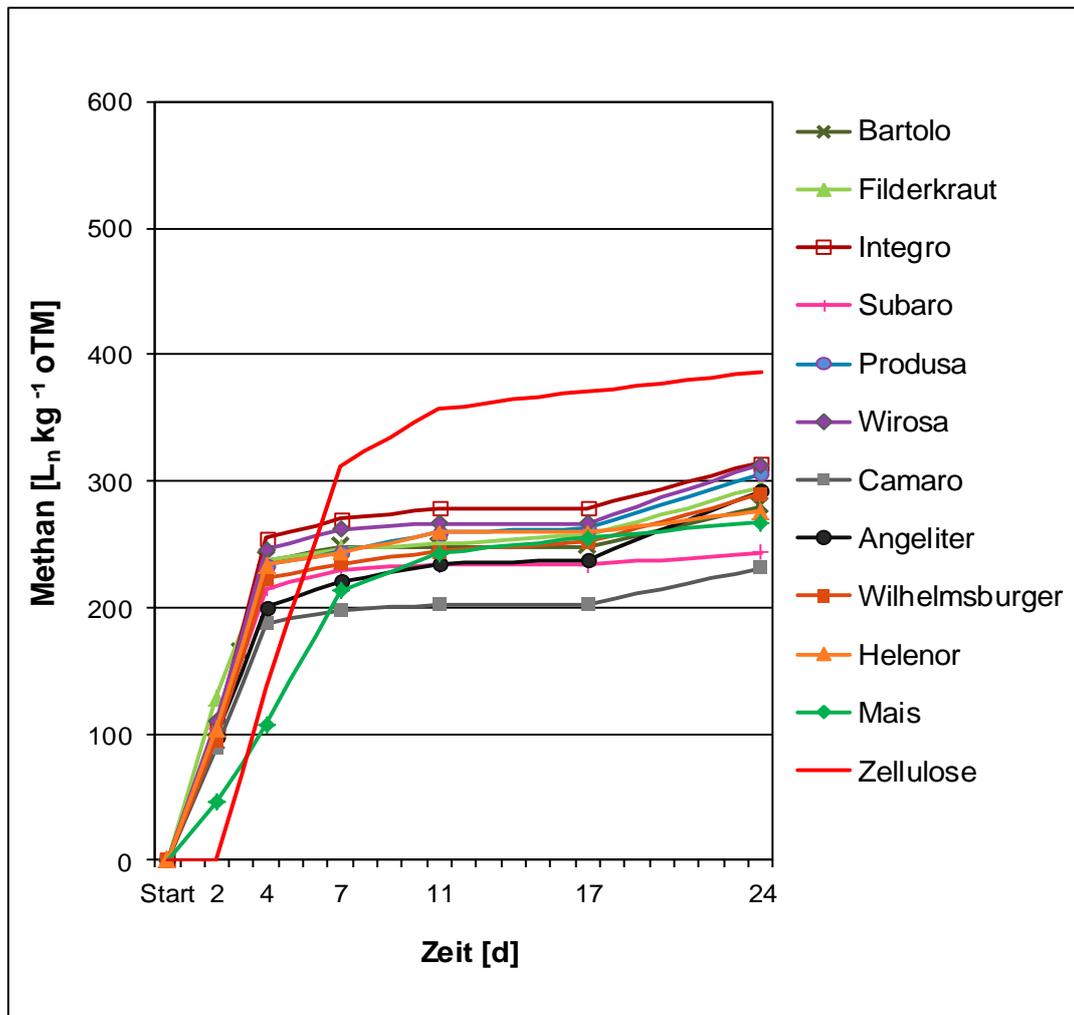


Abb. 4.3. Verlauf der Methanbildung von ausgewählten Kohl-Arten (je 2 Sorten) während des Batchversuches im Vergleich mit Mais; Kohl, gefrorene Proben: Wiederholungen aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2010, Mais, gefrorene Proben: 60,0 % oTM, dargestellt sind die Messergebnisse am Versuchstag 2, 4, 7, 11, 17 und 24

Der Methanverlauf dieses Batch-Versuches zeigt einen steilen Anstieg von Methan in den ersten vier Tagen bis 255 L_n kg⁻¹ oTM (Abb. 4.3). Nach 17 Tagen steigt die Methanbildung erneut an, insbesondere in der Variante ‚Angeliter‘ (Markstammkohl). Die Methanbildung der getesteten Kohl-Arten verläuft ohne größere Differenzen parallel zueinander. Die Methanbildung der Maisproben dagegen steigt etwas lang-

samer an, während die Zellulose-Variante ab dem zweiten Versuchstag bis zum Ende des gesamten Versuches viel Methan bildet.

4.5.4 Kohl 2010 (silierte Proben)

Im zweiten Batch-Versuch mit Kohl-Arten, allerdings mit silierten Proben des gleichen Feldversuches, wurden Methanvolumen von $182 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}_k$ (Markstammkohl ‚Camaro‘, Kohlrübe ‚Wilhelmsburger‘) bis $296 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ (Mais) gebildet, wobei Mais einen mittleren Methananteil (52,9 %) am gesamten Gasvolumen erreichte (Tab. 4.21). Eine ähnlich hohe Methanausbeute wurde von der Wirsingsorte ‚Produsa‘ produziert ($282 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}_k$), sowie von der Rotkohlsorte ‚Integro‘ ($280 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}_k$). Die letztgenannte Variante konnte die hohe Methanausbeute mittels eines hohen Methananteils von 57,8 % erreichen. Ebenfalls hohe Methangehalte wurden bei der Markstammkohlsorte ‚Grüner Angeliter‘ mit 56,8 % berechnet, doch für diese Sorte lag die mittlere Methanausbeute bei nur $221 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}_k$. Der höchste Biogasertrag für Mais detektiert werden ($559 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$). Die geringsten Werte hingegen wurden neben der Kohlrübensorte ‚Wilhelmsburger‘ ($360 \text{ L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}_k$) beim Markstammkohl beobachtet (367 und $388 \text{ L}_n \text{ Biogas kg}^{-1} \text{ oTM}_k$).

Die Mittelwerte des Schwefelwasserstoffemissionen variierten von $22,9 \text{ mg L}^{-1}$ (Mais) bis zu $112,1 \text{ mg L}^{-1}$ (Markstammkohl ‚Camaro‘) (Tab. 4.21). Wirsing produzierte hohe Schwefelwasserstoffkonzentrationen ($95,6 \text{ mg L}^{-1}$ und $86,4 \text{ mg L}^{-1}$) im Vergleich mit den anderen untersuchten Arten, ähnlich den Konzentrationen im vorangegangenen Batchversuch mit gefrorenen Kohl-Proben. Der geringste Maximalwert bezüglich der Schwefelwasserstoffkonzentration wurde bei der Kohlrübensorte ‚Wilhelmsburger‘ beobachtet ($44,7 \text{ mg L}^{-1}$). Im Gegensatz dazu wurden in den Varianten mit Markstammkohl hohe Konzentrationen an Schwefelwasserstoff sowohl im Mittelwert ($112,1 \text{ mg L}^{-1}$ und $97,1 \text{ mg L}^{-1}$) als auch im Maximum bestimmt ($210,8 \text{ mg L}^{-1}$ und $189,0 \text{ mg L}^{-1}$). Zwischen den verschiedenen Pflanzensorten wurde signifikante Differenzen in Bezug auf die Bildung von Schwefelwasserstoff gefunden (Tab. 4.21).

Tab. 4.21: Biogaserträge und Schwefelwasserstoffbildung von ausgewählten Kohl-Arten (je 2 Sorten) im Vergleich mit Mais; Kohl: silierte Proben Feldversuch Groß-Gerau 2010, Mais: gefrorene Proben mit 40,7 % oTM, Feldversuch Gießen 2009, 2. Ernte (25.09.2009)

Art	Sorte	Biogasertrag		Schwefelwasserstoff		
		Methan (Gasanteil)		MW	MAX (Messtag)	
		[L _n kg ⁻¹ oTM _k]		[mg L ⁻¹]	[mg L ⁻¹]	
Weißkohl	Bartolo	254	(54,1 %)	470	69,1 abcd	138,5 abc (11)
	Filderkraut	218	(54,4 %)	401	49,6 abcd	100,8 abc (11)
Rotkohl	Integro	280	(57,8 %)	485	79,9 bcd	156,4 abc (11)
	Subaro	260	(54,4 %)	479	68,1 abcd	124,8 abc (11)
Wirsing	Produsa	282	(55,2 %)	510	95,6 cd	189,0 bc (11)
	Wirosa	251	(52,2 %)	481	86,4 bcd	171,9 abc (11)
Markstammkohl	Camaro	182	(49,6 %)	367	112,1 d	210,8 c (11)
	Grüner Angeliter	221	(56,8 %)	388	97,1 cd	190,2 bc (11)
Kohlrübe	Wilhelmsburger	183	(50,7 %)	360	26,8 a	44,7 a (11)
	Helenor	226	(52,4 %)	431	39,4 ab	64,6 ab (4)
Mais¹		296	(52,9 %)	559	22,9 a	45,7 a (7)
Zellulose		360	(49,8 %)	723	4,6	17,2 (17)
Standardfehler		9,8		17,7	6,6	11,8
p-Wert		0,158		0,297	0,04	0,002
GD (α = 5 %)		ns		ns	51	77

oTM_k = korrigierte organische Trockenmasse; MW = Mittelwert aus allen Messtagen; MAX = Höchster Mittelwert aller Messtage; GD = Grenzdifferenz; ¹ Sorte Filippo (RG 240) mit 40,7 % oTM ; ns = nicht signifikant

Bei Betrachtung des Methanverlaufes dieses Versuches mit silierten Kohlproben fallen keine Besonderheiten auf (Abb. 4.4). Die Varianten verhalten sich sehr ähnlich. Nur Mais bildet insgesamt mehr Methan als die anderen Varianten. Dieses wird hervorgerufen durch eine höhere Methanbildungsrate ab dem zweiten Versuchstag. Zellulose startet die Methanbildung auch in diesem Versuch erst ab dem zweiten Versuchstag, bleibt aber innerhalb dieses Versuches auf einem mittleren Niveau.

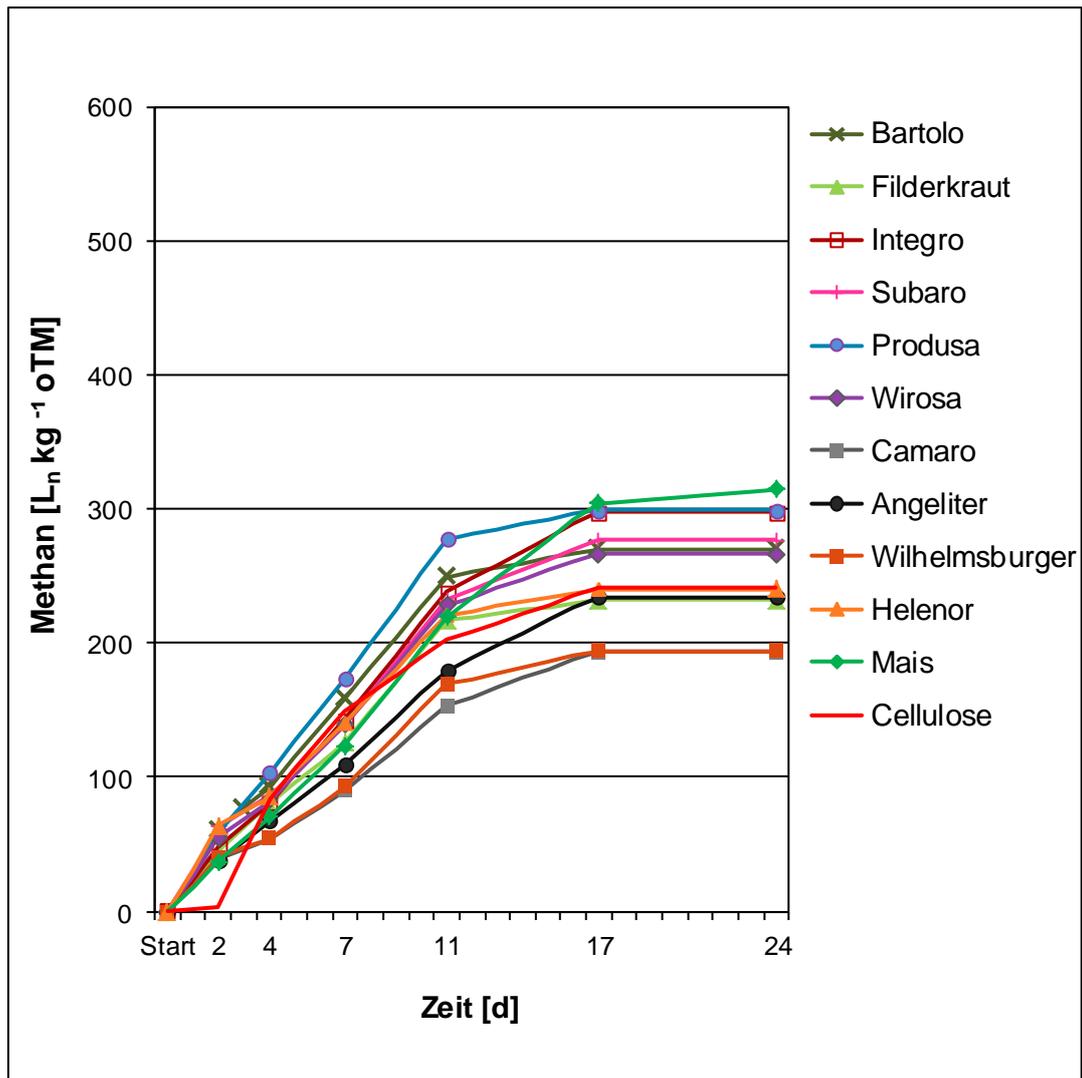


Abb. 4.4: Verlauf der Methanbildung von ausgewählten Kohl-Arten (je 2 Sorten) während des Batchversuches im Vergleich mit Mais; Kohl: silierte Proben, Wiederholungen aus dem Feldversuch Groß-Gerau 2010, Mais: 40,7 % Trockenmasse, Feldversuch Gießen 2009, 2. Ernte, dargestellt sind die Messergebnisse der Versuchstage 2, 4, 7, 11, 17 und 24

5 Diskussion

5.1 Biomasse-Erträge

Im Jahr 2009 waren die TM-Erträge der untersuchten Zwischenfrüchte in beiden Saatzeiten, trotz niedrigerer N-Düngung und geringerer Niederschläge, höher als im Jahr 2010 (Tab. 4.1 bis Tab. 4.4). Als Ursache für diesen Jahreseffekt wird die höhere Temperatursumme von 46,1 °C angenommen, die im Jahr 2009 in den Versuchsmonaten August bis Oktober im Vergleich zum Jahr 2010 mit 40,9 °C gemessen wurde.

Die TM-Gehalte der Pflanzen unterscheiden sich zwischen den Versuchen in den Jahren 2009 und 2010 nur geringfügig und entsprechen den Werten, die von anderen Autoren publiziert wurden (BEYER et al., 2003; JEROCH et al., 1993). Die Unterschiede zwischen den TM-Erträgen der Pflanzenarten sind abhängig von der Pflanzen-Morphologie und dem Entwicklungsstadium zur Zeit der Ernte. Daher erreichen die Senf-Sorten ‚Tango‘, ‚Sirtaki‘ und ‚Energy‘, die in ihrer Entwicklung weiter vorangeschritten waren, höhere TM-Gehalte, während die Wasserrübe aufgrund des wasserspeichernden Rübenkörpers sehr geringe TM-Gehalte aufweist. Trotz des geringen TM-Gehaltes war aber die Biomasseproduktion der Wasserrübe in beiden Versuchsjahren vergleichsweise höher und stabiler als bei allen anderen Kreuziferen. Wie zu erwarten, konnten mit höherer Stickstoffdüngung auch höhere Biomasseerträge erzielt werden, wobei sich die N-Düngungsstufen in der späteren Saatzeit in beiden Versuchsjahren nicht so deutlich unterscheiden wie in der früheren Saatzeit. Es wird davon ausgegangen, dass die geringere Wasserversorgung während der zweiten Saatzeit eine geringere Biomassezunahme und damit niedrigere Biomasseerträge hervorgerufen hat. Diese Bedingungen haben auch dazu geführt, dass der applizierte Stickstoff von den stark bis sehr stark Stickstoff-bedürftigen Pflanzen (RÖBER & SCHALLER, 1985) nicht vollständig aufgenommen und verwertet wurde.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass der Boden des Zwischenfruchtversuches 2010 einen höheren pH-Wert (7,3) aufweist als der Boden des Versuches 2009 (6,3). Die leicht alkalische Bodenreaktion liegt außerhalb der Toleranzbreite einiger Arten des Zwischenfrüchte-Versuches und könnte Ursache für eine schlechtere Aufnahme von Nährstoffen gewesen sein und damit das Wachstum beschränkt haben (RAVEN et al., 2006). In den Versuchen mit Gemüsekohl variierte der pH-Wert des Bodens in den drei Versuchsjahren zwischen pH 6,3 und pH 6,7. Die pH-Werte schwankten nur gering und lagen stets im Toleranzbereich der untersuchten Arten (RÖBER & SCHALLER, 1985).

In den Parzellenversuchen mit Gemüsekohl-Arten in den Jahren 2009, 2010 und 2012 konnte beobachtet werden, dass die TM-Erträge des zweiten Feldversuches im Jahr 2010 höher waren als im Jahr 2009, obwohl der TM-Gehalt geringer war. Als Ursache dafür werden sowohl eine höhere Stickstoffverfügbarkeit durch die Vorfrucht Luzerne im Jahr 2010 als auch der etwa einen Monat frühere Pflanztermin im selben Jahr vermutet. Darüber hinaus könnte auch die hohe Niederschlagsmenge im August des Jahres 2010, die zu einer höheren Niederschlagsmenge im gesamten Vegetationszeitraum (+ 90 mm) beigetragen hat, Ursache für die höheren Biomasse-Erträge gewesen sein.

5.2 Isothiocyanat-Gehalte

5.2.1 Einfluss von Erntebedingungen und Lagerung

Die Silageproben von Zwischenfrüchten aus den Jahren 2009 und 2010 wiesen sehr geringe Isothiocyanat-(ITC)-Gehalte auf. Es wird vermutet, dass die Lagerdauer der Proben einen Einfluss auf die ITC-Gehalte hatte. Derartige Zusammenhänge wurden bereits von SONG und THORNALLY (2007) beschrieben. Sie fanden heraus, dass eingefrorene (-85 °C) *Brassica*-Gemüsearten bereits nach 7 Tagen 33 % ihres gesamten Glucosinolatgehaltes einbüßten. Einzelne Glucosinolate waren um 10-53 % reduziert. Insbesondere Glucoiberin, Glucoraphanin und Glucoalyssin wurden mit deutlich reduzierten Gehalten entdeckt, während Sinigrin, Gluconapin und Progoitrin eine höhere Stabilität aufwiesen (SONG & THORNALLEY, 2007).

Solche Unterschiede zwischen den einzelnen Glucosinolaten bzw. Isothiocyanaten konnten bereits bei Vorversuchen mit Isothiocyanat-Standards und ebenso bei der Analyse der Isothiocyanate bestätigt werden. Insbesondere das Glucoraphanin zeigte sich als instabil, so dass das daraus resultierende Isothiocyanat Sulforaphan nur in sehr geringen Mengen zu detektieren war.

Beim Zerkleinern von Proben auf eine Partikelgröße von 4 x 4 cm gehen laut SONG und THORNALLY (2007) etwa 10 % des Glucosinolat-Gehaltes verloren. Bei stärkerer Zerkleinerung der Pflanzen auf 5 mm kann der Verlust auf 75 % (Grünkohl 60 %) ansteigen. Davon werden annähernd 30-50 % der abgebauten Glucosinolate in Isothiocyanate hydrolysiert (SONG & THORNALLEY, 2007).

Auf Grund dieser Zusammenhänge wird vermutet, dass auch in den durchgeführten Versuchen durch das Zerkleinern der Proben auf dem Feld und während der langen Tiefkühl-Lagerung, Verluste an Glucosinolaten aufgetreten sind. Einige der durch enzymatischen Abbau entstehenden Isothiocyanate weisen eine hohe Flüchtigkeit auf, wie sie z. B. für A-ITC bekannt ist (FRANKE, 1997). Somit könnte ein Teil der

ITC-Verbindungen verloren gegangen sein und nicht mehr vollständig detektiert werden.

Trotz der flüchtigen Eigenschaften der Isothiocyanate ist es sinnvoll, diese Verbindungen statt der von der Pflanze synthetisierten Glucosinolate zu detektieren, da damit eine bessere Qualitätsbeurteilung der Biomasse möglich ist. Isothiocyanate werden durch enzymatische Aktivität erst während der Ernte und Lagerung frei gesetzt. Somit können diese Verbindungen, die potenziell antimikrobiell wirken und die Biogasausbeute beeinflussen können, besser beurteilt werden.

5.2.2 Einfluss der Stickstoff-Düngung und der Witterung

In den gefrorenen Zwischenfruchtproben der frühen Saatzeit im Jahr 2010 wurden bei höherer N-Düngung (100 kg N ha^{-1}) geringere ITC-Gehalte detektiert als bei niedrigerer N-Gabe (60 kg N ha^{-1}) (Tab. 4.10, S. 56 und Tab. 4.11, S. 57). Insbesondere wurden höhere B-ITC-Gehalte in der niedrigeren N-Gabe festgestellt (Tab. 4.10, S. 56). Die Pflanzen beider N-Düngungsstufen wurden unter gleichen Wachstumsbedingungen (erste Aussaatzeit) kultiviert, zum gleichen Termin geerntet und nach etwa der gleichen Lagerungszeit von 26 Monaten im Labor untersucht.

Aus diesem Grund wird vermutet, dass die höhere Stickstoff-Düngung zur Verminderung der Glucosinolat-Gehalte beigetragen hat. Warum der Stickstoff die Glucosinolatbildung reduziert, ist noch nicht bekannt. Ein ähnlicher Effekt wurde jedoch von GERENDAS et al. (2008a, 2008b, 2009) an Kresse- (*Lepidium sativum*), Kohlrabi-Pflanzen (*Brassica oleracea* var. *gongyloides*), sowie an Sareptasenf (*Brassica juncea*) beobachtet. Dabei wurden Kohlrabi-Pflanzen in Mitscherlichgefäßen (6 kg) in nährstoffarmen Boden mit $0,42 \text{ mg N}$ und $0,05 \text{ mg S kg}^{-1}$ mit variiertem Stickstoff- (1 g ; 2 g , und 4 g N pro Gefäß) und Schwefel-Gabe ($0,00 \text{ g}$, $0,05 \text{ g}$, und $0,20 \text{ g S}$ pro Gefäß) kultiviert (GERENDAS et al. 2008a). Das Pflanzenwachstum in diesem zweifaktoriellen Versuch entsprach dabei der klassischen düngungsabhängigen Wachstumskurve mit Abhängigkeit zu Stickstoff und Schwefel. Nach acht Wochen Vegetationszeit wurden die Proben geerntet und tiefgefroren. Im gleichen Jahr berichtet GERENDAS et al. (2008b) von ähnlichen Versuchen mit Kresse-Keimlingen. Dabei wurde Kresse in Mitscherlich-Gefäßen mit $6,5 \text{ kg}$ des gleichen nährstoffarmen Bodens wie im Versuch mit Kohlrabi angezogen. Im annähernd gleichen Versuchsaufbau wurden drei etwas geringere Stickstoff- ($0,5 \text{ g}$; $1,0 \text{ g}$ und $2,0 \text{ g}$ pro Gefäß) bei gleichgebliebenen Schwefelgaben ($0,0 \text{ g}$, $0,05 \text{ g}$ und $0,20 \text{ g}$ pro Gefäß) variiert. Die gesamte Frischmasse wurde hier nach zwei Wochen geerntet und tiefgefroren. Im Jahr darauf berichten GERENDAS et al. (2009) von Gefäßversuchen mit Sareptasenf (*Brassica juncea*). Erneut wurde der nährstoffarme Boden wie in den vorheri-

gen Versuchen verwendet und mit Stickstoff und Schwefel gedüngt. Die Stickstoffgabe blieb bei 1, 2 und 4 g N pro Gefäß, während in diesem Versuch die Schwefelgabe auf 0,0, 0,2 und 0,6 g S pro Gefäß erhöht wurde. Der Versuch verlief über zwölf Wochen. Das Erntegut wurde – getrennt in Stamm, Blätter und intakte Schoten – bei 40 °C getrocknet und im Exsikkator bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt (GERENDAS et al., 2009). Alle Varianten wurden in den drei Versuchen sechsmal wiederholt.

Nach Extraktion der Isothiocyanate und deren Analyse per GC-MS/MS wurde ein signifikanter Einfluss der N-Gabe auf die Isothiocyanat-Konzentration festgestellt. Es wurde deutlich, dass die Isothiocyanat-Konzentration bei höherer N-Gabe sinkt. Gleichzeitig wurde mit steigender N-Gabe und geringer S-Düngung ein Anstieg der Isothiocyanat-Konzentration beobachtet, welche nicht einer reduzierten Sulfataufnahme anzurechnen ist. Die Ergebnisse von GERENDAS et al. (2008b) von Isothiocyanat-Konzentrationen im Pflanzenmaterial und dem absoluten Isothiocyanat-Gehalt pro Gefäß entsprachen einander, wodurch ein Verdünnungseffekt, aufgrund der durch die erhöhte Stickstoffgabe verstärkten Biomasseproduktion, ausgeschlossen werden konnte. Weiterhin fassen GERENDAS et al. (2008b) zusammen, dass ein geringer S-Status (hohe N/S-Verhältnis) nicht den Abbau von Glucosinolaten induziert. Auch wird die Hypothese, dass Glucosinolate als vorübergehendes Schwefel-Reservoir in Abhängigkeit von der Verfügbarkeit des Schwefels fungiert, nicht unterstützt. Da GERENDAS et al. (2008a, 2008b und 2009) einen interaktiven Einfluss von Stickstoff- und Schwefeldüngung auf die Aktivität des Glucosinolat-spaltenden Enzyms, die Myrosinase, darstellen, ist es vorstellbar, dass nicht die Glucosinolatbildung gehemmt wird, sondern die Myrosinase, wodurch weniger Glucosinolate gespalten, also weniger Isothiocyanate bei der Ernte entstehen und folglich geringere Mengen in den Proben detektiert werden können.

In den Pflanzenproben der zweiten Aussaatzeit wurden im Mittel geringere ITC-Gehalte gemessen als in den Proben der ersten Aussaatzeit. Es wird vermutet, dass die Frosteinwirkung auf die Pflanzen von sechs (2009) bzw. acht Tagen (2010) mit Minimaltemperaturen von -3,5 bzw. -4,5 °C, die zwei Wochen vor Ernte der zweiten Aussaatzeit eintrat (siehe Kapitel 3.1.1, S. 29), sich auf die ITC-Gehalte ausgewirkt haben könnte. Glucosinolate können auch bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt langsam abgebaut werden (SONG & THORNALLEY, 2007). Auch wenn Frost bereits zum ersten Erntetermin gemessen wurde, könnten sich die Glucosinolate noch langsam bis zur zweiten Ernte weiter abgebaut haben, obwohl der Temperaturverlauf zu diesem Zeitpunkt deutlich milder ausfiel.

Die Frostempfindlichkeit der geprüften Pflanzenarten bzw. -sorten kann die Unterschiede im ITC-Gehalt nicht erklären. Alle in den Versuchen getesteten Pflanzenar-

ten bzw. -sorten werden mit einer mittleren Frosttoleranz bewertet (Boniturnote 5) (BSA, 2011). Somit ist ein Zusammenhang zwischen der genetisch determinierten Frostempfindlichkeit und dem durch Frost induzierten Abbau von Glucosinolaten in den verwendeten Sorten nicht zu vermuten.

5.2.3 Isothiocyanat-Gehalte in Zwischenfrüchten und Kohl-Arten

Wie bereits festgestellt wurde, gibt es Einschränkungen bei der Vergleichbarkeit der Ergebnisse aus der Isothiocyanat-Analyse. Der Glucosinolat-Gehalt variiert nicht nur art- und sortenspezifisch, sondern auch innerhalb der Pflanze und abhängig vom Entwicklungsstadium derselben (Kapitel 2.2.1, S. 16). Insbesondere eine unterschiedliche Lagerungsdauer führt zu einer verminderten Vergleichbarkeit der Ergebnisse (Kapitel 5.2.1, S. 76). Zudem werden auch in der Literatur große Spannweiten an ITC-Gehalten angegeben. Mehreren hundert $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ Unterschied innerhalb einer Sorte bzw. Herkunft sind nicht ungewöhnlich (FENWICK et al., 1983; KIRKEGAARD & SARWAR, 1998; MITHEN et al., 2000). MITHEN et al. (2000) analysierten verschiedene gefriergetrocknete *Brassica*-Gemüse, wobei eine Spannweite an Glucosinolaten (gesamt) von $180 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ (Blumenkohl) bis $3490 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ (Rosenkohl) gemessen wurde (Umrechnung siehe Formel A.2, S. 109). Ein anderes Beispiel findet sich bei FENWICK et al. (1983). Die Autoren geben für Rotkohl eine Spannweite von $160\text{-}1200 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ ($160\text{-}1200 \mu\text{g } \text{g}^{-1} \text{ FM}$) an, bei einem mittleren TM-Gehalt von 10 % (FENWICK et al., 1983) (Umrechnung siehe Formel A.3, S. 109). KIRKEGAARD und SARWAR (1998) geben einen A-ITC-Gehalt von $10\text{-}1870 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ ($0,1\text{-}18,7 \mu\text{mol } \text{g}^{-1}$) in Sarepta-Senf an. Die Gesamt-ITC-Gehalte im eigenen Kohlversuch aus dem Jahr 2012 variierten von $8,5\text{-}126,51 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ und lagen damit ebenfalls deutlich unter den Ergebnissen von FENWICK et al. (1983) und MITHEN et al. (2000).

Vergleicht man die in Kapitel 4 beschriebenen Ergebnisse der Isothiocyanat-Analyse mit denen der Literatur, kann allgemein festgestellt werden, dass diese im unteren Drittel oder auch unter den gemessenen Spannweiten der aufgezeigten Literatur einzuordnen sind.

Die Unterschiede in der Zusammensetzung der Isothiocyanate innerhalb einer Art sind sortenabhängig. So wurde z. B. bei der Sorte ‚Wirosa‘ ein hoher Iberin-Gehalt nachgewiesen, eine Verbindung, die bei der Sorte ‚Produsa‘ nicht detektiert wurde. Demgegenüber wurden einige andere Isothiocyanate nicht bei ‚Wirosa‘ gefunden, die jedoch in der Vergleichssorte festgestellt wurden. Wegen dieser Sortenunterschiede lässt sich die Zusammensetzung der Isothiocyanate nicht mit den Angaben der Literatur vergleichen, da in diesen die verwendeten Sorten nicht benannt werden.

Die Glucosinolat-Gehalte der Zwischenfrüchte mit Werten von über $2500 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$ ($25 \mu\text{mol g}^{-1}$), wie sie in der Sortenliste des BSA (2009) für ausgewählte Sorten von Winterraps, Winterrüben und Chinakohlrüben angegeben sind, wurden bei weitem nicht erreicht. Allerdings wurde auch der Grenzwert bei den beiden Sommerraps-Sorten nicht überschritten, dessen Sorten laut der Sortenliste vom Bundessortenamt als glucosinolatarm eingeschätzt werden. Es wird vermutet, dass die geringen ITC-Gehalte, die bei den eigenen Proben gemessen wurden, auf die lange Lagerungsdauer zurückzuführen sind.

5.3 Biogasbildungspotenzial

Die Biogastests wurden in einem Ein-Phasen-Fermenter durchgeführt. Wenn alle Stadien der Fermentation in einem Behälter gleichzeitig ablaufen, dann können Zwischenprodukte die nachfolgenden mikroorganismische Prozesse verzögern oder hemmen (DEUBLEIN & STEINHAUSER, 2008). Trotzdem scheint die Steigerung der Biogasbildung in der ersten Phase (Abb. 4.1 bis Abb. 4.3) statt auf hemmende Effekte auf eine hohe Produktivität der Mikroorganismen hinzudeuten.

Während die untersuchten Sorten der Wasserrübe sowie des Ölrettichs bei der Berechnung ihres Biogasbildungspotenzials die geringsten Methanerträge im Vergleich zu denen anderer Zwischenfrüchte erwarten ließen, zeigten sie in den Batchversuchen vergleichsweise hohe bis sehr hohe Methanbildungsraten. Einzig im Vergleich zwischen potenzieller und tatsächlicher Biogasbildung von Kohlsorten gab es Parallelen. So produzierte die Markstammkohlsorte Camaro im Batchversuch ebenso das geringste Methanvolumen, wie es die Berechnung des Biogasbildungspotenzials erwarten ließ. Die zweite Sorte des Markstammkohls hingegen erreichte im Batchversuch bessere Ergebnisse als erwartet.

Die fehlende Korrelation zwischen getesteten und kalkulierten Methanwerten kann nicht durch sortenspezifische Unterschiede im Gehalt und in der Zusammensetzung der Glucosinolate bzw. Isothiocyanaten erklärt werden, da es sowohl bei gefrorenen als auch bei silierten Proben, bei denen die Isothiocyanate bereits abgebaut worden sind (siehe Kapitel 4.3.1, S. 55), zu vergleichbaren Ergebnissen kam. Es kann vermutet werden, dass Isothiocyanate zwar eine hemmende Wirkung gegen bestimmte Mikroorganismen im Fermenter ausüben, wie es bei (KRAFT, 2012) und (RICHTER, 2010) im Modellversuch nachgewiesen wurde, diese aber zu gering ist, um die gesamte Fermentation beeinflussen zu können. Somit haben die Produkte des Primär-

stoffwechsels wie Kohlenhydrate, Proteine und Fette auch bei glucosinolathaltigen Co-Substraten den größten Einfluss auf die Gasbildung im Fermentationsprozess.

5.4 Biogasversuche

5.4.1 Vergleich von Zwischenfrüchten und Kohl-Arten mit Mais

Im ersten Batch-Versuch wurden deutlich höhere Biogas- und Methanausbeuten festgestellt als im zweiten Batch-Versuch. Darüber hinaus wurde beobachtet, dass mit Winterraps, Ölrettich und Mais höhere Biogasausbeuten ermittelt wurden als in anderen Forschungsprojekten (KTBL, 2010). Im ersten Versuch bildeten sich mehr als $400 \text{ L}_n \text{ CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ mit gefrorenem Material, wohingegen die silierten Winterraps- und Ölrettich-Proben im zweiten Batch-Versuch nahezu $340 \text{ L}_n \text{ CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}_k$ erreichten und Mais $303 \text{ L}_n \text{ CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}_k$ im zweiten Batch-Versuch. DEUBLEIN und STEINHAUSER (2008) führen aus, dass nach Zerkleinerung des Substrates der Abbauprozess in den ersten Tagen beschleunigt wird und der Biogasertrag insgesamt über den gesamten Prozess der Fermentation höher ist. Folglich kann die geringere Methanausbeute von Mais im Vergleich zu den Zwischenfrüchten von der nicht ausreichenden Zerkleinerung der Proben vor Versuchsdurchführung herrühren, wodurch ganze Maiskörner in den Fermenter gelangten und nicht von den Mikroorganismen zersetzt werden konnten. Auf diese Weise stand ihnen weniger leicht verdauliches Co-Substrat zur Verfügung als es mit den vor der Samenbildung geernteten Zwischenfrüchten der Fall war.

In allen Versuchen mit Kohl-Arten wurde eine relativ hohe Varianz der Methanausbeuten festgestellt. Es wird vermutet, dass diese Varianz durch die Gärreste verursacht wurde, die in den Versuchen als Inoculum verwendet wurden. Die Tatsache, dass die Gärreste vor Versuchsbeginn homogenisiert und entsprechend der Richtlinie VDI 4630 vor dem Einfüllen für eine Woche ausgast wurden, hat diese Varianz offenbar nicht verhindert.

Variierende Bedingungen in den Gärsubstraten können sehr schnell zu Veränderungen der mikrobiellen Aktivität und somit zu sich ändernden Biogas- und Methanausbeuten führen. Es wird vermutet, dass es in den durchgeführten Versuchen nicht gelungen ist, eine ausreichende Homogenität der Gärreste zu gewährleisten. Die Durchmischung des Inoculum durch Rühren führt zwar zeitweise zu einer gleichmäßigeren Verteilung der Substanz, jedoch nicht zu einer dauerhaft homogenen Masse. Das bedeutet, dass wahrscheinlich die ersten Behälter bei der Abfüllung weniger feste Substanz erhalten haben, als diejenigen, die zuletzt abgefüllt wurden. Dies

kann die zufällige Verteilung der Proben bei einer geringen Anzahl von Wiederholungen nicht ausreichend ausgleichen.

In Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium zeigte silierter Mais in einem Ringversuch Methanerträge von 330-350 L_n CH₄ kg⁻¹ oTM_k (HERRMANN et al., 2011; KTBL, 2010). Kruzifere Arten wie Raps, Öletlich oder Weißer Senf erreichen dagegen Methanerträge von 300-400 L_n kg⁻¹ oTM für silierte Substrate (KTBL, 2010). Dieses Niveau der Biogasbildung kann durch die eigenen Messergebnisse bestätigt werden. Eine Ausnahme bilden der Weiße Senf und die Mischung aus Mais und Öletlich, deren Werte stärker abweichen. Bekannt ist, dass die Biogasausbeute sinkt, wenn eine höhere Lignifizierung aufgrund einer späten Ernte stattgefunden hat (BERENDONK, 2011; DEUBLEIN & STEINHAUSER, 2008). Weißer Senf zeigte in beiden Versuchen eine geringe Methan- und Biogasbildung (Tab. 4.18 und Tab. 4.19), was durch die Tatsache erklärt werden kann, dass diese Pflanzen im Gegensatz zu den anderen Arten zur Ernte bereits das Blühstadium erreicht hatten. Somit enthielten die Senfproben weniger leicht verdauliche Kohlenhydrate und mehr Gerüstsubstanzen. Dies bestätigt sich auch damit, dass Sareptasenf mit einer ähnlichen Morphologie wie Weißer Senf effizienter in der Biogasbildung war, da dieser noch nicht das Blühstadium erreicht hatte.

Auch äußere Qualitätsmerkmale der Proben können den Gärprozess beeinflusst haben. Dazu zählt zum Beispiel die Verschmutzung der Rüben durch Erdanhang am Rübenkörper. Ein starker Erdanhang verlangt einen intensiveren Waschvorgang, da sonst der Erdantrag in den Fermenter die Aktivität der Mikroorganismen reduzieren könnte und vermehrt unerwünschte Sedimente entstehen. Problematisch kann auch ein zu geringer TM-Gehalt in den Pflanzen sein. Geringe TM-Gehalte bedeuten einen hohen Wassereintrag, der zu einer Verdünnung der Nährstoffe als auch der Mikroorganismen-Dichte führt und letztendlich die Effizienz im Gärprozess verringert. Der Partialdruck von Wasserstoff sollte nicht zu hoch und nicht zu niedrig sein, um den Mikroorganismen Wasserstoffe zur Verfügung zu stellen, sie aber nicht nur von Wasserstoff zu umgeben und damit die Methanproduktion zu stoppen (DEUBLEIN & STEINHAUSER, 2008). Auf der anderen Seite bindet eine höhere Flüssigkeitsmenge im Fermenter mehr CO₂ aus der Gasphase, woraus ein höherer Methangehalt im Biogas resultiert (DEUBLEIN & STEINHAUSER, 2008). Dies erklärt den hohen Methangehalt von Zwischenfrüchten im Vergleich zu Mais sowie Methangehalte von über 52,1 % und damit folglich mehr als es aufgrund der Berechnung des Biogaspotenzials zu erwarten gewesen wäre (siehe Kapitel 4.4). Im Endeffekt ist der maximal zu akzeptierende Wasserdruck abhängig von den Mikroorganismen (Artenzusammensetzung) und ebenso vom Substrat (DEUBLEIN & STEINHAUSER, 2008).

Auch für die Vergärung während des Silierprozesses ist der TM-Gehalt, der bei den untersuchten Zwischenfrucht-Arten von 9,1-21,5 % und bei den Kohlarten von 8,3-13,2 % variierte, ein wichtiger Parameter. Der hohe Wassergehalt führt zu einer hohen Sickerwasserbildung und damit zu Substanzverlusten und einer Gefährdung der Umwelt. Um dies zu vermeiden, ist es möglich, die kruziferen Substrate mit Stroh, trockenen Hackschnitzeln oder Weizenkleie zu mischen (MÜLLER, 2006). MÜLLER (2006) schlug dazu noch Corn-Crop-Mix (CCM) als mögliches Substrat für eine Mischung vor, um den empfohlenen TM-Gehalt von wenigstens 25 % zu ermöglichen.

LABATUT et al. (2011) zeigten, dass manche Mischungen von Co-Substraten einen synergistischen Effekt in der Biogasanlage bewirken können. Solche Mischungen bestanden aus Schweinegülle kombiniert mit 13 verschiedenen Essensresten, von denen vier synergistische Effekte aufzeigten. Diese Auswirkung ist ein Ergebnis der förderlichen Mischung von Nährstoffen. In den vorliegenden Untersuchungen scheint aus der Kombination von kruziferen Arten mit Mais eine Verringerung der Gasausbeute im Vergleich zur Mono-Fermentation zu resultieren. Es konnten keine synergistischen Effekte beobachtet werden. Es wird vermutet, dass die Substanzen sich zu ähnlich sind, um sich vorteilhaft zu ergänzen und einen synergistischen Effekt bewirken zu können.

Es muss ergänzt werden, dass in Maisproben dieses Versuches mit gefrorenen Kohlarten 2010 ein ungewöhnlich hoher TM-Gehalt von 62 % gemessen wurde. Dies kann durch eine Lyophilisierung aufgrund der Lagerbedingungen (crisp-packs, -20 °C und Luftumwälzung) erklärt werden. Die höheren TM-Gehalte haben die Biogasproduktion jedoch nicht beeinflusst. Insgesamt wird festgestellt, dass im Vergleich mit Mais auch mit Pflanzenarten der Brassicaceae eine gute Biogasbildung erreicht werden kann. Direkte Hemmeffekte durch kruzifere Arten konnten im Vergleich mit dem hier verwendeten Maissubstrat nicht nachgewiesen werden.

5.4.2 Einfluss auf die Methanbildung

Beim Betrachten der kumulativen Methanbildung über 24 Tage zeigten die Kreuzblütler in den ersten Tagen der Versuchsdurchführung eine hohe Methanbildungsrate (Abb. 4.1 bis Abb. 4.4). Demgegenüber brauchten die Vergleichssubstanzen Mais (pur) und Zellulose in allen Versuchen eine längere Anlaufphase. Wie bereits im vorangegangenen Kapitel (S. 81) erläutert, konnten die Kreuzblütler eine schnellere Verfügbarkeit von Nährstoffen für die Mikroorganismen bereitstellen, während beim Mais erst noch dessen Körner aufgeschlossen werden mussten. Dafür stieg bei Mais die Methanproduktion für eine längere Zeit an und konnte dadurch – je nach

Versuch – wenige (Abb. 4.1 bis Abb. 4.3) bis alle (Abb. 4.4) anderen Vergleichsvarianten in ihrer Gesamt-Produktivität übertreffen. Im letzten Batchversuch (mit silierem Kohl im Jahr 2010) lief die Gasbildung langsamer ab als in den vorherigen Versuchen. Eine eindeutige Ursache kann für diesen Unterschied nicht identifiziert werden. Es wird vermutet, dass sich die mikrobiellen Bedingungen der verwendeten Gärreste zwischen den jeweiligen Batch-Versuchen unterschieden. Damit wird deutlich, dass die Ergebnisse der Versuche nicht direkt miteinander verglichen werden können.

Trotz der unterschiedlichen Biogasproduktivität konnte beobachtet werden, dass der Verlauf der Methanbildung aller Varianten typisch für eine normale Methanproduktion war (siehe Abb. 5.1). Es wurde weder eine komplette Hemmung noch eine verzögerte Gasproduktion oder Diauxie beobachtet. Es ist festzustellen, dass die zeitliche Dynamik der Methanproduktion bei silierten Proben, die kaum noch Isothiocyanate enthielten, in gleicher Weise verlief wie die der gefroren Proben (mit Isothiocyanaten). Diese Beobachtungen führen zu dem Schluss, dass keine offensichtliche Hemmwirkung durch die Isothiocyanate auf die Mikroorganismen im Fermenter stattgefunden hat.

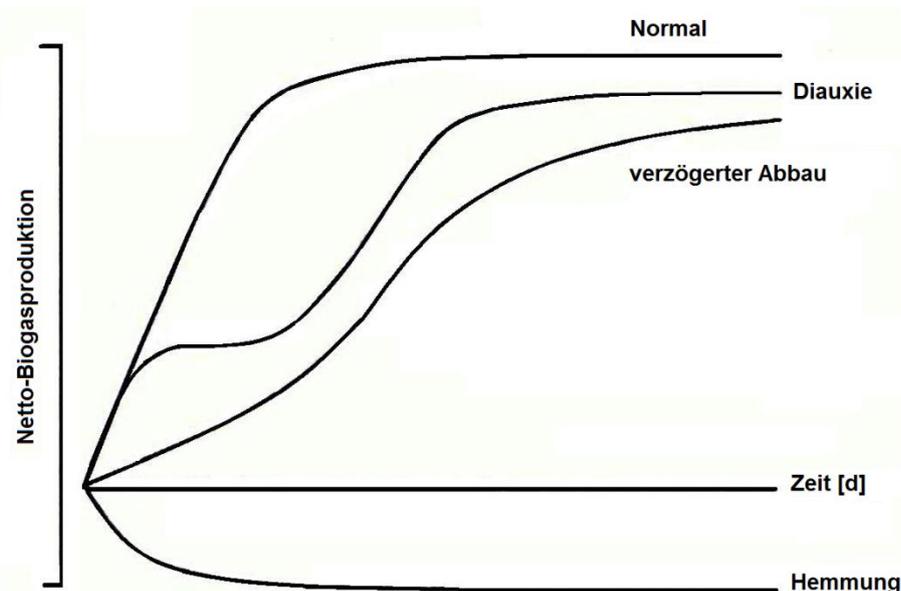


Abb. 5.1: Typische Verläufe von Gasbildungskurven (modifiziert nach VDI-Richtlinie 4630, 2006)

In den durchgeführten Batchversuchen 2 und 3 (Abb. 4.2 und Abb. 4.3) war auch nach 17 Tagen Versuchsdauer eine Steigerung der Biogasproduktion zu beobachten. Daraus wird abgeleitet, dass das Potenzial der verwendeten Substrate nach der begrenzten Versuchsdauer noch nicht vollständig ausgeschöpft war. Das Gleiche

scheint beim vierten Batchversuch zuzutreffen, in dem der Methanbildungsprozess für alle Varianten sehr langsam verlief (Abb. 4.4). Es wird vermutet, dass der relativ langsame Verlauf der Methanbildung in den Kohl-Versuchen ein Ergebnis temporärer Hemmung von Mikroorganismen durch Isothiocyanate ist, die durch den höheren Gehalt an Isothiocyanaten in den Kohlvarianten (Tab 4.14, S. 60) gegenüber den verwendeten Zwischenfruchtproben (Tab. 4.12, S. 58) erklärt werden kann.

Die inhibierende Wirkung von Isothiocyanaten scheint mit dem Molekulargewicht dieser Verbindungen im Zusammenhang zu stehen. So wird in einer Studie von BOREK et al. (1998) darauf hingewiesen, dass sich das Molekulargewicht von Isothiocyanaten auf ihre insektizide Wirkung auswirkt. Dabei ist die Wirkung von größeren Molekülen, wie dem PE-ITC stärker ausgeprägt als die von niedrig-molekularen Isothiocyanaten (BOREK et al., 1998). Auch in den Untersuchungen von KRAFT (2012) ging die stärkste Hemmwirkung auf das Bakterium *Clostridium acetobutylicum* vom PE-ITC aus. Um zu überprüfen, ob Substrate mit besonders hohen PE-ITC-Gehalten, wie z. B. Wasser- und Kohlrüben, eine Hemmwirkung im Fermenter verursachen könnten, wurden in der vorliegenden Arbeit auch diesbezüglich Korrelationsberechnungen durchgeführt. Es wurden jedoch keine Korrelationen zwischen den Gehalten an einzelnen Isothiocyanaten und der Methanbildung gefunden. In den Silagen wird PE-ITC allerdings kaum eine Rolle spielen. Im Boden wird PE-ITC von Boden-Mikroorganismen innerhalb von 96 Stunden abgebaut (RUMBERGER & MARSCHNER, 2003). Es kann davon ausgegangen werden, dass PE-ITC im sauren Milieu der Silagen ähnlich schnell oder sogar schneller als bei mikrobiologischen Abbauprozessen im Boden abgebaut wird. Die Analyse der gefrorenen und silierten Proben (Kapitel 4.3) bestätigt, dass die Isothiocyanate, die beim Häckselvorgang nach der Ernte aus Glucosinolaten entstanden sind, in den Monaten der Lagerung insbesondere in den Silagen weitestgehend abgebaut wurden.

Die langfristige Lagerung der Silagen verursacht auch bei einer Dauer von einem Jahr laut HERRMANN et al. (2011) keine Methaneinbußen, da der Methan-Ertrag pro Kilogramm TM höher ist. Auch ZUBR (1986) berichtet von höheren Methangehalten in silierten Proben im Vergleich zu frischen Proben. Dies wird der Grund dafür sein, dass auch in den dargestellten Versuchen Substanzverluste während des Silierprozesses offensichtlich durch die auf TM bezogenen höheren Methanerträge ausgeglichen wurden, trotz langer Lagerungszeit. Im Endeffekt sind die Ergebnisse beider Zwischenfruchtversuche vergleichbar mit den Befunden anderer Studien (AMON et al., 2007a; AMON et al., 2007b; HERRMANN et al., 2011; ZUBR, 1986)

Allgemein kann davon ausgegangen werden, dass die in Einmachgläsern silierten Proben durch eine bessere Qualität gekennzeichnet sind als Silagen aus großen Silos. Deswegen müssen Landwirte in der Praxis von höheren Substanzverlusten in

ihren Silagen ausgehen und als Konsequenz auch von geringeren Methanerträgen. Alle Ergebnisse beziehen sich allerdings nur auf Rückstände aus einer Biogasanlage, die mit Gülle von Rindern gespeist wurde, die hauptsächlich mit Maissilage gefüttert worden. In anderen Anlagen, können sich andere mikrobielle Gesellschaften etablieren, insbesondere, wenn die Tiere, die das Inoculum bereitstellen, anderes Futter bekommen. Ob sich eine andere Gemeinschaft in ihrer Biogasproduktion von Isothiocyanaten beeinflussen lässt, kann nicht abschließend beurteilt werden. Insgesamt zeigen die Ergebnisse in Übereinstimmung mit MITHEN et al. (2000), dass alle kruziferen Proben Biogas mit einem hohen Methananteil produzieren ohne offensichtliche Hemmeffekte.

Effekt durch H₂S

Wie erwartet, hat Mais die geringsten mittleren Schwefelwasserstoffgehalte verursacht. Allerdings waren die maximalen Werte teilweise so hoch wie die der Kreuzblütler. Im letzten Batch-Versuch mit silierten Kohl-Proben wurden bei einer geringen Varianz signifikante Unterschiede zwischen den Sorten deutlich, so dass der Standardfehler des Schwefelwasserstoffgehaltes kleiner als im ersten und zweiten Versuch blieb (Tab. 4.21, S. 73). Es kann vermutet werden, dass die an der Biogasbildung beteiligten Mikroorganismen sich an den leicht erhöhten Schwefelwasserstoffgehalt angepasst haben, welcher teilweise die Schwelle von 50 mg L⁻¹ überschritten hat (DEUBLEIN & STEINHAUSER, 2008). Diese Vermutung wird durch die Tatsache verstärkt, dass keine Korrelation zwischen Schwefelwasserstoffgehalten und der Produktivität im Fermenter gefunden werden konnte (Tab. 4.18 bis Tab. 4.21).

5.5 Fazit

Insgesamt kann die Gasausbeute der untersuchten Kreuzblütler als positiv bewertet werden, jedoch führt der geringe TM-Gehalt der untersuchten Arten zu Problemen bei der Silierung und zu unwirtschaftlichen Transportkosten. Ebenso relevant für eine effiziente Biogasproduktion ist die Prävention von Erdanhang, insbesondere am Beispiel Wasserrübe. Zwischenfrüchte der Familie der Brassicaceae sind jedoch als Mixpartner für Mais interessant. Insbesondere wenn der Mais einen TM-Gehalt von über 40 % aufweist, ist ein solcher Fermentationspartner mit hohem Wassergehalt erwünscht (MÜLLER, 2006). Eine Hemmwirkung durch schwefelhaltige Inhaltsstoffe ist nicht zu befürchten.

Für weitere Untersuchungen des Biogaspotenzials von Kreuzblütlern wird empfohlen, eine längere Verweildauer im Fermenter einzukalkulieren, um das volle Potenzial der kruziferen Proben bestimmen zu können. Außerdem sollten bei weiteren Forschungsvorhaben zu diesem Thema den Arten- und Sortenunterschieden größere Aufmerksamkeit geschenkt werden, wobei der Züchtungsfortschritt im Glucosinolat-Gehalt zu beobachten gilt. So gibt es inzwischen Bemühungen, besonders hohe Gehalte an Glucosinolaten zu erzielen (HENNIG et al., 2014; WANG et al., 2012). Dies ist zwar weniger für landwirtschaftliche Nutzung und mehr für die Nahrungsmittel-Herstellung angedacht, könnte aber bei der Reste-Verwertung, z. B. von Kohlblättern auch in der Biogasproduktion eine Rolle spielen. Sicherlich könnten ebenso Reste von Arzneipflanzen mit Glucosinolat-Gehalt zur Biogasproduktion genutzt werden

Ein weiterer Vorteil ist die Erweiterung des Biomasseangebots übers Jahr durch Zwischenfruchtanbau und damit einhergehender erhöhter Flexibilität des Landwirtes (BERENDONK, 2011). Dadurch, dass schon länger auch im Zwischenfruchtanbau auf höhere Biomasseerträge für die Futternutzung gezüchtet wurde, stehen inzwischen einige Sorten zur Verfügung, die ebenso gut für die Biogasproduktion verwendet werden könnten (BERENDONK, 2011). Speziell für einen betriebswirtschaftlichen Vergleich des Biogasertrages pro Hektar von Mais gegenüber Kreuzblütlern wäre ein gemeinsamer Anbau an einem Standort sinnvoll.

Trotz der erfolgreichen Biogasproduktion aus Pflanzen der Brassicaceae sollte weiterhin beim Anbau von Kreuzblütlern die ursprüngliche Verwendung von Kohl-Arten für die Lebensmittelherstellung im Vordergrund stehen. Ebenso sollte der Zwischenfruchtanbau weiterhin vorrangig als Gründüngung eingesetzt werden, um damit einen Beitrag zum Erosions- und Wasserschutz, zum Humusaufbau und zum Abbau von Bodenverdichtungen sowie zur biologischen Unkrautregulierung und Schädlingsbekämpfung zu leisten.

Zusammenfassung

Die große Nachfrage nach Co-Substraten für die Biogasproduktion macht es notwendig, als Alternativen zum Mais die Eignung weiterer Nutzpflanzen zu prüfen. Eine potenzielle Alternative stellen die Nutzpflanzen aus der Familie der Brassicaceae dar, die als Haupt- und Zwischenfrüchte angebaut werden. Das Ziel der Arbeit bestand darin, zu klären, ob sich Biomasse aus diesen Nutzpflanzen als Co-Substrat für die Biogasgewinnung eignet und welches Potenzial diese dafür in sich birgt. Im Vordergrund stehen dabei die für diese Pflanzenfamilie typischen sekundären Inhaltstoffe (Glucosinolate) bzw. deren Spaltprodukte (Isothiocyanate) und ihre antimikrobielle Wirkung auf die methanbildenden Organismen in einem Biogasfermenter.

Im Rahmen der Arbeit wurden am Standort Groß-Gerau in den Jahren 2009 bis 2012 vier zweifaktorielle Parzellenversuche mit kruziferen Zwischenfrüchten (8 Pflanzenarten, 2 N-Düngungsstufen) bei normaler und verzögerter Aussaatzeit sowie drei Parzellenversuche mit Gemüsekohl (5 Arten, je 2 Sorten) durchgeführt.

Die Zwischenfrüchte wurden nach einer Wachstumszeit von elf Wochen und die Kohlarten nach Abschluss der vegetativen Entwicklung geerntet. Die entnommenen Pflanzenproben wurden gehäckselt, eingefroren und teilweise als Mischproben aus vier Wiederholungen siliert. Diese Proben wurden sowohl für die Isothiocyanat-Analyse als auch für die Batchversuche verwendet. Die Bestimmung der ITC-Gehalte wurde mit Hilfe der GC-MS-Analyse durchgeführt. Das Biogasbildungspotenzial wurde auf der Grundlage der Faser- und Aschegehalte der Proben nach WEIßBACH (2008, 2009 und 2012) berechnet. Die Methan- und Biogaserträge wurden in Batch-Versuchen nach der VDI-RICHTLINIE 4630 (2006) ermittelt. Die Vergärung wurde bei 38 °C über 24 Tage durchgeführt.

Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

In den vier Feldversuchen mit Zwischenfrüchten konnten für die Prüfmerkmale Frischmasse, Trockenmassegehalt und Trockenmasseertrag signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der Stickstoff-Düngungsstufen und den Mittelwerten der acht Arten (bzw. sechzehn Sorten) festgestellt werden.

Die Gehalte der Zwischenfrucht-Arten an Isothiocyanaten (ITC) wurden durch die Art und Dauer der Proben-Lagerung, aber auch durch die Stickstoffverfügbarkeit und Frosteinwirkung während der Vegetationszeit beeinflusst. Die Zwischenfrüchte wiesen je nach Versuch in den gefrorenen Proben einen Gesamt-ITC-Gehalt von 0,0 bis maximal 1243,8 $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$ (2010, Aussaatzeit I, Düngungsstufe I) auf.

Im Kohlversuch (Jahr 2012) lagen die Gesamt-ITC-Gehalte bei 8,5–126,5 $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$. Aufgrund natürlicher Abbauprozesse verringerten sich die ITC-Gehalte in silierten Proben auf annähernd 0,0 $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ TM}$. Geringe ITC-Gehalte wiesen die Wasserrübe ‚Agressa‘ und die Kohlrüben ‚Wilhelmsburger‘ und ‚Helenor‘ auf. Eine lange Lagerungsdauer führte sowohl bei eingefrorenen als auch bei silierten Proben zu einem Abbau von Isothiocyanaten und damit zu einer Reduktion der ITC-Gehalte. Höhere Stickstoff-Gaben und Frosteinwirkung auf die später geernteten Pflanzen bewirkten ebenfalls geringere Gehalte an Isothiocyanaten.

Für gefrorene Zwischenfrüchte wurde ein Biogasbildungspotenzial von 546–664 $\text{L kg}^{-1} \text{ oTM}$ und für silierte Proben von 606–720 $\text{L kg}^{-1} \text{ oTM}_k$ ermittelt. Das Biogaspotenzial der Kohlarten beläuft sich bei gefrorenen Proben auf 639–695 $\text{L kg}^{-1} \text{ oTM}$.

Von den Zwischenfrüchten erreichte die Wasserrübe ‚Agressa‘ (gefroren) mit 812 $\text{L}_n \text{ Biogas kg}^{-1} \text{ oTM}$ die höchsten Gasertrag, während Mais einen Wert von 644 $\text{L}_n \text{ Biogas kg}^{-1} \text{ oTM}$ erzielte. Im Batchversuch mit gefrorenen Kohlarten konnten Biogaserträge von 514–709 $\text{L}_n \text{ kg}^{-1} \text{ oTM}$ gemessen werden, während die entsprechende Maisprobe 588 $\text{L}_n \text{ Biogas kg}^{-1} \text{ oTM}$ produziert hat. Die Biogausausbeute der kruziferen Zwischenfrüchte war somit vergleichbar mit jener der Maisvariante.

Die meisten Arten erreichten das für sie berechnete Methanbildungspotenzial während der Versuche. Es scheint, dass die Isothiocyanate während der Fermentation keine inhibierenden Effekte auf die Gasbildung ausüben. Das Entwicklungsstadium und somit der Rohfasergehalt der Arten spielen hingegen eine entscheidende Rolle. Es wird geschlossen, dass Nutzpflanzen aus der Familie der Brassicaceae das Potenzial für hohe Methan- und Biogaserträge besitzen. Infolge des geringen TM-Gehaltes ist es empfehlenswert, diese Arten in Mischung mit Stroh oder anderen Substraten mit höherem TM-Gehalt zu verwenden.

Summary

The great demand for co-substrates for the fermentation gas production makes it necessary to check the suitability of other useful plants as alternatives to maize (*Zea mays*). The crops of the family of the Brassicaceae which are grown as main crops and catch crops show a potential alternative. The aim of this study was to clarify whether biomass from these crops is suited as a co-substrate for the biogas production and show the potential behind it. Paramount are secondary metabolites (glucosinolates) or their degradation products (isothiocyanates), which are typical for this family of plants. Equally, the antimicrobial effect of this plant products on the methanogenic organisms in biogas plants is in focus.

Within the scope of this study four two-factorial plot trials with catch crops (8 species, 2 N fertilization level) with normal and late sowing, as well as three plot trials with cabbage-species (5 species) were performed in the years 2009–2012 at the field station Groß-Gerau:

The catch crops were harvested after eleven weeks growing and the cabbage species were harvested depending on their species specific stage of maturity. The chopped samples were frozen and partially ensiled as composite samples from four replicates. These samples were used for both the isothiocyanate analysis, as well as for the batch trials. By means of GC-MS analysis the isothiocyanate contents were determined. With the results of the determination of fiber and ash content of the samples, the biogas production potential could be calculated according to Weißbach (2008, 2009 und 2012). In order to capture methane and biogas yield of different samples of the aforementioned field trials, the batch process according to the VDI 4630 (2006) was applied. The fermentation was carried out at 38 ° C for 24 days.

The following results were obtained:

In the four field trial with catch crops significant differences could be ascertained for the test factor fresh mass, dry mass content and dry mass yield in all N-fertilization levels between the middle values of sixteen varieties (or eight species).

The ITC-content of catch crop species of the individual testing plants differ depending on the kind and duration of storage until analysis, as well as by the availability of nitrogen and frost action during the growing season. The catch crops have according on the trial in the frozen samples a total isothiocyanate content of 0.0 to maximal 1243.8 $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DM}$ (2010, sowing time I, fertilisation level I). In the cabbage trial 2012 total isothiocyanate content was found from 8.5–126.5 $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1} \text{ DM}$.

The ensiled samples contain isothiocyanates in traces. Small amounts were only found in the turnip variety 'Agressa' and the swede varieties 'Wilhelmburger' and 'Helenor'. Long storage periods resulted in both frozen and ensiled samples in degradation of isothiocyanates and hence lead to a reduction of the ITC-levels. Furthermore higher nitrogen doses and frost effects on later harvested samples caused lower levels of isothiocyanates.

For frozen catch crops a biogas production potential was calculated with 546–664 L kg⁻¹ oDM, for ensiled 606–720 L kg⁻¹ oDM_k. The biogas potential of cabbage species amounts in frozen samples to 639–695 L kg⁻¹ oDM.

Within the frozen catch crops the turnips variety 'Agressa' with 812 L_n biogas kg⁻¹ oDM reached the highest gas yield while maize produced 644 L_n biogas kg⁻¹ oDM. In the attempt with ensiled samples lower yields were ascertained. In the batch trials with frozen cabbage species biogas yields of 514–709 L_n kg⁻¹ oDM were measured, while the analogue maize sample has produced 588 L_n biogas kg⁻¹ oDM. Therefore the productiveness of the cruciferous species was comparable with that of the used maize samples.

Most species reached their calculated methanogenic potential within the batch tests. It seems that the isothiocyanates during fermentation have no inhibitory effects on the formation of gas. The stage of development and therefore the fiber content of the plant species on the other hand play a crucial role. Generally it can be summarized that crop plants of the family Brassicaceae have the potential for high methane and biogas yields. Due to the low content of dry matter of the cruciferous species it is recommended to use these species as part of a mixture with substrates that hold less water.

Referenzen

- AGEE-STAT, 2014:** "Erneuerbare Energien im Jahr 2013 (vorläufige Daten)."
- AGERBIRK, N., OLSEN, C. E., NIELSEN, J. K., 2001:** "Seasonal variation in leaf glucosinolates and insect resistance in two types of *Barbarea vulgaris* ssp *arcuata*." *Phytochemistry* **58**(1): 91-100.
- AMON, T., AMON, B., KRYVORUCHKO, V., MACHMULLER, A., HOPFNER-SIXT, K., BODIROZA, V., HRBEK, R., FRIEDEL, J., POTSCH, E., WAGENTRISTL, H., SCHREINER, M., ZOLLITSCH, W., 2007a:** "Methane production through anaerobic digestion of various energy crops grown in sustainable crop rotations." *Bioresource Technology* **98**(17): 3204-3212.
- AMON, T., AMON, B., KRYVORUCHKO, V., ZOLLITSCH, W., MAYER, K., GRUBER, L., 2007b:** "Biogas production from maize and dairy cattle manure - Influence of biomass composition on the methane yield." *Agriculture Ecosystems & Environment* **118**(1-4): 173-182.
- AMON, T., KRYVORUCHKO, V., HOPFNER-SIXT, K., AMON, B., RAMUSCH, M., MILOVANOVIC, D., BODIROZA, V., SAPIK, R., ZIMA, J., MACHMÜLLER, A., ZOLLITSCH, W., KNAUS, W., FRIEDEL, J., HRBEK, R., PÖTSCH, E., GRUBER, L., STEINWIDDER, A., PFUNDTNER, E., WAGENTRISTL, H., 2006:** "Optimierung der Methanerzeugung aus Energiepflanzen mit dem Methanenergiewertsystem." *Energiesysteme der Zukunft. Berichte aus Energie- und Umweltforschung* **80**
- AMON, T., MACHMÜLLER, A., KRYVORUCHKO, V., 2007c:** "Optimierung der Methanausbeute aus Zuckerrüben, Silomais, Körnermais, Sonnenblumen, Ackerfutter, Getreide, Wirtschaftsdünger und Rohglyzerin unter den Standortbedingungen der Steiermark." *BMLFUW, Forschungsprojekt Nr. 1421, Endbericht*
- BEEVI, S. S., MANGAMOORI, L. N., DHAND, V., RAMAKRISHNA, D. S., 2009:** "Isothiocyanate profile and selective antibacterial activity of root, stem, and leaf extracts derived from *Raphanus sativus* L." *Foodborne Pathogens and Disease* **6**(1): 129-136.
- BENDING, G. D., LINCOLN, S. D., 2000:** "Inhibition of soil nitrifying bacteria communities and their activities by glucosinolate hydrolysis products." *Soil Biology & Biochemistry* **32**(8-9): 1261-1269.
- BERENDONK, C., 2011:** "Biomasseproduktion mit Zwischenfrüchten, Feldgras und Dauergrünland." *Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen*.
- BEYER, M., JENTSCH, W., CHUDY, A., 2003:** "Rostock feed evaluation system: reference numbers of feed value and requirement on the base of net energy." *Plexus-Verlag*.
- BOHINC, T., KOSIR, I. J., TRDAN, S., 2013:** "Glucosinolates as arsenal for defending *Brassicacae* against cabbage flea beetle (*Phyllotreta* spp.) attack." *Zemdirbyste-Agriculture* **100**(2): 199-204.
- BOREK, V., ELBERSON, L. R., MCCAFFREY, J. P., MORRA, M. J., 1998:** "Toxicity of isothiocyanates produced by glucosinolates in brassicaceae species to black velle weevil eggs." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**(12): 5318-5323.

- BRAUN, R., 2007:** "Anaerobic digestion: a multi-faceted process for energy, environmental management and rural development." *Improvement of Crop Plants for Industrial End Uses*. Ranalli, P., Springer Netherlands: 335-416.
- BRAUN, R., WEILAND, P., WELLINGER, A., 2009:** "Biogas from energy crops digestion. Energy from biogas and landfill gas." *IEA Bioenergy, Energy from biogas and landfill gas*
- BRESSAN, M., RONCATO, M. A., BELLVERT, F., COMTE, G., HAICHAR, F. E., ACHOUAK, W., BERGE, O., 2009:** "Exogenous glucosinolate produced by *Arabidopsis thaliana* has an impact on microbes in the rhizosphere and plant roots." *Isme Journal* **3**(11): 1243-1257.
- BROWN, P. D., MORRA, M. J., 2009:** "Brassicaceae tissues as inhibitors of nitrification in soil." *Journal of agricultural and food chemistry*. **57**(17): 7706.
- BROWN, P. D., MORRA, M. J., MCCAFFREY, J. P., AULD, D. L., WILLIAMS, L., 1991:** "Allelochemicals Produced During Glucosinolate Degradation in Soil." *Journal of Chemical Ecology* **17**(10): 2021-2034.
- BSA, 2001:** "Beschreibende Sortenliste 2001 - Wurzelgemüse, Zwiebelgemüse, Kohlgemüse, Hülsenfrüchte." Bundessortenamt.
- BSA, 2009:** "Beschreibende Sortenliste 2009 - Getreide, Raps, Leguminosen, Zwischenfrüchte." Bundessortenamt, **5**: 107
- BSA, 2011:** "Blatt für Sortenwesen." Bundessortenamt. Amtsblatt des Bundessortenamtes.
- BSA, 2014:** "Beschreibende Sortenliste 2014 - Getreide, Mais, Öl- und Faserpflanzen, Leguminosen, Rüben, Zwischenfrüchte." Bundessortenamt.
- CHEW, F. S., 1988:** "Biological effects of glucosinolates." *Biologically Active Natural Products*, American Chemical Society: 155-181.
- DESTATIS, 2015:** "Feldfrüchte und Grünland - Anbaufläche." Wiesbaden, Statistisches Bundesamt.
- DEUBLEIN, D., STEINHAUSER, A., 2008:** "Biogas from waste and renewable resources. Weinheim." Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KG aA.
- DJATKOV, D., EFFENBERGER, M., LEHNER, A., MARTINOV, M., TESIC, M., GRONAUER, A., 2012:** "New method for assessing the performance of agricultural biogas plants." *Renewable Energy* **40**(1): 104-112.
- FACHVERBAND BIOGAS:** Branchenzahlen - Prognose 2013/2014.
[http://www.biogas.org/edcom/webfvb.nsf/id/DE_Branchenzahlen/\\$file/13-11-11_Biogas%20Branchenzahlen_2013-2014.pdf](http://www.biogas.org/edcom/webfvb.nsf/id/DE_Branchenzahlen/$file/13-11-11_Biogas%20Branchenzahlen_2013-2014.pdf), Fachverband Biogas.
- FAHEY, J. W., STEPHENSON, K. K., 1999:** "Cancer chemoprotective effects of cruciferous vegetables." *Hortscience* **34**(7): 1159-1163.
- FAHEY, J. W., ZALCMANN, A. T., TALALAY, P., 2001:** "The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants." *Phytochemistry* **56**(1): 5-51.

- FENWICK, G. R., HEANEY, R. K., MULLIN, W. J., 1983:** "Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants." *CRC critical reviews in food science and nutrition* **18**(2).
- FRANKE, W., 1997:** "Nutzpflanzenkunde: Nutzbare Gewächse der gemäßigten Breiten, Subtropen und Tropen." Stuttgart, New York, Thieme.
- FRITSCH, W., 2002:** "Mikrobiologie." Heidelberg, Spektrum akademischer Verlag.
- GERENDAS, J., BREUNING, S., STAHL, T., MERSCH-SUNDERMANN, V., MÜHLING, K. H., 2008a:** "Isothiocyanate concentration in kohlrabi (*Brassica oleracea* L. var. *gongylodes*) plants as influenced by sulfur and nitrogen supply." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**(18): 8334-8342.
- GERENDAS, J., PODESTAT, J., STAHL, T., KUBLER, K., BRUCKNER, H., MERSCH-SUNDERMANN, V., MÜHLING, K. H., 2009:** "Interactive Effects of Sulfur and Nitrogen Supply on the Concentration of Sinigrin and Allyl Isothiocyanate in Indian Mustard (*Brassica juncea* L.)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**(9): 3837-3844.
- GERENDAS, J., SAILER, M., FENDRICH, M. L., STAHL, T., MERSCH-SUNDERMANN, V., MÜHLING, K. H., 2008b:** "Influence of sulfur and nitrogen supply on growth, nutrient status and concentration of benzyl-isothiocyanate in cress (*Lepidium sativum* L.)." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **88**(14): 2576-2580.
- GHAWI, S. K., METHVEN, L., RASTALL, R. A., NIRANJAN, K., 2012:** "Thermal and high hydrostatic pressure inactivation of myrosinase from green cabbage: A kinetic study." *Food Chemistry* **131**(4): 1240-1247.
- GIMSING, A. L., KIRKEGAARD, J. A., 2006:** "Glucosinolate and isothiocyanate concentration in soil following incorporation of *Brassica* biofumigants." *Soil Biology and Biochemistry* **38**(8): 2255-2264.
- GUNASEELAN, V. N., 2004:** "Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks." *Biomass and Bioenergy* **26**(4): 389-399.
- HALLER, D., RIMBACH, G., GRUNE, T., 2013:** "Biofunktionalität der Lebensmittelinhaltsstoffe." Springer. Berlin, Heidelberg
- HARAMOTO, E. R., GALLANDT, E. R., 2004:** "*Brassica* cover cropping for weed management: A review." *Renewable Agriculture and Food Systems* **19**(4): 187-198.
- HENNIG, K., VERKERK, R., VAN BOEKEL, M. A. J. S., DEKKER, M., BONNEMA, G., 2014:** "Food science meets plant science: A case study on improved nutritional quality by breeding for glucosinolate retention during food processing." *Trends in Food Science & Technology* **35**(1): 61-68.
- HERRMANN, C., HEIERMANN, M., IDLER, C., 2011:** "Effects of ensiling, silage additives and storage period on methane formation of biogas crops." *Bioresource Technology* **102**(8): 5153-5161.
- IUBMB, 2014:** Enzyme Nomenclature.
<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/EC3/>,
- JEROCH, H., FLACHOWSKY, G., WEIßBACH, F., 1993:** "Futtermittelkunde." Gustav Fischer Verlag.

JUGE, N., MITHEN, R. F., TRAKA, M., 2007: "Molecular basis for chemoprevention by sulforaphane: a comprehensive review." *Cellular and Molecular Life Sciences* **64**(9): 1105-1127.

KALTSCHMITT, M., 2001: "Energie aus Biomasse - Grundlagen, Techniken und Verfahren." Springer Berlin.

KELLY, P. J., BONES, A., ROSSITER, J. T., 1998: "Sub-cellular immunolocalization of the glucosinolate sinigrin in seedlings of *Brassica juncea*." *Planta* **206**(3): 370-377.

KIM, M. G., LEE, H. S., 2009: "Growth-inhibiting activities of phenethyl isothiocyanate and its derivatives against intestinal bacteria." *Journal of Food Science* **74**(8): M467-M471.

KIRKEGAARD, J. A., GARDNER, P. A., ANGUS, J. F., KOETZ, E., 1994: "Effect of *Brassica* break crops on the growth and yield of wheat." *Australian Journal of Agricultural Research* **45**(3): 529-545.

KIRKEGAARD, J. A., SARWAR, M., 1998: "Biofumigation potential of *Brassicaceae* - I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas." *Plant and Soil* **201**(1): 71-89.

KOJIMA, M., OGAWA, K., 1971: "Studies on effects of isothiocyanates and their analogs on microorganisms .1. Effects of isothiocyanates on oxygen-uptake of yeasts." *Journal of Fermentation Technology* **49**(9): 740-&.

KOVATS, E., 1958: "Gas-Chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen .1. Retentionsindices Aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone." *Helvetica Chimica Acta* **41**(7): 1915-1932.

KRAFT, A., 2012: "Wirkung von Isothiocyanaten auf *Clostridium acetobutylicum* und *Methanoculleus bourgensis*." Master-Thesis, Universität Gießen.

KTBL, 2010: "Gasausbeute in landwirtschaftlichen Biogasanlagen." U., R., S., W. Darmstadt, Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e. V. (KTBL). 1.

KÜBLER, K., 2010: "Analyse von Glucosinolaten und Isothiocyanate mittels Flüssigkeitschromatographie- bzw. Gaschromatographie-Massenspektrometrie." Diss., Universität Gießen

LABATUT, R. A., ANGENENT, L. T., SCOTT, N. R., 2011: "Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates." *Bioresource Technology* **102**(3): 2255-2264.

MAHMOOD, A., HONERMEIER, B., 2012: "Chemical composition and methane yield of sorghum cultivars with contrasting row spacing." *Field Crops Research* **128**: 27-33.

MARI, M., IORI, R., LEONI, O., MARCHI, A., 1993: "In vitro activity of glucosinolate-derived isothiocyanates against postharvest fruit pathogens*." *Annals of Applied Biology* **123**(1): 155-164.

MITHEN, R. F., 2001: "Glucosinolates - biochemistry, genetics and biological activity." *Plant Growth Regulation* **34**(1): 91-103.

- MITHEN, R. F., DEKKER, M., VERKERK, R., RABOT, S., JOHNSON, I. T., 2000:** "The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**(7): 967-984.
- MITHEN, R. F., LEWIS, B. G., FENWICK, G. R., 1986:** "Invitro activity of glucosinolates and their products against *Leptosphaeria-Maculans*." *Transactions of the British Mycological Society* **87**: 433-440.
- MITHEN, R. F., RAYBOULD, A. F., GIAMOUSTARIS, A., 1995:** "Divergent selection for secondary metabolites between wild populations of *Brassica-oleracea* and its implications for plant-herbivore interactions." *Heredity* **75**: 472-484.
- MÜLLER, J., 2006:** "Futterkonservierung." *Pflanzliche Erzeugung*. Munzert, M., Frahm, J. München, BLV Buchverlag GmbH co. KG: 865-933.
- N. N., 2013:** ChemIDplus - a toxnet database. Internet, www.nlm.nih.gov/accessibility.html
- PETERSEN, J., BELZ, R., WALKER, F., HURLE, K., 2001:** "Weed suppression by release of isothiocyanates from turnip-rape mulch." *Agronomy Journal* **93**(1): 37-43.
- PIEKARSKA, A., KUSZNIEREWICZ, B., MELLER, M., DZIEDZIUL, K., NAMIESNIK, J., BARTOSZEK, A., 2013:** "Myrosinase activity in different plant samples; optimisation of measurement conditions for spectrophotometric and pH-stat methods." *Industrial Crops and Products* **50**(0): 58-67.
- PROPLANTA, 2014:** "Trockenmasseertrag Winterraps Sommerzwischenfrucht-anbau Molino." www.proplanta.de/Pflanzenbauberater/Sorten/Trockenmasseertrag-2007-Molino-Winterraps-Sommerzwischenfruchtanbau_sks_j_l_954RAW2007_7.html, Stand: 14.03.2014
- RAVEN, P. H., EVERT, R. F., EICHHORN, S. E., 2006:** "Biologie der Pflanzen", de Gruyter.
- REN, 2013:** "Renewables 2013 - Global status report." Paris.
- RICHTER, C., 2010:** "Einfluss von Isothiocyanaten (ITC) auf die Methanbildung von *Methanosarcina barkeri*." Master-Thesis, Universität Gießen.
- RÖBER, R., SCHALLER, K., 1985:** "Handbuch des Erwerbsgärtners." *Pflanzenernährung im Gartenbau*. Stuttgart, Ulmer.
- ROMEIS, B., 1968:** "Mikroskopische Technik." München, Oldenbourg.
- RUMBERGER, A., MARSCHNER, P., 2003:** "2-Phenylethylisothiocyanate concentration and microbial community composition in the rhizosphere of canola." *Soil Biology & Biochemistry* **35**(3): 445-452.
- SARIKAMIS, G., YANMAZ, R., 2011:** "Effects of cultivar and developmental stage on glucosinolates in garden cress (*Lepidium sativum* L.)." *Journal of Medicinal Plants Research* **5**(17): 4388-4392.
- SCHMEIL, O., FITSCHEN, J., SENGHAS, K., SEYBOLD, S., 2003:** "Flora von Deutschland und angrenzender Länder: ein Buch zum Bestimmen der wildsachsenden und häufig kultivierten Gefäßpflanzen." Wiebelsheim, Quelle&Meyer

SERRA, B., ROSA, E., IORI, R., BARILLARI, J., CARDOSO, A., ABREU, C., ROLLIN, P., 2002: "In vitro activity of 2-phenylethyl glucosinolate, and its hydrolysis derivatives on the root-knot nematode *Globodera rostochiensis* (Woll.)." *Scientia Horticulturae* **92**(1): 75-81.

SOLIVA, C. R., AMELCHANKA, S. L., DUVAL, S. M., KREUZER, M., 2011: "Ruminal methane inhibition potential of various pure compounds in comparison with garlic oil as determined with a rumen simulation technique (Rusitec)." *British Journal of Nutrition* **106**(1): 114-122.

SONG, L., THORNALLEY, P. J., 2007: "Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of *Brassica* vegetables." *Food and Chemical Toxicology* **45**(2): 216-224.

SPENCER, G. F., DAXENBICHLER, M. E., 1980: "Gas chromatography-mass spectrometry of nitriles, isothiocyanates and oxazolidinethiones derived from cruciferous glucosinolates." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **31**(4): 359-367.

THALMANN, A., 2006: "Die chemische Untersuchung von Futtermitteln." Thalmann, A. Karlsruhe, VDLUFA. **3**.

VAN EYLEN, D., INDRAWATI, HENDRICKX, M., VAN LOEY, A., 2006: "Temperature and pressure stability of mustard seed (*Sinapis alba* L.) myrosinase." *Food Chemistry* **97**(2): 263-271.

VAUGHN, S. F., PALMQUIST, D. E., DUVAL, S. M., BERHOW, M. A., 2006: "Herbicidal activity of glucosinolate-containing seedmeals." *Weed Science* **54**(4): 743-748.

VDI RICHTLINE 4630, 2006: "Fermentation of organic materials - Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests", VDI-Gesellschaft Energie und Umwelt.

VIJ, A. P., RAMPAL, G., THIND, T. S., ARORA, S., 2009: "Bio-protective effects of glucosinolates - A review." *Lwt-Food Science and Technology* **42**(10): 1561-1572.

WANG, J., GU, H., YU, H., ZHAO, Z., SHENG, X., ZHANG, X., 2012: "Genotypic variation of glucosinolates in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) florets from China." *Food Chemistry* **133**(3): 735-741.

WEIß, K., 2001: "Gärungsverlauf und Gärqualität von Silagen aus nitratarmem Grünfutter." Dissertation, Humboldt Universität zu Berlin.

WEIß, K., KAISER, E., 1995: "Milchsäurebestimmung in Silageextrakten mit Hilfe der HPLC." *Wirtschaftseigene Futter* **41**: 96-80.

WEIßBACH, F., 2008: "Zur Bewertung des Gasbildungspotenzials von nachwachsenden Rohstoffen." *Landtechnik* **63**(6): 356-358a.

WEIßBACH, F., 2009: "Die Bewertung von nachwachsenden Rohstoffen für die Biogasgewinnung. Teil 1: Das Gasbildungspotenzial der fermentierbaren Nährstoffe." *Pflanzenbauwissenschaften* **13**(2): 72-85.

WEIßBACH, F., 2012: "FoTS-Formel für *Brassica* spp.", persönliche Mitteilung

- WEIßBACH, F., KUHLA, S., 1995:** "Stoffverluste bei der Bestimmung des Trockenmassegehaltes von Silagen und Grünfutter: Entstehende Fehler und Möglichkeiten der Korrektur." *Übersicht Tierernährung* **23**: 189-214.
- WILCOX, A. A., CARROLL, W. E., STERLING, R. E., DAVIS, H. A., WARE, A. G., 1966:** "Use of the Berthelot reaction in automated analysis of serum urea nitrogen." *Clinical Chemistry* **12**(3): 151-157.
- XUE, J. P., LENMAN, M., FALK, A., RASK, L., 1992:** "The glucosinolate-degrading enzyme myrosinase in Brassicaceae is encoded by a gene family." *Plant Molecular Biology* **18**(2): 387-398.
- XUE, J. P., PIHLGREN, U., RASK, L., 1993:** "Temporal, cell-specific, and tissue-preferential expression of myrosinase genes during embryo and seedling development in *Sinapis-alba*." *Planta* **191**(1): 95-101.
- ZHANG, Y. S., TALALAY, P., 1994:** "Anticarcinogenic activities of organic isothiocyanates - Chemistry and mechanisms." *Cancer Research* **54**(7): S1976-S1981.
- ZUBR, J., 1986:** "Methanogenic fermentation of fresh and ensiled plant materials." *Biomass* **11**(3): 159-171.

Anhang

Anhang zu Kapitel 3.2:

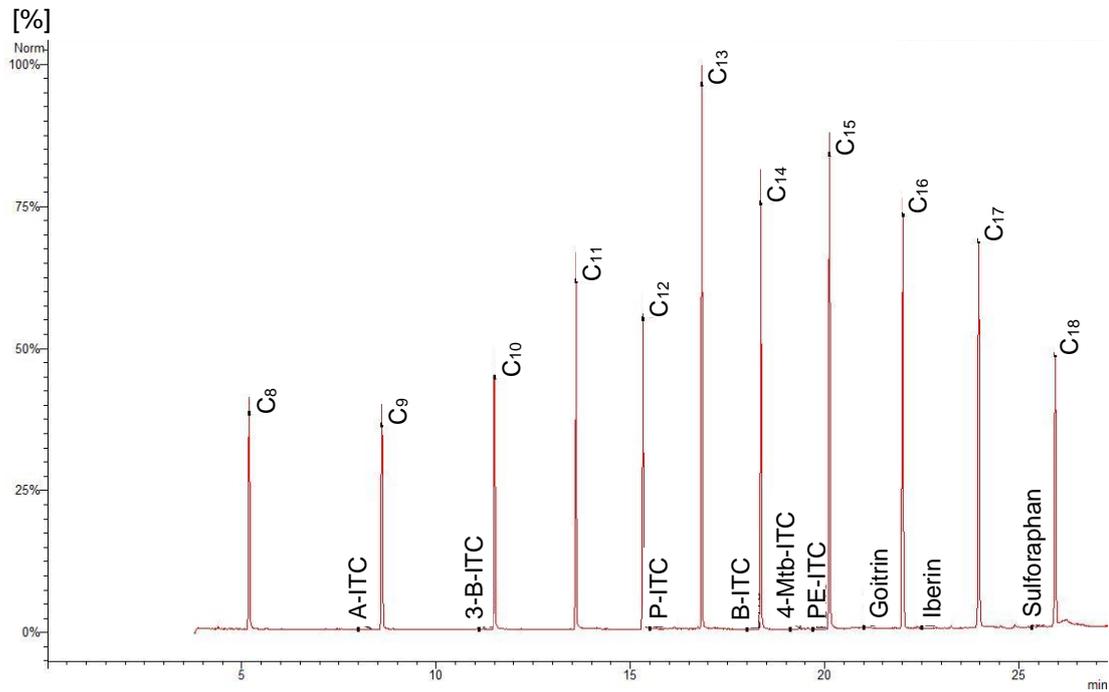


Abb. A.1: Alkanreihe zur Bestimmung des KovÄTS-Indexes

Massenspektren der identifizierten Spaltprodukte:

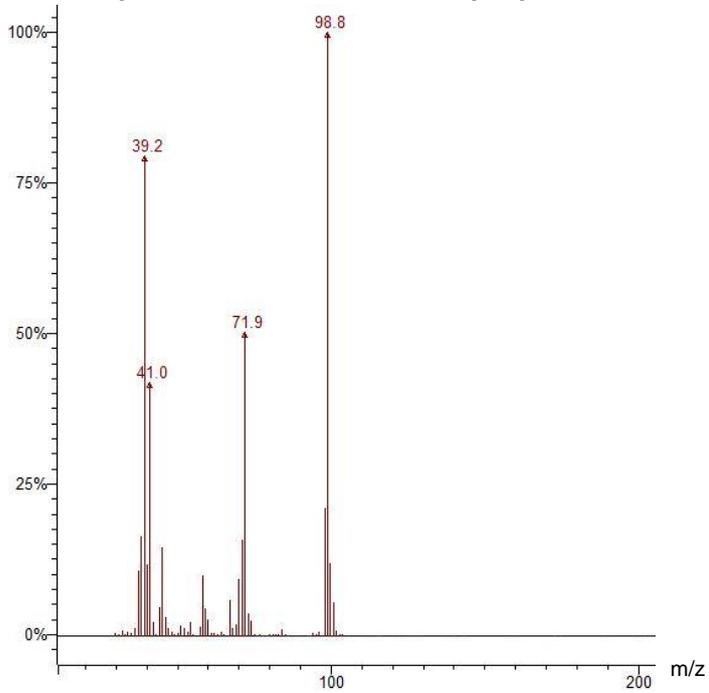


Abb. A.2: Massenspektrum von Allyl-Isothiocyanat (A-ITC)

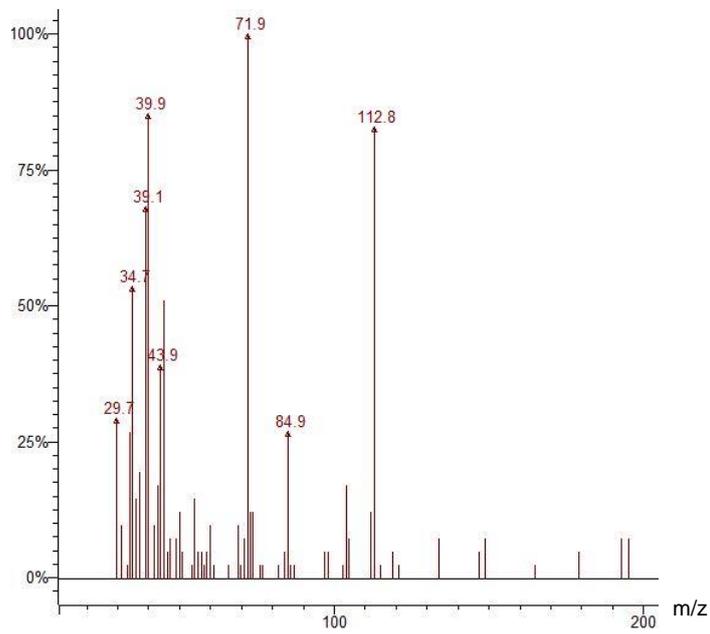


Abb. A.3: Massenspektrum von 3-Butenyl-Isothiocyanat (3-B-ITC)

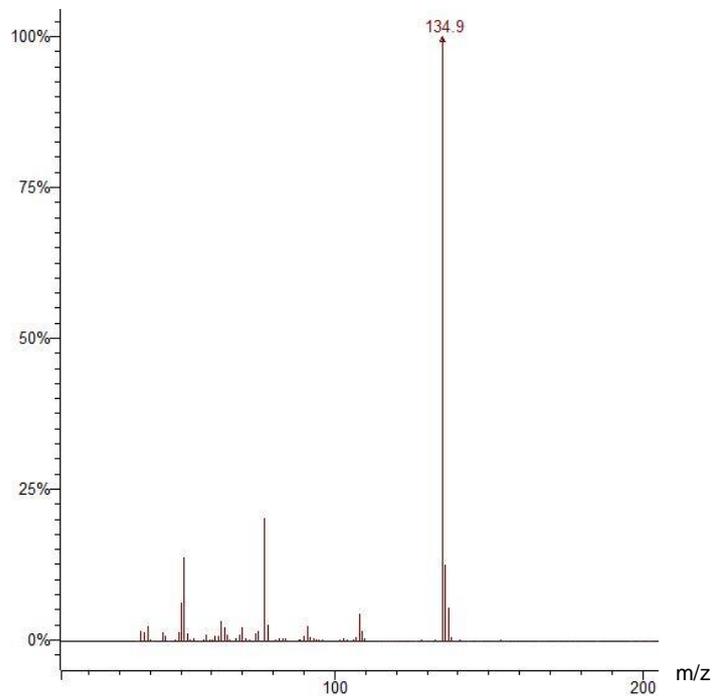


Abb. A.4: Massenspektrum von Phenyl-Isothiocyanat (P-ITC)

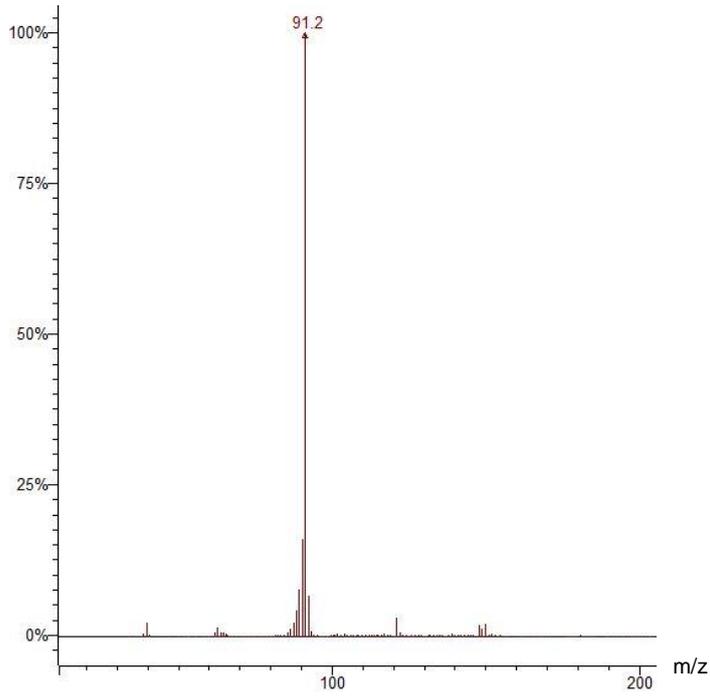


Abb. A.5: Massenspektrum von Benzyl-Isothiocyanat (B-ITC)

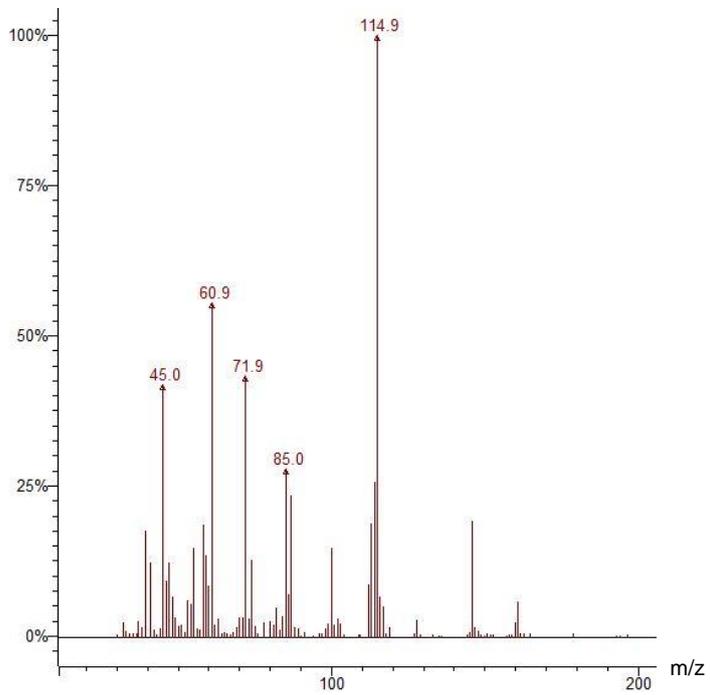


Abb. A.6: Massenspektrum von 4-Methylthiobutyl-Isothiocyanat (4-Mtb-ITC)

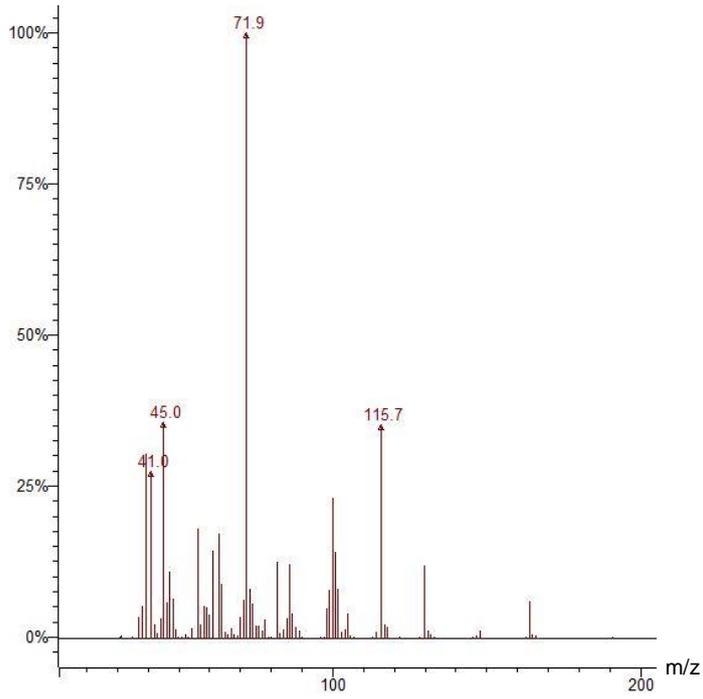


Abb. A.7: Massenspektrum von Iberin

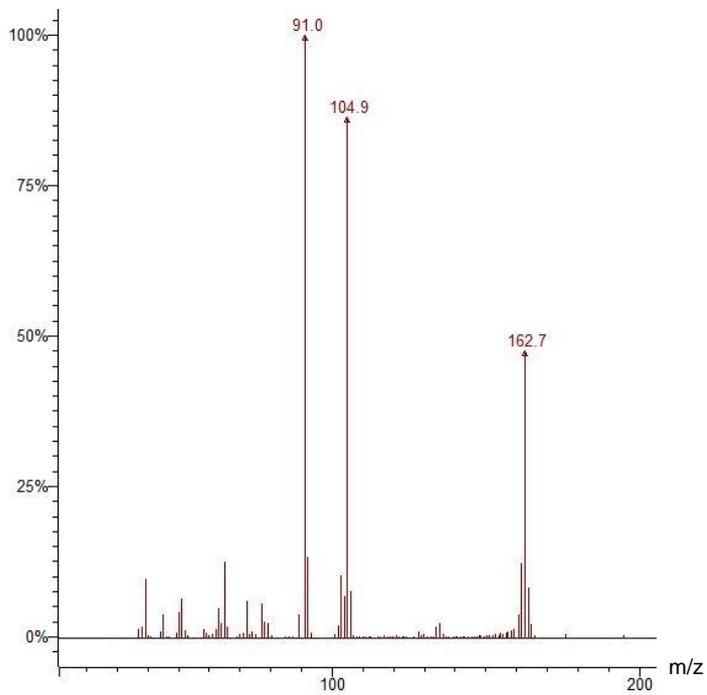


Abb. A.8: Massenspektrum von Phenylethyl-Isothiocyanat (PE-ITC)

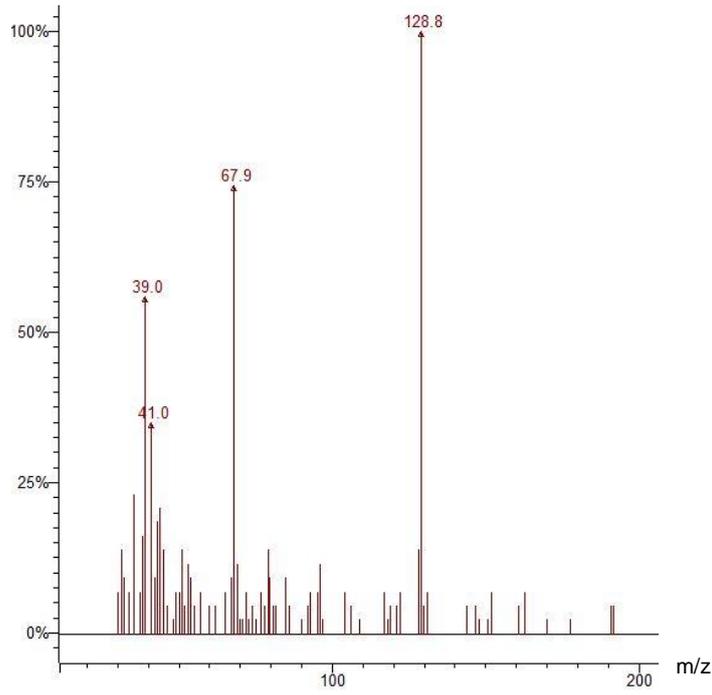


Abb. A.9: Massenspektrum von Goitrin

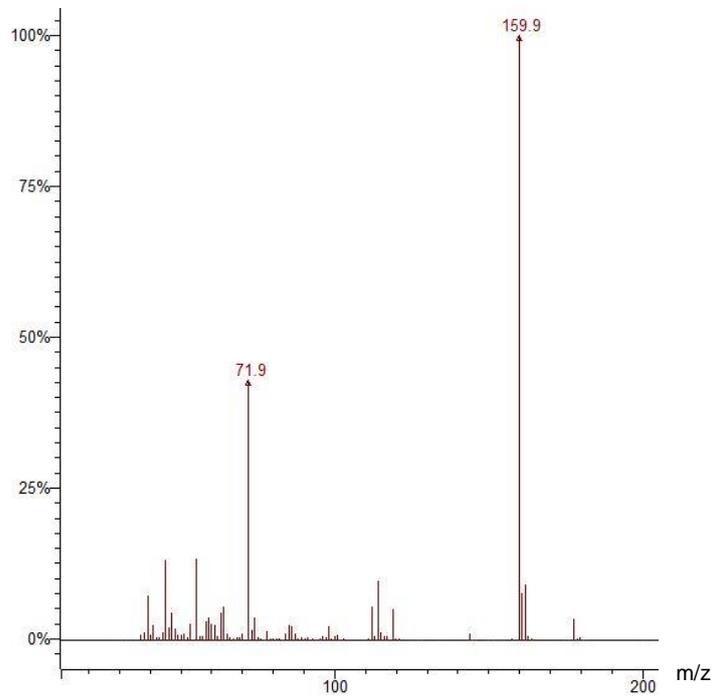


Abb. A.10: Massenspektrum Sulforaphan

Kalibrierfunktionen der identifizierten Spaltprodukte:

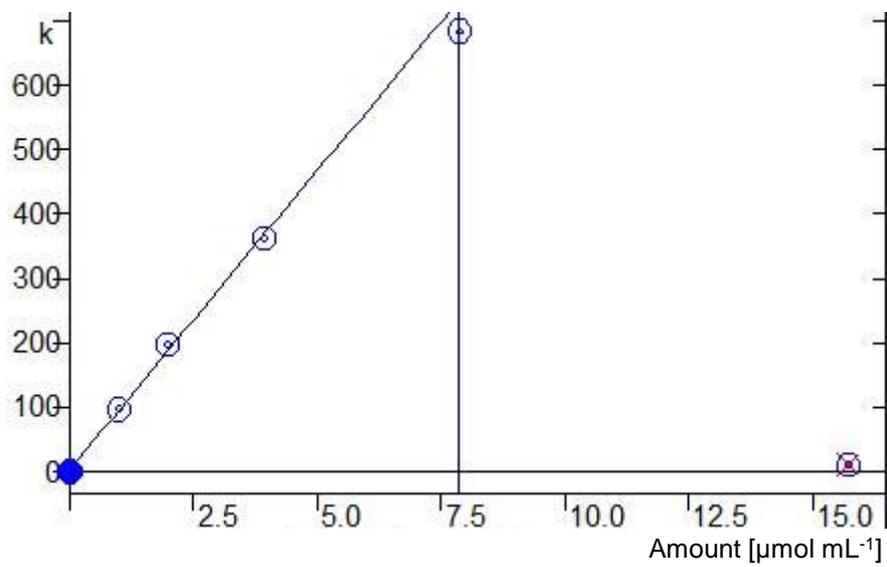


Abb. A.11: Kalibrierfunktion von Allyl-Isothiocyanat (A-ITC)

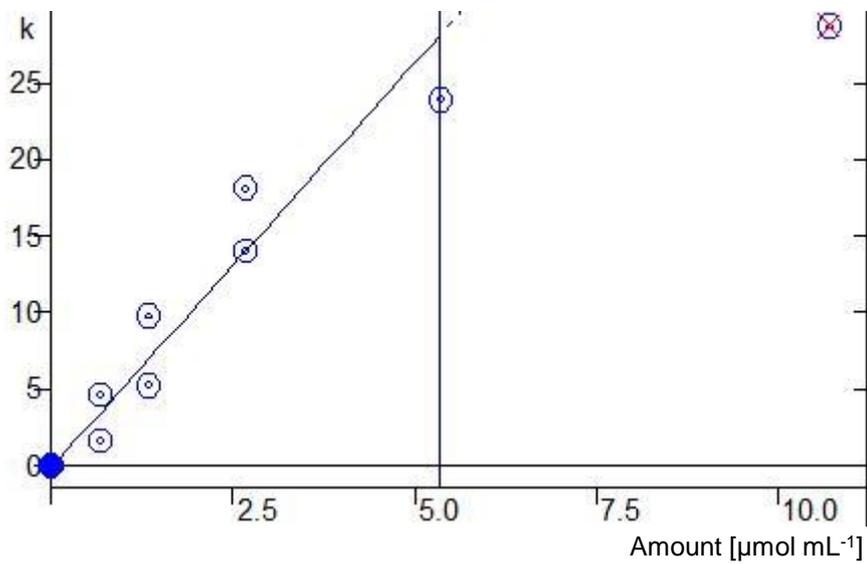


Abb. A.12: Kalibrierfunktion von 3-Butenyl-Isothiocyanat (3-B-ITC)

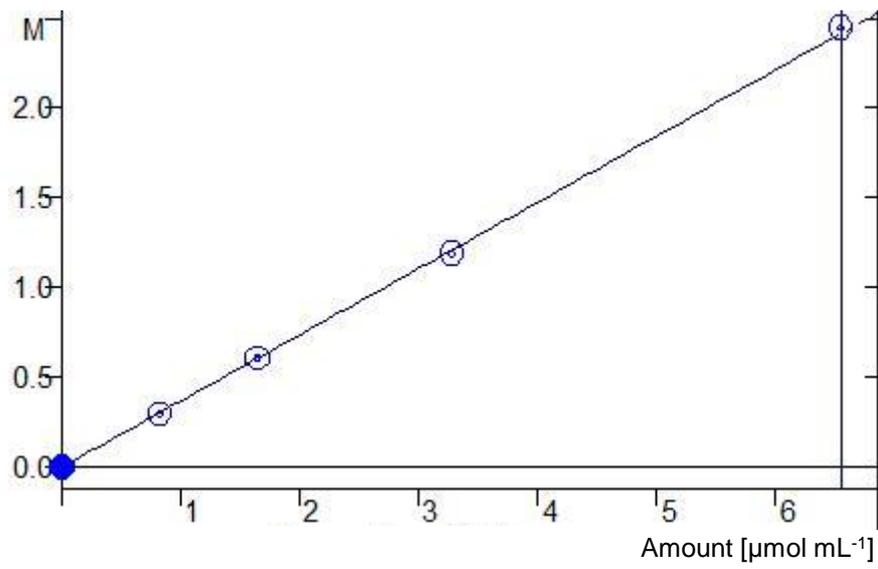


Abb. A.13: Kalibrierfunktion von Phenyl-Isothiocyanat (P-ITC)

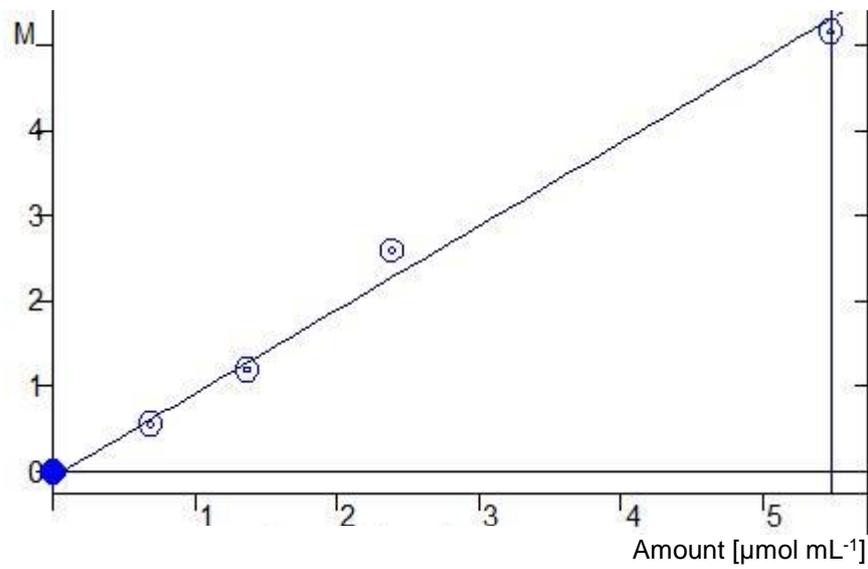


Abb. A.14: Kalibrierfunktion von Benzyl-Isothiocyanat (B-ITC)

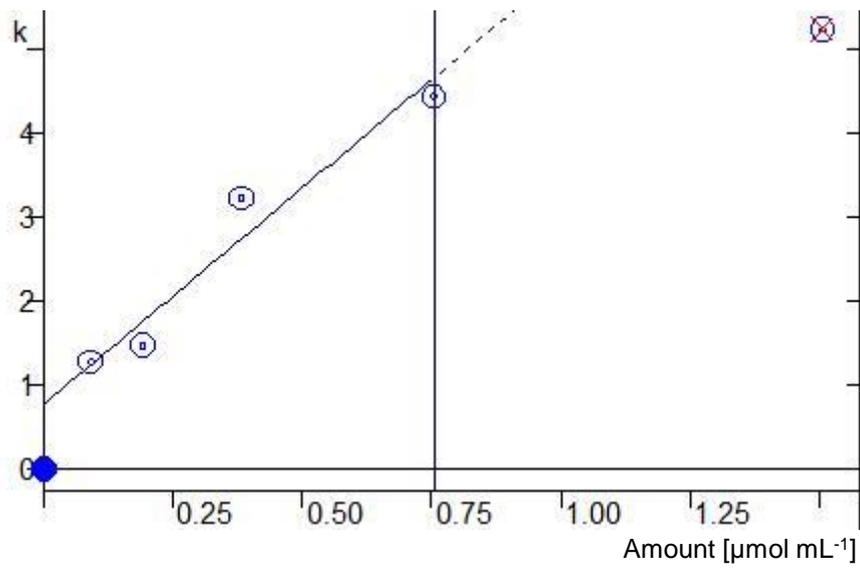


Abb. A.15: Kalibrierfunktion von 4-Methylthiobutyl-Isothiocyanat (4-Mtb-ITC)

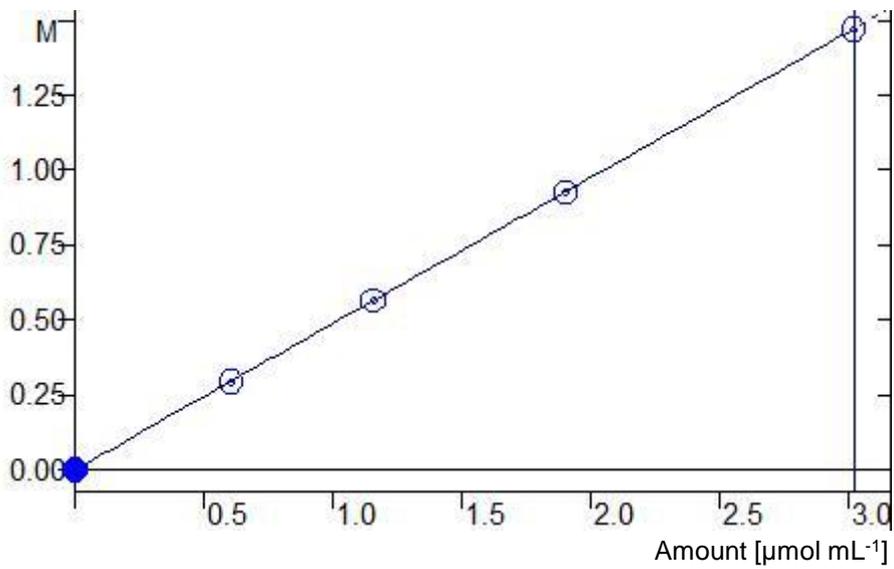


Abb. A.16: Kalibrierfunktion von Phenylethyl-Isothiocyanat (PE-ITC)

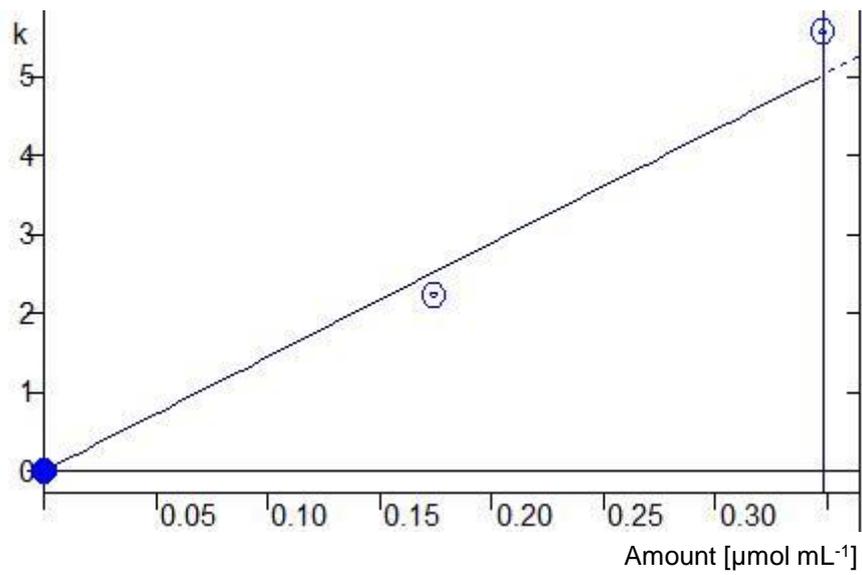


Abb. A.17: Kalibrierfunktion von Goitrin

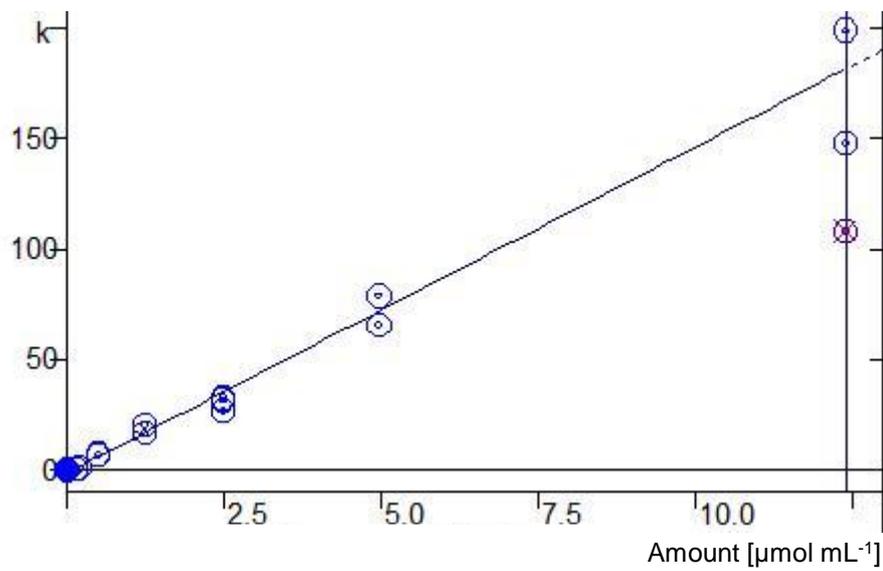


Abb. A.18: Kalibrierfunktion von Iberin

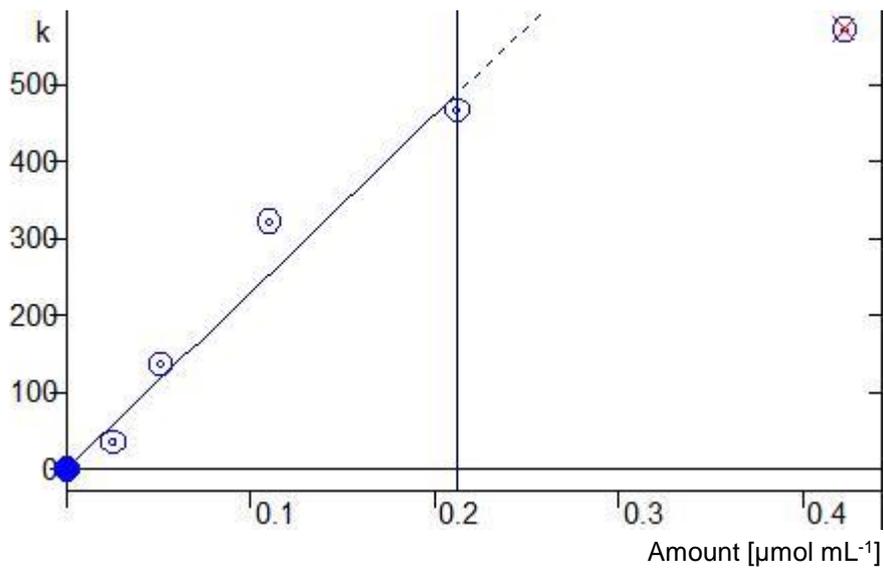


Abb. A.19: Kalibrierfunktion von Sulforaphan

Tab. A.1: Konzentrationen [$\mu\text{mol ml}^{-1}$] der ITC-Standards in den verschiedenen Kalibrationsleveln

Kalibrier-Level	A-ITC	3-B-ITC	P-ITC	B-ITC	4-Mtb-ITC	PE-ITC	Goitrin	Iberin	SFP
1	10,489	7,139	8,729	7,305	1,005	6,433	0,464	8,265	0,282
2	5,245	3,570	4,364	3,653	0,502	2,016	0,232	3,306	0,141
3	2,622	1,785	2,182	1,588	0,255	1,268	0,116	1,653	0,073
4	1,311	0,892	1,095	0,911	0,127	0,772	0,062	0,827	0,034
5	0,656	0,451	0,547	0,456	0,060	0,404	0,031	0,331	0,017
6								0,132	
7								0,099	
8								0,066	

Rt. = Retentionszeit; A-ITC = Allyl-Isothiocyanat; 3-B-ITC = 3-Butenyl-Isothiocyanat; P-ITC = Phenyl-Isothiocyanat; B-ITC = Benzyl-Isothiocyanat; 4Mtb-ITC = 4-Methylthiobutyl-

Anhang zu Kapitel 3.3:

Formel A.1: Korrektur des TM-Gehaltes von Silagen nach WEIßBACH & KUHLA (1995).

$$\text{pH bis 4,0:} \quad TM_k = TM_n + 0,94 \text{ FFS} + 0,08 \text{ MS} + \text{A} + 0,16 \text{ NH}_3$$

$$\text{pH 4,01 bis 4,5:} \quad TM_k = TM_n + 0,80 \text{ FFS} + 0,08 \text{ MS} + \text{A} + 0,32 \text{ NH}_3$$

TM_k = korrigierte Trockenmasse (Gärverluste berücksichtigt)

TM_n = normal bestimmte Trockenmasse

FFS = Freie Fettsäuren

MS = Milchsäure

A = Alkohole

Anhang zu Kapitel 5.2:

Formel A.2: Umrechnung von $\mu\text{mol g}^{-1}$ TM in $\mu\text{mol 100 g}^{-1}$ TM

$$\text{Literaturwert } [\mu\text{mol g}^{-1} \text{ TM}] * 100 = \text{Vergleichswert } [\mu\text{mol 100 g}^{-1} \text{ TM}]$$

Formel A.3: Umrechnung von $\mu\text{g g}^{-1}$ FM in $\mu\text{mol 100 g}^{-1}$ TM bei einer angenommenen TM von 10%.

$$\text{Literaturwert } [\mu\text{g g}^{-1} \text{ FM}] \times \frac{10 * 100}{1000} = \text{Vergleichswert } [\text{mg 100g}^{-1} \text{ TM}]$$

Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei Prof. Bernd Honermeier für die Überlassung des Themas und die stete Unterstützung und die Bereitschaft jede Frage zu beantworten oder zu diskutieren.

Ich bedanke mich bei Prof. Günter Leithold für sein Interesse an meiner Dissertation und die Übernahme des Zweitgutachtens.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei den Mitarbeitern auf den Versuchsstationen für die Mithilfe bei der Durchführung von Versuchen und Analysen verschiedener Art, insbesondere für die viele Handarbeit, die dafür nötig war.

Ebenso bedanke ich mich herzlich für vielseitige Unterstützung durch meine Kollegen im Institut, sei es für Tipps zur Formatierung, Diskussion über wissenschaftliche Fragen, gemeinsame Problemlösung im Labor oder die fortwährende moralische Unterstützung!

Frau Prof. Sylvia Schnell und ihrem Team gilt großer Dank für die Einführung und Begleitung bei der Durchführung von mikrobiologischen Versuchen in Ihrem Institut.

Sehr dankbar bin ich für das Engagement bei der Übernahme von Teilprojekten durch die Studentinnen Claudia Richter, Sonja Feldmann, Anja Risse, Kristin Freitag und Anna Kraft sowie für die große Hilfe von der studentischen Hilfswissenschaftlerin Darja Küpper, die sehr viele Proben für mich aufbereitet hat.

Außerdem bin ich meiner ehemaligen Kollegin Dr. Nadine Engert insbesondere dafür dankbar, dass sie sich mit mir zusammen die Anwendung von SPSS erarbeitet hat und mich immer moralisch unterstützt.

Weiterhin bedanke ich mich bei Dr. Torsten Stahl, Dr. Kerstin Kübler und Dr. Andrea Bosse für die Unterstützung bei der Etablierung der Isothiocyanat-Analyse, Johannes Herrmann für die Beratung zur Statistik, Dr. Kristina Kampmann und Dr. Stephanie Wiegand für den Informationsaustausch zum Thema Biogas und Prof. Friedrich Weißbach für die Überlassung der Formel zur Berechnung des Biogaspotenzials von Kreuzblütlern.

Zum Schluss möchte mich herzlich bei meiner Familie bedanken. Ich bedanke mich bei meinem Mann für seine Geduld und sein Verständnis, bei meinen Töchtern für ihre aufmunternde Fröhlichkeit und meinen Eltern für ihre immerwährende Unterstützung. Abschließend vielen lieben Dank an meine Schwägerin Juliane Siekmann für das stets schnelle und hervorragende Lektorat!

Erklärung

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe.

Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht.

Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Ort, Datum

Bettina Leschhorn
