

Mikrobielle Kontamination als Ursache für Fehlgerüche bei der Lagerung von Holzpellets

Barbara Pöllinger-Zierler² *, Irene Sedlmayer¹, Carina Reinisch², Barbara Siegmund²,
Elisabeth Wopienka¹, Christian Pointner¹, Walter Haslinger¹

* corresponding author barbara.zierler@tugraz.at

¹ BIOENERGY 2020+ GmbH, Inffeldgasse 21b, 8010 Graz, Austria

² Institut für Analytische Chemie und Lebensmittelchemie, TU Graz, Stremayrgasse 9/2, 8010 Graz

Zusammenfassung

Holzpellets haben sich in den letzten Jahren zu einem der wichtigsten biogenen Brennstoffe entwickelt und die Nachfrage steigt stetig. Im Zuge der vermehrten Produktion und Lagerung von Pellets treten auch vermehrt Reklamationen bei Endkundinnen auf, die die sensorische Qualität der Pellets betreffen. Eingelagerte Pellets zeigen unerwünschte und holzuntypische, aber auch unangenehme Gerüche. Die bei EndkundInnen wahrgenommenen Gerüche führen in manchen Fällen sogar zur vollständigen Entleerung von Pelletslagern. Aus diesem Grund wurde das Projekt „SMELL – study on malodorous emissions from wood pellets“ initiiert, das auf die Identifizierung der Ursache unerwünschter Gerüche abzielt. Als ein möglicher Auslöser für unangenehme Gerüche wird die Rohstofflagerung, insbesondere die Kontamination durch Mikroorganismen vermutet.

In dieser Studie wurden daher Späne im Freien und ungeschützt gelagert, um bewusst eine mikrobielle Kontamination zu erzielen. Als Vergleich wurden ausgehend von der gleichen Rohstoffbasis, Späne geschützt unter Dach gelagert, um eine mikrobielle Kontamination zu vermeiden. Beide unterschiedlich gelagerten Spanproben wurden hinsichtlich eines möglichen Wachstums von Mikroorganismen untersucht. Diese Späne wurden in einer Versuchsanlage pelletiert. Die Späne und die daraus produzierten Pellets wurden bezüglich ihrer flüchtigen organischen Verbindungen (VOCs) analysiert. Dabei wurde unter anderem 3-Methylbuttersäure identifiziert. Diese Verbindung weist ein hohes Geruchspotential auf. Die Entstehung dieser Verbindung ist auf die Kontamination mit Mikroorganismen zurückzuführen. Daraus resultiert, dass Mikroorganismen bei ihrem Wachstum auf Holzspänen einen wesentlichen Beitrag zum Fehleroma von Holzpellets liefern.

1. Einleitung

Holzpellets stellen aufgrund ihrer hohen Energiedichte und den ausgezeichnet definierten Qualitäten den vorteilhaftesten biogenen Festbrennstoff dar. Aufgrund der stetigen Nachfrage wurden Produktstandards (ISO 17225-1, 2014) für Europa definiert, die die Qualität des Brennstoffes hinsichtlich seiner Verbrennungseigenschaften wie Wasser- und Aschegehalt, Heizwert oder Dichte sichern. In Österreich wurden im Jahre 1997 425 (<100 kW) und 2013 10.281 Pelletsheizanlagen installiert (Furtner und Haneder, 2014). Die Pelletsproduktion verzeichnete in Österreich von 2005 bis 2013 einen Anstieg von 450 000 t auf 962 000 t pro Jahr (proPellets Austria, 2014). Somit ist eine deutliche Zunahme von Produktion und Nachfrage ersichtlich. Des Weiteren sind erste Regelwerke zur Qualitätssicherung entlang der Pelletsproduktionskette entstanden (ENplus). Trotz dieser Bestrebungen gibt es keine ausreichenden Kontrollwerkzeuge hinsichtlich der entstehenden flüchtigen Verbindungen (VOCs, volatile organic compounds) in Holzpellets.

Diverse Untersuchungen (Svedberg *et al.* 2004; Svedberg *et al.* 2008; Arshadi und Gref, 2005; Arshadi *et al.*, 2009;) zeigten, dass Pellets neben dem toxischen Kohlenmonoxid (CO) auch andere flüchtige Verbindungen wie Hexanal, Pentanal oder Methanol emittieren. Neben der potentiellen Gefahr durch die Bildung und Freisetzung von mitunter hohen Konzentrationen von CO (Kuang *et al.*, 2008; Svedberg *et al.*, 2008) wurde auch eine Bildung von Fehlgerüchen verursacht durch geruchsaktive flüchtige organische Verbindungen beobachtet. Dieser als untypisch wahrgenommener Pelletsgeruch äußert sich zumeist unangenehm für Produzenten beziehungsweise EndkundInnen und wird oft als „lackartig, stechend und unangenehm“ beschrieben (Pöllinger-Zierler *et al.*, 2014). Im Fall von festgestellten Fehlgerüchen müssen oftmals ganze Frachtfuhren entsorgt bzw. Pelletslagerentleerungen bei EndkundInnen durchgeführt werden, was mit großen finanziellen Einbußen sowie einem drohenden Imageverlust der Pelletsindustrie einhergeht (siehe Vorfall Steyregg, Kurier, 2014).

Es konnte gezeigt werden, dass die Genese von Fehlgerüchen in Holzpellets auf unterschiedliche Ursachen zurückzuführen ist (laufendes Projekt SMELL). Es existieren Hinweise, dass eine dieser Ursachen eine mikrobielle Kontamination des Rohstoffs sein kann und damit die Bildung von unerwünschten Sekundärmetaboliten, die im Endprodukt „Pellet“ für Fehlgerüchen sorgen.

2. Methodik

Es wurden Fichtenspäne in zwei Fraktionen geteilt und unterschiedlich gelagert. Eine Fraktion wurde für zwei Wochen im Freien aufbewahrt, um ein Wachstum von Mikroorganismen zu ermöglichen und die Zweite wurde geschützt, unter Dach, gelagert. Nach der unterschiedlichen Lagerung wurden die beiden Spanfraktionen folgend analysiert.

- Analyse der Spanrohstoffe (kontaminiert und nicht kontaminiert) mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) zur Identifizierung der VOCs
- Isolierung und Charakterisierung von Mikroorganismen aus den unterschiedlich gelagerten Rohstoffproben
- Produktion von Pellets aus beiden Spanproben und anschließende Analyse der VOCs über GC-MS

2.1. Analyse der VOCs mittels GC-MS

Die Probenvorbereitung erfolgte mittels Dampfraum Festphasenmikroextraktion und einer 2 cm stable flex SPME-Faser (50/30 µm Divinylbenzen/ Carboxen/ Polydimethylsiloxan). Die Proben wurden randomisiert in Mehrfachbestimmungen analysiert.

Bei der gaschromatographischen Auftrennung wurde eine HP-5-Säule (30 m x 250 µm x 1µm) mit Helium als Trägergas verwendet. Zur Qualitätsüberprüfung der Geräteperformance und zur Berechnung der Retentionsindizes zur Identifizierung der VOCs wurden als externe Standards Standardlösungen aus Gemischen bestehend aus Alkanen, Aldehyden, Alkoholen und Terpenen ebenfalls analysiert.

2.2. Isolierung und Charakterisierung von Mikroorganismen aus den unterschiedlich gelagerten Rohstoffproben

Um Mikroorganismen aus den beiden Spanproben zu isolieren, wurden 0,5 g Späne mit 4,5 mL Peptonwasser geschüttelt und davon ein Aliquot auf unterschiedlichen Nährmedien ausplattiert. Als Medium für das Wachstum von grampositiven aeroben Keimen wurde PCA (plate count agar) herangezogen, als Selektivmedien für Schimmelpilze, Hefen, coliforme Bakterien und Enterobakterien Sabouraud, MacConkey, Columbia Blood und Tryptone Soya Agar mit Natamycin verwendet. Die Kulturen wurden 24 beziehungsweise 30 Stunden bei 30 °C inkubiert.

Die entstandenen Mischpopulationen wurden zur Vereinzelung auf entsprechenden Selektivmedien ausgestrichen und erneut inkubiert. Die daraus resultierenden isolierten Mikroorganismen wurden mittels Gram-Färbung und über ihre Morphologie den taxonomischen Gruppen zugeordnet. Um die Herkunft der einzelnen Verbindungen zu untersuchen, wurden die VOCs, die beim Wachstum der Mikroorganismen auf Nährmedien gebildet werden, ebenfalls mittels GC-MS analysiert.

Weiters erfolgte eine sensorische Charakterisierung der Reinkulturen, um Geruchsbeschreibungen zu den einzelnen isolierten Mikroorganismenstämmen zu erhalten.

2.3 Produktion von Pellets aus den beiden unterschiedlich gelagerten Spänen und Analyse der VOCs über GC-MS

Der angelieferte Rohstoff wurde mit einer Retsch-Schneidmühle der Type SM 100 zerkleinert. Die Schneidmühle wird durch einen 1,5 kW Motor angetrieben. Der Parallelschnitt-Rotor besetzt 3 Messer und rotiert mit 1400 U/min. Für die Vermahlung der beiden Spanproben wurde ein Bodensieb mit 4 mm Maschenweite verwendet.

Für die Pelletierung wurde die Kahl Laborpelletspresse (Type 14-175) eingesetzt. Die Flachmatrizenpresse wird über einen 3 kW starken stufenlos regelbaren Motor angetrieben. Das Aufgabegut wird über eine stufenlos regelbare Hohlkörperschnecke in den Pelletieraum gefördert. Mittels 2 Koller (Durchmesser 150 mm) wird das Aufgabegut in die Flachmatrize gedrückt. Für die Pelletierversuche wurde eine Matrize mit Lochdurchmesser 6 mm, einem Pressverhältnis von 1:3, einer Lochanzahl von 120 und einer freien Lochfläche von 66 cm² eingesetzt.

Die Probenvorbereitung und Analyse mittels GC-MS erfolgte analog zu der Messung der Spanproben (vergleiche Kapitel 2.1).

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Analyse der VOCs mittels GC-MS

Bei der Analyse der beiden Spanproben konnten Verbindungen identifiziert werden, deren Herkunft nach Vergleich mit der Literatur (Risholm-Sundman *et al.*, 1998, Belitz *et al.*, 2007, Eichholzer *et al.*, 2013) auf den Holzspan zurückzuführen war (z.B.: Terpene wie α -Pinen oder β -Pinen). Auffallend war jedoch, dass bei der Gegenüberstellung der kontaminierten mit den nichtkontaminierten Spanproben die mikrobiell verunreinigten Späne eine gesamte

Klasse an Substanzen, die Terpene, deutlich reduziert waren. Der Unterschied wird durch folgende Abbildung ersichtlich.

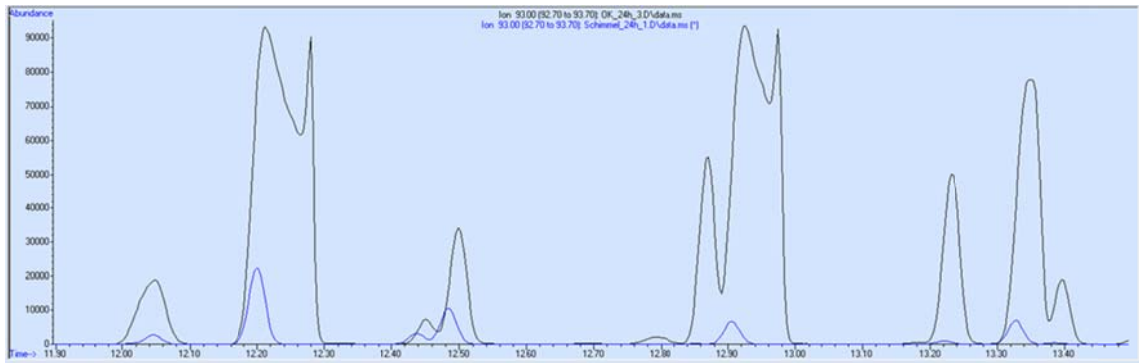


Abb. 1: Vergleich der Terpene der beiden Spanproben mikrobiell kontaminiert (blau) /nicht kontaminiert (schwarz)

Terpene tragen sensorisch wesentlich zum charakteristischen Holzaroma bei. In Kombination mit flüchtigen Sekundärmetaboliten der Mikroorganismen erklärt diese Tatsache die unerwünschten negativen sensorischen Eigenschaften von mikrobiell kontaminierten Spänen.

3.2 Isolierung und Charakterisierung von Mikroorganismen aus den unterschiedlich gelagerten Rohstoffproben

Aus den mikrobiell kontaminierten Spänen ließen sich 15 Reinkulturen isolieren, wovon zehn Stämme sensorisch auffallend waren. Daher wurden diese zehn Kulturen zur weiteren Analyse herangezogen. In Abb.2 werden drei makroskopisch auffallende und unterschiedliche isolierte Reinkulturen dargestellt.



a) b) c)

Abb. 2: Reinkulturen auf Selektivmedien (a) *Enterobacteriaceae*, b) *Aspergillus ss*, c) Coliforme Bakterien)

Aus den geschützt gelagerten Spanproben konnten keine sensorisch auffallenden Mikroorganismen isoliert werden.

In Tabelle 1 ist ersichtlich, zu welchen Gruppen die aus den kontaminierten Spänen isolierten Mikroorganismen zu zählen sind und welche sensorischen Charakteristika sie bei ihrem Wachstum auf Holzspänen aufweisen.

Tabelle 1: Isolierte Mikroorganismen und sensorische Beschreibung

Mikroorganismen	Sensorische Beschreibung des Wachstums auf Holzspänen
<i>Enterobacteriaceae</i>	harzig, stechend, faulig
Enterococccen oder <i>Pseudomonas ssp.</i>	holzig, harzig, Mandarine
Coliforme Bakterien	Lack, zitral, harzig
<i>Bacillus ssp</i>	fruchtig, süßlich
Hefen (<i>Candida ssp</i> etc.)	käsig, schweißig, ranzig
<i>Aspergillus ssp</i>	Schimmel, muffig, stechend

Alle identifizierten Mikroorganismen-Gruppen sind nahezu ubiquitär in der Umwelt vorhanden und somit ist ihr Vorhandensein auf dem im Freien gelagerten Rohstoff nachvollziehbar. Die VOCs, die von den Mikroorganismen bei ihrem Wachstum auf Holz und im Nährmedium gebildet worden sind, wurden mittels GC-MS analysiert und über die Berechnung der Retentionsindizes unter Vergleich mit Werten aus der Datenbank (Pherobase, 2014; Flavornet, 2014) identifiziert.

Tabelle 2: VOCs beim Wachstum von Mikroorganismen auf Holz und ihre sensorische Beschreibung

Verbindung	Sensorische Beschreibung
Hexanal	grün, grasig, Kräuter, blattartig
β -Myrcen	würzig, holzig
Eukalyptol	Minze, süß
Cymol	zitral
1-Undecanol	Mandarine
D-Fenchylalkohol	erdig, muffig, Kampferartig
β -Pinen	holzig, Terpenartig
Kampfer	Kampfer
Dihydrocarvon	Kräuter
Verbenon	Minze, würzig
Carvon	Basilikumblätter Kräuter, Fenchel, würzig
3-Methylbuttersäure	käsig, urinös, stechend
2-Nonanon	käsig, seifig
Dimethyltrisulfid	fruchtig, schwefelig,
2-Methylbutanol	malzig, Zwiebel
α -Pinen	fruchtig, süß, grün, holzig

Tabelle 2 zeigt einen Überblick über identifizierte VOCs, die beim Wachstum von Mikroorganismen auf Holzspänen identifiziert wurden. Es handelt sich dabei um Verbindungen aus den Stoffklassen der Terpene, Säuren und Aldehyde, die teilweise typisch für das charakteristische Holzaroma sind, andererseits aber auch aus dem Stoffwechsel der Mikroorganismen stammen (z.B.: Dimethyltrisulfid, 3-Methylbuttersäure).

3.3. Produktion von Pellets aus den beiden unterschiedlich gelagerten Spänen und Analyse der VOCs über GC-MS

Die produzierten Pellets aus mikrobiell kontaminierten und nicht kontaminierten Spänen wurden mittels GC-MS analysiert.

Die Daten zeigten, dass nach dem Pelletiervorgang deutliche Unterschiede in den VOCs zwischen den Spänen und daraus produzierten Pellets vorhanden sind. Am Beispiel der analysierten Säuren ist zu erkennen, dass in den Pellets aus mikrobiell kontaminiertem Rohstoff deutlich höhere Säurekonzentrationen zu finden sind. Die 3-Methylbuttersäure zeigt einen sehr niedrigen Geruchsschwellenwert von 0,0018 mg/m³; (van Gemert, 2011). Diese Tatsache verdeutlicht, dass diese Säure maßgeblich zum Gesamtaroma beiträgt.

Es konnte nachgewiesen werden, dass Mikroorganismen bei ihrem Wachstum auf Holzspänen Sekundärmetaboliten bilden, die deutlich zum Geruch des Endprodukts Pellets beitragen.

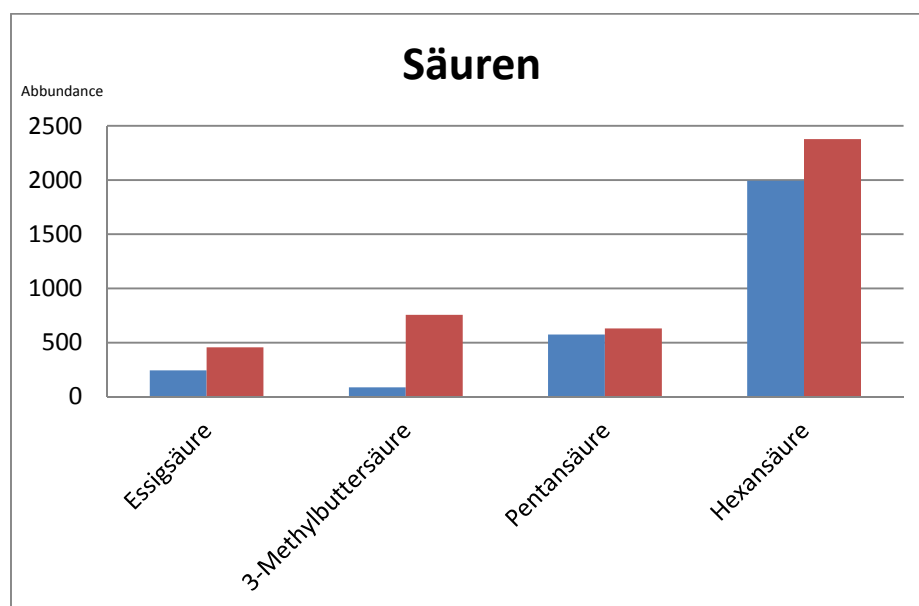


Abb. 3: Vergleich der Flächen der Säuren bei Pellets produziert aus mikrobiell kontaminierten Spänen (rot) und nicht kontaminierten Spänen (blau)

4. Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Lagerung des Rohstoffes einen entscheidenden Einfluss auf die sensorische Qualität des Endproduktes „Pellet“ hat. Existieren im Rohstoff bereits Sekundärmetaboliten von Mikroorganismen, dann findet man diese flüchtigen Verbindungen auch in fertigen Pellets wieder. Es ist davon auszugehen, dass Mikroorganismen durch den Pelletierprozess aufgrund der hohen thermischen und mechanischen Beanspruchung abgetötet werden, allerdings bleiben ihre bereits zuvor gebildeten Metaboliten erhalten. Diese Metaboliten wiederum führen zu Pellets mit unerwünschter sensorischer Qualität.

Acknowledgements

Diese Arbeiten finden im Projekt “SMELL – Study on malodorous emissions from wood pellets” statt, das mit Unterstützung der proPellets Austria und der Förderung der FFG durchgeführt wird.

5. *Literatur*

Arshadi, M. Geladi, P., Gref., Fjaällström, P. 2009. Emission of Volatile Aldehydes and Ketones from Wood Pellets under Controlled Conditions. *Annals of Occupational Hygiene* 8: 797-805.

Arshadi M., Gref, R. 2005. Emission of volatile organic compounds from softwood pellets during storage. *Forest Products Journal* 55: 132-135.

Belitz H.-D., Grosch W., Schieberle P. 2007. *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Springer, Kapitel: Aromastoffe, Seite 346-409.

Eichholzer A., Niedermayer S., Aschacher G. VOC: Flüchtige organische Stoffe. <http://www.proholz.at/zuschnitt/39/voc-fluechtige-organische-stoffe/> (07.10.2014).

Flavornet. 2014. Flavornet and human odor space. www.flavornet.org (20.08.2014)

Furtner, K., Haneder, H. 2014. Biomasse - Heizungserhebung 2013. Landwirtschaftskammer Niederösterreich. St. Pölten. 20 p.

van Gemert, L.J. 2011. Odour Thresholds- Compilations of odour threshold values in air, water and other media. Oliemans Punter & Partners BV. The Netherlands.

Kurier, 2014. Rauchfangkehrer rettete Familie vor CO-Vergiftung. <http://kurier.at/chronik/oberoesterreich/steyregg-rauchfangkehrer-rettete-familie-vor-co-vergiftung/90.164.255> (09.10.2014)

ÖNORM EN 14961-1. 2010. Feste Biobrennstoffe – Brennstoffspezifikationen und –klassen, Teil 1: Allgemeine Anforderungen. Austrian Standards Institute. Wien.

Pöllinger-Zierler B., Emhofer W., Siegmund B., Leitner E., Haslinger W. 2014 Pellets unter der Lupe – Vergleich von Holz- und Nichtholzpellets. Österreichische Lebensmittelchemikertage. Wien.

Pherobase. 2014. The Pherobase – Database of pheromones and semiochemicals. www.pherobase.com. (03.10.2014)

ProPellets Austria, 2012b. Versorgungssicherheit AT: Produktionskapazität, Produktion und Verbrauch. <http://www.propellets.at/de/heizen-mit-pellets/statistik/> (08.10.2014).

Risholm-Sundman M., Lundgren M., Vestin E., Herder P. 1998.: Emissions of acetic acid and other volatile organic compounds from different species of solid wood. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 56:125–129.

Svedberg , U.R.A., Högberg, J., Gallem B. 2004. Emission of Hexanal and Carbon Monoxide from Storage of Wood Pellets, a Potential Occupational and Domestic Health Hazard. *Annals of Occupational Hygiene* 4: 339-349.

Svedberg, U., Samuelsson, J., Melin, S. 2008. Hazardous Off-Gassing of Carbon Monoxide and Oxygen Depletion during Ocean Transportation of Wood Pellets. *Annals of Occupational Hygiene* 4: 259-266.