

Department Systemische Umwelttechnologie
am Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH - UFZ

Stabilisierung fäzeshaltiger Substrate durch Milchsäurefermentation

(Kurztitel: Faekashi)

Abschlussbericht

gefördert unter dem AZ 37541/01

durch die Deutsche Bundesstiftung Umwelt

von

Dipl.-Ing. Tobias Hübner & Dr.-Ing. habil. Lucie Moeller

September 2025

gefördert durch



www.dbu.de



Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Inhaltsverzeichnis | 1 |
| Abbildungsverzeichnis | 4 |
| Tabellenverzeichnis | 6 |
| Abstract | 7 |
| 1. Einleitung | 8 |
| 1.1 Ausgangssituation | 8 |
| 1.2 Zielstellung des Projekts „Faekashi“ | 9 |
| 1.3 Aufgabenstellung..... | 10 |
| 2. Quelle und Immobilisation von Milchsäurebakterien | 11 |
| 2.1 Einleitung | 11 |
| 2.2 Material und Methoden | 13 |
| 2.2.1 Ausgangsmaterialien | 13 |
| 2.2.2 Anzucht von MSB unter Nutzung von Maniok als Substrat | 13 |
| 2.2.3 Immobilisierung der MSB auf Pflanzenkohle | 14 |
| 2.2.4 Einsatz der MSB-Kulturen in der Milchsäurefermentation von Fäzes..... | 15 |
| 2.2.5 Analytik | 15 |
| 2.3 Ergebnisse & Diskussion..... | 16 |
| 2.3.1 Eignung von Maniok zur Anzucht von Milchsäurebakterien..... | 16 |
| 2.3.2 Einfluss der MSB als Starterkultur auf die Milchsäurefermentation von Fäzes..... | 17 |
| 2.4 Fazit..... | 19 |
| 2.4.1 Bewertung der Eignung von Maniok als Substrat für die MSB-Anzucht | 19 |
| 2.4.2 Vergleich der Verwendung einer Reinkultur und indigener Inokula | 19 |
| 2.4.3 Einfluss der MSB-Starterkultur auf die LAF von Fäzes | 19 |
| 2.4.4 Machbarkeit und Anwendbarkeit im Kontext des Forschungsprojekts Faekashi..... | 20 |
| 3. Verfahrenstechnische Untersuchung der LAF menschlicher Fäzes | 21 |
| 3.1 Einleitung | 21 |
| 3.2 Material und Methoden | 22 |
| 3.2.1 Allgemeiner Versuchsaufbau und Versuchsdurchführung..... | 22 |
| 3.2.2 Verwendete Materialien | 23 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.2.3 | Probenahme und Eluatherstellung | 25 |
| 3.2.4 | Analytische Methoden | 25 |
| 3.2.5 | Versuchsaufbauten zur Untersuchung der spezifischen Prozessparameter | 27 |
| 3.2.5.1 | Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse und der Probenahmemethode | 27 |
| 3.2.5.2 | Einfluss der Zugabe einer Kohlenstoffquelle | 27 |
| 3.2.6 | Einfluss der Zugabe eines Inokulums | 28 |
| 3.2.6 | Einfluss der Art der Sammlung der Fäzes | 29 |
| 3.2.7 | Einfluss von Luft-Sauerstoff | 29 |
| 3.2.8 | Einfluss der Zugabe von Hilfsstoffen | 30 |
| 3.2.9 | Einfluss der Zugabe alternativer C-Quellen | 31 |
| 3.2.10 | Einfluss der Temperatur | 32 |
| 3.2.11 | Einfluss der Lagerungsdauer | 33 |
| 3.3 | Ergebnisse & Diskussion | 34 |
| 3.3.1 | Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse und der Probenahmemethode | 34 |
| 3.3.2 | Einfluss der Zugabe einer Kohlenstoffquelle | 36 |
| 3.3.3 | Einfluss der Zugabe eines Inokulums | 39 |
| 3.3.4 | Einfluss der Art der Sammlung der Fäzes | 41 |
| 3.3.5 | Einfluss von Luft-Sauerstoff | 44 |
| 3.3.6 | Einfluss der Zugabe von Hilfsstoffen | 46 |
| 3.3.7 | Einfluss der Zugabe alternativer C-Quellen | 49 |
| 3.3.8 | Einfluss der Temperatur | 54 |
| 3.3.9 | Einfluss der Lagerungsdauer | 57 |
| 3.4 | Fazit | 59 |
| 4 | Pilotversuche in Mathen, Sierra Leone | 61 |
| 4.1 | Einleitung | 61 |
| 4.2 | Material und Methoden | 61 |
| 4.3 | Ergebnisse & Diskussion | 62 |
| 4.4 | Fazit | 64 |

| | | |
|-------|---|----|
| 5 | Untersuchung des Abbaus pharmazeutischer Rückstände durch die LAF..... | 66 |
| 5.1 | Einleitung | 66 |
| 5.1.1 | Theoretische Grundlagen zum Abbau pharmazeutischer Rückstände unter anaeroben bzw. fermentativen Bedingungen..... | 66 |
| 5.1.2 | Zielstellung der Untersuchung | 67 |
| 5.2 | Material und Methoden | 67 |
| 5.2.1 | Probenmaterial und Grundcharakteristika | 67 |
| 5.2.2 | Versuchsaufbau | 67 |
| 5.2.3 | Anreicherung („Spiking“) | 68 |
| 5.2.4 | Fermentationsführung und Monitoring | 68 |
| 5.2.5 | Probenvorbereitung und Extraktion (LSE)..... | 69 |
| 5.2.6 | Quantitative Bestimmung mittels LC–MS/MS | 69 |
| 5.2.7 | Bestimmung der Wiederfindungsraten („Recoveries“)..... | 70 |
| 5.2.8 | Berechnung des Abbaugrads | 70 |
| 5.3 | Ergebnisse & Diskussion..... | 71 |
| 5.3.1 | Fermentationsverlauf und Prozessbedingungen | 71 |
| 5.3.2 | Allgemeines Abbauverhalten der betrachteten Pharmazeutika | 72 |
| 5.3.3 | Abbaugrad der untersuchten Pharmazeutika und Tracer..... | 74 |
| 5.3.4 | Zusammenhang zwischen Fermentationsparametern und Abbau | 75 |
| 5.3.5 | Mechanistische Interpretation | 76 |
| 5.4 | Fazit..... | 77 |
| 6 | Zusammenfassung | 79 |
| 7 | Ausblick..... | 81 |
| 8 | Literaturverzeichnis..... | 82 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Abbildung 1: Schema des avisierten zweistufigen Verfahrenskonzeptes. | 11 |
| Abbildung 2: Versuchsgefäß für die Anzucht von MSB unter Verwendung von Maniok als Substrat (links), verwendete Pflanzenkohle für die Immobilisierung (mittig) und Versuchsgefäß für die Stabilisierung von Fäzes durch Milchsäurefermentation unter Nutzung der hergestellten MSB-Kulturen. | 14 |
| Abbildung 3: Verlauf der MSB-Konzentrationen während der Anzucht unter Verwendung von <i>L. amylovorus</i> (links) und unter Verwendung indigener MSB des Manioks (rechts). | 16 |
| Abbildung 4: Verläufe des pH-Wertes, der MSB- Konzentration, sowie der Milchsäure- und Glucosekonzentrationen während der LAF von Fäzes unter der Zugabe auf Basis von Maniokmehl und Maniokschale kultivierter MSB. | 18 |
| Abbildung 5: Schematischer Versuchsaufbau (links) und Beispielfoto einer Fermentation (rechts)... | 22 |
| Abbildung 6: Schematischer Aufbau der Fermentationsgefäße zur Untersuchung der Sauerstofftoleranz der LAF. | 30 |
| Abbildung 7: Verlauf des pH-Wertes, sowie der Konzentrationen wasserlöslicher Kohlenhydrate, organischer Säuren und Einfachzucker über die Versuchsdauer unter Verwendung verschiedener Fermentationsgefäße (500 mL und 50 mL), sowie unter Anwendung verschiedener Beprobungsmethoden (Mehrfachbeprobung aus selbem Fermentationsgefäß (geöffnet) und Einfachbeprobung (ungeöffnet)). | 35 |
| Abbildung 8: Verlauf des pH-Wertes (links) und der Konzentrationen der Milchsäure und der Zucker (rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe unterschiedlicher Mengen Saccharose. | 36 |
| Abbildung 9: Verlauf des pH-Wertes (oben links) und der Konzentrationen von Milchsäure, Essigsäure und Buttersäure (unten links) sowie Glucose und Fructose (unten rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe von Saccharose und Melasse. | 38 |
| Abbildung 10: Verlauf des pH-Wertes (links) und der Konzentrationen von Milchsäure und Glucose (rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe von 10 bis 30 Ma-% Melasse. | 39 |
| Abbildung 11: Verlauf des pH-Wertes in Abhängigkeit von der Zugabe von jeweils 1 Ma-% und 5 Ma-% effektiver Mikroorganismen (EM) und Brottrunk (BT). | 39 |
| Abbildung 12: Verlauf der Konzentrationen von Milchsäure, Essigsäure und Buttersäure, sowie von Glucose und Fructose in Abhängigkeit von der Zugabe von jeweils 5 Ma-% effektiver Mikroorganismen (EM) und Brottrunk (BT) und ohne Zugabe eines Inokulums. | 40 |
| Abbildung 13: Verlauf des pH-Wertes (oben links) und der Konzentrationen von Milch-, Essig- und Buttersäure, sowie Glucose und Fructose in Abhängigkeit von der Art der verwendeten Fäzes. | 42 |
| Abbildung 14: pH-Werte in Abhängigkeit von der Säurekonzentration zur Bestimmung der Pufferkapazität der verwendeten Fäzes-Proben. | 43 |
| Abbildung 15: pH-Wert (oben links), Konzentrationen von Milchsäure und Buttersäure (unten) und MSB (oben rechts) in Fäzes-Proben mit und ohne Zusatz von Sägespänen in Abhängigkeit von der Luftzufuhr am Anfang des Versuches und nach 15 Versuchstagen. | 45 |
| Abbildung 16: Verlauf des pH-Wertes (links) und der Konzentrationen von Milchsäure (rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe von Pflanzenkohle (5 und 10 %), Gesteinsmehl (10 %) und Bentonit (10 %). | 46 |

| | |
|--|----|
| Abbildung 17: Verlauf des pH-Wertes (links) und der Konzentrationen von Milchsäure (rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe von Ammovit® (2 und 5 %) mit und ohne Zugabe von Melasse. | 47 |
| Abbildung 18: Verlauf des pH-Wertes (links) und der Konzentrationen von Milchsäure (■, □) und Buttersäure (◆, ◇) (rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe von Wasser im Masseverhältnis 1:1. | 48 |
| Abbildung 19: Verlauf des pH-Wertes (oben) und der Konzentrationen von Milchsäure, Glucose und Fructose bei Zugabe von Zuckerrohrmelasse und Melasseschnitzel im Vergleich zu Zuckerrübenmelasse. | 50 |
| Abbildung 20: Verlauf des pH-Wertes (oben) und der Konzentrationen von Milchsäure, Glucose und Fructose bei Zugabe von Mango, Weizenkleie, Maniokmehl und Maniokschalen im Vergleich zu Zuckerrübenmelasse. | 51 |
| Abbildung 21: Verlauf der Konzentrationen von Buttersäure, Valeriansäure und Capronsäure bei Zugabe der getesteten C-Quellen zur LAF. | 52 |
| Abbildung 22: pH-Werte in Abhängigkeit von der Milchsäurekonzentration der Versuchsansätze unter Verwendung der getesteten C-Quellen. | 53 |
| Abbildung 23: Verlauf des pH-Wertes (links) und der E. coli Konzentrationen (rechts) in Abhängigkeit von der Fermentationstemperatur unter Nutzung der Fäzes-Proben FK-05, HA-05 und HA-06. | 55 |
| Abbildung 24: Verlauf des pH-Wertes in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der Fäzes vor der Fermentation. | 57 |
| Abbildung 25: Verlauf des pH-Wertes, der Milchsäure-, Buttersäure-, und Essigsäurekonzentration in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der Fäzes vor der Fermentation. | 58 |
| Abbildung 26: pH-Verläufe der in Mathen, Sierra Leone, durchgeführten Experimente unter Zugabe verschiedener C-Quellen für die LAF. | 63 |
| Abbildung 27: Versuchsaufbau zur Untersuchung des Abbaus pharmazeutischer Rückstände durch die LAF. | 68 |
| Abbildung 28: Verlauf der pH-Werte (oben) und der Milchsäure-Konzentrationen (unten) der Fäzesproben HA-05 (links) und HA-06 (rechts) während der Fermentation zur Untersuchung des Abbaus pharmazeutischer Rückstände. | 71 |
| Abbildung 29: Konzentrationen ausgewählter Pharmazeutika über den Verlauf der LAF (Tetracyclin, Ciprofloxacin, Mycophenolsäure, Clarithromycin, Carbamazepin, Diclofenac, Cetirizin, Glimepirid) 73 | |
| Abbildung 30: Gemessene Konzentrationen ausgewählter Pharmazeutika und Tracer über den Verlauf der LAF (Salicylsäure, Naproxen, Gemifibrozil, Valsartan, Koffein, Acesulfam) | 74 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Tabelle 1: Physikochemische Eigenschaften der verwendeten Fäzes | 24 |
| Tabelle 2: Konzentrationen wasserlöslicher Kohlenhydrate, Glucose und Fructose der verwendeten C-Quellen (C-Quellen bezogen auf die Frischmasse). | 32 |
| Tabelle 3: Mengen der zu den jeweiligen Versuchsansätzen zugegebenen C-Quellen bezogen auf die Fäzesmasse und daraus resultierende Gehalte wasserlöslicher Kohlenhydrate der Ansätze..... | 32 |
| Tabelle 4: Ermittelte Wiederfindungsraten (Recoveries) der untersuchten Pharmazeutika und Tracer | 70 |
| Tabelle 5: Abbaugrade der untersuchten Pharmazeutika und Tracer durch die LAF | 75 |

Abstract

Das Projekt Faekashi verfolgte das Ziel, die Milchsäurefermentation (LAF) menschlicher Fäzes aus Trockentrenn-toiletten als Methode zur hygienischen Stabilisierung, Geruchsminderung und Weiterverwertung zu untersuchen und in der Praxis zu erproben. Ausgangspunkt war die Hypothese, dass die gezielte Förderung des Wachstums von Milchsäurebakterien (MSB) in Fäzes durch Zugabe geeigneter Kohlenstoffquellen eine rasche pH-Absenkung bewirken kann, die pathogene Keime eliminiert und gleichzeitig eine technisch einfache, lokal und gleichzeitig ubiquitär umsetzbare Lösung für die dezentrale Sanitärversorgung darstellt.

Eine Anzucht von Starterkulturen für die LAF ist grundsätzlich praktikabel und gelingt mit einfachen Mitteln. Eine darauffolgende Immobilisierung auf Pflanzenkohle ist technisch unkompliziert. Gleichzeitig ist die LAF allerdings auch ohne Starterkultur stabil, was die Herstellung von Starterkulturen überflüssig macht und eine Anwendung vereinfacht.

Im Labor zeigte die LAF über unterschiedliche Fäzesproben hinweg eine zuverlässige pH-Absenkung und Milchsäurebildung als Voraussetzung für die Hygienisierung. Schlüsselfaktoren sind die ausreichende Bereitstellung leicht verfügbarer Kohlenhydrate, geeignete Prozess- und Umgebungsbedingungen (v. a. 20–30 °C) und eine begrenzte Lagerungsdauer der Fäzes vor Prozessstart. Bei niedrigen Temperaturen (8 °C) wird der Prozess allerdings verzögert. Bei hohem Anfangs-pH und ungünstigen Bedingungen kann es zur Umsetzung von Milchsäure zu Butter-/Essigsäure und damit zu Prozessinstabilität kommen.

Pilotversuche am MATEC (Mathen, Sierra Leone) bestätigten die grundsätzliche Machbarkeit vor Ort. Maniok (Cassava) zeigte Potenzial für die Verwendung als Kohlenhydratquelle für die LAF, wohingegen Zuckerrohr(-saft/-faser) und Molassen ohne geeignete Dosierung keine endgültige pH-Stabilisierung erzielten.

Weiterhin zeigt die Studie erstmals, dass die LAF bestimmte pharmazeutische Wirkstoffe deutlich abbauen kann, z.B. Tetracyclin, Clarithromycin und Ciprofloxacin (um bis zu 80 % in 21 Tagen). Persistente Stoffe wie Carbamazepin oder Valsartan werden dagegen kaum oder gar nicht abgebaut. Der Abbau hängt stark vom pharmazeutischen Wirkstoff, der Fermentationsintensität (pH-Abfall, Milchsäurebildung) und der Fäzesmatrix ab.

Das Projekt adressiert damit zentrale Hürden der dezentralen Sanitärversorgung und liefert eine belastbare Grundlage für eine praxisreife, lokal angepasste LAF-Anwendung.

1. Einleitung

1.1 Ausgangssituation

Die weltweite Sanitärversorgung steht insbesondere in Ländern des globalen Südens vor enormen Herausforderungen. Der Mangel an funktionierenden Entsorgungs- und Hygienisierungssystemen führt vielerorts dazu, dass menschliche Exkremamente – vor allem Fäzes – unsachgemäß in die Umwelt gelangen. Infolgedessen kommt es häufig zur Kontamination von Oberflächengewässern und Grundwasserressourcen, die zugleich oft die einzige verfügbare Trinkwasserquelle darstellen. Die direkte Gesundheitsgefährdung der lokalen Bevölkerung, insbesondere in ländlichen Regionen ohne Infrastruktur, ist erheblich (WHO, 2022).

Vor diesem Hintergrund gewinnen neuartige Sanitärsysteme (NASS) zunehmend an Bedeutung. Ziel dieser Systeme ist die Trennung, Stabilisierung und möglichst stoffliche Nutzung einzelner Abwasserkomponenten. Eine zentrale Rolle spielt hierbei die Trockentrenntoilette, die Urin und Fäzes ohne den Einsatz von Spülwasser separiert. Dadurch entsteht die Möglichkeit, fäzesaltige Substrate gezielt zu behandeln und als Ressource wieder in den Kreislauf zurückzuführen (DWA, 2008).

Trotz existierender technischer Lösungen bestehen noch erhebliche Defizite bei der praktischen Umsetzung, insbesondere bei der Hygienisierung und Zwischenlagerung der Fäzes. Konventionelle Kompostierungsverfahren sind unter tropischen Bedingungen nur schwer kontrollierbar, während anaerobe Fehlgärungen zu starken Geruchsbelästigungen und hygienischen Risiken führen können. In Regionen wie Sierra Leone, in denen offene Defäkation nach wie vor weit verbreitet ist, besteht deshalb ein besonders hoher Bedarf an praktikablen, lokal angepassten Sanitärlösungen (Larsen et al., 2013; von Münch and Winker, 2011).

Ein vielversprechender Ansatz zur Stabilisierung menschlicher Fäzes ist die Milchsäurefermentation (LAF, engl. *lactic acid fermentation*). Sie verhindert unerwünschte mikrobielle Umsetzungsprozesse, unterdrückt Geruchsentwicklung und kann einen signifikanten Beitrag zur Hygienisierung leisten (Factura et al., 2010; Odey et al., 2018; Scheinemann et al., 2015; Yemaneh et al., 2014, 2012). Die Herausforderung besteht darin, diesen biologischen Prozess unter einfachen technischen Bedingungen robust und effizient zu gestalten, insbesondere unter variablen klimatischen und infrastrukturellen Rahmenbedingungen wie sie in den Zielregionen des Projekts vorherrschen.

1.2 Zielstellung des Projekts „Faekashi“

Ziel des Projekts Faekashi ist die Entwicklung eines robusten, anwenderfreundlichen Verfahrens zur Stabilisierung menschlicher Fäzes aus Trockentrenn-toiletten durch LAF. Diese Behandlung soll eine hygienische Zwischenlagerung gewährleisten und die Grundlage für eine Weiterverarbeitung der fäzalen Substrate für eine anschließende bodenbezogene Nutzung ermöglichen. Im Fokus steht dabei insbesondere das Land Sierra Leone. Dieses Land stellt exemplarisch eine Region dar, die ein hohes Anwendungspotenzial aufweist, da hier bisher keine funktionierenden Abwassersysteme vorhanden sind.

Im Rahmen des Projektes Faekashi werden insbesondere die dafür benötigten technischen und organisatorischen Grundlagen untersucht, mit dem Ziel, die Basis für eine anschließende praktische Umsetzung des Konzeptes zu schaffen.

Insgesamt stellt das Projekt damit die Grundlagen zur Verfügung, die eine Entwicklung des Verfahrens für den praktischen Einsatz ermöglichen. Damit leistet das Projekt einen Beitrag zur Verbesserung der sanitären Grundversorgung, zum Gewässerschutz und zur Förderung einer nachhaltigen Kreislaufwirtschaft in ressourcenarmen Regionen.

1.3 Aufgabenstellung

Zur Erfüllung der übergeordneten Zielsetzung wurden im Projektverlauf folgende Teilaufgaben definiert:

- Identifizierung und Untersuchung eines geeigneten Substrats zur Anzucht von Starterkulturen, sowie die Erprobung deren Nutzung für die LAF menschlicher Fäzes (Kapitel 2)
- Untersuchung der Relevanz verschiedener verfahrenstechnischer Einflussfaktoren auf die LAF menschlicher Fäzes, unter anderem die Wahl geeigneter Kohlenhydratquellen, die Zugabe verschiedener Hilfsstoffe, die Fermentationstemperatur, und der Zutritt von Sauerstoff. Außerdem die Untersuchung des Verbleibs pathogener Krankheitserreger zur Bewertung der Hygienisierungsleistung des Behandlungsverfahrens (Kapitel 3).
- Austesten des Verfahrens in praxisnaher Umgebung im Rahmen eines Pilotversuchs an einer Schule in Mathen in Sierra Leone. Untersuchung der technischen Funktion der LAF unter Realbedingungen, sowie die Akzeptanz der Menschen vor Ort gegenüber der praktischen Anwendung des Verfahrens (Kapitel 4).
- Untersuchung des Verbleibs pharmazeutischer Rückstände während der LAF (Kapitel 5).

Das Projekt vereint dabei Grundlagenforschung mit angewandter Technologieentwicklung. Es soll ein signifikanter Beitrag zur Etablierung hygienischer, kreislauforientierter Sanitärlösungen in ressourcenschwachen Regionen geleistet werden, mit besonderem Fokus auf eine lokale Herstellbarkeit, wirtschaftliche Umsetzbarkeit und gesellschaftliche Akzeptanz. Insbesondere der Nachweis der Reduktion potentieller Schadstoffe (Pathogene und Pharmazeutika) stellt eine wichtige Grundlage für eine spätere sichere landwirtschaftliche Nutzung der Endprodukte dar.

2. Quelle und Immobilisation von Milchsäurebakterien

2.1 Einleitung

Ziel des Projekts Faekashi ist die Entwicklung eines Verfahrens zur Behandlung von Fäzes aus Trockentrenntoiletten auf Basis der Milchsäurefermentation (LAF). Das Verfahren soll einfach, robust und lokal umsetzbar sein, und dabei hygienische Sicherheit gewährleisten, Gerüche reduzieren und organische Substanz zur weiteren Verwertung erhalten. Das Verfahren soll modular aufgebaut sein, kostengünstig realisierbar und auch unter einfachen infrastrukturellen Bedingungen einsetzbar.

Ein zentrales Element für den erfolgreichen Ablauf der LAF stellt das Vorhandensein milchsäurebildender Bakterien im zu fermentierenden Substrat dar. Durch die gezielte Zugabe einer Starterkultur aus Milchsäurebakterien (MSB) lässt sich ein zuverlässiger und stabiler Ablauf der LAF gewährleisten.

Die Arbeiten dieses Projektteils widmen sich der Frage, ob ein zweistufiges Verfahren zur Gewinnung und Nutzung von MSB für die LAF von Fäzes geeignet ist. Das Verfahren sieht vor, Milchsäurebakterien zunächst auf einem kohlenhydratreichen Substrat anzuziehen und zu vermehren. Anschließend sollen die so gewonnenen Mikroorganismen auf Pflanzenkohle immobilisiert und schließlich als Starterkultur für die LAF von Fäzes eingesetzt werden (Abbildung 1).

Ziel ist es, die Machbarkeit und Anwendbarkeit dieses Ansatzes zu bewerten, insbesondere im Hinblick auf zentrale Anforderungen des Gesamtprojekts einer einfachen Durchführung, geringerer Kosten, lokaler Verfügbarkeit von Materialien sowie robuster Wirksamkeit unter realistischen Anwendungsbedingungen.

Die dargestellten Arbeiten wurden im Rahmen der Bachelorarbeit von Marie Loidl (Loidl, 2025) durchgeführt.

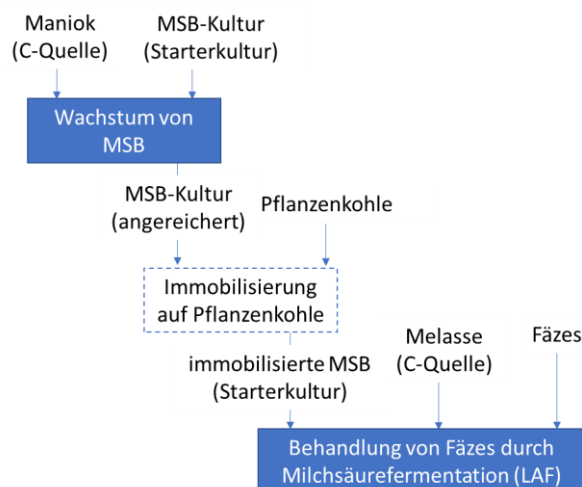


Abbildung 1: Schema des avisierten zweistufigen Verfahrenskonzeptes.

Die LAF ist ein altbekannter Prozess, der seit Jahrhunderten zur Konservierung von Lebensmitteln genutzt wird. Dabei erzeugen MSB durch anaeroben Abbau von Zuckern Milchsäure, die den pH-Wert senkt und das Wachstum unerwünschter Keime hemmt. In der Abfall- und Sanitärbiotechnologie wurde LAF in den letzten Jahren als Option zur Fäkalienstabilisierung identifiziert. Die Wirksamkeit hängt dabei stark von der initialen mikrobiellen Zusammensetzung und der Verfügbarkeit leicht vergärbare Kohlenhydrate ab.

Zur gezielten Steuerung des Prozesses wird häufig auf sogenannte Starterkulturen zurückgegriffen. Dabei handelt es sich um spezifische Mikroorganismen (z. B. *Lactobacillus* spp.), die als dominanter Keim die Fermentation einleiten. In ressourcenarmen Kontexten ist der Einsatz kommerzieller Reinkulturen jedoch problematisch. Daher rückt die Frage in den Fokus, ob einheimische Mikroflora, beispielsweise aus Pflanzen, Umgebung oder bestehenden Fermentationsprozessen, als Ausgangspunkt für die Starterkulturenproduktion genutzt werden kann. Eine entscheidende Rolle spielt dabei das Wachstumsmedium, das als Nährsubstrat für die MSB dient und möglichst lokal verfügbar sowie einfach handhabbar sein muss.

Damit das untersuchte Verfahren einen praktischen Nutzen im Sinne des Faekashi-Projekts erfüllt, müssen mehrere Kriterien eingehalten werden. Die einzelnen Prozessschritte (Anzucht der Milchsäurebakterien, Immobilisierung, Fermentation) müssen so gestaltet sein, dass sie ohne komplexe Infrastruktur, ohne steriles Arbeiten und mit einfachen, lokal beschaffbaren Materialien durchführbar sind. Gleichzeitig soll der Prozess hygienisch wirksam, zeitlich stabil und wirtschaftlich tragfähig sein.

Die hier vorgestellte Arbeit untersucht deshalb exemplarisch, ob sich Maniokmehl, ein weit verbreitetes und stärkehaltiges Lebensmittel, als Nährboden zur MSB-Vermehrung eignet und ob sich die gewonnenen Bakterien als Starterkultur für die LAF von Fäzes verwenden lassen.

2.2 Material und Methoden

2.2.1 Ausgangsmaterialien

Zur Anzucht der MSB wurden Maniokmehl und Maniokschalen als Substrate verwendet. Die Maniokwurzeln wurden auf einem lokalen Markt in Halle (Saale) erworben, das Maniokmehl stammte von einem kommerziellen Anbieter (Biobuddys, Deutschland). Laut Hersteller enthielt das Mehl 88 % Kohlenhydrate (davon 1,2 % Zucker), experimentell wurde ein Stärkegehalt von 90,2 % ermittelt.

Die für die Stabilisierung verwendeten Fäzes stammten aus einer Trockentrenntoilette (TTT) mit fünf regelmäßigen Nutzenden (Bez. FK-05). Die Sammlung erfolgte über sechs Monate; die Lagerung der Probe bis zum Versuchsbeginn erfolgte bei 8 °C. Die Trockensubstanz (TS) betrug 18,8 %, die organische Trockensubstanz 82,1 % der TS. Der Ausgangs-pH-Wert lag bei 7,6, die MSB-Konzentration bei $1,5 \times 10^5$ CFU/g.

2.2.2 Anzucht von MSB unter Nutzung von Maniok als Substrat

Ziel der MSB-Anzuchtversuche war es, zu bewerten, ob die natürlich auf Maniok (Schale und Mehl) vorkommenden MSB für eine ausreichende Anreicherung genügen oder ob der Einsatz eines substratspezifischen Reinstammes erforderlich ist. Hierfür wurden zwei Versuchsansätze durchgeführt:

a) Anzucht mit dem Reinstamm *Lactobacillus amylovorus*

Der Reinstamm *L. amylovorus* (DSM 20531) wurde aus gefriergetrockneter Kultur rehydriert und anschließend in anoxischem MRS-Medium kultiviert. Nach Erreichen einer OD_{600} von $\geq 1,7$ wurde die Kultur zweimal mit Reinstwasser gewaschen und zur Inokulation der Fermentationsansätze verwendet.

Die Fermentation mit dem Reinstamm erfolgte in 250 mL-Gefäßen (Mehrfachbestimmung) mit paralleler Kontrolle (ohne Inokulation), jeweils bei 40 °C unter anaeroben Bedingungen (Stickstoffüberlagerung) im Schüttler (150 rpm) für fünf Tage (Abbildung 2, links). Der pH wurde durch die Verwendung eines 0,3 M Kaliumphosphatpuffers, sowie über die tägliche Zugabe von NaOH reguliert. Die Ansätze bestanden aus einer 0,3 M Kaliumphosphat-Pufferlösung, die folgende weitere Bestandteile enthielt (w/w): Maniokmehl (16 %), Hefeextrakt (1,5 %) und entweder den Reinstamm oder destilliertes Wasser als Kontrolle (jeweils 5 %).

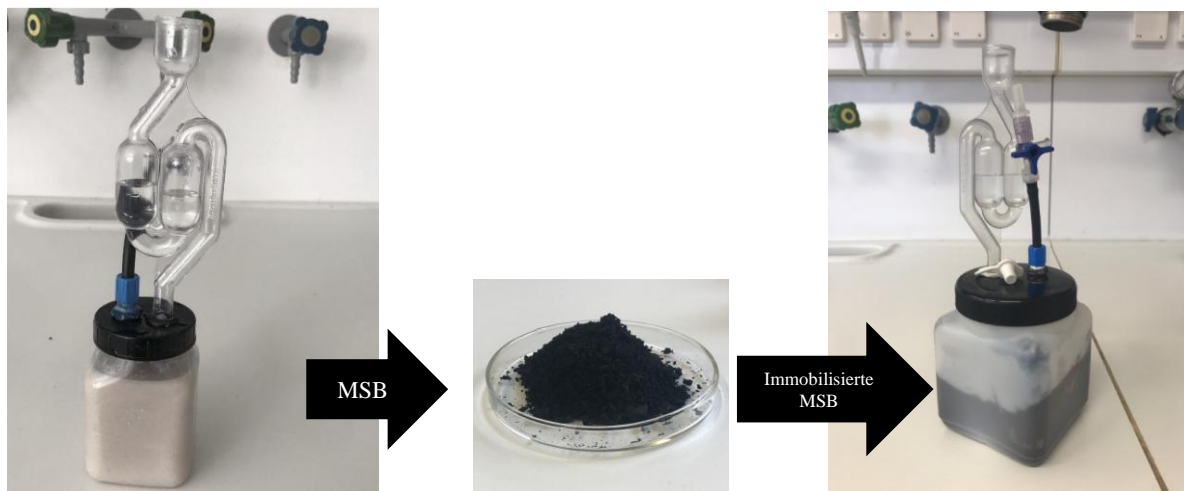


Abbildung 2: Versuchsgesäß für die Anzucht von MSB unter Verwendung von Maniok als Substrat (links), verwendete Pflanzenkohle für die Immobilisierung (mittig) und Versuchsgesäß für die Stabilisierung von Fäzes durch Milchsäurefermentation unter Nutzung der hergestellten MSB-Kulturen.

b) Anzucht mit indigenen Mikroorganismen aus Maniok

In den Vergleichsversuchen wurden ausschließlich natürliche Mikroorganismen aus Maniokmehl und Maniokschale genutzt. Getestet wurden drei Varianten:

- ausschließlich Maniokmehl (35 g Mehl in 150 mL 0,3 M K_3PO_4 -Pufferlösung + 2 g Hefeextrakt),
- ausschließlich Maniokschale (23 g Schale in 150 mL 0,3 M K_3PO_4 -Pufferlösung + 2 g Hefeextrakt),
- Kombination aus beiden (35 g Mehl + 23 g Schale in 150 mL 0,3 M K_3PO_4 -Pufferlösung + 2 g Hefeextrakt).

Die Fermentation erfolgte in 250 mL-Gefäßen bei 30 °C, 130 rpm über zwei Tage unter anaeroben Bedingungen (Stickstoffüberschichtung) (Abbildung 2, links). Der Zusatz externer Reinstämme oder pH-Pufferung erfolgte hier nicht, um ein möglichst einfaches, übertragbares Verfahren zu simulieren.

2.2.3 Immobilisierung der MSB auf Pflanzenkohle

Die fermentierten MSB-Kulturen wurden im Anschluss an die Anzucht auf Pflanzenkohle aufgebracht, um die Mikroorganismen zu immobilisieren. Dafür wurden ausschließlich die MSB-Kulturen verwendet, die dem Maniok (Schale und Mehl) entstammen, nicht jedoch die Kulturen des *L. amylovorus*. Für die Immobilisierung wurden jeweils 5 mL Bakteriensuspension im Verhältnis 1:5 mit 1 g autoklavierter Pflanzenkohle (Fa. Sonnerde, Österreich) gemischt und für 16,5 h bei 30 °C und 130 rpm im Schüttler inkubiert (Abbildung 2, mittig). Die Arbeiten erfolgten dabei unter sterilen Bedingungen. Die resultierende MSB-beladene Pflanzenkohle wurde zur Stabilisierung der Fäzesproben verwendet. Eine gezielte Untersuchung der Immobilisierungsleistung erfolgte nicht.

2.2.4 Einsatz der MSB-Kulturen in der Milchsäurefermentation von Fäzes

Zur Prüfung der Eignung als Starterkultur für die LAF wurden die immobilisierten MSB aus den drei Anzuchtvarianten indigener MSB jeweils einem Fäzesansatz beigemischt. Die Ansätze enthielten neben jeweils 10 % immobilisierten MSB zusätzlich 15 % Zuckerrübenmelasse (w/w) als Kohlenstoffquelle. Außerdem erfolgte eine Kontrolle durch einen Ansatz, der eine äquivalente Menge Pflanzenkohle enthielt, auf der keine MSB immobilisiert wurden.

Alle Ansätze wurden jeweils in Doppelbestimmung durchgeführt. Die Fermentation erfolgte über 21 Tage bei 30 °C in 250 mL-Gefäßen unter anaeroben Bedingungen (Abbildung 2, rechts). Die Probenahme wurde über definierte Zeitpunkte (Tage 0, 3–7 und 17–21) durchgeführt. Da die Proben aus diesem Versuch nicht in flüssiger Phase vorlagen, wurden sie für die weitere Analytik zunächst im Verhältnis 1:10 in deionisiertem Wasser eluiert. Zur Herstellung eines Eluats wurden jeweils 10 g der Probe in ein verschließbares Probengefäß eingewogen und anschließend mit 100 mL deionisiertem Wasser versetzt. Das Gefäß wurde danach für 1 h bei 130 rpm im Schüttler (Fa. Infors) geschüttelt.

2.2.5 Analytik

Zur Bestimmung des pH-Werts wurde eine pH-Elektrode mit Temperaturkompensation (WTW pH 330i pH-Elektrode, SenTix® 41 pH-Meter, USA) verwendet. Die Messung erfolgte direkt in der flüssigen Probe bzw. im Eluat der jeweiligen Probe.

Für die Bestimmung der Milchsäurebakterienkonzentration (MSB-Konzentration) wurde die flüssige Probe bzw. das Eluat der jeweiligen Probe in einer dekadischen Verdünnungsreihe mit steriler 0,9 % NaCl-Lösung bis zur Verdünnungsstufe 10^{-7} seriell verdünnt (jeweils 1 mL in 9 mL). Anschließend wurden jeweils 1 mL der einzelnen Verdünnungen auf Petrifilm® Milchsäurebakterien-Zählplatten (Fa. 3M, USA) pipettiert. Die Platten wurden bei 30 °C für 48 Stunden inkubiert. Danach erfolgte die Auszählung der gebildeten Kolonien. Auf dieser Grundlage wurde die Anzahl der koloniebildenden Einheiten (CFU – „colony forming units“) pro Milliliter bestimmt.

Die Bestimmung der Konzentrationen von Milchsäure, Glucose und Fructose erfolgte mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC SCL-40, Shimadzu, Japan). Für die Bestimmung wurden zunächst 10 mL einer Probe bzw. des Eluat der jeweiligen Probe zentrifugiert (5000 rpm, 10 min) und anschließend filtriert (0,45 µm). Zur Trennung wurde eine Nucleogel® ION 300 OA Vorsäule sowie eine Nucleogel® Sugar 810 H als Hauptsäule verwendet (beide Macherey-Nagel, Deutschland). Als Flussmittel wurde 0,01 N H₂SO₄ bei einer Flussrate von 0,4 mL/min und einem Injektionsvolumen von 10 µL verwendet. Die Trennung erfolgte unter einem Druck von 86 bar, einer Säulentemperatur von 70 °C und einer Detektortemperatur von 40 °C. Die Detektion erfolgte über einen RI-Detektor (RDI-10A, Shimadzu, Japan).

2.3 Ergebnisse & Diskussion

2.3.1 Eignung von Maniok zur Anzucht von Milchsäurebakterien

In den Hauptversuchen zur MSB-Anzucht wurde untersucht, ob sich Maniokmehl und -schale als alleinige Substrate und Inokula für eine effiziente Fermentation eignen. Zum Vergleich wurde auch ein substratspezifischer Reinstamm (*L. amylovorus*) eingesetzt. Dabei zeigte sich, dass sowohl der Reinstamm als auch die indigenen Mikroorganismen in der Lage waren, das Manioksubstrat zu fermentieren und MSB anzureichern.

Anzucht mit Reinstamm

In der Fermentation mit *L. amylovorus* wurde innerhalb der ersten drei Tage ein Wachstum von $2,5 \times 10^7$ auf $1,0 \times 10^9$ CFU/mL festgestellt (Abbildung 3, links). Ab dem vierten Tag sank die Konzentration der MSB jedoch wieder stark ab und die MSB waren ab dem fünften Tag nicht mehr nachweisbar. Parallel dazu stieg die Laktatkonzentration bis zum Ende der Fermentation auf 28.000 mg/L an. Der pH-Wert sank zunächst auf 4,0 und stieg bis zum Ende auf 5,3 an. In der Kontrolle (ohne Reinstamm) wurde ein nahezu gleich starkes Wachstum mit zeitlicher Verzögerung beobachtet.

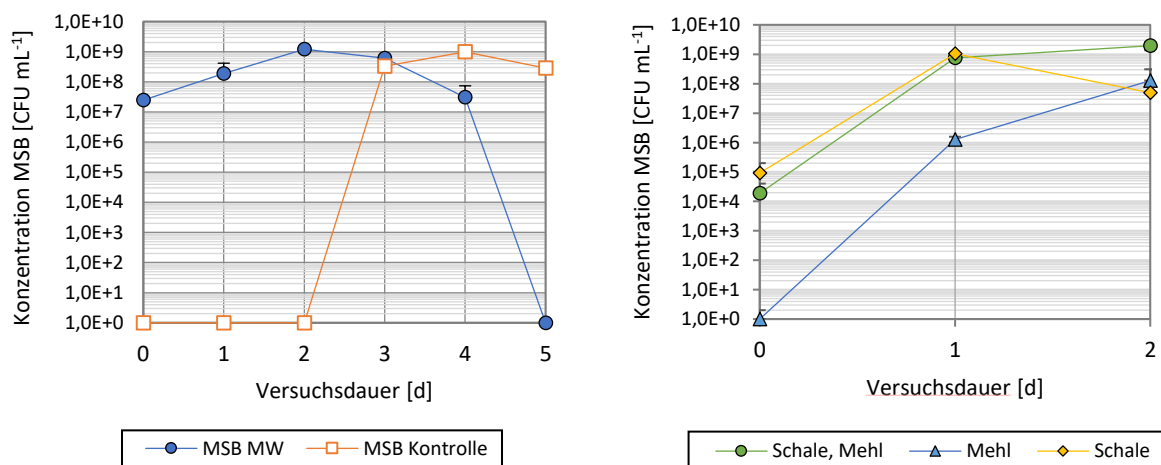


Abbildung 3: Verlauf der MSB-Konzentrationen während der Anzucht unter Verwendung von *L. amylovorus* (links) und unter Verwendung indigener MSB des Manioks (rechts).

Anzucht indigener Mikroorganismen

In den Versuchsvarianten mit Maniokmehl, Maniokschale oder einer Kombination beider (Ansätze „Mehl“, „Schale“ und „Schale, Mehl“) wurde eine Fermentationsdauer von zwei Tagen gewählt, da im vorrangegangenen Versuch ein Absterben der MSB ab Tag 3 beobachtet wurde. Im Ansatz „Schale, Mehl“ stieg die MSB-Konzentration von $2,0 \times 10^4$ auf $2,0 \times 10^9$ CFU/mL, im Ansatz „Mehl“ von nicht detektierbar ($< 3 \times 10^2$ CFU/mL) auf $1,3 \times 10^8$ CFU/mL, und im Ansatz „Schale“ von $9,0 \times 10^4$ auf $1,0 \times 10^9$ CFU/mL (Abbildung 3, rechts). Die pH-Werte blieben in allen Ansätzen weitgehend stabil bei ca. 6,0, mit Ausnahme von „Schale, Mehl“, wo ein Abfall auf 5,0 beobachtet wurde.

Die höchsten Laktatkonzentrationen wurden im Ansatz „Schale, Mehl“ erreicht (ca. 4.000 mg/L), gefolgt von „Schale“ (max. 500 mg/L) und „Mehl“ (800 mg/L). Die Glucose und Fructose wurden in allen Ansätzen nahezu vollständig aufgebraucht, wobei „Schale, Mehl“ die höchsten Ausgangskonzentrationen aufwies.

Bewertung

Trotz der deutlich höheren Anfangskonzentrationen in den Reinstammversuchen ließ sich kein substantiell höherer Fermentationserfolg gegenüber den indigenen Varianten feststellen. Die indigenen Ansätze erzielten vergleichbare Zellzahlen bei geringerem Aufwand, was insbesondere für einfache Anwendungskontexte von Vorteil ist.

2.3.2 Einfluss der MSB als Starterkultur auf die Milchsäurefermentation von Fäzes

Im zweiten Hauptversuch wurde die Wirkung der MSB auf die LAF von Fäzes untersucht. Dabei wurden die fermentierten MSB-Kulturen auf Pflanzenkohle immobilisiert und in fäkale Substrate eingebracht. Alle Fermentationsansätze enthielten zusätzlich 15 % Melasse als Kohlenstoffquelle.

In allen Versuchsansätzen wurde innerhalb der ersten Woche ein deutlicher pH-Abfall beobachtet (Abbildung 4). Die pH-Werte sanken in allen Ansätzen auf 5,0-5,1 und blieben dort stabil. Zeitgleich stieg die Milchsäurekonzentration in allen Varianten stark an, auf 30-41,5 g/L. Die Glucosekonzentrationen sanken in allen Ansätzen innerhalb der ersten Woche stark ab und verblieben bis zum Versuchsende auf niedrigem Niveau (130–230 mg/L).

Die MSB-Zahlen zeigten zu Beginn der LAF sehr starke Unterschiede und lagen zwischen 10^5 CFU/mL (Kontrollansatz) bis zu ca. 10^8 CFU/mL (MSB aus Schale und Mehl). Die Konzentrationen glichen sich dennoch in allen Ansätzen im Verlauf der Fermentation an und lagen zu Versuchsende bei ca. 10^7 CFU/mL.

Bewertung

Alle untersuchten Inokula führten zu einem erfolgreichen Fermentationsverlauf mit signifikanter Milchsäurebildung und pH-Senkung. Ein deutlicher Unterschied zwischen den Ansätzen war im Endeffekt nicht nachweisbar. Die Zugabe externer MSB-Kulturen verstärkte den Prozess nicht maßgeblich im Vergleich zur Kontrolle. Dies deutet darauf hin, dass auch die autochthone Mikrobiota der Fäzes zur LAF fähig ist, die MSB-Zugabe jedoch keinen negativen Einfluss hat.

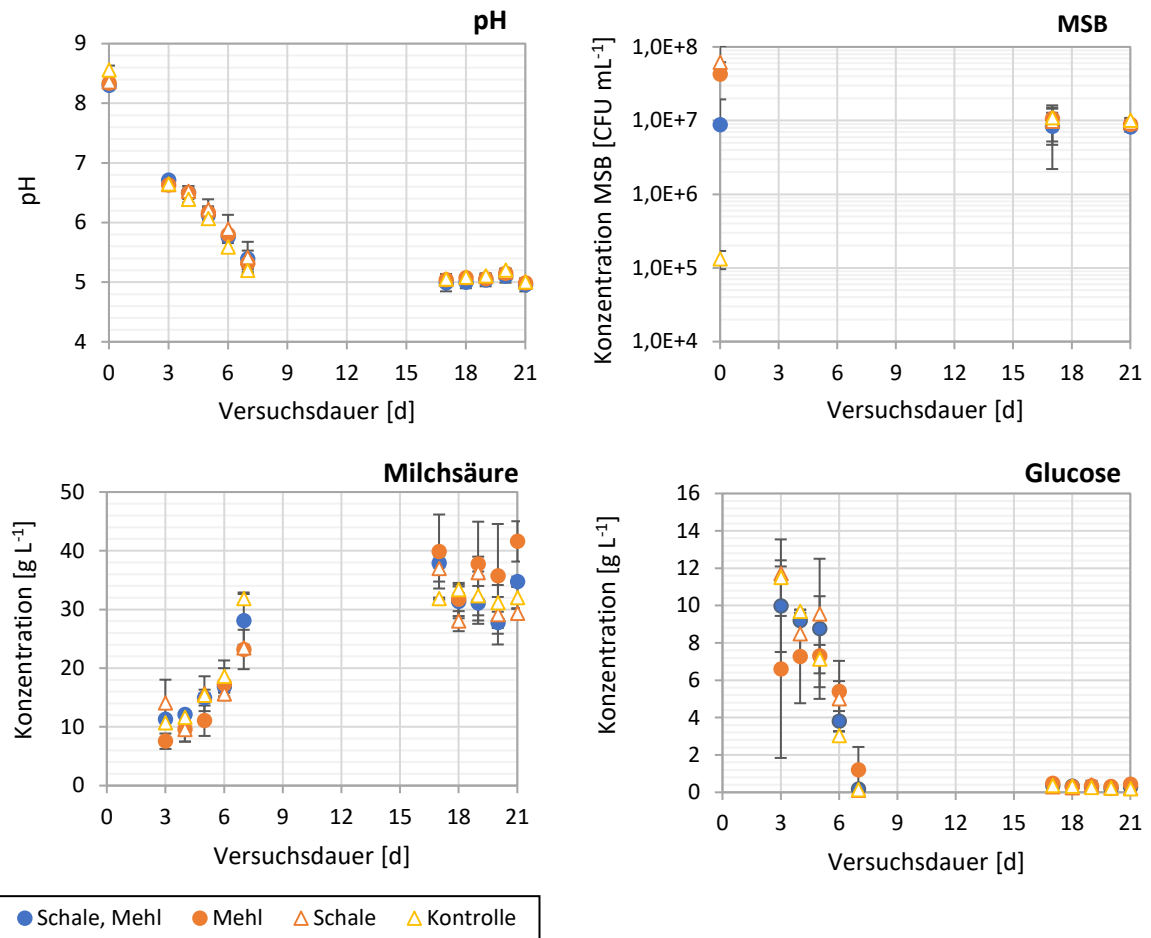


Abbildung 4: Verläufe des pH-Wertes, der MSB- Konzentration, sowie der Milchsäure- und Glucosekonzentrationen während der LAF von Fäzes unter der Zugabe auf Basis von Maniokmehl und Maniokschale kultivierter MSB.

2.4 Fazit

2.4.1 Bewertung der Eignung von Maniok als Substrat für die MSB-Anzucht

Die durchgeführten Versuche bestätigen grundsätzlich die Eignung von Maniok als Substrat zur Anzucht milchsäurebildender Mikroorganismen. Insbesondere die Varianten mit Kombinationen aus Maniokmehl und Maniokschale führten innerhalb von zwei Tagen zu hohen MSB-Konzentrationen (bis 2×10^9 CFU/mL).

Die Kombination von Maniokmehl und Maniokschale erwies sich gegenüber den Einzelvarianten als leicht überlegen, was auf eine vorteilhafte Mischung aus gut zugänglicher Stärke (Mehl) und vielfältiger Mikrobiota (Schale) zurückzuführen ist. Zudem ist die Verwendung beider Komponenten ohne aufwendige Aufbereitung möglich, was der angestrebten Praxistauglichkeit entgegenkommt.

2.4.2 Vergleich der Verwendung einer Reinkultur und indigener Inokula

Der Vergleich des substratspezifischen Reinstammes *L. amylovorus* mit indigenen MSB-Stämmen zeigte, dass keine signifikanten Vorteile gegenüber der Nutzung indigener Mikroorganismen aus Maniok erkennbar waren. Zwar wurde in den Reinkulturansätzen ein rasches Wachstum beobachtet, jedoch waren die MSB-Konzentrationen nur temporär hoch und brachen nach wenigen Tagen deutlich ein.

Die Anzucht mit indigenen Inokula hingegen erreichte vergleichbare MSB-Zellzahlen bei ähnlicher Fermentationsdauer bei gleichzeitig deutlich geringeren technischen Anforderungen. Für eine dezentrale Umsetzung unter einfachen Bedingungen ist dieser Unterschied entscheidend. Die Ergebnisse legen daher nahe, dass keine Reinkultur notwendig ist, sofern frischer Maniok als Ausgangsmaterial zur Verfügung steht. Die Einsparung teurer Kulturen, steriler Medien und Laborausstattung stellt einen klaren Vorteil für Anwendungen in ressourcenarmen Regionen dar.

2.4.3 Einfluss der MSB-Starterkultur auf die LAF von Fäzes

In der zweiten Versuchsreihe wurde geprüft, ob die mit Maniok gezüchteten MSB als Starterkultur für die LAF von Fäzes geeignet sind. Die Ergebnisse zeigen, dass alle Varianten zu einer erfolgreichen Fermentation führten, unabhängig von der Herkunft der MSB. Sowohl pH-Absenkung als auch Milchsäurebildung verliefen in den mit MSB behandelten Ansätzen vergleichbar wie in der unbehandelten Kontrolle.

Bemerkenswert ist, dass auch in der Kontrolle ohne aktive Inokulation eine ausgeprägte Fermentation stattfand. Dies weist darauf hin, dass das autochthone Mikrobiom der Fäzes selbst zur LAF fähig ist, sofern ausreichend leicht vergärbare Kohlenhydrate (hier: Melasse) zur Verfügung stehen. Dies deckt sich einerseits mit den Beobachtungen von Scheinmann und Krüger (2010), die zu ebendieser Schlussfolgerung gekommen sind. Dagegen widerspricht es dem Vorgehen vieler anderer Studien, in denen in der Regel eine LAB-Inokulation vorgenommen wird (Anderson et al., 2015; Factura et al.,

2010; Yemaneh et al., 2014, 2012). Die Rolle einer externen Starterkultur könnte in der Praxis dennoch bedeutsam sein. Sie kann potentiell unter instabilen oder kontaminationsanfälligen Bedingungen als Fermentationshilfe wirken, zur Prozesssicherheit beitragen und die Bildung unerwünschter Nebenmikroflora verhindern.

2.4.4 Machbarkeit und Anwendbarkeit im Kontext des Forschungsprojekts Faekashi

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass das untersuchte Verfahrenskonzept, bestehend aus der Anzucht von MSB auf Maniok, Immobilisierung auf Pflanzenkohle und Einsatz als Starterkultur, grundsätzlich geeignet ist, um die angestrebte Stabilisierung fäkaler Substrate durch LAF zu unterstützen. Die Anzucht von MSB auf Basis von Maniok lässt sich mit einfachen Mitteln durchführen:

- Maniok ist lokal verfügbar und ohne technische Vorbehandlung nutzbar.
- Die MSB-Anzucht erfolgt binnen 48 h in einem einfachen Versuchsaufbau unter Umgebungsbedingungen.

Weiterhin ist die Immobilisierung unter Nutzung von Pflanzenkohle technisch einfach umsetzbar:

- Herstellung von Pflanzenkohle in einfachen Verfahren möglich, unter anderem auch im Kontext einer Anwendung in Sierra Leone.
- Die Immobilisierung auf Pflanzenkohle ist technisch unkompliziert und in einem einfachen Versuchsaufbau durchführbar.

Darüber hinaus verläuft die LAF von Fäzes stabil und effektiv und ist prinzipiell auch ohne den Einsatz einer Starterkultur umsetzbar. Die Anwendung einfach gewinnbarer Starterkulturen oder der vollständige Verzicht auf den Einsatz von Starterkulturen erfüllen die Projektziele hinsichtlich möglichst geringer Kosten, lokaler Materialverfügbarkeit und technologischer Einfachheit. Das Verfahren ist somit skalierbar und potenziell übertragbar auf dezentrale Kontexte, wie sie im Globalen Süden häufig vorliegen.

3. Verfahrenstechnische Untersuchung der LAF menschlicher Fäzes

3.1 Einleitung

Die LAF stellt eine vielversprechende Methode zur hygienischen Stabilisierung fäzeshaltiger Substrate aus Trockentrenn-toiletten dar. Sie bietet insbesondere unter dezentralen, infrastrukturschwachen Bedingungen zahlreiche Vorteile. Die mikrobielle Umsetzung unter Sauerstoffausschluss unterbindet unerwünschte Fäulnisprozesse, reduziert Geruchsemissionen, sorgt für eine effektive Hygienisierung und erhält organische Substanz weitgehend verlustfrei. Damit schafft die LAF die Voraussetzungen für eine anschließende stoffliche Nutzung, beispielsweise in der Terra-Preta-Herstellung oder anderen kompostbasierten Verfahren (Andreev et al., 2016; Factura et al., 2010; Odey et al., 2018; Scheinemann et al., 2015; Scheinemann and Krüger, 2012, 2010; Yemaneh et al., 2014, 2012).

Gleichzeitig ist bekannt, dass der Prozess der LAF gegenüber äußeren Störeinflüssen wie Temperatur- oder pH-Wert-Schwankungen empfindlich reagiert. Dies gilt insbesondere bei der Anwendung auf komplexe Substrate wie menschliche Fäzes, deren Zusammensetzung stark variieren kann. Zudem kann der Luftkontakt während der Lagerung den Fermentationsverlauf maßgeblich beeinflussen (Pandey et al., 2008). Für eine praxisnahe Anwendung der LAF ist daher eine detaillierte verfahrenstechnische Untersuchung der Prozessbedingungen erforderlich.

Das vorliegende Kapitel widmet sich der experimentellen Analyse der LAF unter praxisnahen Bedingungen. Ziel ist es, zentrale Einflussgrößen auf die Fermentation systematisch zu identifizieren und daraus robuste Randbedingungen für eine stabile und hygienisch wirksame Umsetzung abzuleiten. Zu den untersuchten Einflussgrößen zählen die Art und Dosierung der zugegebenen Kohlenstoffquelle, der Einsatz kommerzieller Inokula, die Beschaffenheit der Fäzes sowie Sauerstoffeintrag, Zugabe von Hilfsstoffen, Temperaturbedingungen und Lagerungsdauer.

Die gewonnenen Erkenntnisse sollen dazu beitragen, die LAF in Trockentrenn-toiletten technisch beherrschbar zu machen, die Anwendungsbedingungen zu standardisieren und somit die Grundlage für eine praktische Umsetzung des Verfahrens zu schaffen.

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Allgemeiner Versuchsaufbau und Versuchsdurchführung

Die experimentellen Untersuchungen zur LAF menschlicher Fäzes erfolgten unter kontrollierten Laborbedingungen in einem standardisierten Versuchsaufbau. Die Fermentation erfolgte im Batch-Verfahren. So wurden vor Versuchsbeginn die zu fermentierenden Fäzes mit einem Substrat (Material mit hohem Anteil leicht abbaubaren Kohlenstoffs, z.B. Zucker) und je nach Versuch mit weiteren Hilfsstoffen zu einem Versuchsansatz vermischt, in ein Fermentationsgefäß gefüllt und anschließend für die Fermentation inkubiert. Für die Fermentation wurden luftdicht verschließbare Fermentationsgefäße mit Gährührchenaufsatz verwendet. Dadurch wurde eine anaerobe Umgebung sichergestellt und gleichzeitig der Austritt bei der Fermentation potentiell entstehender Gase ermöglicht. Je nach Versuch kamen zwei verschiedenen Fermentationsgefäße zum Einsatz, entweder 500 mL-Gefäße aus Kunststoff oder 50 mL-Fermentationsgefäße („Falcon Tubes“) (Abbildung 5).

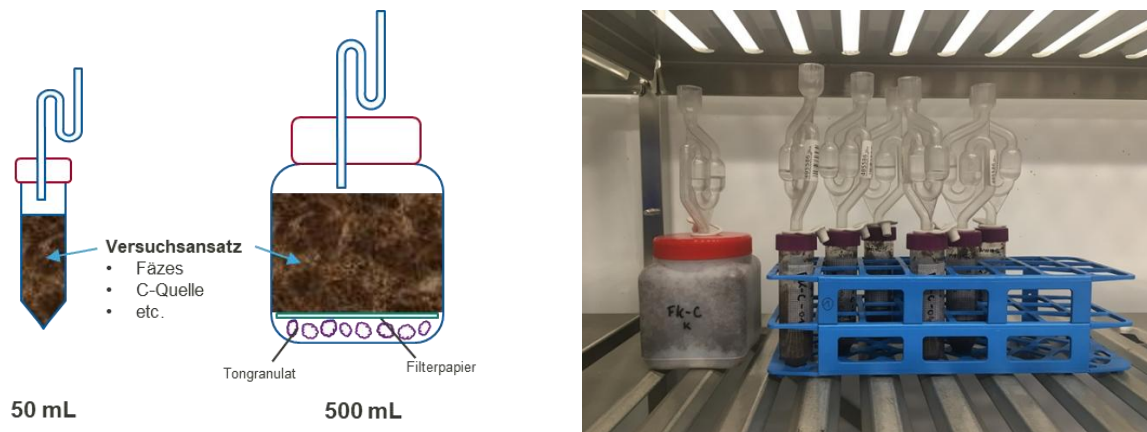


Abbildung 5: Schematischer Versuchsaufbau (links) und Beispielfoto einer Fermentation (rechts).

Die Inkubation der Versuchsansätze erfolgte in einer Wärmekammer bei 30 °C. Die Versuchsdauer variierte je nach untersuchtem Einflussfaktor und lag im Bereich von 14 bis 80 Tagen.

Als Ausgangssubstrat in allen Versuchen dienten Fäzes aus einer TTT (Probenbez. FK-05). Diese Fäzes-Probe enthielt ausschließlich Fäzes ohne Begleitstoffe (Toilettenpapier, Urin, Sägespäne, o.ä.). Die Sammlung der Fäzes erfolgte in einem 60 L Weithalsfass über einen Zeitraum von ca. sechs Monaten in einem Haushalt mit fünf Personen. Im Anschluss an die Sammlung erfolgte die Lagerung der Fäzes bis zu den jeweiligen Versuchen im geschlossenen Deckelfass bei 8 °C.

Zur Verfügungstellung leicht abbaubaren Kohlenstoffs wurde standardmäßig Zuckerrübenmelasse (Fa. Königshofer, Österreich) als Substrat eingesetzt. In Abhängigkeit von der jeweiligen Versuchsanordnung wurde die Menge variiert oder durch alternative Substrate ersetzt. Für die Prozessbeurteilung wurden verschiedene chemische und mikrobiologische Parameter herangezogen (detaillierte Methodenbeschreibung s. Kapitel 3.2.4). Zum Standardumfang gehörten:

- pH-Wert, als unmittelbarer Indikator für den Fermentationsfortschritt,
- organische Säuren, u.a. Milchsäure, Essigsäure und Buttersäure, als Indikator für den Fermentationsfortschritt und zur Beurteilung der Stabilität des Prozessverlaufs (u.a. zur Feststellung von Fehlgärungen),
- Glucose und Fructose, als Maß für die Verfügbarkeit abbaubarer Einfachzucker.

Ergänzend wurden in ausgewählten Versuchen weitere Parameter analysiert, darunter:

- *E. coli* als Indikator für die Hygienisierung,
- Konzentration der Milchsäurebakterien, zur Kontrolle der mikrobiellen Verfügbarkeit,
- wasserlösliche Kohlenhydrate nach DuBois et al. (1956), als Maß für die potentielle Verfügbarkeit als C-Quelle.

Der beschriebene Versuchsaufbau diente als Standardversuchsaufbau für alle durchgeführten Versuche. Je nach untersuchtem Prozessparameter wurden die entsprechenden Versuchsbedingungen angepasst, z.B. Variation der Temperatur, Einsatz alternativer C-Quellen, etc. Die genauen Versuchsbedingungen sind in Kapitel 3.2.5 beschrieben.

3.2.2 Verwendete Materialien

Die physikochemischen Eigenschaften der verwendeten Fäzes sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Bereitstellung der Fäzes erfolgte durch Holzapfel + Konsorten KG (Weimar, Deutschland) und durch Ökologus GmbH (Leipzig, Deutschland).

Tabelle 1: Physikochemische Eigenschaften der verwendeten Fäzes

| Probenr. | Einheit | FK-05 | FK-Ö-1 | FK-Ö-2 | FK-Ö-3 | HA-02 | HA-03 | HA-04 | HA-05 | HA-06 |
|---|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------|-----------|-----------|---------------------|---------------------|
| Begleitstoffe | | keine | Sägespäne | Sägespäne, Urin | Urin | keine | keine | keine | keine | keine |
| Bereitgestellt durch | | Holzapfel | Ökococcus | Ökococcus | Ökococcus | Holzapfel | Holzapfel | Holzapfel | Holzapfel | Holzapfel |
| Trockensubstanz (TS) | [%] | 18,8 ± 0,4 | 21,8 ± 0,2 | 7,8 ± 0,1 | 13,7 ± 0,1 | 13,4 | 25,5 | 21,3 | 19,9 ± 0,4 | 14,7 ± 0,9 |
| Org. Trockensubstanz (oTS) | [% _{TS}] | 82,1 ± 0,1 | 91,9 | 92,4 | 89,7 | 90,8 | 87,5 | 86 | 86,6 ± 1,1 | 84,1 ± 7,6 |
| pH* | [-] | 7,61 ± 0,13 | 8,07 ± 0,08 | 7,58 ± 0,03 | 6,63 ± 0,01 | - | - | - | 6,59 ± 0,01 | 6,84 ± 0,04 |
| Elektrische Leitfähigkeit* | [mS cm ⁻¹] | 3,52 ± 0,33 | 2,85 ± 0,09 | 1,79 ± 0,01 | 3,18 ± 0,04 | - | - | - | 2,47 ± 0,11 | 2,84 ± 0,16 |
| Milchsäurebakterien (MSB) | [CFU g _{Fäzes} ⁻¹] | 1,5x10 ⁵ | 4,0x10 ⁶ | 7,3x10 ⁴ | 1,1x10 ⁸ | - | - | - | 1,1x10 ⁸ | 1,4x10 ⁶ |
| Gelöster Kohlenstoff (DOC) | [w/w-%] | 1,75 ± 0,22 | 0,43 ± 0,06 | 0,17 ± 0,03 | 0,99 ± 0,17 | 0,54 | 0,57 | 1,78 | 0,84 ± 0,11 | 1,18 ± 0,01 |
| Gesamt-Stickstoff (TN) | [w/w-%] | 0,52 ± 0,06 | 0,33 ± 0,03 | 0,18 ± 0,03 | 0,38 ± 0,06 | 0,31 | 0,25 | 0,50 | 0,51 ± 0,03 | 0,52 ± 0,00 |
| Ammonium-Stickstoff (NH ₄ ⁺ -N) | [w/w-%] | 0,38 ± 0,03 | 0,25 ± 0,02 | 0,14 ± 0,03 | 0,25 ± 0,04 | 0,02 | 0,01 | 0,04 | 0,37 ± 0,00 | 0,38 ± 0,00 |
| Glucose | [w/w-%] | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 |
| Fructose | [w/w-%] | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 |
| Milchsäure | [w/w-%] | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | 0,15 ± 0,01 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 | < 0,05 |
| Essigsäure | [w/w-%] | 1,00 | 0,28 ± 0,03 | 0,20 ± 0,03 | 0,41 ± 0,07 | 0,03 | 0,06 | 0,66 | 0,53 ± 0,03 | 0,52 ± 0,01 |
| Propionsäure | [w/w-%] | 0,27 | 0,06 ± 0,01 | 0,04 ± 0,01 | 0,33 ± 0,06 | 0,02 | 0,02 | 0,29 | 0,27 ± 0,02 | 0,22 ± 0,01 |
| Buttersäure | [w/w-%] | 1,08 | 0,04 ± 0,00 | 0,04 ± 0,00 | 0,30 ± 0,06 | 0,04 | 0,04 | 0,54 | 0,26 ± 0,01 | 0,34 ± 0,01 |

* bestimmt im Eluat (1:10)

3.2.3 Probenahme und Eluatherstellung

Zur Überprüfung und Beurteilung des Prozessverlaufs erfolgte während jedes Fermentationsversuchs eine regelmäßige Probenahme aus den Fermentationsgefäßen. Die Probenahme erfolgte je nach untersuchtem Prozessparameter und Fermentationsphase in verschiedenen Zeitabständen, i.d.R. alle 3 bis 28 Tage.

Für die Probenahme wurde das zu beprobende Fermentationsgefäß aus dem Inkubator entnommen, geöffnet und der Inhalt mit einem sauberen Löffel verrührt. Im Anschluss wurde mit dem Löffel eine Probe von 2 g (50 mL Fermentationsgefäß) bzw. 10 g (500 mL Fermentationsgefäß) entnommen. Die Gefäße wurden im Anschluss wieder luftdicht verschlossen und zurück in den Inkubator gestellt.

Von einer relevanten Beeinflussung des Prozessverlaufs durch den Zutritt von Luftsauerstoff während der Probenahme wurde nicht ausgegangen (siehe Kapitel 3.3.5).

Zur Ermöglichung der weiteren Analysen wurden die Proben in ein Eluat überführt. Hierfür wurde die jeweilige Probe im Masseverhältnis 1:10 mit deionisiertem Wasser vermischt und im Anschluss für 1 h bei 120 rpm bei 22 ± 2 °C geschüttelt. Die weitere Analytik erfolgte i.d.R. unmittelbar darauffolgend. Falls dies nicht möglich war, wurden für die spätere Analytik 15 mL des jeweiligen Eluats einer Probe bei -18 °C eingefroren. Aufgetaute Proben wurden vor der weiteren Analytik gründlich geschüttelt, um einer Entmischung während des Einfrierens und Auftauens vorzubeugen.

3.2.4 Analytische Methoden

Die Bestimmung des pH-Werts erfolgte i.d.R. jeweils im Eluat (1:10) der Proben. Hierzu wurde eine pH-Elektrode mit Temperaturkompensation (WTW pH 330i pH-Elektrode, SenTix® 41 pH-Meter, USA) verwendet. Wenn die Konsistenz des Versuchsansatzes es zuließ, wurde der pH-Wert direkt im Inhalt des Fermentationsgefäßes bestimmt. Hierfür wurde eine speziell für die pH-Bestimmung in Schlämmen ausgelegte pH-Elektrode (pH-SLUR, PCE Instruments, Deutschland) verwendet.

Die Bestimmung der Konzentrationen organischer Säuren (Milchsäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Capronsäure), sowie von Einfachzuckern (Glucose, Fructose) erfolgte mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC SCL-40, Shimadzu, Japan). Für die Bestimmung wurde zunächst das Eluat der jeweiligen Probe zentrifugiert (5000 rpm, 10 min) und anschließend filtriert (0,45 µm). Zur Trennung wurde eine Nucleogel® ION 300 OA Vorsäule sowie eine Nucleogel® Sugar 810 H als Hauptsäule verwendet (beide Macherey-Nagel, Deutschland). Als Flussmittel wurde 0,01 N H₂SO₄ bei einer Flussrate von 0,4 mL/min und einem Injektionsvolumen von 10 µL verwendet. Die Trennung erfolgte unter einem Druck von 86 bar, einer Säulentemperatur von 70 °C und einer Detektortemperatur von 40 °C. Die Detektion erfolgte über einen RI-Detektor (RDI-10A, Shimadzu, Japan). Der kalibrierte Messbereich für die einzelnen Komponenten lag zwischen 500 -5000 mg L⁻¹. Bei höheren Konzentrationen erfolgte jeweils eine entsprechende Verdünnung der Probe mit

demineralisiertem Wasser und eine Wiederholung der Messung. Die Datenanalyse wurde mit der Shimadzu LabSolutions CS Software durchgeführt.

Die Bestimmung der Gesamtkonzentration wasserlöslicher Kohlenhydrate (WKH) wurde mittels Phenol-Schwefelsäure-Methode nach DuBois et al. (1956) bestimmt. Dafür wurden zunächst 10 mL des Eluats (1:10) der zu untersuchenden Probe 10 Minuten bei 3.000 g in einer Tischzentrifuge (Eppendorf) zentrifugiert. Für die Analyse wurden 400 µL des Überstandes unter dem Abzug mit 400 µL 5 %igem Phenol (w/w) und 2 mL konzentrierter Schwefelsäure (95 %) vorsichtig versetzt und gemischt, wodurch die enthaltenen Kohlenhydrate zu Glucose hydrolysiert wurden. Als Blindwert diente eine Referenzprobe mit 400 µL demineralisiertem Wasser anstelle der Probe. Nach 10 Minuten wurde die Extinktion bei 480 nm mit einem Photometer (UV-1601, Shimadzu) gemessen. Zur Quantifizierung der Glucosekonzentration wurde zuvor eine Kalibriergerade auf Basis bekannter Glucosekonzentrationen erstellt. Mithilfe der linearen Regressionsformel dieser Kalibrierung wurde die Glucosekonzentration in den Proben berechnet (linearer Bereich 0,025-0,25 g_{Glucose} L⁻¹). Bei Konzentrationen oberhalb des Kalibrierbereichs wurde das Eluat der zu untersuchenden Probe entsprechend mit demineralisiertem Wasser verdünnt und die Messung wiederholt.

Für die Bestimmung der Milchsäurebakterienkonzentration (MSB-Konzentration) wurde das Eluat (1:10) der jeweiligen Probe in einer dekadischen Verdünnungsreihe mit steriler 0,9 % NaCl-Lösung bis zur Verdünnungsstufe 10⁻⁷ seriell verdünnt (jeweils 1 mL in 9 mL). Anschließend wurden jeweils 1 mL der einzelnen Verdünnungen auf Petrifilm® Milchsäurebakterien-Zählplatten (3M, Deutschland) pipettiert. Die Platten wurden bei 30 °C für 48 Stunden inkubiert. Danach erfolgte die Auszählung der gebildeten Kolonien. Auf dieser Grundlage wurde die Anzahl der koloniebildenden Einheiten (CFU – „colony forming units“) pro Milliliter bestimmt.

Für die Bestimmung der Konzentration von *Escherichia coli* (*E. coli*) wurde ein Eluat (1:10) der jeweiligen Probe in 0,9 %er NaCl-Lösung hergestellt (2 h Schütteln bei 20 °C). Das Eluat wurde anschließend in einer dekadischen Verdünnungsreihe mit steriler 0,9 % NaCl-Lösung bis zur Verdünnungsstufe 10⁻⁷ seriell verdünnt (jeweils 1 mL in 9 mL). Anschließend wurden jeweils 100 mL in ein Colilert-18/Quanti-Tray (IDEXX, Deutschland) gegeben und für 24 h bei 37 °C inkubiert. Im Anschluss erfolgte die Auszählung und die Berechnung enthaltener *E.coli* in Wahrscheinlichster Anzahl (MPN – „most probable number“) pro 100 mL.

Zur Analyse der Pufferkapazität der verwendeten Fäzes wurden Eluate der jeweiligen Fäzes im Masseverhältnis 1:10 mit demineralisiertem Wasser hergestellt. Für die Titration wurden jeweils 50 mL dieser Eluate verwendet. Die Titration erfolgte schrittweise mit 1 M HCl in 50 µL-Schritten unter ständigem Rühren. Die pH-Änderung wurde mithilfe einer pH-Elektrode (WTW pH 330i pH-Elektrode, SenTix® 41 pH-Meter, USA) aufgezeichnet. Aus den resultierenden Titrationskurven wurde die Pufferkapazität bestimmt.

3.2.5 Versuchsaufbauten zur Untersuchung der spezifischen Prozessparameter

3.2.5.1 Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse und der Probenahmemethode

Im Rahmen dieses Versuchs sollte die Eignung von 50 mL-Zentrifugenröhrchen als Fermentationsgefäße geprüft werden, um das Handling gegenüber herkömmlichen 500 mL-Fermentationsgefäßen zu vereinfachen. Zudem wurde der Einfluss des Öffnens der Gefäße zur Probenahme und dem damit verbundenen Luftzutritt auf den Fermentationsverlauf untersucht. Ein weiteres Ziel war die Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Messergebnisse im geplanten Versuchsaufbau.

Die Fermentation erfolgte parallel in zwei Gefäßtypen:

- einem 500 mL-Fermentationsgefäß mit Drainageschicht (bestehend aus Tongranulat und Filterpapier) am Boden,
- sowie in 50 mL-Zentrifugenröhrchen ohne Drainageschicht.

Alle Ansätze wurden bei 30 °C in einer Wärmekammer für insgesamt 21 Tage inkubiert.

Pro Variante wurden sechs 50 mL-Röhrchen angesetzt, ergänzt um ein 500 mL-Fermentationsgefäß als Kontrolle. Der Ansatz bestand aus 71 % Fäzes (FK-05), 24 % Weizenkleie (Fa. SchapfenMühle GmbH, Deutschland), 4 % Zuckerübenmelasse (Fa. Königshofer GmbH, Österreich) und 1 % Brottrunk (Fa. Kanne Brottrunk GmbH, Deutschland). Der Einsatz von Weizenkleie diente der Anpassung des Trockensubstanzgehaltes.

Die Beprobung erfolgte an den Tagen 0, 7, 14 und 21. Drei der 50 mL-Röhrchen wurden jeweils an Tag 7 und 14 geöffnet und beprobt. Die übrigen drei Röhrchen wurden erst an Tag 14 geöffnet, um den Einfluss des Öffnens auf den Fermentationsverlauf zu bewerten.

3.2.5.2 Einfluss der Zugabe einer Kohlenstoffquelle

Im Rahmen dieses Versuchs wurde untersucht, welche Menge leicht verfügbaren Kohlenstoffs in Form von Zucker notwendig ist, um die Laktatfermentation zuverlässig in Gang zu setzen und aufrechtzuerhalten. Ziel war es, die Mindestkonzentration zu bestimmen, die zur pH-Absenkung und Bildung organischer Säuren führt. Außerdem wurde untersucht, bis zu welcher Ausgangszuckerkonzentration eine weitere Verminderung des erreichten End-pH-Wertes der Fermentation zu beobachten ist. Als Kohlenstoffquelle kam zunächst Saccharose (Fa. Südzucker, Deutschland) und im weiteren Verlauf Zuckerrübenmelasse (Fa. Königshofer, Österreich) zum Einsatz. Um den Trockensubstanzgehalt (TS, bestimmt bei 105 °C, 24 h) auf etwa 30 % zu standardisieren, wurden den Fäzes zusätzlich Sägespäne im Masseverhältnis 6:1 beigemischt. Der Saccharosegehalt der verwendeten Saccharose lag bei > 99 % (w/w), der Saccharosegehalt der verwendeten Melasse bei 44 % (w/w).

Untersuchung der Zugabe von Saccharose

Zur Bestimmung der nötigen Menge an Saccharose wurden ein 500-mL Fermentationsgefäß und jeweils drei 50-mL-Falcon-Röhrchen pro Ansatz verwendet. Das größere Gefäß diente zur wiederholten Probenahme ab Tag 7, während die kleineren Röhrchen für die einmalige Beprobung an den Tagen 1, 2 und 3 vorgesehen waren. Die verbleibenden Inhalte wurden nach der jeweiligen Probenahme verworfen. Die Inkubation erfolgte bei 30 °C über 21 Tage. Für die Versuchsdurchführung wurden Fäzes (FK-05) verschiedene Mengen Saccharose zugesetzt: 1, 2, 3 und 4 Ma-% bezogen auf die Fäzesmasse, sowie ein Ansatz ohne Saccharosezugabe als Kontrolle.

Untersuchung der Substitution von Saccharose durch Melasse

Zur Untersuchung der Substitution von Saccharose durch Zuckerrübenmelasse als alternative C-Quelle wurden zwei Ansätze hergestellt mit jeweils 4 Ma-% Saccharose bzw. 10 Ma-% Melasse bezogen auf die Fäzesmasse und in 50-mL-Falcon-Röhrchen fermentiert. Die zugegebene Menge an Melasse wurde dabei so gewählt, dass beide Ansätze einen äquivalenten Saccharosegehalt aufweisen. Die Inkubation erfolgte bei 30 °C über 30 Tage.

Untersuchung der Zugabe von Melasse

Zur Bestimmung der Menge der benötigten Melassezugabe wurden Ansätze mit unterschiedlichen Mengen Zuckerrübenmelasse hergestellt: 10, 15, 20, 25 und 30 Ma-% bezogen auf die Fäzesmasse. Dies entspricht Saccharoseäquivalenten von 4 bis 12 Ma-%. Als Referenz diente eine Kontrolle ohne Melassezugabe. Die Ansätze wurden einzeln und ohne Wiederholungen in 500-mL-Fermentationsgefäßen mit Gärröhrchenaufsatz angesetzt und über insgesamt 2,5 Monate bei 30 °C inkubiert.

3.2.6 Einfluss der Zugabe eines Inokulums

Im Rahmen dieses Versuchs wurde untersucht, inwiefern die Zugabe externer mikrobieller Starterkulturen den Verlauf der Fermentation beeinflusst. Dabei kamen Effektive Mikroorganismen („EM-Aktiv“, Fa. Fischer’s EM Chiemgau, Deutschland) und Brottrunk (Fa. Kanne Brottrunk, Deutschland) zum Einsatz. Ziel war es zu klären, ob und in welchem Maße diese kommerziellen Inokula den Fermentationsstart fördern oder stabilisieren können.

Als Grundansatz und Kontrolle diente eine Mischung aus Fäzes (FK-05) und Sägespänen im Verhältnis 6:1, ergänzt durch 4 % Saccharose als C-Quelle. Zusätzlich wurden Varianten mit jeweils 1 % und 5 % Zugabe von Effektive Mikroorganismen (EM) sowie Brottrunk (BT) hergestellt. Die Ansätze wurden jeweils in 50 mL-Röhrchen als Fermentationsgefäßen angesetzt und bei 30 °C inkubiert.

3.2.6 Einfluss der Art der Sammlung der Fäzes

Ziel dieses Versuchs war es, zu prüfen, ob die Art der verwendeten Fäzes einen Einfluss auf den Fermentationsverlauf hat.

Für den Versuch wurden verschiedene Fäzestypen eingesetzt. Die Fäzes wurden durch die Fa. Holzapfel + Konsorten KG (Weimar, Deutschland) und die Fa. Ökologus GmbH (Leipzig, Deutschland) zur Verfügung gestellt. Aufgrund verschiedener Betriebsarten der genutzten TTT enthielten diese unterschiedliche Begleitstoffe:

- reine Fäzes ohne Zusatzstoffe (FK-05, Holzapfel + Konsorten),
- Fäzes mit Sägespänen (FK-Ö-1, Ökologus),
- Fäzes mit Urin und Sägespänen (FK-Ö-2, Ökologus),
- Fäzes mit Urin, ohne Sägespäne (FK-Ö-3, Ökologus).

Die detaillierten physikochemischen Eigenschaften der verwendeten Fäzes befinden sich in Tabelle 1. Allen Ansätzen wurden 10 Ma-% Melasse sowie 1 Ma-% EM zugesetzt. Die Fermentation erfolgte jeweils in 500 mL Fermentationsgefäßen mit Gärverschluss. Die Inkubation lief über einen Zeitraum von 36 Tagen bei 30 °C.

3.2.7 Einfluss von Luft-Sauerstoff

Ziel dieses Versuchs war es, den Einfluss des Zutritts von Luft-Sauerstoff auf den Fermentationsverlauf zu untersuchen. Dabei sollte geprüft werden, wie sich unterschiedliche Grade der Belüftung auf die Fermentation auswirken, insbesondere im Hinblick auf die Stabilität der LAF.

Es wurden drei unterschiedliche Varianten hinsichtlich der Sauerstoffverfügbarkeit untersucht (Abbildung 6):

- luftdicht verschlossen,
- luftdicht verschlossen mit regelmäßiger Belüftung,
- offen bzw. permanente Belüftung.

Für jede Variante wurden zwei unterschiedliche Fäzestypen verwendet:

- reine Fäzes (FK-05),
- Fäzes mit Holzspänen (FK-Ö-1).

Allen Ansätzen wurden 10 % Melasse (Zuckerrübe) zugesetzt. Die Fermentation erfolgte in 50 mL-Falcon-Tubes ohne Wiederholungen. Die Inkubation fand bei 30 °C statt. Die Beprobung erfolgte an Tag 0 sowie an Tag 15.

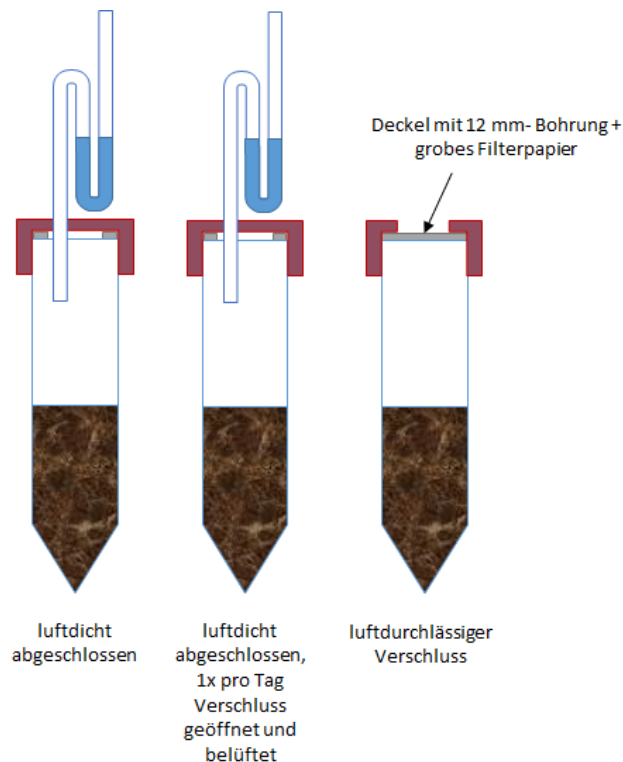


Abbildung 6: Schematischer Aufbau der Fermentationsgefäße zur Untersuchung der Sauerstofftoleranz der LAF.

3.2.8 Einfluss der Zugabe von Hilfsstoffen

Ziel dieses Versuchs war es, den Einfluss verschiedener Hilfsstoffe auf den Verlauf der Fermentation zu untersuchen. Dazu zählten Pflanzkohle (Fa. Sonnenerde, Österreich), Bentonit und Gesteinsmehl (beide Fa. Peter´s EM-Chiemgau, Deutschland), als aus der Literatur bekannte Zusätze für die Terra Preta Herstellung (Factura et al., 2010; Scheinemann et al., 2015). Ammovit® (Fa. Agrotex GmbH, Deutschland) ist ein kommerziell erhältlicher, pulverförmiger Sanitärzusatz, der zur Fäkalienbehandlung, insbesondere in Campingtoiletten und Trockentoiletten, verwendet wird. Ammovit® besteht zu ca. 98-% aus Eisen-(II)-sulfat und zu 2 % aus Calciumcarbonat. Die Behandlung mit Ammovit® zielt vor allem auf die Unterdrückung unangenehmer Gerüche ab, u.a. durch Ausfällung von Schwefelverbindungen zu Eisensulfid. Außerdem wurde die Zugabe von Wasser getestet, um den Einfluss auf die Pufferkapazität zu prüfen.

Folgende Hilfsstoffe wurden in den angegebenen Konzentrationen (Ma-%) getestet:

- Pflanzkohle (5 % und 10 %),
- Gesteinsmehl (10 %),
- Bentonit (10 %),
- Ammovit® (2 % und 5 %, jeweils mit und ohne Melasse),
- Wasser (Verdünnung im Verhältnis 1:1).

Allen Ansätzen wurde 15 Ma-% Melasse aus Zuckerrüben zugesetzt, sowie ein Ansatz ohne Melasse (Kontrolle) und zwei Ansätze mit 2 % bzw. 5 % Ammovit®-Zugabe ohne Melasse.

Als Ausgangssubstrat diente die Fäzesprobe FK-05. Die Fermentation erfolgte in 50 mL-Zentrifugenröhrchen, die zu etwa zwei Dritteln befüllt wurden. Die Inkubation wurde bei 30 °C durchgeführt. Neben der Standardparameter (pH, organische Säuren, etc.) wurde im Rahmen dieses Versuchs auch die Schaumbildung, sowie die Entwicklung des Geruchs der Ansätze während der Fermentation qualitativ bewertet.

3.2.9 Einfluss der Zugabe alternativer C-Quellen

In diesem Versuch wurde die Eignung verschiedener weiterer Substrate als Quelle leicht abbaubarer Kohlenstoffe für die Fermentation untersucht. Ziel war es, neben der bereits verwendeten C-Quellen, (Zuckerrübenmelasse und Saccharose) weitere Kohlenhydratquellen hinsichtlich ihrer fermentativen Verwertbarkeit zu bewerten und mit der Referenz Zuckerrübenmelasse zu vergleichen.

Folgende C-Quellen wurden getestet:

- Zuckerrübenmelasse als Referenzansatz (Fa. Königshofer, Österreich),
- Zuckerrohrmelasse (Fa. Ecoforce, Spanien),
- Melasseschnitzel (Fa. Südzucker, Deutschland),
- Mango, frisch, püriert (keine Angaben zur Herkunft),
- Weizenkleie (Fa. SchapfenMühle, Deutschland),
- Maniokmehl (Fa Biobudys, Deutschland),
- Maniokschale, getrocknet und gemahlen (keine Angaben zur Herkunft).

Um die Vergleichbarkeit der Versuche zu gewährleisten wurde die Menge der zugegebenen C-Quelle stets so gewählt, dass die Ansätze jeweils äquivalenten Kohlenhydrat-Konzentrationen aufweisen. Die Zugabe der C-Quellen erfolgte in zwei Konzentrationsstufen, jeweils in einer Konzentration von 4,6 Ma-% und 7,5 Ma-% Kohlenhydratäquivalent. Dies entspricht einer Zugabe von jeweils ca. 8 Ma-% bzw. 15 Ma-% Zuckerrübenmelasse, die als Referenz diente. Bei Substraten mit hohem Wasserbindevermögen (Maniokmehl, Maniokschale, Weizenkleie) wurde die Menge so gewählt, dass eine homogene Mischung noch möglich war. In Tabelle 2 sind die Gehalte wasserlöslicher Kohlenhydrate, Glucose und Fructose der verwendeten C-Quellen zusammengefasst. Tabelle 3 zeigt Mengen der zu den jeweiligen Versuchsansätzen zugegebenen C-Quellen bezogen auf die Fäzesmasse und daraus resultierende Gehalte wasserlöslicher Kohlenhydrate der Ansätze.

Als Ausgangssubstrat diente die Fäzesprobe FK-05. Die Fermentation wurde in 50 mL-Zentrifugenröhrchen durchgeführt, die jeweils zu etwa zwei Dritteln gefüllt wurden. Die Inkubation erfolgte bei 30 °C.

Tabelle 2: Konzentrationen wasserlöslicher Kohlenhydrate, Glucose und Fructose der verwendeten C-Quellen (C-Quellen bezogen auf die Frischmasse).

| C-Quelle | Wasserlösliche Kohlenhydrate | Glucose | Fructose |
|--------------------------------|------------------------------|---------|----------|
| Zuckerrübenmelasse (Kontrolle) | 55,0 ± 4,5 % | 21,9 % | 22,4 % |
| Zuckerrohrmelasse | 31,5 ± 0,7 % | 13,3 % | 14,3 % |
| Melasseschnitzel | 21,8 ± 0,3 % | 8,7 % | 8,9 % |
| Mango | 13,3 ± 0,4% | 3,6 % | 5,7 % |
| Weizenkleie | 7,1 ± 0,3% | 2,4 % | 3,2 % |
| Maniokmehl | 4,1 ± 0,1% | 0,6 % | 0,7 % |
| Maniokschale | 6,8 ± 0,1% | 2,8 % | 3,7 % |

Tabelle 3: Mengen der zu den jeweiligen Versuchsansätzen zugegebenen C-Quellen bezogen auf die Fäzesmasse und daraus resultierende Gehalte wasserlöslicher Kohlenhydrate der Ansätze.

| Ansatz | Zuckerrübenmelasse (Kontrolle) | | Zuckerrohrmelasse | | Melasseschnitzel | | Mango | | Weizenkleie | Maniokmehl | Maniokschale |
|--------------------|--------------------------------|-------|-------------------|-------|------------------|-------|-------|-------|-------------|------------|--------------|
| Zugabemenge | 8 % | 15 % | 16 % | 30 % | 25 % | 50 % | 50 % | 120 % | 50 % | 50 % | 25 % |
| Kohlenhydratanteil | 4,6 % | 7,5 % | 4,6 % | 7,5 % | 4,6 % | 7,5 % | 4,6 % | 7,4 % | 2,6 % | 1,6 % | 1,8 % |

3.2.10 Einfluss der Temperatur

Ziel dieses Versuchs war es, den Einfluss unterschiedlicher Inkubationstemperaturen auf den Verlauf der Fermentation zu untersuchen. Darüber hinaus sollte geprüft werden, ob sich unter den gewählten Bedingungen eine Hygienisierung nachweisen lässt. Als Indikatororganismus hierfür diente der Fäkalkeim *E.coli*.

Für den Versuch wurden drei verschiedene Fäzes-Proben verwendet:

- FK-05,
- HA-05,
- HA-06.

Alle Proben wurden jeweils bei drei unterschiedlichen Temperaturen inkubiert:

- 8 °C,
- 20 °C,
- 30 °C.

Zu allen Fermentations-Ansätzen wurden 15 Ma-% Zuckerrübenmelasse bezogen auf die Fäzesmasse als Kohlenstoffquelle zugegeben. Die Fermentation erfolgte in 50 mL-Zentrifugenröhrchen, die mit jeweils etwa 30 g Probenmaterial (ca. zwei Drittel des Röhrchenvolumens) befüllt wurden. Für jede

Kombination aus Fäzes-Probe und Temperatur wurden für die Doppelbestimmung je zwei Ansätze (mit Melassezugabe) sowie ein Kontrollansatz (ohne Melassezugabe) hergestellt.

Zur Beurteilung der Inaktivierung von *E.coli*, wurde zu Beginn des Versuchs die Konzentration von *E.coli* in den verwendeten Fäzes-Proben bestimmt. Da *E.coli* in der Fäzes-Probe FK-05 bereits unterhalb der Nachweisgrenze lag, wurden nur die Proben HA-05 und HA-06 für den Hygienisierungsnachweis weiterverwendet.

3.2.11 Einfluss der Lagerungsdauer

Ziel dieser Untersuchung war es, den Einfluss der Lagerungsdauer von Fäzes vor der Fermentation auf den Fermentationsverlauf zu untersuchen. Dabei stand insbesondere die Frage im Fokus, ob sich während der Lagerung Veränderungen in der mikrobiellen Zusammensetzung oder der chemischen Ausgangsbedingungen ergeben, die den Verlauf der Fermentation beeinflussen.

Die Analyse basiert auf Daten ausgewählter, bereits durchgeführter Versuche mit identischen Fermentationsbedingungen. Hierfür verwendet wurden Ansätze mit der Fäzesprobe FK-05 und 15 Ma-% Melassezugabe, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten während des Projektzeitraums durchgeführt wurden.

Die ursprüngliche Fäzesprobe FK-05 wurde am 23.10.2023 gesammelt und ab diesem Zeitpunkt luftdicht bei 8 °C gelagert. Die untersuchte Lagerdauer bis zur jeweiligen Fermentation ab diesem Zeitpunkt betrug 5, 12, 13, 14 und 16 Monate.

3.3 Ergebnisse & Diskussion

3.3.1 Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse und der Probenahmemethode

Abbildung 7 zeigt die Ergebnisse der Untersuchung der Reproduzierbarkeit der Messergebnisse, sowie der Probenahmemethode.

Ein Vergleich der Messwerte aus dem 500 mL-Fermentationsgefäß (grün) mit denen aus den 50 mL-Röhrchen, die wöchentlich zur Probenahme geöffnet wurden (blau), zeigte bei keinem der untersuchten Parameter signifikante Unterschiede. Die Gefäßgröße hatte somit keinen erkennbaren Einfluss auf den Fermentationsverlauf.

Auch der Vergleich zwischen den geöffneten (blau) und den bis zur Probenahme verschlossenen 50 mL-Röhrchen (gelb) ergab keine messbaren Unterschiede in den analysierten Parametern. Das zwischenzeitliche Öffnen der Fermentationsgefäße hatte somit keinen Einfluss auf die Messergebnisse.

Zur Bewertung der Reproduzierbarkeit wurden die Standardabweichungen der Messwerte der geöffneten (blau) und ungeöffneten (gelb) 50 mL-Röhrchen herangezogen. Die Schwankungen zwischen den Einzelwerten waren gering, sodass die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse im vorliegenden Versuchsaufbau als ausreichend beurteilt werden kann.

Bewertung

Die Verwendung von 50 mL-Zentrifugenröhrchen als Fermentationsgefäße erwies sich für die Zwecke der im Rahmen des Forschungsprojektes durchzuführenden Versuche als geeignet. Das einmalige Öffnen der Gefäße zur Probenahme beeinflusste den Fermentationsverlauf nicht, wodurch eine Weiterverwendung der Gefäße ohne zusätzliche Maßnahmen (z. B. Spülung des Kopfraums des Fermentationsgefäßes mit N₂ nach der Probenahme) möglich ist. Die ausreichende Reproduzierbarkeit der Ergebnisse innerhalb dieses Setups wird als gegeben angenommen, weshalb in den folgenden Arbeiten auf Versuchswiederholungen identischer Ansätze in der Regel verzichtet wurde.

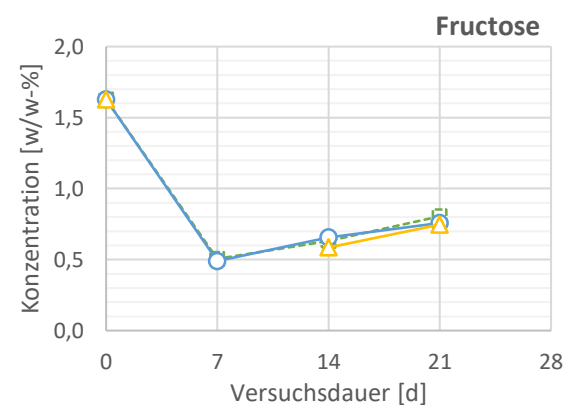
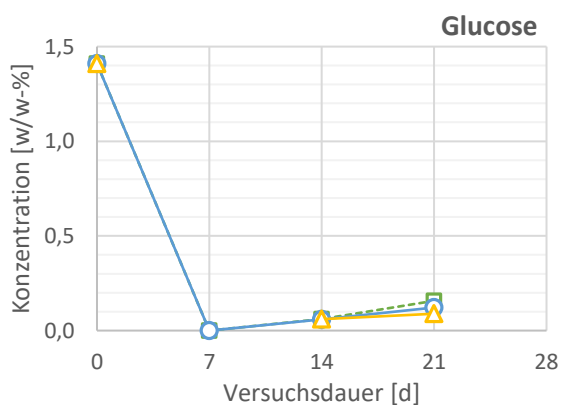
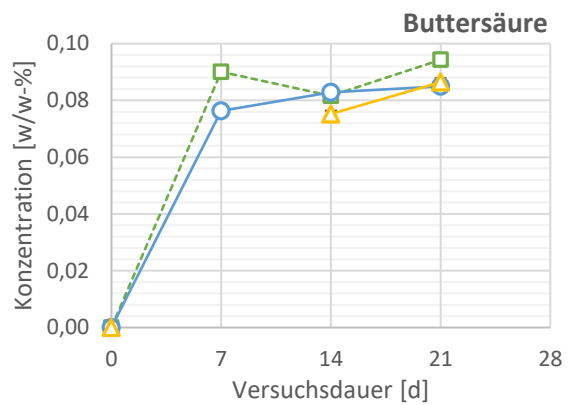
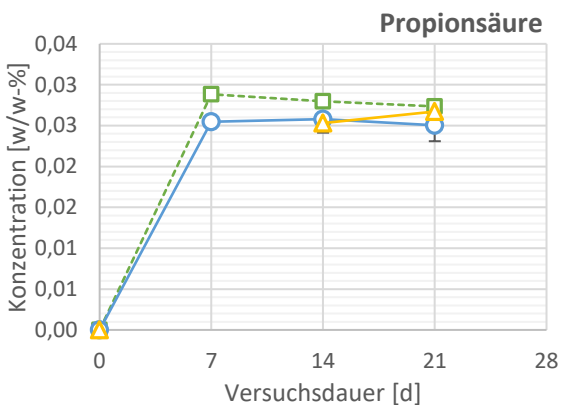
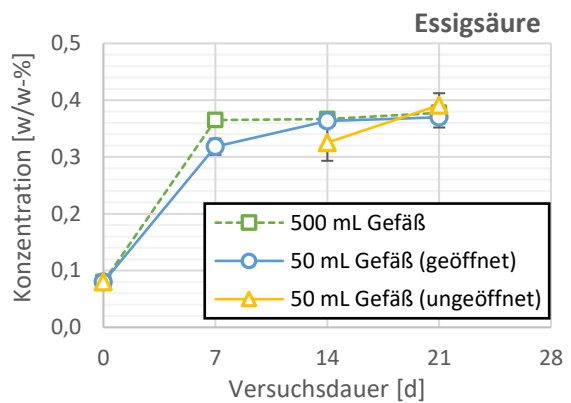
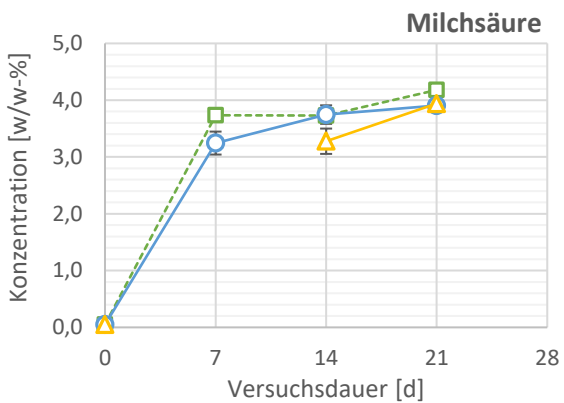
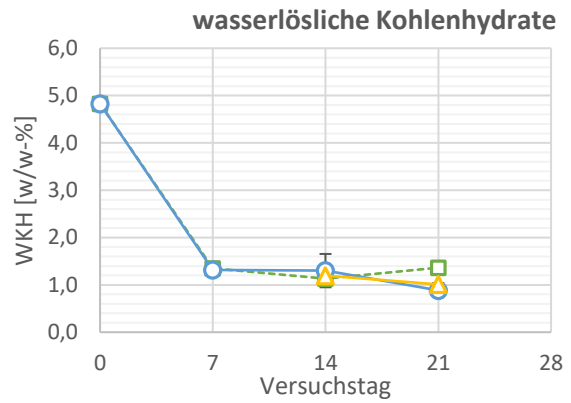
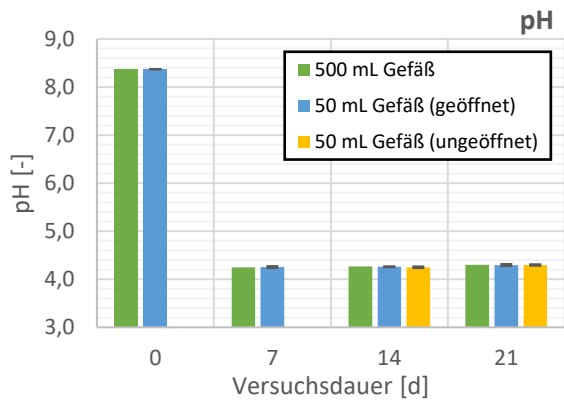


Abbildung 7: Verlauf des pH-Wertes, sowie der Konzentrationen wasserlöslicher Kohlenhydrate, organischer Säuren und Einfachzucker über die Versuchsdauer unter Verwendung verschiedener Fermentationsgefäße (500 mL und 50 mL), sowie unter Anwendung verschiedener Beprobungsmethoden (Mehrfachbeprobung aus selbem Fermentationsgefäß (geöffnet) und Einfachbeprobung (ungeöffnet)).

3.3.2 Einfluss der Zugabe einer Kohlenstoffquelle

3.2.7 Zugabe von Saccharose

Die Ergebnisse zeigen, dass die Zugabe von Saccharose einen klaren Einfluss auf den Fermentationsverlauf hatte, insbesondere im Hinblick auf die pH-Entwicklung und die Milchsäurebildung (Abbildung 8).

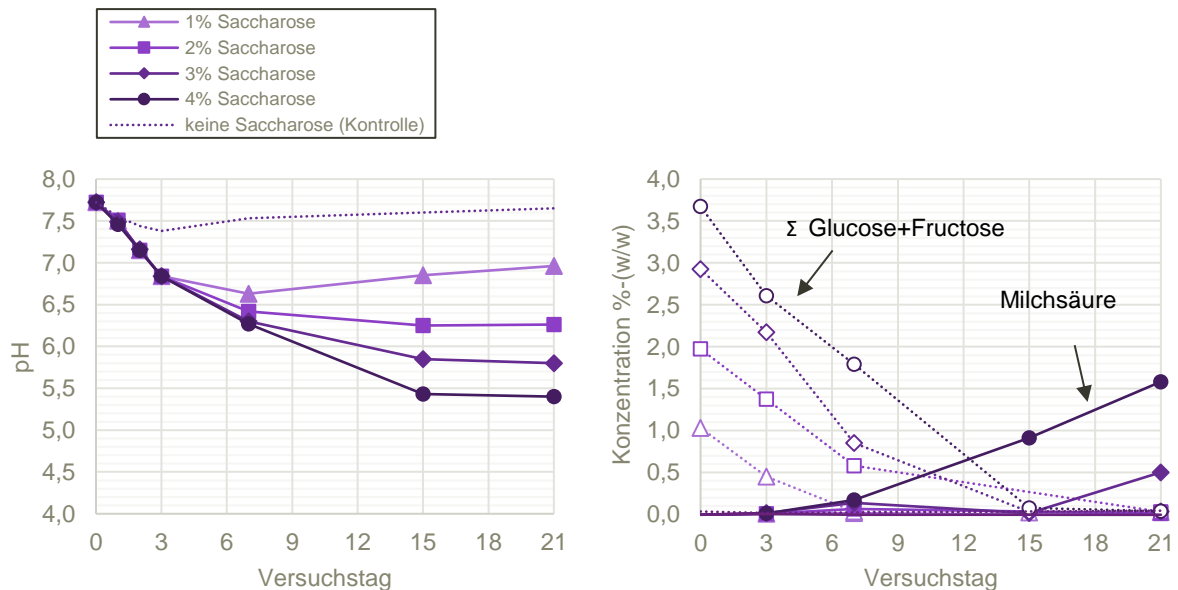


Abbildung 8: Verlauf des pH-Wertes (links) und der Konzentrationen der Milchsäure und der Zucker (rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe unterschiedlicher Mengen Saccharose.

In allen Ansätzen mit Zuckerzusatz war zunächst ein gleichmäßiger Rückgang des pH-Wertes zu beobachten. Unterschiede zwischen den verschiedenen Zucker-Konzentrationen wurden jedoch erst ab Tag 7 deutlich. Ansätze mit $\geq 2\%$ Saccharose erreichten innerhalb von 14 Tagen stabile End-pH-Werte, wobei eine kontinuierliche Absenkung mit steigender Zuckermenge zu verzeichnen war. Der niedrigste End-pH-Wert wurde im Ansatz mit 4% Saccharose gemessen (pH 5,4). Dieser Wert war stabil bis zum Ende der Inkubationszeit. Dagegen zeigte der Ansatz mit 1% Saccharose nach Tag 7 eine erneute pH-Zunahme, was auf einen instabilen Fermentationsverlauf hinweist.

Eine relevante Milchsäurebildung trat ausschließlich in Ansätzen mit $\geq 3\%$ Saccharose auf. Die Produktion setzte verzögert ein und wurde zwischen Tag 7 und Tag 21 beobachtet. Der maximale Milchsäuregehalt lag bei etwa 1,5 Ma-% im 4%-Ansatz nach 21 Tagen. Auch Essig- und Buttersäure wurden in geringeren Mengen nachgewiesen (nicht dargestellt), ihr Beitrag zur Gesamtfermentation blieb jedoch untergeordnet.

Die Glucose und Fructose wurden in allen Ansätzen vollständig abgebaut. Im Ansatz mit 1 % Saccharose war der gesamte verfügbare Zucker bereits nach sieben Tagen vollständig verbraucht, während in Ansätzen mit höherer Saccharosekonzentration der Zuckerabbau erst nach 15 bzw. 21 Tagen abgeschlossen war.

Bewertung

Die erzielten Ergebnisse sind noch nicht zufriedenstellend. Der erreichte End-pH-Wert von 5,4 ist für eine effektive Hygienisierung zu hoch, und auch die Milchsäurekonzentration von maximal 1,5 % liegt deutlich unter dem angestrebten Niveau. Im Vergleich dazu zeigte ein vorangegangener Vorversuch deutlich bessere Resultate mit einer Milchsäurebildung von etwa 4 Ma-% und einem End-pH-Wert von ca. 4,3, der bereits nach sieben Tagen erreicht wurde (vgl. Kapitel 3.3.1).

Daraus ergibt sich, dass eine weitere Steigerung des Saccharosegehalts (über 4 % hinaus) notwendig ist, um die Milchsäurebildung zu intensivieren und den pH-Wert weiter zu senken. Alternativ könnte auch die Verwendung einer anderen Zuckerquelle, wie beispielsweise Melasse, in Betracht gezogen werden, um die Prozessleistung zu verbessern.

3.2.8 Substitution von Saccharose durch Melasse

Die Ergebnisse zeigen, dass die Zugabe von Melasse zu einem schnelleren und stärkeren pH-Abfall führte (Abbildung 9). Bereits innerhalb von sieben Tagen sank der pH-Wert auf ein Minimum von 5,1, bevor er leicht auf etwa 5,2 anstieg und anschließend bis zum Versuchsende stabil blieb. Im Vergleich zum den Saccharose-Ansatz war damit sowohl die Geschwindigkeit als auch die Effizienz der Ansäuerung erhöht.

Auch der Verlauf der Bildung der organischen Säuren war qualitativ vergleichbar, zeigte jedoch deutliche Unterschiede in der Ausprägung. Die Milchsäurebildung war deutlich stärker ausgeprägt und die Milchsäure erreichte Konzentrationen bis zu 2,4 Ma-%. Die Konzentrationen von Essigsäure und Buttersäure lagen hingegen niedriger, bei jeweils etwa 0,5–0,6 Ma-%.

Auffällig war zudem, dass die Anfangskonzentrationen von Glucose und Fructose im Melasse-Ansatz mit etwa 1,5 Ma-% deutlich unter denen des Saccharose-Ansatzes lag (ca. 2,0 Ma-%). Dennoch wurde eine höhere Endkonzentration an Milchsäure erzielt. Dies deutet darauf hin, dass Melasse möglicherweise zusätzliche Substanzen enthält, die den Fermentationsprozess fördern.

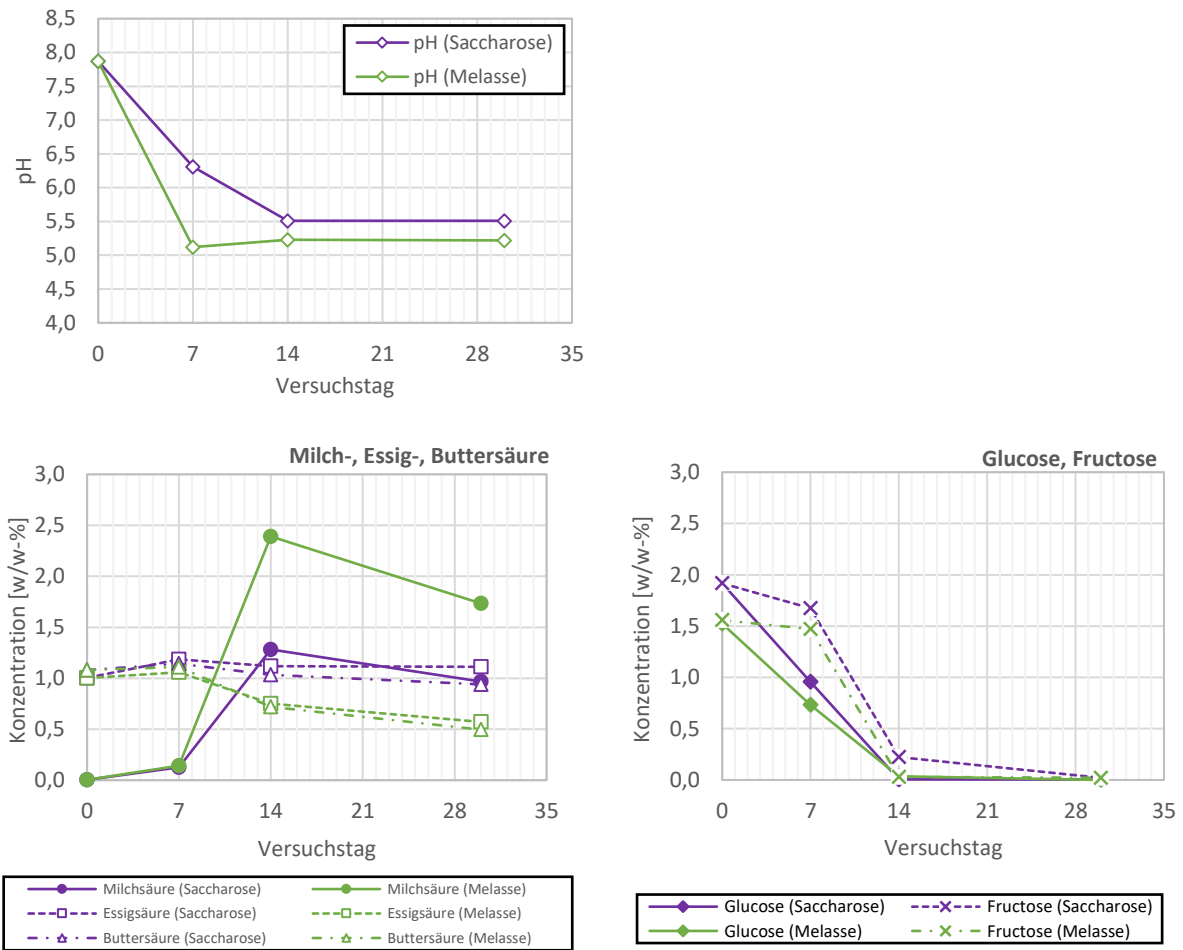


Abbildung 9: Verlauf des pH-Wertes (oben links) und der Konzentrationen von Milchsäure, Essigsäure und Buttersäure (unten links) sowie Glucose und Fructose (unten rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe von Saccharose und Melasse.

Bewertung

Insgesamt weist Melasse somit ein höheres Potenzial als Kohlenstoffquelle auf als reine Saccharose und erscheint insbesondere hinsichtlich Fermentationsdynamik und Milchsäureausbeute als Alternative.

3.2.9 Zugabe von Melasse

Die Zugabe von Melasse in unterschiedlichen Konzentrationen führte in allen Ansätzen zu einem deutlichen Abfall des pH-Wertes, was auf eine funktionierende Fermentation hindeutet (Abbildung 10). In allen Ansätzen mit ≥ 15 Ma-% Melassekonzentration am Versuchsanfang wurde jeweils innerhalb von sieben Tagen derselbe minimale pH-Wert von 4,8 erreicht. Ab diesem Zeitpunkt blieb der pH-Wert in allen Varianten stabil bis zum Versuchsende. Trotz weiterhin verfügbarer Zucker wurde keine weitere Milchsäure gebildet und die Glucosekonzentration nahm nicht weiter ab. Auch Essigsäure wurde kaum gebildet (hier nicht dargestellt).

Als wahrscheinlichste Erklärung wird eine Endprodukthemmung der MSB angenommen. Diese kann durch die Akkumulation von Milchsäure in Kombination mit dem niedrigen pH-Wert hervorgerufen werden.

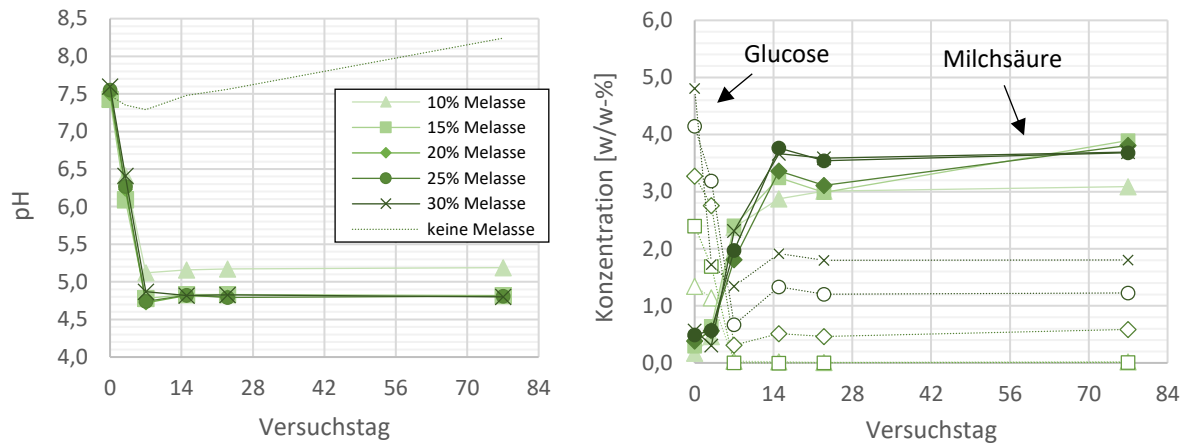


Abbildung 10: Verlauf des pH-Wertes (links) und der Konzentrationen von Milchsäure und Glucose (rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe von 10 bis 30 Ma-% Melasse.

Bewertung

Insgesamt bestätigen die Ergebnisse die prinzipielle Eignung von Melasse als C-Quelle der LAF. Zugleich zeigen sie aber auch die Grenzen einer rein substratgesteuerten Prozessintensivierung auf, da bereits bei moderater Milchsäureakkumulation Selbsthemmungseffekte auftreten können.

3.3.3 Einfluss der Zugabe eines Inokulums

Zur Bewertung des Einflusses externer mikrobieller Starterkulturen auf die Laktatfermentation wurden Effektive Mikroorganismen (EM) und Brottrunk (BT) jeweils in einer Konzentration von bis zu 5 Ma-% zugesetzt. Alle Versuchsansätze enthielten zusätzlich 4 % Saccharose als Kohlenstoffquelle.

Im Kontrollansatz ohne Zugabe von EM oder BT kam es innerhalb von 14 Tagen zu einem Abfall des pH-Wertes auf 5,5, der anschließend bis zum Ende des Versuchs stabil blieb (Abbildung 11). Die Zugabe von EM oder Brottrunk hatte keinen nennenswerten Einfluss auf den pH-Verlauf: Die pH-Minima lagen bei 5,4 und unterschieden sich damit kaum von der Kontrolle.

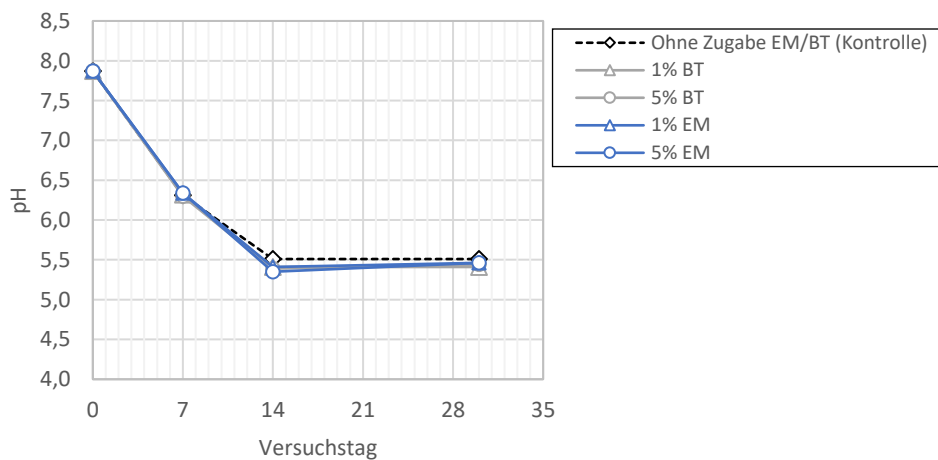


Abbildung 11: Verlauf des pH-Wertes in Abhängigkeit von der Zugabe von jeweils 1 Ma-% und 5 Ma-% effektiver Mikroorganismen (EM) und Brottrunk (BT).

Auch der Verlauf der Konzentrationen der organischen Säuren sowie der Zuckerabbau zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ansätzen (Abbildung 12):

- Milchsäurebildung erfolgte bis Tag 14 mit Konzentrationen von ca. 1,3–1,7 Ma-%, gefolgt von einem deutlichen Rückgang auf etwa 0,8–1,0 Ma-% bis zum Versuchsende.
- Essigsäure und Buttersäure wurden bis Tag 7 gebildet (jeweils ca. 1,0–1,2 Ma-%) und blieben danach stabil oder nahmen leicht ab.
- Glucose und Fructose wurden bis Tag 14 nahezu vollständig abgebaut, wobei Glucose schneller umgesetzt wurde als Fructose.

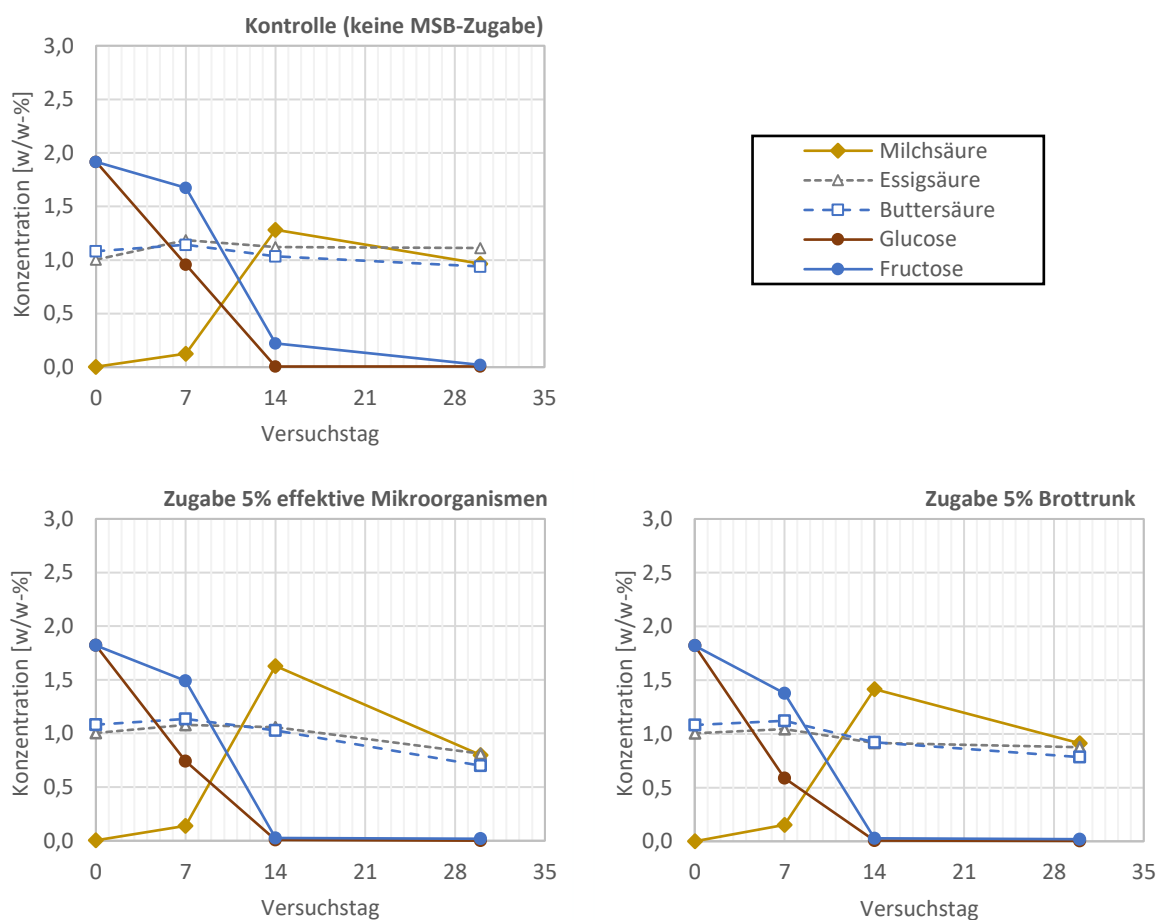


Abbildung 12: Verlauf der Konzentrationen von Milchsäure, Essigsäure und Buttersäure, sowie von Glucose und Fructose in Abhängigkeit von der Zugabe von jeweils 5 Ma-% effektiver Mikroorganismen (EM) und Brottrunk (BT) und ohne Zugabe eines Inokulums

Ein Vergleich der Konzentrationen an MSB ergab, dass die in den verwendeten Fäzes natürlich vorhandene mikrobielle Population ($c_{\text{MSB,FK-05}} = 1,5 \cdot 10^5 \text{ CFU g}^{-1}$) bereits in ähnlicher Größenordnung vorlag wie in den zugegebenen Inokula ($c_{\text{MSB,EM}} = 2,3 \cdot 10^5 \text{ CFU mL}^{-1}$, $c_{\text{MSB,BT}} = 2,0 \cdot 10^5 \text{ CFU mL}^{-1}$). Aufgrund der begrenzten Zugabemenge (max. 5 Ma-%) waren die externen Mikroorganismen in der

Gesamtpopulation deutlich unterrepräsentiert. In einigen weiteren Fäzesproben, z. B. FK-Ö, wurden sogar deutlich höhere MSB-Konzentrationen festgestellt als in EM oder Brottrunk (vgl. Kapitel 3.3.3).

Bewertung

Die Zugabe von bis zu 5 Ma-% effektiver Mikroorganismen oder Brottrunk hatte keinen messbaren Einfluss auf den Fermentationsverlauf. Die wahrscheinlichste Ursache ist die zu geringe Konzentration an MSB im Inokulum, verglichen mit den bereits in den Fäzes enthaltenen MSB. Eine zusätzliche Inokulation ist unter diesen Bedingungen nicht notwendig, solange ausreichend aktive MSB im Ausgangsmaterial vorhanden sind.

3.3.4 Einfluss der Art der Sammlung der Fäzes

Die für diesen Versuch verwendeten Fäzes (FK-05, FK-Ö-1, FK-Ö-2, FK-Ö-3) zeigten deutliche Unterschiede in ihren physikochemischen Eigenschaften (Tabelle 1, Seite 24), was maßgeblich auf die jeweilige Art der Sammlung und die Zugabe von Begleitstoffen wie Urin und Sägespänen zurückzuführen ist.

Die TS-Gehalte lagen im Bereich von ca. 8 % bis 22 %. Urin führte erwartungsgemäß zu einer Verdünnung der Probe (niedriger TS), während Sägespäne den TS durch Wasserbindung erhöhten. Auch die oTS variierte deutlich. Sie war am niedrigsten in Fäzes-Probe FK-05 (ohne Begleitstoffe) und nahm zu, wenn Begleitstoffe hinzugefügt wurden.

Die pH-Werte der unbehandelten Fäzes-Proben schwankten stark (zwischen 6,6 und 8,1) und spiegelten die jeweilige chemische Ausgangssituation wider. Auch die elektrische Leitfähigkeit, als Indikator für den Salzgehalt, variierte stark und nahm tendenziell zu bei abnehmender oTS, was auf den relativen Anstieg an anorganischen Bestandteilen zurückzuführen ist.

Das Vorhandensein von MSB war in allen Proben nachweisbar, jedoch mit großen Unterschieden (Größenordnung 10^4 bis 10^8 CFU g^{-1}). Zucker und organische Säuren waren in den meisten Proben nicht in relevanten Mengen detektierbar, mit Ausnahme der Fäzes-Probe FK-Ö-3, in der leicht erhöhte Konzentrationen an Milchsäure, Essigsäure und Buttersäure nachgewiesen wurden. Diese Probe wies auch den niedrigsten pH-Wert (6,6) und die höchste MSB-Konzentration auf, was auf eine bereits begonnene spontane Fermentation hindeutet.

Die wasserlöslichen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte (insbesondere DOC und NH_4^+ -N) unterschieden sich ebenfalls stark. Der höchste DOC-Wert (1,75 %) wurde in der Fäzes-Probe FK-05 (ohne Begleitstoffe) gemessen, der niedrigste (0,17 %) in der Fäzes-Probe FK-Ö-2 (mit Urin und Sägespänen). Der Gesamt-Stickstoffgehalt variierte weniger stark (0,14–0,38 %), wobei Ammonium-Stickstoff den größten Anteil ausmachte.

Trotz dieser teils starken Unterschiede in den Ausgangseigenschaften verlief die Fermentation in allen getesteten Ansätzen erfolgreich (Abbildung 13). Der pH-Wert sank jeweils innerhalb der ersten 7 Tage und blieb anschließend bis Tag 36 stabil. Die End-pH-Werte unterschieden sich jedoch deutlich voneinander und lagen zwischen 5,1 (FK-05) und 4,2 (FK-Ö-2). Die Milchsäurebildung folgte in allen Fällen dem pH-Abfall und erreichte vergleichbare Endkonzentrationen von 2,6–3,4 Ma-%. Die Konzentrationen von Essig- und Buttersäure änderten sich nur geringfügig (maximale Schwankung 0,3 Ma-%), während weitere organische Säuren wie Bernsteinsäure, Propionsäure und *iso*-Buttersäure nur in sehr geringen Mengen (< 0,2 Ma-%) nachgewiesen wurden.

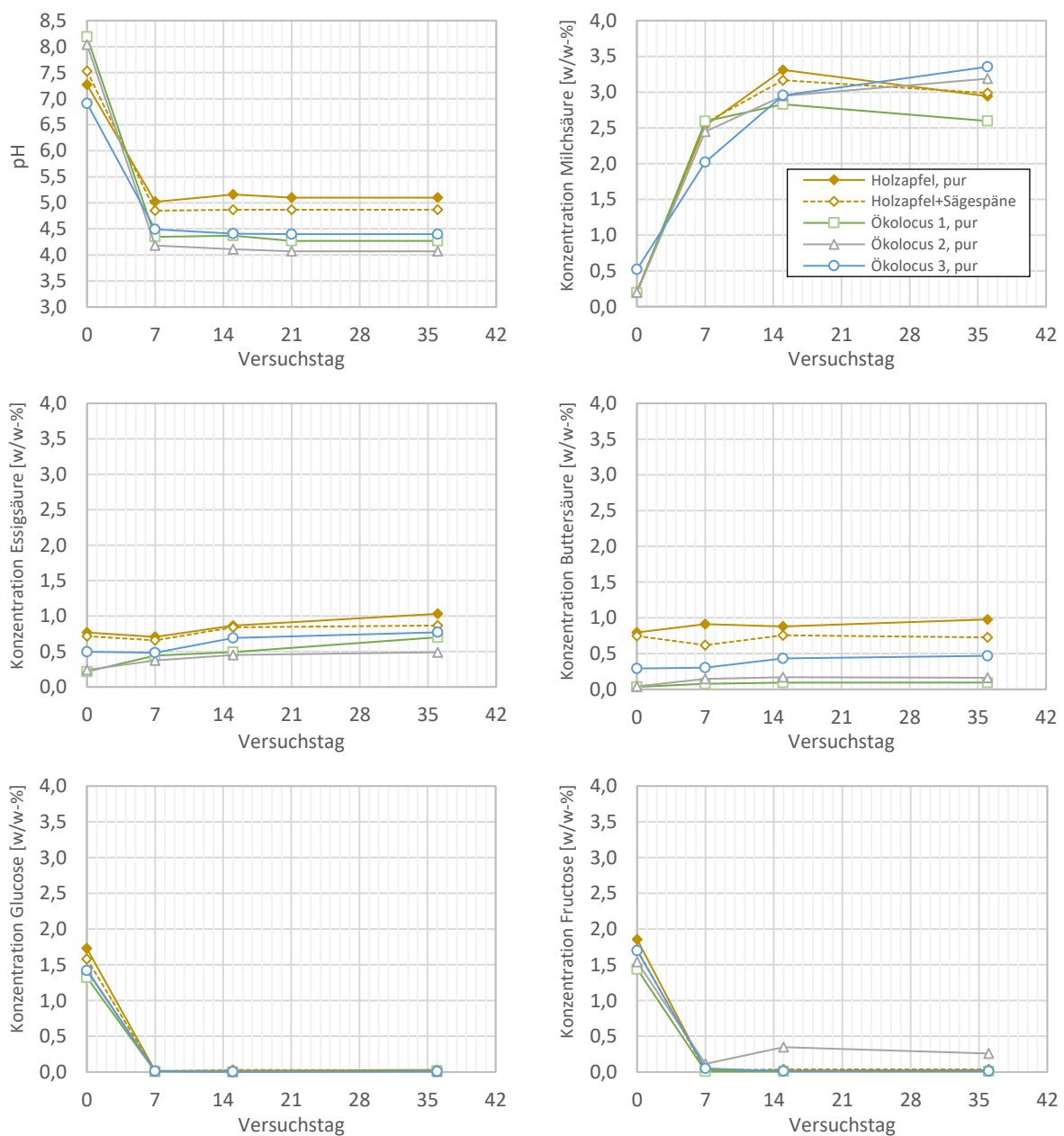


Abbildung 13: Verlauf des pH-Wertes (oben links) und der Konzentrationen von Milch-, Essig- und Buttersäure, sowie Glucose und Fructose in Abhängigkeit von der Art der verwendeten Fäzes.

Die Ergebnisse sind insofern bemerkenswert, als die LAF trotz sehr unterschiedlicher Fäzeszusammensetzung in allen Fällen funktionierte und ein vergleichbares Fermentationsverhalten aufwies. Insbesondere die zum Teil stark voneinander abweichenden MSB-Konzentrationen in den Ausgangsproben hatten offensichtlich keinen entscheidenden Einfluss auf den Prozessverlauf.

Hervorzuheben ist jedoch der starke Unterschied der erreichten End-pH-Werte. Da die Säurekonzentrationen in allen Ansätzen nach pH-Stabilisierung annähernd gleich waren, kann dieser Effekt nicht durch unterschiedliche Säurebildung erklärt werden. Vielmehr liegt die Ursache vermutlich in der sich unterscheidenden Pufferkapazität der verwendeten Fäzes-Proben.

Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde zusätzlich zu den oben dargestellten Versuchen die Pufferkapazität der verwendeten Fäzes bestimmt.

Abbildung 14 zeigt die Titrationskurven der untersuchten Proben. Wie erwartet unterscheiden sich die verwendeten Fäzes-Proben deutlich bezüglich ihrer Pufferkapazität. Bei Titration der Fäzes-Probe FK-05 wurde beispielsweise eine circa dreifach höhere Menge an Säure benötigt um einen pH-Wert von 4,0 zu erreichen, als bei Probe FK-Ö-2. Bei Vergleich der Titrationskurven mit den Ergebnissen der pH-Verläufe und der Säurebildung des vorangegangenen Fermentationsversuchs (Abbildung 13) wird weiterhin ersichtlich, dass Fäzes-Proben mit einer geringeren Pufferkapazität, jeweils auch im Fermentationsversuch bei ähnlicher Milchsäurekonzentration einen geringeren pH-Wert erreichten.

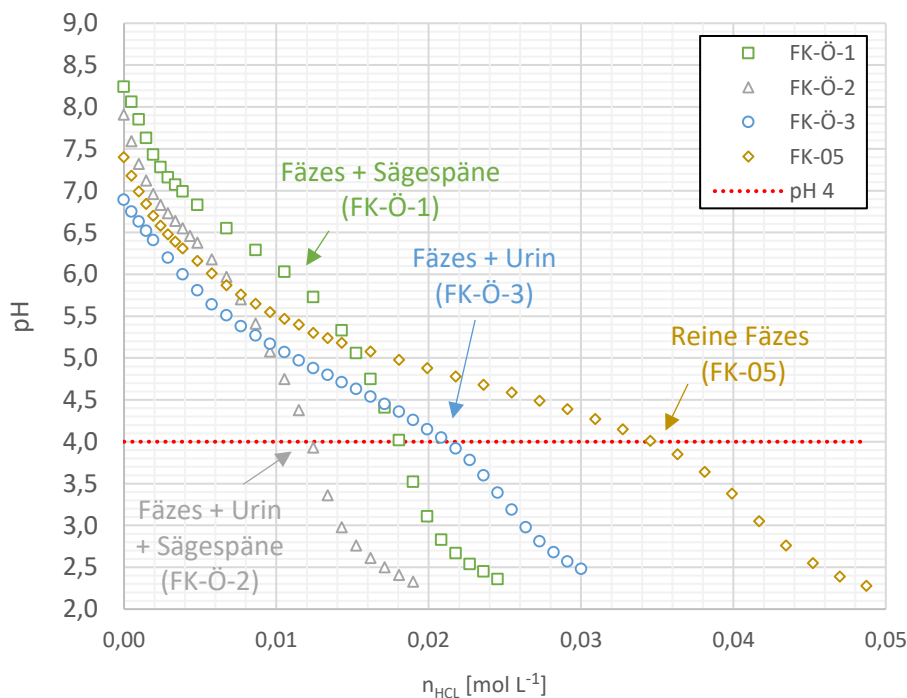


Abbildung 14: pH-Werte in Abhängigkeit von der Säurekonzentration zur Bestimmung der Pufferkapazität der verwendeten Fäzes-Proben.

Hervorzuheben sind ebenfalls die sich relativ stark unterscheidenden Anfangs-pH-Werte der jeweiligen Fäzes-Proben. Diese haben zusätzlich einen Einfluss auf die benötigte Menge an Säurezugabe, spielen neben der Pufferkapazität jedoch scheinbar eine untergeordnete Rolle.

Der beobachtete starke Unterschied der Pufferkapazitäten kann auf die unterschiedliche Zusammensetzung der Fäzes-Proben zurückgeführt werden. Die Pufferkapazität biologischer Substrate wird vor allem durch den Anteil anorganischer Bestandteile, den Gehalt pufferbildender Salze, z. B. Phosphate, Bicarbonate, Ammonium, sowie das Vorhandensein puffernder Proteine beeinflusst (Sommer and Husted, 1995). Diese finden analytisch Ausdruck insbesondere in der oTS (Anteil der Organik), in der elektrischen Leitfähigkeit (Salzgehalt), sowie in bestimmten spezifischen Salzen, z.B. Ammonium.

Die beobachteten Pufferkapazitäten korrelieren mit der jeweiligen Zusammensetzung der Fäzes-Proben (Tabelle 1, Seite 24). Beispielsweise weist Fäzes-Probe FK-05 mit der höchsten Pufferkapazität gleichzeitig den niedrigsten oTS, die höchste Leitfähigkeit, sowie den höchsten Ammonium-Stickstoff-Gehalt auf. Fäzes-Probe FK-Ö-2 mit der niedrigsten Pufferkapazität weist dagegen den höchsten oTS, die niedrigste Leitfähigkeit, sowie den niedrigsten Ammonium-Stickstoff-Gehalt auf.

3.3.5 Einfluss von Luft-Sauerstoff

Die Untersuchung zum Einfluss von Luftsauerstoff auf die LAF zeigte, dass eine Zufuhr von Umgebungsluft bei den meisten Ansätzen keinen signifikanten Einfluss auf die pH-Absenkung, die Bildung organischer Säuren oder die Konzentration an MSB hatte (Abbildung 15). Sowohl in geschlossenen als auch in belüfteten Ansätzen verlief die Fermentation in ähnlicher Weise, insbesondere bei reinen Fäzes ohne strukturierende Zuschläge.

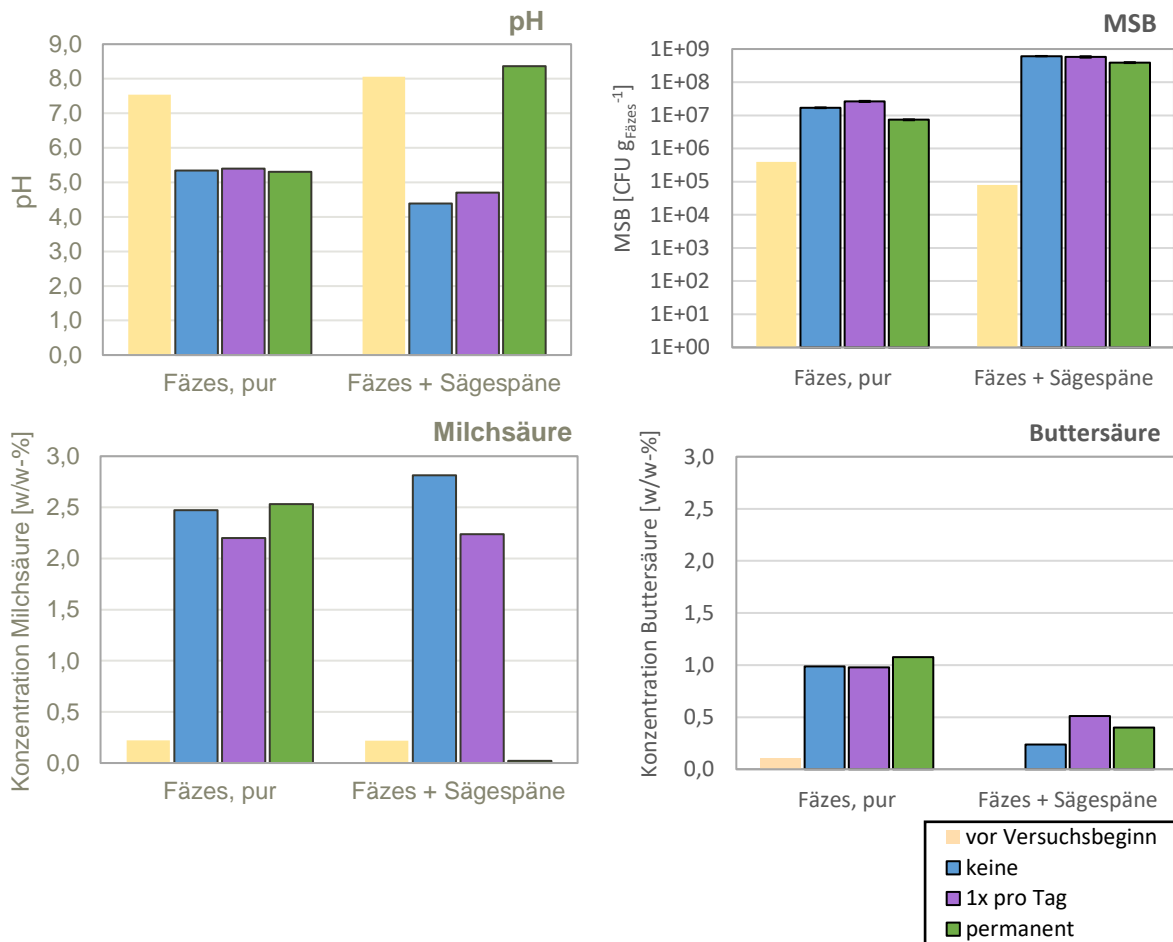


Abbildung 15: pH-Wert (oben links), Konzentrationen von Milchsäure und Buttersäure (unten) und MSB (oben rechts) in Fäzes-Proben mit und ohne Zusatz von Sägespänen in Abhängigkeit von der Luftzufuhr am Anfang des Versuches und nach 15 Versuchstagen.

Eine Ausnahme bildete jedoch der Ansatz mit Zugabe von Sägespänen und permanenter Luftzufuhr. In diesem Fall konnte weder ein pH-Abfall noch eine Bildung von Milchsäure oder Buttersäure festgestellt werden. Bemerkenswert ist, dass dennoch eine vergleichbare MSB-Konzentration wie in anderen Ansätzen gemessen wurde. Dies deutet darauf hin, dass die Milchsäurebakterien zunächst aktiv waren, die Fermentation jedoch unter dem Einfluss des durchgängig verfügbaren Sauerstoffs nicht aufrechterhalten werden konnte.

In allen Proben war zudem eine deutliche Zunahme der MSB-Konzentration zu beobachten. Besonders ausgeprägt war dieser Effekt in den Ansätzen mit Sägespänen, wo die MSB-Zahl um bis zu vier Größenordnungen (log 4) anstieg. In den Ansätzen ohne Sägespäne fiel die Zunahme mit etwa zwei Größenordnungen (log 2) deutlich geringer aus.

Das beobachtete Verhalten weist darauf hin, dass die Fermentation selbst bei äußerem Luftkontakt weitgehend anaerob abläuft, zumindest unter den gegebenen Bedingungen. Bei der Verwendung reiner Fäzes verhindert die schlammartige Konsistenz des Materials das Eindringen von Luft in tiefere Schichten. Es entstehen keine Hohlräume, und gelöster Sauerstoff wird nicht effektiv in das Substrat transportiert.

Im Gegensatz dazu führen strukturebende Zuschläge wie Sägespäne zur Ausbildung von Porenräumen, die bei permanenter Luftzufuhr eine Durchlüftung des Materials ermöglichen. Dies kann die mikrobielle Zusammensetzung verändern und die Entwicklung einer anaeroben Milchsäuregärung unterbinden, wie im beschriebenen Ausnahmefall beobachtet.

Bewertung

Die Ergebnisse legen nahe, dass Luftzufuhr nur dann einen negativen Einfluss auf die Fermentation hat, wenn strukturebende Materialien wie Sägespäne zugesetzt werden und gleichzeitig eine kontinuierliche Belüftung erfolgt. In Abwesenheit solcher Zuschläge oder bei begrenztem Luftkontakt verläuft die Fermentation auch unter nicht vollständig abgedichteten Bedingungen erfolgreich.

3.3.6 Einfluss der Zugabe von Hilfsstoffen

Die Wirkung verschiedener Hilfsstoffe auf den Fermentationsverlauf wurde hinsichtlich pH-Absenkung, Geruchsentwicklung und Schaumbildung untersucht. Getestet wurden Pflanzkohle, Bentonit, Gesteinsmehl, Ammovit® sowie die Verdünnung mit Wasser.

Die Zugabe von Pflanzkohle (bis 10 %), Bentonit und Gesteinsmehl hatte keinen bzw. nur geringen Einfluss auf die Absenkung des pH-Wertes während der Fermentation (Abbildung 16). Unterschiede zum Kontrollansatz lagen bei unter 0,3 pH-Einheiten. Auffällig war jedoch, dass der pH-Wert nach Zugabe zunächst deutlich anstieg, was auf den basischen Charakter dieser Stoffe zurückzuführen ist. Dieser Effekt war vorübergehend und wurde im Verlauf der Fermentation durch die Bildung organischer Säuren kompensiert. Die Bildung von Milchsäure, sowie deren Endkonzentration war in allen Ansätzen ähnlich.

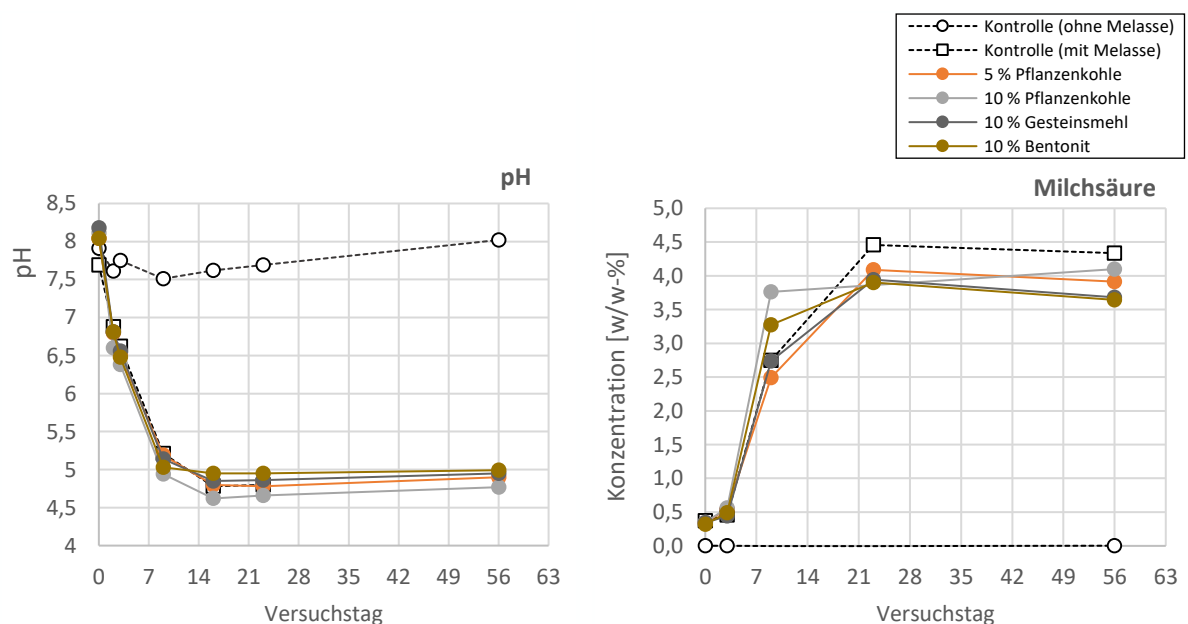


Abbildung 16: Verlauf des pH-Wertes (links) und der Konzentrationen von Milchsäure (rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe von Pflanzkohle (5 und 10 %), Gesteinsmehl (10 %) und Bentonit (10 %).

Eine deutliche Wirkung zeigte hingegen die Zugabe von Ammovit®, sowohl mit als auch ohne aktive Fermentation (Abbildung 17). Ohne Fermentation führte Ammovit® in Konzentrationen bis 5 % zu einer pH-Absenkung um 0,5–1,0 Einheiten, wobei der größte Teil der Senkung bereits innerhalb von zwei Stunden nach Zugabe eintrat. Der pH-Wert sank im weiteren Versuchsverlauf noch weiter um maximal 0,5 Einheiten ab und glich sich nach ca. zwei Monaten langsam wieder dem Ausgangs-pH-Wert an. In Kombination mit Melasse bewirkte Ammovit® eine zusätzliche pH-Absenkung von etwa 0,15 Einheiten bei 2 % Zugabe und bis zu 0,3 Einheiten bei 5 % Zugabe im Vergleich zum Kontrollansatz. In den Ansätzen mit Melasse erfolgte die Bildung von Milchsäure deutlich beschleunigt, wenn Ammovit® zugegeben wurde. Die erreichten Endkonzentrationen waren dagegen in den Ansätzen mit und ohne Ammovit® identisch. In den Ansätzen mit Ammovit®-Zugabe und ohne Melasse wurde keine Milchsäure gebildet.

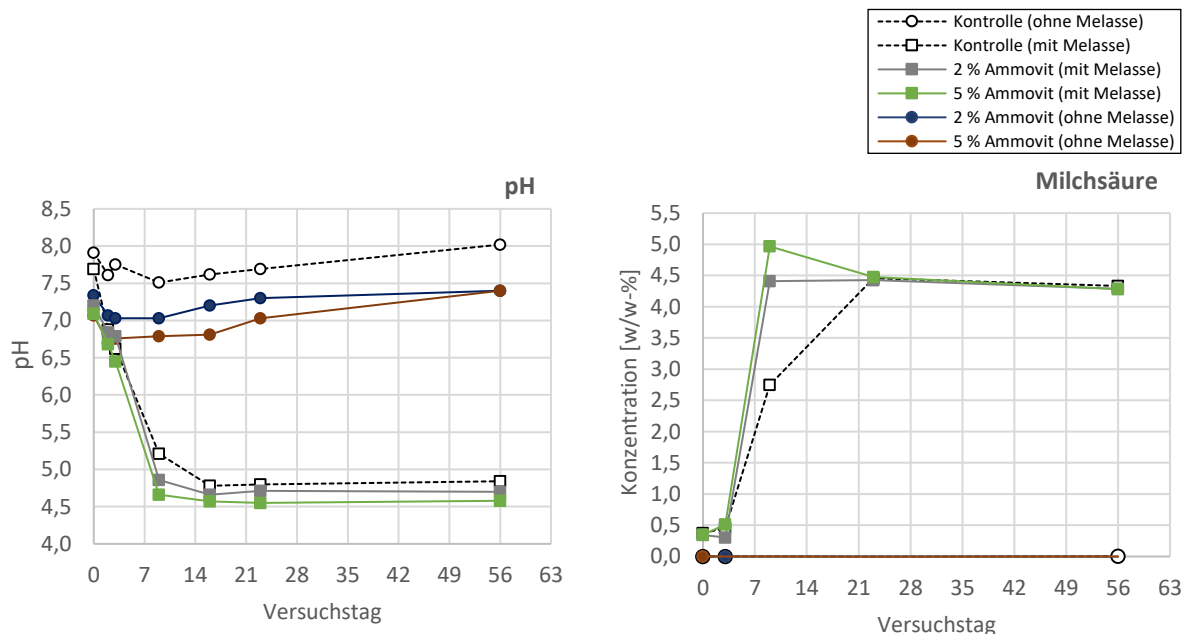


Abbildung 17: Verlauf des pH-Wertes (links) und der Konzentrationen von Milchsäure (rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe von Ammovit® (2 und 5 %) mit und ohne Zugabe von Melasse.

Die Verdünnung der Fäzes mit Wasser hatte nur einen sehr geringen Einfluss auf die pH-Absenkung im Verlauf der Fermentation (Abbildung 18). Der erreichte End-pH-Wert lag leicht höher als im Kontrollansatz ohne Wasserzugabe. Gleichfalls bildete sich im Ansatz mit Wasserzugabe deutlich weniger Milchsäure, dafür deutlich mehr Buttersäure, was auf eine Fehlgärung hindeutet.

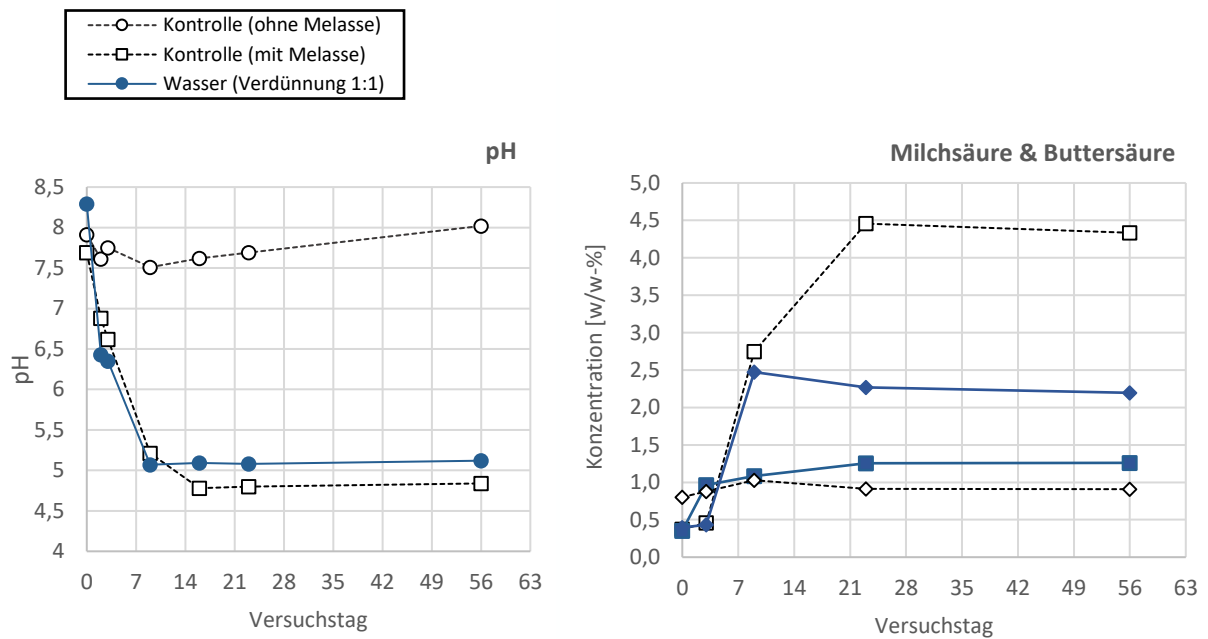


Abbildung 18: Verlauf des pH-Wertes (links) und der Konzentrationen von Milchsäure (■, □) und Buttersäure (◆, ◇) (rechts) in Abhängigkeit von der Zugabe von Wasser im Masseverhältnis 1:1.

Geruchsentwicklung

Die getesteten Hilfsstoffe beeinflussten die Geruchswahrnehmung unterschiedlich:

- Pflanzenkohle zeigte einen gering bis mäßig reduzierenden Effekt. Der typische fäkalische Geruch wurde leicht abgemildert und von einem leichten Kohlegeruch überlagert, insgesamt wirkte der Geruch etwas milder.
- Ammovit® hatte einen deutlich stärkeren Einfluss: Bereits ohne Fermentation wurde der Geruch weniger fäkalig, zeigte aber einen markanten, eisenartig-schlammigen Charakter.
- Gesteinsmehl, Bentonit und Wasser führten nur zu geringen Änderungen in der Geruchsintensität, wobei jeweils eine leichte Abmilderung festgestellt wurde.

Schaumbildung

In allen Ansätzen mit Melassezugabe kam es nach zwei bis drei Tagen zu Schaumbildung, was vermutlich auf mikrobielle Stoffwechselprodukte und Schaumbildner in der Melasse zurückzuführen ist. Die Zugabe von 5 % Ammovit® konnte die Schaumbildung deutlich reduzieren bzw. vollständig verhindern. Auch bei den Ansätzen mit Wasserverdünnung trat Schaum auf, jedoch erst im späteren Verlauf (nach mehr als 3 Tagen).

Bewertung

Unter den untersuchten Hilfsstoffen zeigte insbesondere Ammovit® eine deutliche Wirkung auf die Fermentation. Pflanzenkohle hatte milde positive Effekte auf Geruch und in höherer Dosierung eine geringe Wirkung auf den pH-Wert. Alle anderen getesteten Hilfsstoffe zeigten nur geringe Effekte, können jedoch je nach Zielsetzung (z. B. Substratstrukturierung, Feuchtigkeitsregulierung, mikrobielle Aktivierung) ergänzend sinnvoll sein.

3.3.7 Einfluss der Zugabe alternativer C-Quellen

Im Rahmen dieser Versuchsreihe wurden verschiedene alternative Substrate auf ihre Eignung als leicht abbaubare Kohlenstoffquellen für die LAF geprüft. Ziel war es, praxisnahe und regional verfügbare Materialien zu identifizieren, die die Milchsäurebildung fördern und eine stabile pH-Absenkung ermöglichen. Die Bewertung erfolgte anhand des pH-Verlaufs und der Milchsäurebildung.

Grundsätzlich konnte bei allen getesteten C-Quellen ein deutlicher pH-Abfall infolge der Milchsäurebildung festgestellt werden (Abbildung 19 und Abbildung 20). In den meisten Fällen stellte sich nach der initialen Fermentation ein stabil niedriger pH-Wert ein, der mindestens einen Monat lang konstant blieb.

Ein entscheidender Faktor war jedoch die Menge des zugegebenen Substrats. Bei Zugabe geringerer Mengen, z. B. bei Zuckerrübenmelasse, Zuckerrohrmelasse und Mango mit je 4,6 % wasserlöslichen Kohlenhydrat-Äquivalenten, kam es zwar zunächst zur Milchsäurebildung und einem pH-Abfall auf etwa 5,7–6,0, jedoch gefolgt von einem Wiederanstieg des pH-Werts. Gleichzeitig wurde ein Abbau der gebildeten Milchsäure und die Bildung längerer Fettsäuren wie Buttersäure, Valeriansäure und Capronsäure beobachtet (Abbildung 19). In diesen Fällen war die zugegebene Kohlenstoffmenge offenbar nicht ausreichend für eine stabile LAF.

Zuckerrohrmelasse zeigte einen dem der Zuckerrübenmelasse sehr ähnlichen Verlauf, mit durchweg etwas geringerem pH-Wert. Sowohl die initialen Zuckerwerte als auch die gebildete Milchsäuremenge waren vergleichbar.

Die Zugabe von **Melasseschnitzeln** führte zu einem schnelleren pH-Abfall und einer rascheren Milchsäurebildung als im Fall von Zuckerrübenmelasse, obwohl die Zuckergehalte und Milchsäureendkonzentrationen identisch waren. Auffällig war der deutlich niedrigere End-pH-Wert (ca. 4,7). Dieser Effekt könnte auf die vergleichsweise hohe Substratmenge (50 g/100 g Fäzes) und den dadurch höheren Trockensubstanzgehalt zurückzuführen sein.

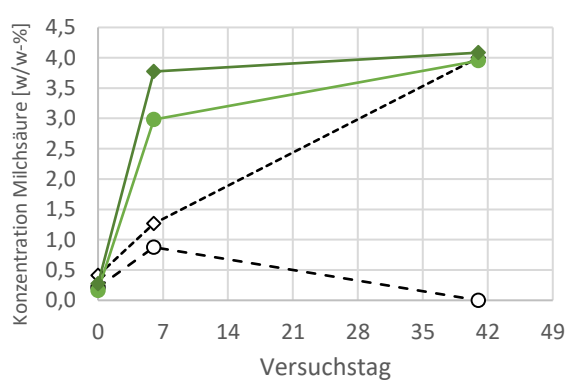
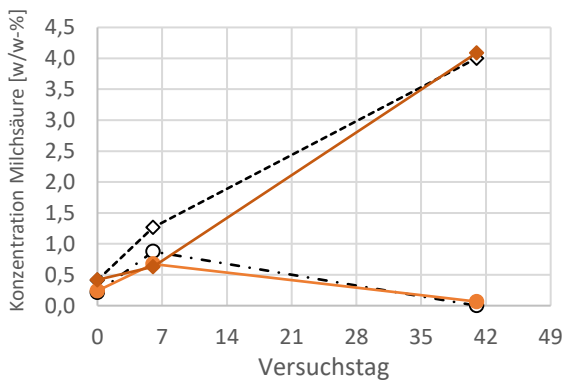
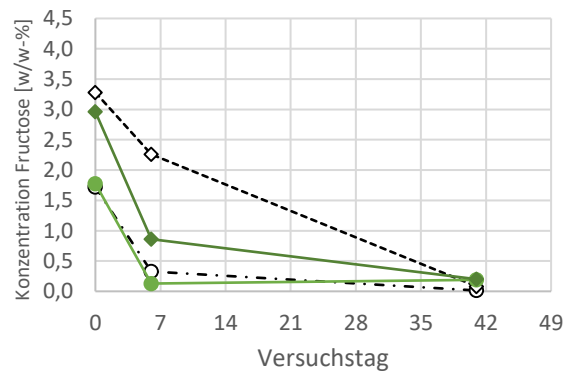
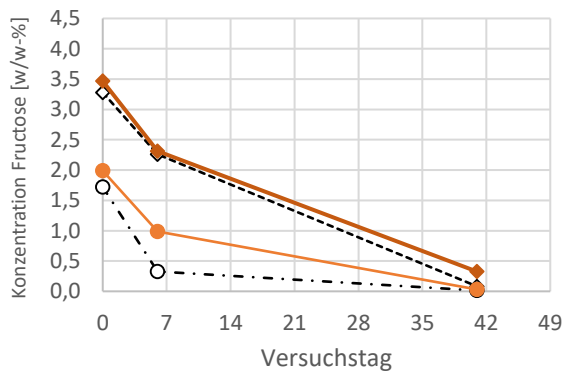
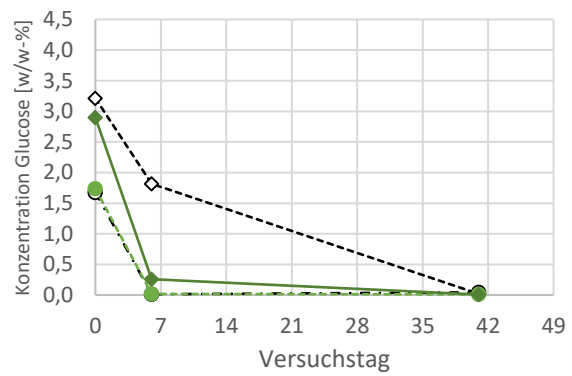
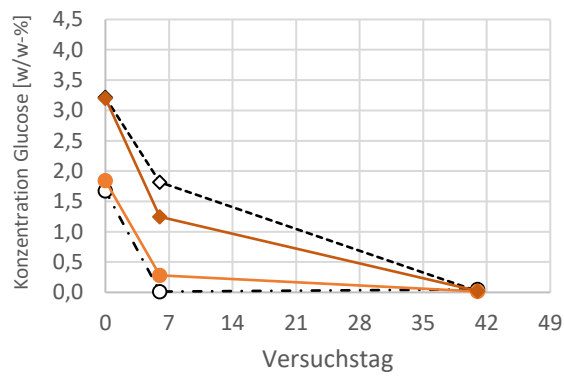
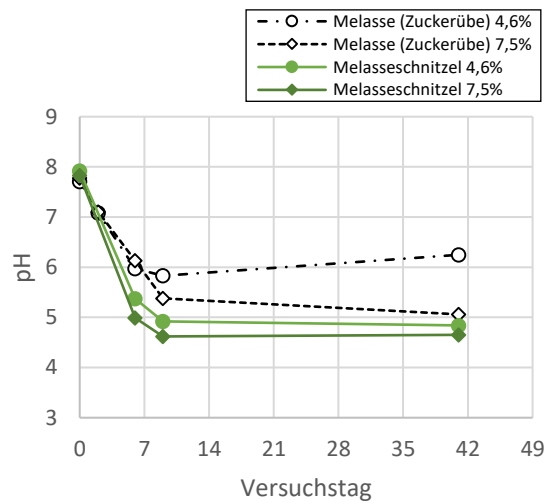
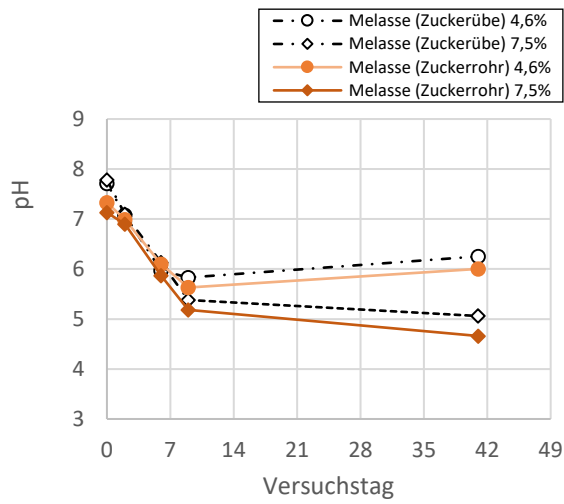


Abbildung 19: Verlauf des pH-Wertes (oben) und der Konzentrationen von Milchsäure, Glucose und Fructose bei Zugabe von Zuckerrohrmelasse und Melasseschnitzel im Vergleich zu Zuckerrübenmelasse.

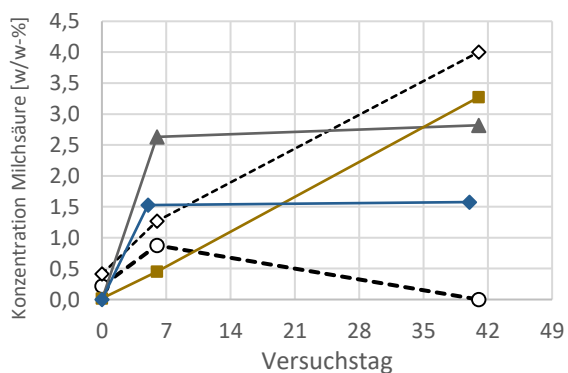
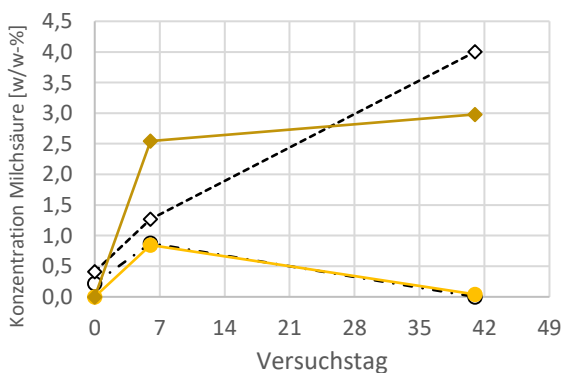
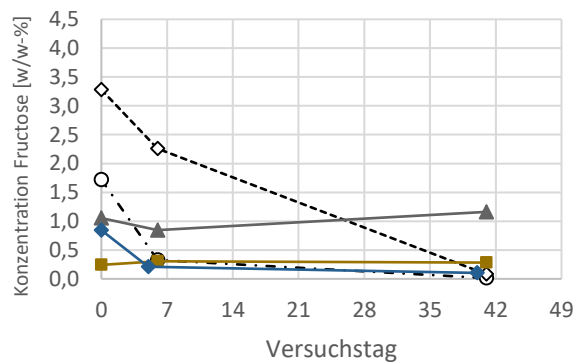
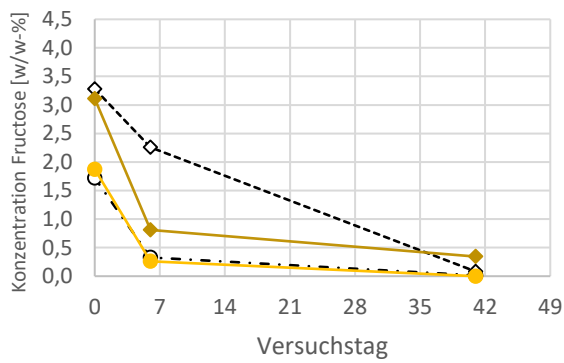
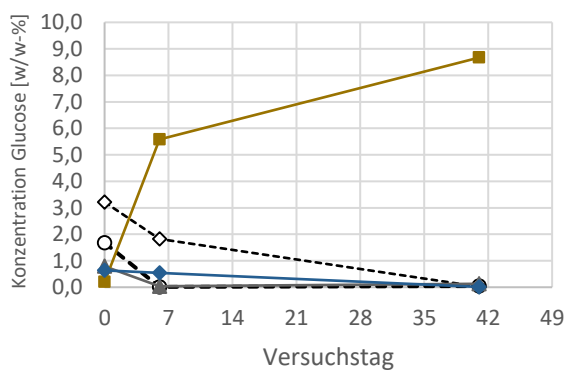
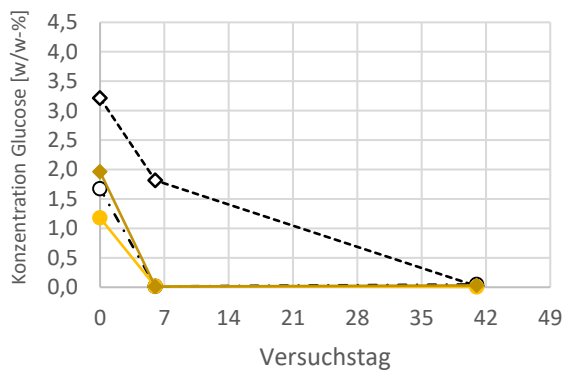
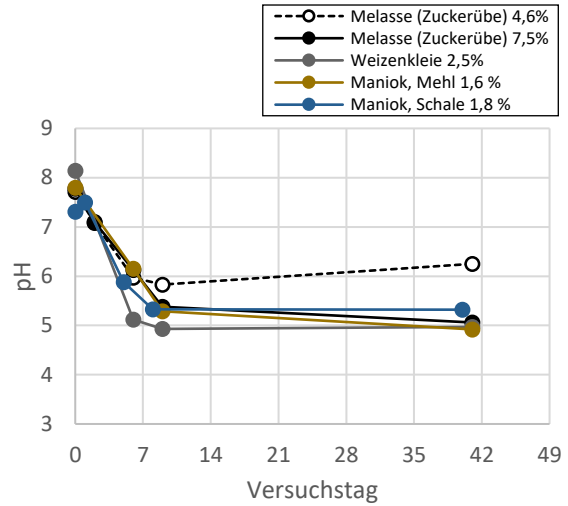
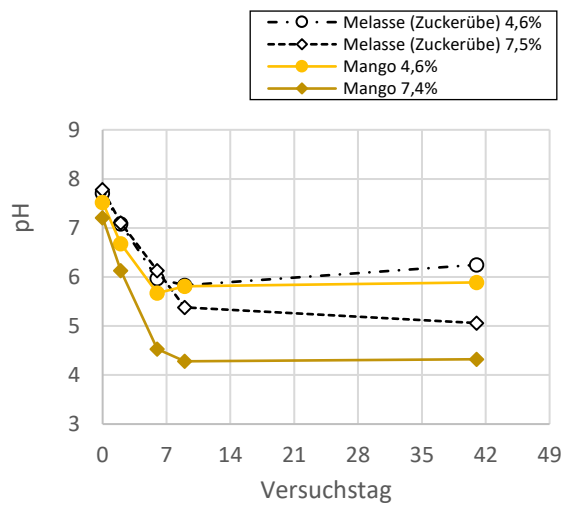


Abbildung 20: Verlauf des pH-Wertes (oben) und der Konzentrationen von Milchsäure, Glucose und Fructose bei Zugabe von Mango, Weizenkleie, Maniokmehl und Maniokschalen im Vergleich zu Zuckerrübenmelasse.

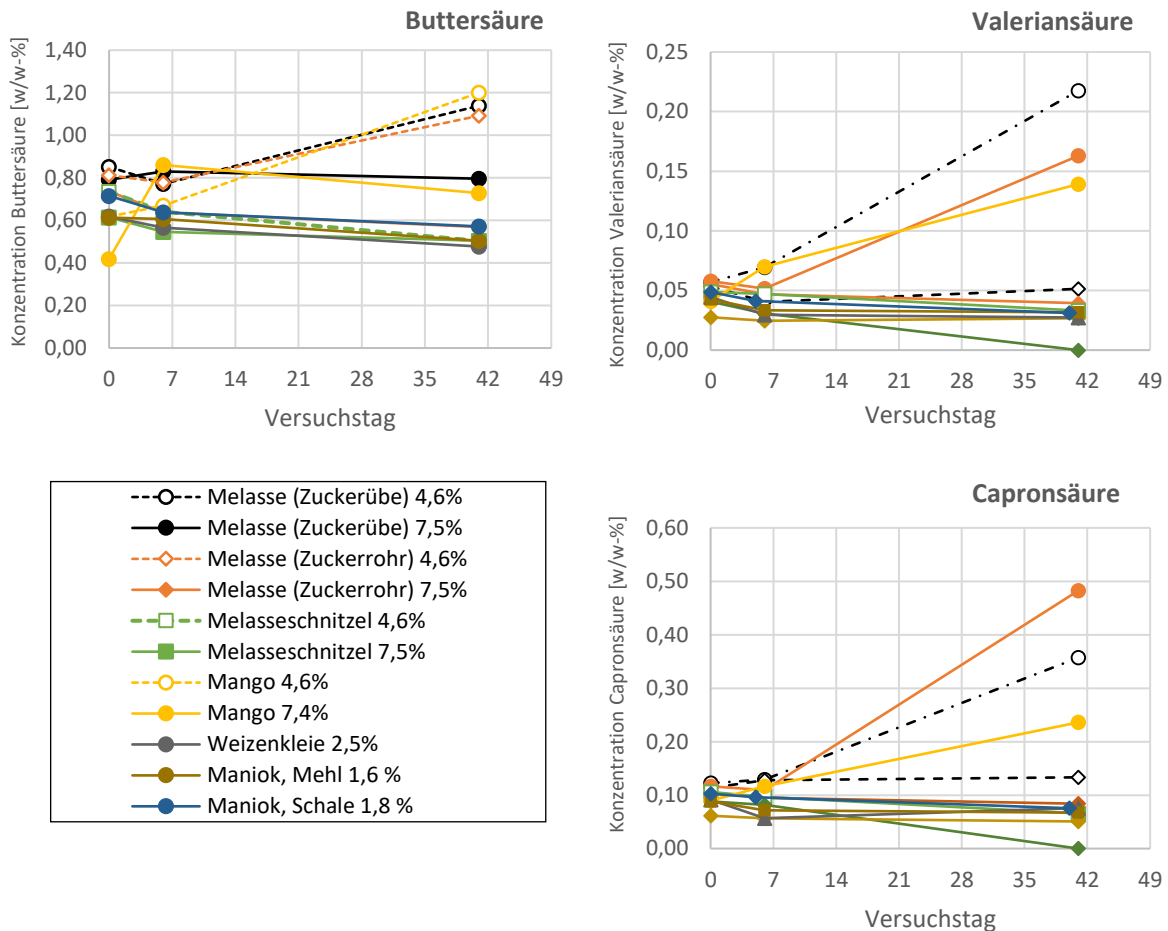


Abbildung 21: Verlauf der Konzentrationen von Buttersäure, Valeriansäure und Capronsäure bei Zugabe der getesteten C-Quellen zur LAF.

Mango (bei 7,4 % Kohlenhydrat-Äquivalent) bewirkte eine schnelle pH-Absenkung auf ca. 4,2, trotz einer geringeren Milchsäureendkonzentration im Vergleich zur Zuckerrübenmelasse. Dies lässt auf weitere im Substrat enthaltene Säuren schließen, die zur pH-Absenkung beitragen. Bei geringerer Mangozugabe (4,6 %) zeigte sich wieder das instabile Fermentationsverhalten mit Milchsäureabbau und Bildung von Buttersäure. Bemerkenswert ist auch die unterschiedliche Zuckerzusammensetzung von Mango (niedriger Glucose-, aber ähnlicher Fructosegehalt), was auf eine andere Verstoffwechslungsdynamik hindeutet.

Weizenkleie und Maniokmehl zeigten trotz vergleichsweise geringer Anfangskonzentrationen an wasserlöslichen Kohlenhydraten (1,6–2,5 %) eine stabile Fermentation mit Milchsäureendkonzentrationen von 2,8–3,3 Ma-% und pH-Werten um 5,0, ähnlich wie bei Zuckerrübenmelasse. Die beobachtete Bildung von Glucose bei Maniok lässt sich auf die enzymatische Hydrolyse der enthaltenen Stärke zurückführen. Im Ansatz mit Weizenkleien wurde hingegen Fructose gebildet, wahrscheinlich als Abbauprodukt komplexer Kohlenhydrate.

Der Versuchsansatz mit **Maniokschalen** erreichte einen stabilen pH-Wert von 5,3 und eine Milchsäurekonzentration von ca. 1,5 %, was etwas schwächer als bei anderen Substraten ausfiel. Ursache ist wahrscheinlich der niedrigere Stärkegehalt in der Schale.

Bei allen Substraten zeigte sich ein enger Zusammenhang zwischen der gebildeten Milchsäurekonzentration und der erreichten pH-Absenkung (Abbildung 22). Allerdings traten auch signifikante Unterschiede zwischen den Substraten auf. Bei identischer Milchsäurekonzentration konnten pH-Wert-Unterschiede von bis zu 1,0 Einheiten festgestellt werden, beispielsweise zwischen den Werten für Mango und Melasseschnitzel. Diese lassen sich auf mehrere Faktoren zurückführen.

- Unterschiedliche Pufferkapazität der Ansätze durch die Zugabe der jeweiligen Substrate,
- Vorhandensein organischer Säuren im Ausgangsmaterial (z. B. bei Mango),
- Unterschiede im Trockensubstanzgehalt der Gesamtmischung: Ansätze mit höherer TS (niedrigerer Wassergehalt) zeigten tendenziell bessere Fermentationsergebnisse. Dies ist ein Effekt, der jedoch weiter untersucht werden sollte.

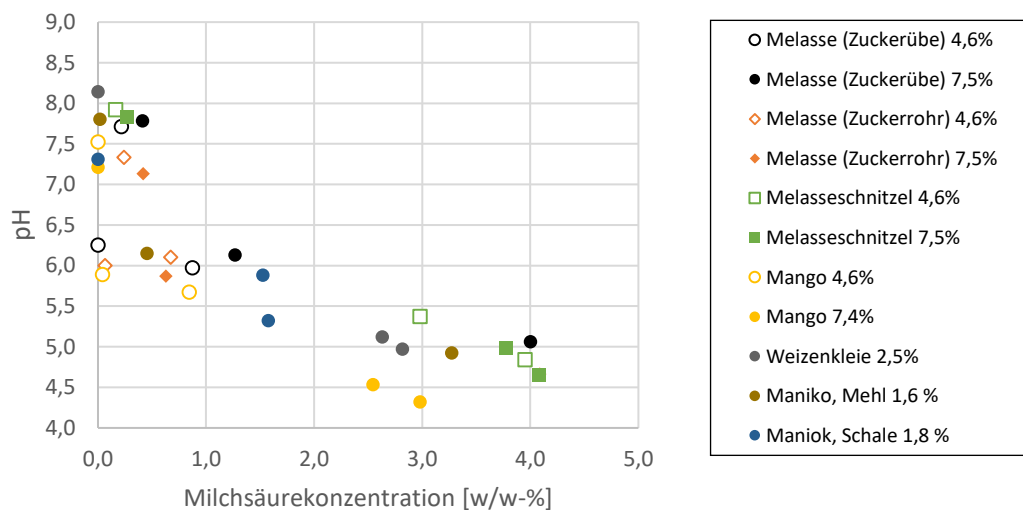


Abbildung 22: pH-Werte in Abhängigkeit von der Milchsäurekonzentration der Versuchsansätze unter Verwendung der getesteten C-Quellen.

Bewertung

Die getesteten alternativen C-Quellen sind grundsätzlich geeignet für die Initiierung der LAF menschlicher Fäzes, sofern sie in ausreichender Menge zugesetzt werden. Einige Substrate (z. B. Melasseschnitzel, Mango, Maniok) bieten darüber hinaus vorteilhafte Eigenschaften, etwa durch das Vorhandensein zusätzlicher Säuren, komplexer Kohlenhydrate oder günstiger Effekte auf die Substratzusammensetzung. Gleichzeitig zeigen die Ergebnisse, dass die Art und Menge des Substrats sowie dessen Einfluss auf die Pufferkapazität und Trockensubstanz entscheidende Rollen spielen und bei der praktischen Anwendung berücksichtigt werden müssen.

3.3.8 Einfluss der Temperatur

Die Temperatur stellte einen zentralen Einflussfaktor für den Ablauf und die Stabilität der Laktatfermentation dar. Getestet wurden die Temperaturen 8 °C, 20 °C und 30 °C an drei unterschiedlichen Fäzesproben (FK-05, HA-05 und HA-06).

FK-05

Die Fäzesprobe FK-05 wies zu Beginn einen vergleichsweise hohen pH-Wert von etwa 8,0 auf (Abbildung 23, oben). Bei 20 °C und 30 °C erfolgte zunächst ein rascher pH-Abfall innerhalb der ersten Versuchstage. Bei 30 °C wurde nach etwa 10 Tagen ein pH-Wert von 6,0 erreicht, dem jedoch ein erneuter Anstieg folgte. Bis Tag 10 bildete sich ebenfalls Milchsäure. Diese wurde allerdings im weiteren Verlauf wieder abgebaut, während vermehrt Essigsäure und Buttersäure gebildet wurden. Dies spricht für eine sekundäre mikrobielle Aktivität, vermutlich ausgelöst durch günstige Bedingungen für Essig- und Buttersäurebildner ($\text{pH} \geq 6,0$, Temperatur = 30 °C).

Bei 20 °C zeigte sich dieses Verhalten in deutlich geringerem Ausmaß. Hier konnte sich der pH-Wert im Bereich von 5,5–5,9 stabilisieren, was darauf hindeutet, dass niedrigere Temperaturen gekoppelt mit dem sauren pH-Wert die Aktivität Milchsäure-abbauender Mikroorganismen hemmen.

Bei 8 °C verlief der pH-Abfall deutlich langsamer, mit einem Mindestwert von 6,5, dem ebenfalls ein leichter Anstieg folgte. Trotz der geringen Aktivität wurden sowohl Glucose als auch Fructose nahezu vollständig abgebaut, was auf eine verzögerte, aber stattfindende Fermentation hindeutet.

Auffällig war ein pH-Anstieg auch in den unfermentierten Kontrollansätzen, ohne messbare Zunahme der Konzentrationen von organischen Säuren. Mögliche Ursachen könnten mikrobielle Abbauprozesse oder chemische Reaktionen im Material sein.

HA-05

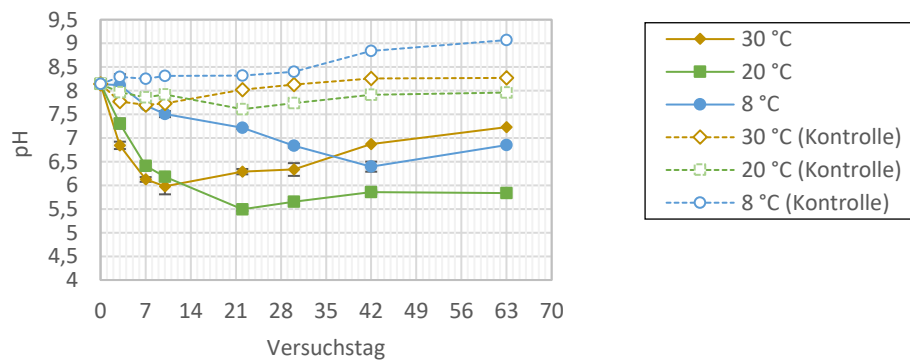
Im Gegensatz zu FK-05 lag der Ausgangs-pH-Wert der HA-05-Probe mit 6,3 deutlich niedriger (Abbildung 23, mittig). Bereits innerhalb der ersten Versuchstage kam es bei 20 °C und 30 °C zu einem pH-Abfall auf ca. 4,7, wobei der Abfall bei 30 °C schneller erfolgte. In beiden Fällen blieb der pH-Wert über den gesamten Versuchszeitraum stabil niedrig.

Parallel dazu wurde eine Reduktion der Konzentration von *E. coli* beobachtet. Bei 20 °C erfolgte eine Reduktion um log 5 auf die Nachweisgrenze ($10^1 \times \text{MPN g}^{-1}$) innerhalb von sieben Tagen, bei 30 °C erfolgte dieselbe Reduktion nach 15 Tagen. Auch bei 8 °C setzte die Fermentation ein, allerdings verzögert (nach ca. 1,5 Wochen) und verlief deutlich langsamer. Der End-pH-Wert lag hier bei 4,9, und die vollständige Reduktion von *E. coli* wurde erst nach 42 Tagen erreicht.

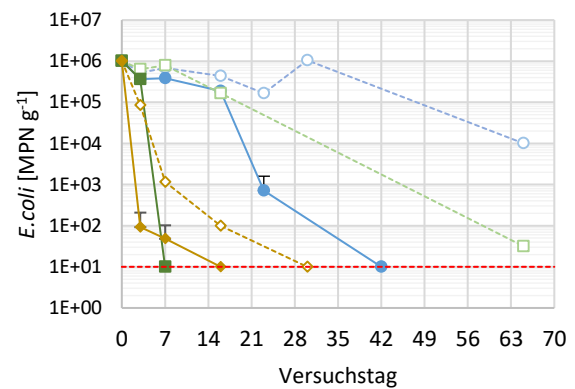
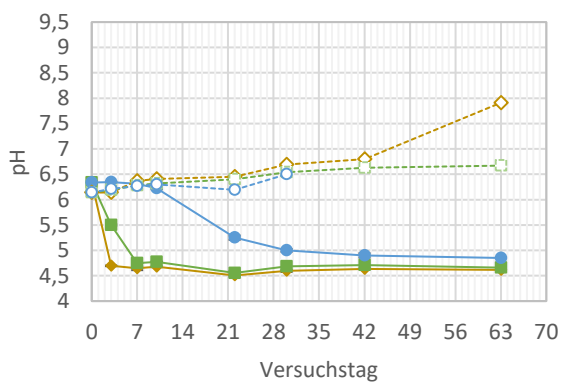
Die Messwerte der organischen Säuren spiegelten diesen Verlauf wider. Milchsäure wurde bei allen Temperaturen gebildet, ihre Konzentration blieb anschließend konstant, während Essig- und Buttersäure

nicht nachgewiesen wurden. Glucose und Fructose wurden bei allen Temperaturen vollständig abgebaut. Auch in den Kontrollen (ohne Melassezugabe) kam es zu einem leichten pH-Anstieg, und ebenfalls zu einer Reduktion von *E. coli*, am deutlichsten bei 30 °C (log 5 in 30 Tagen), am langsamsten bei 8 °C (log 2 in 65 Tagen).

FK-05



HA-05



HA-06

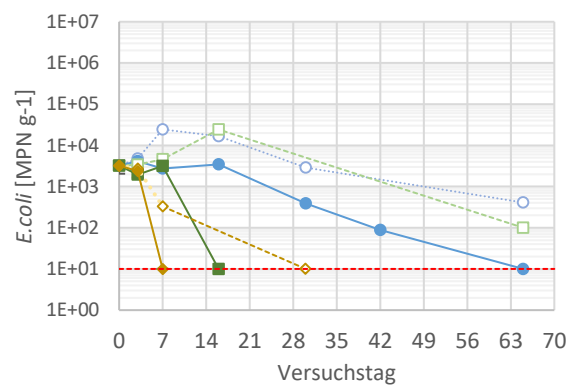
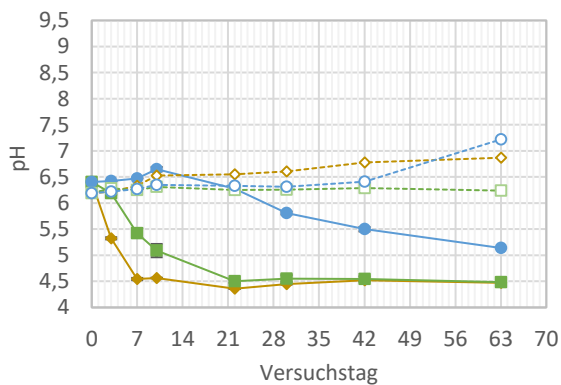


Abbildung 23: Verlauf des pH-Wertes (links) und der *E. coli* Konzentrationen (rechts) in Abhängigkeit von der Fermentationstemperatur unter Nutzung der Fäzes-Proben FK-05, HA-05 und HA-06.

HA-06

Die Ergebnisse der Probe HA-06 verliefen qualitativ ähnlich wie bei HA-05, mit leichten Abweichungen (Abbildung 23, unten):

- Die initiale *E. coli*-Konzentration war niedriger als bei HA-05 ($3,5 \times 10^3$ MPN g⁻¹), dennoch erfolgte die Eliminierung ebenso schnell.
- Der pH-Abfall bei 20 °C verlief etwas langsamer als bei HA-05.
- Bei 8 °C setzte die Fermentation erst nach über drei Wochen ein und verlief insgesamt verzögert, was auch eine langsamere *E. coli*-Eliminierung (log 3 in 65 Tagen) zur Folge hatte.

Bewertung

Die LAF funktionierte in allen getesteten Temperaturbereichen zwischen 8 °C und 30 °C, wobei jedoch deutliche Unterschiede in der Geschwindigkeit und Stabilität auftraten:

- Niedrigere Temperaturen (8 °C) führen zu verzögerter Fermentation, geringerer Milchsäurebildung und langsamerer Eliminierung von *E. coli*.
- Bei zu hohen Ausgangs-pH-Werten (z. B. FK-05) und gleichzeitig ungünstigen Temperaturen (30 °C) kann es zu instabilen Verläufen kommen, bei denen Milchsäure wieder abgebaut und durch andere Säuren ersetzt wird.
- Die erfolgreiche *E. coli*-Eliminierung korrelierte deutlich mit der erreichten pH-Absenkung und setzte ab etwa $\text{pH} \leq 6$ ein. In den Ansätzen, in denen eine Stabilisierung erreicht wurde, lagen die End-pH-Werte deutlich unter dieser Grenze (zwischen 4,5 und 4,9).

Die Ergebnisse verdeutlichen, dass Temperatur, pH-Ausgangswert und Materialzusammensetzung gemeinsam betrachtet werden müssen, um eine stabile Fermentation mit hygienisierender Wirkung sicherzustellen.

3.3.9 Einfluss der Lagerungsdauer

Die Lagerungsdauer der verwendeten Fäzesproben vor Beginn der Fermentation hatte einen klar erkennbaren Einfluss auf den Verlauf und die Stabilität der Laktatfermentation (Abbildung 24 und Abbildung 25). Mit zunehmendem Alter der Probe (FK-05) verlief die Fermentation langsamer, was sich insbesondere in einer verlängerten Zeit bis zur pH-Absenkung zeigte.

Nach Lagerung von 16 Monaten vor Versuchsbeginn konnte eine typische Stabilisierung des pH-Werts nicht mehr beobachtet werden. Zwar kam es zunächst zur Bildung von Milchsäure, was einen moderaten pH-Abfall verursachte, doch bereits nach wenigen Tagen setzte ein Wiederanstieg des pH-Werts ein. Dieser war begleitet von einem Abbau der gebildeten Milchsäure und einer gleichzeitigen Zunahme von Buttersäure. Diese Entwicklung lässt sich mit den unterschiedlichen Säurestärken erklären. Der pKs-Wert der Milchsäure liegt bei 3,90, während Buttersäure mit einem pKs von 4,82 eine deutlich geringere Säurewirkung aufweist. Der Übergang von Milchsäure zu Buttersäure führt folglich zu einem Anstieg des pH-Werts.

Die Ursache für die Verlangsamung der LAF liegt vermutlich in der nachlassenden Aktivität der Milchsäurebakterien in gealterten Fäzes-Proben. Eine Bestimmung der MSB-Konzentration nach vier Monaten Lagerung ($1,48 \times 10^5$ CFU g⁻¹ Frischmasse) und nach acht Monaten Lagerung ($2,29 \times 10^5$ CFU g⁻¹ Frischmasse) zeigte bis zu diesen Zeitpunkten keine Auffälligkeiten. Die langsamer ablaufende pH-Absenkung bietet vorteilhafte Bedingungen für andere Mikroorganismen, z.B. Buttersäurebildner (insbesondere bei Temperaturen um 30 °C und vorhandener Zuckerquelle). Offensichtlich setzen sich unter diesen Bedingungen mikrobielle Prozesse durch, die mit einer instabilen Fermentation und unerwünschter Säureumsetzung einhergehen.

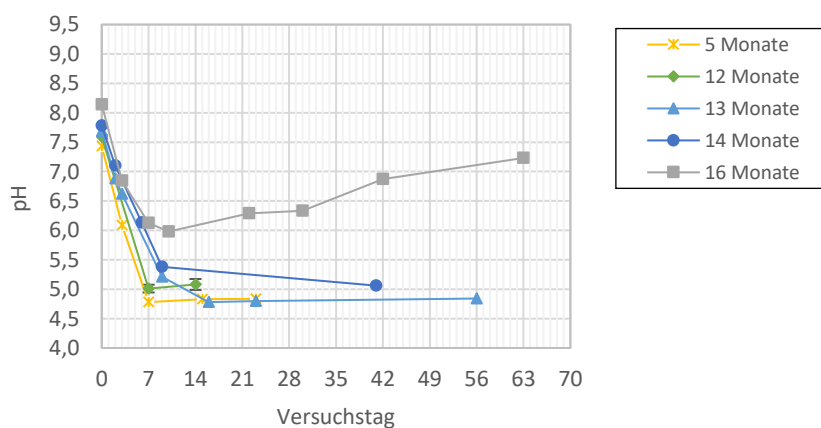


Abbildung 24: Verlauf des pH-Wertes in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der Fäzes vor der Fermentation.

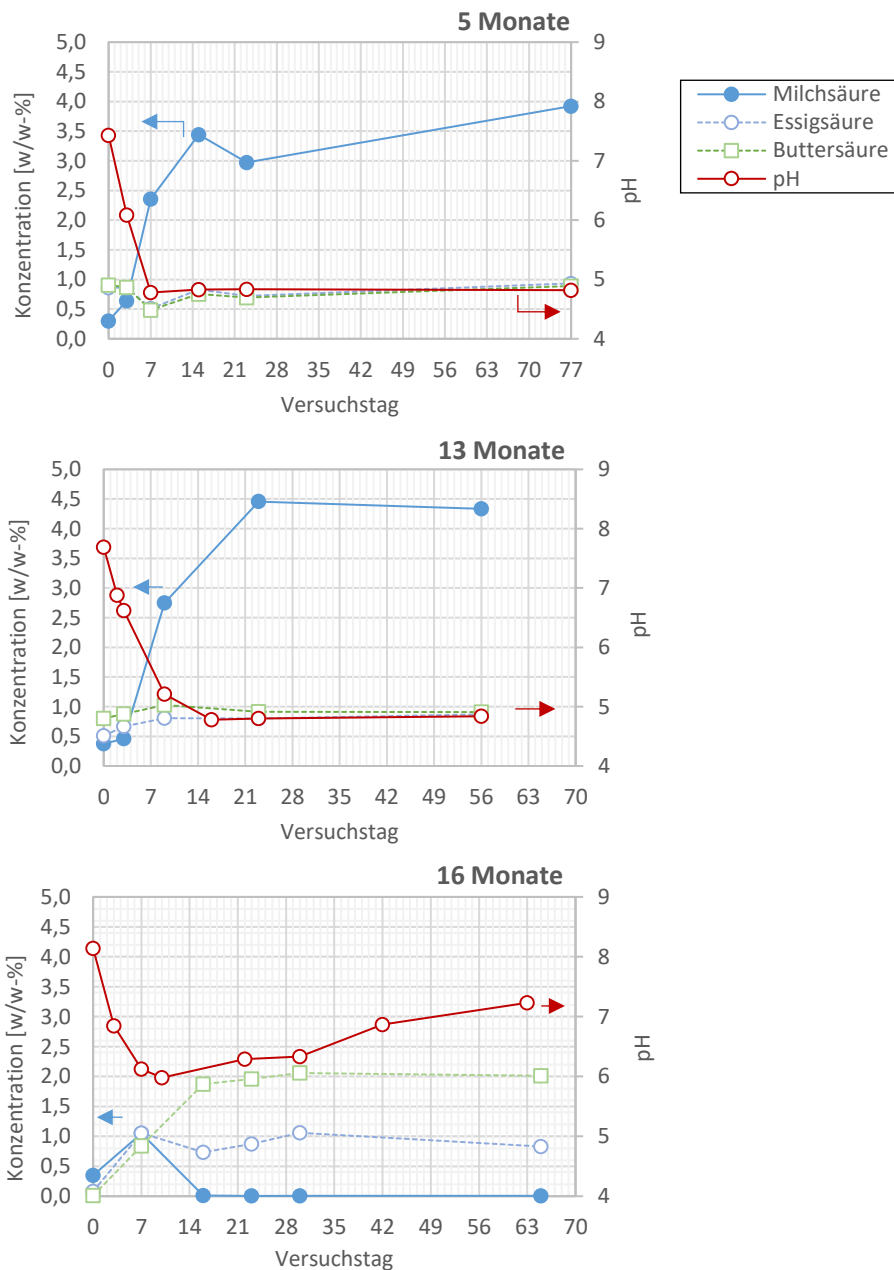


Abbildung 25: Verlauf des pH-Wertes, der Milchsäure-, Buttersäure-, und Essigsäurekonzentration in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der Fäzes vor der Fermentation

Bewertung

Die Ergebnisse zeigen, dass die Lagerungsdauer der Fäzes vor Beginn der Fermentation ein kritischer Faktor ist. Länger gelagerte Proben weisen ein erhöhtes Risiko auf, dass die Milchsäuregärung nicht stabil verläuft. Ein zu langsamer pH-Abfall kann die Fermentation zugunsten anderer Mikroorganismen verschieben, die z.B. Buttersäure und andere höhermolekulare Fettsäuren bilden, mit potentiell negativen Auswirkungen auf Hygienisierung, Prozesskontrolle und Geruch. Eine zeitnahe Initiierung der Fermentation nach Sammlung der Fäzes ist daher empfehlenswert.

3.4 Fazit

Die verfahrenstechnische Untersuchung der LAF zeigte, dass die Stabilisierung menschlicher Fäzes unter kontrollierten Bedingungen grundsätzlich zuverlässig möglich ist. Die wichtigsten Prozessziele (pH-Absenkung, Milchsäurebildung und mikrobielle Hygienisierung) wurden in der Regel erreicht, sofern zentrale Randbedingungen erfüllt waren.

Ein stabiler Fermentationsverlauf hängt maßgeblich von einer ausreichenden Versorgung mit leicht verfügbaren Kohlenhydraten ab. Dabei erwiesen sich nicht nur reine Zuckerquellen wie Saccharose oder Melasse, sondern auch praxisnahe Alternativen wie Melasseschnitzel, Mango, Weizenkleie oder Maniokmehl als geeignet. Allerdings zeigte sich, dass die Art und Menge des Substrats die Fermentation in vielfacher Hinsicht beeinflusst, unter anderem durch ihre Wirkung auf Wassergehalt, Zuckerverfügbarkeit und Säurezusammensetzung. Diese Beobachtung deckt sich mit den Beobachtung anderer Autor*innen, die ebenfalls erfolgreich verschiedene Substrate als C-Quelle für die LAF menschlicher Fäzes einsetzten, darunter Küchenabfälle (Yemaneh et al., 2014), Zuckerrübenpressrückstände (Andreev, 2017) oder Weizenkleie (Scheinemann et al., 2015).

Die Temperatur spielt eine zentrale Rolle für die Prozessgeschwindigkeit und -stabilität. Während die Fermentation bei 20 °C und in den meisten Fällen auch bei 30 °C zügig und effektiv verläuft, kommt es bei niedrigen Temperaturen (8 °C) zu einer stark verzögerten Umsetzung. Besonders in Kombination mit hohen Ausgangs-pH-Werten kann dies zur Instabilität führen, da die gebildete Milchsäure nicht erhalten bleibt und stattdessen Buttersäure entsteht. Dies ist ein unerwünschter Prozess, der mit einem pH-Anstieg und Geruchsproblemen einhergeht. Eine zuverlässige Inaktivierung von *E.coli* wurde bei erfolgreicher Fermentation demonstriert. Dies deckt sich mit den Ergebnissen anderer Studien, die ebenfalls eine vollständige Inaktivierung von *E.coli* bei erfolgreicher LAF zeigen konnten (Anderson et al., 2015; Andreev, 2017; Scheinemann et al., 2015; Yemaneh et al., 2012).

Die Zusammensetzung der Fäzes ist ein weiterer entscheidender Faktor. Trotz teils stark unterschiedlicher physikochemischer Eigenschaften verlief die LAF mit allen getesteten Fäzes-Proben erfolgreich. Überraschenderweise hatten selbst große Unterschiede in der Anfangskonzentration an Milchsäurebakterien keinen wesentlichen Einfluss auf die Prozessfähigkeit. Wichtiger scheint die Zusammensetzung des Materials zu sein, die u. a. durch Begleitstoffe, wie Urin und Sägespäne, anorganische Bestandteile und Substratzusätze beeinflusst wird. Diese scheint einen direkten Einfluss drauf zu haben, bei welcher Milchsäurekonzentration ein ausreichend niedriger pH-Wert erreicht werden kann. Dieser Zusammenhang kann eine Erklärung für die abweichenden Beobachtungen verschiedener Autor*innen sein, die teilweise deutlich niedrigere pH-Werte bei ähnlichen oder sogar niedrigeren erreichten Milchsäurekonzentrationen erreicht haben. Yemaneh et al. (2014) verwendeten beispielsweise „Schwarzwasserschlamm“ und erreichten bei Milchsäurekonzentrationen von ≤ 20 g/L (≈ 2 %-w/w) bereits pH-Werte deutlich unterhalb von 4. Anderson et al. (2015) demonstrierten das Erreichen eines pH-Wertes von 4,2 bei einer Milchsäurekonzentration von 47 g/L ($\approx 4,7$ %-w/w).

Die Versuche zeigten außerdem, dass sich durch die gezielte Zugabe von Hilfsstoffen, insbesondere Ammovit® zum Teil auch Pflanzenkohle, Geruch, Schaumbildung und pH-Verhalten beeinflussen lassen. Vergleichbare Effekte wurden auch durch andere Autor*innen gezeigt (Andreev, 2017; Scheinemann et al., 2015; Yemaneh et al., 2012). Die Zugabe von Gesteinsmehl und Bentonit zeigte dagegen keinen Effekt, was im Kontrast zu anderen Studien steht (Factura et al., 2010; Scheinemann et al., 2015). Die zusätzliche Zugabe von kommerziellen Inokula (z. B. Effektive Mikroorganismen, Brottrunk) hatte gleichfalls keinen nachweisbaren Nutzen, da die vorhandenen Milchsäurebakterien in den Fäzes bereits ausreichten um eine stabile Fermentation zu initiieren. Dies deckt sich mit den Beobachtungen aus den unter Kapitel 2 beschriebenen Arbeiten.

Nicht zuletzt hat sich gezeigt, dass die Lagerungsdauer der Fäzes vor Fermentationsbeginn einen wesentlichen Einfluss auf den Prozessverlauf hat. Mit zunehmender Alterung sinkt die biologische Aktivität des Substrats, was zu instabilen Verläufen führen kann. Daher ist eine zeitnahe Einleitung der Fermentation entscheidend für eine stabile Umsetzung.

Insgesamt belegen die Ergebnisse die grundsätzliche Wirksamkeit und Stabilität der LAF unter realitätsnahen Bedingungen. Gleichzeitig liefern sie wichtige Hinweise darauf, welche Einflussgrößen im praktischen Einsatz beachtet und gesteuert werden müssen. Die Erkenntnisse bilden somit eine fundierte Basis für die Entwicklung eines robusten, praxistauglichen Behandlungsverfahrens zur Stabilisierung und Hygienisierung fäzaler Substrate aus Trockentrenn-toiletten.

4 Pilotversuche in Mathen, Sierra Leone

4.1 Einleitung

Während die Laboruntersuchungen unter kontrollierten Bedingungen wichtige Erkenntnisse zu den Randbedingungen und Einflussgrößen der LAF lieferten, ist die praktische Umsetzung vor Ort entscheidend für den Erfolg des Verfahrens im realen Anwendungskontext. Insbesondere in ländlichen Regionen mit begrenzter Infrastruktur, wie etwa in Sierra Leone, müssen neue Sanitärkonzepte nicht nur technisch wirksam, sondern auch robust, benutzerfreundlich und kulturell akzeptabel sein.

Wasser ohne Grenzen e.V. engagiert sich in Mathen (Sierra Leone) gemeinsam mit Forikolo e.V. für den Ausbau einer nachhaltigen Trinkwasserversorgung, sanitärer Infrastruktur und beruflicher Ausbildung im Bereich Wasser- und Sanitärtechnik. Forikolo e.V. hat dort mit dem Mathen Educational Centre eine Ausbildungsstätte geschaffen, an der lokale Fachkräfte zu „WASH-Technicians“ ausgebildet werden, um die Wasser- und Abwasserversorgung in der Region langfristig zu sichern. Die Forikolo Action Group fungiert als lokaler Partner, verantwortet Bau und Infrastrukturprojekte, stärkt die regionale Eigenverantwortung („local ownership“) und treibt die Umsetzung nachhaltiger, ressourcenschonender Technologien in Mathen voran.

In diesem Zusammenhang wurden im Rahmen des Projekts Pilotversuche in Mathen durchgeführt, um die technische Umsetzbarkeit und Alltagstauglichkeit der entwickelten Fermentationslösung unter realen Bedingungen zu evaluieren. Ziel war es, das Verfahren unter den dort typischen klimatischen, sozialen und infrastrukturellen Rahmenbedingungen zu testen und auf dieser Grundlage Anpassungsbedarf zu identifizieren. Die Pilotversuche dienten zugleich als Grundlage, um Erfahrungen zur Handhabung durch lokale Nutzer*innen und zur Reaktion der Zielgruppe zu gewinnen.

Darüber hinaus boten die Feldversuche die Möglichkeit, das Verhalten des fermentierten Substrats hinsichtlich Stabilität und Geruchsentwicklung unter tropischen Bedingungen zu beobachten. Dies sind Parameter, die im Labor zwar simuliert, aber nur bedingt realitätsnah abgebildet werden können. Die hier gewonnenen Erkenntnisse bilden somit eine wichtige Brücke zwischen Forschung und Anwendung und liefern zentrale Impulse für die Weiterentwicklung des Systems und seine Integration in zukünftige Sanitärkonzepte.

4.2 Material und Methoden

Ziel der Pilotversuche am Mathen Technical College (MATEC) in Sierra Leone war es, die grundsätzliche Machbarkeit der LAF unter realen Einsatzbedingungen vor Ort zu erproben. Dabei sollte überprüft werden, ob die Fermentation mit lokal verfügbaren Materialien technisch durchführbar ist, ob sich charakteristische pH-Verläufe einstellen und ob eine Stabilisierung erreicht wird.

Die Durchführung der Versuche erfolgte durch Laborpersonal vor Ort (Morlai Bilal, Desmont, sowie zwei Studierende der MATEC). Die Schulung des Personals erfolgte im Rahmen eines zweiwöchigen

Aufenthalts von Mitgliedern des Projektteams (Klaas Witte, Forikolo e.V. und Nina Roettgers), sowie über Online-Einweisungen (Tobias Hübner, UFZ). Für die detaillierte Beschreibung und Darstellung des Versuchsablaufs wurden durch das UFZ Schulungsfilme aufgenommen und den Partnern vor Ort zu Verfügung gestellt. Weiterhin erfolgte eine fortwährende Begleitung der Versuche und regelmäßige Rücksprache mit dem UFZ über zwei-wöchentliche Video-Konferenzen.

Für alle Experimente kamen 500-mL-Kunststoffflaschen als Fermentationsgefäße zum Einsatz. Die Fermentation erfolgte im Batchbetrieb über jeweils zwei Wochen, wobei der pH-Wert alle 2–3 Tage kontrolliert wurde.

Es wurden drei Experimente mit folgenden Schwerpunkten durchgeführt:

- **Experiment 1:** Vergleich der Wirkung lokaler Kohlenstoffquellen (Zugabe von jeweils 10-Ma% Maniokmehl, Zuckerrohrsaft und Zuckerrohrpressrückständen) im Vergleich zur Kontrolle ohne Zusatz.
- **Experiment 2:** Untersuchung des Einflusses verschiedener Zuckerrohrkonzentrationen (10, 15, 20 und 30 Ma-%) auf den Verlauf des pH-Wertes.
- **Experiment 3:** Vergleich von Zuckerrüben- und Zuckerrohrmelasse in jeweils zwei Konzentrationen (10 und 20 Ma-%) hinsichtlich ihres Einflusses auf pH und Stabilität.

In Experiment 1 wurde zusätzlich die MSB-Konzentration der verwendeten Fäzes bestimmt. Die pH-Messung erfolgte nach drei verschiedenen Methoden: 1. direkt im Substrat mittels pH-Messgerät (PCE-228, PCE Instruments, Deutschland), 2. im Eluat mittels pH-Messgerät (PCE-228) und 3. im Eluat mittels pH-Teststreifen (Merck, Deutschland). In den Experimenten 2 und 3 beschränkten sich die Analysen auf die pH-Messung im Eluat mittels pH-Messgerät.

4.3 Ergebnisse & Diskussion

Experiment 1: Casava (Maniok), Zuckerrohrsaft und Zuckerrohrpressrückstände

Die Zugabe von Maniokmehl führte zu einem initialen pH-Abfall auf ca. 5,0, jedoch stieg der pH-Wert im weiteren Verlauf wieder leicht an. Am Ende des Versuchs war keine Milchsäure mehr nachweisbar, stattdessen wurden Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure detektiert. Der Zucker war vollständig abgebaut, und es konnten weiterhin lebensfähige MSB nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse deuten auf eine zunächst funktionierende, jedoch instabile Fermentation hin, vermutlich aufgrund ungenügender Milchsäurekonzentration bzw. Pufferung.

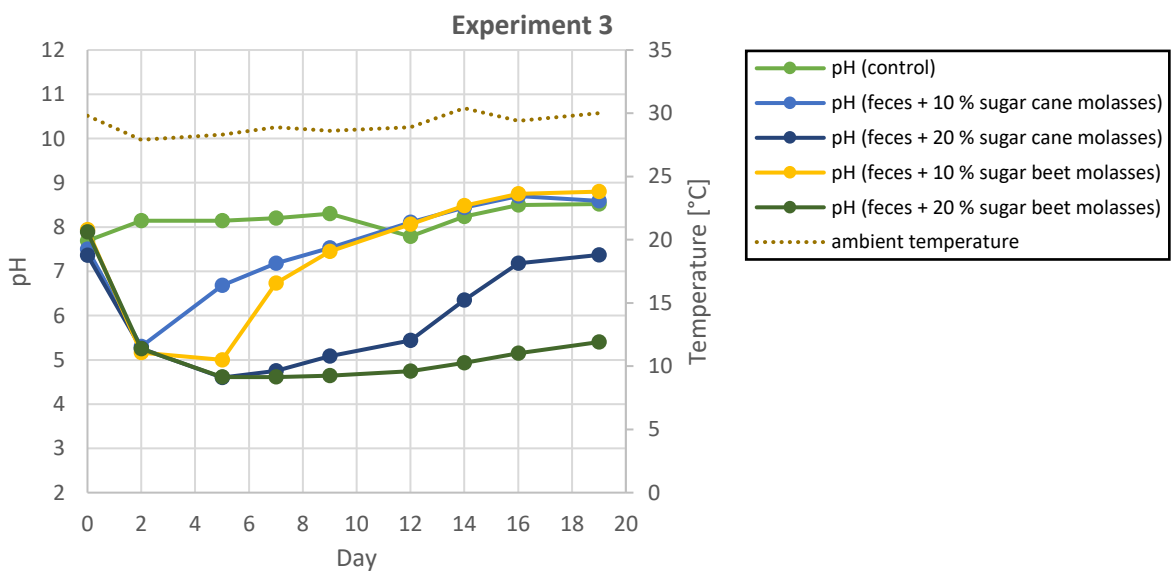
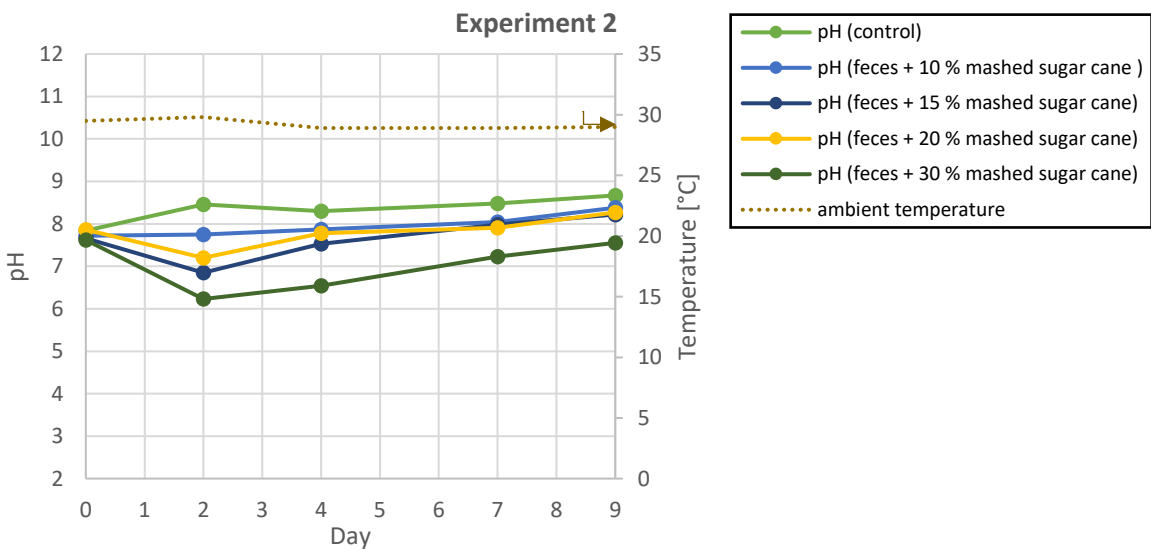
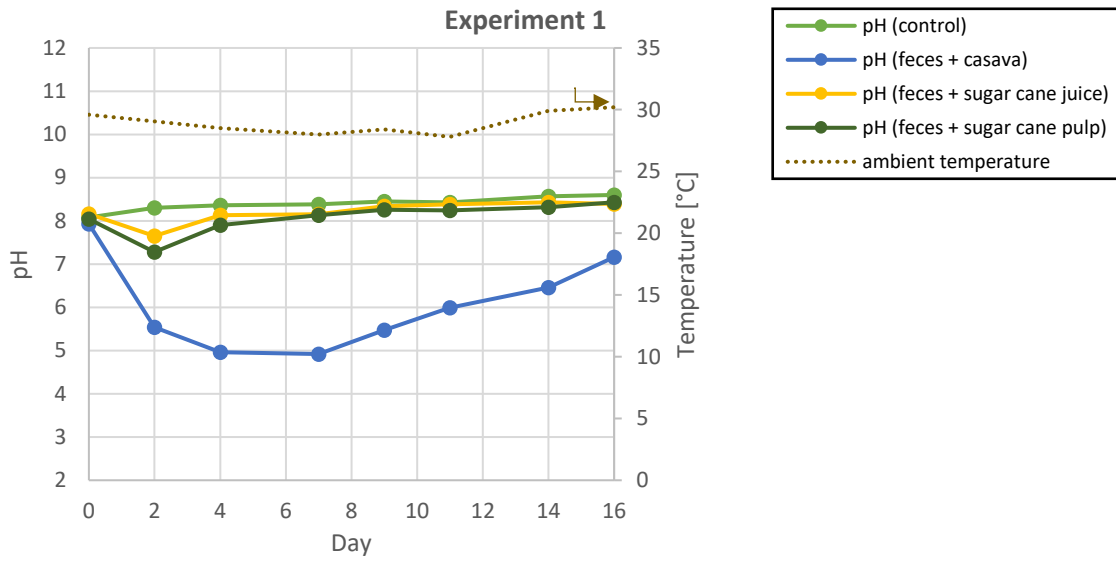


Abbildung 26: pH-Verläufe der in Mathen, Sierra Leone, durchgeführten Experimente unter Zugabe verschiedener C-Quellen für die LAF.

In den Ansätzen mit Zuckerrohrsaft und Zuckerrohrpressrückständen konnte kein signifikanter pH-Abfall beobachtet werden. Die Werte blieben vergleichbar zur Kontrolle. Es wurden keine organischen Säuren gebildet, und auch keine Zucker mehr detektiert, was auf einen schnellen Verbrauch ohne begleitende Säurebildung hindeutet. MSB konnten nicht nachgewiesen werden, was auf eine fehlende oder unzureichende mikrobielle Aktivität schließen lässt. Eine mögliche Ursache könnte eine zu geringe Anfangskonzentration an verfügbaren Zuckern sein; diese sollte in künftigen Versuchen genauer bestimmt werden.

Experiment 2: Zuckerrohr in steigender Konzentration

Die Verwendung von Zuckerrohr (Saft + Faser) in steigenden Konzentrationen (10–30 Ma-%) führte lediglich zu einer geringfügigen Verbesserung des pH-Abfalls (maximal um 1,5 Einheiten). Allerdings stieg der pH-Wert bereits nach zwei Tagen wieder an, was auf eine nicht stabil verlaufende Fermentation hindeutet. Ein nachhaltiger pH-Abfall, wie er für eine hygienisierende LAF erforderlich wäre, konnte nicht erreicht werden.

Experiment 3: Zuckerrohrmelasse vs. Zuckerrübenmelasse

In allen Ansätzen wurde ein pH-Abfall beobachtet, jedoch folgte in allen Fällen ein erneuter Anstieg, was auf eine instabile Säurebildung schließen lässt. Die Zuckerrohrmelasse führte unabhängig von der Konzentration (10 % oder 20 %) zu einem End-pH von ca. 5,0. Mit Zuckerrübenmelasse wurden leicht niedrigere pH-Werte (ca. 4,6) erreicht, ebenfalls unabhängig von der eingesetzten Konzentration. In beiden Fällen war der pH-Wertverlauf stabiler, wenn eine höhere Konzentration verwendet wurde, insbesondere bei Zuckerrübenmelasse, die sich damit etwas besser geeignet zeigte.

4.4 Fazit

Die Ergebnisse zeigen, dass Maniokmehl grundsätzlich für die LAF geeignet ist, jedoch möglicherweise in höherer Dosierung eingesetzt werden muss, um eine stabile Fermentation zu erreichen. Die Ergebnisse mit Zuckerrohrprodukten waren insgesamt nicht zufriedenstellend. Weder Saft noch Pressrückstände führten zu einer nennenswerten Säurebildung, und auch bei Melasse konnte keine dauerhafte pH-Stabilisierung beobachtet werden, trotz Zugabemengen von bis zu 20 Ma-%. Warum Zuckerrohr (in all seinen Formen) sich im Gegensatz zu anderen Substraten nicht bewährt hat, bleibt offen und bedarf weiterer Untersuchung.

Aufgrund der oben beschriebenen Umstände waren vorgesehene weiterführende Untersuchungen der stabilisierten Fäzes hinsichtlich Hygienisierung (*E.coli* und Wurmeier) nicht möglich.

Für zukünftige Feldversuche ergeben sich folgende Konsequenzen:

- Wiederholung der Versuche mit Maniok, unter Erhöhung der Konzentration oder separater Vorfermentation des Manioks vor dessen Zugabe zu den Fäzes,

- Einsatz unterschiedlicher Fäzesproben, insbesondere auch der flüssigen Phase, um mögliche substratabhängige Effekte zu erkennen,
- Quantifizierung der Zuckergehalte vor Versuchsbeginn, um die Wirksamkeit der C-Quellen-Zugabe besser bewerten zu können,
- Untersuchung der Pufferkapazität der eingesetzten Fäzes,
- Untersuchung des Einflusses der Umgebungstemperatur auf den Fermentationsverlauf.

Die Pilotversuche haben damit wichtige Ansatzpunkte für die Optimierung des Verfahrens unter Feldbedingungen geliefert und unterstreichen den Bedarf an weiterer Prozessanpassung vor Ort.

5 Untersuchung des Abbaus pharmazeutischer Rückstände durch die LAF

5.1 Einleitung

Im Projekt Faekashi wurde die LAF als technisch einfache, lokal adaptierbare Vorbehandlung für fäkale Substrate untersucht, primär mit Blick auf pH-geführte Stabilisierung, Geruchsminderung und hygienische Wirksamkeit. Vor dem Hintergrund einer möglichen stofflichen Verwertung fermentierter Produkte ist außerdem die Frage zentral, ob während der LAF auch pharmazeutische Rückstände abgebaut werden, die in den zu behandelnden Fäzes enthalten sind. Die folgenden Arbeiten wurden im Rahmen der Masterarbeit von Lithiya James durchgeführt (James, 2025). Die Untersuchungen liefern erstmals experimentelle Daten zum Verbleib ausgewählter Pharmazeutika während einer standardisierten 21-tägigen LAF.

5.1.1 Theoretische Grundlagen zum Abbau pharmazeutischer Rückstände unter anaeroben bzw. fermentativen Bedingungen

Prinzipiell lassen sich mehrere, für die LAF relevante Mechanismen zum Abbau pharmazeutischer Rückstände ableiten (Ahmed et al., 2017; Gewurtz et al., 2022; Gworek et al., 2021; Pereira et al., 2013; Wilson and Nicholson, 2017; Zhong et al., 2022):

- **pH-abhängige Reaktionen:** Viele Wirkstoffe zeigen eine pH-abhängige Stabilität. Ein starkes Säuremilieu kann Hydrolysewege eröffnen, die die Moleküle chemisch zerstören oder in stärker hydrophile Metabolite überführen. LAF erzeugt durch Milchsäureproduktion ein solches saures Milieu, weshalb säure-induzierte Transformationen plausibel sind.
- **mikrobiell vermittelte Biotransformation:** Die fermentierende Mikroflora (vor allem Milchsäurebakterien und mitfermentierende Gemeinschaften) kann enzymatische Umwandlungen katalysieren, die zu partieller oder vollständiger Eliminierung führen, wobei deren Aktivität stoff- und matrixabhängig ist. Frühere Arbeiten weisen darauf hin, dass besonders bestimmte Antibiotikagruppen in anaeroben/sauren Umgebungen abbaubar sind (z. B. Macrolide, Fluorchinolone, Tetracycline).
- **Sorption/Desorption und Matrixeffekte:** Pharmazeutika können in komplexen Matrices (Fäzes) stark sorbiert vorliegen. Eine Fermentation kann zur Veränderung solcher Sorptionsgleichgewichte führen, wodurch gebundene Fraktionen freigesetzt werden können, was zu anfänglichen Konzentrationsanstiegen (»Re-release«) führt. Solche Effekte sind besonders beispielsweise bei phenolischen Verbindungen und stärker lipophilen Stoffen bekannt.
- **Metabolit-Interkonversion:** Konjugierte Metaboliten (z. B. Glucuronide oder Sulfate) können durch mikrobiell oder chemisch katalysierte Hydrolyse wieder in die freie, oft biologisch aktiverere

Form überführt werden. Das Ergebnis kann eine scheinbare »Anreicherung« von Parent-Verbindungen im Verlauf der Fermentation sein.

Verschiedene Studien behandeln das Auftreten pharmazeutischer Rückstände in gemischten Abwässern oder Klärschlamm (Ahmed et al., 2017; Gewurtz et al., 2022; Schinkel et al., 2025) und in reinem Urin (Lienert et al., 2007; Zhou et al., 2021). Wenige Studien beschäftigen sich dagegen mit dem Vorkommen von Pharmazeutika in reinen Fäzes. Winker et al. (2008) führten vergleichende Analysen zum Vorkommen pharmazeutischer Spurenstoffe in menschlichen Ausscheidungen (Fäzes und Urin) durch und zeigten große Unterschiede zwischen deren Auftreten in Fäzes und Urin. Darüber hinaus untersuchte Heinzelmann (2020) im Rahmen einer Bachelorarbeit die Inhalte aus Trockentrenntoiletten die auf verschiedenen Musik-Festivals gesammelt wurden auf ca. 600 verschiedene Substanzen.

5.1.2 Zielstellung der Untersuchung

Vor dem Hintergrund der bisherigen Erkenntnisse ergibt sich die wissenschaftliche und praxisrelevante Fragestellung, ob während der LAF menschlicher Fäzes ein Abbau pharmazeutischer Rückstände stattfindet. Um diese Frage empirisch zu beantworten, wurde eine Abbaustudie über einen Versuchszeitraum von 21 Tagen durchgeführt. Zwei verschiedene Fäzesproben wurden hierzu mit einer Mischung aus zwölf ausgewählten Pharmazeutika dotiert (je 300 ng/g) und zeitlich gestaffelt beprobt (Tag 0, 7, 21). Anschließend erfolgte eine Extraktion der Proben, ein Clean-up und die quantitative Bestimmung der Pharmazeutika mittels LC-MS/MS. Die Ergebnisse liefern Vergleichsdaten für den Verbleib verschiedener Pharmazeutika unter LAF-Bedingungen und ermöglichen damit erstmals eine Bewertung der LAF als Vorbehandlung im Rahmen der stofflichen Verwertung von Fäzes.

5.2 Material und Methoden

5.2.1 Probenmaterial und Grundcharakteristika

Die Degradationsversuche wurden an zwei unterschiedlichen, vorab charakterisierten Fäzesproben (HA-05 und HA-06) durchgeführt. Die Ausgangsproben unterscheiden sich in TS, oTS, pH, Leitfähigkeit und LAB-Anzahl (siehe Tabelle 1, Seite 24). Diese Matrixparameter wurden als potenzielle Einflussgrößen auf die Abbaugrade berücksichtigt. Die Fäzesproben wurden homogenisiert und bei 8 °C bis zur Versuchsdurchführung gelagert.

5.2.2 Versuchsaufbau

Die Abbauprobversuche waren als Batch-Fermentationen über 21 Tage angelegt. Pro Matrix (HA-05, HA-06) wurden die folgenden Behandlungsgruppen in dreifacher Ausführung (n = 3) aufgebaut:

- **Fäzes + 15 % Melasse (w/w)** („unspiked“, fermentativ) zur Überwachung des Fermentationsverlaufs,
- **Fäzes + 15 % Melasse + Spike (300 ng/g Gesamtmischung)** („spiked“, fermentativ) als Hauptansatz zur Bestimmung der Abbaurate während der LAF,

- **Fäzes + Spike (300 ng/g), ohne Melasse** („spiked“, nicht-fermentativ) um den Abbau ohne gezielte C-Zugabe zu beurteilen.

Jeder Ansatz wurde in 50-mL-Zentrifugenröhrchen mit je 75 g Fäzes aufgelegt und mit Gärröhrchen versehen, um kontrollierte (weitgehend anaerobe) Fermentationsbedingungen zu schaffen (Abbildung 27). Pro Probenahmezeitpunkt und Gefäß wurden je 6 g Material entnommen (1 g für pH/Milchsäureanalysen; 5 g für Extraktion/LC-MS/MS). Probenahmezeitpunkte: Tag 0 (Anfangsbedingungen), Tag 7, Tag 21.



Abbildung 27: Versuchsaufbau zur Untersuchung des Abbaus pharmazeutischer Rückstände durch die LAF

5.2.3 Anreicherung („Spiking“)

Als analytischer Ausgangspunkt wurde eine Standardlösung mit zwölf ausgewählten Pharmazeutika zu je 10 mg/L hergestellt (Clarithromycin, Ciprofloxacin, Tetracyclin, Mycophenolsäure, Diclofenac, Naproxen, Carbamazepin, Valsartan, Gemfibrozil, Salicylsäure, Cetirizin, Glimepirid), sowie Koffein (10 mg/L) und Acesulfam (10 mg/L) als Tracer. Die Auswahl der Pharmazeutika wurde anhand verschiedener Kriterien getroffen, v.a. wurden Pharmazeutika gewählt, deren Nachweis nach DIN SPEC 91421 (2020) gefordert wird. Außerdem wurden Pharmazeutika gewählt, die in menschlichen Fäzes in besonders hohen Konzentrationen zu erwarten sind. Für diese Auswahl wurden unter anderem Daten aus einer vorangegangenen Arbeit (Heinzelmann, 2020).

Für die Abbauprobe wurde ein Anreicherungslevel von 300 ng/g Fäzes (bezogen auf die Frischmasse) je Pharmazeutikum verwendet. Die notwendigen Volumina aus der Standardlösung wurden rechnerisch ermittelt und den Proben homogen zugegeben.

5.2.4 Fermentationsführung und Monitoring

Die angesetzten Fermentationsgefäße wurden bei 30 °C inkubiert. Zur Überwachung der Fermentation wurden in allen Ansätzen an den Tagen 0, 7 und 21 pH-Messungen (Sentix 41, WTW pH-Elektrode) und Milchsäurebestimmungen (HPLC, siehe methodische Beschreibung Seite 25) durchgeführt. Diese

Parameter dienten als Indikatoren für die Fermentationsaktivität und wurden für jede entnommene Probe erfasst. Die Extraktion und Aufbereitung der Proben erfolgt jeweils direkt im Anschluss an die Probenahme sofern möglich. Andernfalls wurden die Proben bis zur Extraktion eingefroren (-20 °C). Ebenso wurden extrahierte Proben bis zur quantitativen Analyse per LC-MS/MS eingefroren (-20 °C).

5.2.5 Probenvorbereitung und Extraktion (LSE)

Die Extraktion der Pharmazeutika aus der Fäzes-Matrix erfolgt durch eine Liquid-Solid Extraction (LSE) die im Folgenden beschrieben ist (James, 2025).

Für die Extraktion wurden jeweils 5 g einer Fäzesprobe mit 30 mL Extraktionslösung versetzt. Die Extraktionslösung enthielt 15 mL Methanol:Acetonitril-Lösung (Verhältnis 1:2) mit 0,1 % Ameisensäure sowie 15 mL McIlvaine-EDTA-Puffer-Lösung. Der McIlvaine-EDTA-Puffer wurde auf einen Ziel-pH von 3 eingestellt. Dafür wurden 80 mL 0,1 M Zitronensäure-Monohydrat mit 20 mL 0,2 M Dinatriumhydrogenphosphat gemischt und dieser Lösung 0,37 g EDTA Lösung zugegeben (Endkonzentration 1 mM). Die Fäzesprobe wurde mit der Extraktionslösung für eine Minute gevortext und anschließend für 15 Minuten bei Raumtemperatur (50 W, 60 Hz) in einem Ultraschallbad sonifiziert. Traten während der Extraktion sichtbare Ausfällungen auf, so wurden drei aufeinanderfolgende Zyklen aus je fünf Minuten ultraschallgestützter Extraktion und fünf Minuten Vortexen durchgeführt. Nach der Sonikation wurden die Proben für 15 Minuten bei 4 °C und 6 000 × g zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig in ein sterilisiertes Glasgefäß überführt.

Dieser Extraktionsvorgang wurde mit dem verbleibenden Pellet zweimal wiederholt (insgesamt drei Durchläufe), um eine maximale Wiedergewinnung der Analyten sicherzustellen. Die Überstände aus allen drei Extraktionsdurchführungen wurden im selben Glasgefäß gesammelt und anschließend mittels PTFE-Filter (0,22 µm) filtriert.

5.2.6 Quantitative Bestimmung mittels LC-MS/MS

Die quantitativen Bestimmungen der Pharmazeutika in den Extrakten erfolgten mit einem Shimadzu LC-MS/8040 in ESI-(+)-Betrieb. Chromatographisch wurde eine Shim-pack GIST C18-Säule (2.1 × 100 mm, 3 µm) bei 35 °C verwendet. Als mobile Phase diente ein Formiat-modifiziertes Wasser/Methanol-Gradientensystem (0,1 % HCOOH), Laufgeschwindigkeit war 0,3 mL/min, Injektionsvolumen lag bei 10 µL. Laufzeit und Gradient waren so gewählt, dass die 14 Zielverbindungen sicher separiert wurden. Die Massenspektrometrie lief im SIM/MRM-Modus, Kalibrierungen wurden mit Matrix-angepassten Standards (10–100 ng/mL) durchgeführt. Qualitätssicherung erfolgte über Blanks, Matrix-Spikes und QC-Standards. Instrumentparameter (Interface-Voltage, Heat-Block, DL-Temp, Gasflüsse) wurden für die komplexe Matrix optimiert, um Sensitivität und Reproduzierbarkeit zu gewährleisten. Die methodischen Bestimmungs- und Nachweisgrenzen lagen im niedrigen ng-Bereich.

5.2.7 Bestimmung der Wiederfindungsraten („Recoveries“)

Um eine genaue Quantifizierung zu gewährleisten und Matrixeffekte mit zu berücksichtigen, wurden vor Versuchsdurchführung die Wiederfindungsraten der untersuchten Pharmazeutika in den für die Fermentationsversuche verwendeten Matrizen bestimmt. Hierzu erfolgte eine Anreicherung (nach 5.2.3) der Matrizen und anschließende Extraktion (nach 5.2.5) und Analyse (nach 5.2.6). Die Wiederfindungsraten (

Tabelle 4) wurden berechnet aus der gemessenen Konzentration der jeweiligen Analyten und der tatsächlich angereicherten Konzentration (300 ng/g).

Tabelle 4: Ermittelte Wiederfindungsraten (Recoveries) der untersuchten Pharmazeutika und Tracer

| Pharmazeutikum | Wiederfindungsrate [%] | |
|-----------------|------------------------|-------|
| | HA-05 | HA-06 |
| Tetracyclin | 80 | 41 |
| Ciprofloxacin | 238 | 342 |
| Clarithromycin | 212 | 221 |
| Mycophenolsäure | 68 | 63 |
| Diclofenac | 43 | 33 |
| Naproxen | 55 | 46 |
| Carbamazepin | 88 | 79 |
| Cetirizin | 21 | 17 |
| Glimepiride | 121 | 123 |
| Salicylsäure | 46 | 74 |
| Gemfibrozil | 65 | 57 |
| Valsartan | 88 | 73 |
| Tracer | | |
| Koffein | 35 | 41 |
| Acesulfam | 74 | 60 |

Die verwendete Extraktion zeigte insgesamt stabile Wiederfindungen. Dennoch sind Messunsicherheiten bei einzelnen Substanzen aufgrund Matrixinterferenzen oder unvollständiger Extraktion zu beobachten.

5.2.8 Berechnung des Abbaugrads

Der Abbaugrad einer Verbindung i wurde in Prozent berechnet nach:

$$\text{Abbaugrad}[\%] = \frac{c_{i, \text{Tag } 0} - c_{i, \text{Tag } 21}}{c_{i, \text{Tag } 0}} \times 100 \%$$

wobei $c_{i, \text{Tag } 21}$ [ng g_{Fäzes}⁻¹] die Konzentration der Verbindung i nach 21 Tagen und $c_{i, \text{Tag } 0}$ [ng g_{Fäzes}⁻¹] die Konzentration zu Versuchsbeginn ist. Zur Beschreibung der zeitlichen Dynamik wurden zusätzlich die Zwischenwerte von Tag 7 herangezogen.

Apparente negative Degradationswerte (Zunahme über die Zeit) wurden als Hinweis auf Matrixeffekte, Desorption oder Metaboliten-Rekonversion interpretiert und bei der Interpretation berücksichtigt. Ebenso wurden die experimentell ermittelten Wiederfindungsraten der einzelnen Analyten bei der Ergebnisauswertung beachtet.

5.3 Ergebnisse & Diskussion

5.3.1 Fermentationsverlauf und Prozessbedingungen

In den fermentativen Ansätzen ohne Anreicherung („unspiked“) verlief die LAF erwartungsgemäß. Der pH-Wert sank innerhalb der ersten sieben Tage von anfänglichen 6,5–7,0 auf Werte zwischen 4,2 und 5,0 und blieb danach bis Tag 21 stabil (Abbildung 28). Parallel wurde ein kontinuierlicher Anstieg der Milchsäurekonzentration beobachtet, was eine erfolgreiche Fermentation bestätigt.

In den fermentativen Ansätzen mit Anreicherung („spiked“) verlief die LAF dagegen deutlich langsamer. Bis Tag 7 erfolgte in beiden Fäzesproben nur ein geringer Abfall des pH-Wertes und eine deutlich geringere Zunahme der Milchsäurekonzentration im Vergleich zu den Ansätzen ohne Anreicherung. HA-05 mit Anreicherung erreichte bis zum Versuchsende schließlich denselben pH-Wert und dieselbe Milchsäurekonzentration wie HA-05 ohne Anreicherung. HA-06 mit Anreicherung wies dagegen bei Versuchsende einen etwas höheren pH-Wert bzw. eine etwas niedrigere Milchsäurekonzentration als der Kontrollansatz HA-06 ohne Anreicherung auf.

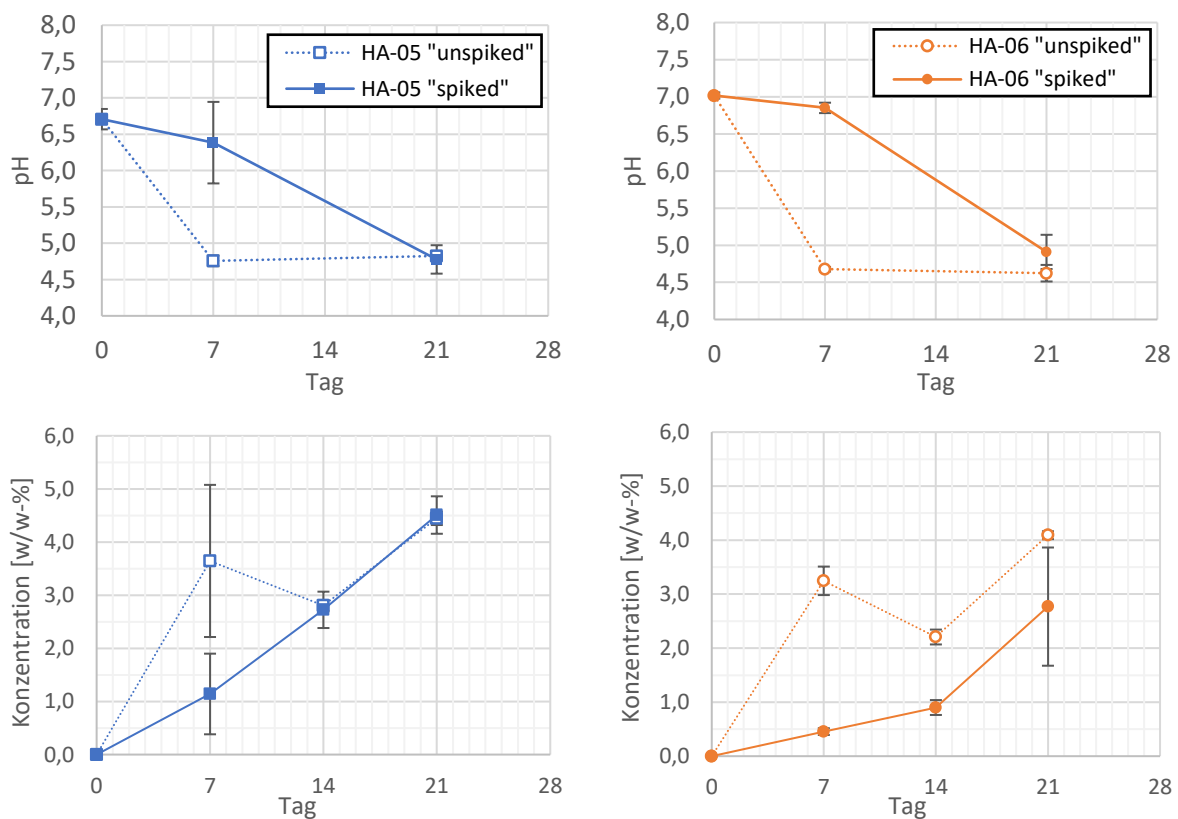


Abbildung 28: Verlauf der pH-Werte (oben) und der Milchsäure-Konzentrationen (unten) der Fäzesproben HA-05 (links) und HA-06 (rechts) während der Fermentation zur Untersuchung des Abbaus pharmazeutischer Rückstände

5.3.2 Allgemeines Abbauverhalten der betrachteten Pharmazeutika

Die Abbildung 29 und Abbildung 30 zeigen die Konzentrationsverläufe der zwölf untersuchten Pharmazeutika, sowie der zwei untersuchten Tracer über 21 Tage LAF (Anfangszugabe: 300 ng/g).

Die untersuchten Pharmazeutika zeigen deutlich unterschiedliche Abbauverhalten. Tetracyclin, Ciprofloxacin, Mycophenolsäure, Clarithromycin und Glimepirid zeigen ein ähnliches Verhalten. Diese Pharmazeutika werden bereits in den ersten sieben Tagen zu einem überwiegenden Anteil abgebaut und weisen zu Versuchsende deutlich geringe Konzentrationen als zu Versuchsbeginn auf. Gemfibrozil, Naproxen und Cetirizin, sowie die Tracer-Substanzen Koffein und Acesulfam, zeigen einen moderaten, aber kontinuierlichen Abbauverlauf. Hier sind nach 21 Tagen noch Konzentrationen im Bereich von 20 bis 50 Prozent der Ausgangskonzentration messbar. Carbamazepin, Diclofenac und Valsartan zeigen über die gesamte Versuchsdauer kaum Konzentrationsänderungen und zum Teil sogar leichte Zunahmen. Eine Sonderstellung nimmt Salicylsäure ein, bei der zunächst ein deutlicher Konzentrationsanstieg beobachtet wird. Erst im weiteren Verlauf erfolgt ein leichter Rückgang.

Bei Vergleich des Abbaus in den beiden Matrices HA-05 und HA-06 zeigt ein Großteil der Pharmazeutika identische oder ähnliche Verläufe. Bei einzelnen Pharmazeutika treten allerdings deutliche Unterschiede im Verlauf auf. Dies trifft insbesondere auf Carbamazepin und Naproxen zu. Beide Substanzen werden in HA-05 kontinuierlich abgebaut, in HA-06 findet hingegen kein Abbau statt.

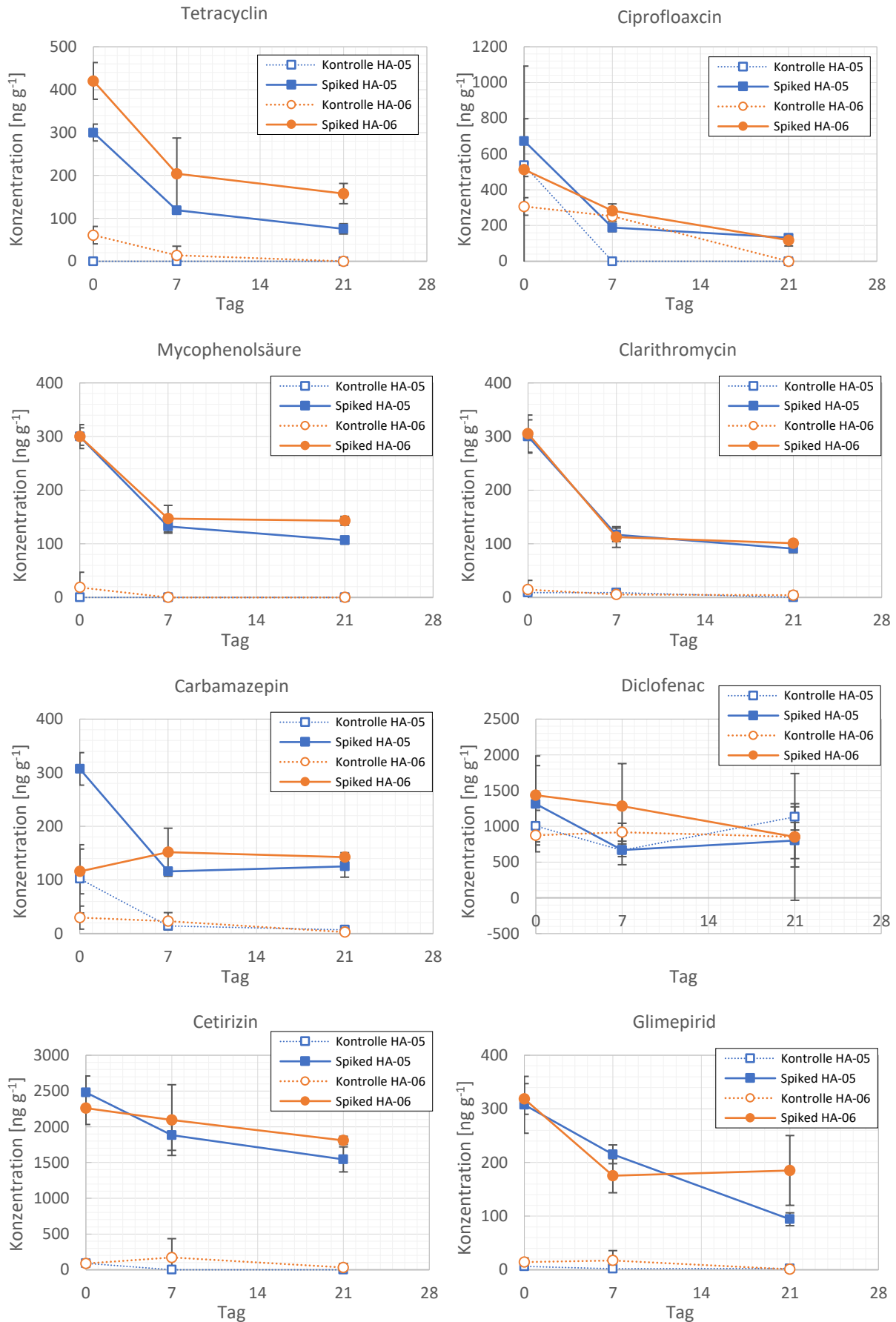


Abbildung 29: Konzentrationen ausgewählter Pharmazeutika über den Verlauf der LAF (Tetracyclin, Ciprofloaxcin, Mycophenolsäure, Clarithromycin, Carbamazepin, Diclofenac, Cetirizin, Glimepirid)

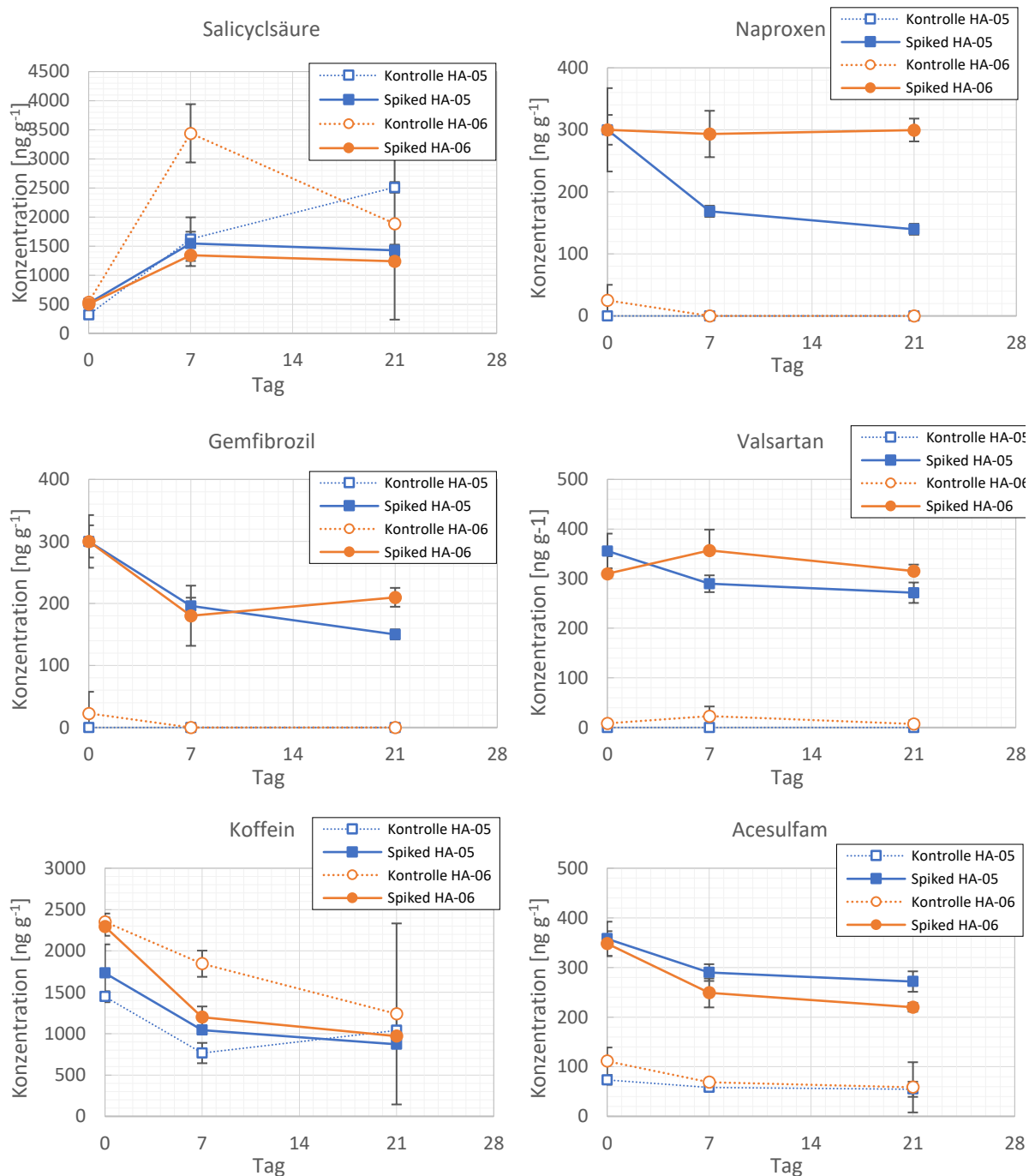


Abbildung 30: Gemessene Konzentrationen ausgewählter Pharmazeutika und Tracer über den Verlauf der LAF (Salicylsäure, Naproxen, Gemfibrozil, Valsartan, Koffein, Acesulfam)

5.3.3 Abbaugrad der untersuchten Pharmazeutika und Tracer

Die gemessenen Abbaugrade der untersuchten Pharmazeutika zeigen ein stark substanzabhängiges Verhalten (Tabelle 5) und lassen sich grob in drei Kategorien einteilen.

Deutlicher Abbau (> 60 %): die antibiotischen Wirkstoffe Ciprofloxacin, Tetracyclin und Clarithromycin zeigten eine ausgeprägte Reduktion der Ausgangskonzentrationen um 60–80 %

innerhalb von 21 Tagen in beiden Matrizen. Ein ähnlich starker Abbau wurde für Glimepirid und Mycophenolsäure in der Matrix HA-05 beobachtet.

Mittlerer Abbau (30–60 %): Diclofenac, Naproxen, Glimepirid, Gemfibrozil, Carbamazepin und Koffein zeigten teilweise eine moderate Abnahme, jedoch mit deutlichen Matrixunterschieden je nach Fäzesprobe. Während diese Stoffe in Matrix HA-05 um bis zu knapp 60 % reduziert wurden, erfolgte in Matrix HA-06 teilweise kein Abbau (Naproxen, Valsartan), oder eine Konzentrationszunahme (Carbamazepin).

Geringer oder kein Abbau (< 30 %): die Stoffe Valsartan, Cetirizin und Acesulfam zeigten teilweise einen geringen Abbau oder blieben weitgehend persistent, wobei auch hier Unterschiede zwischen den beiden Matrizen zu beobachten sind. Salicylsäure zeigten eine Konzentrationszunahme in beiden Matrizen, Carbamazepin in der Matrix HA-06.

Tabelle 5: Abbaugrade der untersuchten Pharmazeutika und Tracer durch die LAF

| Pharmazeutikum | Abbaugrad [%] | Abbaugrad [%] |
|-----------------|---------------|---------------|
| | HA-05 | HA-06 |
| Tetracyclin | 74,8 | 62,5 |
| Ciprofloxacin | 80,0 | 77,0 |
| Clarithromycin | 69,7 | 66,9 |
| Mycophenolsäure | 64,4 | 52,4 |
| Diclofenac | 39,0 | 40,6 |
| Naproxen | 53,4 | 0,1 |
| Carbamazepin | 59,1 | -22,9 |
| Cetirizin | 37,8 | 20,0 |
| Glimepirid | 69,4 | 41,9 |
| Salicylsäure | -176 | -146 |
| Gemfibrozil | 49,9 | -30 |
| Valsartan | 23,7 | -1,8 |
| Tracer | | |
| Koffein | 49,7 | 57,7 |
| Acesulfam | 24,1 | 36,8 |

5.3.4 Zusammenhang zwischen Fermentationsparametern und Abbau

Ein positiver Zusammenhang zwischen pH-Absenkung bzw. Milchsäurebildung und Abbaugrad war erkennbar. In den Ansätzen mit stärkerer Acidifizierung wurde auch ein höherer Abbaugrad festgestellt. Dies legt nahe, dass die LAF-typischen Bedingungen, wie das saure Milieu und eine hohe mikrobielle Aktivität, entscheidend zur Transformation beitragen. Allerdings lassen sich die Unterschiede zwischen Substanzen allein damit nicht erklären, da weitere Faktoren, wie die chemische Struktur oder die Ionisierbarkeit, der einzelnen Wirkstoffe den Reaktionsweg bestimmen.

Ahmed et al. (2017) führten ein umfangreiches Review zum Abbau verschiedener Mikroschadstoffe in Abwässern durch, unter anderem pharmazeutischer Rückstände. Sie stellten fest, dass in anaeroben bzw. fermentativen Systemen häufig deutlich stoffspezifische Persistenzen auftreten. Diese Erkenntnisse legen nahe, dass bestimmte Wirkstoffe auch unter Fermentationsbedingungen beständig bleiben und daher nicht pauschal als abbaubar angesehen werden können. Außerdem fassen die Autoren zusammen, dass sich aerobe Prozesse in der Regel besser zum Abbau pharmazeutischer Stoffklassen eignen als anaerobe Prozesse.

5.3.5 Mechanistische Interpretation

Die beobachteten Abbauprofile der untersuchten Pharmazeutika lassen sich im Wesentlichen durch vier sich überlagernde Mechanismen erklären: der säureinduzierten Hydrolyse, dem mikrobiellen Abbau, Sorptionsprozessen an Festphasen sowie der Re-Mobilisierung konjugierter Verbindungen. Im weiteren Text wird auf diese Mechanismen einzeln näher eingegangen.

Während der LAF entsteht ein saures Milieu ($\text{pH} \approx 4\text{--}5$), in dem verschiedene Pharmazeutika chemisch instabil sind. Tetracycline, beispielsweise, sind unter diesen Bedingungen für Epimerisierungs- und Dehydratisierungsreaktionen, sowie Hydrolyse bekannt, die zu strukturell veränderten, analytisch schwerer nachweisbaren Produkten führen. Unter vergleichbaren Laborbedingungen wird Tetracyclin innerhalb weniger Tage teilweise zu 4-Epitetracyclin und anderen Zersetzungsprodukten umgewandelt (Zhong et al., 2022).

Auch Clarithromycin zeigt eine gewisse Anfälligkeit gegenüber säurekatalysierten Spaltungen der Lactonring-Struktur. Die in der LAF vorliegenden Bedingungen (geringer pH-Wert, hohe Konzentrationen organischer Säuren und aktive Mikroflora) fördern solche Reaktionen zusätzlich. Diese Befunde erklären, warum in der Studie gerade Clarithromycin und Tetracyclin deutlich abnahmen, obwohl ihre Strukturen generell als vergleichsweise stabil gelten (Pereira et al., 2013; Zhong et al., 2022).

Neben der rein chemischen Hydrolyse trägt die mikrobielle Aktivität wesentlich zur Transformation bei. Milchsäurebakterien und begleitende anaerobe Mikroorganismen besitzen Enzyme (z. B. Esterasen, Dehydrogenasen, Oxygenasen), die auch komplexe organische Moleküle verändern können. Studien zeigen, dass Fluorchinolone, Makrolide und andere antibiotische Wirkstoffe in Gegenwart solcher Enzyme teilweise dealkyliert oder deamidiert werden (Ahmed et al., 2017; Gworek et al., 2021).

Die in der LAF ablaufende Fermentation stellt somit ein biologisch aktives System dar, das zusätzlich zum Säureeinfluss spezifische biotransformationsrelevante Enzyme bereitstellt. Dies erklärt, warum in den hier durchgeführten Versuchen einige Verbindungen stärker abgebaut wurden, als es allein auf Grundlage ihrer pH-Stabilität zu erwarten wäre (Wilson and Nicholson, 2017).

Andere Substanzen, wie Carbamazepin, blieben teilweise unverändert. Dieses Verhalten ist in der Literatur gut dokumentiert und wird auf zwei Faktoren zurückgeführt (Décima et al., 2021):

(1) die chemische Stabilität des Moleküls, das kaum angreifbare funktionelle Gruppen für hydrolytische oder enzymatische Reaktionen aufweist, und

(2) ein ausgeprägtes Sorptionsverhalten an organische Feststoffe.

In fäkalen oder schlammartigen Matrices wird Carbamazepin stark an Partikel gebunden, was seine Bioverfügbarkeit und damit auch den biologischen Abbau begrenzt. Die in der LAF beobachtete Persistenz lässt sich daher auf eine Kombination aus intrinsischer Stabilität und Partikelbindung zurückzuführen.

In einzelnen Fällen, etwa bei Salicylsäure und Naproxen, wurde während der Fermentation ein scheinbarer Anstieg der Konzentrationen beobachtet. Solche negativen Abbauraten können durch die mikrobiell vermittelte Hydrolyse von Glucuronid- oder Sulfat-Konjugaten erklärt werden. Diese konjugierten Metaboliten entstehen im menschlichen Körper während der Biotransformation und werden anschließend ausgeschieden (Wilson and Nicholson, 2017). Im mikrobiell aktiven LAF-Milieu können Enzyme wie β -Glucuronidasen diese Verbindungen spalten, wodurch die freie Parent-Substanz erneut freigesetzt und analytisch erfasst wird. Da Salicylsäure und Naproxen zu einem hohen Anteil in konjugierter Form ausgeschieden werden, ist dieser Effekt hier besonders ausgeprägt. Apparente Konzentrationszunahmen bei diesen Stoffen sind daher auf mikrobielle De-Konjugationsprozesse zurückzuführen und stellen keinen analytischen Fehler dar. Für andere Verbindungen, die überwiegend unverändert oder sorbiert vorliegen (z. B. Carbamazepin), ist eine solche Re-Mobilisierung hingegen nicht relevant (Gewurtz et al., 2022).

5.4 Fazit

Die Untersuchungen zum Abbau ausgewählter pharmazeutischer Wirkstoffe während der LAF zeigen erstmals, dass unter den für das Faekashi-Verfahren typischen Bedingungen eine substanzspezifische, teilweise deutliche Reduktion von Arzneimittelrückständen erfolgen kann. Besonders ausgeprägt war der Abbau bei mehreren Antibiotika (Ciprofloxacin, Tetracyclin, Clarithromycin) und beim Antidiabetikum Glimepirid. Diese Substanzen wurden innerhalb von 21 Tagen um bis zu 80 % abgebaut. Dagegen zeigten stark persistente Verbindungen wie Carbamazepin, Valsartan oder Naproxen keine oder sogar negative Abbauwerte, was auf eine hohe chemische Stabilität, Sorptionsprozesse oder analytische Rücklösungsphänomene hinweist.

Die Ergebnisse bestätigen, dass die LAF ein geeignetes Milieu zur Transformation bestimmter organischer Mikroschadstoffe schafft, ihre Wirksamkeit jedoch stark von der jeweiligen Verbindung abhängt. Der Abbau korreliert tendenziell mit der Intensität der Fermentation, insbesondere mit dem pH-Abfall und der Milchsäurebildung, ist jedoch auch von der Beschaffenheit der Fäzesmatrix beeinflusst.

Aus Sicht der technologischen Bewertung liefert die Studie damit einen wichtigen Beitrag zur Risikobewertung und Weiterentwicklung des Faekashi-Verfahrens. Zwar kann die LAF als

stabilisierender und hygienisierender Schritt einen Teil der pharmakologischen Belastung reduzieren, sie ersetzt aber keine gezielte Eliminationsstufe. Persistente Substanzen verbleiben in relevanten Anteilen im Substrat, weshalb weiterführende Untersuchungen zur Prozessoptimierung, z. B. Kombination mit nachgeschalteten Behandlungsstufen oder Anpassungen der Prozessparameter, erforderlich sind. Außerdem sollten die Untersuchungen auf Pharmazeutikagruppen erweitert werden, die besonders im regionalen Kontext von Sierra Leone relevant sind, wie z.B. Malariamedikamente und antiretrovirale Wirkstoffe, um die ökologische Sicherheit und gesundheitliche Relevanz des Verfahrens auch hier fundiert bewerten zu können.

Die vorliegenden Befunde sind zudem von hoher wissenschaftlicher Bedeutung, da bisher keine systematischen Untersuchungen zum Verhalten von Pharmazeutika während der LAF von Fäzes vorlagen. Die gewonnenen Erkenntnisse bilden damit die Grundlage für eine vertiefte Bewertung der chemischen Sicherheit bei der geplanten Nutzung fermentierter Fäzes als landwirtschaftliches Produkt und zeigen den Bedarf weiterer Forschung zur Eliminierung besonders persistenter Stoffe auf.

6 Zusammenfassung

Das Projekt Faekashi verfolgte das Ziel, die LAF menschlicher Fäzes aus Trockentrenntoiletten als Methode zur Stabilisierung und Hygienisierung zu untersuchen und deren praktische Anwendbarkeit zu erproben. Im Mittelpunkt stand dabei die Frage, ob durch die LAF eine schnelle pH-Absenkung erreicht werden kann, die pathogene Keime eliminiert und somit eine technisch einfache, lokal umsetzbare Lösung für die dezentrale Sanitärversorgung ermöglicht.

Die Ergebnisse bestätigen dieses Ziel in wesentlichen Punkten. Unter **Laborbedingungen** konnte gezeigt werden, dass die LAF zuverlässig zu einer stabilen und dauerhaften pH Absenkung führt. Zugleich erwies sich die LAF als robustes, flexibles und ressourcen-schonendes Verfahren. Verschiedene Kohlenstoffquellen (u.a. Saccharose, Melasse, Mango, Weizenkleie und Maniok) sind grundsätzlich geeignet, sofern sie in ausreichender Anfangskonzentration vorliegen. Außerdem ist die LAF in einem breiten Temperaturbereich anwendbar und verläuft im Bereich von 20–30 °C zuverlässig. Auch bei 8 °C verläuft die LAF stabil, allerdings deutlich langsamer. Darüber hinaus bleibt die LAF auch bei moderatem Lufteintrag anaerob, sofern keine Zugabe poröser Materialien (z. B. Sägespäne) erfolgt. Eine Zugabe von Starterkulturen ist nicht erforderlich, da milchsäurebildende Mikroorganismen in den Fäzes selbst bereits in ausreichender Menge vorhanden sind. Dies erleichtert die praktische Anwendung erheblich und stärkt den Ansatz, lokale Ressourcen zu nutzen.

Ein zentraler, bislang nicht beschriebener Einflussfaktor wurde mit der Pufferkapazität der Fäzes identifiziert. Sie bestimmt, in welchem Umfang Milchsäure gebildet werden muss, um hygienisch relevante pH-Werte zu erreichen. Insbesondere Begleitstoffe wie Urin und Sägespäne beeinflussen die Pufferkapazität und damit den erreichbaren End-pH-Wert. Die Lagerungsdauer wirken sich ebenfalls deutlich auf den Fermentationsverlauf aus. Länger gelagerte Fäzes zeigten tendenziell instabile Verläufe. Diese Zusammenhänge stellen wichtige Erkenntnisse für die spätere Betriebsführung unter Praxisbedingungen dar.

Hilfsstoffe erwiesen sich entgegen der Angaben aus der Literatur als nur teilweise wirksam. Während Ammovit® zu einer zusätzlichen pH-Absenkung und deutlichen Geruchsminderung führte, zeigten Pflanzenkohle und Gesteinsmehle nur geringe Effekte. Dies verdeutlicht, dass Zusatzstoffe für die Prozessstabilität nicht zwingend erforderlich sind, jedoch spezifische Nebeneffekte verbessern können.

Der **Pilotversuch in Sierra Leone** bestätigte die grundsätzliche Machbarkeit und Akzeptanz der LAF unter lokalen Bedingungen. Gleichzeitig zeigte sich ein Anpassungsbedarf hinsichtlich Substratauswahl und Dosierung, sodass die Übertragbarkeit der Laborergebnisse weiter optimiert werden muss. Damit ist das Verfahren zwar prinzipiell praxistauglich, erfordert aber zusätzliche Felduntersuchungen, um robuste Anwendungsrichtlinien zu entwickeln.

Im Bereich der **Schadstoffreduktion** konnte die Wirksamkeit der LAF gegenüber *E. coli* nachgewiesen werden. Damit ist die grundsätzliche hygienisierende Wirkung des Prozesses belegt. Für eine umfassende Bewertung der Hygienisierung reicht dieser Nachweis jedoch nicht aus. Aus der Literatur ist bekannt, dass andere Mikroorganismen, vor allem Wurmeier, bestimmte Viren sowie sporenbildende Bakterien, deutlich resistenter gegenüber pH Absenkungen sind als *E. coli*. Ob die während der LAF erreichten Bedingungen auch für diese Organismengruppen ausreichen, bleibt daher offen. Künftige Untersuchungen sollten sich gezielt auf diese resistenteren Erreger konzentrieren, um die hygienische Sicherheit des Verfahrens unter Praxisbedingungen verlässlich einschätzen zu können.

Weiterhin konnte die Reduktion bestimmter pharmazeutischer Rückstände durch die LAF gezeigt werden. Der Abbau pharmazeutischer Stoffe hängt jedoch stark von der chemischen Struktur des Wirkstoffs, der Intensität der Fermentation (pH-Abfall, Milchsäurebildung) und der Matrix ab. Damit stellt die LAF einen wichtigen, aber nicht hinreichenden Schritt zur Schadstoffreduktion dar. Eine nachgeschaltete Reinigungsstufe bleibt daher erforderlich. Für die Weiterentwicklung des Verfahrens sind Prozessoptimierungen und Untersuchungen, unter anderem unter Verwendung weiterer lokal relevanter Schadstoffgruppen erforderlich. Hierzu zählen unter anderem regional auftretende Krankheitserreger, wie Wurmeier, Viren, sowie lokal vorkommende pharmazeutische Wirkstoff (z.B. gegen Malaria).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass das Projekt Faekashi wesentliche Grundlagen für die Anwendung der LAF im Sanitärkontext geschaffen hat, insbesondere in Bezug auf Robustheit, Anwendbarkeit und Kosten. Es bestätigt die Machbarkeit, zeigt die Grenzen und Entwicklungsbedarfe auf und bietet eine solide Basis für die Weiterentwicklung zu einem praxisreifen, lokal adaptierbaren Verfahren zur nachhaltigen Hygienisierung und Ressourcennutzung menschlicher Fäzes.

7 Ausblick

Für die vollständige Umsetzung des langfristigen Zielbilds (der Entwicklung eines breit anwendbaren, feldgetesteten Betriebs- und Rezepturkonzepts mit möglicher Terra-preta-Weiterverarbeitung) sind weitere praxisorientierte Arbeiten erforderlich. Dazu gehört die Weiterverarbeitung der fermentierten Fäzes zu einem verwertbaren Endprodukt, beispielsweise in Form eines organischen Düngemittels. Dies ist nötig, um das Umweltentlastungspotenzial des Verfahrens im Sinne einer Kreislaufwirtschaft voll auszuschöpfen und kann gleichzeitig zu einer Steigerung der ökonomischen Attraktivität des Verfahrens führen. Außerdem sollte die Qualität dieses Endprodukts durch gezielte Pflanzversuche überprüft werden, um sowohl seine agronomische Wirksamkeit als auch mögliche Risiken für Boden und Pflanzen zu bewerten. Darüber hinaus sind weitergehende Untersuchungen zur Hygienisierung erforderlich, insbesondere im Hinblick auf resistenteren Organismengruppen wie Wurmeier, bestimmte Viren und sporenbildende Bakterien. Ergänzend dazu sollte die Reduktion pharmazeutischer Rückstände unter besonderer Berücksichtigung der im regionalen Kontext von Sierra Leone relevanten Substanzen weiter untersucht werden. Zusätzlich ist die Erarbeitung eines praxistauglichen Betriebsführungskonzepts erforderlich, das die technischen, klimatischen und sozioökonomischen Rahmenbedingungen unterschiedlicher Einsatzorte, etwa in Deutschland und Sierra Leone, berücksichtigt und eine nachhaltige Umsetzung des Verfahrens ermöglicht. Dieses sollte detaillierte Anweisungen für die Durchführung des Behandlungsverfahrens beinhalten, vom korrekten Aufbau und Betrieb der verwendeten TTT, über die fachgerechte Durchführung der Behandlung der Fäzes durch LAF, bis hin zur Verwertung und korrekten Anwendung der erzeugten Produkte. Hierfür sind ausführliche Untersuchungen der praktischen Anwendbarkeit des Verfahrens im regionalen Kontext nötig.

8 Literaturverzeichnis

- Ahmed, M.B., Zhou, J.L., Ngo, H.H., Guo, W., Thomaidis, N.S., Xu, J., 2017. Progress in the biological and chemical treatment technologies for emerging contaminant removal from wastewater: A critical review. *Spec. Issue Emerg. Contam. Eng. Nat. Environ.* 323, 274–298. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.045>
- Anderson, C., Malambo, D.H., Perez, M.E.G., Nobela, H.N., de Pooter, L., Spit, J., Hooijmans, C.M., de Vossenbergh, J. van, Greya, W., Thole, B., van Lier, J.B., Brdjanovic, D., 2015. Lactic Acid Fermentation, Urea and Lime Addition: Promising Faecal Sludge Sanitizing Methods for Emergency Sanitation. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 12, 13871–13885. <https://doi.org/10.3390/ijerph121113871>
- Andreev, N., 2017. Lactic acid fermentation of human excreta for agricultural application. <https://doi.org/10.18174/401835>
- Andreev, N., Ronteltap, M., Lens, P.N.L., Boincean, B., Bulat, L., Zubcov, E., 2016. Lacto-fermented mix of faeces and bio-waste supplemented by biochar improves the growth and yield of corn (*Zea mays* L.). *Agric. Ecosyst. Environ.* 232, 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.08.012>
- Décima, M.A., Marzeddu, S., Barchiesi, M., Di Marcantonio, C., Chiavola, A., Boni, M.R., 2021. A Review on the Removal of Carbamazepine from Aqueous Solution by Using Activated Carbon and Biochar. *Sustainability* 13. <https://doi.org/10.3390/su132111760>
- DIN SPEC 91421, 2020. Qualitätssicherung von Recyclingprodukten aus Trockentoiletten zur Anwendung im Gartenbau. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- DuBois, Michel., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, Fred., 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* 28, 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- DWA, 2008. Neuartige Sanitärsysteme. Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e.V.
- Factura, H., Bettendorf, T., Buzie, C., Pieplow, H., Reckin, J., Otterpohl, R., 2010. Terra Preta sanitation: re-discovered from an ancient Amazonian civilisation – integrating sanitation, bio-waste management and agriculture. *Water Sci. Technol.* 61, 2673–2679. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.201>
- Gewurtz, S.B., Teslic, S., Hamilton, M.C., Smyth, S.A., 2022. Influence of Conjugation on the Fate of Pharmaceuticals and Hormones in Canadian Wastewater Treatment Plants. *ACS EST Water* 2, 329–338. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.1c00376>
- Gworek, B., Kijeńska, M., Wrzosek, J., Graniewska, M., 2021. Pharmaceuticals in the Soil and Plant Environment: a Review. *Water. Air. Soil Pollut.* 232, 145. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04954-8>

- Heinzelmann, A., 2020. Abbauverhalten pharmazeutischer Rückstände in thermophiler Kompostierung (Bachelorarbeit). Justus-Liebig-Universität, Gießen.
- James, L., 2025. Investigation of the Degradation of Selected Pharmaceuticals in Human Feces during Lactic Acid Fermentation (Masterarbeit). Hochschule Anhalt, Köthen, Deutschland.
- Larsen, T.A., Udert, K.M., Lienert, J., 2013. Source Separation and Decentralization for Wastewater Management. IWA Publishing. <https://doi.org/10.2166/9781780401072>
- Lienert, J., Bürki, T., Escher, B.I., 2007. Reducing micropollutants with source control: substance flow analysis of 212 pharmaceuticals in faeces and urine. *Water Sci. Technol.* 56, 87–96. <https://doi.org/10.2166/wst.2007.560>
- Loidl, M., 2025. Untersuchung von Maniok als Substrat für die Anzucht von Milchsäurebakterien für die anschließende Milchsäurefermentation menschlicher Fäzes (Bachelorarbeit). Hochschule Anhalt, Köthen, Deutschland.
- Odey, E.A., Li, Z., Zhou, X., Yan, Y., 2018. Optimization of lactic acid fermentation for pathogen inactivation in fecal sludge. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 157, 249–254. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.075>
- Pandey, Ashok., Soccol, C.Ricardo., Larroche, Christian., 2008. Current developments in solid-state fermentation. Springer and Asiatech Publishers, New York and New Delhi. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-75213-6>
- Pereira, J.M., Mejia-Ariza, R., Ilevbare, G.A., McGettigan, H.E., Sriranganathan, N., Taylor, L.S., Davis, R.M., Edgar, K.J., 2013. Interplay of degradation, dissolution and stabilization of clarithromycin and its amorphous solid dispersions. *Mol. Pharm.* 10, 4640–4653. <https://doi.org/10.1021/mp400441d>
- Scheinemann, H.A., Dittmar, K., Stöckel, F.S., Müller, H., Krüger, M.E., 2015. Hygienisation and Nutrient Conservation of Sewage Sludge or Cattle Manure by Lactic Acid Fermentation. *PLOS ONE* 10, e0118230. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118230>
- Scheinemann, Krüger, 2012. Labor- und Felduntersuchung zur Abfall-/Klärschlammverwertung aus dezent-ralen Abwasserbehandlungen für die Herstellung hochwertiger Schwarzerde-böden (Terra Preta): Band 2 Stufe 2.: Dekontamination von Klärschlämmen.
- Scheinemann, Krüger, 2010. Labor- und Felduntersuchung zur Abfall-/Klärschlammverwertung aus dezent-ralen Abwasserbehandlungen für die Herstellung hochwertiger Schwarzerdeböden (Terra Preta): Band 1 Stufe 1.: Dekontamination von fäkalen Klinikabfällen.
- Schinkel, L., Eberhard, Y., Maccagnan, A., Berg, M., Mc Ardell, C.S., 2025. Antibiotics and other micropollutants in Swiss sewage sludge and fecal compost. *Chemosphere* 375, 144216. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2025.144216>
- Sommer, S.G., Husted, S., 1995. The chemical buffer system in raw and digested animal slurry. *J. Agric. Sci.* 124, 45–53. <https://doi.org/10.1017/S0021859600071239>

- von Münch, E., Winker, M., 2011. Technology review of urine diversion components - Overview on urine diversion components such as waterless urinals, urine diversion toilets, urine storage and reuse systems. Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit (GIZ) GmbH.
- WHO, 2022. Progress on Drinking Water, Sanitation and Hygiene in Schools: 2000-2021 Data Update, 1st ed. ed. World Health Organization, Geneva.
- Wilson, I.D., Nicholson, J.K., 2017. Gut microbiome interactions with drug metabolism, efficacy, and toxicity. *Transl. Res. J. Lab. Clin. Med.* 179, 204–222.
<https://doi.org/10.1016/j.trsl.2016.08.002>
- Winker, M., Faika, D., Gulyas, H., Otterpohl, R., 2008. A comparison of human pharmaceutical concentrations in raw municipal wastewater and yellowwater. *Sci. Total Environ.* 399, 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.03.027>
- Yemaneh, A., Bulbo, M., Factura, H.S., Buzie, C., Otterpohl, R., 2012. Development of System for Waterless Collection of Human Excreta by Application of Lactic Acid Fermentation Process in Terra Preta Sanitation System. 4th Int. Dry Toilet Conf.
- Yemaneh, A., Bulbo, M., Schmale, C., Otterpohl, R., 2014. Investigation of Low-Cost Sugar Supplement for Lactic Acid Fermentation in Terra Preta Sanitation System.
- Zhong, S.-F., Yang, B., Xiong, Q., Cai, W.-W., Lan, Z.-G., Ying, G.-G., 2022. Hydrolytic transformation mechanism of tetracycline antibiotics: Reaction kinetics, products identification and determination in WWTPs. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 229, 113063.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.113063>
- Zhou, X., Cuasquer, G.J.P., Li, Z., Mang, H.P., Lv, Y., 2021. Occurrence of typical antibiotics, representative antibiotic-resistant bacteria, and genes in fresh and stored source-separated human urine. *Environ. Int.* 146, 106280. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106280>