

# Grüne Bioraffinerie

Gewinnung von Milchsäure aus Grassilagesaft

Ch. Krotscheck et al.

Berichte aus Energie- und Umweltforschung

**3/2004**

**Impressum:**

Eigentümer, Herausgeber und Medieninhaber:  
Bundesministerium für Verkehr, Innovation und Technologie  
Radetzkystraße 2, 1030 Wien

Verantwortung und Koordination:  
Abteilung für Energie- und Umwelttechnologien  
Leiter: DI Michael Paula

Liste sowie Bestellmöglichkeit aller Berichte dieser Reihe unter <http://www.nachhaltigwirtschaften.at>

# Grüne Bioraffinerie

Gewinnung von Milchsäure aus Grassilagesaft

## **Projektleitung**

DI Dr. Christian Krotscheck, DI Dr. Stefan Kromus  
*Kornberg Institut für nachhaltige Regionalentwicklung  
und angewandte Forschung*

## **ProjektmitarbeiterInnen**

Yu Hong Tang, MSc, Mag. Werner Koschuh  
*Kornberg Institut*

Feldbach, August 2003

**Ein Projektbericht im Rahmen der Programmlinie**



Impulsprogramm Nachhaltig Wirtschaften

Im Auftrag des Bundesministeriums für Verkehr, Innovation und Technologie

### **ProjektpartnerInnen**

Ao. Univ.Prof. Dr. Michael Narodoslawsky  
*Technische Universität Graz*

Ao. Univ.Prof. Dr. Senad Novalin  
*Universität für Bodenkultur*

Dr.rer.nat. Birgit Kamm  
*Universität Potsdam*

### **KooperationspartnerInnen**

DI Werner Lorenz  
*Lactoprot AG*

DI Dr. Michael Koncar  
*VTU Engineering GmbH*

DI Michael Mandl, DI Dr. Bruno Wachter  
*Joanneum Research Hartberg*

Univ.Doiz. Dr. Karl Buchgraber  
*Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein*

Univ.Ass. DI Dr. Herbert Danner  
*IFA Tulln*

## Vorwort

Der vorliegende Bericht dokumentiert die Ergebnisse eines Projekts aus der Programmlinie FABRIK DER ZUKUNFT. Sie wurde im Jahr 2000 vom Bundesministerium für Verkehr, Innovation und Technologie im Rahmen des Impulsprogramms Nachhaltig Wirtschaften als mehrjährige Forschungs- und Technologieinitiative gestartet. Mit der Programmlinie FABRIK DER ZUKUNFT sollen durch Forschung und Technologieentwicklung innovative Technologiesprünge mit hohem Marktpotential initiiert und realisiert werden.

Dank des überdurchschnittlichen Engagements und der großen Kooperationsbereitschaft der beteiligten Forschungseinrichtungen und Betriebe konnten bereits richtungsweisende und auch international anerkannte Ergebnisse erzielt werden. Die Qualität der erarbeiteten Ergebnisse liegt über den hohen Erwartungen und ist eine gute Grundlage für erfolgreiche Umsetzungsstrategien. Anfragen bezüglich internationaler Kooperationen bestätigen die in FABRIK DER ZUKUNFT verfolgte Strategie.

Ein wichtiges Anliegen des Programms ist es, die Projektergebnisse – seien es Grundlagenarbeiten, Konzepte oder Technologieentwicklungen – erfolgreich umzusetzen und zu verbreiten. Dies soll nach Möglichkeit durch konkrete Demonstrationsprojekte unterstützt werden. Deshalb ist es auch ein spezielles Anliegen die aktuellen Ergebnisse der interessierten Fachöffentlichkeit zugänglich zu machen, was durch die Homepage [www.FABRIKderZukunft.at](http://www.FABRIKderZukunft.at) und die Schriftenreihe gewährleistet wird.

Dipl. Ing. Michael Paula  
Leiter der Abt. Energie- und Umwelttechnologien  
Bundesministerium für Verkehr, Innovation und Technologie



## INHALTSVERZEICHNIS

<b>KURZFASSUNG – TEIL A</b>	<b>7</b>
<b>KURZFASSUNG – TEIL B</b>	<b>8</b>
<b>ABSTRACT – PART A</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT – PART B</b>	<b>10</b>
<b>ENDBERICHT</b>	<b>11</b>
1 EINLEITUNG	11
2 VERWENDETE METHODE UND DATEN	15
3 ERGEBNISSE DES PROJEKTS UND SCHLUSSFOLGERUNGEN	18
3.1 <i>Milchsäureprodukte aus Grassilage</i>	18
3.2 <i>Grassilage zur Herstellung von Milchsäure</i>	19
3.3 <i>Fraktionierungsversuche und Grobfiltration von Grassilage und Grassilagepresssäften</i>	21
3.3.1 Fraktionierung 2001 – Milchsäure aus Grassilage	22
3.3.2 Fraktionierung 2002 – Milchsäure aus Grassilage	24
3.4 <i>Vorreinigung von Silagesäften</i>	29
3.4.1 Nachfermentation	29
3.4.2 Ultrafiltration	30
3.5 <i>Möglichkeiten und Konzepte zur Isolierung und Reinigung von Milchsäure</i>	32
3.5.1 Membran- und Chromatographieverfahren	33
3.5.2 Nanofiltration	34
3.5.3 Elektrodialyse	36
3.5.4 Chromatographie	39
3.5.5 Schlussfolgerungen zu den Strategien der Membran- und Chromatographieverfahren	41
3.6 <i>Herstellung von Produkten aus Silage-Milchsäure</i>	42
3.6.1 Herstellung von Aminiumlactat aus diversen Milchsäurelösungen	42
3.6.2 Milchsäureethylester (Ethyllactat) aus Silage-Milchsäure	43
3.7 <i>Beurteilung der Wirtschaftlichkeit</i>	45
3.7.1 Erlösstruktur der wichtigsten Produkte einer Grünen Bioraffinerie	46
3.7.2 Wirtschaftlichkeitsrechnung	48
4 EMPFEHLUNGEN	50
5 LITERATURVERZEICHNIS	53
6 ABBILDUNGSVERZEICHNIS	58
7 TABELLENVERZEICHNIS	62
<b>ANHANG A BIS I</b>	<b>64</b>
<b>ANHANG A</b>	<b>65</b>
<b>MILCHSÄURE AUS GRASSILAGEPRESSSAFT</b>	<b>65</b>
1 DIE MILCHSÄURE	65
2 EIGENSCHAFTEN DER MILCHSÄURE	65
3 WICHTIGE PRODUKTE DER MILCHSÄURE	68

3.1	<i>Ethyllactat</i>	68
3.2	<i>Aminiumlactat</i>	69
3.2.1	Kurzbeschreibung des Verfahrens	69
3.3	<i>Nutzungsmöglichkeiten von Aminiumlactat</i>	71
<b>ANHANG B</b>		<b>72</b>
<b>ROHSTOFFE ZUR GEWINNUNG VON MILCHSÄURE AUS SILAGESÄFTEN</b>		<b>72</b>
1	GRÜNLANDBIOMASSE UND GRASSILAGE ALS ROHSTOFF ZUR HERSTELLUNG VON PROTEINPRODUKTEN	72
1.1	<i>Bevorzugte Flächen für die GBR-Rohstoffversuche in Feldbach</i>	72
1.2	<i>Versuchsflächen in den Jahren 2001 und 2002</i>	73
<b>ANHANG C</b>		<b>75</b>
<b>GEWINNUNG VON MILCHSÄURE REICHEN SILAGEPRESSSÄFTEN IN DEN JAHREN 2001 UND 2002</b>		<b>75</b>
1	AUSGANGSLAGE	75
2	FRAKTIONIERUNG IM JAHR 2001	75
3	MILCHSÄUREBILANZ – VERSUCHE 2001	76
4	FRAKTIONIERUNG IM JAHR 2002	80
4.1	<i>Versuchsdurchführung Pressversuche 2002</i>	82
4.2	<i>Rohstoffe für die Weiterverarbeitung – Pressversuche 2002</i>	84
4.3	<i>Milchsäurebilanzen Pressversuche 2002</i>	85
4.4	<i>Pressbilanzen für 1000 kg Trockenmasse Input</i>	87
ANNEX: ANHANG C		91
Zusammenfassung – Fraktionierung 2001		97
Zusammenfassung – Fraktionierung 2002 (Milchsäure)		99
<b>ANHANG D</b>		<b>100</b>
<b>AUFBEREITUNG DER SILAGESÄFTE - NACHFERMENTATION</b>		<b>100</b>
1	NACHFERMENTATION	100
<b>ANHANG E</b>		<b>104</b>
<b>VORREINIGUNG DER MILCHSÄURE DURCH ULTRAFILTRATION</b>		<b>104</b>
1	METHODE	104
2	ULTRAFILTRATION	105
<b>ANHANG F</b>		<b>109</b>
<b>MÖGLICHKEITEN UND KONZEPTE ZUR ISOLIERUNG UND REINIGUNG DER MILCHSÄURE</b>		<b>109</b>
1	EINLEITUNG	109
2	MÖGLICHE VERFAHRENSVARIANTEN ZUR ABTRENNUNG VON MILCHSÄURE UND AMINOSÄUREN	110
2.1	<i>Membran und Chromatographieverfahren</i>	110
2.2	<i>Verfahrensvariante 1</i>	111
2.3	<i>Verfahrensvariante 2</i>	113
2.4	<i>Verfahrensvariante 3</i>	115
2.5	<i>Verfahrensvariante 4</i>	117
3	ERGEBNISSE DER EXPERIMENTELLEN UNTERSUCHUNGEN	119



3.1	<i>Fällung</i>	119
3.2	<i>Nanofiltration</i>	120
3.3	<i>Elektrodialyse</i>	127
4	DESALINATION OF HIGH SALT CONTENT MIXTURE BY TWO-STAGE ELECTRODIALYSIS AS THE FIRST STEP OF SEPARATING VALUABLE SUBSTANCES FROM GRASS SILAGE	129
4.1	<i>Introduction</i>	130
4.2	<i>Materials and methods</i>	132
4.2.1	Grass silage juice	132
4.2.2	Electrodialysis (ED)	132
4.2.3	Chemicals	134
4.2.4	Analysis	134
4.3	<i>Results and discussion</i>	134
4.3.1	Composition and properties of grass silage juice	134
4.3.2	Determination of the limiting current density	136
4.3.3	Separation of sugars and amino acids by electrodialysis at pH = 6.7	137
4.3.4	Desalination and lactic acid recovery by electrodialysis at pH=2	142
4.4	<i>Conclusions</i>	145
5	PRÄPARATIVE CHROMATOGRAPHIE ZUR GEWINNUNG VON MILCHSÄURE UND AMINOSÄUREN	146
5.1	<i>Chromatographie als Methode zur Abtrennung von Wertstoffen aus komplexen Medien</i>	146
5.2	<i>Mögliche Kombinationsstrategie zur Abtrennung von Wertstoffen aus Silagesaft mittels Membranverfahren und Chromatographie</i>	148
6	ZUSAMMENFASSUNG	155
6.1	<i>Schlussfolgerungen für die weitere Entwicklung</i>	157
<b>ANHANG G</b>		<b>158</b>
<b>UNTERSUCHUNGEN ZUR ERZEUGUNG VON AMINIUMLACTAT UND ETHYLLACTAT</b>		<b>158</b>
1	HERSTELLUNG VON AMINIUMLACTAT	158
1.1	<i>Einleitung</i>	158
1.2	<i>Titration</i>	160
1.3	<i>Kristallisation von Imidazoliumlactat</i>	160
1.4	<i>Verdampfungskristallisation</i>	161
1.4.1	Versuch 1 – Verdampfungskristallisation	161
1.4.2	Versuch 2 - Verdampfungskristallisation	162
1.5	<i>Imidazolfällung</i>	162
1.5.1	Versuch 3 – Imidazolfällung, reine Milchsäure	163
1.5.2	Versuch 4 – Imidazolfällung, verunreinigte Milchsäure	164
1.6	<i>Verdampfungskristallisation mit Kühlung</i>	166
1.6.1	Versuch 5– reines Imidazoliumlactat	166
1.6.2	6. Versuch Milchsäure mit Essigsäureverunreinigung	167
1.7	<i>Schlussfolgerungen</i>	168
2	HERSTELLUNG VON MILCHSÄUREESTER (ETHYLLACTAT)	169
2.1	<i>Milchsäureethylester aus Grassilagesäften</i>	169
2.1.1	Versuchsanordnung und Vorschrift	169
2.2	<i>Spezielle Anforderungen aus Silagefermentationsbrühen</i>	170
2.3	<i>Versuchsdurchführung mit einer Silagemilchsäure Modelllösung</i>	170
2.3.1	Direkte Veresterung	172
3	ALTERNATIVE VERFAHREN ZUR VERESTERUNG VON MILCHSÄURE	173
3.1	<i>Heterogene Katalysatoren</i>	173

3.2	<i>Membranverfahren zur Trennung von Ethanol-Wasser-Milchsäureester Gemischen</i>	173
3.3	<i>Schlussfolgerungen</i>	173
<b>ANHANG H</b>		<b>175</b>
<b>WIRTSCHAFTLICHE BEWERTUNG DER GEWINNUNG VON MILCHSÄURE AUS SILAGESÄFTEN</b>		<b>175</b>
1	AUSGANGSLAGE UND DATEN ZUR BERECHNUNG	175
2	ERLÖSE DURCH DIE VERARBEITUNG VON GRASSILAGE SÄFTEN	176
2.1	<i>Milchsäure</i>	176
2.2	<i>Peptide - Aminosäuren</i>	177
2.3	<i>Biogas</i>	177
2.4	<i>Massenbilanzen – Produkte aus Grassilage</i>	178
2.4.1	Fraktionierung	178
2.4.2	Produkte: Milchsäure, Aminosäuren (Peptide)	179
2.5	<i>Erlösstruktur</i>	179
3	WIRTSCHAFTLICHKEITSRECHNUNG	181
3.1	<i>Rohstoffkosten</i>	181
3.2	<i>Fraktionierung</i>	182
3.2.1	Einfachpressung	182
3.2.2	Doppelpressung	182
3.3	<i>Biogaserzeugung aus den Restströmen</i>	183
3.4	<i>Maximale Abtrennungskosten für Milchsäure und Aminosäuren</i>	184
4	SCHLUSSFOLGERUNGEN UND ZUKUNFTSAUSSICHTEN	186
4.1	<i>Zukünftige Strategien zur Entwicklung der Grünen Bioraffinerie</i>	189
<b>ANHANG I</b>		<b>193</b>
<b>ERHEBUNGSBÖGEN UND TABELLEN</b>		<b>193</b>
1	ANALYTIKERGEBNISSE	193
2	TABELLEN ZUR MILCHSÄUREABTRENNUNG	214

## Kurzfassung – Teil A

### Die Grüne Bioraffinerie – Ausgangslage und Motivation

Die Bewirtschaftung von Grünland zählt zweifellos zu den nachhaltigsten Produktionsweisen der Landwirtschaft. Die stoffliche Nutzung von Grünlandbiomasse („Gras“) bietet eine breite Palette von möglichen Produkten, die bisher im technischen Bereich nicht genutzt werden. Mittelfristig werden durch den Strukturwandel in der Landwirtschaft nach Schätzungen der BAL-Gumpenstein 750.000 Tonnen Trockenmasse pro Jahr von Wiesen österreichweit verfügbar sein. Gras soll in Zukunft nicht nur als Energiequelle dienen, sondern auch zur Produktion von Chemikalien, biogener Werkstoffe (wie Kunststoff und Verpackungsmaterial) und Pflanzenfasern (z.B. für Dämmplatten) verwendet werden. Gemeinsam mit potenten Industriepartnern wird durch das KORNBERG INSTITUT und die Hartberger Außenstelle des JOANNEUM RESEARCH ein wirtschaftlich rentables Konzept entwickelt. Dazu wurde im Rahmen der „Fabrik der Zukunft“ ein Projektbündel Grüne Bioraffinerie definiert, welches sich aus drei Teilprojekten mit jeweils eigenen Zielen zusammensetzt: Teilprojekt-I: „Verwertung der Faserfraktion“, Teilprojekt-II: „Proteine aus Grassäften“, Teilprojekt-III: „Milchsäure aus Grassilagesäften“. Das Gesamtprojekt Grüne Bioraffinerie Österreich birgt eine Fülle regionalpolitischer Aspekte.

### Milchsäure aus Grassilage

Im letzten Jahrzehnt ist das Interesse an der Produktion von Milchsäure merklich gestiegen. Milchsäure (MS), fermentativ gewonnen, hat das Potenzial eine der wichtigsten Commodity Chemikalien zu werden. MS kann genutzt werden, um biologisch abbaubare Kunststoffe, oxygenierte Chemikalien, umweltfreundliche Lösungsmittel und andere spezielle Chemikalien herzustellen. MS stellt die Grundlage für eine diverse Prozessindustrie mit hoher Wertschöpfung dar. Eine der günstigsten Varianten der Milchsäureerzeugung stellt die Feststofffermentation dar. Die Silierung, besonders von Grünmasse, ist eine Milchsäuregärung, wobei Milchsäure üblicherweise als „Nebenprodukt“ anfällt und ihre konservierende Funktion genutzt wird. Durch gezielte Verbesserungen in der Siliertechnik kann Milchsäure in derart befriedigenden Ausbeuten erzeugt werden, dass sie zu einem interessanten und nutzbaren Rohstoff wird. Die Gewinnung von Milchsäure oder deren Derivaten aus Silage wurde bisher noch nicht in größerem Umfang erforscht. Im Rahmen dieses Projekts werden die Grundlagen für eine integrierte Abtrennungstechnologie auf Basis von Membranverfahren und Chromatographie gelegt, die es erlauben soll Milchsäure und Aminosäuren aus Silagesäften zu separieren bzw. marktfähige Produkte zu erzeugen.

### Methode der Bearbeitung und verwendete Daten

Die Umsetzung des Teilprojekts „Milchsäure aus Grassilagesaft“ erfolgte in sechs Arbeitspaketen. (I) Rohstoffgewinnung, (II) Analytik, (III) Versuche im Labor- bzw. Semi-Pilotanlagenmaßstab, (IV) (Produkt-) und Technologiespezifikation u. Pilotanlagenkonzipierung, (V) Logistik und (VI) Literaturrecherche und Berichtslegung. Bei diesem Projekt handelte es sich primär um empirische Forschung. In begrenztem Umfang (Saft-Basisanalytik) konnte auf Vorprojekte zurückgegriffen werden. Die vorangestellten Versuche zur Fraktionierung der Grünlandbiomasse und Silagen fanden im Pilotanlagenmaßstab statt. Die weiteren Membran- und Chromatographieversuche erfolgten im Labor- bzw. Technikummaßstab. Die begleitende Analytik wurde einerseits durch das IFA-Tulln, das Institut für Lebensmitteltechnologie der BOKU und der Bundesanstalt für Alpenländische Landwirtschaft durchgeführt. Die Ergebnisse der Versuche wurden mit den beteiligten Firmen besprochen. Darauf folgte die Überprüfung der vorgeschlagenen Prozesswege auf ihre Wirtschaftlichkeit. Prinzipiell wurden nur solche Verfahrensschritte weitergehend verfolgt, die das Prädikat „Nachhaltige Technologie“ bestmöglich erfüllen.

## Kurzfassung – Teil B

### Ergebnisse

Die Trockenmasse von Silagepresssäften besteht zu ca. 30 % aus Milchsäure, zu 8 bis 22 % aus Zuckern, 25 bis 34 % aus Rohprotein und zu 23 bis 30 % aus Asche. Wobei 85 bis 100 % des Rohproteins Aminosäuren sind. Zur Produktion dieses Saftes sind hohe Anforderungen an die Fraktionierungstechnik gestellt, da es sich bei den Silagen um Anweilsilagen mit 27 bis 48 % Trockenmasse handelt. In den Saisonen 2001 und 2002 konnten im Rahmen dieses Projektbündels ausführliche Versuchspressungen stattfinden, die gezeigt haben, dass mit moderner Presstechnik ausreichend Presssaft hergestellt werden kann. Die durchschnittliche Ausbeute an Milchsäure betrug ca. 50 % im Jahr 2001. Dieses Ergebnis veranlasste das Projektteam im Jahr 2002 auf Doppelpressung von feuchteren Silagen (ca. 20 % TM) mit Wiederbefeuchtung des ersten Presskuchens überzugehen, um Milchsäureausbeuten von bis zu 85 % zu erreichen. Aufgrund der sehr erfolgreichen Fraktionierungsversuche kann eine Basispilotanlage (Fraktionierung, Vorfiltration, Presskuchenaufbereitung) errichtet werden.

Auf Basis der Forschungsergebnisse, dass die Proteine zu ca. 90 % als freie Aminosäuren vorliegen, musste zur Kenntnis genommen werden, dass die Abtrennung der Milchsäure größeren Aufwand verursacht wird. Die zunächst vorgeschlagenen Verfahren zur Vorreinigung, wie Zentrifugation und Ultrafiltration können entweder nicht oder nur zur Klarfiltration der Säfte herangezogen werden. Eine interessante Alternative stellt die Nachfermentation des Saftes dar. Hier wurde in einem Versuch die Umwandlung der Zucker in zusätzliche Milchsäure erfolgreich erprobt. Aufgrund der Komplexität der Silagesäfte wurde eine neue Partnerschaft mit S. Novalin (Institut für Lebensmitteltechnologie der Univ. f. Bodenkultur) eingegangen. Im Rahmen dieses Projekts wurden verschiedene Verfahrensvarianten getestet und bewertet. Die vorgeschlagenen Varianten stellen eine Kombination aus Membranverfahren (Ultra- u. Nanofiltration und Elektrodialyse) mit Chromatographie dar. Besonders mit Elektrodialyse konnten in einem zweistufigen Verfahren Aminosäuren und Asche problemlos von der Milchsäure separiert werden, wobei Milchsäure mit einer Ausbeute von 91% gewonnen wurde. In Kombination mit Chromatographieverfahren ist es voraussichtlich möglich verschiedene Wertstofffraktionen zu gewinnen. Die Herstellung von Aminiumlactat hat sich im Falle des Einsatzes von Silagesäften als nicht zielführend herausgestellt. Die Versuche zur Ethyllactatherstellung zeigen, dass zur nachhaltigen Gestaltung des Prozesses weiterer Forschungsbedarf besteht (feststoffliche Katalysatoren und effizientere Abtrennung des Wassers). Im Rahmen der Wirtschaftlichkeitsrechnung wurden die maximal möglichen Kosten für diese Prozesstechnologie errechnet.

### Schlussfolgerungen

Die Zusammensetzung der Silagesäfte (Milchsäure und freie Aminosäuren) zeigt hohes wirtschaftliches Potenzial. Die Abtrennung dieser Produkte benötigt jedoch größeren Technologieentwicklungsaufwand, wobei wesentliche Verfahrensvarianten im Rahmen dieses Projekts erfolgreich getestet werden konnten. Die Produkte weisen genügend Erlöspotenzial auf, um komplexere Abtrennungstechnologie zu rechtfertigen. Auch für die Herstellung von Ethyllactat als "grünes" Lösungsmittel ist Bedarf an weiterem Entwicklungsaufwand gegeben, um den Prozess nachhaltig zu gestalten. Durch die strategische Fokussierung der Grünen Bioraffinerie Österreich und dem positiven Ausblick auf den modularen Systemaufbau in den Bereichen Milchsäure und Aminosäuren wird das Projekt einem Leuchtturm im Sinne der Programmlinie "Fabrik der Zukunft" gerecht. Es konnte im Rahmen dieses Projekts ein Know-how Vorsprung gegenüber anderen europäischen Grünen Bioraffinerie Projekten erarbeitet werden. Durch die Weiterführung des Konzepts und die Errichtung einer Pilotanlage wird die Technologieführerschaft weiter ausgebaut werden.

## **Abstract – Part A**

### **The Green Biorefinery – Starting Point and Motivation**

One major motivation for the development of Green Biorefineries in Austria is the improvement or conservation of cultural landscapes i.e. grassland pasture. Due to the restructuring of the European agriculture and the possible reduction of the milk quota huge amounts of forage-grassland could be spare within the next years. Official estimations stress that the available grassland-biomass could amount to 500,000 to 1,000,000 tons dry matter a year only in Austria in future. In case of not utilizing the grassland pasture in future the cultural landscape would diminish significantly. The Green Biorefinery is therefore a technological concept to utilize green biomass as an abundant and versatile raw material for industrial products. The basic idea of this concept is to utilize the whole green biomass like grass, clover and alfalfa and generate a variety of products that are either valuable products themselves or form the basis for further production lines. Besides bio-based materials, energy (via biogas generation) may be supplied by this technology. The KORNBERG INSTITUT and JOANNEUM RESEARCH are committed to elaborate a feasible and sustainable concept. The Biorefinery Project consists of three Modules: Module-1: „Utilization of Grass Fiber“, Module-2: „Proteins from Grass Juice“, Module-3: „Lactic Acid from Grass-Silage“. The Green Biorefinery offers not only a very high economic potential but may support sustainable development efforts, especially in rural regions. Green Biorefineries could therefore significantly contribute to a sustainable development of the Bio-Industry sector.

### **Proteins from Grass Juice – Content and Targets of the Module**

Lactic acid (LA) has the potential to become a very large-volume commodity-chemical intermediate obtained from renewable carbohydrates by fermentation. It can be used as a feedstock for biodegradable polymers, oxygenated chemicals, environmentally friendly "green solvents", plant growth regulators and special chemicals. LA is the basis for a diverse sustainable industry with a high economic potential. Solid State Fermentation (SSF) is obviously an alternative process at low costs. Especially, Silage fermentation of green biomass (grassland) can be optimized by the application of LA-bacteria to generate LA not only for preservation but as economically relevant raw material. The exploitation of LA from Silage has not been a comprehensive research topic yet. In the frame of the Green Biorefinery research focus basic know how for down-stream processing by membrane technology and chromatography is elaborated. Process units should be found to separate Lactic Acid and Amino Acids (AA) from Silage-Juice. An other task is to upgrade the recovered LA into Aminiumlactate and Ethyllactate.

### **Methods and Data**

The research tasks are based on six work packages. (1) Production of the Raw Material (Grass-silage), (2) Chemical Analysis of all Phases, (3) Experiments in Lab and Semi-pilot plant scale, (4) Elaboration of possible technologies and Pilot plant planning, (5) Logistics and (6) Literature search and Reporting. Scientific work is mainly based on empiric experiments. Previous Projects can deliver basic data in a limited amount. Certain Down streaming steps are already carried out in pilot plant scale. IFA-Tulln, Dep. of Food Technology of BOKU and Bundesanstalt für Alpenländische Landwirtschaft are in charge of the chemical analysis of the different product streams. Previous to the experiments all steps are discussed with partner experts. All results undergo economic assessment. This procedure is strongly supported by our industry partners. As a principal, only sustainable technologies will be further elaborated to avoid "end of the pipe" measurements.

## Abstract – Part B

### Results

Silage Press Juice is composed of (in % Dry Matter) about 30 % Lactic Acid (LA), 8 to 22 % Sugars, 25 to 34 % Crude Protein (CP) and 23 to 30 % Crude Ash. About 85 to 100 % of CP is conformed as free Amino Acids (AA). As the raw material is prewilted grass silage (27 to 48 % DM in 2001) fractionation (pressing) is demanding and presses must be of special construction. Within this project comprehensive pressing experiments could be carried out in the seasons 2001 and 2002. The trials resulted in sufficient silage juice with an average yield of about 50 % Lactic Acid in 2001. In 2002 the experiments were done with larger humidity (20 % DM Silage) and double pressing including moistening of the first press cake. With this constellation the Lactic Acid yield could be increased to 85 %. As a result the fractionation unit should be installed as a basis pilot plant for further testing in a continuous system.

As the CP is conformed as free Amino Acids down-stream processing of the LA is more demanding. The suggested units, centrifugation and ultra filtration can not be seen as suitable. Although, ultra filtration can be applied for clarification of the silage juice. However, post-fermentation of the silage juice to convert the sugars into additional LA has been found to be an interesting method to increase the efficiency of a Green Biorefinery. Due to the complexity of down-stream processing with S. Novalin (Dep. of Food Technology, BOKU) a new research partner has been involved during the project. With him different processes for down-streaming could be developed and tested. The suggested alternatives are combinations of membrane technology (ultra and nano filtration and electrodialysis) and chromatography. A two-stage electrodialytic separation of valuable substances such as Lactic Acid and Amino Acids was investigated. The total Lactate recovered was 91 % at a 98 % of demineralization level. In combination with chromatography it should be possible to recover different valuable fractions. On the other hand the production of Aminiumlactate is not satisfactory by applying silage juice. Experiments regarding Ethyllactate show, that additional research will be necessary to develop a more sustainable process by using solid catalysts and a more efficient method to remove process water. The economic assessment could be carried out to determine the maximum allowed costs for product down-streaming.

### Conclusions

The composition of Silage Juice with Lactic Acid and Amino Acids shows great economic potential. Although the isolation of LA and AA is more demanding by means of down-stream processing a feasibility study within this report shows enough financial scope for investments in separation technology. However, different process alternatives could be proofed successfully. To increase sustainability the process for the production of Ethyllactate as a "green solvent" should be improved as well. Due to the strategic focus of the Austrian Green Biorefinery and the modular production of amino acids, lactic acids and side products based on Grass silage, the project is considered as a "light house" regarding the program "Fabrik der Zukunft". The results and developed know-how of this project constitute a leading position of the Austrian Green Biorefinery within Europe. Subsequent and consequent further development of sustainable and innovative Biorefinery technologies based on Grass silage and the construction of a pilot plant will result in the extension of the innovation leadership.

## 1 Einleitung

Die Abtrennung von Milchsäure aus inhomogenen und komplexen Medien ist ein Problem, das weltweit immer wieder beforscht wurde. Z. B. wurden für die Milchsäurefermentation Substrate wie Molkepermeat, Melasse oder Lignocellulosehydrolysat eingesetzt. Die Gewinnung von Milchsäure oder deren Derivaten aus Silage wurde noch nicht in größerem Umfang erforscht. Der Presssaft der durch das Abpressen der Anwelksilagen entsteht kann in seiner Komplexität mit keinem anderen Fermentationsmedium verglichen werden. Dies stellt eine besondere Herausforderung an das Down-stream Processing dar, bietet aber auch die Chance zusätzlich zur Milchsäure wertvolle Produkte wie Aminosäuren und Zucker zu gewinnen. Vorgereinigte Milchsäure wird in diesem Projekt als Zwischenprodukt für die Herstellung von Aminiumlactat und Ethyllactat angesehen.

Die einzelnen Produktbereiche der grünen Bioraffinerie ergeben ein sehr interessantes Bild für **zukünftige Anwendungen in einer einzigen Fabrik**, die **einen hochverfügbaren und nachhaltig** in der Landwirtschaft **produzierten Rohstoff** (Gras) verarbeitet. Die Fabrik der Zukunft „Grüne Bioraffinerie“ ist daher ein innovativer Prozess, der

- abfall- und emissionsfrei - im Sinne einer Kreislaufwirtschaft - Wertstoffe aus Gras gewinnt (die Grüne Bioraffinerie verwertet alle Restströme in einer Biogasanlage),
- auf Hilfsstoffe in der Produktion weitgehend verzichtet,
- autoenergetisch betrieben werden kann,
- Produkte für den zukünftigen Markt aus dem nachwachsenden Rohstoff „Gras“ (oder allgemein aus grünen Einjahrespflanzen) erzeugt
- und beispielgebend für Verfahren und Verarbeitungsarten von nachwachsender Rohstoffe ist, weil viele Produkte (multi-product) aus einem Rohstoff bzw. Rohstoffgemisch erst die Wirtschaftlichkeit ermöglichen und eine interdependente Optimierung vollzogen wird.

Dieses Projekt kann auf ein Vorprojekt, das in Bund-Bundesländer Kooperation (BBK) gefördert wurde, zurückgreifen. In diesem Projekt wurde eine prinzipielle wirtschaftliche Modellierung vorgenommen. Außerdem wurden Rohstoffparameter von Wiese und Silage erfasst (Kromus et al. 2002). Darauf aufbauend wird in diesem „Fabrik der Zukunft“ Projekt detaillierte Technologieentwicklung vorgenommen.

In diesem Projekt wird demnach untersucht, unter welchen Bedingungen es technologisch, wirtschaftlich und nachhaltig möglich ist Milchsäure aus Grassilage zu gewinnen. Grassilagepresssaft als komplexes Medium (*Inhaltsstoffe: Milchsäure, Proteine, Asche, Zucker, etc.*) kann mit keiner klassischen Fermentationsbrühe verglichen werden. Zur Abtrennung der Wertstoffe, Milchsäure und Aminosäuren (vgl. Koschuh et al. 2003) ist es daher notwendig neue integrierte Technologien zu finden, die einerseits schonend genug sind, um die Inhaltsstoffe in ihrer natürlichen Zusammensetzung nicht zu zerstören und andererseits effektiv und effizient zu den gewünschten Produktreinheiten führt.

Für die Bearbeitung dieses Projekts wurden folgende Thesen aufgestellt:

- These 1:** Die Fraktionierung von Grassilage kann derart optimiert werden, dass die Wertstoffe (Milchsäure und Aminosäuren) in wirtschaftlich interessanter Menge abgetrennt werden können.
- These 2:** Es existieren integrierte Technologien, mit denen die in ausreichender Reinheit gewonnen werden können. → Kuppelproduktion: eine Anlage liefert mehrere Produkte.
- These 3:** Die Verfahren, die zu dieser integrierten Technologie führen beinhalten Ultrafiltration, Nanofiltration, Elektrodialyse und Chromatographie, die optimal kombiniert werden können.
- These 4:** Durch bekannte Verfahren der Milchsäureverarbeitung in Milchsäureethyl-ester bzw. Aminiumlactat ist es nicht notwendig hochreine Milchsäure zu erzeugen (Kostensparnis).
- These 5:** Die Grüne Bioraffinerie auf Basis von Grassilage wird durch die vorgeschlagenen Technologien als Multi-Product System gegenüber klassischen Milchsäureverfahren (Submersfermentation) konkurrenzfähig.
- These 6:** Trotz der Komplexität der Prozesse handelt es sich um nachhaltige Technologien.

Nachdem es sich bei der Forschung an der Grünen Bioraffinerie im Rahmen der Programmlinie "Fabrik der Zukunft" um ein Projektbündel handelt sind die Einzelprojekte stark von einander abhängig. Im Besonderen gilt dies für das Grüne Bioraffinerie „Proteinprojekt“ und das „Milchsäureprojekt“, da es sich um kaskadische Abtrennung der Produkte handelt. Die Erkenntnis, dass Proteine im Silagepresssaft als Oligopeptide bzw. freie Aminosäuren vorliegen, die mit den vorgeschlagenen einfachen Trenntechniken (Ult-



rafiltration bzw. Zentrifugation) nicht abzutrennen sind, hatte großen Einfluss auf den Forschungsschwerpunkt des Projekts. Zusätzliche Anforderungen an die Abtrenntechnik, allerdings mit der Option der gleichzeitigen Gewinnung von hochwertigen Aminosäuren erforderten mehr Energie und Zeit für die Erforschung des Down-stream Processing. Dafür wurden die Arbeiten an der Ethyllactat- und Aminiumlactatproduktion reduziert. Ziel wurde es ein erstes Basisdesign für die Abtrennung von Milchsäure und Aminosäuren experimentell zu entwerfen und zu testen. Glücklicherweise konnte mit S. NOVALIN (Institut für Lebensmitteltechnologie der Universität für Bodenkultur) ein engagierter und interessierter Experte in den Bereichen Membran- und Chromatographieverfahren für das Projekt gewonnen werden.

Die aufgestellten sechs Thesen wurden wissenschaftlich anhand von empirischen Untersuchungen, Literaturrecherchen und Expertengesprächen untersucht. Die Ergebnisse bzw. die Annahme oder Verwerfung dieser Thesen werden in diesem Bericht ausführlich dargestellt und diskutiert. Eine Strategie für die weitere Vorgehensweise, um zu einer Umsetzung der Grünen Bioraffinerie als "Leuchtturmprojekt" im Rahmen der Initiative "Fabrik der Zukunft" zu gelangen, wird entwickelt.



## 2 Verwendete Methode und Daten

Die Umsetzung des Teilprojekts „Milchsäure aus Grassilagesaft“ erfolgte in sechs Arbeitspaketen. (I) Rohstoffgewinnung, (II) Analytik, (III) Versuche im Labor- und Semi-Pilotanlagenmaßstab, (IV) (Produkt-) und Technologiespezifikation u. Pilotanlagenkonzipierung, (V) Logistik und (VI) Literaturrecherche und Berichtslegung. Bei diesem Projekt handelte es sich primär um empirische Forschung. In begrenztem Umfang (Rohstoffanalytik) kann auf Vorprojekte zurückgegriffen werden. Bevor mit der Arbeit im Labor begonnen wurde, wurde weitere Literatur recherchiert und mit Experten diskutiert. Die Ergebnisse aus der Versuchstätigkeit wurden direkt mit den beteiligten Firmen besprochen. Darauf folgte die Überprüfung der vorgeschlagenen Prozesswege auf ihre Wirtschaftlichkeit. Prinzipiell wurden nur solche Verfahrensschritte weitergehend verfolgt, die das Prädikat „Nachhaltige Technologie“ bestmöglich erfüllen.

Für die Versuche zur Milchsäuregewinnung aus Silagepresssäften wurden folgende Methoden eingesetzt:

1. Ernte und Silierung von Grünlandbiomasse mit speziellen Starterkulturen
2. Fraktionierung (Zerkleinerung und Pressung) der Rohstoffe und Herstellung von Presssaft und Presskuchen (inkl. Vorfiltration und Trocknung des Presskuchens)
3. Ultrafiltrations- und Nanofiltrationsversuche
4. Entwicklung eines zweistufigen Elektrodialyseprozesses (ED)
5. Grundlagenversuche zur Chromatographie (Separierung von Milchsäure bzw. Aminosäuren)
6. Umfassende Analytik und Erstellung der Massenbilanzen bzw. Wirkungsgrade

Der Großteil der Technologie- und Produktentwicklungsversuche wurde im Labormaßstab bzw. Semipilotanlagenmaßstab durchgeführt. Diese Größenordnung wurde deshalb gewählt, da zunächst die Grundlagen für eine neuartige Prozesskette erarbeitet wurden. Lediglich die Fraktionierung konnte bereits im Pilotanlagenmaßstab umgesetzt werden.

Es konnten zwei Typen Schneckenpressen getestet werden. Die Pressen boten eine Durchsatzleistung von ca. 200 bis 500 kg FM/h, je nach Trockenmassegehalt des Input-Materials. Die entstandenen proteinreichen Säfte wurden entweder tiefgefroren (Jahr 2001) oder direkt von der Presse (Jahr 2002) weiterverarbeitet.

Die Versuche zu den untersuchten Membran- und Chromatographieverfahren fanden ausnahmslos im Labor bzw. Technikum des Instituts für Lebensmitteltechnik der Universität für Bodenkultur (BOKU) statt. Auch die Versuche zur Herstellung von Aminiumlactat wurden aus Gründen der Kosteneffizienz an der BOKU umgesetzt.

Die Herstellung von Milchsäureethylester (Ethyllactat) erfolgte mit einer Modelllösung in Deutschland (Universität Potsdam, Forschungsstandort Teltow mit dem Verein BIOPOS e.V.). Die Modelllösung wurde anhand der Ergebnisse der Elektrodialyse definiert und durch die Partner in Deutschland zusammengestellt. Zum Einsatz kam eine Anlage der Firma Büchi (Chem-Reaktor, Nennvolumen 15 l). Die Anlage wurde eigens für die Herstellung von Milchsäureestern mit einer Betriebstemperatur von  $-50$  bis  $200^{\circ}\text{C}$  sowie Betriebsdruck von  $-1$  bis  $0,5$  bar ausgelegt.

Begleitend zu den oben genannten Versuchen wurden verschiedene Methoden zur Analytik angewendet:

- Grundanalytik der Silage Rohstoffe an der BAL-Gumpenstein
- Bestimmung der Trockenmasse - TM
- Stickstoffbestimmung nach Kjeldhal (Rohprotein und Amoniumstickstoff)
- Aschebestimmung
- Bestimmung von org. Säuren (Milchsäure) und monomeren Zuckern mittels HPLC und UV-Detektion.
- Bestimmung der L(+)-Milchsäure zur Enzymtest
- Bestimmung der Aminosäuren mittels HPLC und Floureszenzdetektion der derivatisierten Aminosäuren
- Bestimmung der Kationen
- Bestimmung der Kationen und Anionen mit Ionenchromatographie

Die begleitende Analytik der unterschiedlichen Phasen wurde durch das IFA-Tulln, das Institut für Lebensmitteltechnologie der BOKU und der Bundesanstalt für Alpenländische Landwirtschaft durchgeführt.

Alle Silagesäfte wurden vor der Weiterverarbeitung im Labor bzw. Technikum eingefroren und gelagert. Lediglich ein Ultrafiltrationsversuch im Jahr 2002 (1 kD) wurde mit frischem

Silagepresssaft durchgeführt. Die Lagerung durch Einfrieren kann bei Silagesaft im Gegensatz zu grünem Saft als unproblematisch angesehen werden.

Die Ergebnisse aus der Laborarbeit werden direkt mit den beteiligten Firmen besprochen und die vorgeschlagenen Prozesswege werden auf ihre Wirtschaftlichkeit geprüft. Die gesamte Versuchsanordnung wurde so gewählt, dass nach Projektende für bestimmte Module der Grünen Bioraffinerie der Aufbau einer Demonstrationsanlage möglich ist. Prinzipiell werden nur solche Verfahrensschritte weitergehend verfolgt, die das Prädikat „Nachhaltige Technologie“ bestmöglich erfüllen.

### **3 Ergebnisse des Projekts und Schlussfolgerungen**

#### **3.1 Milchsäureprodukte aus Grassilage**

Im letzten Jahrzehnt ist das Interesse an der Produktion von Milchsäure merklich gestiegen. Mögliche Wachstumsmärkte im Polymerbereich und im Chemikaliensektor haben die Aufmerksamkeit vieler Firmen nach sich gezogen. Milchsäure könnte in naher Zukunft eine wichtige neue bio-organische "Plattform-Chemikalie" werden, ähnlich wie das derzeit Ethylen (Ethen) in der Petrochemie ist.

Zur Herstellung der gewünschten Milchsäureprodukte, Ethyllactat und Aminiumlactat ist es notwendig zunächst das entsprechende Down-stream Processing zu erarbeiten.

Ethyllactat entsteht durch die Veresterung von Milchsäure mit Ethanol.

Es ist ein für viele Zwecke verwendbares und dadurch sehr wertvolles Produkt.

Eigenschaften von Ethyllactat (Holten 1971):

- biologisch abbaubar
- ungiftig
- ausgezeichnetes Lösungsmittel
- geringe Flüchtigkeit
- hoher Siedepunkt

Kamm und Kamm (1997) haben ein Verfahren entwickelt, das die Möglichkeit bietet aus komplexen milchsauren Lösungen einen organischen kristallinen Feststoff zu erzeugen.

Die Kristalle sind das Ausgangsmaterial für einen neuen, gegenüber herkömmlichen Verfahren verkürzten Syntheseweg zum Dilactid, dem wichtigsten Zwischenprodukt bei der Herstellung von Polylactiden. Aminiumlactate eignen sich auch sehr gut als Basismaterial für weitere chemische Synthesen und werden außerdem auch als Wirkstoff oder als Matrixmaterial in der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie eingesetzt. Aminiumlactat ist als Feststoff gut handhabbar und lagerfähig. Nach der Erzeugung des Dilactids kann das Amin z.B. über die Erzeugung eines Monosulfats recycelt werden.

Die Milchsäure kommt daher in einer racemischen (DL-Milchsäure) und in zwei optisch aktiven Formen vor (L(+) bzw. D(-)). Im Rahmen dieses Projektes konnte der Anteil der L(+) Milchsäure in den Silagepresssäften gemessen werden (Tab. 1).

**Tab. 1 Mittelwerte des L(+) Milchsäuregehalt der Silagesäfte**

Probenbezeichnung	ges. MS (g/l, HPLC)	L(+)-MS (g/l)	L(+)-MS (%)
<b>Mittelwert 2001</b>	<b>45,6</b>	<b>20,7</b>	<b>40,5</b>
<b>Mittelwert 2002 ohne Probe 02/27</b>	<b>26,1</b>	<b>15,2</b>	<b>58,9</b>

Tab. 1 zeigt, dass trotz des Einsatzes von reinen L(+) bildenden Starterbakterien im Jahr 2002 (Bon Silage d. Fa. LACTOSAN) die Rate der L(+) Milchsäure nur um ca. 46 % auf ca. 59% gesteigert werden konnte. Zur Herstellung von Polymilchsäure (aus Dilactid) benötigt man allerdings reine L(+) Milchsäure. Im Falle der Herstellung von Ethyllactat bzw. Food-Grade Milchsäure spielt der Anteil an L(+) Milchsäure eine untergeordnete Rolle. D.h. bei der Weiterentwicklung Richtung bioabbaubarem Kunststoff müsste der L(+) Milchsäuregehalt in der Silage weiter optimiert werden bzw. eine Separierung (z.B. destillative Trennung der Dilactid Isomere) stattfinden.

### **3.2 Grassilage zur Herstellung von Milchsäure**

Bei der Auswahl der entsprechenden Flächen konnte auf die Expertise von K. Buchgraber (BAL-Gumpenstein) und die Unterstützung von Landwirten der Region "Steirisches Vulkanland" zurückgegriffen werden. In einem Vorprojekt (Kromus et al. 2002) wurden die Rohstoffe der Saisonen 2000 und 2001 ausführlich diskutiert und die Silageherstellung beschrieben. Für die Versuche der Jahre 2001 und 2002 wurden im Rahmen diese Projektes folgende Flächen einbezogen:

1. Gumpensteiner Bastard – Raygraswiese – Sämereienwiese (verwendete Abkürzung: **BRG01**) (1. Schnitt nur Ertragsprobe) – 3. Schnitt Silierung
2. Klee graswiese – Feldfutter – ÖAG-Mischung "IM" – 1. und 2. Schnitt Silierung (verwendete Abkürzung **KLG01**) (3. Schnitt nur Ertragsprobe)

3. Dauerwiese-Obersteiermark bei Admont - Buchau (verwendete Abkürzung **DW01** bzw. **DWB01**) – 1. Schnitt Silierung
4. Knautgraswiese – Sämereienwiese (verwendete Abkürzung **KG01**)



**Abb. 1: Wechselwiese Klee gras (KLG) in Auersbach, Stmk. – Rohstofflieferantin der Jahre 2001 und 2002 (Foto: Joanneum Research)**

Silagen der oben beschriebenen Grünlandbiomasse wurden mit Silagestarterkulturen des IFA Tulln beimpft (ca.  $10^5$  cfu/g FM).

**Tab. 2 Verwendete Silagestarter der Saison 2001**

IFA-M2	Stammischung des IFA-Tulln
IFA-S3	Stammischung des IFA-Tulln

Im Jahr 2002 wurde als Ergänzung zu den bewährten Flächen (Bastardraygras einer Sämereienwiese und Klee gras Wechselwiese) eine Luzernefläche in Großsteinbach (Bez. Hartberg) einbezogen. Als Starterkultur wurde das kommerziell erhältliche „BonSilage“ (ca.  $10^5$  cfu/g FM) der Firma LACTOSAN eingesetzt. Die Zusammensetzung der einzelnen Rohstoffe, mit Fokus auf die Proteingewinnung, sind im Annex des Anhangs C zu finden.



Es wurden für die Versuche 2002 sechs Siloballen Klee gras, 1. Schnitt und drei Siloballen Bastardray gras, 1. Schnitt erzeugt. Für die Versuche mit frischer Grünmasse wurden zwei Ballen (ca. 500 bis 600 kg FM) Luzerne, 1. Schnitt, sechs Ballen Klee gras, 2. Schnitt und drei Ballen Bastardray gras, 2. Schnitt erzeugt.

Für die Erstellung der Daten im Rahmen dieses Projekts wurden 2002 folgende Rohstoffe eingesetzt:

1. Bastardray gras, 1. Schnitt, BonSilage-Silage, Abpressdatum 27.05.02, Ballen Nr. 2 (dieser Silagesaft wurde für den Ultrafiltrationsversuch 2002 mit 1 kD herangezogen) – Doppelpressung ohne anfeuchten
  - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/13; B02/12; B02/11
  - b. Saftprobennummern: 02/19; 02/23
2. Bastardray gras, 1. Schnitt, BonSilage-Silage, Abpressdatum 28.05.02, Ballen Nr. 3 – Doppelpressung mit anfeuchten
  - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/16; B02/15; B02/14
  - b. Saftprobennummern: 02/24; 02/25
3. Klee gras, 1. Schnitt, BonSilage-Silage, Abpressdatum 31.05.02, Ballen Nr. 6 – Doppelpressung mit anfeuchten
  - a. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/22; B02/21; B02/20
  - b. Saftprobennummern: 02/26; 02/27

### **3.3 Fraktionierungsversuche und Grobfiltration von Grassilage und Grassilagepresssäften**

Die Fraktionierung ist der Schlüssel zu hohen Produktausbeuten aus Grassilage. Diese Aussage bezieht sich auf die Schnittstelle feste Phase/Presssaft. Die Milchsäurefermentation findet in Anwelksilage statt und daher soll die Milchsäure möglichst quantitativ gemeinsam mit Proteinen (Aminosäuren) in den Presssaft übertragen werden.

Aufgrund der Vorversuche im September 2000 und März 2001 (Kromus et al. 2002) konnte festgestellt werden, dass Schneckenpressen für das Auspressen von Anwelksilagen prinzipiell geeignet sind. Mit der Fa. HERNACH, einem Krenverarbeiter im Süd-Westen des Bezirks Feldbach (Grasdorf) konnte ein im Fraktionieren von Pflanzenrestmassen

erfahrener Partner gefunden werden. Alle Pressversuche der Saison 2001 wurden deshalb bei der Fa. HERNACH durchgeführt.

Die entsprechenden Versuche wurden bereits sehr ausführlich in den Endberichten der übrigen Module des Fabrik der Zukunft Projektbündels "Grüne Bioraffinerie" dargestellt und werden daher hier nur mehr in Bezug auf die Milchsäure näher betrachtet (Koschuh et al. 2003, Wachter et al. 2003).

### 3.3.1 Fraktionierung 2001 – Milchsäure aus Grassilage

Abb. 2 zeigt die Milchsäureausbeute für sechs ausgewählte repräsentative Silagen. Die Ausbeute an Milchsäure aus Grassilage betrug im Mittel 48,6%.

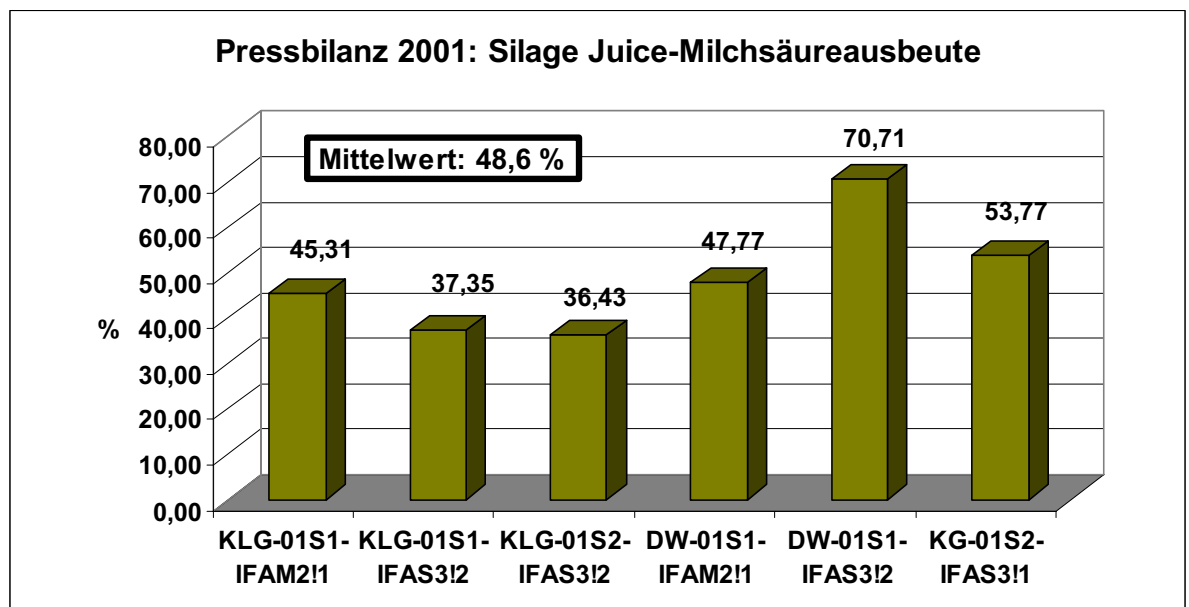
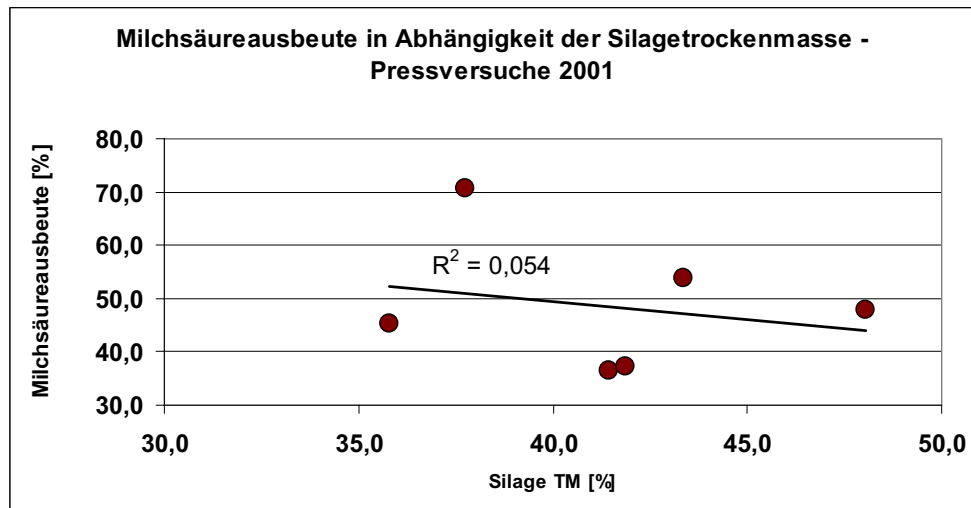


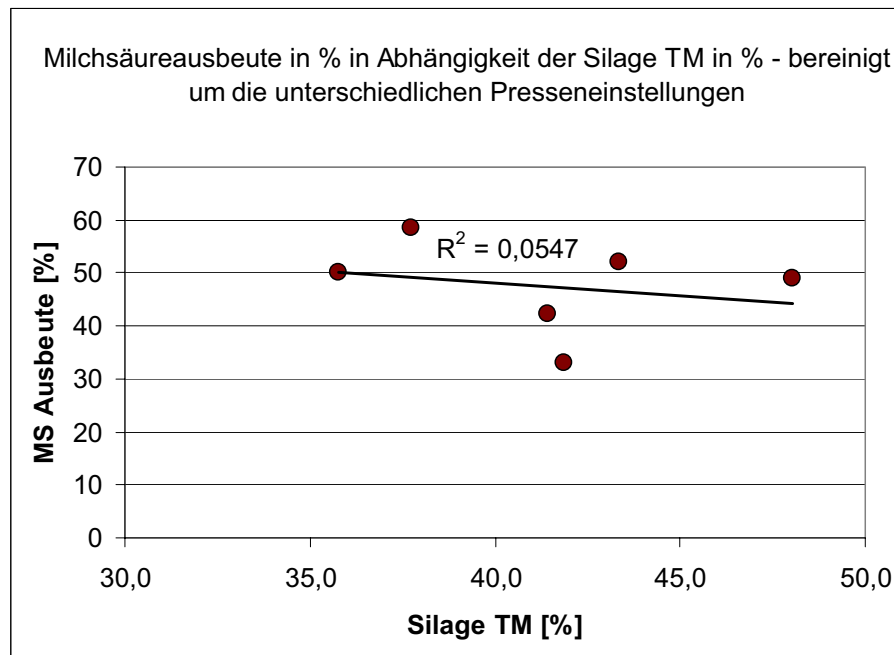
Abb. 2: Pressbilanz 2001 – Milchsäureausbeute in % aus unterschiedlichen Ballensilagen (KLG = Klee gras, DW = Dauerwiese, KG = Knaut gras)

In Abhängigkeit der Silagetrockenmasse ergibt sich für die Milchsäurebilanz folgendes uneinheitliches Bild (Abb. 3):



**Abb. 3: Milchsäureausbeute [%] in Abhängigkeit der Silagetrockenmasse – mit linearer Trendlinie und Bestimmtheitsmaß nach Pearson (Pressversuche 2001)**

Bereinigt man die Ausbeute in % um die unterschiedlichen Pressbedingungen (Gegendruck und Schneckenumdrehung) ergibt sich kein wesentlich einheitlicheres Bild für das untersuchte Silage TM % Intervall (Abb. 4).



**Abb. 4:** Milchsäureausbeute in % in Abhängigkeit der Silage TM in % - bereinigt um die unterschiedlichen Presseinstellungen (Gegendruck und Schneckenumdrehung) mit linearer Trendlinie und Bestimmungsmaß nach Pearson (Pressversuche 2001)

Im Bereich 35 bis 48 % TM der Silage kann immer mit ca. 48 % Ausbeute der Milchsäure gerechnet werden. Diese Aussage gilt natürlich primär für die verwendete Versuchspresse. Erst bei feuchteren Silagen kann davon ausgegangen werden, dass mehr Milchsäure abgetrennt werden kann. Die Versuche des Jahres 2002 werden zeigen, ob sich diese These bestätigen lässt.

### 3.3.2 Fraktionierung 2002 – Milchsäure aus Grassilage

Anhand der Ergebnisse, die durch die Versuchsreihe 2001 erreicht wurden, konnte ein für die Bewertung der Wirtschaftlichkeit wichtiges Ablaufschema erstellt werden (Abb. 5). In diesem Bericht werden die Ergebnisse, die sich auf die Gewinnung der Milchsäure beziehen dargestellt.

Die Versuche 2001 wurden als Einfachpressung durchgeführt. Anhand dieser Ergebnisse wurde unter Abwägung der Wirtschaftlichkeit beschlossen die zukünftige Strategie auf Doppelpressung (Versuche 2002) zu erweitern. Dadurch könnte auf einen vorhergehenden Zellaufschluss (Kromus et al. 2002) verzichtet werden. Diese Erkenntnis ist speziell für die Fraktionierung von Silage relevant, da die Substanzen Milchsäure und hydrolysierte Proteine gut wasserlöslich sind und angenommen werden kann, dass deren Bindung

im Zellkompartiment nicht (Milchsäure) oder nur mehr teilweise (Aminosäuren) gegeben ist. Die Auswertung der Versuchsreihe Mai/Juni 2002 zeigt, dass diese Optimierungsversuche gelungen sind.

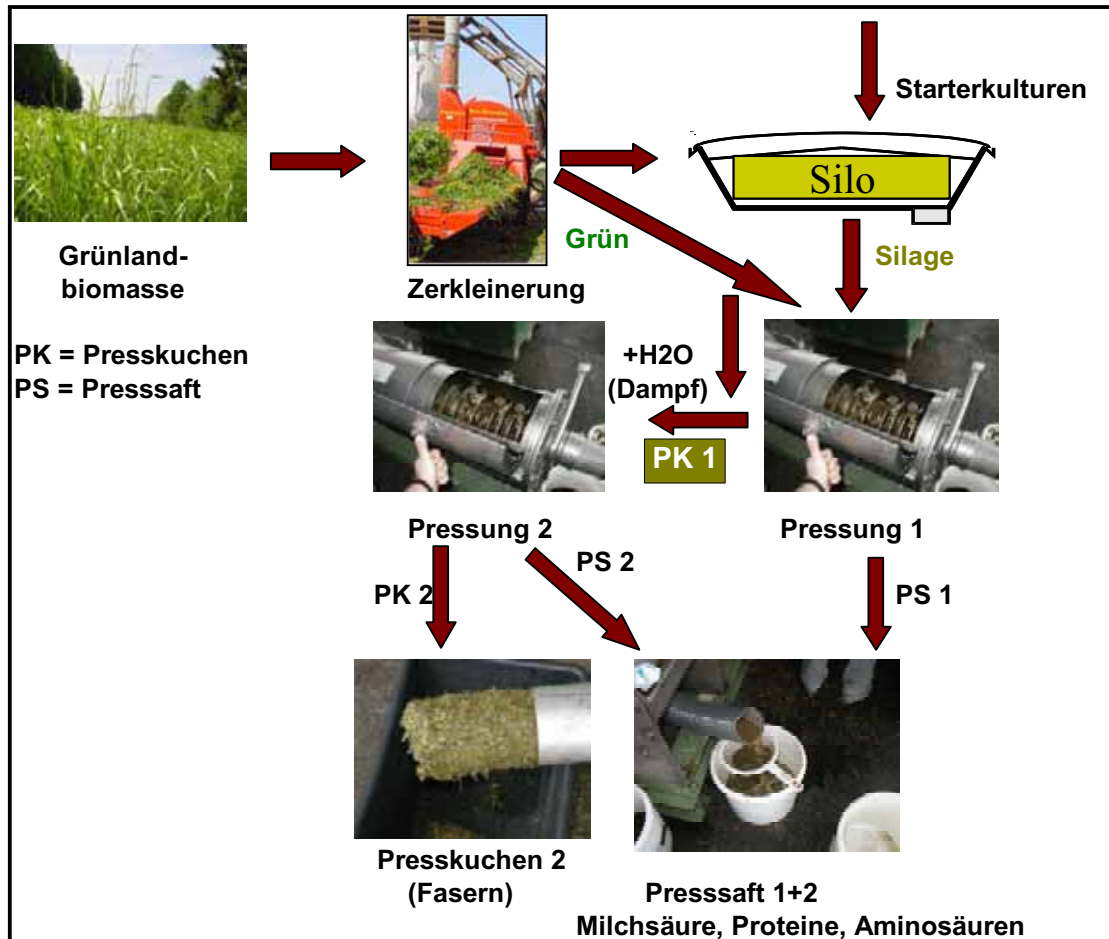
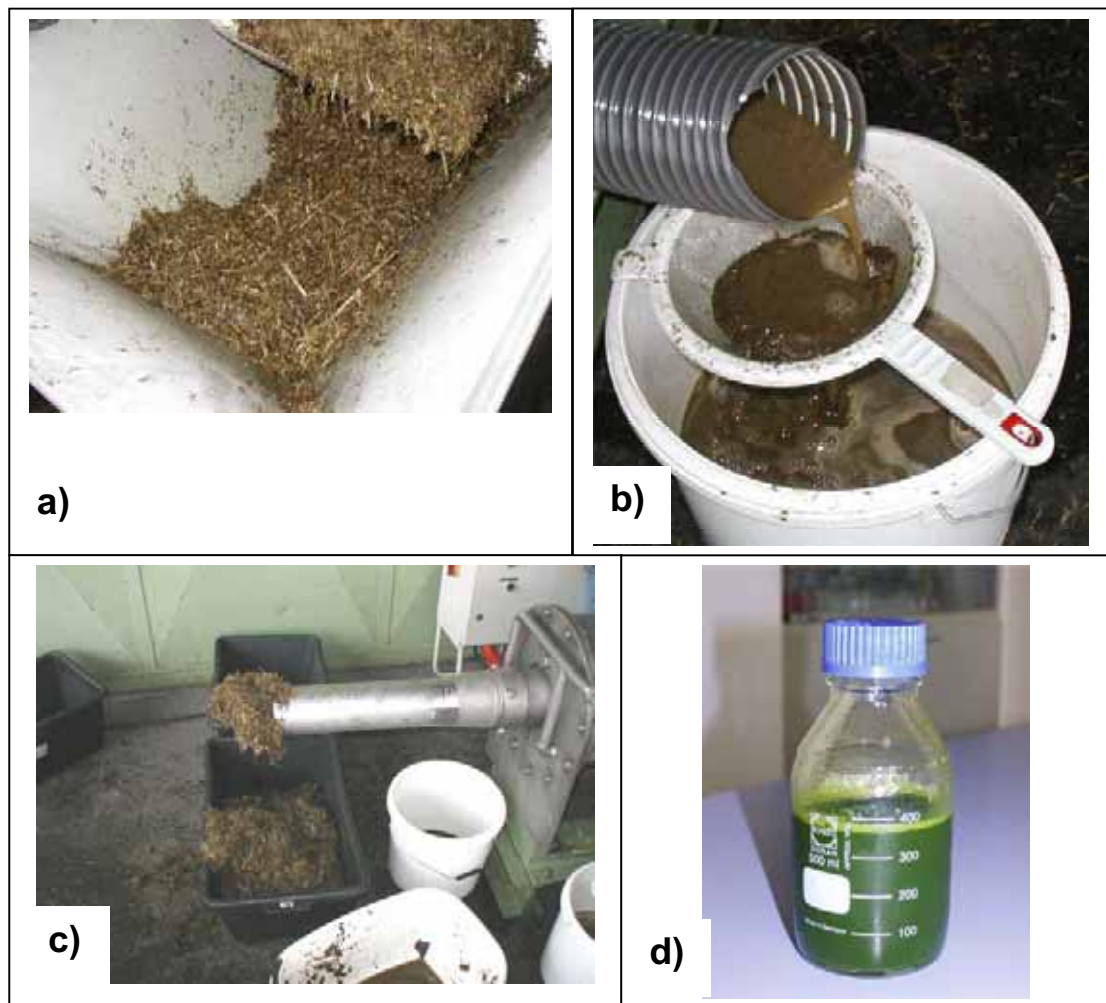


Abb. 5: Schema der Fraktionierung mit Doppelpressung

Im Projekt „Milchsäure aus Silagesäften“ wurden mit der Presskampagne 2002 im wesentlichen zwei Ziele verfolgt:

1. Signifikante Steigerung der Milchsäureausbeute vom Rohstoff in den Saft gegenüber 2001.
2. Versuche zur Doppelpressung mit teilweise Befeuchten des ersten Presskuchens mit dem Ziel die Ausbeute weiter zu steigern.

Für die Pressversuche 2002 konnte von der Fa. Ponndorf eine robuste Schneckenpresse angemietet werden. Die Presse hat eine Durchsatzleistung in Abhängigkeit des Rohstoffs bis 500 kg/h Frischmasse (FM). Die Presse PP7 verfügte allerdings noch nicht über einen hydraulisch einstellbaren Pressteller, um den Gegendruck zu optimieren, sondern lediglich über ein konisches Austragsrohr, das im Verlauf der Versuche durch die Werkstätte der Fa. LACTOPROT AG weiter verjüngt wurde (vgl. Koschuh et al. 2003 und Wachter et al. 2003).



**Abb. 6:** a) Befüllung der Presse mit Silage, b) Silagepresssaft, c) Silagepresskuchen, d) Luzernepresssaft – Pressversuche 2002 (Fotos: Kornberg Institut)

Der Silagepresssaft wurde entweder sofort ultrafiltriert (1 kD) oder zur Lagerung eingefroren.

Die Ausbeute der Milchsäure aus der Silage betrug im Mittel bei Einfachpressung 78,1 %. Dies entspricht einer **Steigerung von 61 %** gegenüber den Versuchen 2001 (Abb. 7). Durch die geänderte Versuchsdurchführung ist man den bereits im Jahr 1999 angestrebten Ausbeuten einen entscheidenden Schritt näher gekommen (vgl. Kromus et al. 2002).

Die Doppelpressung sowohl mit anfeuchten des ersten Presskuchens auf ca. 37 bis 39 % TM als auch ohne anfeuchten des ersten Presskuchens ergibt eine Ausbeutesteigerung gegenüber der Einfachpressung der Silage von 9 % auf optimale 85,0 % Milchsäureausbeute in den Saft. Dies ist gegenüber 2001 eine, um 75 %, verbesserte Ausbeute.

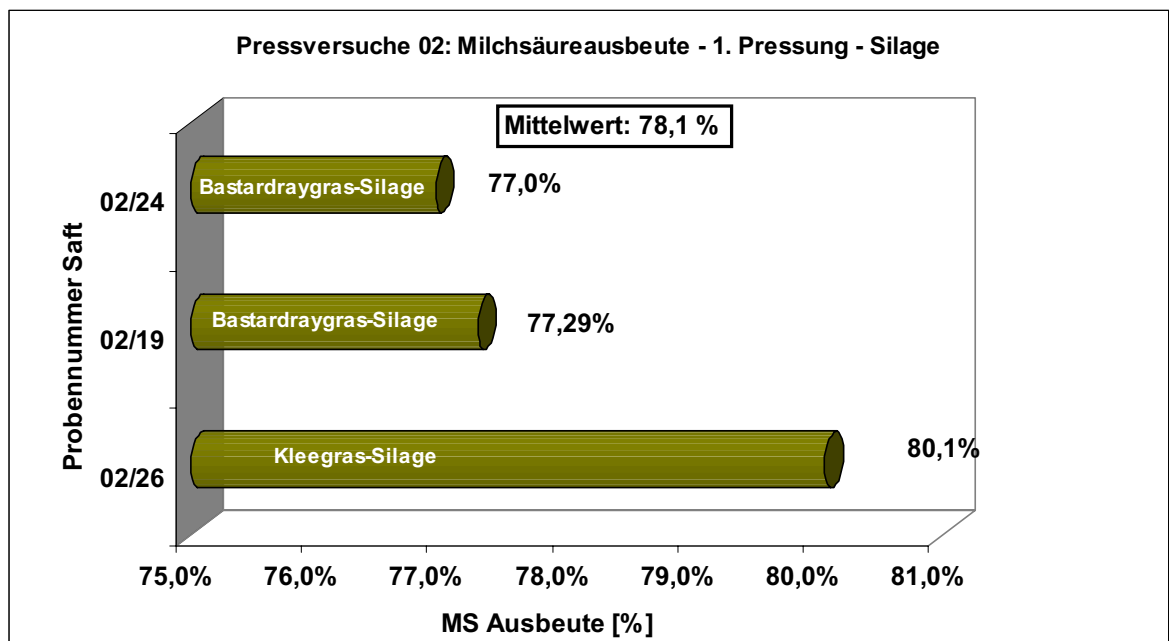
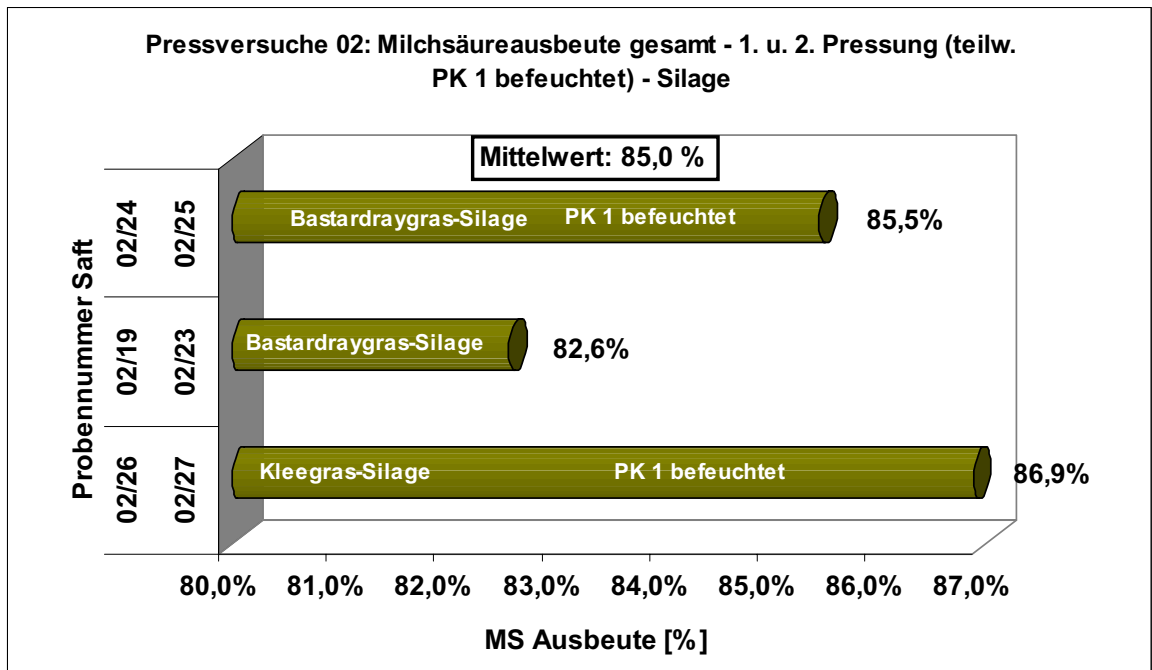


Abb. 7: Pressversuche 2002: Milchsäureausbeute (MS) – 1. Pressung – Silage



**Abb. 8: Pressversuche 2002: Milchsäureausbeute gesamt – 1. u. 2. Pressung (teilw. befeuchtet) – Silage**

Die Milchsäureausbeute von 85,0% kann als optimal angesehen werden. In weiterführenden Versuchen im Rahmen einer Pilotanlage sollte versucht werden diese Ausbeuten in kontinuierlichen Systemen stabil zu erreichen. Außerdem wäre eine Optimierung des Trockenmassegehalts im Presssaft wünschenswert (möglichst hoher TM-Gehalt), um die weiteren Abtrennungskosten durch geringeren Wassertransport niedriger zu halten.



### 3.4 Vorreinigung von Silagesäften

#### 3.4.1 Nachfermentation

Aufgrund des hohen Zuckergehalts der Presssäfte im Jahr 2001 wurde untersucht inwieweit sich vorhandene Zucker durch Nachfermentation in zusätzliche Milchsäure umwandeln lassen. Für diese Versuchsreihe wurde ein repräsentativer Saft mit relativ hoher Milchsäurekonzentration und hoher Zuckerkonzentration der Saison 2001 gewählt. Der Saft wurde deshalb gewählt, um herauszufinden, ob die bereits im Saft befindliche Milchsäure die Fermentation hemmen würde und inwieweit die Zucker umwandelbar sind. Es handelte sich um Presssaft auf Kleegrassilage, 1. Schnitt mit IFAM2 Bakterien angeimpft (Saft 01/44) (Abb. 9).

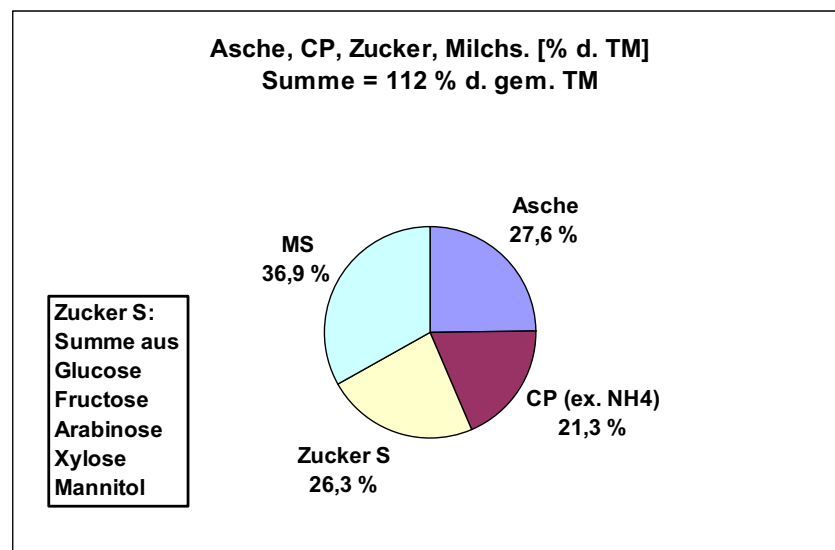


Abb. 9: Zusammensetzung des Silagepresssaftes für Nachfermentationsversuche (Kleegrassilage, 1. Schnitt, IFAM2 Bakterien) (01/44)

Der Saft wurde sterilisiert und mit 4 N NaOH auf pH 6,5 eingestellt und mit *L.rhamnosus* IFA590 in einer „pH-Stat“ Anlage fermentiert. Je Ansatz wurden 450 ml Silagesaft und 50 ml Inokulum verwendet.

Es wurden 6 Versuche angesetzt, wobei sich bei allen der Milchsäuregehalt von etwa 50 g/l auf 70 g/l erhöhte. Versuch Nr. 3 wurde nur zu Beginn neutralisiert (pH 6,5), aber der pH wurde während der Fermentation nicht geregelt. Dieser Ansatz benötigte zwar mehr Zeit (115,5 h), aber es wurde in etwa dieselbe Menge an Milchsäure gebildet, eventuell wäre daher gar keine pH-Regelung notwendig.

Bei Versuch 1, 2, 4, 5, und 6 war die Fructose bereits nach 42,25 Stunden vollständig abgebaut. Die gemessene Glucose wurde gesamt nur zu ca. 80 % abgebaut. Pentosen (Arabinose) wurde nur zu einem geringeren Teil (60 % nach 115,5 h) abgebaut. Es kann davon ausgegangen werden, dass das Medium trotz bereits relativ hohem Milchsäuregehalt ohne Zuschlagstoffe gut fermentierbar ist und Produktinhibition voraussichtlich keine oder eine untergeordnete Rolle spielt.

Generell kann gesagt werden, dass die Nachfermentation eine interessante Möglichkeit der Saftvorreinigung darstellt, da die C6-Zucker zu mindestens 80 % abgebaut werden können und der Milchsäurezugewinn je nach Zuckergehalt des Presssaftes bis zu 40 % betragen kann. Die Versuche sind daher zunächst als ausreichend für die Wirtschaftlichkeitsbewertung anzusehen. Im Falle einer Umsetzung müssten allerdings Untersuchungen zur Kinetik und zur Möglichkeit der kostengünstigeren unsterilen Fermentation ohne pH-Regelung untersucht werden.

### **3.4.2 Ultrafiltration**

Ultrafiltrationsversuche dienen ebenfalls zur Abschätzung der Möglichkeiten der Vorreinigung der Silagepresssäfte. Im Falle der Silageverarbeitung sollte die Ultrafiltration nicht nur der Abtrennung der Proteine (Retentat) dienen, sondern auch der Vorreinigung der Milchsäure (Permeat).

Die Ergebnisse zu Ultrafiltrationsversuchen mit Silagepresssaft wurden bereits im Fabrik der Zukunft Endbericht „Proteine aus Grassäften“ (Koschuh et al. 2003) ausführlich dargestellt. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Rückhaltung von Proteinbestandteilen (berechnet aus Feed und Permeat) sowohl bei einem Cut-off von 15 kD als auch bei 1 kD nur ca. 10 % beträgt. Dies ist ziemlich exakt der Wert, der durch die Lowry-Bestimmung als „echtes“ Protein (im Gegensatz zu freien Aminosäuren) bestimmt wurde. Dies bedeutet, dass das Permeat zwar klar filtriert werden kann, dass aber 90 % der Proteinbestandteile immer noch im Milchsäuremedium zu finden sind. D.h. Ultrafiltration kann einen ersten Schritt in der Abtrennung der Milchsäure darstellen allerdings müssen weitere Behandlungsschritte folgen.



**Abb. 10: Permeat der Ultrafiltrationsversuche – Silagepresssaft**

Zusammenfassung der Erkenntnisse:

- Die Ultrafiltration von Silagesaft ist bis zu hohen Konzentrationsfaktoren ( $> 11$ ) möglich
- Es kommt zu keiner selektiven Abtrennung von Proteinen oder Peptiden.
- Der durchschnittliche Flux für einen realen Betrieb liegt bei 20 bis 25 L/hm<sup>2</sup>

Die Ultrafiltration (1 kD) wurde für die Herstellung des Permeats, das für die Elektrodialyse und Chromatographieversuche herangezogen wurde. Das Permeat trägt die Bezeichnung SJP02 (01a/1). Das Feed wurde aus einem Teil 01/38 (Kleegrassilage, 1. Schnitt) und zwei Teilen 01/63 (Bastardraygrassilage, 3. Schnitt) zusammengesetzt.

### **3.5 Möglichkeiten und Konzepte zur Isolierung und Reinigung von Milchsäure**

Mit S. Novalin (Institut für Lebensmitteltechnologie, Universität für Bodenkultur) konnte einer der führenden Spezialisten auf dem Gebiet der Abtrennung und Reinigung organischer Säuren für das Projekt gewonnen werden. Zunächst wurden vier mögliche Verfahrensvarianten (unabhängig von der Nachfermentation) vorgeschlagen, die bis Frühjahr 2003 getestet und bewertet wurden. Es handelt sich jeweils um Kombinationen aus Membranverfahren (Nanofiltration und Elektrodialyse) und Chromatographie. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass aufgrund der Komplexität der Silagesäfte keine der vorhandenen Standardtechnologien als Einzeltechnologie anwendbar ist. Allerdings ist durch das Vorhandensein unterschiedlicher Wertstoffe im Saft die Chance auf einen wirtschaftlichen Betrieb eindeutig gegeben.

Die klassische Methode zur Trennung und Reinigung von Milchsäure, beispielsweise aus Fermentationslösungen, besteht in der Fällung des Lactates als Calciumdilactat. Eine anschließende Umsetzung mit  $H_2SO_4$  führt zu protonierter Milchsäure. Das Produkt wird in weiterer Folge mittels Eindampfung konzentriert. Da bei diesem Prozess  $CaSO_4$  (verunreinigt) als Nebenprodukt anfällt, ist die Entsorgung äußerst schwierig. In jedem Fall könnte bei dieser Trennmethode nicht von einer Fabrik der Zukunft gesprochen werden. Aus technologischer Sicht kommt hinzu, dass weitere im Saft vorhandene Substanzen, insbesondere Aminosäuren mit ausgefällt werden. D. h. der eigentliche klassische Reinigungsschritt „fraktionierte Fällung“ ist nicht anwendbar.

Eine weitere klassische Methode wäre die Extraktion. Es kann mit hoher Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass dieser Weg kaum zielführend ist. Trotz zahlreicher Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet der extraktiven Abtrennung und Reinigung von organischen Säuren wie Citronensäure oder Milchsäure, haben sich solche Prozesse in der Praxis kaum durchsetzen können.

Da der klassische Ionenaustauschprozess als Hauptverfahren ebenfalls kaum anwendbar ist, muss zur Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus Silagesaft ein neues Verfahren entwickelt werden. Wenn ökologische Aspekte zu berücksichtigen sind, kommen in erster Linie Membran- und Chromatographieverfahren in Frage.

### 3.5.1 Membran- und Chromatographieverfahren

Es ist davon auszugehen, dass der Silagesaft vor einem Hauptverfahrensschritt, beispielsweise Elektrodialyse oder Chromatographie, „feinfiltriert“ werden muss, wenn an eine industrielle Anwendung gedacht wird. Bei der vorliegenden Konsistenz des Rohproduktes ist eine feinporige Ultrafiltration oder Nanofiltration (cut-off ca. 1000 D) zu empfehlen.

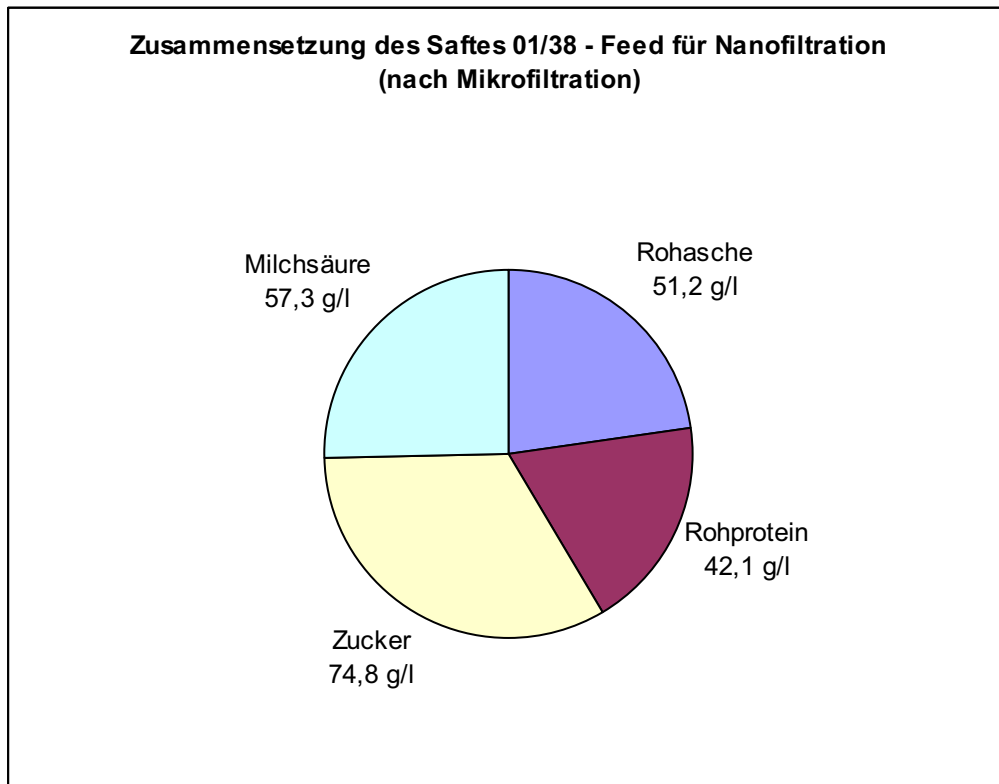
Die Elektrodialyse mit monopolaren Membranen gehört zu den wichtigsten zukünftigen Verfahren bei der Trennung zwischen geladenen und ungeladenen Substanzen. Die Elektrodialyse mit bipolaren Membranen bietet einerseits die Möglichkeit geladene von ungeladenen Stoffen zu trennen und andererseits gleichzeitig aus Salzen die korrespondierenden Säuren und Basen herzustellen.

Die Chromatographie gehört ebenfalls zu den zukunftsorientierten Trenntechnologien, wobei der Auswahl des Eluationsmittels eine wichtige Rolle zukommt. Wasser wäre in vielen Fällen vorzuziehen. Unglücklicherweise gehört die Chromatographie nach wie vor zu den teuersten Trennprozessen. Es ist davon auszugehen, dass eine Kombination der Verfahren notwendig ist, um die vorliegende Aufgabenstellung zu lösen.

Aus den oben angeführten Erläuterungen ergeben sich unterschiedliche Verfahrensvarianten, wobei die wesentlichen Prozessschritte in diesem Bericht dargestellt sind (Anhang F, Kapitel 2). Zu den erwähnten Verfahren wurde die Technologieentwicklung im Rahmen dieses Projektes gestartet. Teilweise liegen damit vielversprechende Ergebnisse vor. Diese Ergebnisse aus den Versuchen (1) Nanofiltration, (2) Elektrodialyse und (3) Chromatographie sind die entscheidende Voraussetzung für die weitere Technologieentwicklung und den zukünftigen Aufbau einer Pilotanlage.

### 3.5.2 Nanofiltration

Für die Versuche wurde ein repräsentativer, für einen Versuch mikrofiltrierter, Silagesaft verwendet, um den Analytikaufwand niedrig und die Effizienz hoch zu halten. Es handelt sich um einen Klee gras Silage Presssaft des 1. Schnittes 2001 (01/38 und 01/39). Die Silage wurde mit IFAS3 Bakterien angeimpft (Abb. 11).



**Abb. 11: Silagesaft Klee gras, 1. Schnitt, IFAS3 Bakterien, Jahr 2001 (Nr. 01/38) Zusammensetzung [g/l] – Saft wurde für den dritten Nanofiltrationsversuch mikrofiltriert**

Ultra- bzw. Nanofiltrationsversuche mit keramischen Membranen (cut-off ca. 1 kD) wurden bereits im Fabrik der Zukunft Projekt "Proteine aus Grassäften" durchgeführt (Koschuh et al. 2003). Dabei konnten Permeatflüsse von ca. 25 L/m<sup>2</sup>h erreicht werden. Erwartungsgemäß wurde keine Rückhaltung bei niedermolekularen Verbindungen wie Milchsäure oder Aminosäuren festgestellt. Um Hinweise zu erhalten, ob mit anderen Membranen eine zumindest teilweise Rückhaltung von anorganischen Salzen und Zuckern bei weitgehender Durchlässigkeit für Milchsäure erzielbar ist, wurde eine "dichtere" organische Membran mit der Bezeichnung NADIR PES 10 (nominaler cut-off 1 kD) ausgewählt und getestet.



**Abb. 12:** Nanofiltrationszelle des Institut für Lebensmitteltechnologie der  
Universität für Bodenkultur



**Abb. 13:** Nanofiltrationsmembran NADIR PES 10 (nominaler cut-off 1 kD)

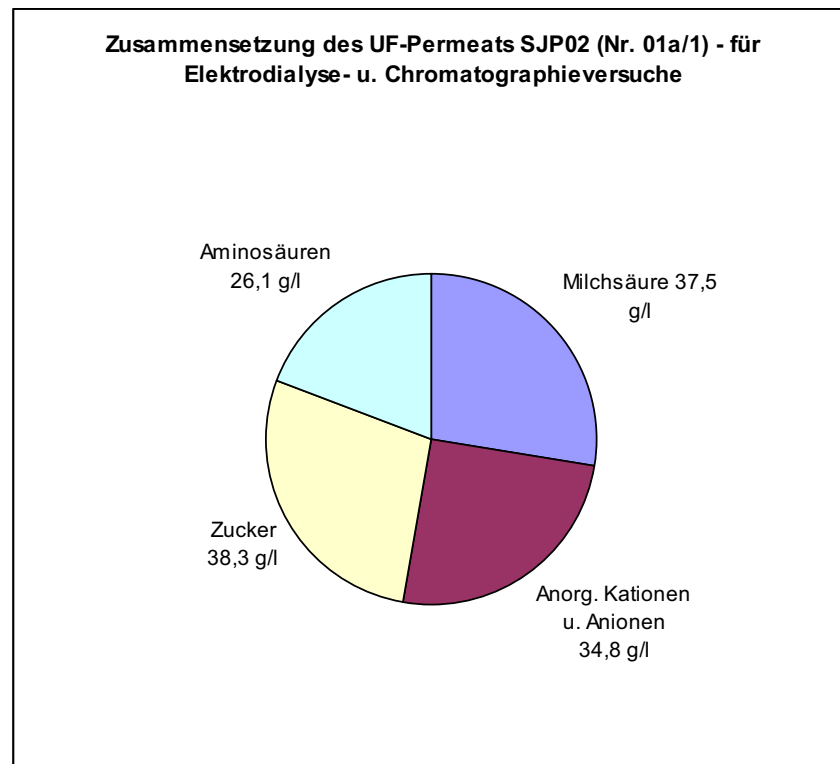
Analysen haben ergeben, dass zweiwertige Ionen wie Sulfat oder Phosphat sowie Moleküle mit Molmassen um 200 g/mol etwas stärker rückgehalten werden als Milchsäure. Allerdings war der Permeatfluss sehr niedrig. In weiterer Folge wurden entsprechend Verfahrensvariante 1 (siehe Anhang F, Kap. 2) zwei Versuche bei niedrigem pH-Wert durchgeführt. Zunächst wurde der pH-Wert von ca. 1,5 mittels  $H_2SO_4$  und anschließend mittels HCl eingestellt. Es konnten allerdings trotz hoher Drücke und Temperaturen auch diesmal nur geringe Permeatflüsse erzielt werden.

Da eine gewisse Rückhaltung diverser Inhaltsstoffe gegeben ist und deren Konzentrationen auch relativ hoch sind, wird der niedrige Permeatfluss teilweise auf den relativ hohen osmotischen Druck der Lösung zurückzuführen sein. Eine diesbezügliche Verbesserung kann durch teilweise Entfernung von beispielsweise anorganischen Salzen erwartet werden (z.B. vorherige Phosphatfällung). Darüber hinaus könnte mittels einer verbesserten Vorreinigung ebenfalls eine Erhöhung der Leistung erzielt werden. Bei einem dritten Versuch wurde eine thermische Fällung diverser Inhaltsstoffe (unbekannt) und anschließend eine Mikrofiltration der Suspension durchgeführt. Tatsächlich konnte mit dieser Maßnahme eine signifikante Erhöhung des Permeatflusses erreicht werden.

### **3.5.3 Elektrodialyse**

Die Elektrodialyseversuche wurden mit einem Ultrafiltrationspermeat (1 kD) vorgenommen. Das Permeat trägt die Bezeichnung SJP02 (01a/1). Der Feed wurde aus einem Teil 01/38 (Kleegrassilage, 1. Schnitt) und zwei Teilen 01/63 (Bastardraygrassilage, 3. Schnitt) zusammengesetzt.





**Abb. 14:** Zusammensetzung eines Ultrafiltrationspermeats (1 kD) SJP02 (Nr. 01a/1) für Elektrodialyse- und Chromatographieversuche



**Abb. 15:** Elektrodialyseanlage des Institut für Lebensmitteltechnologie der Universität für Bodenkultur

Es handelt sich um eine einfache Elektrodialyseanlage mit acht Zellpaaren als "Stack" und zwei zusätzlichen Kationaustauschermembranen bei der Anode. Die gesamte effektive Membranfläche beträgt 0,0296 m<sup>2</sup> für jeden Membrantyp. Für Experimente wurden Membrane der Fa. TOKUYAMA SODA Inc., Japan, verwendet. Die Flussraten lagen bei ca. 0,08 m/s. In allen Experimenten wurde die Spannung konstant gehalten.

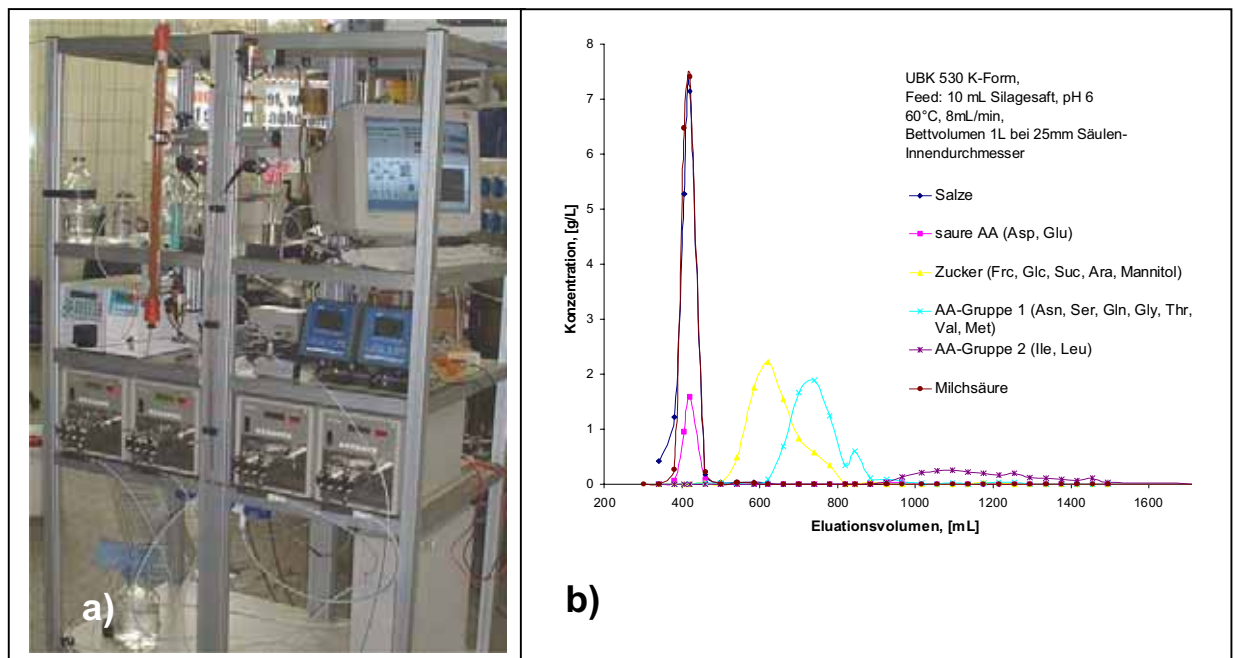
Mittels eines zweistufigen Elektrodialyseprozesses wurde die Abtrennung der Wertsustanzen Milchsäure und Aminosäuren aus den Grassilagesäften getestet. Durch die unterschiedlichen Zustände von Milchsäure und Aminosäuren bei unterschiedlichen pH Werten können Milchsäure und Aminosäuren von den anorganischen Ionen (Asche) getrennt werden. Bei pH = 6,7 konnten die meisten Aminosäuren von der Milchsäure und der Asche getrennt werden. Die "current efficiency" dieses ersten Schritts lag bei  $\eta = 0,67$ . Die durchschnittliche Massentransferrate der anorganischen Salze lag bei 0,091 kg/m<sup>2</sup>\*h. Der spezifische Energieverbrauch für den Transport der Ionen durch die Membran war 0,074 kWh/l Silagesaft. Der spezifische Energieverbrauch für Lactat lag bei 2,11 kWh/kg.

Über 97% der Zucker und ca. **90% der Aminosäuren** konnten bei diesem ersten Separationsschritt aus dem Silagesaft abgetrennt werden. Der zweite Schritt in der kaskadischen Trennung bewirkte die Abtrennung der Milchsäure aus dem verbliebenen Konzentrat bei pH = 2. Wie erwartet war der durchschnittliche Massentransfer der anorganischen Salze 0,490 kg/m<sup>2</sup>\*h. Dies war signifikant höher als beim ersten Schritt. Die "current efficiency" war nun  $\eta = 0,88$ . Der spezifische Energieverbrauch für den Ionentransport lag bei 0,038 kWh/l Silagesaft. Die Ausbeute an Lactat durch diesen zweistufigen Elektrodialyseprozess war 91% bei einer Demineralisierung von 98%.

Die Versuche zeigen, dass eine zweistufige Elektrodialyse ein vielversprechender Weg zur Ascheabtrennung und Separierung von Milchsäure aus Silagepresssaft ist. Außerdem konnten effektiv die Wertsustanzen Aminosäuren und Milchsäure getrennt werden. Als nächster Schritt kann daran die Chromatographie anschließen, um die Substanzen in gewünschter Reinheit zu erhalten. Um die Nachhaltigkeit dieses Prozesses zu gewährleisten könnten die Salze entweder als Dünger oder als Futtermittel in den Bioraffineriekreislauf zurückgeführt werden. Allerdings gibt der erste Elektrodialyseschritt noch Entwicklungsaufgaben auf, da die hohe Aschemenge zu "Fouling" bzw. "Blocking" des Systems führen kann. Es sollte daher Phosphat, Magnesium und Calcium in einem Vorreinigungsschritt abgetrennt werden (Phosphatfällung, Nanofiltration, Ionenaustausch).

### 3.5.4 Chromatographie

Mit Saft SJP02; Nr. 01a/1 konnte auch ein wichtiger Versuch zur chromatographischen Trennung von Silagesaftinhaltsstoffen bei einem pH-Wert von ca. 6,0 unternommen werden. Nach dem Ionenausschlussprinzip fällt Milchsäure als Salz (Kalium-Lactat) in der vorausgehenden Elektrolytfraktion an (siehe Abb. 16).



**Abb. 16: a) Technikumschromatographieanlage des Inst. für Lebensmitteltechnologie der Univ. für Bodenkultur; b) Chromatographische Trennung (Ionenausschlusschromatographie) von Silagesaftinhaltsstoffen bei pH = 6**

Eine Trennung der Milchsäure von Salzen und organischen Molekülen wie Glucose ist im vorliegenden Fall nur denkbar, wenn Milchsäure undissoziiert vorliegt (z.B. bei pH 2,0). Die Schwierigkeit dabei liegt in der Verfügbarkeit des Harz- und Gegeniontyps. Hier stehen einerseits Anionentauscherharze (mögliche Beladung  $\text{SO}_4^{2-}$ ) und Kationentauscherharze zur Verfügung. Im zweiten Fall stellt sich das Problem der vorherrschenden Kationenart bei pH 2,0. Zusätzlich zu der vorherrschenden Ionenart (meist  $\text{NH}_4^+$  oder  $\text{K}^+$  bzw.  $\text{Na}^+$ ) liegt eine pH bedingte, nicht unwesentliche Konzentration an  $\text{H}^+$  Ionen vor. In einer früheren am Institut für Lebensmitteltechnologie durchgeführten Arbeit (Cramer 1995) konnte gezeigt werden, dass eine chromatographische Trennung nach dem Prinzip  $\text{H}^+$  als vorherrschende Gegenionart möglich ist. Diese Methode hat jedoch den Nachteil, dass vorerst alle anorganischen Kationen mit Ionentauschern entfernt werden müssen und Milchsäure nur schwer von Essigsäure zu trennen ist.

Mögliche Wege zur Gewinnung reiner Milchsäure (Lebensmittelqualität) mittels Chromatographie könnten nach vorliegendem Wissensstand wie folgt aussehen:

- Aufreinigung der Milchsäure (Entfernung der anorganischen Kationen) vor einem Haupttrenn-Chromatographieschritt mit einer  $H^+$  beladenen Kationentauschersäule.
- Trennung der Milchsäure an Anionentauschersäulen in Sulfat- oder Chloridform bei pH  $\sim 2,0$
- Trennung an Kationentauschersäulen in einer Mischform ( $H^+$ ,  $K^+$ ) bei pH  $\sim 2,0$
- Trennung an Harzen ohne funktionelle Ionengruppen (z. B. Amberlite XAD 2 ) bei pH  $\sim 2,0$ .

Die beschriebenen Methoden setzen voraus, dass in einem separaten Verfahrensschritt z.B. mittels Elektrodialyse die Aminosäuren vorher abgetrennt wurden. In allen vier Fällen ist eine pH-Änderung notwendig, da Milchsäure immer teilweise als Salz in wässrigen Lösungen bei pH  $>4$  vorliegt. Das gilt für Silagesäfte wie für industrielle Fermentationsbrühen. Die Einstellung des pH-Wertes auf ca. 2,0 (ungefährer pH-Wert des Endproduktes) kann durch Zugabe von anorganischen Säuren (z. B. Schwefelsäure), durch Tausch der anorganischen Kationen mit  $H^+$  Ionen an starken Kationentauschern oder durch Spaltung von Wasser mittels bipolarer Elektrodialyse und Konvertierung des Salzes in die Säure erfolgen. In den beiden ersten Varianten sind im Gegensatz zur bipolaren Elektrodialyse wesentlich höhere Abwasserfrachten gegeben.

Weitere chromatographische Versuche befassten sich mit der Auftrennung der Aminosäuren, wie sie im Silagesaft vorliegen. In einem Versuch kam ein Standard Kationentauscherharz der Firma LEWATIT (MDS 1368 in Ca-Form) wie es auch die Zuckerindustrie verwendet zum Einsatz. Als Feed wurde eine Modelllösung mit je 210 mg Fructose, Alanin, Serin und Valin aufgelöst in 40 ml verwendet. Das Ergebnis zeigt, dass die Trennung in Zucker- und Aminosäurefraktion technisch möglich ist. Bei einem weiteren Versuch wurde an der selben Säule Milchsäure und Serin getrennt. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass Milchsäure eher mit Zucker als mit Aminosäuren eluiert.

### **3.5.5 Schlussfolgerungen zu den Strategien der Membran- und Chromatographieverfahren**

Eine klar definierte Down-stream Prozesskette, die zur Lösung der Aufgabenstellung führt, kann auch nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen noch nicht vorgeschlagen werden. Hierzu sind insbesondere weitere umfangreiche chromatographische Untersuchungen erforderlich. Außer Frage steht, dass die Chromatographie erforderlich sein wird, um die Milchsäure in reiner Form (Lebensmittelqualität) zu gewinnen.

Gesichert ist auch, dass Membranverfahren (Nanofiltration, Elektrodialyse (ED) und bipolare Elektrodialyse (EDP)) eine zentrale Rolle bei der vorliegenden Aufgabenstellung spielen. Auch hier sind weitere umfangreiche Untersuchungen erforderlich. Bei einer etwaigen Realisierung der ersten ED-Stufe (Milchsäureproduktion ca. 1000 t pro Jahr) würde die Anlage zu den weltweit größten zählen. Die Größe einer derartigen Anlage sowie der neuartige Rohstoff sind zwei Faktoren, die tiefgreifende Untersuchungen hinsichtlich Massentransfer und Zellwiderstand erfordern. Darüber hinaus muss versucht werden einen Teil der anorganischen Salze mittels Fällung und Nanofiltration abzutrennen.

Die Down-stream Kosten werden immer höher liegen als dies bei fermentativ hergestellter Milchsäure der Fall ist. Allerdings könnte durch die Aufteilung der Kosten auf verschiedene "wertvolle" Produkte (Aminosäuren und Milchsäure) eine konkurrenzfähige integrierte und nachhaltige Technologie entwickelt werden.

### 3.6 Herstellung von Produkten aus Silage-Milchsäure

#### 3.6.1 Herstellung von Aminiumlactat aus diversen Milchsäurelösungen

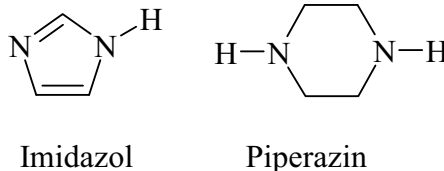
In diesem Projekt wurde die Möglichkeit untersucht, ob auch bei Ausgangslösungen wie sie nach einer Aufreinigung und Konzentrierung von Silagesäften vorliegen der Weg zu reinem Aminiumlactat gangbar ist.

Die Kristallisation von Milchsäure zu Aminiumlactat führt theoretisch auch zu einer Trennung von Milchsäure (als Aminiumlactat) und Verunreinigungen (wie z.B. Glucose und Kaliumchlorid). Bei der Aufreinigung von Milchsäure aus Silagesäften könnte als Endreinigungsschritt die Aminiumlactat-Ausfällung eingesetzt werden. Das gewonnene Aminiumlactat könnte entweder direkt als Wertstoff im Bereich Pharmazie und Kosmetik eingesetzt werden oder als Ausgangsprodukt zur Produktion von Polylactat dienen (Kamm und Kamm 1997).

Voraussetzung für die Eignung der Amine sind:

- Wasserlöslichkeit
- ausreichende Basizität für eine gute Salzbildung
- Thermo-, Säure- und Katalysatorenstabilität für ihre Rückgewinnung

Als besonders geeignet gelten Imidazol und Piperazin.



**Abb. 17: Chem. Struktur von Imidazol und Piperazin (Kamm und Kamm 1997)**

Eine Kristallisation von Imidazoliumlactat stellte sich in den diversen Versuchen als prinzipiell schwierig heraus, da die Löslichkeit, auch bei Raumtemperatur, sehr hoch ist (~90 g/100mL). Ein Abdampfen von Wasser aus einer 65 % igen Imidazoliumlactatlösung ist nur bei sehr geringen Drücken (<10 mbar) und Temperaturen um die 50°C möglich. Die im Patent (Kamm et al. 1997) beschriebenen Kristallisationsversuche werden mit einem Umkristallisierungsschritt in organischen Lösungsmitteln durchgeführt. Dieser Aufwand scheint bei einer großtechnischen Gewinnung von Milchsäure nicht sinnvoll.

Das Produkt Imidazoliumlactat ist wachsartig, weiß, angenehm auf der Haut und extrem hydroskopisch. Applikationen im Kosmetikbereich sind denkbar.

Ein Endreinigungsschritt der Milchsäure durch Auskristallisieren von Imidazoliumlactat ist aufgrund der Versuchsergebnisse nicht zu favorisieren.



**Abb. 18: Kristallisationsbeginn des Gemisch (Imidazol, Lactat/Acetate)**

### **3.6.2 Milchsäureethylester (Ethyllactat) aus Silage-Milchsäure**

Milchsäureester sind Schlüsselchemikalien für die Herstellung von biologisch abbaubaren Polymeren (Polylactide), für die Herstellung von weiteren sauerstoffhaltigen Grundchemikalien, wie Propylenglykol, Acrylsäure und Acrylsäureestern, von Pflanzenwachstumsregulatoren und "grünen" Lösungsmittel. Milchsäureester sind aufgrund ihres hohen Siedepunktes (nichtflüchtig), nichttoxisch und abbaubare Verbindungen. Die Eigenschaften von D-Milchsäureester und L-Milchsäureester als umweltfreundliches Lösungsmittel können als identisch angenommen werden. Damit ergibt sich auch für die Silagemilchsäure ein interessantes Produkt.



**Abb. 19: "Mc Donald's" Bierbecher aus Polymilchsäure – "Kein Plastik", sondern kompostierbar**

Aufgrund der gestiegenen Komplexität der Milchsäureabtrennung wurde im Projektverlauf entschieden eine Modelllösung für die Ethyllactatproduktion heranzuziehen. Es wurde daher Analog zu den Ergebnissen der Elektrodialyseversuche eine Modelllösung zusammengestellt (Anhang G, Kapitel 2).

Die direkte Veresterung von Milchsäure mit Ethanol ist durch das Aufspalten von Wasser eine Gleichgewichtsreaktion. Die Reaktion muss allerdings mit einem hohen Überschuss an Ethanol durchgeführt werden, um hohe Ausbeuten an Ethyllactat zu erreichen. Durch die Abtrennung von Wasser aus der Lösung mittels unterschiedlicher Methoden kann die Ausbeute an Ethyllactat ebenfalls verbessern. Der Prozess benötigt die Zugabe eines Katalysators (Kromus et al. 2002). Im klassischen Prozessweg ist dies Schwefelsäure ( $H_2SO_4$ ). Aufgrund der erforderlichen Temperatur von 70 bis 100° C ist dieser Prozess sehr energieintensiv. Außerdem muss die Destillation fraktioniert durchgeführt werden, um die Mischung von Ethanol – Wasser – Ester zu trennen. Es stellte sich gegenüber den Versuchen des Jahres 2000 heraus, dass auch mit wesentlich besser aufgereinigten Säften (Modelllösung) keine befriedigenden Ergebnisse erzielt werden konnten. Sowohl die Energie- als auch die Massenbilanzen müssen als unbefriedigend bezeichnet werden. Um ein nachhaltiges System zu schaffen müssen daher andere Wege der Aufarbeitung gefunden werden. Im Rahmen dieses Projektes wurde daraufhin eine Literaturrecherche und erste eigene Versuche durchgeführt.

Die jüngsten Veröffentlichungen und eigene Versuche zeigen, dass durch neue bzw. moderne Materialien, die inzwischen kostengünstig verfügbar sind, wichtige technologische



Impulse zur Gewinnung von Ethyllactat möglich sind. Konkret sind das feststoffliche Katalysatoren (z.B. Ionenaustauscherharze) und Pervaporation. Für die Weiterverfolgung dieses Weges bedarf es allerdings enger internationaler Zusammenarbeit und beträchtliche Forschungsaufwendungen (Versuchsreaktor). Da weder von nationaler noch von EU Seite derzeit zusätzliche Mittel zur Verfügung stehen wird sich die Forschung in Österreich darauf konzentrieren die Vorreinigung der Silage-Milchsäure auf Food Grade Qualität umzusetzen und technologisch im Rahmen einer Pilotanlage zu etablieren, um zu gegebenem Zeitpunkt die Weiterentwicklung der Veresterung im Rahmen einer erweiterten Pilotanlage in Angriff zu nehmen.

### **3.7 Beurteilung der Wirtschaftlichkeit**

Die Ergebnisse der Versuche wurden in Massen- und Energiebilanzen eingebunden. Anhand der Stoff- und Energieströme kann bereits ein guter Überblick über das wirtschaftliche Potenzial einer Grünen Bioraffinerie gegeben werden. In diesem Bereich wird besonders eng mit den Partnern aus dem gesamten Projektbündel zusammengearbeitet. Zur Abklärung praktischer Fragen wurden periodische Treffen mit den Firmenpartnern abgehalten.

Die Ergebnisse dieses Projekts zeigen sehr deutlich, dass die Herstellung von Milchsäure und Proteinen (Aminosäuren) aufgrund der sehr befriedigenden Ausbeute ausschließlich aus Silage erfolgen sollte. In diesem Kapitel wird daher untersucht, inwieweit derartige Produkte unter heutigen Rahmenbedingungen wirtschaftlich produziert werden könnten. Es wird angenommen, dass eine derartige Anlage zentral auf dem Standort der Fa. LACTOPROT AG in Hartberg (Stmk.) errichtet werden würde. Die Wirtschaftlichkeitsrechnung baut auf die Berechnungen der Vorprojekte auf. Es soll hier daher lediglich auf die Silage-saftschiene eingegangen werden (vgl. Kromus et al. 2002, Kromus 2002, Koschuh et al. 2003). Im Gegensatz zur "Protein Linie" (Koschuh et al. 2003) sind für das Down-stream Processing der Milchsäure und Aminosäuren die Kosten noch nicht ausreichend bekannt. Es sollen hier daher die maximalen Kosten des Down-stream Processing der Produkte (Milchsäure, Peptide, Aminosäuren, Phosphat) ermittelt werden bzw. die Sensitivitäten bei Preisverschiebungen.

Als Varianten wurden in dem vorliegenden Projekt die Coproduktion von Milchsäure mit Aminosäuren Milchsäure mit Aminosäuren und Biogas dargestellt. Dieses System wurden bereits im Vorfeld dieses Projekts als eines der sinnvollsten Wege identifiziert. Diese An-

nahme ist allerdings nur dann zu halten, wenn es tatsächlich gelingt eine integrierte Technologie für die Abtrennung der beiden Produkte zu finden.

### **3.7.1 Erlösstruktur der wichtigsten Produkte einer Grünen Bioraffinerie**

Unter Einbeziehung des Mittelwertes der Proben 02/19; 02/24 und 02/26 kann pro Tonne Trockenmasse aus Grassilage durchschnittlich 96,90 kg Rohprotein gewonnen werden. Dieser Mittelwert ergibt sich durch Einfachpressung und ohne vorherige Feinzerkleinerung. Die Silage wird allerdings vor der Abpressung auf ca. 20 bis 22 % TM angefeuchtet. Dieser Wert entspricht einer durchschnittlichen Rohproteinausbeute aus dem Silagerohstoff von 47,7 %. Bei Doppelpressung erhöht sich die Rohproteinausbeute auf durchschnittlich 51,4% oder 105,6 kg/t TM.

Die bisherigen Erfahrungen, ohne Optimierung, zeigen eine mögliche Aminosäureausbeute auf Basis des Rohproteingehaltes im Saft von 65 %. D.h. es könnten pro Tonne Trockenmasse ca. 68,5 kg Aminosäuren gewonnen werden.

Die Milchsäure kann unter den selben Bedingungen wie die Aminosäuren bei Einfachpressung zu 78,1% und bei Doppelpressung zu 85,0% gewonnen werden. Dies bedeutet eine durchschnittliche Milchsäureausbeute pro t TM von optimalen 90,8 kg bei Doppelpressung. Unter der Annahme, dass die Milchsäure in 80%iger Konzentration bei 20% Aufbereitungsverlusten verkauft wird, verbleiben 90,8 kg Milchsäureprodukt aus einer Tonne Trockenmasse Grassilage.

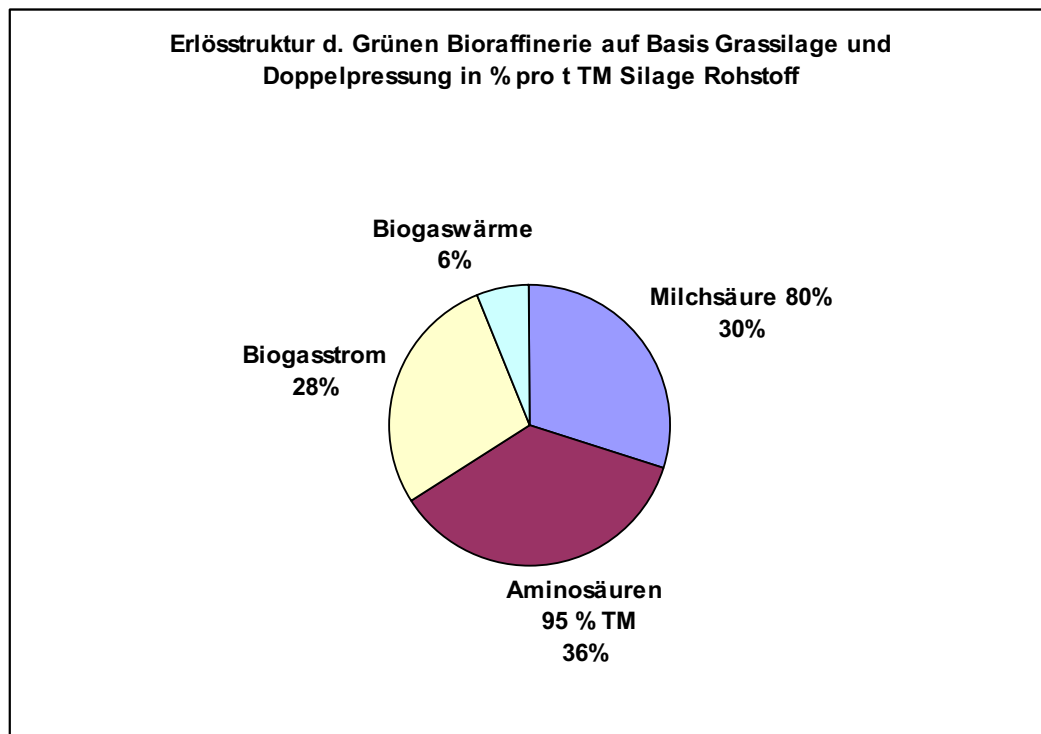
In dieser Kalkulation wird auf Milchsäure im "Low-Price" Segment (Food Grade 80% conc.) Bezug genommen, da die Kosten der Technologien zur Weiterverarbeitung noch nicht seriös abgeschätzt werden können. 80 % ige Food Grade Milchsäure (derzeit ca. 1,28 €/kg) könnte in Zukunft mit Citronensäure verglichen werden. Dafür gibt der Markt derzeit ca. 1,00 €/kg. Dieser Wert wurde für die Wirtschaftlichkeitsberechnung herangezogen.

Als Basispreis eines Aminosäuremischproduktes wird der derzeitige Marktpreis von L-Lysin herangezogen. Die 1,50 €/kg bis 2,50 €/kg Produkt entsprechen dem niedrigsten zu erwartenden Preis im Aminosäuresegment. Preise > 15 €/kg sind für Spezialprodukte oder einzelne Isolate vorstellbar.

Biogas wird nach den derzeit geltenden Einspeistarifen bewertet (EVA 2003).

**Tab. 3 Erlösstruktur der Grünen Bioraffinerie mit Grassilage als Rohstoff und Doppelpres-sung**

Produkt	Erlös [€/kg Produkt]	Erlös [€/t TM Silage]	Erlös [€/10000 t TM Silage]
Milchsäure 80%	1,000 €	90,81 €	908.146 €
Aminosäuren 95 % TM	1,500 €	108,35 €	1.083.506 €
Biogasstrom	0,125 €	84,74 €	847.431 €
Biogaswärme	0,025 €	18,36 €	183.610 €
Summe Erlöse		302,27 €	3.022.693 €



**Abb. 20: Erlösstruktur d. Grünen Bioraffinerie auf Basis von Grassilage und Doppelpressung (Mittelwerte 2002) in % pro t TM Silage Rohstoff**

Etwaige Erlöse aus Nebenprodukten (z.B. Phosphat, Düngersalze, Carotinoide, Zucker, etc.) werden hier nicht einbezogen. D.h. es wird angenommen, dass die gesamten organischen Reststoffe in einer Biogasanlage zu Ökostrom verarbeitet werden.

### 3.7.2 Wirtschaftlichkeitsrechnung

Die Berechnung der Wirtschaftlichkeit erfolgt auf Basis der Annuitätenmethode, da für eine detailliertere Betrachtung (z.B. Discounted Cashflow) zu große Unsicherheiten existieren.

Für die Berechnung der jährlichen Kapitalkosten für die Investitionen werden daher folgende Parameter definiert:

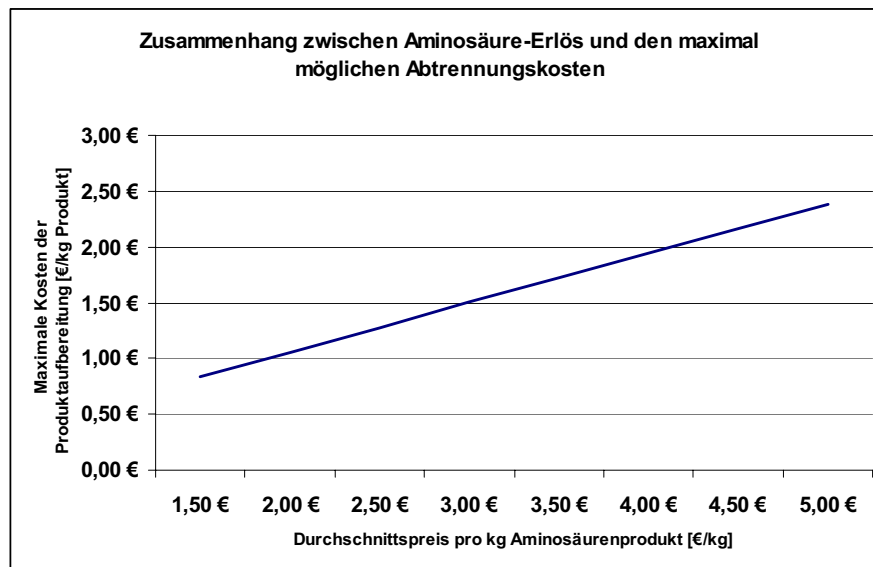
- 30% Fremdkapital:
  - Zinssatz: 6,5% (effektiv)
  - Laufzeit: 10 Jahre (entspricht der Abschreibung für Maschinen)
  
- 70% Eigenkapital:
  - Zinssatz: 7,5%
  - Laufzeit: 8 Jahre

**Tab. 4 Erlöse minus vorläufige Kosten (Rohstoffe, Fraktionierung und Biogas) als Grundlage zur Errechnung der maximal möglichen Abtrennungskosten für Milchsäure und Aminosäuren bei gegebenen Produktpreisen**

<b>Maximale Kosten der Produktabtrennung</b>				<b>%</b>
Erlöse Strom	0,125 €	pro kWh	847.431 €	28,0%
Erlöse Wärme	0,025 €	pro kWh	183.610 €	6,1%
Erlöse Milchsäure 80%	1,00 €	pro kg 80%	908.146 €	30,0%
Erlöse Aminosäuren	1,50 €	95 % TM	1.083.506 €	35,8%
<b>Summe Erlöse</b>			<b>3.022.693 €</b>	<b>100,0%</b>
Rohstoffkosten			-828.715 €	49,9%
Fraktionierungskosten (Doppelpressung)			-348.389 €	21,0%
Kosten Biogaserzeugung			-482.628 €	29,1%
<b>Summe vorläufige Kosten</b>			<b>-1.659.732 €</b>	<b>100,0%</b>
<b>Erlöse - vorläufige Kosten</b>			<b>1.362.961 €</b>	

Unter Berücksichtigung der bisherigen Erkenntnisse und den Vorgaben der Firmenpartner (z.B. 7,5% Eigenkapitalrendite) darf das Down-streaming der Produkte Aminosäuren und Milchsäure als integrierte Technologie Kosten zwischen 0,84 bis 1,25 €/kg Produkt verursachen. Diese maximalen Kosten sind im wesentlichen von der Erlösstruktur der Aminosäuren abhängig (Annahme: 1,5 bis 2,5 €/kg als Futtermittel). Nach der Diskussion mit den beteiligten Experten liegt dieses Ergebnis durchaus im „machbaren“ Bereich.

Der lineare Zusammenhang zwischen Produktpreis und maximal möglichen Abtrennungskosten ist in Abb. 21 dargestellt.



**Abb. 21: Zusammenhang zwischen Aminosäure-Erlös und den maximal möglichen Abtrennungskosten**

Diese Rechnung ergibt maximale Aufbereitungskosten für die Produkte Milchsäure und Aminosäuren von 0,84 €/kg Produkt. In diesen Kosten müssen alle Kostenarten, wie Personal, Produktionsstätte, Kapitalkosten, Gemeinkosten für Verwaltung u. Vertrieb, etc. enthalten sein. Aufgrund der komplexen Anforderungen an die Abtrennung kann derzeit keine größere Detaillierung vorgenommen werden.

Die Ergebnisse zeigen, dass genügend Spielraum existiert, um gegenüber der Proteingewinnung aus Luzerne (Koschuh et al. 2003), aufwendigere Abtrennungstechnologie zu installieren. Die Strategie sollte allerdings in Richtung höherwertiger Spezialgemische oder Einzelaminosäuren für Food, Kosmetik oder Pharma führen, um langfristig den Investoren eine attraktive Marge zu bieten.

## 4 Empfehlungen

Eine klar definierte Down-stream Prozesskette für Milchsäure aus Silagepresssäften, die zur Lösung der Aufgabenstellung führt, kann auch nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen noch nicht vorgeschlagen werden. Hierzu ist weitere umfangreiche Technologieentwicklung erforderlich.

Für die weitere Entwicklung der Grünen Bioraffinerie ist es allerdings notwendig, die Bioraffinerie im Pilotmaßstab zu realisieren. Begonnen wird mit einem Kern, der insbesondere die Silage (die auch dezentral dargestellt werden kann) und die Fraktionierung umfasst. Diese Anlage muss so gestaltet sein, dass eine Eingliederung weiterer Aufarbeitungsschritte (Milchsäureabtrennung, Aminosäuregewinnung, Reduktion des Silagesaftes, biotechnische Weiterverarbeitung des Restsaftes, etc.) in der Folge möglich ist. Eine Anbindung an eine Biogasanlage wäre dabei wünschenswert. Damit kann, den Fortschritten der weiteren und parallel dazu durchgeführten Entwicklung entsprechend, eine Gesamtpilotanlage schrittweise aufgebaut werden.

Die Notwendigkeit für eine solche Kern-Pilotanlage ergibt sich daraus, dass für alle weiteren Entwicklungen entsprechende Mengen von Silagesaft und festem Rückstand nach der Abpressung des Saftes erforderlich sind, die im Labormaßstab nicht erzeugbar sind.

Aus den Ergebnissen des Projektes folgt, dass eine Grüne Bioraffinerie im österreichischen Kontext insbesondere durch die Produktion von Milchsäure und Aminosäuren definiert ist. Dies erfordert verstärkte Anstrengungen im Bereich der Trenntechnik dieser Produkte, da nur durch eine effiziente und kostengünstige Aufarbeitungstechnologie der wirtschaftliche Erfolg sichergestellt werden kann. Hier setzt die weitere technische Entwicklung an (weitere Fabrik der Zukunft Projekte). Verschiedene Membran- und Chromatographieverfahren müssen hier weiter verglichen und optimiert werden.

Diese Forschungs- und Entwicklungsaufgabe ist jedoch in einem größeren Rahmen zu sehen. Da Milchsäure in jedem Falle als Schlüsselprodukt einer zukünftigen Nutzung nachwachsender Rohstoffe zu sehen ist, hat die Trenntechnologie für dieses Produkt hohe Priorität und kann durchaus auch auf andere Herstellungsverfahren (etwa im Rahmen der klassischen Fermentation) angewandt werden. Dieses Entwicklungsvorhaben ist in enger Zusammenarbeit mit der einschlägigen österreichischen Industrie (insbesondere

aus dem Bereich der Verfahrenstechnik und des Anlagenbaues) durchzuführen, um eine möglichst reibungslose Übertragung des Wissens in die Praxis zu gewährleisten.

Neben diesen Entwicklungsaufgaben müssen auch andere Produktschienen weiter und intensiver verfolgt werden. Dies betrifft insbesondere die Frage der Nutzung der Fasern aus dem Silagerückstand, aber auch die Frage der Nutzung weiterer Inhaltsstoffe.

Die **technologische Weiterentwicklung der Grünen Bioraffinerie** auf Basis von Grünlandsilage kann daher wie folgt begründet werden:

1. Silage bietet durch natürliche und ökologische Vorgänge freie Aminosäuren, die mittels hoch innovativer Technologien gemeinsam mit Milchsäure abgetrennt werden können. Die Technologien benötigen allerdings eine verlängerte Entwicklungsphase. In diesem Projekt konnten dafür wichtige Erkenntnisse gewonnen werden. Die entwickelten Technologien sind aber dafür als einzigartig (Technologievorsprung) anzusehen.
2. Die Erstverarbeitung der Grünlandbiomasse erfolgt in Silos direkt am Bauernhof. Diese Silos dienen als Zwischenlager und bieten über das Jahr verteilt kontinuierliche Rohstoffmengen. Die Anlage muss daher nicht im Kampagnenbetrieb gefahren werden. Außerdem hat der Rohstoff einen Trockenmasseanteil von ca. 25 bis 35 % TM und durch die Verdichtung im Silo eine höhere Transportdichte. Dies führt zu wesentlich geringeren Logistikkosten gegenüber frischer Grünmasse.
3. Kein anderer Rohstoff, außer Grünlandsilage, bietet diesen Kombinationsvorteil von Milchsäure und Aminosäuren. Jegliche andere Proteine, die derzeit im Einsatz sind, müssen aufwendig chemisch hydrolysiert werden.
4. Das mögliche Produktspektrum als Kombination von Aminosäurengewinnung und der Milchsäuregewinnung ist riesig und reicht von Futtermittel über Lebensmittel bis zu Kosmetik und Pharma.
5. Durch die breiten Einsatzmöglichkeiten sind der Produktentwicklungsphantasie keine Grenzen gesetzt. Ein großes Wertschöpfungspotenzial durch Sekundär- und Tertiärprodukte kann prognostiziert werden (z.B. „Functional Food“).

6. Die Technologien können voraussichtlich so flexibel gestaltet werden, dass sie auch die Grundlage für die Abtrennung von Spezialstoffen bieten (Stichwort: „Low volume – High Price“).

Zusammenfassend sind demnach in nächster Zukunft folgende **F & E Strategien** zu empfehlen:

1. Aufbau einer Basis-Pilotanlage
2. Weiterentwicklung der integrierten Trenntechnologie zur Abtrennung von Milchsäure und Aminosäuren durch eine Kombination von Membranverfahren und Chromatographie
3. Entwicklung eines Faserproduktes, das in der Lage ist als echter Kostenträger zu fungieren (Erreichung des Mindestpreises)
4. Re-Silierung des Presskuchens – Erhöhung der Milchsäureproduktion
5. Abklärung der Marktsituation und Entwicklung von Vermarktungsstrategien für die vielversprechenden Produkte Milchsäure und Aminosäuren
6. Weiterführende Überlegungen bezüglich der Anordnung von zentralen und dezentralen Einheiten der Grünen Bioraffinerie (angepasst an den derzeitigen Wirtschaftspartner und die landwirtschaftlichen Strukturen)
7. Erweiterung der Rohstoffbasis, um die wirtschaftliche Tragfähigkeit des Systems zu stabilisieren (eventuell Kombination mit kostengünstigeren Rohstoffen)
8. Anbindung der Pilotanlage an eine Biogasanlage, um die Restströme und den Presskuchen in einem kontinuierlichen Full-scale System zu testen
9. Produktentwicklung als Weiterführung der Technologieentwicklung unter Beachtung der notwendigen Produktreinheit und der Bearbeitung von Nischen in nachhaltigen (ökologisch orientierten) Märkten



## 5 Literaturverzeichnis

- ANDERSEN, M. and P. KIEL (2000). Integrated utilisation of green biomass in the green biorefinery. In: *Industrial Crops and Products* 11, pp. 129-137.
- ANDRES, L. J.; et al. (1995): *J. Food Eng.* 26 (1995) 57-66.
- ATKINS, P. W. (1996). *Physikalische Chemie*. 2. Auflage. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- BAILLY, M. (2002): *Desalination* 144 157-162.
- BARRETT, G. C.. (Ed.) (1985): *Chemistry and biochemistry of the amino acids*. Chapman & Hall, London, England.
- BOYAVAL, P.; et al. (1987): *Biotechnol. Lett.* 9 207–212.
- CABOCHE, J. J. et al. (2001): *Patent US 6,280,985*.
- CHOI; J-H. et al. (2002): *Separation and Purification Technol.* 28 (2002) 69–79.
- COWAN, D.A und BROWN, J.H. (1959): *Ind. Eng. Chem.* 51 (1959) 1445.
- CRAMER, A. (1995). Optimierung der Aufbereitungsverfahren zur Gewinnung von Milchsäure aus Fermentationsmaischen. Dissertation an der Universität für Bodenkultur, Wien.
- DANNER, H.; et al. (2000): *Bioresource Technol.* 75 181-187.
- DATTA (1998). Patent: Esterification of fermentation - derived acids via pervaporation. U. S. Patent: 5,723,639.
- DATTA, R. (1989): *EP 0338162*.
- DATTA, R. und TSAI, S.-P. (1998): Esterification of fermentation-derived acids via pervaporation. U.S. 5,723,639, March 3.
- DATTA, R.; et al. (1995): *FEMS. Microbiol. Rev.* 16 (1995) 221-231.
- DORFNER, K. (1970): *Ionentauscher*. Walter de Gruyter.
- DORFNER, K. (1991): *Ion Exchangers*. Walter de Gruyter.
- EVA (2003): Homepage der Energieverwertungsagentur Österreich: [www.eva.wsr.ac.at/enz/einspeis\\_at.htm](http://www.eva.wsr.ac.at/enz/einspeis_at.htm).
- GIACOBELLO, S.; et al. (2000): *J. Chromatography A.* 872, 23-35.
- GONÇALVES, F. et al. (2003): *J. Food Eng.* 59 (2003) 229-235.

GRASS, S. and G. HANSEN (1999). Production of Ethanol or Biogas, Protein Concentrates and Technical Fibers from Clover/Grass. In: SUSTAIN (1999). The Green Biorefinery. 2<sup>nd</sup> International Symposium. Held at Feldbach, 13. – 14. October 1999. SUSTAIN, Feldbach.

HEIN, W. (2003): Kristallisation, Vorlesungsskriptum zur Vorlesung „Technologie des Zuckers“ an der Univ. für Bodenkultur Wien.

HELFFERICH (1959): Ionenaustauscher Bd. 1. Verlag Chemie, Weinheim.

HOLTEN, C. H. (1971): Lactic Acid, Properties and Chemistry of Lactic Acid and Derivates. Verlag Chemie, Weinheim.

HOLTEN, C.H. (1971): Lactic acid, properties and chemistry of lactic acid and derivatives, Verlag Chemie GmbH, Weinheim, 1971, 232-273

HONGO, M.; et al. (1986): *Appl. Environ. Microbiol.* 52 314 -319.

IN-BOUNG, Y. (1998). Untersuchungen zum Einsatz von Membrantrennverfahren bei der Aufbereitung von Gülle und landwirtschaftlichen Abwässern und zur Wertstoffgewinnung am Beispiel von Milchsäure. Dissertation an der Humboldt Universität, Berlin.

INKYU LEEA; et al. (2002). The use of ion exclusion chromatography as approved to the normal ion exchange chromatography to achieve a more efficient lysine recovery from fermentation broth. *Enzyme and Microbial Technology* 30, pp. 798–803.

ISHIZAKI, A. et al. (1990): *J. Ferment. Bioeng.* 70 (1990) 108-113.

KAMM, B. (2003): Verein BIOPOS e.V. Persönliche Information.

KAMM, B. und M. KAMM (1997). Patent: Verfahren zur Herstellung von organischen Aminiumlactaten und deren Verwendung zur Herstellung von Dilactid. EU Patent: EP 0 789 080 A2.

KAMM, B.; et al. (1996). Cyclische Monomere für biologisch abbaubare Werkstoffe aus milchsäurehaltigen wässrigen Lösungen. 1. Zwischenbericht zum Forschungs- und Entwicklungsvorhaben FKZ: 96163190-U. Uni-Potsdam.

KAMM, B.; et al. (1998). Die Grüne Bioraffinerie – ein ökologisches Technologiekonzept. In: Soyez, K.; et al. (1998). Die Grüne Bioraffinerie. Ein ökologisches Technologiekonzept für regional nachhaltige Produktions- und Wertschöpfungsprozesse. Beiträge zur ökologischen Technologie, Band 5. Gesellschaft für ökologische Technologie und Systemanalyse e.V., Berlin.

KAMM, B.; et al. (2000). Formation of Aminium Lactates in Lactic Acid Fermentation. In: *Acta Biotechnol.* 20, pp. 289-304.

KAMM, B.; et al. (2001). Grüne Bioraffinerie Brandenburg. Beiträge zur Produkt- und Technologieentwicklung sowie Bewertung. Brandenburgische Umweltberichte Vol. 10. Potsdam. (eingereicht).

KEMPERMAN, A. J. B. (Ed.) (2000): Handbook on Bipolar Membrane Technology. Twente University Press, Netherlands.

KITAMURA, S. und UEYAMA, T (2001): *Patent US 6,204,362 B1*.

KOSCHU, W.; et al. (2003): Grüne Bioraffinerie – Gewinnung von Proteinen aus Grassäften. Endbericht im Rahmen der Programmlinie "Fabrik der Zukunft" des Bundesministeriums für Verkehr, Innovation und Technologie; Projekt Nr. 804136.

KROMUS, S. (1999). Elaboration of a decentralized "Green Biorefinery" for the Austrian Region of Feldbach - A sustainable Concept? Dep. of Env. Sciences-Environmental Systems Analysing Group. Wageningen Agricultural University (WAU), Wageningen.

KROMUS, S. (2002). Die Grüne Bioraffinerie Österreich – Entwicklung eines integrierten Systems zur Nutzung von Grünlandbiomasse. Dissertation an der TU, Graz.

KROMUS, S.; et al. (2002). Grüne Bioraffinerie. Integrierte Grasnutzung als Eckstein einer nachhaltigen Kulturlandschaftsnutzung. BBK-Endbericht. Kornberg Institut, Feldbach.

LEE, E. G. et al. (1998): *J.Membr.Sci.* 145 (1998) 53-66.

LEUCHTENBERGER W. (1996): Amino Acids – Technical Production and Use. In: Rehm H.J. und G. Redd. *Biotechnology Vol 6*, VCH.

LI, D. et al. (1997): Synthesis of ethyl lactate catalysed by modified zirconium oxide. *Guangxi Huagong* 1997, 26(4), 16-18 (Ch).

LI, R.-Z., SU, T. (1999): Comparison of catalysts in lactic acid esterification. *Guangxi Huagong* 1999, 28(3), 35-37 (Ch).

LUTIN, F. et al. (2002): *Desalination*. 148 121-124.

MADZINGAIDZO, L. (1999). Technical, Economical and Environmental Perspectives in the Production of Chemicals from Renewable Resources. A Case Study on Lactic Acid Production and Purification. Dissertation am IFA-Tulln, Department of Environmental Biotechnology. BOKU, Wien.

MADZINGAIDZO, L.; et al. (2002): *J. Biotechnol.* 96 (2002) 223-239.

MENG, Y., LUO, T. (1998): Method of using natural material for synthesizing ethyl lactate. *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu CN 1,229,790 (Cl. 057C69/68)*, 29 Sept. 1999, Appl. 98,111,914, 19 Mar 1998; 5 pp. (Ch).

MONTIEL, V.; et al. (1998): *A. J. Membr. Sci.* 140 243-250.

MOON, P. J.; et al. (1998): *J. Membr. Sci.* 141 pp 75-89.

MOORE und STEIN (1954). *J. Biol. Chem.* 211/893.

NORDDAHL, B. (2001): *Patent US 6,319,382 B1*.

PAANANEN, H. A. (1997). Trends in the chromatographic separation of molasses. Zuckerindustrie 122/1.

PERRY, M. und KEDEM, O. (1980): *Patent US 4238306*.

PONNDORF (2001). Persönliche Information. Fa. Ponndorf, Kassel.

PYNNONEN, Bruce (1998): Simulated moving bed processing-escape from the high-cost box. Journal of Chromatographie A 827 143–160.

RAUTENBACH, R. (1997). Membranverfahren, Grundlagen der Modul,- und Anlagenauslegung. New York, Springer Verlag Berlin Heidelberg.

RESBEUT, S.; et al. (1998): *Desalination* 120 235-245.

ROZELL, D. und F. WAGNER (1992): Biocatalytic Production of Amino Acids & Derivates, Hanser, München.

SATO, K. et al. (1995): *J. Membr. Sci.* 100 (1995) 209-216.

SCHÄRTGES (1993). Zum Einsatz von Membranverfahren bei der fermentativen Aminosäuregewinnung am Beispiel Isoleucin.

SEIDELMANN (1997). Performance limits in industrial chromatographic separation processes. Zuckerindustrie 122/1.

SHAPOSHNIK, V. A. und KEROSE, K. (1997): *J. Membr. Sci.* 136 pp 35-39.

SIEBOLD, M.; et al. (1995): *Process Biochem.* 30 81-95.

SOYEZ, K.; et al. (1998). Die Grüne Bioraffinerie. Ein ökologisches Technologiekonzept für regional nachhaltige Produktions- und Wertschöpfungsprozesse. Beiträge zur ökologischen Technologie, Band 5. Gesellschaft für ökologische Technologie und Systemanalyse e.V., Berlin.

STEINMÜLLER, H. (1994). Milchsäure aus Silagefermentationen. Endbericht. Österreichisches Institut für Kreislaufwirtschaft, Linz.

STRATFUL, I. et al. (2001): *Water Research.* 35 (2001) No.17, 4191-4199.

SUSTAIN (1999). The Green Biorefinery. 2<sup>nd</sup> International Symposium. Held at Feldbach, 13. – 14. October 1999. SUSTAIN, Feldbach.

TAMI (2001). Persönliche Information und Firmenunterlagen. Fa. Tami, Hermsdorf.

TANAKA, K., et al. (2002): Application of zeolite T membrane to vapor-permeation-aided esterification of lactic acid with ethanol. Chem. Eng. Sci., 57 (9): 1577-1584. Elsevier, England.

TANAKA, Y. (1991): *J. Membr. Sci.* 57 217-235.

VICK-ROY, T. B. (1985): *In*: M. Moo-Young (Ed.), *Comprehensive Biotechnology*, Pergamon Press Ltd., New York. First Edition, Vol. 3: "The practice of biotechnology: commodity products". (1985). pp. 761-776.

WACHTER, B.; et al. (2003). *Grüne Bioraffinerie – Verwertung der GrASFaserfraktion*. Endbericht im Rahmen der Programmlinie "Fabrik der Zukunft" des Bundesministeriums für Verkehr, Innovation und Technologie; Projekt Nr. 804137.

YAO, P-X. und TODA, K. (1990): *J. Gen. Appl. Microbiol.* 36 (1990) 111-125.

## 6 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Wechselwiese Klee gras (KLG) in Auersbach, Stmk. – Rohstofflieferantin der Jahre 2001 und 2002 (Foto: Joanneum Research)	20
Abb. 2:	Pressbilanz 2001 – Milchsäureausbeute in % aus unterschiedlichen Ballensilagen (KLG = Klee gras, DW = Dauerwiese, KG = Knaul gras)	22
Abb. 3:	Milchsäureausbeute [%] in Abhängigkeit der Silagetrockenmasse – mit linearer Trendlinie und Bestimmtheitsmaß nach Pearson (Pressversuche 2001)	23
Abb. 4:	Milchsäureausbeute in % in Abhängigkeit der Silage TM in % - bereinigt um die unterschiedlichen Presseinstellungen (Gegendruck und Schneckenumdrehung) mit linearer Trendlinie und Bestimmtheitsmaß nach Pearson (Pressversuche 2001)	24
Abb. 5:	Schema der Fraktionierung mit Doppelpressung	25
Abb. 6:	a) Befüllung der Presse mit Silage, b) Silagepresssaft, c) Silagepresskuchen, d) Luzernepresssaft – Pressversuche 2002 (Fotos: Kornberg Institut)	26
Abb. 7:	Pressversuche 2002: Milchsäureausbeute (MS) – 1. Pressung – Silage	27
Abb. 8:	Pressversuche 2002: Milchsäureausbeute gesamt – 1. u. 2. Pressung (teilw. befeuchtet) – Silage	28
Abb. 9:	Zusammensetzung des Silagepresssaftes für Nachfermentationsversuche (Klee grassilage, 1. Schnitt, IFAM2 Bakterien) (01/44)	29
Abb. 10:	Permeat der Ultrafiltrationsversuche – Silagepresssaft	31
Abb. 11:	Silagesaft Klee gras, 1. Schnitt, IFAS3 Bakterien, Jahr 2001 (Nr. 01/38) Zusammensetzung [g/l] – Saft wurde für den dritten Nanofiltrationsversuch mikrofiltriert	34
Abb. 12:	Nanofiltrationszelle des Institut für Lebensmitteltechnologie der Universität für Bodenkultur	35
Abb. 13:	Nanofiltrationsmembran NADIR PES 10 (nominaler cut-off 1 kD)	35
Abb. 14:	Zusammensetzung eines Ultrafiltrationspermeats (1 kD) SJP02 (Nr. 01a/1) für Elektrodialyse- und Chromatographieversuche	37
Abb. 15:	Elektrodialyseanlage des Institut für Lebensmitteltechnologie der Universität für Bodenkultur	37
Abb. 16:	a) Technikumschromatographieanlage des Inst. für Lebensmitteltechnologie der Univ. für Bodenkultur; b) Chromatographische Trennung (Ionenausschlusschromatographie) von Silagesaftinhaltsstoffen bei pH = 6	39
Abb. 17:	Chem. Struktur von Imidazol und Piperazin (Kamm und Kamm 1997)	42
Abb. 18:	Kristallisationsbeginn des Gemisch (Imidazol, Lactat/Acetat)	43
Abb. 19:	"Mc Donald's" Bierbecher aus Polymilchsäure – "Kein Plastik", sondern kompostierbar	44
Abb. 20:	Erlösstruktur d. Grünen Bioraffinerie auf Basis von Grassilage und Doppelpressung (Mittelwerte 2002) in % pro t TM Silage Rohstoff	47
Abb. 21:	Zusammenhang zwischen Aminosäure-Erlös und den maximal möglichen Abtrennungskosten	49
Abb. 22:	Prozent freie Milchsäure (R-COOH) in Abhängigkeit des pH-Werts	67
Abb. 23:	Reaktionsschema zur Erzeugung von Aminiumlactat bzw. Dilactid (Kamm und Kamm 1997)	70

Abb. 24:	Wechselwiese Klee gras (KLG) in Auersbach, Stmk. – Rohstofflieferantin der Jahre 2001 und 2002 (Foto: Joanneum Research)	73
Abb. 25:	Pressbilanz 2001 – Milchsäureausbeute in % aus unterschiedlichen Ballensilagen (KLG = Klee gras, DW = Dauerwiese, KG = Knaul gras)	77
Abb. 26:	Milchsäuregesamtbilanz anhand des arithmetischen Mittels (ohne Ausreißer) – Pressversuche 2001 (Wachter et al. 2003)	78
Abb. 27:	Milchsäureausbeute [%] in Abhängigkeit der Silagetrockenmasse – mit linearer Trendlinie und Bestimmtheitsmaß nach Pearson (Pressversuche 2001)	78
Abb. 28:	Milchsäureausbeute in % in Abhängigkeit der Silage TM in % - bereinigt um die unterschiedlichen Presseinstellungen (Gegendruck und Schneckenumdrehung) mit linearer Trendlinie und Bestimmungsmaß nach Pearson (Pressversuche 2001)	79
Abb. 29:	Schema der Fraktionierung mit Doppelpressung	81
Abb. 30:	Versuchspresse der Fa. Ponndorf (Kassel, D) – Pressversuche 2002 (Foto: Fa. Ponndorf)	83
Abb. 31:	Silagepresssaft der Pressversuche 2002 mit den Produkten Milchsäure und Proteine (Aminosäuren) (Foto: Kornberg Institut)	83
Abb. 32:	Pressversuche 2002: Milchsäureausbeute (MS) – 1. Pressung – Silage	85
Abb. 33:	Pressversuche 2002: Milchsäureausbeute gesamt – 1. u. 2. Pressung (teilw. befeuchtet) – Silage	86
Abb. 34:	Pressversuche 2002: Fraktionierungsbilanz Bastardray gras (B02/13)	87
Abb. 35:	Pressversuche 2002: Fraktionierungsbilanz Bastardray gras (B02/16)	88
Abb. 36:	Pressversuche 2002: Fraktionierungsbilanz Klee gras (B02/22)	89
Abb. 37:	Pressversuche 2001 – Zusammenfassung der Ergebnisse für Grünmasse und Silage	98
Abb. 38:	Zusammensetzung des Silagepresssaftes für Nachfermentationsversuche (Klee grassilage, 1. Schnitt, IFAM2 Bakterien) (01/44)	100
Abb. 39:	Ultrafiltrationsanlage, UF Modul mit Tamimembran, 0,35 m <sup>2</sup> ; 1 - UF-Modul, 2 - Permeatabfluss, 3 – Manometer Membranausgang, 4 –Manometer Membraneingang, 5 – Durchflusszähler, 6 – Drehzahlregelbare Pumpe, 7 – Entleerungsklappe, 8 – Behälter, 9 –Drosselventil, 10 – Probenentnahme	104
Abb. 40:	Permeat der Ultrafiltrationsversuche – Silagepresssaft	105
Abb. 41:	Gewinnung von geklärten Milchsäurebrühen aus Silage Säften durch a) Ultrafiltration mit b) TAMI Membranen	106
Abb. 42:	Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus Silagesaft, Verfahrensvariante 1 Hauptverfahrensschritte: ED, EDB und Chromatographie	112
Abb. 43:	Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus Silagesaft, Verfahrensvariante 2 Hauptverfahrensschritte: ED, Chromatographie und EDB	114
Abb. 44:	Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus Silagesaft, Verfahrensvariante 3; Hauptverfahrensschritte: EDB, ED und Chromatographie	116
Abb. 45:	Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus Silagesaft, Verfahrensvariante 4; Hauptverfahrensschritte: NF, ED und Chromatographie	118

Abb. 46:	Silagesaft Klee gras, 1. Schnitt, IFAS3 Bakterien, Jahr 2001 (Nr. 01/38) Zusammensetzung [g/l] – Saft wurde für den dritten Nanofiltrationsversuch mikrofiltriert	120
Abb. 47:	Nanofiltrationszelle des Institut für Lebensmitteltechnologie der Universität für Bodenkultur	122
Abb. 48:	Nanofiltrationsmembran NADIR PES 10 (nominaler cut-off 1 kD)	123
Abb. 49:	Nanofiltration eines original Silagesaftes, Membran: NADIR PES 10, $p = 15\text{-}30$ bar, $T = 50 - 70$ °C	123
Abb. 50:	Nanofiltration von Silagesaft, Membran: NADIR PES 10, $p = 30$ bar, $T = 75$ °C	125
Abb. 51:	Nanofiltration von Silagesaft, Membran: NADIR PES 10, $p = 30$ bar, $T = 60$ °C	125
Abb. 52:	Nanofiltration eines original Silagesaftes nach thermischer Vorbehandlung und Mikrofiltration (0,2 $\mu\text{m}$ ) NF-Membran: NADIR PES 10, $p = 30$ bar, $T = 70$ °C	126
Abb. 53:	Elektrodialyseanlage des Institut für Lebensmitteltechnik der Universität für Bodenkultur	127
Abb. 54:	Bestimmung der Grenzstromdichte (LC) bei einem nanofiltrierten Silagesaft ( $\text{pH} = 1,8$ ) RT...Widerstand mit Elektroden, RM...Widerstand nur an Membranen	128
Abb. 55:	Schema of separating ions in three-compartment electro dialyzer	133
Abb. 56:	Limiting current of grass silage juice SJP02; No. 01a/1 at different pHs	136
Abb. 57:	Changes of conductivity and current during electro dialysis of the juice at $\text{pH} = 6.7$	138
Abb. 58:	Lactate concentration and mass transfer of lactate during electro dialysis at $\text{pH} = 6.7$	139
Abb. 59:	Changes of conductivity and current during electro dialysis at $\text{pH} = 2$	143
Abb. 60:	Change of pH in the diluates during the two-stage electro dialysis	144
Abb. 61:	Chromatographische Trennung (Ionenausschlusschromatographie) von Silagesaftinhaltsstoffen bei $\text{pH} = 6$	147
Abb. 62:	Mögliche Prozesskette zur Gewinnung von Aminoäuren und Milchsäure aus Silagesäften	149
Abb. 63:	Schema der Elektrodialyse	150
Abb. 64:	Transfer von Aminosäuren aus der Feedlösung in die Salzfraktion bei $\text{pH} 6,6$ (Saft SJP02; Nr. 01a/1)	150
Abb. 65:	Transfer von Aminosäuren aus der Feedlösung in die Salzfraktion bei $\text{pH} 1,3$ (SJP02; Nr. 01a/1)	151
Abb. 66:	Versuch chromatographische Trennung von Fructose und Aminosäuren des Grassilagesaftes	153
Abb. 67:	"Improved Simulated Moving Bed" Prozess zur Trennung in 2 Fraktionen (Nippon Rensui EP 1 2050 224 A1)	154
Abb. 68:	Neutralisation von freier Milchsäure	158
Abb. 69:	Chem. Struktur von Imidazol und Piperazin	159
Abb. 70:	Titrationen von 0,2 molarer Milchsäure. Titrationsbase Imidazol (fest)	160
Abb. 71:	Löslichkeitsdiagramm von Saccharose als Beispiel für typische Kristallisationsbedingungen (übertragen aus Hein 2003)	161
Abb. 72:	Zugabe von Imidazol zu 85 prozentige Milchsäure. Beginn der Kristallkeimbildung	163
Abb. 73:	Imidazoliumlactat in Milchsäure/Wassergemisch bei Raumtemperatur. Rechts: Gemisch von Versuch 3 unverdünnt. Mitte: Gemisch mit 5 % Wasser verdünnt, Links: Gemisch mit 10 % Wasser verdünnt	164



Abb. 74:	Rotationsverdampfer	166
Abb. 75:	Kristallisation bei 20°C	167
Abb. 76:	Kristallisationsbeginn des Gemisch (Imidazol, Lactat/Acetat)	167
Abb. 77:	Kristallisationsbeginn des Gemisch (Imidazol, Lactat/Acetat)	168
Abb. 78:	Massenbilanz der Fraktionierung 2002 anhand der Silage-Mittelwerte – errechnet aus Silage Analytik des BAL-Gumpenstein und IFA-Tulln Saftwerte (TM = Trockenmasse, FM = Frischmasse, oTM = organische Trockenmasse, CP = Rohprotein)	178
Abb. 79:	Erlösstruktur d. Grünen Bioraffinerie auf Basis von Grassilage und Doppelpressung (Mittelwerte 2002) in % pro t TM Silage Rohstoff	180
Abb. 80:	Zusammenhang zwischen Aminosäure-Erlös und den maximal möglichen Abtrennungskosten	185

## 7 Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Mittelwerte des L(+) Milchsäuregehalt der Silagesäfte	19
Tab. 2	Verwendete Silagestarter der Saison 2001	20
Tab. 3	Erlösstruktur der Grünen Bioraffinerie mit Grassilage als Rohstoff und Doppelpressung	47
Tab. 4	Erlöse minus vorläufige Kosten (Rohstoffe, Fraktionierung und Biogas) als Grundlage zur Errechnung der maximal möglichen Abtrennungskosten für Milchsäure und Aminosäuren bei gegebenen Produktpreisen	48
Tab. 5	L(+) Milchsäuregehalt der Silagesäfte	66
Tab. 6	Verwendete Silagestarter der Saison 2001	74
Tab. 7	Analytikergebnisse des BAL-Gumpenstein – GBR-Silageversuche 2001 – TEIL 1	91
Tab. 8	Analytikergebnisse des BAL-Gumpenstein – GBR-Silageversuche 2001 – TEIL 2	92
Tab. 9	Legende zu den Analytikergebnissen des BAL-Gumpenstein – 2001	93
Tab. 10	Feststoffanalytik Jahr 2002 – BAL Gumpenstein	94
Tab. 11	Pressversuche 2001 Zusammenfassung der Ergebnisse für Grünmasse und Silage	97
Tab. 12	Zusammenfassung Milchsäureausbeute aus Silage der Fraktionierungsversuche 2002	99
Tab. 13	Zusammensetzung des 1 kD UF-Permeats (SJP02 mit der Nummer 01a/1), dass für die weiteren ED und Chromatographieversuche herangezogen wurde	107
Tab. 14	Aminosäurespektrum des 1 kD UF-Permeats (SJP02 mit der Nummer 01a/1), dass für die weiteren ED und Chromatographieversuche herangezogen wurde	108
Tab. 15	Zusammensetzung des Silagepresssaftes (Klee gras, 1. Schnitt, IFAS3 Bakterien, 2001) – Messung IFA-Tulln (Nr. 01/38 und 01/39)	121
Tab. 16	Physico-chemical characterization of grass silage juice (SJP02; No. 01a/1)	135
Tab. 17	Transportation of ions during electro dialysis of grass silage juice at pH = 6.7	138
Tab. 18	Separation of sugars and amino acid by ED at pH = 6.7	140
Tab. 19	Separation of inorganic salts from lactic acid at pH = 2	142
Tab. 20	"Leistungsfähigkeit eines zweistufigen ED-Prozesses mit Nanofiltration und Phosphatfällung als Vorbehandlungsschritt	156
Tab. 21	Physikalische Eigenschaften von Aminiumlactaten (Kamm und Kamm 1997)	160
Tab. 22	Zusammensetzung der Milchsäurelösung im Versuch 4	165
Tab. 23	Milchsäureethylester: Formel und Eigenschaften	169
Tab. 24	Grassilage-Milchsäure – Modelllösung zur Herstellung von Ethyllactat	171
Tab. 25	Produktmengen einer 10000 t TM/a Grünen Bioraffinerie basierend auf Grassilage	179
Tab. 26	Erlösstruktur der Grünen Bioraffinerie mit Grassilage als Rohstoff und Doppelpressung	179
Tab. 27	Rohstoffkosten einer 10000 t TM/a Grassilage Grünen Bioraffinerie inkl. Transport zum Werk	181
Tab. 28	Fraktionierungskosten – Einfachpressung 10000 t TM/a Grassilage Grüne Bioraffinerie ohne Gemeinkosten	182
Tab. 29	Fraktionierungskosten – Doppelpressung 10000 t TM/a Grassilage Grüne Bioraffinerie ohne Gemeinkosten	182

Tab. 30	Wirtschaftlichkeitsberechnung Biogas aus Restströmen einer 10000 t TM/a Grassilage Grünen Bioraffinerie – ohne Rohstoffkosten	183
Tab. 31	Erlöse minus vorläufige Kosten (Rohstoffe, Fraktionierung und Biogas) als Grundlage zur Errechnung der maximal möglichen Abtrennungskosten für Milchsäure und Aminosäuren bei gegebenen Produktpreisen	184
Tab. 32	Übersicht über die durchgeführten Analysen – Teil 1 (grüne Säfte 2001)	193
Tab. 33	Übersicht über die durchgeführten Analysen – Teil 2 (Silageäfte 2001)	194
Tab. 34	Übersicht über die durchgeführten Analysen (alle Säfte 2002)	195
Tab. 35	Grundanalytik, Teil 1	196
Tab. 36	Grundanalytik, Teil 2	197
Tab. 37	Grundanalytik, Teil 3	198
Tab. 38	Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 1	199
Tab. 39	Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 2	200
Tab. 40	Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 3	201
Tab. 41	Annorganische Analytik, Teil 1	202
Tab. 42	Annorganische Analytik, Teil 2	203
Tab. 43	Annorganische Analytik, Teil 3	204
Tab. 44	Analytik, freie Aminosäuren, Teil 1	205
Tab. 45	Analytik, freie Aminosäuren, Teil 2	206
Tab. 46	Analytik, freie Aminosäuren, Teil 3	207
Tab. 47	Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 1	208
Tab. 48	Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 2	209
Tab. 49	Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 3	210
Tab. 50	Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 1	211
Tab. 51	Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 2	212
Tab. 52	Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 3	213
Tab. 53	ED 1; pH = 6,7	214
Tab. 54	ED 1 at pH = 6,7; Change of ions in diluate	215
Tab. 55	Lactate transfer of ED 1, pH=6,7	216
Tab. 56	ED 2 at pH = 2	217
Tab. 57	ED 2; pH = 2; Change of ions in diluate	218
Tab. 58	pH Change ED	219

Anhang A bis I

# Grüne Bioraffinerie – Gewinnung von Milchsäure aus Grassilagesaft

**Kornberg Institut für nachhaltige Regionalentwicklung und angewandte Forschung**

Steirisches Vulkanland Regionalentwicklung GmbH  
Haus der Region, Dörfel 2, A-8330 Feldbach  
Tel.: 03152/8575-330 (Fax: 8575-335), [ckrotscheck@imzentrum.at](mailto:ckrotscheck@imzentrum.at)

## Anhang A Milchsäure aus Grassilagepresssaft

### 1 Die Milchsäure

Im letzten Jahrzehnt ist das Interesse an der Produktion von Milchsäure merklich gestiegen. Mögliche Wachstumsmärkte im Polymerbereich und im Chemikaliensektor haben die Aufmerksamkeit vieler Firmen nach sich gezogen. Milchsäure könnte in naher Zukunft eine wichtige neue bio-organische "Plattform-Chemikalie" werden, ähnlich wie das derzeit Ethylen (Ethen) in der Petrochemie ist.

Milchsäure (MS), fermentativ gewonnen aus nachwachsenden Kohlenhydrat reichen Rohstoffen hat das Potenzial eine der wichtigsten Commodity Chemikalien zu werden. MS kann genutzt werden Im letzten Jahrzehnt ist das Interesse an der Produktion von Milchsäure merklich gestiegen, um biologisch abbaubare Kunststoffe, oxygenierte Chemikalien, umweltfreundliche Lösungsmittel, Pflanzenwachstumsregulatoren und andere spezielle Chemikalien herzustellen. Dieser Grundstoff stellt also die Grundlage für eine diverse Prozessindustrie mit hoher Wertschöpfung dar.

Bei diesem Projekt konzentrierte sich die Forschungstätigkeit auf die kostengünstige und umweltfreundliche (nachhaltige) Abtrennung von Milchsäure aus durch Silierung zuckerreicher Grünlandbiomasse gewonnener Silagepresssäften.

### 2 Eigenschaften der Milchsäure

Milchsäure, 2-Hydroxypropionsäure,  $\text{CH}_3\text{-CH(OH)-COOH}$  mit einer Molmasse von 90,08 g/mol ist die einfachste Hydroxycarbonsäure mit einem asymmetrischen C-Atom. Sie kommt daher in einer racemischen (DL-Milchsäure) und in zwei optisch aktiven Formen vor (L(+) bzw. D(-)). Die Siedepunkte der reinen racemischen und der optisch aktiven Säuren lassen sich auch bei vermindertem Druck wegen der Neigung zur Bildung intermolekularer Ester nur sehr schwer bestimmen. Sie liegen vermutlich sehr eng beieinander. In der Literatur finden sich Werte zwischen 119° C und 123° C bei 16-20 mbar (Cramer 1995).

Im Rahmen dieses Projektes konnte der Anteil der L(+) Milchsäure in den Silagepresssäften gemessen werden (Tab. 5). Die Messmethode beruht auf der enzymatischen Umsetzung der L(+) Milchsäure in messbare Metabolite.

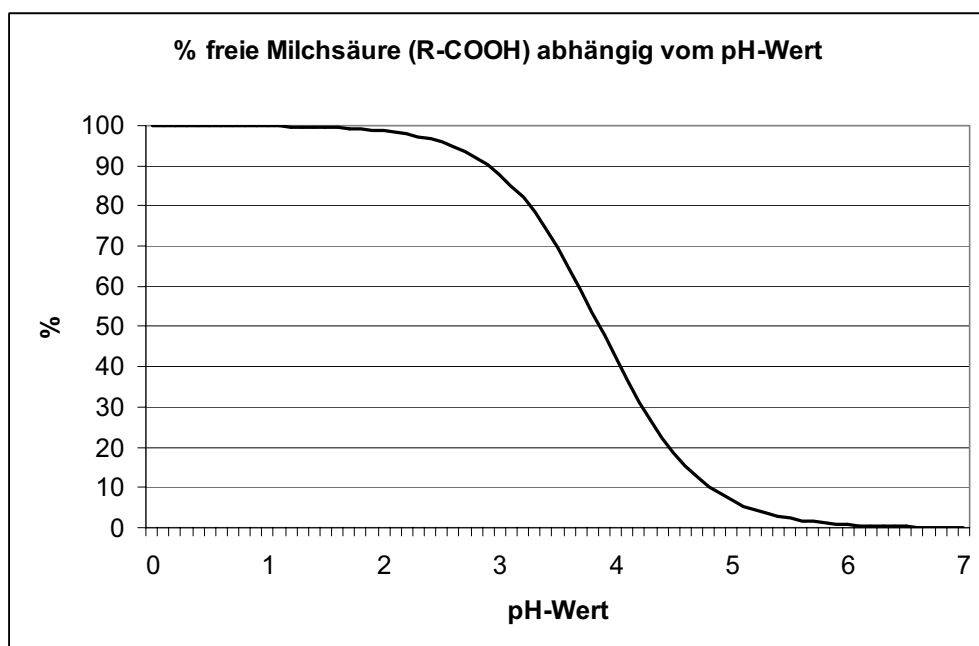
**Tab. 5 L(+) Milchsäuregehalt der Silagesäfte**

Probenbezeichnung	ges. MS (g/l, HPLC)	L(+)-MS (g/l)	L(+)-MS (%)
Standard	0,205	0,21	101,7
01/56	44,87	26,33	59,5
01/54	54,89	19,48	37,4
01/44	58,25	21,98	36,6
01/38	57,25	26,59	46,3
01/55	45,96	20,09	1,0
01/63	33,44	18,64	55,8
01/64	24,63	11,55	46,9
02/27 (Ausreißer)	15,29	14,00	94,5
02/26	27,87	15,09	54,1
02/19	30,52	19,77	64,8
02/20	21,63	16,05	74,2
02/21	31,76	16,40	51,6
02/22	26,39	17,72	67,1
02/24	20,51	14,13	68,9
02/25	20,79	9,16	44,1
02/18	29,16	13,58	46,6
<b>Mittelwert 2001</b>	<b>45,6</b>	<b>20,7</b>	<b>40,5</b>
<b>Mittelwert 2002 ohne Probe 02/27</b>	<b>26,1</b>	<b>15,2</b>	<b>58,9</b>

Tab. 5 zeigt, dass trotz des Einsatzes von reinen L(+) bildenden Starterbakterien im Jahr 2002 die Rate der L(+) Milchsäure nur um ca. 46 % auf ca. 59% gesteigert werden konnte. Zur Herstellung von Polymilchsäure (aus Dilactid) benötigt man allerdings reine L(+) Milchsäure. Im Falle der Herstellung von Ethyllactat bzw. Food-Grade Milchsäure spielt der Anteil an L(+) Milchsäure eine untergeordnete Rolle. D.h. bei der Weiterentwicklung Richtung bioabbaubarem Kunststoff müsste der L(+) Milchsäuregehalt in der Silage weiter optimiert werden bzw. eine Separierung (z.B. destillative Trennung der Dilactid Isomere) stattfinden.

Milchsäure dissoziiert in wässrigen Lösungen in ein Proton ( $H^+$ ) und in ein Lactat Anion ( $LA^-$ ). Die Menge der dissoziierten Milchsäure ist durch den  $pK_a$  Wert bestimmt. Der  $pK_a$  Wert von Milchsäure beträgt 3,86 bei 25° C (bei 50° C ca. 3,89).

Abb. 22 zeigt wie viel % freie Säure in Abhängigkeit des pH-Wertes vorliegt. Natürlich handelt es sich bei Silagesaft um eine komplexe Substanz so dass diese Kurve nur sehr bedingt stimmen kann. Durch pH-Wert Absenkung mit z.B. Schwefelsäure ( $H_2SO_4$ ) auf  $pH = 1,5$  freie Säure erzeugt werden kann, die dann für eventuelle Veresterungen zu Verfügung steht.



**Abb. 22: Prozent freie Milchsäure (R-COOH) in Abhängigkeit des pH-Werts**

Theoretisch liegt also bei  $pH 4$  die Milchsäure im Silagesaft zu 42 % als freie Säure vor. Die Firma PURAC vertreibt beispielsweise 80 %ige Milchsäure mit einem  $pH$  Wert von  $<2$ . Dies bedeutet, dass theoretisch 98 bis 99 % der Milchsäure als freie Säure vorliegt (Purac 2001). Durch das zusätzliche Vorliegen von Lactoylmilchäure bzw. Oligomeren kann jedoch davon ausgegangen werden, dass nur ca. 89 % der Gesamtmilchsäure direkt (ohne Hydrolyse) mit einer starken Base titrierbar sind (Holten 1971).

### **3 Wichtige Produkte der Milchsäure**

Im Rahmen eines Vorprojektes wurde auf die Nutzungsmöglichkeiten der Milchsäure aus Silagesäften bereits eingehend hingewiesen (Kromus et al. 2002). In diesem Projekt wurde primär untersucht welche Abtrennungstechnologie für die Herstellung von Ethyllactat bzw. Aminiumlactat (als Zwischenprodukt zur Herstellung von Dilactid bzw. Polymilchsäure) kostengünstig und umweltfreundlich zur Verfügung steht.

#### **3.1 Ethyllactat**

Ethyllactat entsteht durch die Veresterung von Milchsäure mit Ethanol.

Es ist ein für viele Zwecke verwendbares und dadurch sehr wertvolles Produkt.

Eigenschaften von Ethyllactat (Holten 1971):

- ◆ biologisch abbaubar
- ◆ ungiftig
- ◆ ausgezeichnetes Lösungsmittel
- ◆ geringe Flüchtigkeit
- ◆ hoher Siedepunkt

Ethyllactat wurde 1844 von Lepage entdeckt. Die ersten kommerziellen Anwendungen begannen kurz vor dem ersten Weltkrieg als Lösungsmittel für Zelluloseverbindungen.

1910 wurde das Produkt unter "Lactonal" eingetragenes Markenzeichen von Boehringer. Anfang der 20er Jahre wurde von Du Pont Ethyllactat als Lösungsmittel für Nitro Zellulose – Autolacke eingesetzt, was eine große Einsparung in der Produktion bedeutete, da die Trocknungszeit jetzt wenige Stunden betrug, jedoch herkömmliche Lacke mehrere Tage trocknen mussten.

Die Produktion war im Vergleich zu Ethylenglykol, einer Substanz mit ähnlichen Eigenschaften, zu teuer und so konnte sich Ethyllactat trotz seiner hervorragenden Eigenschaften als Lösungsmittel für Nitrozellulose nicht so richtig durchsetzen.

Die Herstellung beruht auf destillativen Verfahren. Milchsäure wird mit Ethanol im Überschuss erhitzt, wobei Ethyllactat und Nebenprodukte entstehen. Danach wird über eine Destillation zunächst Ethanol und Wasser als Azeotrop abgenommen und das Ethanol rückgewonnen, danach wird reines Ethyllactat abdestilliert.



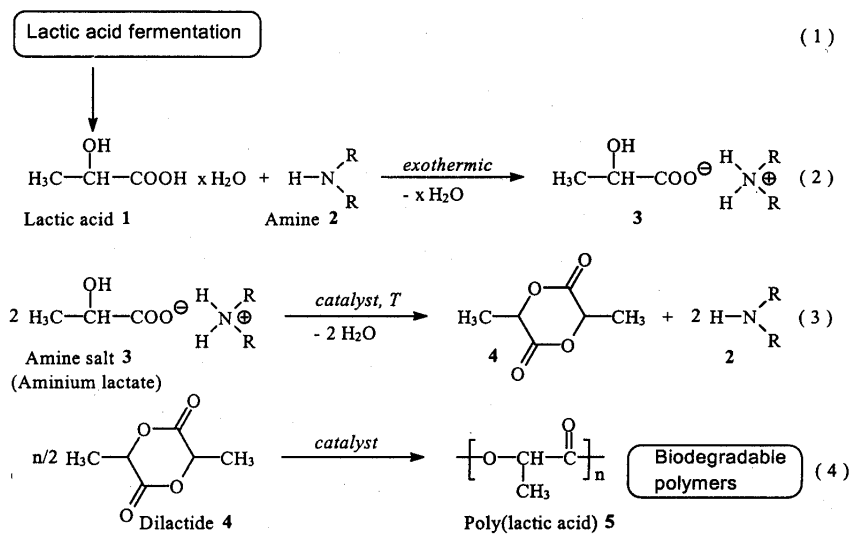
Wie bereits oben erwähnt, handelt es sich bei Ethyllactat um ein hervorragendes Lösungsmittel, z.B. für Nitrozellulose mit dem großen Vorteil, dass es biologisch abbaubar und ungiftig ist (im Gegensatz zum schädlichen Ethylenglykol – siehe Weinskandal). Die letale Dosis von Glykol bei 50 % (LD<sub>50</sub>) der Ratten liegt bei 4.7 g/kg Körpergewicht, außerdem darf ein MAK (maximale Arbeitsplatzkonzentration) Wert von 10 ml/m<sup>3</sup> nicht überschritten werden. Bei Ethyllactat liegt der LD<sub>50</sub> Wert bei > 5 g/kg. (Merck 1999)

### **3.2 Aminiumlactat**

Kamm und Kamm (1997) haben ein Verfahren entwickelt, das die Möglichkeit bietet aus komplexen milchsauren Lösungen einen organischen kristallinen Feststoff zu erzeugen. Die Kristalle sind das Ausgangsmaterial für einen neuen, gegenüber herkömmlichen Verfahren verkürzten Syntheseweg zum Dilactid, dem wichtigsten Zwischenprodukt bei der Herstellung von Polylactiden. Aminiumlactate eignen sich auch sehr gut als Basismaterial für weitere chemische Synthesen und werden außerdem auch als Wirkstoff oder als Matrixmaterial in der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie eingesetzt. Aminiumlactat ist als Feststoff gut handhabbar und lagerfähig. Nach der Erzeugung des Dilactids kann das Amin z.B. über die Erzeugung eines Monosulfats recycelt werden.

#### **3.2.1 Kurzbeschreibung des Verfahrens**

Herstellung von Dilactid aus komplexen Milchsäurelösungen die teilw. stark verdünnt sind. Dieses Verfahren gestattet die Umgehung der Oligolactid-Stufe, was einen wesentlichen Energievorteil bringt.



**Abb. 23: Reaktionsschema zur Erzeugung von Aminiumlactat bzw. Dilactid (Kamm und Kamm 1997)**

Das Verfahrensprinzip beruht darauf, Milchsäuremolekel zu binden und zu isolieren und in einer anschließenden thermischen oder sauren Dissoziation zwei solcher Molekel zu einem Dilactid zusammenzufügen. Ein sehr geeignetes Amin ist das Piperazin.

Im Fall des Einsatzes von Piperazin oder seines Hydrates als Base erhält man aus 50 % iger L(+)-Milchsäure nach extraktivem bzw. destillativem Entfernen des Wassers und (Versetzen mit Ethylenglycolmonoethylether) 1,4-Piperazinium-(L,L)-dilactat in 86 % iger Ausbeute. Bei Einsatz von 80% Milchsäure verläuft die Salzbildung stark exotherm in einer Ausbeute von 94 %. Die Aminiumlactate weisen Schmelzpunkte zw. 80 und 140 °C auf (Kamm und Kamm 1997).

Die Kristalle sind das Ausgangsmaterial für einen neuen, gegenüber herkömmlichen Verfahren verkürzten Syntheseweg zum Dilactid, dem wichtigsten Zwischenprodukt bei der Herstellung von Poly lactiden. Aminiumlactate eignen sich auch sehr gut als Basismaterial für weitere chemische Synthesen und werden außerdem auch als Wirkstoff oder als Matrixmaterial in der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie eingesetzt. Aminiumlactat ist als Feststoff gut handhabbar und lagerfähig. Nach der Erzeugung des Dilactids kann das Amin z.B. über die Erzeugung eines Monosulfats rezykliert werden.

### **3.3 Nutzungsmöglichkeiten von Aminiumlactat**

- Lactat ist wasserfrei gebunden
- Aminiumlactat ist kristallin und gut lagerfähig
- ermöglicht eleganten (energiesparenden) Weg zum Dilactid
- Zwischenprodukt für weitere chem. Synthesen
- Matrixmaterial in d. pharmazeutischen u. kosmetischen Ind.
- Recyclierbarkeit des Amins muss noch geklärt werden

Weitere Details zur Herstellung und Nutzung von Aminiumlactaten sind in Anhang F zu finden.

## **Anhang B**

### **Rohstoffe zur Gewinnung von Milchsäure aus Silagesäften**

#### **1 Grünlandbiomasse und Grassilage als Rohstoff zur Herstellung von Proteinprodukten**

Obwohl die Feldversuche zur Grünen Bioraffinerie primär im Steirischen Vulkanland (Bezirk Feldbach, Steiermark.) erfolgten, kann hier zunächst keine pflanzensoziologische Beschreibung der Wiesen erfolgen. Die Einteilung erfolgt lediglich in (vgl. Kromus et al. 2002):

- Dauerwiesen
- Wechselwiesen (Feldfutterbau als Klee-Gras dominierter Bestand)
- Sämereienwiesen (Monokulturen)
- Leguminosenanbau (Beispiel Luzerne)

All dieses Grünland kann ein wesentlicher und interessanter Rohstofflieferant für die Grüne Bioraffinerie sein. Besonderes Augenmerk wurde bei der Auswahl auf die Simulation von "Realbedingungen", d.h. Bedingungen, wie sie für eine Grüne Bioraffinerie relevant sind, gelegt. Ziel der Versuche war es Silagen mit hohen Milchsäure- und Proteingehalten zu erzeugen und eine prozesstechnische Vorauswahl zu treffen.

##### **1.1 Bevorzugte Flächen für die GBR-Rohstoffversuche in Feldbach**

- Hügelland oder Seitentäler der Raab mit keiner bis mittlerer Hangneigung (0 – 10°)
- Böden mit mäßiger bis mittlerer Erosionsgefahr (Böden mit hoher Erosionsgefahr können bei Erfolg der Bioraffinerie zusätzlich einbezogen werden)
- Böden sollten schwach sauer bis sauer sein (75 % der Böden in Feldbach)
- Die Bewirtschaftung sollte nicht durch zu große Feuchtigkeit, Dichtlagerung und zu große Hangneigung behindert werden

Für die Versuche im Jahr 2001 wurden interessante Flächen ausgewählt. Leider konnte für die Versuche 2001 keine entsprechende Dauerwiese (mittelintensiv ohne Ampferproblem) gefunden werden. Daher wurde die Gelegenheit ergriffen eine höher gelegene (800

m) Dauerwiese in der Obersteiermark bei Admont in Kooperation mit der BAL-Gumpenstein zu bewirtschaften. Es wurden insgesamt vier Flächen ausgewählt:

### 1.2 Versuchsfelder in den Jahren 2001 und 2002

1. Gumpensteiner Bastard – Raygraswiese – Sämereienwiese (verwendete Abkürzung: **BRG01**) (1. Schnitt nur Ertragsprobe) – 3. Schnitt Silierung
2. Klee-graswiese – Feldfutter – ÖAG-Mischung "IM" – 1. und 2. Schnitt Silierung (verwendete Abkürzung **KLG01**) (3. Schnitt nur Ertragsprobe)
3. Dauerwiese-Obersteiermark bei Admont - Buchau (verwendete Abkürzung **DW01 bzw. DWB01**) – 1. Schnitt Silierung
4. Knaulgraswiese – Sämereienwiese (verwendete Abkürzung **KG01**)

Besonders die ÖAG-Mischung IM eignet sich hervorragend für die Silierung. Der relativ hohe Anteil an Raygräsern sorgt für ein intensives Wachstum hohe Zuckergehalte (gute Silierfähigkeit). Diese ÖAG-Mischung hält in milden Lagen bei nicht zu langer Schneelage zwei Winter durch (1 bis 2 Hauptnutzungsjahre). Diese Feldfutter-Intensivwiese kann 4 bis 6 mal pro Jahr gemäht werden.



Abb. 24: Wechselwiese Klee-gras (KLG) in Auersbach, Stmk. – Rohstofflieferantin der Jahre 2001 und 2002 (Foto: Joanneum Research)

Silagen der oben beschriebenen Grünlandbiomasse wurden mit Silagestarterkulturen des IFA Tulln beimpft (ca.  $10^5$  cfu/g FM).

**Tab. 6    Verwendete Silagestarter der  
Saison 2001**

IFA-M2	Stammischung des IFA-Tulln
IFA-S3	Stammischung des IFA-Tulln

Die Gewinnung der Rohstoffe im Jahr 2001 wurde bereits ausführlich in Kromus et al. (2002) diskutiert.

Im Jahr 2002 wurde als Ergänzung zu den bewährten Flächen (Bastardraygras einer Sämereienwiese und Klee gras Wechselwiese) eine Luzernefläche in Großsteinbach (Bez. Hartberg) einbezogen. Als Starterkultur wurde das kommerziell erhältliche „BonSilage“ (ca.  $10^5$  cfu/g FM) der Firma LACTOSAN eingesetzt. Die Zusammensetzung der einzelnen Rohstoffe, mit Fokus auf die Milchsäuregewinnung, sind im Annex, Anhang C zu finden.

Es wurden für die Versuche 2002 sechs Siloballen Klee gras, 1. Schnitt und drei Siloballen Bastardraygras, 1. Schnitt erzeugt. Für die Versuche mit frischer Grünmasse wurden zwei Ballen (ca. 500 bis 600 kg FM) Luzerne, 1. Schnitt, sechs Ballen Klee gras, 2. Schnitt und drei Ballen Bastardraygras, 2. Schnitt erzeugt.

## **Anhang C**

### **Gewinnung von Milchsäure reichen Silagepresssäften in den Jahren 2001 und 2002**

#### **1 Ausgangslage**

Die Fraktionierung ist der Schlüssel zu hohen Produktausbeuten aus Grassilage. Diese Aussage bezieht sich auf die Schnittstelle feste Phase/Presssaft. Die Milchsäurefermentation findet in Anwelksilage statt und daher soll die Milchsäure möglichst quantitativ gemeinsam mit Proteinen (Aminosäuren) in den Presssaft übertragen werden.

Im bereits erwähnten Vorprojekt (Kromus et al. 2002) konnten wesentliche Technologien theoretisch erhoben und zum Teil in der Praxis erprobt werden. Diese Vorarbeiten waren die Grundlage für die Auswahl der Fraktionierungstechnologie wie sie in diesem Projekt zur Anwendung kam.

Anhand der Ergebnisse, die durch die Versuchsreihe 2001 erreicht wurden konnte ein für die Bewertung der Wirtschaftlichkeit wichtiges Ablaufschema erstellt werden (Abb. 29). Der Schwerpunkt der Auswertung wird auf die Beurteilung der Silagepressungen gelegt.

#### **2 Fraktionierung im Jahr 2001**

Aufgrund der Vorversuche im September 2000 und März 2001 (Kromus et al. 2002) konnte festgestellt werden, dass Schneckenpressen für das Auspressen von Anwelksilagen prinzipiell geeignet sind. Mit der Fa. HERNACH, einem Krenverarbeiter im Süd-Westen des Bezirks Feldbach (Grasdorf) konnte ein im Fraktionieren von Pflanzenrestmassen erfahrener Partner gefunden werden. Alle Pressversuche der Saison 2001 wurden deshalb bei der Fa. HERNACH durchgeführt.

Diese Kooperation war auch deshalb wichtig, da es für die Produktabtrennungsversuche unbedingt notwendig war entsprechende (halbtechnische) Mengen Presssaft zu erzeugen. So konnten pro Pressung bis zu 300 kg Presssaft aus Frischmasse (Grüner Saft) und Silage (Silage Saft) erzeugt werden.

Durch die wichtigen Erfahrungen dieser Pressversuche war es möglich für das Jahr 2002 bereits einen weiteren Optimierungsschritt zu gehen. Die Presstechnik liegt nun nach Ab-

schluss des Fabrik der Zukunft Projektbündels "Grüne Bioraffinerie" ausschreibungsreif vor.

Die entsprechenden Versuche wurden bereits sehr ausführlich in den Endberichten der übrigen Module des Fabrik der Zukunft Projektbündels "Grüne Bioraffinerie" dargestellt und werden daher hier nur mehr in Bezug auf die Milchsäure näher betrachtet (Koschuh et al. 2003, Wachter et al. 2003).

### **3 Milchsäurebilanz – Versuche 2001**

Prinzipiell muss betont werden, dass aus Organisations- und Kostengründen die Analytik der Feststoffe (Inputmaterial und Presskuchen) und die Analytik des Presssafts in zwei unterschiedlichen Labors durchgeführt wurde. Dies scheint der Hauptgrund dafür zu sein, dass diverse Massenbilanzen nicht immer ausgeglichen sind. Dieser „Schönheitsfehler“ hat allerdings für die praktische Technologieentwicklung nur untergeordnete Bedeutung, da eindeutige Trends feststellbar sind. Die Methodik wurde daher für die Versuche 2002 beibehalten. Als Referenzanalytik wurde die Presssaftanalytik des IFA-Tulln (S. Frühauf) herangezogen, da hier teilweise Analytik wiederholt durchgeführt wurde und die Werte annähernd konstant sind. D.h. die nicht ausgeglichenen Saldi werden primär auf ungenaue Analyseergebnisse des BAL-Gumpenstein (Bundesanstalt für Alpenländische Landwirtschaft) zurückgeführt.

Es wurden 2001 folgende Silagen abgepresst und untersucht:

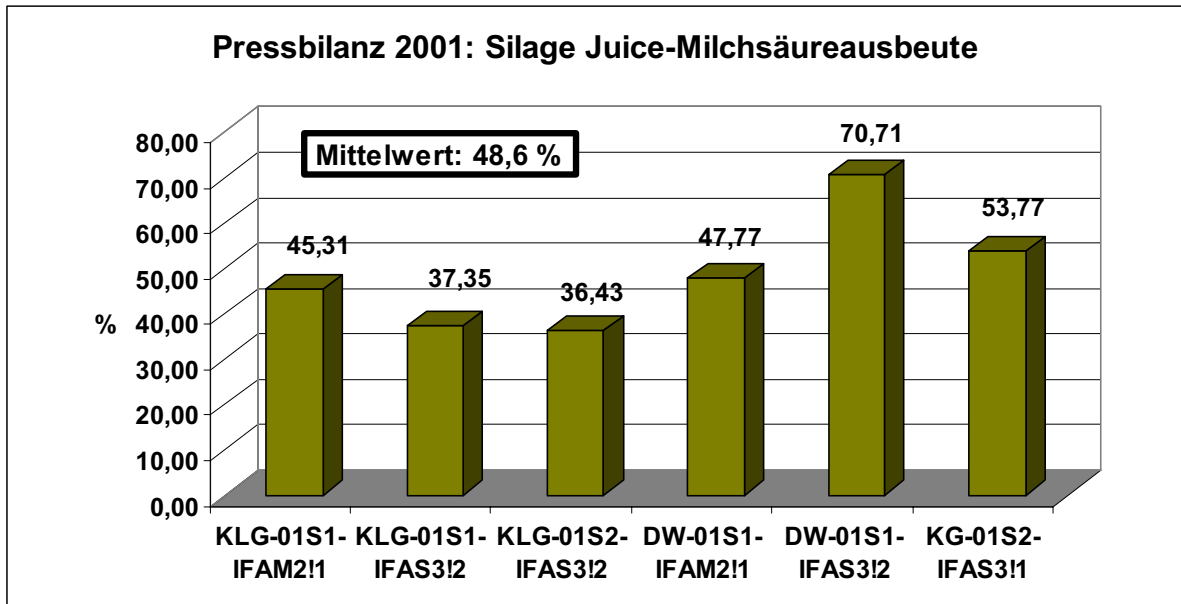
- a. KLG: Klee gras
- b. DW: Dauerwiese (aus Admont)
- c. KG: Knaut gras wiese (Sämereien wiese)
- d. BRG: Bastard Ray gras wiese (Sämereien wiese)

Für die Silagebereitung kamen Silagestarter des IFA-Tulln zum Einsatz (IFAM2 und I-FAS3). Es wurde aus dem 1. und 2. Schnitt des Jahres 2001 Silage erzeugt (Kromus et al. 2002).

Abb. 25 zeigt die Milchsäureausbeute für sechs ausgewählte repräsentative Silagen. Für drei weitere Silagepressversuche kann aufgrund von Analytikfehlern keine sinnvolle Bi-



lanz aufgestellt werden. Hier können allerdings anhand der übrigen Erfahrungswerte und der Presssaftzusammensetzung Erwartungswerte formuliert werden.



**Abb. 25: Pressbilanz 2001 – Milchsäureausbeute in % aus unterschiedlichen Ballensilagen (KLG = Klee gras, DW = Dauerwiese, KG = Knaul gras)**

Abb. 26 zeigt die durchschnittlichen Massenströme bezogen auf 1 t TM Inputmaterial (Silageinput) (vgl. Wachter et al. 2003).

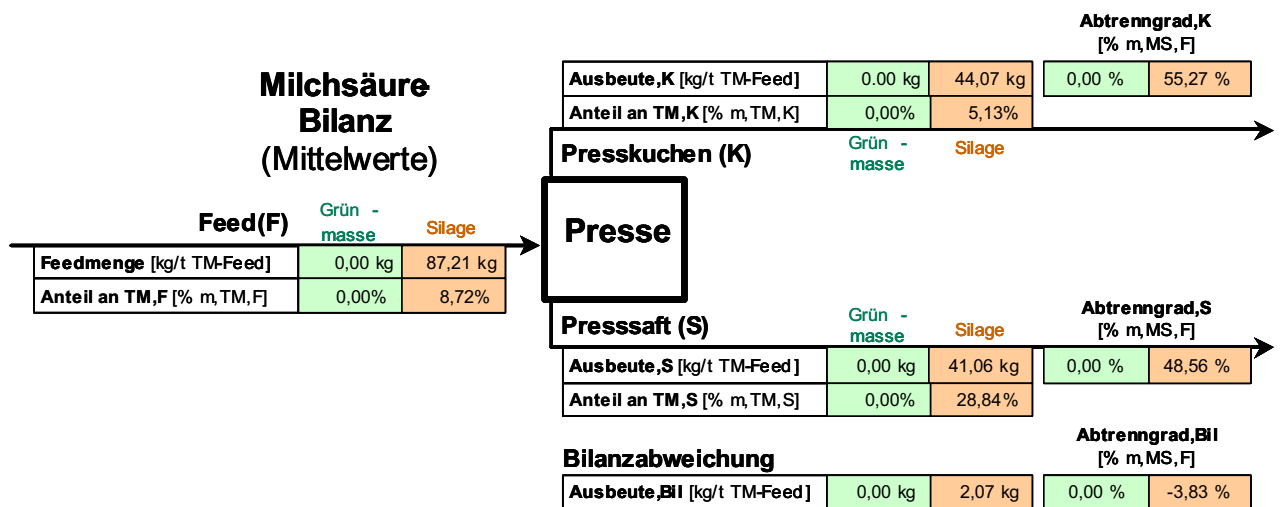


Abb. 26: Milchsäuregesamtbilanz anhand des arithmetischen Mittels (ohne Ausreißer) – Pressversuche 2001 (Wachter et al. 2003)

In Abhängigkeit der Silagetrockenmasse ergibt sich für die Milchsäurebilanz folgendes uneinheitliches Bild (Abb. 27):

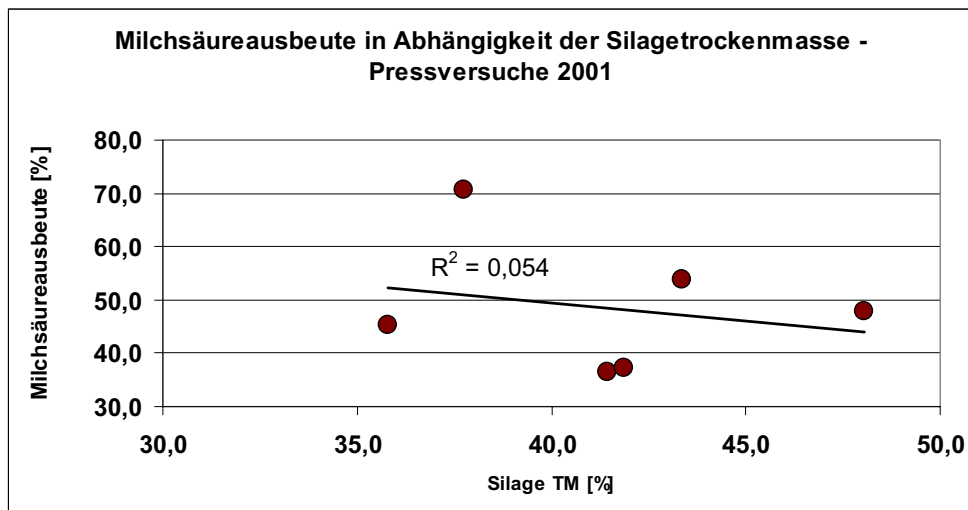
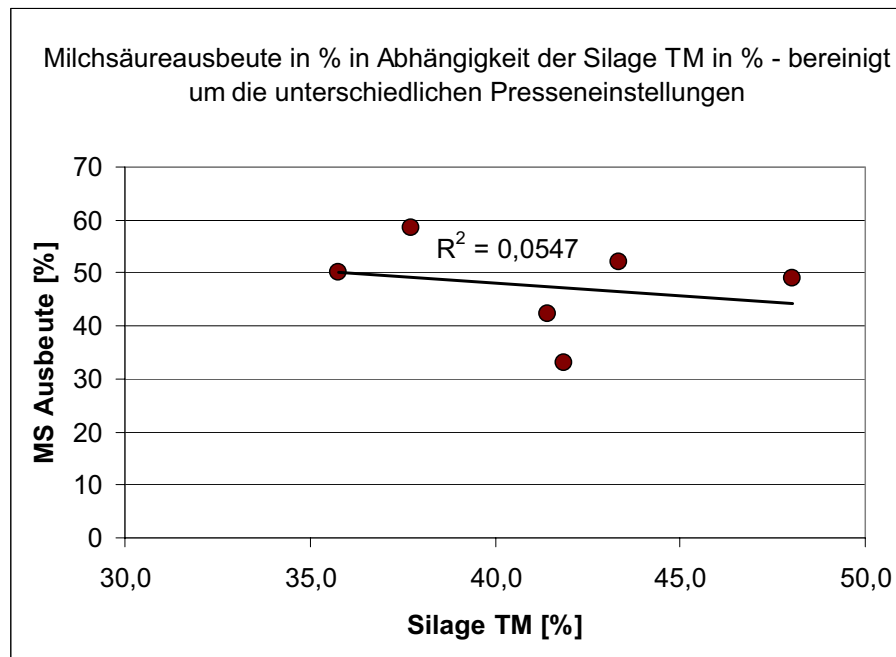


Abb. 27: Milchsäureausbeute [%] in Abhängigkeit der Silagetrockenmasse – mit linearer Trendlinie und Bestimmtheitsmaß nach Pearson (Pressversuche 2001)

Bereinigt man die Ausbeute in % um die unterschiedlichen Pressbedingungen (Gegendruck und Schneckenumdrehung) ergibt sich kein wesentlich einheitlicheres Bild für das untersuchte Silage TM % Intervall (Abb. 28).



**Abb. 28: Milchsäureausbeute in % in Abhängigkeit der Silage TM in % - bereinigt um die unterschiedlichen Presseinstellungen (Gegendruck und Schneckenumdrehung) mit linearer Trendlinie und Bestimmungsmaß nach Pearson (Pressversuche 2001)**

Im Bereich 35 bis 48 % TM der Silage kann immer mit ca. 48 % Ausbeute der Milchsäure gerechnet werden. Diese Aussage gilt natürlich primär für die verwendete Versuchspresse. Erst bei feuchteren Silagen kann davon ausgegangen werden, dass mehr Milchsäure abgetrennt werden kann. Für die Saison 2002 wurde daher feuchtere Silage erzeugt.

Um die Wirtschaftlichkeit des Projekts zu gewährleisten ist es auch erforderlich ca. 70 bis 80 % der Milchsäure in den Presssaft überzuführen. Dies kann voraussichtlich durch Doppelpressung mit Wiederbefeuchtung des ersten Presskuchens erreicht werden. Es wird auch überprüft, ob eine starke Anfeuchtung des Ausgangsmaterials (Grassilage) bereits nach der ersten Pressung befriedigende Ausbeuten erlaubt.

Besonders erwähnenswert ist daher die Bastardraygrassilage für die allerdings aufgrund zu großer Diskrepanzen zwischen den Analytikergebnissen keine Pressbilanz aufgestellt werden kann. Die getestete Silage wurde mit einem Ausgangstrockenmassegehalt von 26,4 % abgepresst. Abgesehen von der Tatsache, dass der Restzucker, der im Saft wiedergefunden wurde wesentlich reduziert war, konnte festgestellt werden, dass pro t TM Silage die größte Masse Milchsäure in den Saft übergeführt werden konnte – nämlich annähernd 72 kg. Dies würde im Falle der Annahme, dass es sich um eine sehr gute Si-

lage mit ca. 10 % Milchsäure in der TM handelt eine Ausbeute von 72 % bedeuten. Diese Tatsache lässt vermuten, dass die Milchsäureausbeute sehr stark von der Silagetrockenmasse abhängt. Die Versuche des Jahres 2002 werden zeigen, ob sich dieser Trend bestätigen lässt.

#### **4 Fraktionierung im Jahr 2002**

Anhand der Ergebnisse, die durch die Versuchsreihe 2001 erreicht wurden, kann ein für die Bewertung der Wirtschaftlichkeit wichtiges Ablaufschema erstellt werden (Abb. 29). In diesem Bericht werden die Ergebnisse, die sich auf die Gewinnung der Milchsäure beziehen dargestellt.

Die Versuche 2001 wurden als Einfachpressung durchgeführt. Anhand dieser Ergebnisse wurde unter Abwägung der Wirtschaftlichkeit beschlossen die zukünftige Strategie auf Doppelpressung (Versuche 2002) zu erweitern. Dadurch könnte auf einen vorhergehenden Zellaufschluss (Kromus et al. 2002) verzichtet werden. Diese Erkenntnis ist speziell für die Fraktionierung von Silage relevant, da die Substanzen Milchsäure und hydrolysierte Proteine gut wasserlöslich sind und angenommen werden kann, dass deren Bindung im Zellkompartiment nicht (Milchsäure) oder nur mehr teilweise (Aminosäuren) gegeben ist. Die Auswertung der Versuchsreihe Mai/Juni 2002 zeigt, dass diese Optimierungsversuche gelungen sind.

Alternativ zu dem Schema, das in Abb. 29 gezeigt wird, kann eine weitere Feinzerkleinerung des Rohmaterials auch nach der Entnahme aus dem Silo erfolgen.

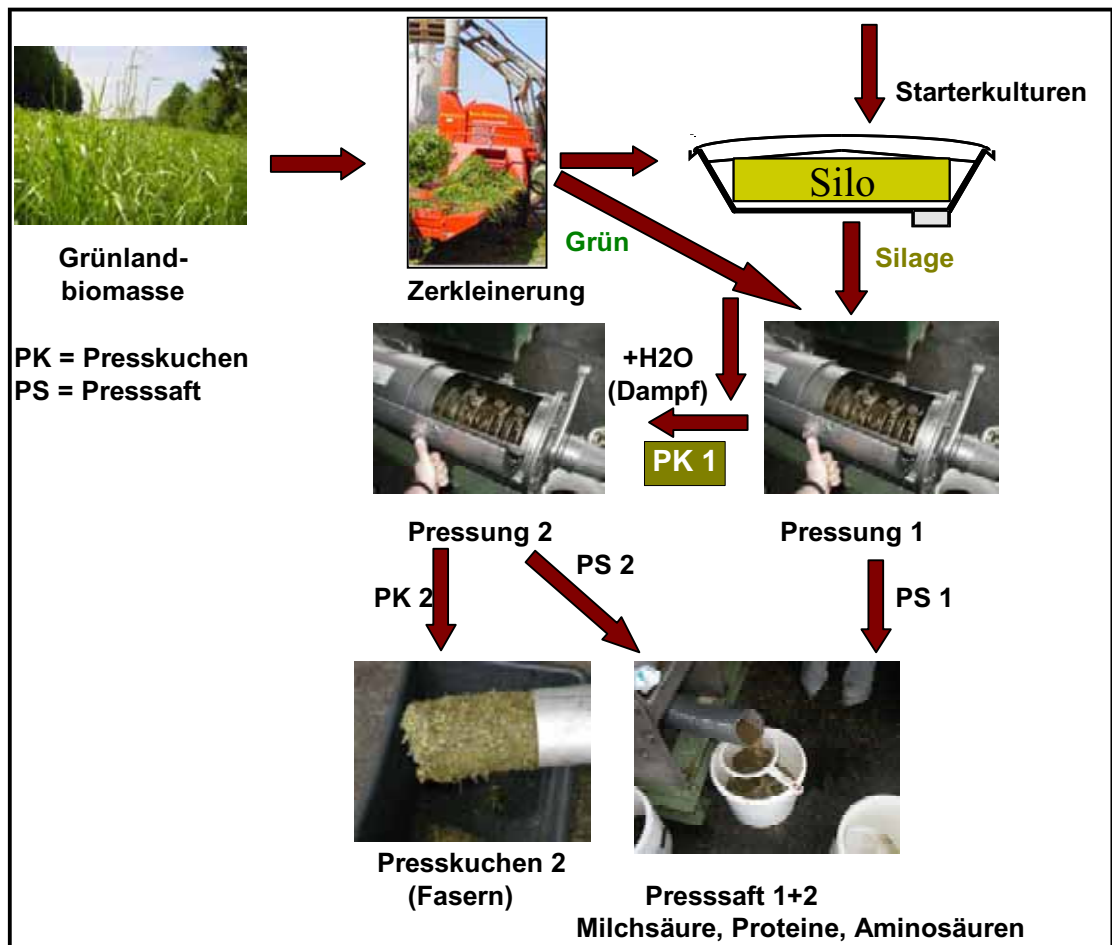


Abb. 29: Schema der Fraktionierung mit Doppelpressung

Im Projekt „Milchsäure aus Silagesäften“ wurde mit der Presskampagne 2002 im wesentlichen zwei Ziele verfolgt:

1. Signifikante Steigerung der Milchsäureausbeute vom Rohstoff in den Saft gegenüber 2001.
2. Versuche zur Doppelpressung mit teilweise Befeuchten des ersten Presskuchens mit dem Ziel die Ausbeute weiter zu steigern.

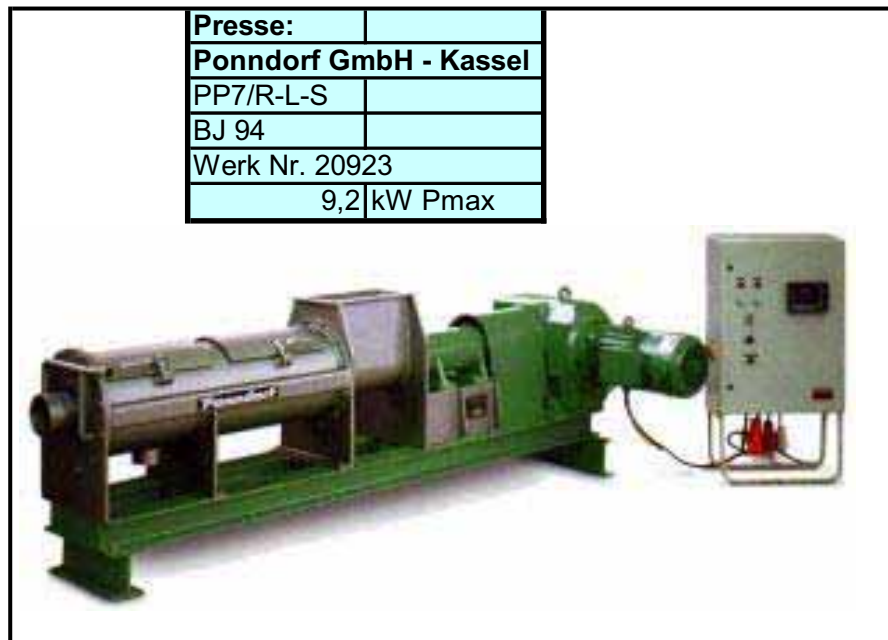
#### **4.1 Versuchsdurchführung Pressversuche 2002**

Für die Pressversuche 2002 konnte von der Fa. Ponndorf eine robuste Schneckenpresse angemietet werden. Die Presse hat eine Durchsatzleistung in Abhängigkeit des Rohstoffs bis 500 kg/h Frischmasse (FM). Die Presse PP7 (siehe Abb. 30) verfügte allerdings noch nicht über einen hydraulisch einstellbaren Pressteller, um den Gegendruck zu optimieren, sondern lediglich über ein konisches Austragsrohr, das im Verlauf der Versuche durch die Werkstätte der Fa. LACTOPROT AG weiter verjüngt wurde.

Nachdem bereits in den Vorjahren festgestellt wurde, dass Siloballenpressen im Gegensatz zu Selbstfahrhäckslern nur eine unbefriedigende Zerkleinerung des Rohstoffes „Gras“ erlauben, wurden die Rohstoffe vor dem Pressen mit einem Standhäckslers zusätzlich zerkleinert. (In einer Full-scale Anlage könnte dies wahrscheinlich entfallen.)

Die Presse wurde manuell beschickt und je nach Versuchsanforderung (Koschuh et al. 2003) entweder mit Stufe 4 (3,75 U/min. der Schneckenwelle) bzw. Stufe 8 (10,34 U/min. der Schneckenwelle) betrieben. Alle Massenströme wurden verwogen. Für die Auswertung der Massenbilanzen bzw. Errechnung der Abpressgrade (siehe Kromus et al. 2002) werden allerdings die Trockenmassewerte (TM) herangezogen. Die Wiegeergebnisse dienen lediglich zur Berechnung der Durchsatzleistung und zur Abweichungskontrolle.

Die allgemeinen Ergebnisse dieser Presskampagne wurden bereits im Endbericht des Fabrik der Zukunft Projekts "Proteine aus Grassaft" ausführlich dargestellt (Koschuh et al. 2003). Hier wird daher lediglich die Milchsäureabtrennung behandelt. Im Annex des Anhang C werden außerdem die vollständigen Massenbilanzen dargestellt.



**Abb. 30: Versuchspresse der Fa. Ponndorf (Kassel, D) – Pressversuche 2002 (Foto: Fa. Ponndorf)**

Der Silagepresssaft wurde entweder sofort Ultrafiltriert (1 kD) oder zur Lagerung eingefroren. Der Presskuchen wurde auf einem mobilen Hordentrockner getrocknet und zwischengelagert.

Generell waren die Pressversuche 2002 neben der Optimierung der Milchsäure- und Proteinausbeute auf die Erzeugung von ausreichenden Presskuchenmengen (Fasern) ausgerichtet.



**Abb. 31: Silagepresssaft der Pressversuche 2002 mit den Produkten Milchsäure und Proteine (Aminosäuren) (Foto: Kornberg Institut)**

#### **4.2 Rohstoffe für die Weiterverarbeitung – Pressversuche 2002**

Für die Erstellung der Daten im Rahmen dieses Projekts wurden folgende Rohstoffe eingesetzt:

1. Bastardraygras, 1. Schnitt, BonSilage-Silage, Abpressdatum 27.05.02, Ballen Nr. 2 (dieser Silagesaft wurde für den Ultrafiltrationsversuch 2002 mit 1 kD herangezogen) – Doppelpressung ohne anfeuchten
  - c. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/13; B02/12; B02/11
  - d. Saftprobennummern: 02/19; 02/23
  
2. Bastardraygras, 1. Schnitt, BonSilage-Silage, Abpressdatum 28.05.02, Ballen Nr. 3 – Doppelpressung mit anfeuchten
  - e. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/16; B02/15; B02/14
  - f. Saftprobennummern: 02/24; 02/25
  
3. Klee gras, 1. Schnitt, BonSilage-Silage, Abpressdatum 31.05.02, Ballen Nr. 6 – Doppelpressung mit anfeuchten
  - g. BAL-Gumpenstein Nummern: B02/22; B02/21; B02/20
  - h. Saftprobennummern: 02/26; 02/27



### 4.3 Milchsäurebilanzen Pressversuche 2002

Die Ausbeute der Milchsäure aus der Silage betrug im Mittel bei Einfachpressung 78,1 %. Dies entspricht einer **Steigerung von 61 %** gegenüber den Versuchen 2001 (Abb. 32). Durch die geänderte Versuchsdurchführung ist man den bereits im Jahr 1999 angestrebten Ausbeuten einen entscheidenden Schritt näher gekommen (vgl. Kromus et al. 2002).

Die Doppelpressung sowohl mit anfeuchten des ersten Presskuchens auf ca. 37 bis 39 % TM als auch ohne anfeuchten des ersten Presskuchens ergibt eine Ausbeutesteigerung gegenüber der Einfachpressung der Silage von 9 % auf optimale 85,0 % Milchsäureausbeute in den Saft (Abb. 33). Dies ist gegenüber 2001 eine, um 75 %, verbesserte Ausbeute.

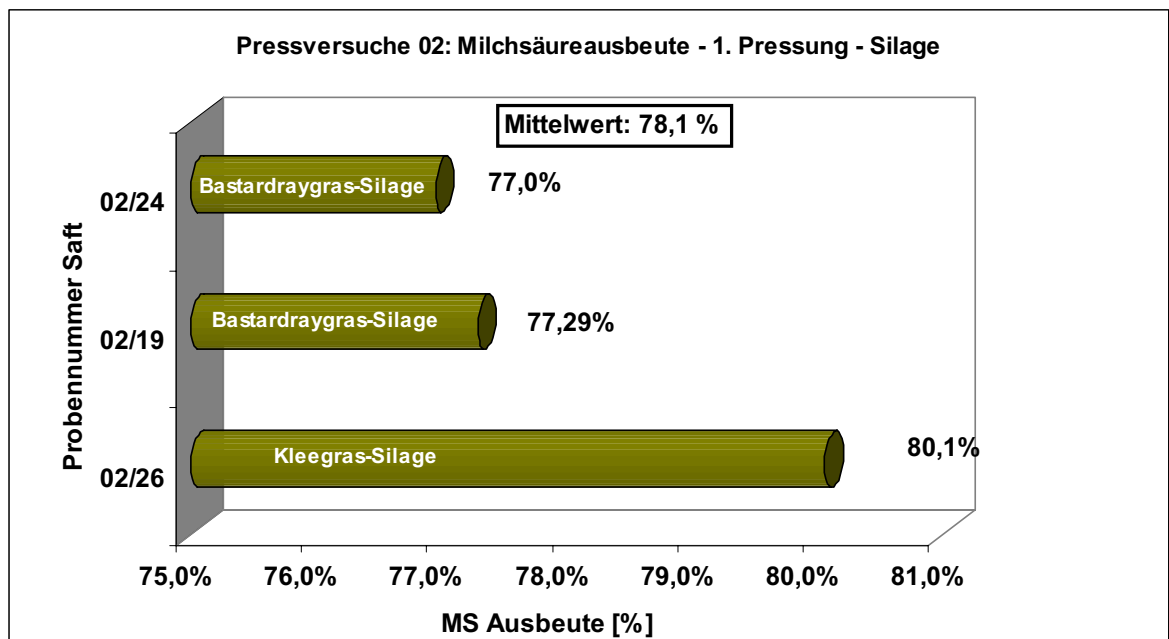
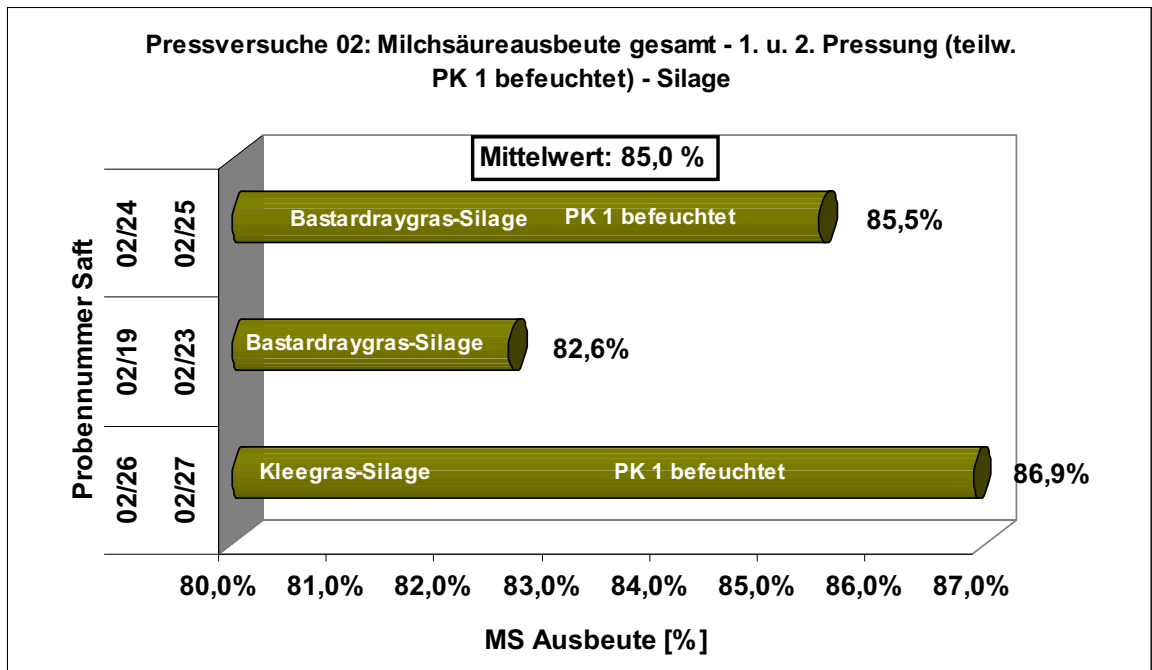


Abb. 32: Pressversuche 2002: Milchsäureausbeute (MS) – 1. Pressung – Silage



**Abb. 33: Pressversuche 2002: Milchsäureausbeute gesamt – 1. u. 2. Pressung (teilw. befeuchtet) – Silage**

Die Milchsäureausbeute von 85,0% kann als optimal angesehen werden. In weiterführenden Versuchen im Rahmen einer Pilotanlage sollte versucht werden diese Ausbeuten in kontinuierlichen Systemen stabil zu erreichen. Außerdem wäre eine Optimierung des Trockenmassegehalts im Presssaft wünschenswert (möglichst hoher TM-Gehalt), um die weiteren Abtrennungskosten durch geringeren Wassertransport niedriger zu halten.

#### 4.4 Pressbilanzen für 1000 kg Trockenmasse Input

Zusammenfassend für die Grassilage werden für die Pressversuche 2002 die Pressbilanzen dargestellt.

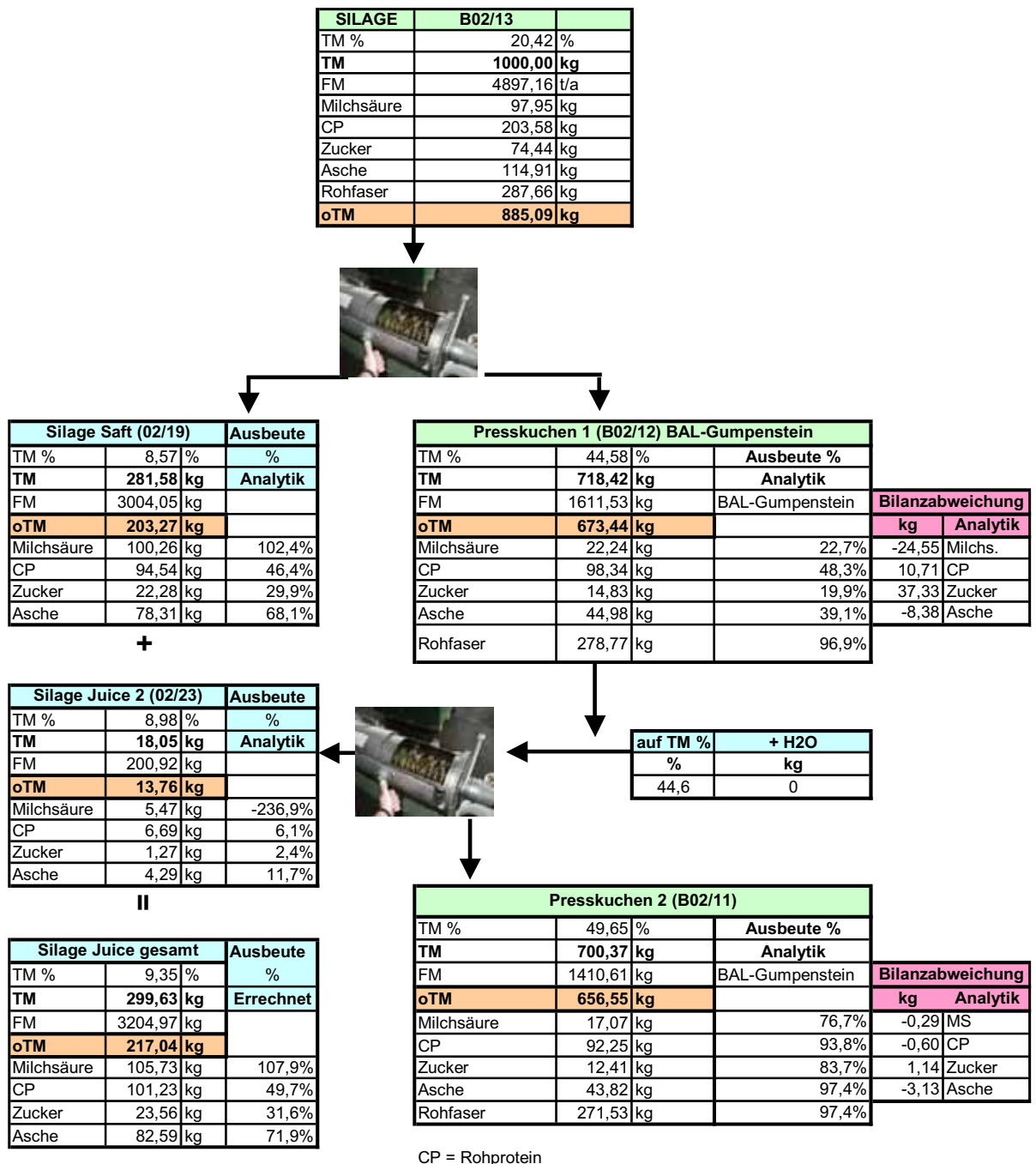


Abb. 34: Pressversuche 2002: Fraktionierungsbilanz Bastardraygras (B02/13)

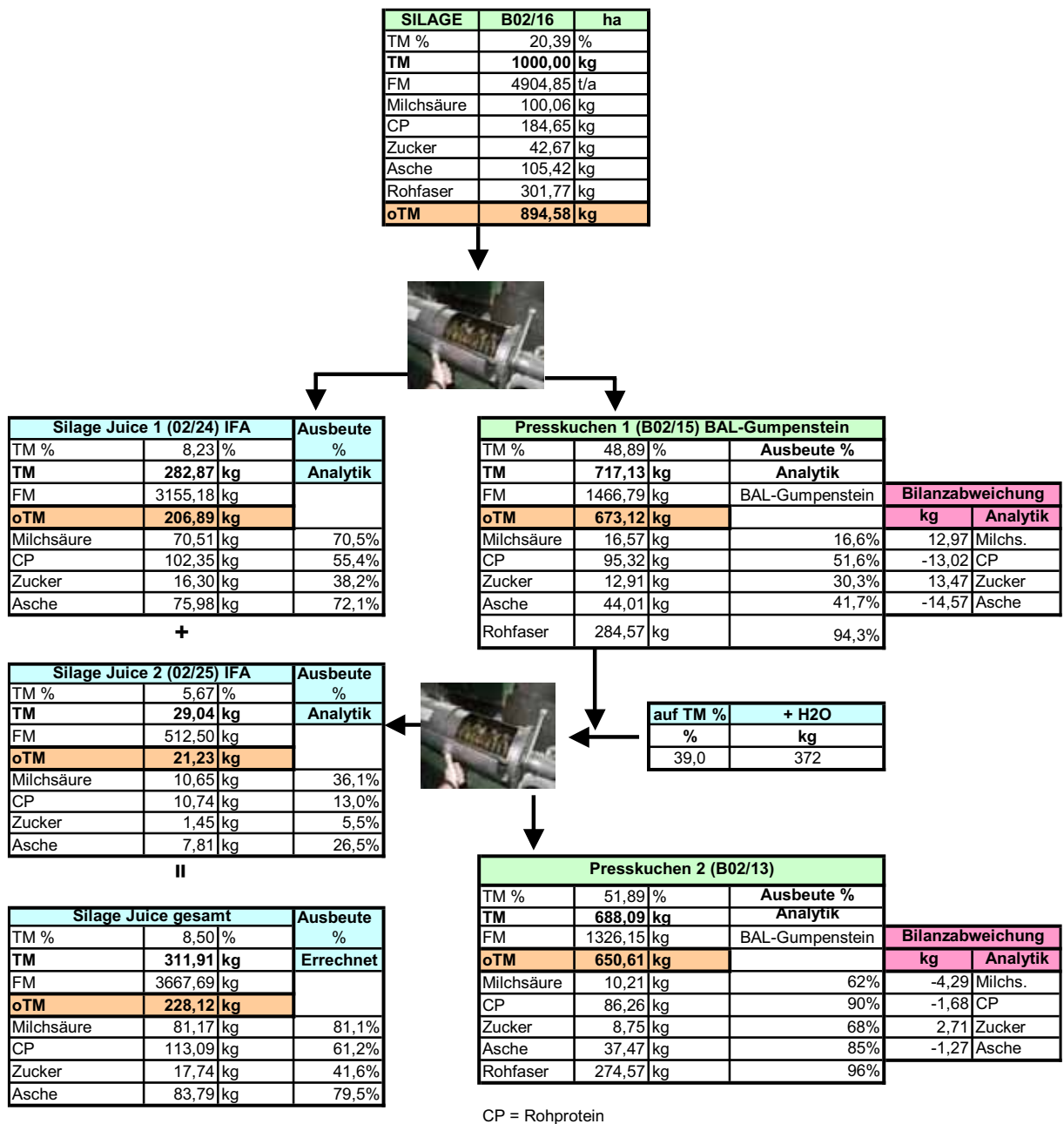


Abb. 35: Pressversuche 2002: Fraktionierungsbilanz Bastardraygras (B02/16)

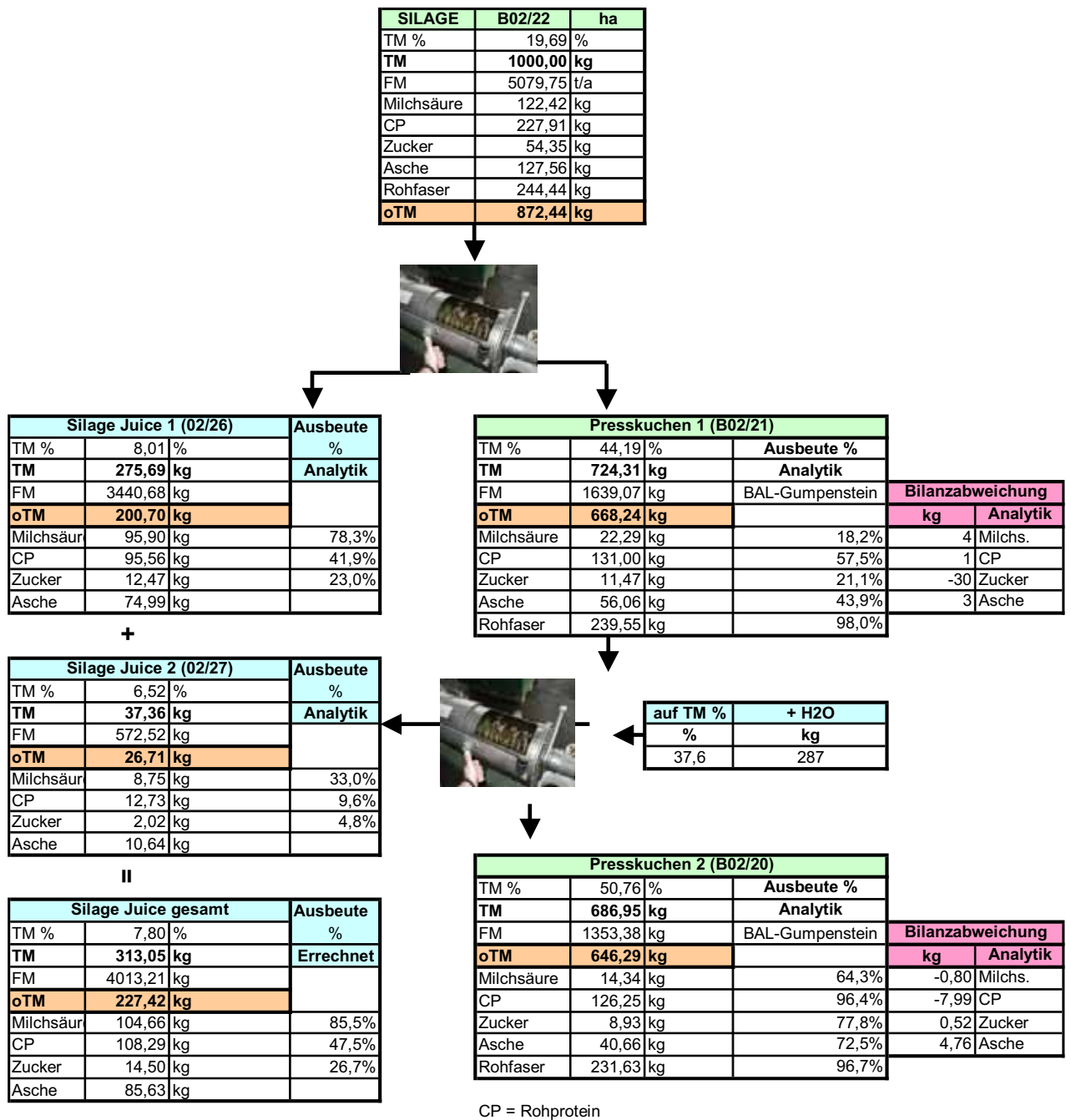


Abb. 36: Pressversuche 2002: Fraktionierungsbilanz Kleegras (B02/22)

Abb. 34 bis 36 zeigen, dass sowohl die Ausbeuten an Milchsäure als auch generell der Trockenmasse in den Saft bei der Silagefraktionierung bereits als sehr befriedigend anzusehen sind. Im Falle der Silagen sollte die Optimierung allerdings bei der ersten Pressung ansetzen (TM-Input, Zerkleinerung, Verweilzeit unter Druck).

## Annex: Anhang C

Tab. 7 Analytikergebnisse des BAL-Gumpenstein – GBR-Silageversuche 2001 – TEIL 1

Wiese	Schnitt	G/S	Silage! Ballen Nr.	TM	XA	NH4-N	XP	CP	XF	XL	Zucker	MS	ES	BS	PS	P	K	Ca	Mg	pH	IFA Nr.PS
				[g/kg FM]																	
KLGO1	1S	G		342,3	91,0	0,79	185,4	180,5	299,4	18,0	44,7	0,00	2,92	0,000	0,000	3,34	31,25	5,06	1,97	6,07	x
KLGO1	1S	S	M2!1	357,9	103,4	1,03	130,4	123,9	300,6	32,5	112,3	151,43	13,69	0,000	0,838	3,48	32,72	5,59	2,19	3,93	9/11
KLGO1	1S	S	S3!1	456,1	95,6	1,12	122,6	115,6	297,4	29,8	44,3	69,28	5,04	0,000	0,000	3,31	29,81	4,16	2,06	4,45	x
KLGO1	1S	S	S3!2	418,8	99,4	1,43	169,5	160,6	305,4	30,5	19,6	106,02	6,69	0,000	0,478	3,55	32,09	6,51	2,38	4,33	9/12
KLGO1	2S	G		179,6	90,4	0,67	167,9	163,7	305,8	18,4	160,9	0,00	3,34	0,000	0,000	3,89	29,51	5,05	2,52	6,20	9/1
KLGO1	2S	S	M2!1	380,9	105,8	1,86	86,5	74,9	297,4	32,4	45,2	0,00	217,92	0,000	0,000	3,13	31,35	6,56	2,73	4,12	9/14
KLGO1	2S	S	S3!2	414,3	102,3	1,88	128,1	116,4	294,9	33,8	62,0	79,40	8,45	0,000	0,000	3,59	30,14	5,24	2,72	4,25	9/9
DW(B)01	1S	G		289,8	65,9	0,62	102,2	98,3	376,0	28,5	101,8	25,19	6,21	0,000	0,000	2,37	19,84	2,85	1,44	4,62	9/2
DW(B)01	1S	G	0!1	494,9	68,4	1,33	147,4	139,1	307,4	34,8	86,5	50,72	7,48	0,404	0,000	2,35	20,08	4,45	2,42	4,50	x
DW(B)01	1S	SG	0!2	383,1	88,0	1,59	136,4	126,4	325,7	30,8	44,9	63,96	10,70	0,000	0,000	2,35	23,58	6,22	3,39	4,24	x
DW(B)01	1S	S	M2!1	480,3	79,1	1,25	185,0	177,2	328,0	32,6	91,0	61,62	7,70	0,000	0,000	2,73	21,18	5,96	4,29	4,26	9/10
DW(B)01	1S	SG	M2!2	476,8	73,1	1,53	97,7	88,1	342,6	38,3	10,5	55,79	5,45	0,419	0,000	2,83	23,81	4,39	1,98	4,34	x
DW(B)01	1S	S	S3!2	377,5	74,6	1,62	148,5	138,4	342,5	38,7	77,6	74,98	6,09	2,914	0,000	2,59	23,12	3,04	1,65	4,14	9/15
BRG01	1S	G		166,0	91,7	0,54	136,0	132,6	198,0	18,9	318,7	0,00	0,00	1,808	0,000	3,87	34,10	5,23	2,02	6,50	x
BRG01	3S	G		198,5	98,3	0,96	180,0	174,0	302,1	30,9	163,3	0,00	5,54	0,000	0,000	3,57	31,95	7,05	2,61	6,22	9/8
BRG01	3S	S	M2!1	299,4	97,5	1,30	190,3	182,2	299,2	35,3	70,8	0,00	260,50	0,000	0,000	2,54	32,43	6,83	2,34	3,80	1/7
BRG01	3S	S	S3!1	263,8	104,1	1,93	170,5	158,4	265,9	41,1	74,3	0,00	281,25	0,000	0,000	2,86	27,53	7,17	2,78	3,98	1/4

Tab. 8 Analytikergebnisse des BAL-Gumpenstein – GBR-Silageversuche 2001 – TEIL 2

Wiese	Schnitt	G/S	Silage! Ballen Nr.	TM	XA	NH4-N	XP	CP	XF	XL	Zucker	MS	ES	BS	PS	P	K	Ca	Mg	pH	IFA Nr.PS
KG01	2S	G		179,1	101,2	0,78	148,6	143,7	366,1	26,8	88,8	0,00	428,36	0,000	0,000	3,37	33,82	4,71	2,41	6,21	9/3
KG01	2S	S	S3!1	433,6	107,7	1,20	173,4	165,9	338,9	39,4	40,1	49,81	3,23	0,000	0,000	2,81	36,70	5,37	3,15	4,43	1/5
KG01	2S	S	S3!1	534,6	85,5	1,08	147,5	140,7	356,6	47,1	36,8	44,89	2,43	0,000	0,000	2,33	27,66	5,51	2,58	4,37	1/5
KG01	2S	S	M2!1	461,4	107,5	0,74	192,6	188,0	348,6	34,2	31,4	0,00	176,19	0,000	0,000	2,71	34,52	7,02	2,10	4,72	1/6
KLG01	3S	G		187,1	95,1	1,07	123,9	117,2	338,3	23,9	95,1	0,00	9,09	0,000	0,000	3,30	30,33	5,83	2,80	6,01	x



Tab. 9 Legende zu den Analytikergebnissen des BAL-Gumpenstein – 2001

Parameter	Beschreibung
KL01	Kleegrass und Jahr
DW(B)01	Dauerwiese Buchau und Jahr
BRG01	Bastardraygras und Jahr
G	Grün
S	Silage
Silage/Ballen	Silagestarterkultur und Siloballennummer
TM	Trockenmasse in g/kg Frischmasse (FM)
XA	Rohasche in g/kg TM
XP	Rohprotein in g/kg TM
CP	Rohprotein minus Ammonium Stickstoff (Crude Protein)
pH	pH Wert der Silage
XF	Rohfaser in g/kg TM
Zucker (Z)	Gesamtzucker in g/kg FM bzw. TM (= Wasserlösliche Kohlenhydrate)
MS	Milchsäure in g/kg FM bzw. TM
ES	Essigsäure in g/kg FM bzw. TM
BS	Buttersäure in g/kg FM bzw. TM
PS	Propionsäure in g/kg FM bzw. TM
NH4-N	Ammoniumstickstoff in g/kg FM bzw. TM
XL	Rohfett in g/kg TM
dOM	Verdaulichkeit der organischen Masse in %
NEL	Nettoenergie-Laktation in MJ/kg TM
P	Phosphor in g/kg FM bzw. TM (nur 2001)
K	Kalium in g/kg FM bzw. TM (nur 2001)
Ca	Calcium in g/kg FM bzw. TM (nur 2001)
Mg	Magnesium in g/kg FM bzw. TM (nur 2001)

**Tab. 10 Feststoffanalytik Jahr 2002 – BAL Gumpenstein**

Codierung	BAL(B)	Saft	TM_GKG	NH4_GKG	(RP_GKG)	CP2-GKG	ZUCK_GKG	MS_GKG	ES_GKG	BS_GKG	PS_GKG	pH	XF	XL	XA
BRG-070502-1S-AW-G	B02/01		208,80	0,62	228,71	225,68	102,01	0,00	0,00	0,00	0,00	6,23	254,52	21,72	113,01
KLK-070502-1S-AW-G	B02/02		197,34	0,66	217,17	213,97	111,48	0,00	2,53	0,00	0,00	5,97	235,64	19,44	116,63
BRG-080801-220502-3S-IFAM2I2-PK2	B02/03		469,10	0,45	128,53	126,35	31,55	30,27	1,92	0,00	0,00	3,80	387,80	47,51	62,04
BRG-080801-220502-3S-IFAM2I2-PK1	B02/04		461,79	0,78	138,57	134,78	35,51	39,63	2,82	0,00	0,00	3,92	384,62	50,88	69,01
BRG-080801-220502-3S-IFAM2I2-HG	B02/05		312,83	1,18	175,76	170,01	72,56	97,50	3,84	0,00	0,00	3,81	306,49	38,64	105,95
LU-230502-1S-G-PK2	B02/06	02/02	352,54	0,28	186,74	185,36	39,71	0,00	3,97	0,00	0,00	5,47	357,41	18,76	76,77
LU-230502-1S-G-PK1	B02/07	02/01	287,97	0,31	174,54	173,02	48,96	0,00	5,21	0,00	0,00	5,60	423,85	15,15	79,70
LU-230502-1S-G-HG	B02/08		194,07	0,46	199,57	197,31	64,92	0,00	17,00	0,00	0,00	5,69	352,92	16,09	102,27
LU-240502-1S-G-PK1 (gepresst Stufe 8)	B02/09	02/06	286,35	0,35	204,94	203,24	47,15	0,00	6,98	0,00	0,00	5,65	356,95	18,04	92,54
LU-240502-1S-G-HG	B02/10		216,39	0,51	203,22	200,75	62,85	0,00	16,17	0,00	0,00	5,88	329,90	17,28	111,22
BRG-070502-270502-1S-BonSI2-PK2	B02/11	02/23	496,52	0,54	134,36	131,72	17,72	24,37	2,62	0,00	0,00	4,03	387,70	55,36	62,57
BRG-070502-270502-1S-BonSI2-PK1	B02/12	02/19	445,77	0,67	140,15	136,88	20,64	30,96	2,02	0,00	0,00	4,01	388,03	54,45	62,61
BRG-070502-270502-1S-BonSI2-HG	B02/13		204,20	2,15	214,06	203,58	74,44	97,95	6,37	0,00	0,00	3,96	287,66	37,88	114,91
BRG-070502-280502-1S-BonSI3-PK2	B02/14	02/25	518,86	0,48	127,71	125,36	12,72	14,84	1,35	0,00	0,00	3,97	399,04	59,45	54,46
BRG-070502-280502-1S-BonSI3-PK1	B02/15	02/24	488,91	0,70	136,30	132,92	18,00	23,11	2,66	0,00	0,00	3,92	396,82	59,14	61,37
BRG-070502-280502-1S-BonSI3-HG	B02/16		203,88	2,21	195,38	184,65	42,67	100,06	7,36	0,00	0,00	3,94	301,77	40,37	105,42
KLK-070502-290502-1S-BonSI3-PK1	B02/17		467,22	0,68	204,66	201,33	14,13	25,26	4,71	0,00	0,00	4,11	328,07	56,36	62,39
KLK-070502-290502-1S-BonSI3-PK2	B02/18		529,67	0,51	178,94	176,46	11,14	16,43	1,89	0,00	0,00	4,17	373,09	61,28	49,89
KLK-070502-290502-1S-BonSI3-HG	B02/19		188,74	2,81	222,76	209,11	37,62	112,85	14,84	0,00	0,00	4,17	283,01	44,23	106,62
KLK-070502-310502-1S-BonSI6-PK2	B02/20	02/27	507,58	0,49	186,18	183,79	13,00	20,88	2,76	0,00	0,00	4,17	337,19	56,22	59,19
KLK-070502-310502-1S-BonSI6-PK1	B02/21	02/26	441,90	0,68	184,16	180,86	15,84	30,78	3,17	0,00	0,00	4,10	330,73	56,81	77,40
KLK-070502-310502-1S-BonSI6-HG	B02/22		196,86	2,08	238,03	227,91	54,35	122,42	11,68	0,00	0,00	4,12	244,44	41,45	127,56

Codierung	BAL(B)	Saft	TM_GKG	NH4_GKG	(RP_GKG)	CP2-GKG	ZUCK_GKG	MS_GKG	ES_GKG	BS_GKG	PS_GKG	pH	XF	XL	XA
BRG-030602-2S-G-PK1	B02/23		356,69	0,28	165,17	163,81	97,28	0,00	1,40	0,56	0,00	5,57	357,59	25,43	66,88
BRG-030602-2S-G-HG	B02/24		174,96	0,69	178,07	174,74	124,03	37,15	14,86	0,00	0,00	4,43	317,01	19,79	95,29
BRG-040602-2S-G-PK2	B02/25	02/12	490,12	0,27	146,96	145,67	20,61	24,08	6,12	0,00	0,00	4,12	389,33	27,53	55,82
BRG-040602-2S-G-PK1	B02/26	02/08	356,42	0,36	134,22	132,45	45,73	29,46	8,14	0,00	0,00	4,12	371,60	22,64	63,32
BRG-040602-2S-G-HG	B02/27		212,24	0,71	159,51	156,07	122,03	32,98	8,95	0,00	0,00	5,07	323,09	20,67	88,06
KLK-050602-2S-G-PK1-B2	B02/28		278,41	0,47	209,74	207,47	39,15	33,40	13,29	0,00	0,00	4,45	319,70	24,63	82,44
KLK-050602-2S-G-HG-B2	B02/29		176,95	0,62	208,17	205,15	69,51	32,78	9,04	0,00	0,00	5,27	263,87	20,22	101,40
KLK-050602-S2-G-PK1	B02/30		306,58	0,46	174,60	172,38	50,23	25,77	7,18	0,00	0,00	4,49	333,94	24,55	72,25
KLK-050602-S2-G-HG	B02/31		172,75	0,64	174,20	171,11	129,66	23,73	8,68	0,00	0,00	5,54	271,11	23,56	97,33
Weizengras-060602-G-PK2	B02/32	FA7/10	479,77	0,58	167,81	164,97	17,09	0,00	3,13	0,00	0,00	6,06	311,02	56,79	92,94
Weizengras-060602-G-PK1	B02/33		435,91	0,78	164,47	160,68	23,17	0,00	3,90	0,00	0,00	5,87	310,43	53,72	92,45
KLK-070502-070602-1S-BonS11-PK2	B02/34		491,05	0,55	174,36	171,69	8,35	13,44	3,26	0,00	0,00	4,35	341,81	59,79	55,74
KLK-070502-070602-1S-BonS11-PK1	B02/35		462,34	0,76	174,34	170,66	12,33	22,93	3,03	0,00	0,00	4,24	339,55	59,49	57,16
KLK-070502-070602-1S-BonS11-HG	B02/36		186,06	2,90	232,20	218,09	27,95	107,49	14,51	0,00	0,00	4,23	356,82	47,44	113,22
KLK-070502-080602-1S-BonS15-PK1	B02/37		401,09	1,17	195,13	189,43	11,47	38,89	5,49	0,00	0,00	4,07	315,09	58,87	65,11
KLK-070502-080602-1S-BonS15-HS	B02/38		224,89	2,27	219,28	208,25	25,79	99,16	16,01	0,00	0,00	4,05	253,99	43,45	112,35
KLK-070502-100602-1S-BonS12-PK1	B02/39		486,21	0,88	188,78	184,48	12,34	29,41	6,17	0,00	0,00	4,08	308,04	54,60	59,15
KLK-070502-100602-1S-BonS12-HG	B02/40		219,40	2,51	145,41	133,22	30,54	109,84	14,59	0,00	0,00	3,99	264,32	41,88	106,30
BRG-110602-2S-G-PK2	B02/41	02/15	600,26	0,20	137,12	136,14	20,49	10,83	4,00	0,00	0,00	4,71	333,51	25,45	96,82
BRG-110602-2S-G-PK1	B02/42	02/13	448,79	0,31	137,99	136,48	82,67	6,24	4,90	0,45	0,00	5,39	343,12	19,00	76,20
BRG-110602-2S-G-HG	B02/43		249,16	0,64	148,44	145,31	131,24	18,86	9,63	0,80	0,00	5,19	308,85	18,55	95,58
KLK-120602-2S-G-PK1-B2	B02/44		394,46	0,35	165,02	163,30	33,72	23,32	6,84	0,00	0,00	4,35	325,21	21,67	67,49
KLK-120602-2S-G-HG-B2	B02/45		253,45	0,55	166,34	163,66	68,26	35,90	15,39	0,00	0,00	4,45	286,47	18,40	100,32
KLK-120602-2S-G-PK1	B02/46		392,49	0,23	151,54	150,43	80,00	9,94	3,31	0,00	0,00	5,42	307,03	19,81	71,67
KLK-120602-2S-G-HG	B02/47		248,38	0,36	150,16	148,40	129,24	0,00	4,43	0,00	0,00	5,86	282,10	15,33	96,57

Codierung	BAL(B)	Saft	TM_GKGNH4	GKG	(RP_GKG)	CP2-GKG	ZUCK_GKG	MS_GKG	ES_GKG	BS_GKG	PS_GKG	pH	XF	XL	XA
KLK-130602-2S-G-PK2-B1	B02/48	02/17	484,39	0,08	150,85	150,45	38,40	0,00	2,48	0,62	0,00	6,13	341,38	22,34	56,17
KLK-130602-2S-G-PK1	B02/49	02/16	339,24	0,15	134,22	133,51	89,91	0,00	3,54	2,06	0,00	5,97	354,69	18,76	67,27
KLK-130602-2S-G-PK1 (gepresst Stufe 8)	B02/50		351,24	0,17	133,40	132,57	50,96	20,21	7,97	1,42	0,00	4,58	358,19	21,70	66,91
KLK-130602-2S-G-HG	B02/51		163,46	0,24	164,64	163,45	108,28	0,00	11,01	3,67	0,00	5,67	290,10	19,17	93,08

<b>Legende:</b>
BRG=Bastardraygras
KLK=Klee/Gras
LU=Luzerne
Bsp.: 080801=Datum1=Ernte nur Datum1 - Ernte- = Pressdatum
Bsp.: 220502=Datum2=Pressdatum
Bsp.: 1S = Schnitzzahl der Vegetationsperiode
IFAM2 bzw. BonS = Starterkultur für die Silierung
Bsp.: !2 = Ballen Nr. 2
HG = Häckselgut
PK1 = Presskuchen 1
PK2 = Presskuchen 2 (Presskuchen 1 wurde noch einmal ausgepresst)
B2 = 2. Rundballen am selben Presstag
AW = Grün-angewelkt vor Silierung
G = Grün (nicht siliert)
TM = Trockenmasse
NH4 = Ammonium
RP = Rohprotein
CP = Rohprotein minus Ammonium (Crude Protein)
Alle Angaben bezogen auf g/kg TM

**Zusammenfassung – Fraktionierung 2001**

**Tab. 11 Pressversuche 2001 Zusammenfassung der  
Ergebnisse für Grünmasse und Silage**

Gras/Silage	Masse PS/Masse Input	TM	TM PK	TM PS	Abpress- grad	% TM Saft d. TM Input	% TM Saft d. FM Input
KLG-01S1-G	0,59	16,20	31,11	5,88	66,37	21,50	3,50
KLG-01S2-G	0,61	17,96	38,13	5,14	70,70	17,50	3,10
DW-01S1-G	0,42	28,98	45,09	7,08	55,45	10,40	3,00
BRG-01S3-G	0,46	24,95	39,74	7,81	56,90	14,50	3,60
KG-01S2-G	0,54	20,60	39,32	4,42	64,57	15,10	2,70
<b>Mittelwerte Grün oh- ne Ausreißer</b>	<b>0,53</b>	<b>21,74</b>	<b>38,68</b>	<b>6,07</b>	<b>62,80</b>	<b>15,80</b>	<b>3,18</b>
KLG-01S1-IFAM2!1	0,42	35,79	50,36	15,79	55,27	18,60	6,70
KLG-01S1-IFAS3!2	0,29	41,88	51,14	19,17	40,28	13,30	5,60
KLG-01S2-IFAM2!1	0,31	38,09	47,96	15,60	41,58	12,50	4,80
KLG-01S2-IFAS3!2	0,27	41,43	50,05	17,77	37,49	11,50	4,70
DW-01S1-IFAM2!1	0,26	48,03	57,67	20,25	39,53	10,90	5,20
DW-01S1-IFAS3!2	0,44	37,75	55,26	15,06	59,43	17,40	6,60
BRG-01S3-IFAM2!1	0,47	29,94	46,07	11,96	59,42	18,90	5,70
BRG-01S3-IFAS3!1	0,56	26,38	45,59	11,57	67,83	24,80	6,50
KG-01S2-IFAS3!1	0,28	43,36	53,46	17,62	40,99	11,50	5,00
<b>Mittelwerte Silage ohne Ausreißer</b>	<b>0,37</b>	<b>38,07</b>	<b>50,84</b>	<b>16,09</b>	<b>49,09</b>	<b>15,49</b>	<b>5,64</b>

**Abb. 37: Pressversuche 2001 – Zusammenfassung der Ergebnisse für  
Grünmasse und Silage**

<b>Gras/Silage</b>	<b>Ausbeute CP</b>	<b>Ausbeute MS</b>	<b>Ausbeute Asche</b>	<b>Ausbeute. Zucker</b>
KLG-01S1-G	21,06x		123,05	200,98
KLG-01S2-G	25,98x		55,95	34,72
DW-01S1-G	28,23	9,59	33,64	22,66
BRG-01S3-G	19,52x		43,50	40,91
KG-01S2-G	15,55x		50,81	30,60
<b>Mittelwerte Grün ohne Ausreißer</b>	<b>22,07x</b>		<b>45,98</b>	<b>32,22</b>
KLG-01S1-IFAM2!1	31,98	45,31	49,63	43,54
KLG-01S1-IFAS3!2	18,13	37,35	35,64	264,15
KLG-01S2-IFAM2!1	57,81x		35,83	30,09
KLG-01S2-IFAS3!2	29,89	36,43	32,80	26,29
DW-01S1-IFAM2!1	13,16	47,77	31,24	39,46
DW-01S1-IFAS3!2	29,97	70,71	53,62	63,08
BRG-01S3-IFAM2!1	25,58x		120,42	32,70
BRG-01S3-IFAS3!1	47,04x		65,12	34,87
KG-01S2-IFAS3!1	19,02	53,77	41,94	30,17
<b>Mittelwerte Silage ohne Ausreißer</b>	<b>26,85</b>	<b>48,6</b>	<b>43,23</b>	<b>37,52</b>

**Zusammenfassung – Fraktionierung 2002 (Milchsäure)****Tab. 12 Zusammenfassung Milchsäureausbeute aus Silage der Fraktionierungsversuche 2002**

BAL (B)	Saft	TM Fest [%]	TM PK1 angefeuchtet bzw. bedampft [%]	TM Saft [%]	Abpressgrad [%]	TMSaft zu TM Input [%]	TM Saft zu FM Input [%]	FM Saft zu FM Input [%]	MS-Ausbeute im Saft err. Anhand Input u. Saft-Werten	MS-Ausbeute im Saft err. anhand Feststoff	Mittel-MS-Ausbeute	MS-Gesamtausb.	Steigerung durch Doppelpress.
B02/13		20,4											
B02/12	02/19	44,6		8,6	77,1	28,2	5,7	67,1	102,36%	77,29%	kein MW		
B02/11	02/23	49,7		9,0	20,5	2,5	1,1	12,5	-236,87%	23,26%	kein MW	82,6%	6,8%
B02/16		20,4											
B02/15	02/24	48,9	39,0	8,2	80,8	28,3	5,8	70,1	70,47%	83,44%	77,0%		
B02/14	02/25	51,9		5,7	43,1	4,0	1,6	27,9	36,06%	38,39%	37,2%	85,5%	11,0%
B02/22		19,7											
B02/21	02/26	44,2	37,6	8,0	77,6	27,6	5,4	67,7	78,34%	81,79%	80,1%		
B02/20	02/27	50,8		6,5	44,5	5,2	1,9	29,7	33,01%	35,66%	34,3%	86,9%	8,5%
<b>Mittel</b>		<b>20,2</b>											
<b>Mittel</b>		<b>45,9</b>	<b>40,4</b>	<b>8,3</b>	<b>78,5</b>	<b>28,0</b>	<b>5,6</b>	<b>68,3</b>			<b>78,1%</b>		
<b>Mittel</b>		<b>50,8</b>		<b>7,1</b>	<b>36,0</b>	<b>3,9</b>	<b>1,5</b>	<b>23,4</b>			<b>31,6%</b>	<b>85,0%</b>	<b>9%</b>

## Anhang D Aufbereitung der Silagesäfte - Nachfermentation

### 1 Nachfermentation

Aufgrund des hohen Zuckergehalts der Presssäfte im Jahr 2001 wurde untersucht inwieweit sich vorhandene Zucker durch Nachfermentation in zusätzliche Milchsäure umwandeln lassen. Für diese Versuchsreihe wurde ein repräsentativer Saft mit relativ hoher Milchsäurekonzentration und hoher Zuckerkonzentration der Saison 2001 gewählt. Der Saft wurde deshalb gewählt, um herauszufinden, ob die bereits im Saft befindliche Milchsäure die Fermentation hemmen würde und inwieweit die Zucker umwandelbar sind. Es handelte sich um Presssaft auf Klee-grassilage, 1. Schnitt mit IFAM2 Bakterien angeimpft (Saft 01/44) (Abb. 38).

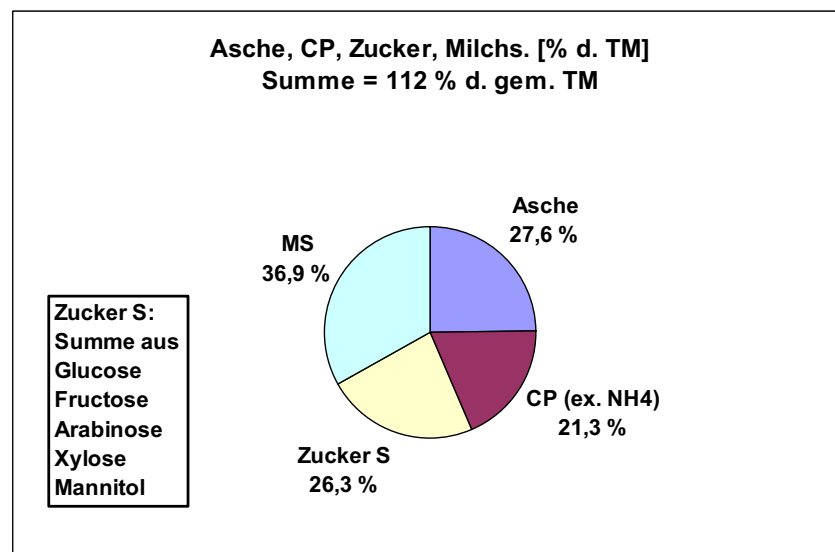


Abb. 38: Zusammensetzung des Silagepresssaftes für Nachfermentationsversuche (Klee-grassilage, 1. Schnitt, IFAM2 Bakterien) (01/44)

Der Saft wurde sterilisiert und mit 4 N NaOH auf pH 6,5 eingestellt und mit *L.rhamnosus* IFA590 in einer „pH-Stat“ Anlage fermentiert. Je Ansatz wurden 450 ml Silagesaft und 50 ml Inokulum verwendet.

Es wurden 6 Versuche angesetzt, wobei sich bei allen der Milchsäuregehalt von etwa 50 g/l auf 70 g/l erhöhte. Versuch Nr. 3 wurde nur zu Beginn neutralisiert (pH 6,5), aber der pH wurde während der Fermentation nicht geregelt. Dieser Ansatz benötigte zwar



mehr Zeit (115,5 h) , aber es wurde in etwa dieselbe Menge an Milchsäure gebildet, eventuell wäre daher gar keine pH-Regelung notwendig.

Bei Versuch 1, 2, 4, 5, und 6 war die Fructose bereits nach 42,25 Stunden vollständig abgebaut. Die gemessene Glucose wurde gesamt nur zu ca. 80 % abgebaut. Pentosen (Arabinose) wurde nur zu einem geringeren Teil (60 % nach 115,5 h) abgebaut. Es kann davon ausgegangen werden, dass das Medium trotz bereits relativ hohem Milchsäuregehalt ohne Zuschlagstoffe gut fermentierbar ist und Produktinhibition voraussichtlich keine oder eine untergeordnete Rolle spielt.

Generell kann gesagt werden, dass die Nachfermentation eine interessante Möglichkeit der Saftvorreinigung darstellt, da die C6-Zucker zu mindestens 80 % abgebaut werden können und der Milchsäurezugewinn je nach Zuckergehalt des Presssaftes bis zu 40 % betragen kann. Die Versuche sind daher zunächst als ausreichend für die Wirtschaftlichkeitsbewertung anzusehen. Im Falle einer Umsetzung müssten allerdings Untersuchungen zur Kinetik und zur Möglichkeit der kostengünstigeren unsterilen Fermentation ohne pH-Regelung untersucht werden.

**Fermentation pH-Stat:**

17.04.-22.04.2002

Inokulum: *L. rhamnosus* IFA590 auf MRS-Medium  
100 µl aus Kryovial in 20 ml MRS-Medium, 24 h bei 35°C  
Überimpft: 2 ml in 400 ml MRS-Medium =>nach 20 h als Inokulum verwendet

Medium: Silagepresssaft KLG-01S1-IFAM2!1-PS, mit 4N NaOH auf pH 6,5 eingestellt  
je Ansatz 450 ml + 50 ml Inokulum (steril)

Temperatur: 37°C

pH: Start: 6,5 pH-Kontrolle erfolgt durch Zugabe von 4N NaOH  
nach 2 h: 5,0 bei ferm03 keine pH-Kontrolle (Pumpe funktioniert nicht)  
nach 20,5 h: 6,8  
nach 49,7 h: 6,9

	Glucose [g/l]	Fructose [g/l]	Arabinose [g/l]	Milchsäure [g/l]	Essigsäure [g/l]	Ethanol [g/l]
Ausgangsmaterial	12,962	24,168	2,365	54,441	2,377	0,605
nach Neutralisation	11,813	22,147	2,046	50,160	2,141	0,595

ferm01	Zeit [h]	Glucose [g/l]	Fructose [g/l]	Arabinose [g/l]	Milchsäure [g/l]	Essigsäure [g/l]	Ethanol [g/l]	
	0	1,25	8,650	17,042	2,329	49,675	3,882	0,769
	1	2,58	8,510	16,895	2,340	49,955	3,759	0,681
	2	17,88	5,338	13,907	2,298	58,461	3,931	0,746
	3	27,30	2,491	5,132	1,721	59,715	3,587	0,827
	4	42,25	2,529	0,000	1,138	70,471	3,320	0,981
	5	49,70	2,440	0,000	0,934	70,014	3,180	1,067
	6	66,83	2,611	0,000	0,942	72,321	3,388	
	7	115,50	2,451	0,000	0,737	69,863	3,473	0,895

ferm02	Zeit [h]	Glucose [g/l]	Fructose [g/l]	Arabinose [g/l]	Milchsäure [g/l]	Essigsäure [g/l]	Ethanol [g/l]	
	0	1,25	8,693	17,129	2,189	50,131	3,967	0,844
	1	2,58	8,175	16,325	2,229	48,229	3,597	0,556
	2	17,88	4,882	12,931	2,303	54,924	3,722	0,690
	3	27,30	2,669	4,957	1,883	63,843	3,810	
	4	42,25	2,457	0,000	1,002	69,599	3,252	0,982
	5	49,70	2,427	0,000	0,935	69,978	3,226	1,176
	6	66,83	2,327	0,000	0,861	67,243	3,035	
	7	115,50	2,386	0,000	0,696	68,400	3,400	0,691

ferm 03*	Zeit [h]	Glucose [g/l]	Fructose [g/l]	Arabinose [g/l]	Milchsäure [g/l]	Essigsäure [g/l]	Ethanol [g/l]	
	0	1,25	8,673	17,024	2,238	49,735	3,759	0,879
	1	2,58	8,446	16,653	2,238	48,929	3,767	0,638
	2	17,88	6,435	14,608	2,331	52,764	3,780	0,840
	3	27,30	5,201	13,046	2,297	57,989	3,819	0,874
	4	42,25	3,163	9,371	2,139	62,215	3,892	0,636
	5	49,70	2,643	7,935	1,973	62,781	3,870	0,721
	6	66,83	2,670	4,223	2,086	67,696	3,786	
	7	115,50	2,420	0,000	1,959	68,909	4,082	0,595

ferm 04	Zeit [h]	Glucose [g/l]	Fructose [g/l]	Arabinose [g/l]	Milchsäure [g/l]	Essigsäure [g/l]	Ethanol [g/l]	
	0	1,25						
	1	2,58	8,498	17,024	2,240	49,850	3,734	0,780
	2	17,88	5,710	13,865	2,116	52,988	3,629	0,821
	3	27,30	2,733	8,745	2,013	60,858	3,808	0,671
	4	42,25	2,644	0,000	1,708	69,163	3,712	0,711
	5	49,70	2,675	0,000	1,666	70,748	3,740	0,890
	6	66,83	2,646	0,000	1,184	73,551	3,748	0,779
	7	115,50	2,555	0,000	0,993	71,451	3,644	0,795

ferm 05	Zeit [h]	Glucose [g/l]	Fructose [g/l]	Arabinose [g/l]	Milchsäure [g/l]	Essigsäure [g/l]	Ethanol [g/l]	
	0	1,25						
	1	2,58	8,265	16,423	2,210	48,600	3,646	0,554
	2	17,88	4,768	12,618	2,096	53,678	3,633	0,693
	3	27,30	2,648	4,735	1,860	62,986	3,743	0,805
	4	42,25	2,478	0,000	1,008	70,596	3,239	1,059
	5	49,70	2,364	0,000	0,921	67,746	3,160	0,937
	6	66,83	2,459	0,000	0,897	70,854	3,326	1,002
	7	115,50	2,426	0,000	0,632	69,488	3,582	0,842

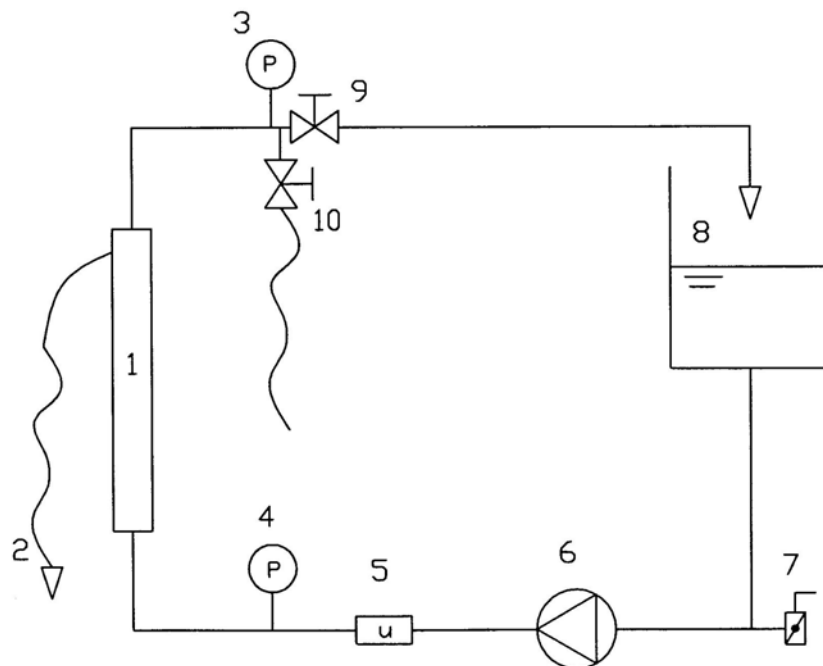
ferm 06	Zeit [h]	Glucose [g/l]	Fructose [g/l]	Arabinose [g/l]	Milchsäure [g/l]	Essigsäure [g/l]	Ethanol [g/l]	
	0	1,25	8,809	17,289	2,225	50,557	3,774	0,848
	1	2,58	8,842	17,536	2,366	51,683	3,849	0,630
	2	17,88	4,941	12,845	2,091	53,870	3,594	0,784
	3	27,30	2,631	5,215	1,857	61,717	3,682	0,599
	4	42,25	2,390	0,000	1,029	67,415	3,157	0,925
	5	49,70	2,450	0,000	0,957	69,960	3,243	1,116
	6	66,83	2,455	0,000	0,907	69,988	3,427	0,911
	7	115,50	2,483	0,000	0,647	70,503	3,641	0,798

## Anhang E

### Vorreinigung der Milchsäure durch Ultrafiltration

#### 1 Methode

Ultrafiltrationsversuche dienen ebenfalls zur Abschätzung der Möglichkeiten der Vorreinigung der Silagepresssäfte. Im Falle der Silageverarbeitung dient die Ultrafiltration nicht nur der Abtrennung der Proteine (Retentat), sondern auch der Vorreinigung der Milchsäure (Permeat). Die Kosten dieser Versuche werden zu 50 % durch das FdZ Projekt „Proteine aus Grassäften“ getragen. Die Ergebnisse wurden im entsprechenden Endbericht bereits präsentiert (Koschuh et al. 2003). Die UF Versuche wurden mit einer angemieteten Technikumanlage der Universität für Bodenkultur durchgeführt. Wesentlich ist, dass die dabei eingesetzten Ultrafiltrationsmembrane identisch mit jenen in Großanlagen eingesetzt sind. Die dabei gewonnen Erkenntnisse lassen sich daher auf Großanlagen umlegen.



**Abb. 39:** Ultrafiltrationsanlage, UF Modul mit Tamimembran, 0,35 m<sup>2</sup>; 1 - UF-Modul, 2 - Permeatabfluss, 3 – Manometer Membranausgang, 4 – Manometer Membraneingang, 5 – Durchflusszähler, 6 – Drehzahlregelbare Pumpe, 7 – Entleerungsklappe, 8 – Behälter, 9 – Drosselventil, 10 – Probenentnahme

## 2 Ultrafiltration

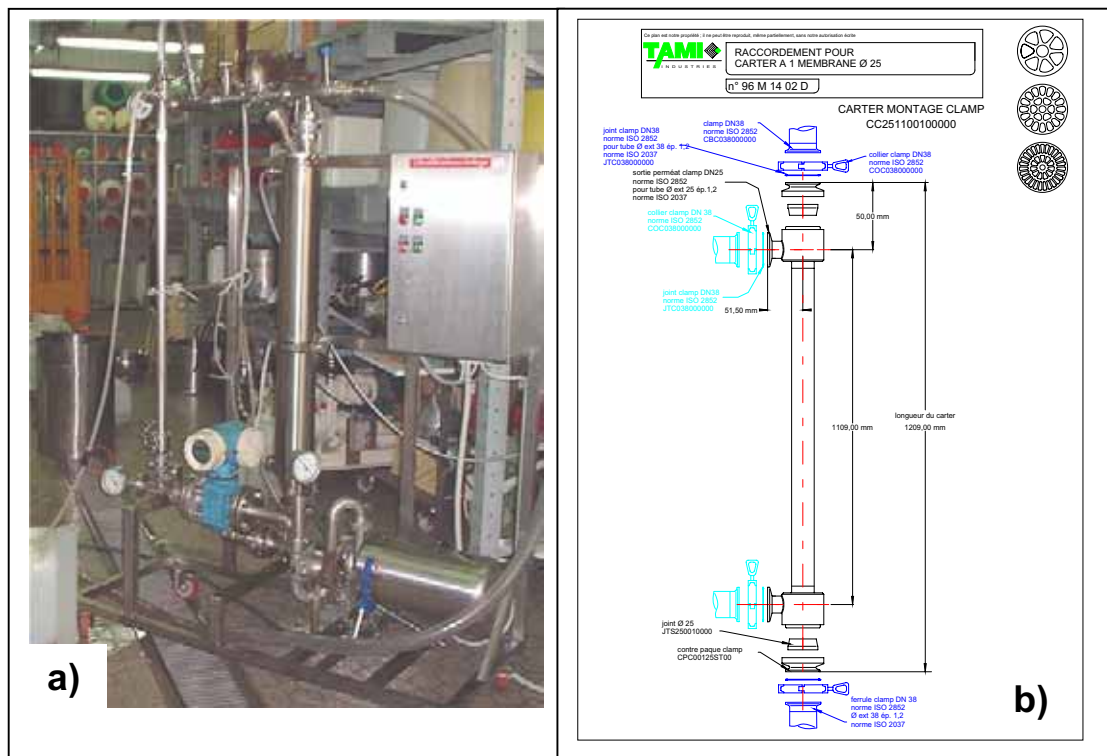
Die Ergebnisse zu Ultrafiltrationsversuchen mit Silagepresssaft wurden bereits im Fabrik der Zukunft Endbericht „Proteine aus Grassäften“ (Koschuh et al. 2003) ausführlich dargestellt. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Rückhaltung von Proteinbestandteilen (berechnet aus Feed und Permeat) sowohl bei einem Cut-off von 15 kD als auch bei 1 kD nur ca. 10 % beträgt. Dies ist ziemlich exakt der Wert, der durch die Lowry-Bestimmung als „echtes“ Protein (im Gegensatz zu freien Aminosäuren) bestimmt wurde. Dies bedeutet, dass das Permeat zwar klar filtriert werden kann, dass aber 90 % der Proteinbestandteile immer noch im Milchsäuremedium zu finden sind. D.h. Ultrafiltration kann einen ersten Schritt in der Abtrennung der Milchsäure darstellen allerdings müssen weitere Behandlungsschritte folgen.



**Abb. 40: Permeat der Ultrafiltrationsversuche – Silagepresssaft**

Zusammenfassung der Erkenntnisse:

- Die Ultrafiltration von Silagesaft ist bis zu hohen Konzentrationsfaktoren ( $> 11$ ) möglich
- Es kommt zu keiner selektiven Abtrennung von Proteinen oder Peptiden.
- Der durchschnittliche Flux für einen realen Betrieb liegt bei 20 bis 25 L/hm<sup>2</sup>



**Abb. 41: Gewinnung von geklärten Milchsäurebrühen aus Silage Säften durch a) Ultrafiltration mit b) TAMI Membranen**

Die Ultrafiltration (1 kD) wurde für die Herstellung des Permeats, das für die Elektrodialyse und Chromatographieversuche herangezogen wurde. Das Permeat trägt die Bezeichnung SJP02 (01a/1). Das Feed wurde aus einem Teil 01/38 (Kleegrassilage, 1. Schnitt) und zwei Teilen 01/63 (Bastardraygrassilage, 3. Schnitt) zusammengesetzt.

Die Permeat - Analytik zeigt folgendes Bild (Tab. 13 und Tab. 14)

**Tab. 13 Zusammensetzung des 1 kD UF-Permeats (SJP02 mit der Nummer 01a/1), dass für die weiteren ED und Chromatographieversuche herangezogen wurde**

<b>Parameter</b>	<b>Value</b>
Leitfähigkeit (20.5 <sup>0</sup> C)	35.8 mS
pH (20.5 <sup>0</sup> C)	4.04
TM	13.6%
Farbe	dunkelbraun
<i>Kationen (g/l)</i>	
K <sup>+</sup>	15.63
Na <sup>+</sup>	0.15
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1.22
Ca <sup>2+</sup>	1.78
Mg <sup>2+</sup>	0.50
<i>Anionen (g/l)</i>	
Milchsäure	37.54
Essigsäure	2.08
Cl <sup>-</sup>	6.41
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2.13
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	4.38
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2.55
<i>Zucker (g/l)</i>	
Glucose	8.88
Fructose	14.99
Saccharose	5.36
Arabinose	1.72
Xylose	1.44
Galactose	2.86
Mannitol	3.09
Aminosäuren (AA)	26.13

**Tab. 14 Aminosäurespektrum des 1 kD UF-Permeats (SJP02 mit der Nummer 01a/1), dass für die weiteren ED und Chromatographieversuche herangezogen wurde**

		SJP02, 01a/01	SJP02, 01a/01
		frei	hydr.
	DM, [g/l]	127,5	127,5
	CP, [g/l]	38,08	38,08
1	Ala, [g/l]	2,95	2,87
2	Arg, [g/l]	0,26	0,39
3	Asn, [g/l]		
4	Asp, [g/l]	2,60	4,29
5	Cys, [g/l]	0,00	0,00
6	Glu, [g/l]	1,73	2,72
7	Gln, [g/l]		
8	Gly, [g/l]	1,30	1,52
9	His, [g/l]	0,56	0,60
10	Ile, [g/l]	1,49	1,54
11	Leu, [g/l]	2,66	2,59
12	Lys, [g/l]	2,23	2,29
13	Met, [g/l]	(0,58)	
14	Phe, [g/l]	1,37	1,41
15	Pro, [g/l]		
16	Ser, [g/l]	1,45	1,27
17	Thr, [g/l]	1,68	1,60
18	Trp, [g/l]	0,00	0,00
19	Tyr, [g/l]	0,95	0,76
20	Val, [g/l]	1,99	2,13
	Gaba, [g/l]	2,76	2,29
	<b>Summe 14 bzw. 16 AA, [g/l]</b>	<b>23,22</b>	<b>26,00</b>
	S14/CP, [%]	61%	68%
	S14/DM, [%]	18%	20%



## **Anhang F**

### **Möglichkeiten und Konzepte zur Isolierung und Reinigung der Milchsäure**

#### **1 Einleitung**

Mit S. Novalin (Institut für Lebensmitteltechnologie, Universität für Bodenkultur) konnte einer der führenden Spezialisten auf dem Gebiet der Abtrennung und Reinigung organischer Säuren für das Projekt gewonnen werden. Zunächst wurden vier mögliche Verfahrensvarianten (unabhängig von der Nachfermentation) vorgeschlagen, die bis Frühjahr 2003 getestet und bewertet wurden. Es handelt sich jeweils um Kombinationen aus Membranverfahren (Nanofiltration und Elektrodialyse) und Chromatographie (siehe Anhang F, Kapitel 2).

Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass aufgrund der Komplexität der Silagesäfte keine der vorhandenen Standardtechnologien als Einzeltechnologie anwendbar ist. Allerdings ist durch das Vorhandensein unterschiedlicher Wertstoffe im Saft die Chance auf einen wirtschaftlichen Betrieb eindeutig gegeben.

Die klassische Methode zur Trennung und Reinigung von Milchsäure, beispielsweise aus Fermentationslösungen, besteht in der Fällung des Lactates als Calciumdilactat. Eine anschließende Umsetzung mit  $H_2SO_4$  führt zu protonierter Milchsäure. Das Produkt wird in weiterer Folge mittels Eindampfung konzentriert. Da bei diesem Prozess  $CaSO_4$  (verunreinigt) als Nebenprodukt anfällt, ist die Entsorgung äußerst schwierig. In jedem Fall könnte bei dieser Trennmethode nicht von einer Fabrik der Zukunft gesprochen werden. Aus technologischer Sicht kommt hinzu, dass weitere im Saft vorhandene Substanzen, insbesondere Aminosäuren mit ausgefällt werden. D. h. der eigentliche klassische Reinigungsschritt „fraktionierte Fällung“ ist nicht anwendbar.

Eine weitere klassische Methode wäre die Extraktion. Es kann mit hoher Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass dieser Weg kaum zielführend ist. Trotz zahlreicher Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet der extraktiven Abtrennung und Reinigung von organischen Säuren wie Citronensäure oder Milchsäure, haben sich solche Prozesse in der Praxis kaum durchsetzen können.

Da der klassische Ionenaustauschprozess als Hauptverfahren ebenfalls kaum anwendbar ist, muss zur Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus Silagesaft ein neues Verfahren entwickelt werden. Wenn ökologische Aspekte zu berücksichtigen sind, kommen in erster Linie Membran- und Chromatographieverfahren in Frage.

## **2 Mögliche Verfahrensvarianten zur Abtrennung von Milchsäure und Aminosäuren**

### **2.1 Membran und Chromatographieverfahren**

Es ist davon auszugehen, dass der Silagesaft vor einem Hauptverfahrensschritt, beispielsweise Elektrodialyse oder Chromatographie, „feinfiltriert“ werden muss, wenn an eine industrielle Anwendung gedacht wird. Bei der vorliegenden Konsistenz des Rohproduktes ist eine feinporige Ultrafiltration oder Nanofiltration (Cut-off ca. 1000 D) zu empfehlen.

Die Elektrodialyse mit monopolaren Membranen gehört zu den wichtigsten zukünftigen Verfahren bei der Trennung zwischen geladenen und ungeladenen Substanzen. Die Elektrodialyse mit bipolaren Membranen bietet einerseits die Möglichkeit geladene von ungeladenen Stoffen zu trennen und andererseits gleichzeitig aus Salzen die korrespondierenden Säuren und Basen herzustellen.

Die Chromatographie gehört ebenfalls zu den zukunftsorientierten Trenntechnologien, wobei der Auswahl des Eluationsmittels eine wichtige Rolle zukommt. Wasser wäre in vielen Fällen vorzuziehen. Unglücklicherweise gehört die Chromatographie nach wie vor zu den teuersten Trennprozessen. Es ist davon auszugehen, dass eine Kombination der Verfahren notwendig sein wird, um die vorliegende Aufgabenstellung insbesondere aus der Sicht der Wirtschaftlichkeit zu lösen.

Aus den oben angeführten Erläuterungen ergeben sich folgende Verfahrensvarianten, wobei nur die wesentlichen Prozessschritte dargestellt sind:

## **2.2    *Verfahrensvariante 1***

Bei dieser Verfahrensvariante besteht der erste Hauptverfahrensschritt aus der Entfernung der anorganischen Salze und teilweise Aminosäuren mittels Elektrodialyse mit monopolaren Membranen (ED). Die Vorbehandlung besteht im Wesentlichen aus einer Einstellung des pH-Wertes auf ca. 1,5 und einer anschließenden Ultra-/Nanofiltration. Im zweiten Hauptverfahrensschritt wird eine Elektrodialyse mit bipolaren Membranen (EDB) eingesetzt, wobei vor diesem Schritt, der pH-Wert auf ca. 7,0 eingestellt werden muss. Hier erfolgt eine Abtrennung des Natriumlactates von ungeladenen Komponenten wie Zucker. Gleichzeitig erfolgt eine Konvertierung des Lactatsalzes in die korrespondierende Säure und Lauge. Anschließend wird eine Chromatographie eingesetzt, um eine endgültige Reinigung der Milchsäure durchzuführen. Wie man der Abb. 42 entnehmen kann, wäre ein chromatographischer Schritt nach der ED ebenfalls denkbar.

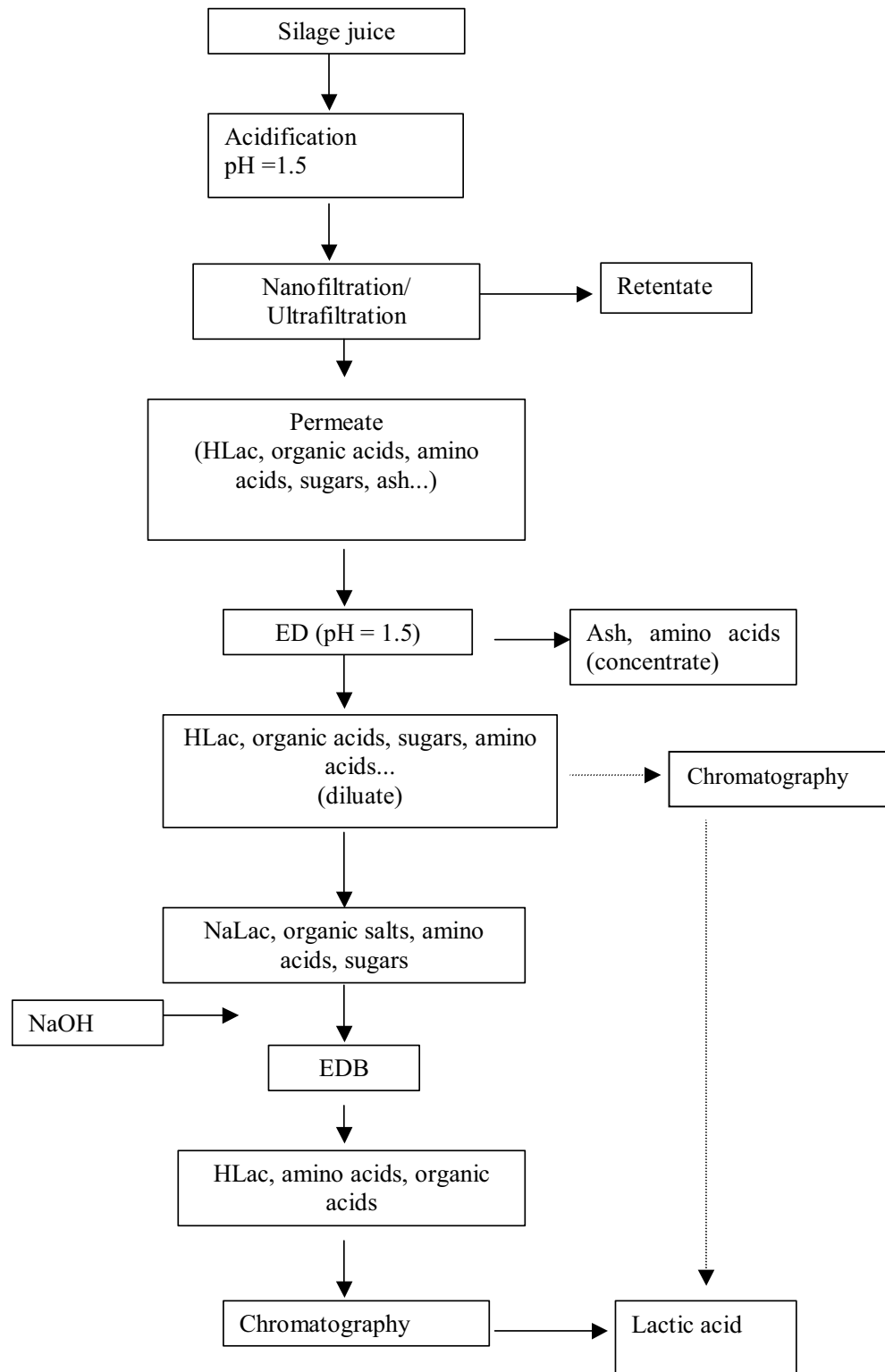
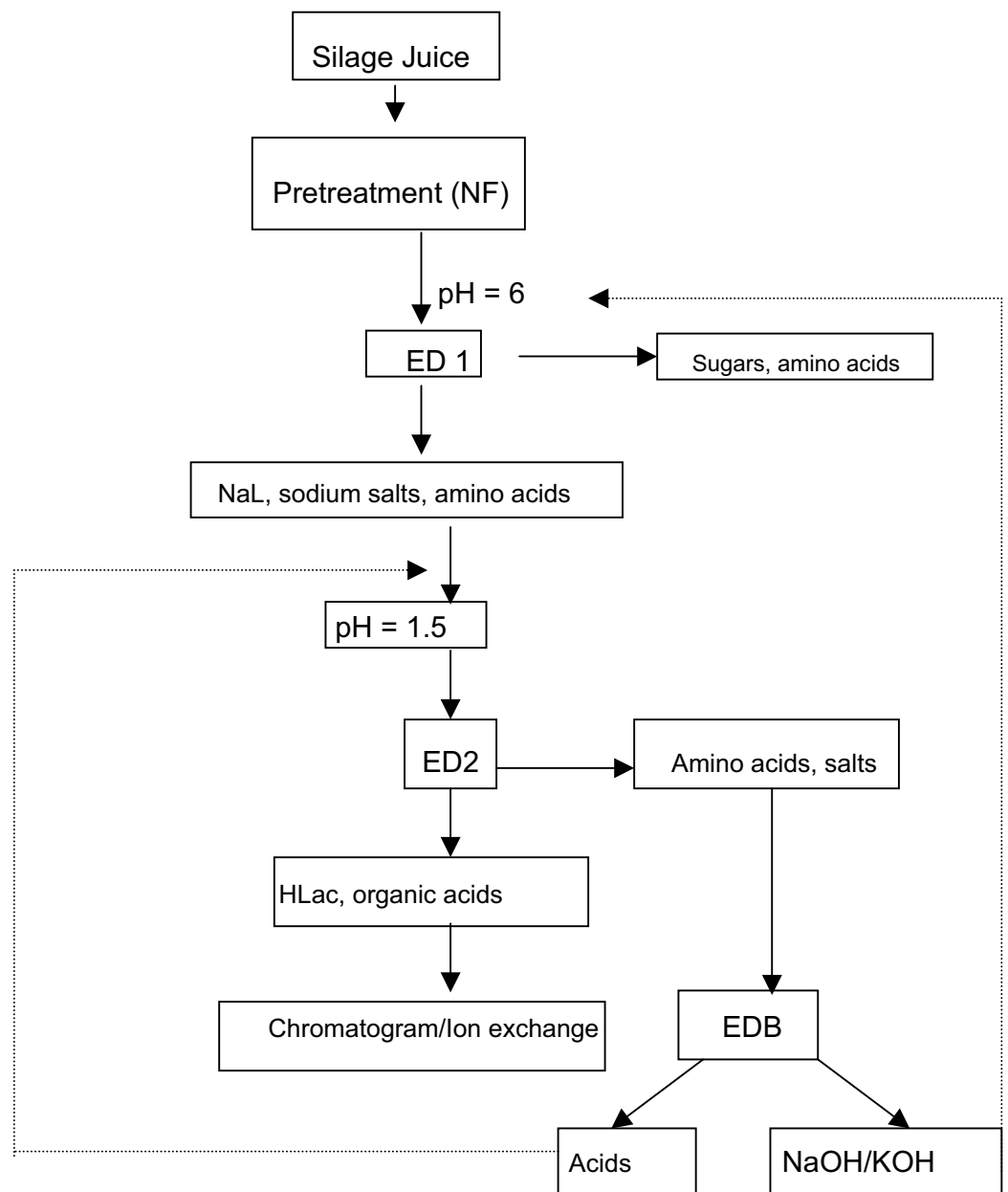


Abb. 42: Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus Silagesaft, Verfahrensvariante 1 Hauptverfahrensschritte: ED, EDB und Chromatographie

### **2.3 Verfahrensvariante 2**

Bei Verfahrensvariante 2 besteht der erste Hauptverfahrensschritt aus der Abtrennung der Milchsäure (des Natriumlactates) von ungeladenen Substanzen wie Zucker und teilweise Aminosäuren mittels ED. Die Vorbehandlung besteht im Wesentlichen aus einer Einstellung des pH-Wertes auf ca. 7,0 und einer anschließenden Ultra-/Nanofiltration. Im zweiten Hauptverfahrensschritt wird wieder eine konventionelle ED eingesetzt, wobei vor diesem Schritt, der pH-Wert auf ca. 1,5 eingestellt wird. Hier erfolgt eine Abtrennung aller geladenen Komponenten wie anorganische Salze. Die Milchsäure ist bei diesem pH-Wert nicht dissoziiert und verbleibt in der Lösung. Anschließend wird eine Chromatographie eingesetzt, um eine endgültige Reinigung der Milchsäure durchzuführen. Um die Umweltbelastung zu minimieren, könnte bei dieser Verfahrensvariante möglicherweise eine EDB zur Kreislaufführung von Säuren und Laugen eingesetzt werden (Abb. 43).



**Abb. 43: Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus Silagesaft, Verfahrensvariante 2 Hauptverfahrensschritte: ED, Chromatographie und EDB**

### **2.4 Verfahrensvariante 3**

Bei dieser Verfahrensvariante wird unmittelbar nach einer Vorbehandlung, unter anderem Einstellung des pH-Wertes auf ca. 7,0, die EDB eingesetzt. Dies erfordert allerdings eine vorhergehende Abtrennung mehrwertiger Kationen wie  $\text{Ca}^{++}$  und  $\text{Mg}^{++}$  mittels speziell selektiver Kationenaustauscher. In einem anschließenden ED-Schritt werden geladene Komponenten, in erster Linie mineralische Säuren, abgetrennt. Im letzten Verfahrensschritt ist wieder ein chromatographischer Prozess vorzusehen. Diese Verfahrensvariante bietet, soweit sie technologisch durchführbar ist, aus ökologischer Sicht Vorteile, da die Umwelt wenig belastet wird (Abb. 44).

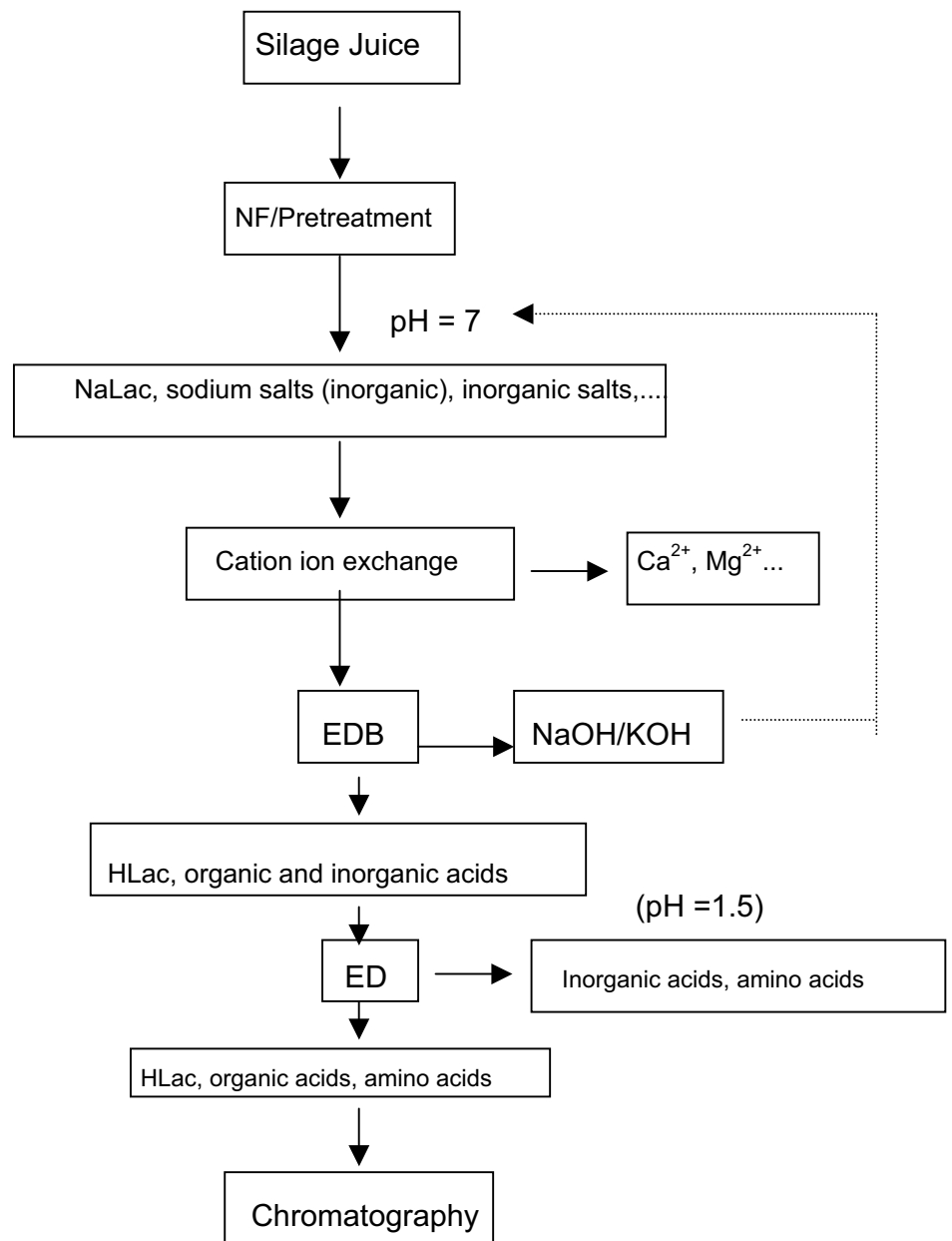


Abb. 44: Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus Silagesaft, Verfahrensvariante 3; Hauptverfahrensschritte: EDB, ED und Chromatographie



## **2.5    *Verfahrensvariante 4***

In Prozessvariante 4 wird die Nanofiltration als Hauptverfahrensschritt zur Trennung zwischen Milchsäure und Zuckern eingesetzt. Angestrebt wird dabei eine Abtrennung aller Komponenten mit einer Molmasse größer als 200 g/mol. Allerdings wird wahrscheinlich aufgrund des hohen Aschegehaltes eine vorhergehende Abtrennung von anorganischen Salzen erforderlich sein, um den osmotischen Druck zu reduzieren. Alle weiteren (möglichen) Schritte entsprechen den vorher dargestellten Prozessmöglichkeiten und Verfahrenskombinationen (Abb. 45).

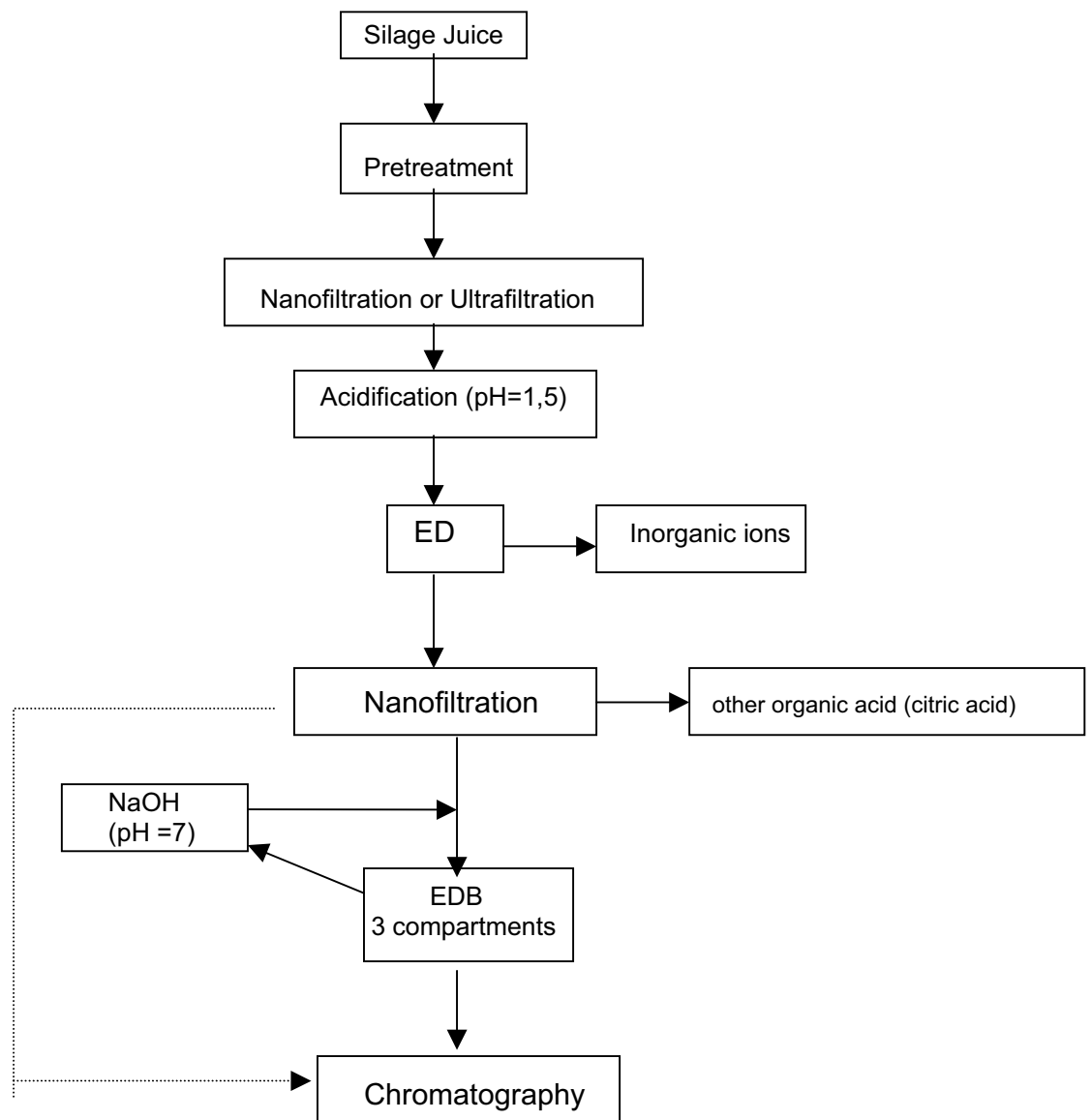


Abb. 45: Abtrennung und Reinigung von Milchsäure aus Silagesaft, Verfahrensvariante 4; Hauptverfahrensschritte: NF, ED und Chromatographie

Im Zusammenhang mit den oben angeführten Trennmethode sei auf weitere Prozessmöglichkeiten hingewiesen, in denen konventionelle Ionenaustauscher zur Abtrennung und Reinigung der Milchsäure eingesetzt werden. In jedem Fall muss hier die EDB integriert werden, um Regenerationschemikalien im Kreis zu führen.

Wie bereits angeführt, wird wahrscheinlich ein chromatographischer Schritt notwendig sein, um die Milchsäure in reiner Form zu gewinnen. Grundsätzlich wäre es denkbar, dass die Milchsäure nur mittels Chromatographie, nach einer entsprechenden Vorreinigung, in gewünschter Form dargestellt wird. Allerdings zeigen frühere umfangreiche, am Institut für Lebensmitteltechnologie durchgeführte Untersuchungen, dass dies nach dem derzeitigen Stand der Technik nicht zu erwarten ist. Wie in der Einleitung bereits erwähnt wurde, ist zu hoffen, dass die „Vernetzung“ (Kombination) einzelner Prozesse (Membran-/ Chromatographieverfahren) zu einer Lösung der vorliegenden Trennaufgabe führt.

### **3 Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen**

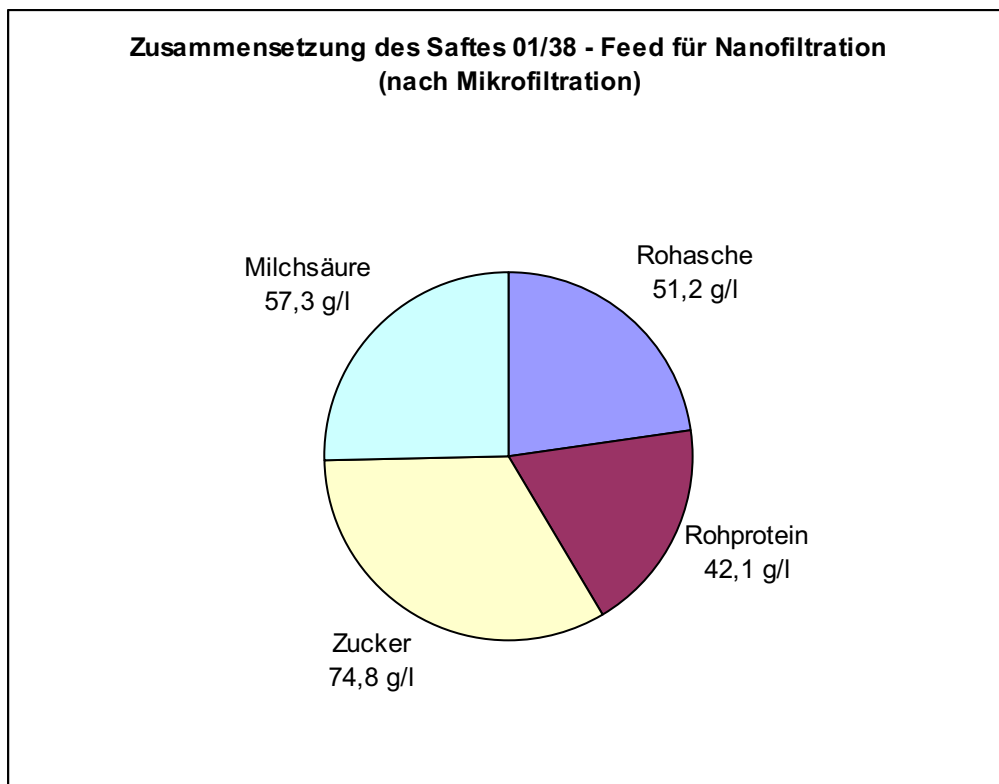
#### **3.1 Fällung**

Obwohl diese Reinigungsmethode aus ökologischer Sicht problematisch ist, wurde ein einfacher Fällungs- und Kristallisationsversuch durchgeführt. Zunächst muss festgehalten werden, dass  $\text{Ca}(\text{Lac})_2$  eine relativ hohe Löslichkeit aufweist (ca. 50 g/L). Wie sich allerdings herausgestellt hat, liegt das größte Problem in der hohen Zähigkeit und der besonderen Konsistenz der eingengten Lösung. Hohe Konzentrationen vieler im Silagesaft vorhandener Komponenten führen zu großen Schwierigkeiten bei der Fest/Flüssig-Trennung und Handhabung mit der Mutterlauge.

### 3.2 Nanofiltration

In der „Grünen Bioraffinerie“ dient Wiesengrünmasse bzw. Silagepresssaft als Rohstoff zur Gewinnung von Milchsäure und anderen Produkten. Silagepresssaft ist ein komplexes Medium bei dem von folgender Zusammensetzung ausgegangen werden kann: ca. 4 % bis 6 % Milchsäure, ca. 4 bis 5 % anorganische Salze, ca. 4% Aminosäuren mit einem breiten Spektrum, ca. 2 bis 7 % Zucker, ca. 0,3 % Proteine (Peptide) sowie etwa 0,1 % unterschiedlichste „Spuren-Substanzen“.

Für die Versuche wurde ein repräsentativer, für den dritten Versuch mikrofiltrierter, Silagesaft verwendet, um den Analytikaufwand niedrig und die Effizienz hoch zu halten. Es handelt sich um einen Klee gras Silage Presssaft des 1. Schnittes 2001 (01/38 und 01/39). Die Silage wurde mit IFAS3 Bakterien angeimpft (Abb. 46).



**Abb. 46:** Silagesaft Klee gras, 1. Schnitt, IFAS3 Bakterien, Jahr 2001 (Nr. 01/38) Zusammensetzung [g/l] – Saft wurde für den dritten Nanofiltrationsversuch mikrofiltriert

Bezogen auf die Trockenmasse hat der Saft folgende Inhaltsstoffe (Werte des IFA-Tulln):

**Tab. 15 Zusammensetzung des Silagepresssaftes  
(Kleegrass, 1. Schnitt, IFAS3 Bakterien, 2001)  
– Messung IFA-Tulln (Nr. 01/38 und 01/39)**

TM	19,2%
Asche	267,3g/kg TM
NH <sub>4</sub> -N	7g/kg TM
<b>Rohprotein</b>	<b>219,6g/kg TM</b>
Glucose	169,6g/kg TM
Fructose	204,6g/kg TM
Xylose	0,0g/kg TM
Mannitol	0,0g/kg TM
Arabinose	15,9g/kg TM
<b>Zucker Summe</b>	<b>390,1g/kg TM</b>
<b>Milchsäure</b>	<b>298,7g/kg TM</b>
Essigsäure	15,6g/kg TM
Buttersäure	0,0g/kg TM
Propionsäure	4,4g/kg TM
Ethanol	17,7g/kg TM
Glycerol	0,0g/kg TM
1,2 Propandiol	0,0g/kg TM
2-Propanol	3,8g/kg TM
Succinat	10,4g/kg TM
Acetaldehyd	0,0g/kg TM
PO <sub>4</sub> (ger. von P)	35,8g/kg TM
K	111,6g/kg TM
Ca	12,8g/kg TM
Mg	5,4g/kg TM
Na	1,1g/kg TM
pH	4,4

Nanofiltrationsversuche mit keramischen Membranen (Cut-off ca. 1 kD) wurden bereits in im Fabrik der Zukunft Projekt "Proteine aus Grassäften" durchgeführt (Koschuh et al. 2003). Dabei konnten Permeatflüsse von ca. 25 l/m<sup>2</sup>\*h erreicht werden. Erwartungsgemäß wurde keine Rückhaltung bei niedermolekularen Verbindungen wie Milchsäure oder Aminosäuren festgestellt. Um Hinweise zu erhalten, ob mit anderen Membranen eine zumindest teilweise Rückhaltung von anorganischen Salzen und Zuckern bei weitgehender Durchlässigkeit für Milchsäure erzielbar ist, wurde eine "dichtere" organische Membran mit der Bezeichnung NADIR PES 10 (nominaler cut-off 1 kD) ausgewählt und getestet. Das Ergebnis eines ersten Versuches mit original Silagesaft ist in Abb. 49 dargestellt.



**Abb. 47: Nanofiltrationszelle des Institut für Lebensmitteltechnologie der  
Universität für Bodenkultur**



Abb. 48: Nanofiltrationsmembran NADIR PES 10 (nominaler cut-off 1 kD)

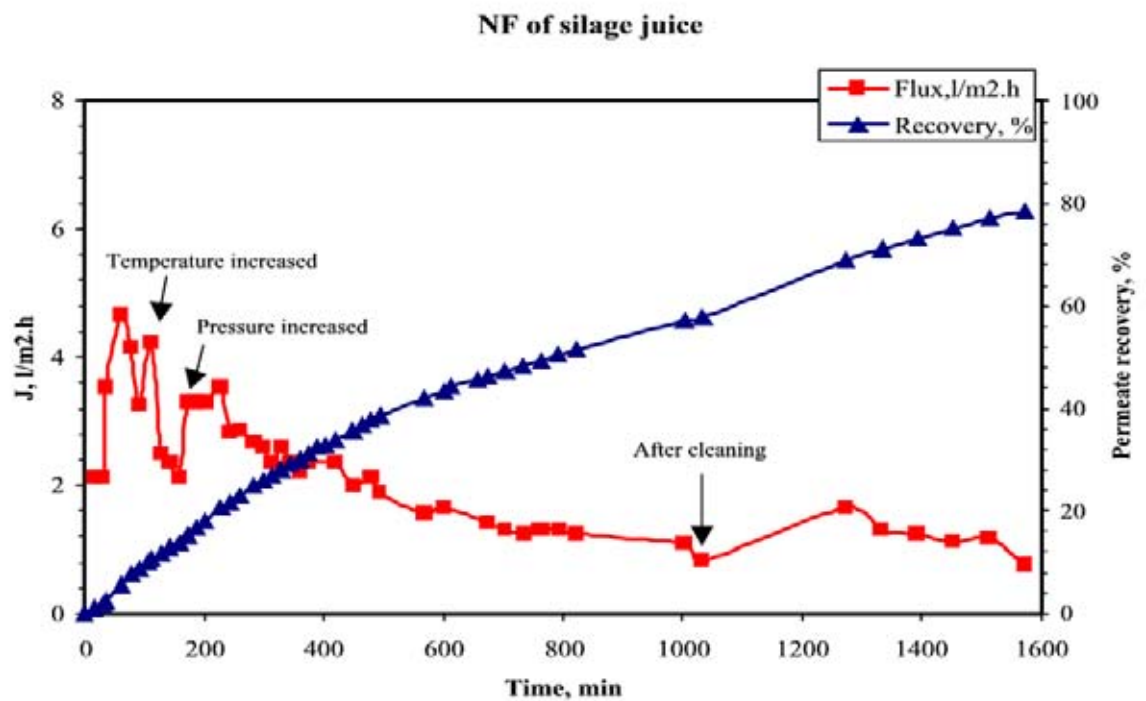


Abb. 49: Nanofiltration eines original Silagesaftes, Membran: NADIR PES 10,  
 $p = 15\text{-}30\text{ bar}$ ,  $T = 50\text{ - }70\text{ }^{\circ}\text{C}$

Analysen haben ergeben, dass zweiwertige Ionen wie Sulfat oder Phosphat sowie Moleküle mit Molmassen um 200 g/mol etwas stärker rückgehalten werden als Milchsäure. Allerdings war, wie der Abb. 49 entnommen werden kann, der Permeatfluss sehr niedrig. In weiterer Folge wurden entsprechend Verfahrensvariante 1 zwei Versuche bei niedrigem pH-Wert durchgeführt. Zunächst wurde der pH-Wert von ca. 1,5 mittels  $H_2SO_4$  und anschließend mittels HCl eingestellt. Wie allerdings den Abb. 50 und 51 entnommen werden kann, konnten trotz hoher Drücke und Temperaturen auch diesmal nur geringe Permeatflüsse erzielt werden.



NF of acidified and microfiltered silage juice at pH=1.5 by  $\text{HNO}_3$ , 75<sup>0</sup> C, 30 bar

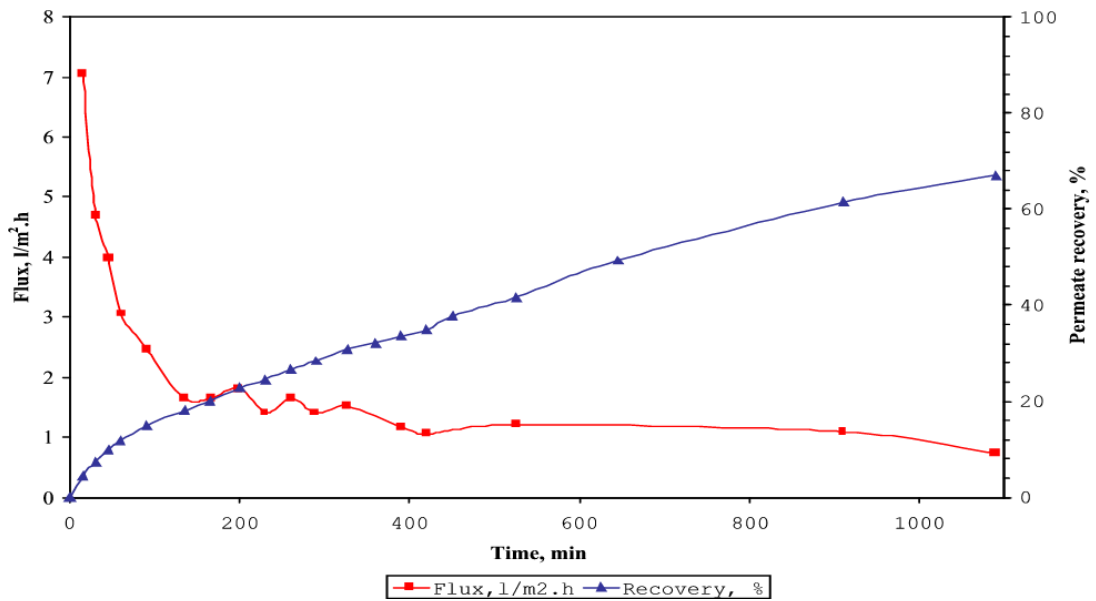


Abb. 50: Nanofiltration von Silagesaft, Membran: NADIR PES 10, p = 30 bar, T = 75 °C

|

NF of microfiltered silage juice acidified at pH=1.5 by HCl, 60<sup>0</sup> C, 30 bar

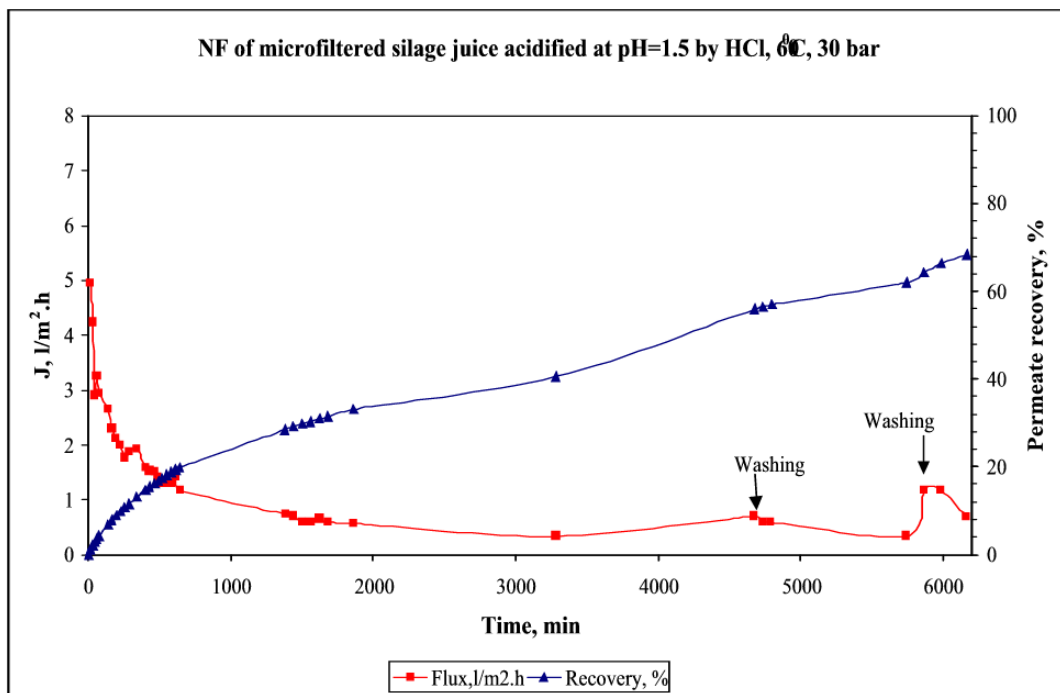
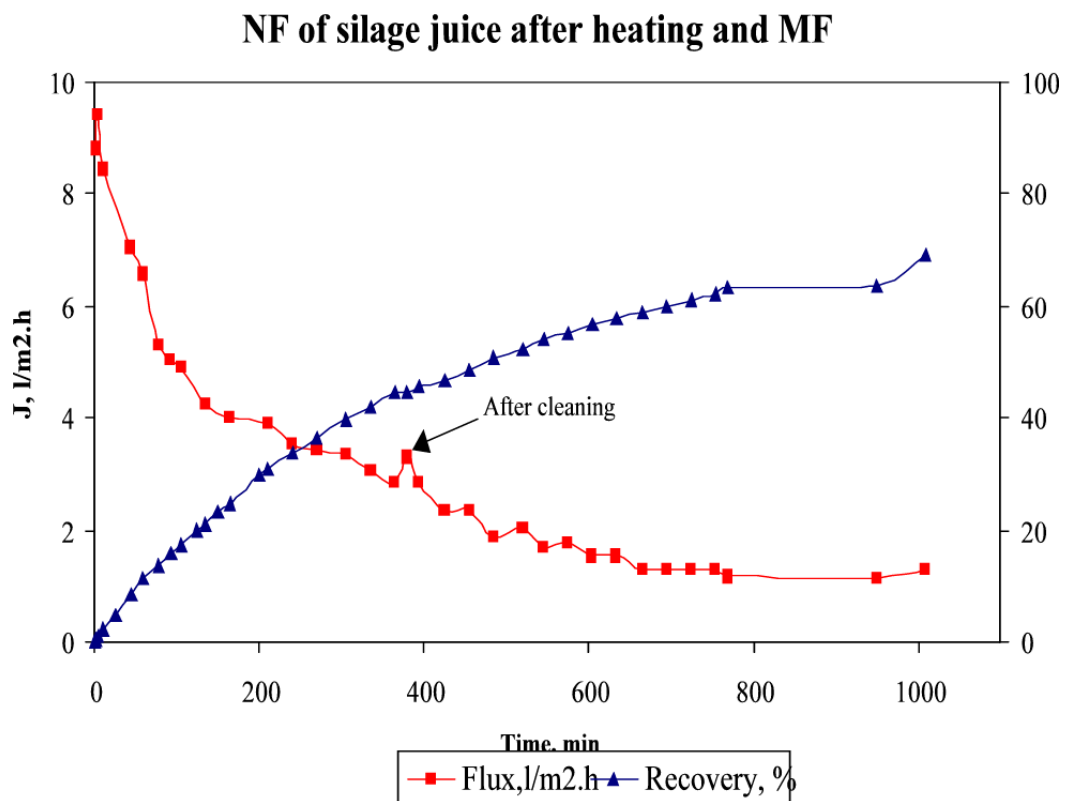


Abb. 51: Nanofiltration von Silagesaft, Membran: NADIR PES 10, p = 30 bar, T = 60 °C

Da eine gewisse Rückhaltung diverser Inhaltsstoffe gegeben ist und deren Konzentrationen auch relativ hoch sind, wird der niedrige Permeatfluss teilweise auf den relativ hohen osmotischen Druck der Lösung zurückgeführt. Eine diesbezügliche Verbesserung kann durch teilweise Entfernung von beispielsweise anorganischen Salzen erwartet werden. Darüber hinaus könnte mittels einer verbesserten Vorreinigung ebenfalls eine Erhöhung der Leistung erzielt werden. In Abb. 52 ist ein entsprechender Versuch dargestellt, bei dem eine thermische Fällung diverser Inhaltsstoffe (unbekannt) und anschließend eine Mikrofiltration der Suspension durchgeführt wurden. Tatsächlich konnte mit dieser Maßnahme eine signifikante Erhöhung des Permeatflusses erreicht werden.



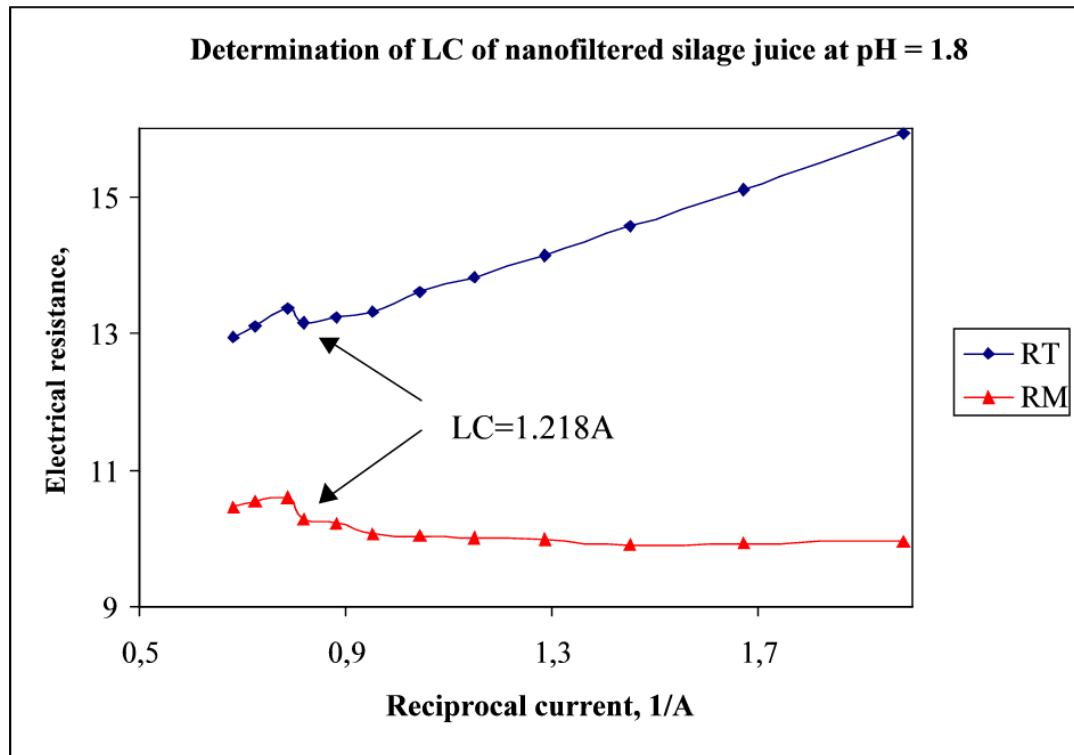
**Abb. 52:** Nanofiltration eines original Silagesaftes nach thermischer Vorbehandlung und Mikrofiltration (0,2 µm) NF-Membran: NADIR PES 10, p = 30 bar, T = 70 °C

### 3.3 *Elektrodialyse*



**Abb. 53: Elektrodialyseanlage des Institut für Lebensmitteltechnik der Universität für Bodenkultur**

Bevor Untersuchungen mittels Elektrodialyse durchgeführt werden können, muss die Stromstärke, bei der die ED zu betreiben ist, bekannt sein. Üblicherweise wird dabei die sogenannte Grenzstromdichte nach Cowen and Brown ermittelt. In Abb. 54 ist das Ergebnis eines entsprechenden Versuches dargestellt. Dabei handelt es sich um einen nano-filtrierten Silagesaft mit einem pH-Wert von 1,8.



**Abb. 54: Bestimmung der Grenzstromdichte (LC) bei einem nanofiltrierten Silagesaft (pH = 1,8) RT...Widerstand mit Elektroden, RM...Widerstand nur an Membranen**

Wie der Abb. 54 entnommen werden kann, liegt der Grenzstrom für diesen Silagesaft (pH = 1,8) bei etwa 1,2 A.

Bei nachfolgenden ED-Versuchen, vor allem mit Silagesäften bei denen der pH-Wert auf ca. 7,0 eingestellt wurde, zeigten sich Probleme, die auf Ausfällungen zurückzuführen waren. Nach einigen Basisuntersuchungen konnte gezeigt werden, dass es sich um Phosphatausfällungen handeln muss, die auch bei der Nanofiltration zu Schwierigkeiten führen können. Aus technologischer Sicht können unerwünschte Ausfällungen äußerst problematisch sein, so dass eine Abtrennung der Substanzen ratsam ist. Im vorliegenden Fall zeigten Versuche, dass eine pH-Anhebung auf ca. 8,5 zu einer nahezu vollständigen Ausfällung der Phosphate führt, womit eine relativ einfache Methode zur Lösung des Problems gegeben ist. Alle beschriebenen Erkenntnisse führten schließlich zu einer detaillierten Versuchsreihe in der ein zweistufiger ED-Prozess im Vordergrund des Interesses lag. Diese Arbeiten wurden veröffentlicht und sind nachfolgend in Originalfassung dargestellt.

#### **4 Desalination of high salt content mixture by two-stage electrodialysis as the first step of separating valuable substances from grass silage**

**Vu Hong Thang<sup>1</sup>, Werner Koschuh<sup>1</sup>, Klaus D. Kulbe<sup>1</sup>, Stefan Kromus<sup>2</sup>, Christian Krotscheck<sup>2</sup> and Senad Novalin<sup>1,\*</sup>**

<sup>1</sup> Division of Biochemical Engineering, Institute of Food Technology, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna (BOKU), Muthgasse 18, A-1190 Vienna, Austria.

<sup>2</sup> Kornberg Institute, Steirisches Vulkanland Regionalentwicklung, A-8330, Feldbach, Austria

**Key words:** *grass silage, desalination, electrodialysis, lactic acid, and amino acids.*

#### **Abstract**

In this study, two-stage electrodialytic separation of valuable substances such as lactic acid and amino acids from grass silage juice was preliminary investigated. Based on the different ionic forms of lactic acid as well as amino acids, which depend on the pH of grass juice, electrodialysis can separate lactic acid and amino acids from mineral ions. At pH = 6.7, most of the amino acids were separated from lactic acid and mineral ions. Current efficiency of this step was  $\eta = 0.67$ . The average mass transfer of inorganic salts was  $0.091 \text{ kg/m}^2 \cdot \text{h}$ . The specific energy consumption for the transportation of ions through the

\* Corresponding author. Email: [Senad.Novalin@boku.ac.at](mailto:Senad.Novalin@boku.ac.at)  
Tel: + 43 1 36006 6288, Fax: +43 1 36006 6251

membranes was 0.074 kWh/liter of silage juice. The specific energy consumption was 2.11 kWh/kg of lactate transported. More than 97% of sugars and about 90% of amino acids were separated from the juice in the first separation step. In the next step, lactic acid was separated from the previous concentrate at pH = 2. As expected, the average mass transfer of inorganic salts was 0.490 kg/m<sup>2</sup>.h, which was significantly higher than that of the first step. Current efficiency of the second step was  $\eta = 0.88$ . The specific energy consumption for the transportation of ions through the membranes was 0.038kWh/liter of silage juice. The total lactate recovered by two-stage ED was 91% at a 98% of demineralization level.

#### **4.1 Introduction**

Commercial use of agricultural residues and other biomass resources has been proposed through the novel concept of a “Green Biorefinery” (Kromus 2002). The green biorefinery is a technology for the sustainable production on the basis of renewable material, from which a bulk and fine chemicals as well as fodder and energy are produced. The feasibility of a biorefinery based on grass has been successfully reported (Andersen und Kiel 2000, Grass und Hansen 1999).

Recently, grass silage has been considered a good candidate for the production of fine chemicals. Within “ the Austrian Programme for the Development of Green Biorefinery ” it was shown that during the ensiling process, lactic acid and amino acids produced make the resultant silage a potential source for the production of these substances (Kromus 2002). This process is interesting due to the prospect of using cheap raw material as grass, which is a renewable resource.

Amino acids are widely used as fine chemicals, pharmaceutical, food or feed supplements whereby the demand for amino acids has become more significant over the years. At least 18 amino acids were found in our grass silage and an improved valorization of these amino acids requires the suitable fractionation before further purification steps.

Lactic acid is used widely in numerous fields of application as food, pharmaceutical and other industrial applications (Vick-Roy 1985). The production of lactic acid has recently attracted a great deal of interest due to its potential use as a raw material in the production of the biodegradable polylactic acid (Datta et al. 1995). Regarding to the sustainable production, it seems that lactic acid and amino acid production from grass silage is one of the promising processes.

Generally, in most processes, and particularly, in the production of substances from cheap raw materials, downstream process plays a very important role and takes a big part of

cost in comparison with whole production cost. The high content of salts as well as sugars makes the separation steps of grass silage juice much more difficult than that of the fermentation broth of lactic acid or amino acids, in which the sugar residue and salt content is quite low. Usual techniques, which are used for desalination, are ion exchange, electro-dialysis and partial nanofiltration. Since the salt contents are very high, ion exchange will be not economical. Nanofiltration can only be seen as a pretreatment step for desalination.

Electrodialysis (ED) is a promising process for many downstream processes. It represents one of the most important membrane processes for friendly environmental technology in biochemical industries. Electrodialytic separation has been widely applied for production of table salt, organic acids, sugar and whey demineralization, recovery of metal from mining mill process water as well as for blood treatment and wine stabilization (Shaposhnik und Kerosé 1997, Moon et al. 1998, Resbeut et al. 1998, Goncalves et al. 2003, Andres et al. 1995). Electrodialytic desalination of a mixed solution of an inorganic salt and organic compound (carboxylic acids or amino acids) has been studied previously (Andres et al. 1995, Sato et al. 1995, Montiel et al. 1998, Perry und Kedem 1980), with the observation that there is considerable loss of the organic compound. It was reported that the permeation of the amino acid was minimized when the pH of the solution was at its isoelectric point (pI) (Perry und Kedem 1980). Sato et al. (1995) used electrodialysis with a charge-mosaic membrane, which is a kind of bipolar ion-exchange membrane having a parallel arrangement of cation and anion-exchange domains. However, when the mosaic membrane is applied to desalination the current efficiency decreases because of the characteristics of the mosaic membrane.

There are many studies about lactic acid separation from the fermentation broths by means of using electrodialysis (Caboche et al. 2001, Kitamura und Ueyama 2001, Norddahl 2001, Datta 1989, Hongo et al. 1986, Ishizaki et al. 1990, Yao et al. 1990, Madzingaidzo et al. 2002, Siebold et al. 1995, Boyaval 1987) but the final product is lactate. Danner et al. (2000) studied about lactic acid purification from grass silage by electrodialysis with a high level of mineral salts in the lactate fraction. The recovery of lactic acid from lactate can be performed also by a bipolar membrane, where a cation- and an anion-exchange membrane sheet are laminated together (Lee et al. 1998, Bailly 2002). Lactate ions associating with hydrogen ions in the feed compartment form lactic acid, and at the same time sodium ions passing through the cation-exchange membrane form sodium hydroxide with the hydroxyl ions in the permeate compartment. However, when the feed solution contains metal ions, such as calcium and magnesium, water-splitting electro-dialy-

sis has the drawback of membrane fouling resulting from the precipitation of metal ions in the cation-exchange membrane. It was suggested that the total multivalent cation content in the feed solution should be lower than 5 ppm (Bailly 2002). Another disadvantage is found in the high membrane price, which is very expensive in comparison with the conventional ion exchange membrane (Choi et al. 2002). To avoid the loss of lactic acid and the high price for membrane, Choi J.H et al (Kemperman 2000), proposed the ion substitution electro dialysis, in which the low-cost inorganic acids were used as a proton source for acidification of sodium lactate. However, their investigation was carried out only with model solution.

This work deals with a first step of separating lactic acid and amino acids from the grass silage juice. Based on the different disassociation degrees of lactic acid at different pHs, two-stage electro dialytic separation was used to remove the salts from the raw feed solution. The fractions of lactic acid and amino acids obtained can be sent to further purification steps.

## **4.2 Materials and methods**

### **4.2.1 Grass silage juice**

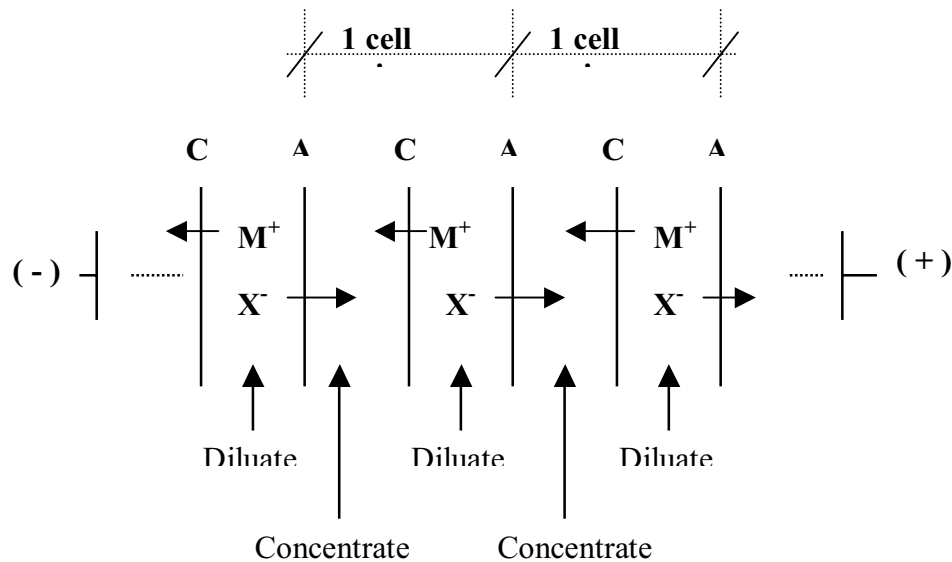
Grass silages were collected from farms in the province of Styria, Austria and then pressed. The pressed juice (SJP02; No. 01a/1) then was ultrafiltered by cross flow module using 1kD cut – off ceramic membrane (purchased from TAMI Industries, France). The obtained filtrate was stored at  $-30^{\circ}\text{C}$  for further uses.

### **4.2.2 Electrodialysis (ED)**

In this study, a conventional three-compartment electro dialyzer was used. Electro dialysis is an electromembrane process in which ions are transported through ion permeable membranes from one solution to another under the influence of a potential gradient. Membrane cells are formed, with each cell bounded by a cation exchange membrane on one side and an anion exchange membrane on the other. The cells of the diluate and concentrate solution are arranged alternately. Abb. 55 shows schematically the principle of electro dialysis, where the grass silage juice circulates in the diluate compartment. The two outer compartments contain the working electrodes, i.e. a platinized titanium anode and a stainless steel cathode. Under the influence of an electric field provided by DC voltage, cations migrate towards and through the cation exchange membranes and into the concentrate solution. In the same time, the anions migrate towards and through the anion



exchange membranes and into the concentrate solution. As a result, the concentration of cations and anions in the juice drops while their concentration in the concentrate solutions rises. By circulating the diluate through the ED stack, it is possible to remove almost charged compounds into concentrate.



**Abb. 55: Schema of separating ions in three-compartment electro dialyzer**

The stack used during the experiments has eight cell pairs and two additional cation exchange membranes next to the anode. The effective membrane surface is  $0.0037\text{m}^2$ . Hence, the total effective membrane surface is  $0.0296\text{m}^2$  for each membrane type. The membranes used in these experiments were supplied by Tokuyama Soda Inc., Japan. A Neosepta CMX membrane containing the sulfonic acid group as fixed charges functioned as the cation exchange membrane and a Neosepta AMX membrane containing quaternary ammonium groups as fixed charges functioned as the anion-exchange membrane. The flow velocities were about  $0.08\text{ m/s}$ . The temperatures of the solutions were between  $25$  and  $30^\circ\text{C}$ . The electrode solution was  $0.5\text{ N Na}_2\text{SO}_4$ . In all experiments, the voltage was kept constant. During the runs, the following parameters were measured: the current, the membrane voltage, the total voltage, the temperature, the conductivity and pH of the diluate and concentrate. The values of the flux of all three solutions and the conductivity and pH-value of the electrode rinse solution were measured at the beginning and at the end of the run. The pressure is more or less constant with  $0.05\text{MPa}$  excess pressure.

### 4.2.3 Chemicals

Laboratory grade reagents were used in all analytical determinations. High quality reverse osmosis - treated water was prepared at the in-house water treatment plant.

### 4.2.4 Analysis

The concentration of inorganic anions was analyzed using ion chromatography (Dionex DX-120) with ED40 conductivity detector, IonPac AS 14 column using  $\text{NaHCO}_3$  /  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  3,5 mM / 1 mM at 1.2 ml/min, 25<sup>0</sup>C as mobile phase. The concentration of inorganic cations was analyzed using ion chromatography (Dionex DX-120) with ED 40 conductivity detector, IonPac CS 12A column using methanesulfonic acid 20 mM at 1.2 ml/min, 25<sup>0</sup>C as mobile phase.

The concentration of organic acids was analyzed by HPLC (Merck) equipped with an Aminex HPX-87H column (Bio-Rad Co., CA) using  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10mM as mobile phase at 65<sup>0</sup>C.

Sugars were analyzed by HPLC Dionex DX-500, with CarboPac PA 1 using 25 mM NaOH as an eluent.

Amino acids were analyzed by using HPLC Dionex Summit with RF 2000 Fluorescence Detector. Complete Kit for precolumn derivatisation with ortho-phthaldialdehyde (OPA), (GROM Analytik + HPLC GmbH, Germany): GROM – SIL OPA-1 column; Eluent A is 25 mM sodium phosphate, pH = 7.2 / Tetrahydrofuran (995/5); Eluent B is 25 mM sodium phosphate, pH = 7.2 / MeOH / Acetonitrile (50 /35 / 15).

## 4.3 Results and discussion

### 4.3.1 Composition and properties of grass silage juice

Composition and properties of grass silage juice are shown in Tab. 16. Unlike fermentation broth, in which the salt content as well as the sugar residues are quite low, the grass silage juice has a very complicated composition. The juice contains a relatively high concentration of lactic acid, amino acids, sugars and especially inorganic salts. Together with a very high content of potassium, the concentrations of calcium, chloride, phosphate, and sulfate are also considerable. The high amount of calcium, sulfate and phosphate in solution causes many difficulties such as fouling membrane, which is resulted from the precipitation of calcium and magnesium phosphate in the membrane. Many different sugars were found in the juice, especially fructose, glucose and saccharose with high concentrations. Moreover, amino acids of the juice are very abundant. At least, 18 amino acids are found in the juice with the total amino acid content of 26.13 g/l. Alanine was found to be

the most abundant amino acid, whereas tryptophan, arginine, histidine and methionine were found to be the less abundant ones. The next most abundant were leucine, lysine, GABA ( $\gamma$  – amino butyric acid) and aspartic acid. Isoleucine, the most expensive amino acid at present time, was found with a considerable amount. These amino acid composition makes the juice a potential source for amino acid production.

**Tab. 16 Physico-chemical characterization of grass silage juice (SJP02; No. 01a/1)**

<b>Parameter</b>	<b>Value</b>
Conductivity (20.5 <sup>0</sup> C)	35.8 mS
pH (20.5 <sup>0</sup> C)	4.04
Dry matter,	13.6%
Color	Dark brown
<i>Cations (g/l)</i>	
K <sup>+</sup>	15.63
Na <sup>+</sup>	0.15
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1.22
Ca <sup>2+</sup>	1.78
Mg <sup>2+</sup>	0.50
<i>Anions (g/l)</i>	
Lactate	37.54
Acetate	2.08
Cl <sup>-</sup>	6.41
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2.13
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	4.38
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2.55
<i>Sugars (g/l)</i>	
Glucose	8.88
Fructose	14.99
Saccharose	5.36
Arabinose	1.72
Xylose	1.44
Galactose	2.86
Mannitol	3.09
Amino acids	26.13

### 4.3.2 Determination of the limiting current density

Limiting current density (LCD) is the maximum current density, above which electro dialysis performance decreases due to the concentration polarization and consequent water splitting in the boundary layer near the membrane surface. The LCD is proportional to the ion concentration in the diluate and the mass transfer coefficient, which is determined mainly by the cell geometry and the flow velocity of feed solution.

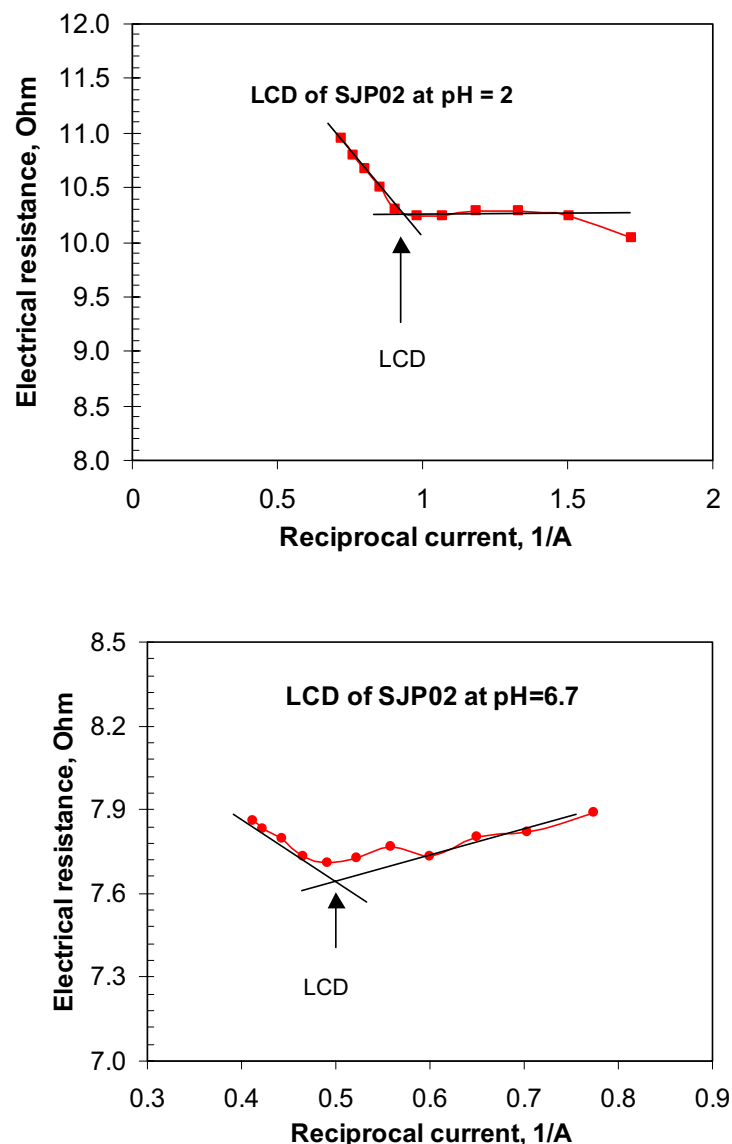


Abb. 56: Limiting current of grass silage juice SJP02; No. 01a/1 at different pHs

If in ED the LCD is exceeded, the process efficiency will be drastically diminished because of the increasing electrical resistance of the solution and because of water splitting, which leads to both pH changes and additional operational problems. To avoid these problems, at the beginning of a batch run, the current density was suggested to adjust to the value, which corresponds to about 70-80% of the LCD. The LCD can be determined by different methods, such as current-voltage method, noise spectra method, current-pH method, over-voltage method and reflective index method (Tanaka 1991). In this study, current-voltage method (Cowan and Brown method) (Cowan und Brown 1959) was used. The determination of LCD is shown in Abb. 56.

In order to maintain process parameters constant, the same solution (the juice) was used both in diluate and concentrate tanks. Using this method, the limiting current density were determined as  $286.5 \text{ A/m}^2$  and  $540.5 \text{ A/m}^2$  corresponding to  $\text{pH} = 2$  and  $\text{pH} = 6.7$ , respectively. It can be seen that the LCD of the silage juice at  $\text{pH} = 6.7$  is much higher than that at  $\text{pH} = 2$ . This can be explained by the ionic state of compounds at different pHs: at low pH, lactic acid is uncharged while at neutral pH, most lactic acid is undissociated form. Consequently, at  $\text{pH} = 6.7$ , the total ion concentration is higher than at  $\text{pH} = 2$ .

#### **4.3.3 Separation of sugars and amino acids by electrodialysis at pH = 6.7**

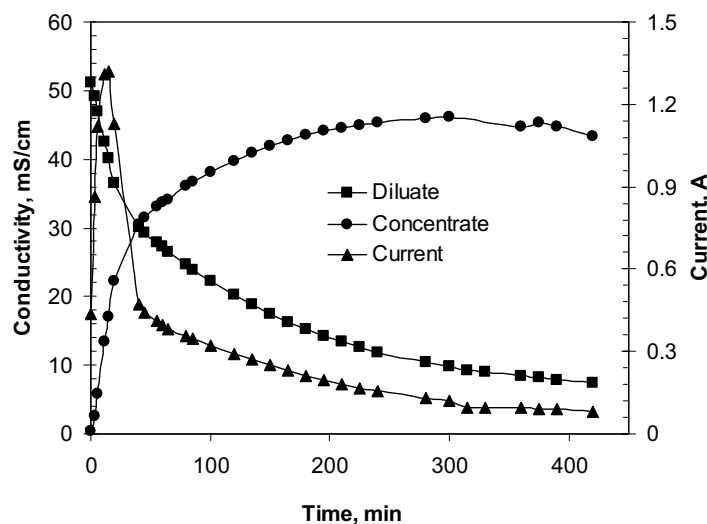
Based on the similarity of chemical properties of substances, the composition of the juice can be classified into 4 main groups: lactic acid, inorganic salts, sugars and amino acids. It is known that, many substances such as amino acids, lactic acid as well as other organic acids change their ionic forms depending upon the pH of the solution. At a pH lower than 2, more than 99% of lactate is in undissociated form and at a pH higher than 6.5, more than 99% lactate is in dissociated form (Choi et al. 2002). On the other hand, at the isoelectric point, an amino acid exists the highest concentration in non-ionic form, therefore to reduce the loss caused by the migration of ionic amino acids through the membrane, electro-dialytic separation of amino acid can be done at the pH, which is close to isoelectric point (Perry und Kedem 1980). From the fact that, most of amino acids in the juice are found in neutral form at pHs from 5.5 to 6.5 (Barrett 1985), it is possible to fractionate sugars and amino acids from lactate and inorganic salts by electrodialysis on the basis of changing pH of the juice.

Firstly, the ED run was carried out with the juice, which was neutralized to  $\text{pH} = 6.7$ . A big advantage of ED is that the separation can be carried out together with the concentration step. However, even the solution was not concentrated in this experiment, the run stopped

due to the blockage in the ED stack, which was probably caused by the precipitation of calcium and magnesium phosphate in the surface of membranes. The precipitation was formed by the concentration polarization. Some cleaning must be done during the operation and when the run stopped, the remaining lactate concentration in diluate was quite high (5.14 g/l - data not shown) and consequently, the transportation of lactate through the membranes was low (78% - data not shown).

**Tab. 17 Transportation of ions during electrodialysis of grass silage juice at pH = 6.7**

Compounds	Initial Concentration, g/l		Final Concentration, g/l	
	Diluate	Concentrate	Diluate	Concentrate
Lactate	36.10	0	1.14	30.04
Acetate	2.08	0	not detectable	1.59
$K^+$	27.64	0	2.28	18.45
$Na^+$	0.16	0	0.45	2.06
$NH_4^+$	0.74	0	0.07	0.61
$Ca^{2+}$	0.73	0.06	0.02	0.68
$Mg^{2+}$	0.1	0	not detectable	0.09
$Cl^-$	6.16	0	0.02	5.03
$NO_3^-$	1.99	0	not detectable	1.76
$SO_4^{2-}$	2.46	0.02	1.34	1.17
$PO_4^{3-}$	< 5ppm	< 5ppm	< 5ppm	< 5ppm



**Abb. 57: Changes of conductivity and current during electrodialysis of the juice at pH = 6.7**

Due to this disadvantage, phosphate, magnesium and calcium should be removed in order to improve the electro-dialytic processes. It was reported that the removal of phosphate by precipitation was optimal at pH = 8.5 (Stratful et al. 2001). It can be calculated from Tab. 16 and Tab. 17 that nearly 100% phosphate together with about 80% of magnesium and 60% of calcium were removed in the precipitation step. Abb. 57 shows the electro-dialysis of the silage juice after removing phosphate by precipitation using 10N KOH solution at pH = 8.5. As expected, the operation of electro-dialytic process was significantly improved: ED could run until the end without the problem of precipitation and the transportation of lactate through the membranes increased significantly (97%). Since the electro-dialytic operation was constant-voltage mode, the current density decreased during the operation due to the lack of ion concentration in the diluate. However, the current dropped quickly after reached to the set-point value. The conductivity of juice decreased significantly in the early stage and then showed a slow decrease at about 60 min. After 1 h, the remaining current density was only about 33% of the set-point value. Due to the low current density, the mass transfer of lactate was low, decreased significantly from 0.232 kg/m<sup>2</sup>.h at the early stage to 0.017 kg/m<sup>2</sup>.h at the end of operation (Abb. 58), and consequently, the operation time of electro-dialysis was prolonged. At the end of electro-dialysis, the loss of lactate was about 3%.

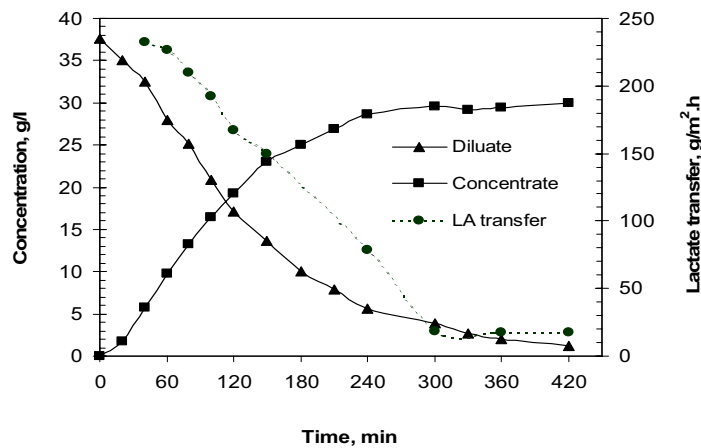


Abb. 58: Lactate concentration and mass transfer of lactate during electro-dialysis at pH = 6.7

In the early stage, most transportation through the membranes mainly concerned monovalent inorganic ions. In this stage, the mass transfer of  $K^+$ ,  $Cl^-$ , and lactate were 6.5, 6.8 and  $0.93 \text{ mol/m}^2 \cdot \text{h}$ , respectively. After 20 min, only 4.69% of lactate was removed from diluate while 89.25% of nitrate, 78.67% chloride, and 29.00% of potassium were removed. The reason is that there were competitions between ions in transportation through membrane, in which the monovalent inorganic have higher mobility than that of lactate. It was reported that the cations consume most of current during electrodialysis due to their higher electromobilities (Andres 1995). The ions were almost removed from diluate, from 91.68 to 100%, except sulfate, with only 52.09%. The transportation of sulfate occurred only when most monovalent anions had been removed. However, when taking into account the concentrate, it was found that not all ions were removed from diluate to concentrate: only 78.49% of potassium was found in concentrate while the rest was found in the electrolyte solution. In the same time, the amount of sodium in concentrate was more 15 times higher than the value, which can be obtained by calculating that all sodium of the juice could move from diluate to concentrate. It can be explained that there was an exchange between potassium of diluate and sodium of electrolyte solution. As expected, the additional amount of sodium in concentrate and that of potassium in the electrolyte solution was equal in the term of molar.

**Tab. 18 Separation of sugars and amino acid by ED  
at pH = 6.7**

Compounds	Initial Concentration, g/l		Final Concentration, g/l		Separation yield, %
	Diluate	Concentrate	Diluate	Concentrate	
Glucose	8.43	0	8.63	0.12	98.38
Fructose	14.28	0	15.37	0.23	98.40
Arabinose	1.62	0	1.57	0.03	97.88
Galactose	2.70	0	2.67	0.04	98.31
Xylose	1.38	0	1.31	0.01	99.17
Saccharose	5.00	0	4.87	0.25	94.38
Mannitol	2.81	0	2.82	0.13	94.69
Amino acids	24.11	0	24.69	2.16	90.07



The aim of the electrodialysis at pH = 6.7 is to separate sugars and amino acids from ionic compounds. Data in Tab. 18 shows that nearly all sugars and amino acids were remained in the diluate. By electro-dialytic separation at pH = 6.7, a fraction of amino acids and sugars, in which about 90% of amino acids and 97% of sugars recovered, can be obtained. A small amount of amino acid and sugars were found in the concentrate. Sugars were transported through the membranes due to only the back diffusion phenomena, whereas amino acids were mainly transported due to the electrodialysis. As expected, the transportation of the “acidic” or “basic” amino acids contributed mainly to the loss of amino acids since these amino acids have their isoelectric points far from the operating pH. During the ED, 28.49% of aspartate, 27.45% of asparagine, 19.92% of glutamate, 18.40% of histidine and 15.48% of lysine were removed from the diluate. The loss of the other amino acids is lower than 10%. The explanation is due to the change of pH, decreased from 6.7 to 5.4, in diluate during ED, (Abb. 60). Since the pH of diluate changed, the portion of amino acids in ionic form increased.

One of the most important parameters in electro-dialytic separation is the energy consumption for operating process. The energy consumption required in an ED process is the sum of the electrical energy to transfer ionic species through the ion-selective membranes and the energy required to pump various solutions through the ED stack. Here, only the electrical energy to transfer ionic species through the membranes was calculated. This energy required for ED stack was 0.040kWh, which corresponded to the specific energy consumption of 0.074 kWh/1litre of silage juice for transporting ions. The specific energy consumption for lactate was 2.11 kWh/kg of lactate transported.

The current efficiency is calculated by the formula:

$$\eta = \frac{I_T}{I_P} \quad (1),$$

in which  $I_T$  and  $I_P$  are the theoretical and practical currents, respectively.

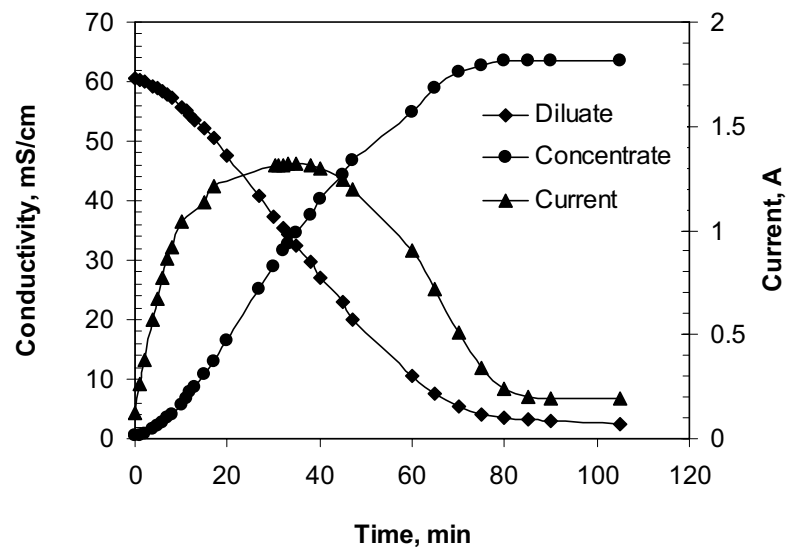
The theoretical current was calculated in the basis of cation analysis. A total 0.4 molar equivalent charges correspond to the average value of cations, which were removed from diluate to concentrate. The density of charge flux  $J = 5.4 \times 10^{-4} \text{ mol/m}^2 \cdot \text{s}$  results therefore. The theoretical current is calculated by the formula  $I_T = F \cdot J \cdot A_{\text{eff}}$ , in which F is the Faraday constant (96 485.3 As/mol) and A is the effective membrane area. The practical current was calculated by measuring charges (7265.25 As), divided by the running time. According to the above formula (1), the current efficiency was  $\eta = 0.67$ .

#### 4.3.4 Desalination and lactic acid recovery by electro dialysis at pH=2

The aim of the second electro dialysis is to separate inorganic salts from lactic acid. The concentrate obtained from the first ED step, which contained lactic acid in undissociated form and inorganic salts, was used as the diluate for the second ED step. The concentrate was acidified at pH = 2 by concentrated HCl solution. According to results of the first step, it was expected to shorten the operation time. In fact, the running time is 4 times shorter than that of the first separation step since only inorganic ions could be transported through the membranes. Abb. 59 shows the desalination process of lactic acid by the second electro dialysis at pH = 2. Unlike the first step, the current was maintained quite long around the set-point value and the conductivity of diluate decreased significantly with a constant rate. From data in Tab. 19, it was calculated that the demineralization was up to 98%. At this level of demineralization, the loss of lactic acid was 5.8%. However, this loss increased significantly only when inorganic salts were almost removed. When the conductivity of diluate still decreased with a constant rate, the loss of lactic acid was only in a range of 0.6-1.2%.

**Tab. 19 Separation of inorganic salts from lactic acid at pH = 2**

Compound	Initial Concentration, g/l		Final Concentration, g/l	
	Diluate	Concentrate	Diluate	Concentrate
$K^+$	17.66	0	0.19	13.48
$Na^+$	1.98	0	0.16	2.72
$NH_4^+$	0.65	0	0.02	0.41
$Ca^{2+}$	0.48	0.06	0.02	0.43
$Mg^{2+}$	0.07	0	not detectable	0.02
$Cl^-$	20.37	0	0.33	17.60
$NO_3^-$	1.52	0	not detectable	1.25
$SO_4^{2-}$	1.04	0.02	0.15	0.91
<i>Lactate</i>	29.00	0	28.96	2.22
<i>Acetate</i>	1.80	0	1.87	0.10



**Abb. 59: Changes of conductivity and current during electro dialysis at pH = 2**

The loss of lactic acid can be explained by the pH change in diluate over the operation time. Abb. 60 shows the time courses of the change of pH and lactic acid concentration in diluate. The lactic acid concentration increased slightly but at the last stage it decreased. The explanation is that in the early stage, the volume of diluate was diminished due to the water transportation. In this stage, the strongly transportation of inorganic ions led to the high rate of water transportation through the membranes. At the last stage, the water transportation decreased significantly since the salts were almost removed and the loss of lactic acid increased, therefore the lactic acid concentration was diminished. The pH of diluate increased from 2 to 2.9, whereas in the first ED step, the pH of diluate decreased from 6.7 to 5.4. In the first ED step, the loss of lactate was due to the time operation. At these pHs (5.4 - 6.7), lactic acid is almost dissociated (more than 95%) and can be transported through the membranes when the electro dialysis operation still continues, therefore the loss can be minimized. On the contrary, in the second ED, there was big difference in ionic form of lactic acid. Even the pH of diluate increased only from 2 to 2.9, the portion of lactic acid in ionic form (lactate) increased significantly from about 1.5% to 14%, respectively. Because of this, lactate can be transported through the membrane due to electro dialysis, and therefore the more operation time, the more loss of lactate. The reason of pH change was due to the transportation of hydrogen ion through the membrane along with the other cations. Although the hydrogen concentration was much smaller

than that of cations as potassium or sodium, the much higher mobility of hydrogen ions led to their transportation to the concentrate.

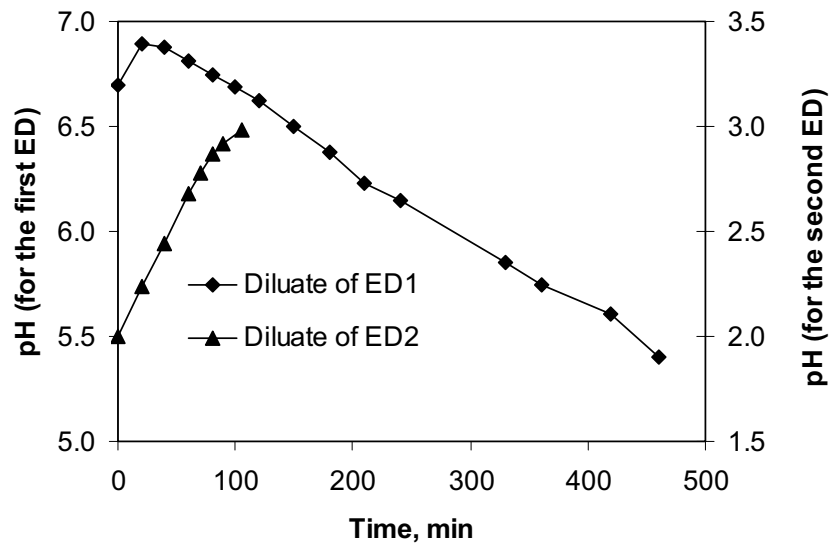


Abb. 60: Change of pH in the diluates during the two-stage electro dialysis

Regarding to the current efficiency and energy consumption, the second separation step was improved much better than those of the first separation. The current efficiency is calculated by the formula (1). The theoretical current was calculated in the basis of cation analysis. A total 0.35 molar equivalent charges correspond to the average value of cations, which were removed from diluate to concentrate. The density of charge flux  $J = 1.9 \times 10^{-3} \text{ mol/m}^2 \cdot \text{s}$ , which 3 times higher than that of the first separation step, results therefore. The theoretical current is calculated by the formula  $I_T = F \cdot J \cdot A_{\text{eff}}$ , in which F is the Faraday constant (96 485.3 As/mol) and A is the effective membrane area. The practical current was calculated by measuring charges (4848.30 As), divided by the running time. According to the above formula (1), the current efficiency was  $\eta = 0.88$ , which was significantly higher than that of the first separation step. The specific energy consumption for ED stack in order to remove salts from lactic acid was 0.037 kWh/1litre of silage juice, 2 times smaller in comparison with the first electro dialysis.

#### **4.4 Conclusions**

The two-stage electro dialytic separation seems to be a promising way for demineralizing mixtures with high salt concentration like grass silage juice. For the substances of interest, this two-stage electro dialysis can be considered as an efficient step of separating valuable substances like lactic acid and amino acids from grass silage. The obtained fractions of amino acids and lactic acid can be further purified by a common technologies such as chromatography or ion exchange. Further separation between sugars and amino acids could be easily done by common technique as chromatography (Giacobello et al. 2000, Lutin et al. 2002). However, it is very difficult to separate all amino acids from each other, therefore either only the most valuable amino acid would be further purified or the sugar – free amino acid fraction can be used in animal nutrition.

The total amount of lactic acid recovered is about 90% for the desalination level up to 98%. Regarding to the sustainable production, inorganic salts removed from the juice should be reused. In this process, alkaline and acid were used for adjustment of pH, so there is a possibility of using bipolar electro dialysis to split the salts into acid and alkaline. It was observed from the first electro dialysis at pH = 6.7 that, there was an exchange of cations between the diluate and electrode solution. Since the juice contains a small amount of sodium in comparison with that of potassium, potassium sulfate should be used for the electrode solution instead of sodium sulfate.

Difficulties in this two-stage electro dialysis lay mainly with the first step. The separation of sugars and amino acids from salts and lactate was quite good. However, a high content of phosphate can block pipes or foul membrane due to the precipitation of calcium and magnesium phosphate. It is therefore suggested that phosphate, magnesium and calcium should be removed before using electro dialysis.

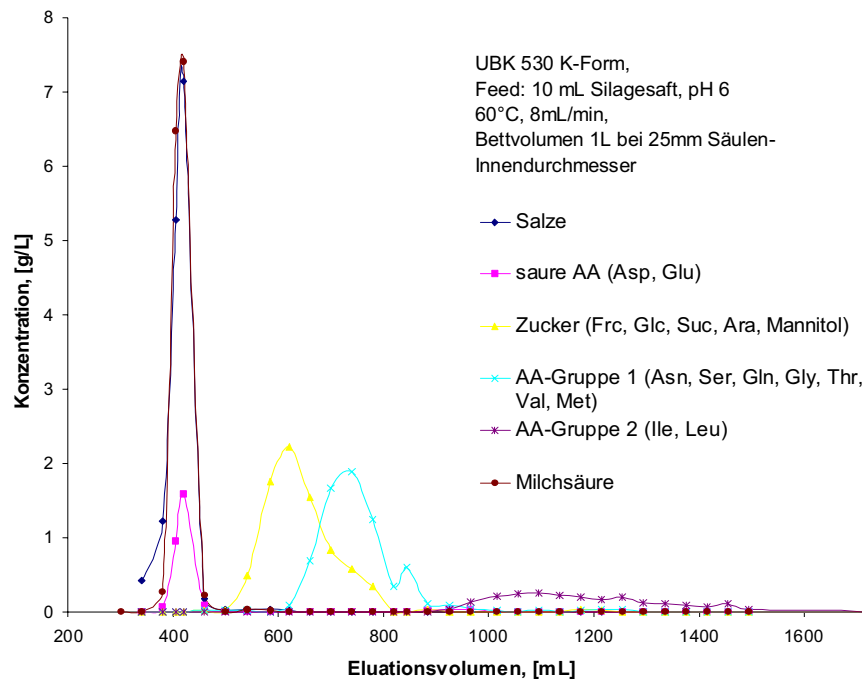
## **5 Präparative Chromatographie zur Gewinnung von Milchsäure und Aminosäuren**

### **5.1 Chromatographie als Methode zur Abtrennung von Wertstoffen aus komplexen Medien**

Seit langem wird die Chromatographie als Verfahren zur Gewinnung von hochpreisigen Substanzen (Pharmawirkstoffen) eingesetzt, wobei die entsprechenden Down-stream Kosten ebenfalls relativ hoch sind. Daneben existieren aber auch großtechnische Anwendungen beispielsweise in Form der Ionenausschlusschromatographie, wo Harze mit einem mittleren Preis von 2 bis 5 Euro pro Liter eingesetzt werden, so dass die spezifischen Produktkosten niedrig gehalten werden können (Pynnonen 1998).

Typische Anwendungen sind die chromatographische Trennung von Saccharose aus Melasse oder die Trennung eines Fructose-Glucose Gemisches. Das Prinzip des Verfahrens lässt sich durch den deutschen Namen „Elektrolytvorlaufmethode“ veranschaulichen. Alle ionischen Bestandteile des zu trennenden Feeds werden im Gegensatz zu ungeladenen Molekülen wie Saccharose durch eine „Donanmembran“ am Eindringen in die porösen Harzkügelchen gehindert bzw. ausgeschlossen. Sie durchfließen das Harzbett ohne Hindernis und stellen die vorauseilende Fraktion dar. Alle anderen ungeladenen Moleküle unter einer harzbedingten Ausschlussgröße können mehr oder weniger stark in die Harzbestandteile hineindiffundieren und werden dementsprechend verzögert. Wichtig bei der Ionenausschlusschromatographie ist die Beladungsart des Ionentauscherharzes. Im Idealfall stimmen Ionenart des Harzes und Hauptionenart des Feeds überein. Die beschriebene Chromatographiemethode wurde zur Durchführung eines Trennversuches eingesetzt (siehe Abb. 61).

Mit Saft SJP02; Nr. 01a/1 konnte ein wichtiger Versuch zur chromatographischen Trennung von Silagesaftinhaltsstoffen bei einem pH-Wert von ca. 6,0 unternommen werden. Nach dem Ionenausschlussprinzip fällt Milchsäure als Salz (Kalium-Lactat) in der vorauseilenden Elektrolytfraktion an (siehe Abb. 61). Weitere Versuche zur Trennung der Aminosäuren sind in Anhang F, Kapitel 5.2 dargestellt.



**Abb. 61: Chromatographische Trennung (Ionenausschlusschromatographie) von Silagesaftinhaltsstoffen bei pH = 6**

Eine Trennung der Milchsäure von Salzen und organischen Molekülen wie Glucose ist im vorliegenden Fall nur denkbar, wenn Milchsäure undissoziiert vorliegt z. B. bei pH 2,0). Die Schwierigkeit dabei liegt in der Verfügbarkeit des Harz- und Gegeniontyps. Hier stehen einerseits Anionenaustauscherharze (mögliche Beladung  $\text{SO}_4^{-2}$ ) und Kationenaustauscherharze zur Verfügung. Im zweiten Fall stellt sich das Problem der vorherrschenden Kationenart bei pH 2,0. Zusätzlich zu der vorherrschenden Ionenart (meist  $\text{NH}_4^+$  oder  $\text{K}^+$  bzw.  $\text{Na}^+$ ) liegt eine pH bedingte, nicht unwesentliche Konzentration an  $\text{H}^+$  Ionen. In einer früheren am Institut für Lebensmitteltechnologie durchgeführten Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine chromatographische Trennung nach dem Prinzip  $\text{H}^+$  als vorherrschende Gegenionart möglich ist. Diese Methode hat jedoch den Nachteil, dass vorerst alle anorganischen Kationen mit Ionentauschern entfernt werden müssen und Milchsäure nur schwer von Essigsäure zu trennen ist.

Mögliche Wege zur Gewinnung reiner Milchsäure (Lebensmittelqualität) mittels Chromatographie könnten nach vorliegendem Wissensstand wie folgt aussehen:

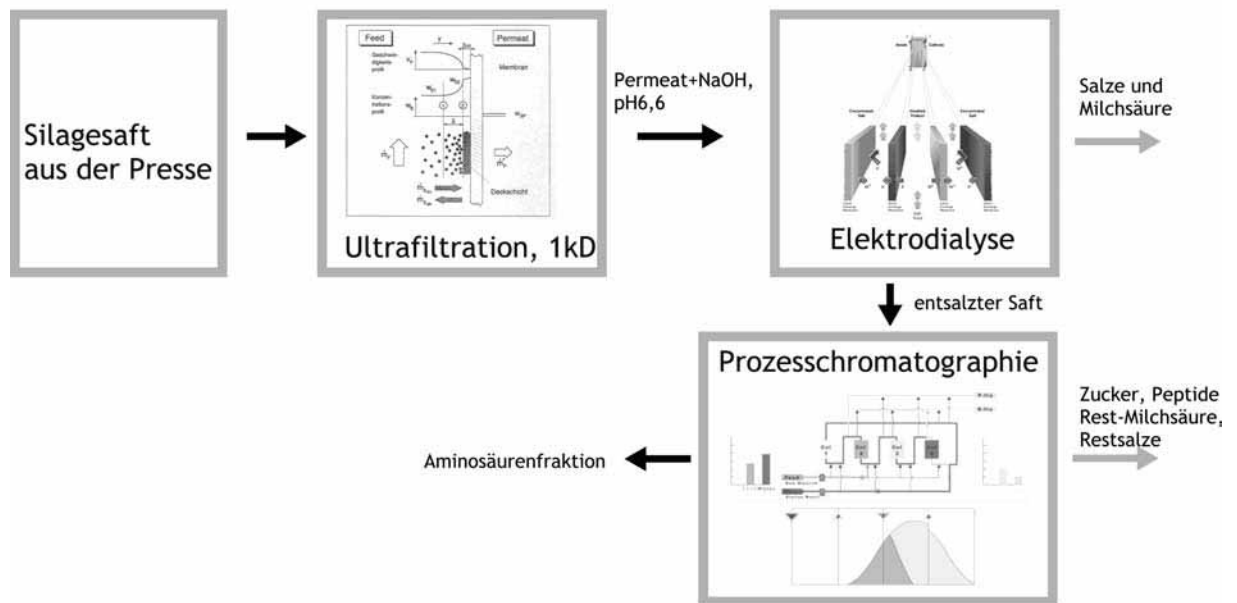
- Aufreinigung der Milchsäure (Entfernung der anorganischen Kationen) vor einem Haupttrenn-Chromatographieschritt mit einer  $H^+$  beladenen Kationentauschersäule.
- Trennung der Milchsäure an Anionentauschersäulen in Sulfat- oder Chloridform bei pH  $\sim 2,0$
- Trennung an Kationentauschersäulen in einer Mischform ( $H^+$ ,  $K^+$ ) bei pH  $\sim 2,0$
- Trennung an Harzen ohne funktionelle Ionengruppen (z. B. Amberlite XAD 2 ) bei pH  $\sim 2,0$ .

Die beschriebenen Methoden setzen voraus, dass in einem separaten Verfahrensschritt z. B. mittels ED die Aminosäuren vorher abgetrennt wurden. In allen vier Fällen ist eine pH-Änderung notwendig, da Milchsäure immer teilweise als Salz in wässrigen Lösungen bei pH  $>4$  vorliegt. Das gilt für Silagesäfte wie für industrielle Fermentationsbrühen. Die Einstellung des pH-Wertes auf ca. 2,0 (ungefährer pH-Wert des Endproduktes) kann durch Zugabe von anorganischen Säuren (z. B. Schwefelsäure), durch Tausch der anorganischen Kationen mit  $H^+$  Ionen an starken Kationentauschern oder durch Spaltung von Wasser mittels EDB und Konvertierung des Salzes in die Säure erfolgen. In den beiden ersten Varianten sind im Gegensatz zur bipolaren Elektrodialyse wesentlich höhere Abwasserfrachten gegeben.

## **5.2 Mögliche Kombinationsstrategie zur Abtrennung von Wertstoffen aus Silagesaft mittels Membranverfahren und Chromatographie**

Bei einer elektrodialytischen Trennung des Silagesaftes bei pH 6,6 (vgl. Anhang F Kapitel 4) ist zu erwarten, dass anorganische Ionen und Milchsäure (Ist bei pH 6,6 dissoziiert und damit negativ geladen) in die Salzfraktion übergehen und neutrale zwitterionige Aminosäuren in der Feed-Fraktion verbleiben.





**Abb. 62: Mögliche Prozesskette zur Gewinnung von Aminoäuren und Milchsäure aus Silagesäften**

Die Ultrafiltration vor dem eigentlichen Trennschritt soll den Saft von Proteinen und anderen Makromolekülen die bei den weiteren Prozessschritten unerwünscht sind reinigen.

Die elektrodialytische Abtrennung der Salze ist ein Standardprozess mit vielen Vorteilen gegenüber dem Ionenauschprozess (Lutin et al. 2002). Im vorliegenden Fall handelt es sich nicht nur um einfache Abtrennung der Salze sondern auch um eine Trennung Aminosäuren, Zucker und andere ungeladenen Moleküle einerseits und Salze, dissoziierte Säuren andererseits.

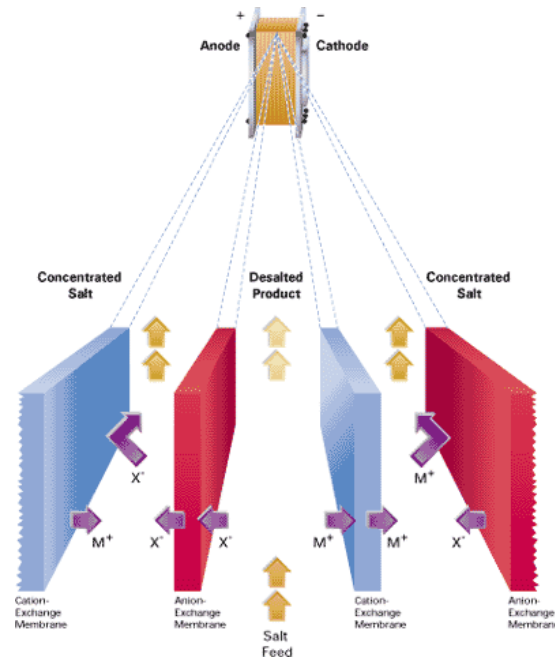


Abb. 63: Schema der Elektrodialyse

Erste Versuche am Institut für Lebensmitteltechnologie an der Univ. für Bodenkultur, Wien zeigten mit Saft SJP02; Nr. 01a/1 eine Bestätigung dieser theoretischen Überlegungen.

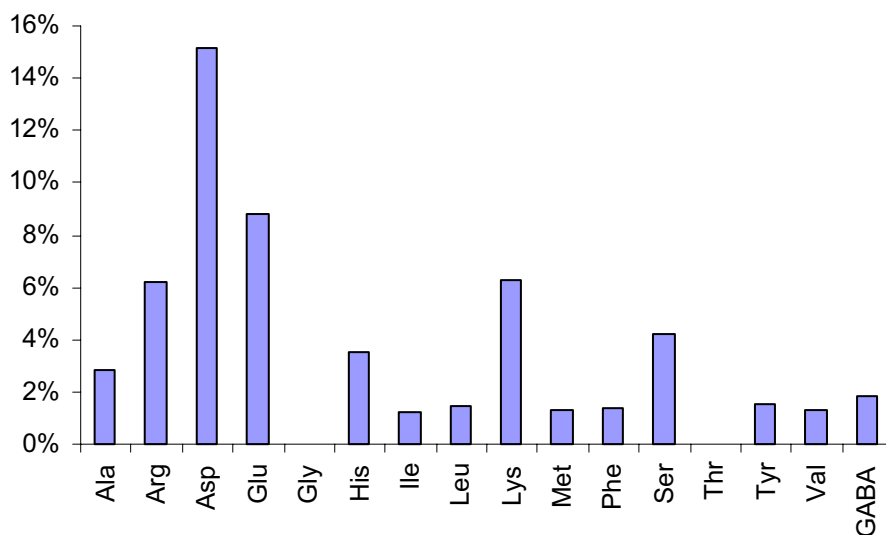


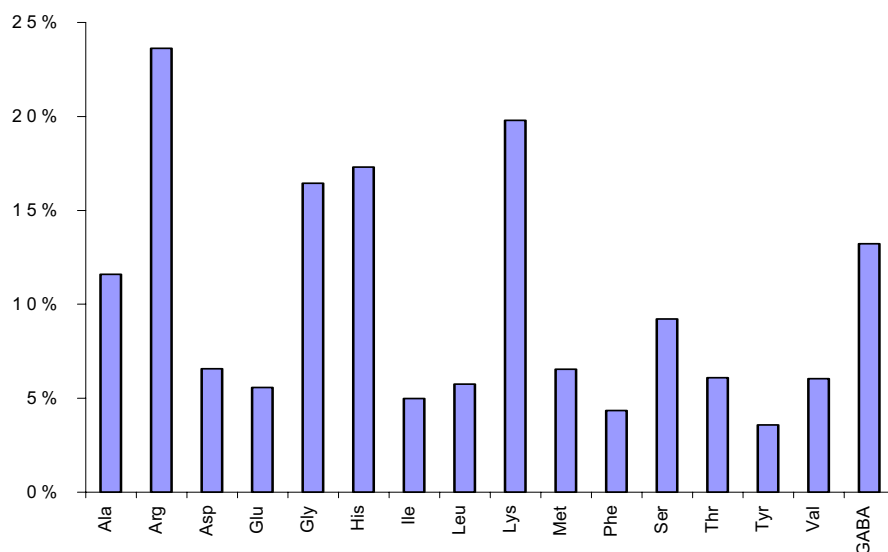
Abb. 64: Transfer von Aminosäuren aus der Feedlösung in die Salzfraction bei pH 6,6 (Saft SJP02; Nr. 01a/1)

Wie man in Abb. 64 erkennt tendieren vor allem die basischen Aminosäuren (Arg, Lys) und die sauren Aminosäuren (Asp, Glu) auf Grund ihrer Ladung dazu in die Salzfraction transportiert zu werden. Die Diffusionseigenschaften dieser Moleküle sind im Vergleich zu den anorganischen Salzen und zur Milchsäure wesentlich schlechter (Dorfner 1991, Kraaijeveld et al. 1995).

Insgesamt werden 90 bis 95 % der einwertigen Salze (vor allem Kalium), rund 90 % der Milchsäure und etwa 50 % der zweiwertigen Ionen in die Salzfraction übergeföhrt.

Die ungeladenen Moleküle – gemessen wurden einwertige Zucker – verbleiben zu mehr als 95 % in der Feedfraction.

Alternativ zur Elektrodialyse wurde angedacht Aminosäuren zusammen mit Salzen von Milchsäure und Zucker abzutrennen. Bei pH 1,3 sind alle Carboxylgruppen der Aminosäuren in H-Form (undissoziiert) und alle Aminogruppen geladen. Auf Grund dieser Ionisierung sollten alle theoretisch alle Aminosäuren durch das elektrische Feld in der Elektrodialyseapparatur in die Salzfraction wechseln. Die Praxis zeigt allerdings ein anderes Bild (siehe unten).

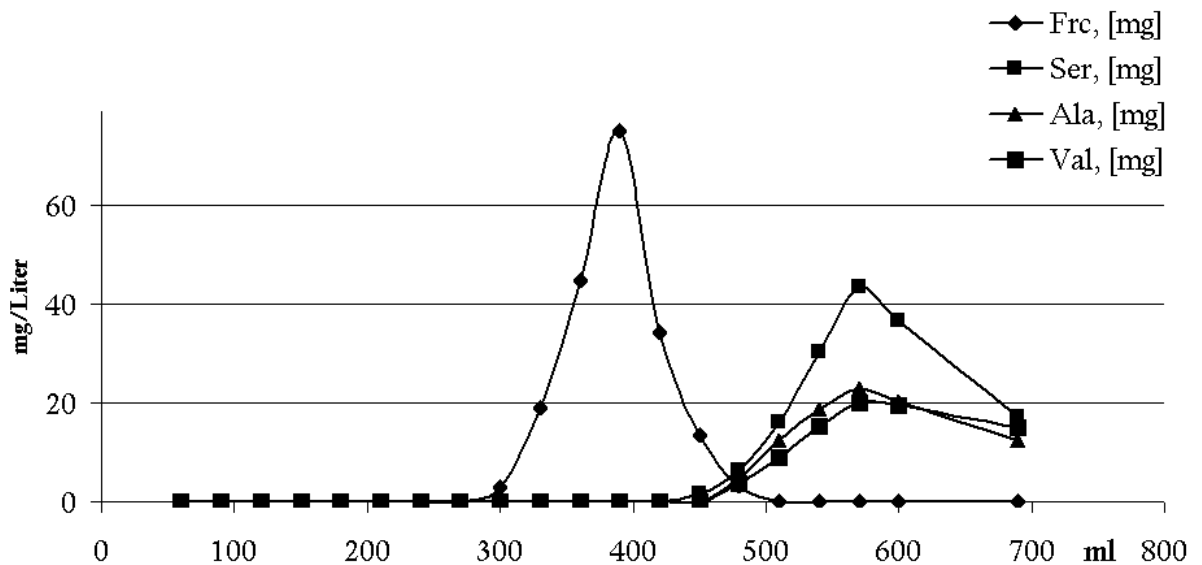


**Abb. 65: Transfer von Aminosäuren aus der Feedlösung in die Salzfraction bei pH 1,3 (SJP02; Nr. 01a/1)**

Es zeigt sich, dass in einer realen Lösung wie Silagesaft Aminosäuren sich nicht auf Grund ihrer positiv geladenen Aminogruppe abtrennen lassen. Die experimentellen Ergebnisse lassen sich durch theoretische Ansätze (Kraaijeveld et al. 1995) erklären und geben Anlass die Trennen bei pH 6,6 zu favorisieren. Insgesamt gehen bei pH 6,6 rund 4 % aller Aminosäuren in die Salzfraktion – das kann als sehr gute Trennung aufgefasst werden.

Der entsalzte Saft sollte nun an einen hohen Anteil an Aminosäuren haben. Er kann nun bis zu 30 bis 60 % Trockensubstanz aufkonzentriert werden und als Ausgangslösung für einen Chromatographieschritt dienen.

In der Zuckerindustrie wird die Chromatographie zur Trennung von Melasse in Saccharose, Invertzucker (Fructose und Glucose) und Nichtzuckerbestandteilen getrennt. Dabei werden Chromatographiesäulen mit bis zu 8m Höhe eingesetzt. Als Harz dienen stark saure Kationentauscherharze die mit Alkalimetallen (meist Ca) beladen sind. Es kommt nicht zu einer Trennung auf Grund echten Ionentauschs sondern zu unterschiedlichen Driftgeschwindigkeiten auf Grund unterschiedlicher Diffusion. Ionen mit zur Beladung äquivalenter Ionen werden bei der Ionenausschlusschromatographie an einer Diffusion in die innere Harzstruktur durch die entstandene Potentialbarriere (Donanmembran) gehindert und eluieren ohne Zeitverzögerung. Organische Moleküle eluieren abhängig von ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften (Größe, Ladung...) unterschiedlich. Versuche am Institut für Lebensmitteltechnologie an der Univ. für Bodenkultur, Wien ergaben, dass Zucker (Fructose) und Aminosäuren (Alanin, Serin) unterschiedlich in einem mit Kalzium beladenen Harzbett zurückgehalten werden (siehe Abb. 66).



**Abb. 66: Versuch chromatographische Trennung von Fructose und Aminosäuren des Grassilagesaftes**

Im beschriebenen Versuch kam ein Standard Kationentauscherharz der Firma Lewatit (MDS 1368 in Ca-Form) wie es auch in der Zuckerindustrie verwendet wird zum Einsatz. Maßgebend für die Trennleistung ist die Säulenhöhe, der Durchmesser der Harzkugeln (350 Mikrometer) und die Uniformität der Harzkugeln.

Es wurde eine Glassäule mit 25mm Innendurchmesser und 900 mm Höhe verwendet. Die Flussrate des Eluationsmittels (dionisiertes Wasser) betrug ein Bettvolumen pro Stunde. Bei 700 ml wurde gestoppt. Das Eluat wurde in 30 ml-Fractionen aufgefangen und per HPLC (Dionex 500) quantitativ auf Aminosäuren und Fructose untersucht.

Als Feed wurde eine Modellösung mit je 210 mg Frc, Ala, Ser und Val aufgelöst in 40 ml verwendet. Der Versuch und auch alle weiter beschriebenen Chromatographieversuche wurden bei 60°C und pH 6 durchgeführt.

Allgemein lässt sich sagen, dass die Trennung in eine Zucker- und Aminosäurefraktion technisch möglich ist.

Bei einem weiteren Versuch wurde an der selben Säule Milchsäure und Serin getrennt. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass Milchsäure eher mit Zucker als mit Aminosäuren eluiert.

In der Literatur werden Ionenausschlussprozesse auch zur Trennung von Lysin und Sulfat beschrieben (Inkyu et al. 2002).

In der Praxis wird ein solcher Chromatographieprozess als kontinuierlicher Prozess durchgeführt. In einem “Improved Simulated Moving Bed” Prozess wird mit mehreren Säulen in Serie gearbeitet.

An 4 in Serie geschalteten Säulen die mit 3 Wegeventilen verbunden sind werden in jeweils 2 abwechselnden Schritten einmal ohne Entnahme durch zirkulierenden Eluati-  
onsfluss getrennt und einmal bei Zugabe von Feed bzw. Wasser an zwei Stellen, Ent-  
nahme von 2 Fraktionen an anderen 2 Stellen und gleichzeitigem Eluati-  
onsstrom ge-  
trennt. Die Entnahme von reinen Fraktionen erfolgt immer nur an den Flanken der „Peaks“  
wo es kaum Vermischung gibt. Das neue Feed wird im Bereich der größtem Vermischung  
zugegeben.

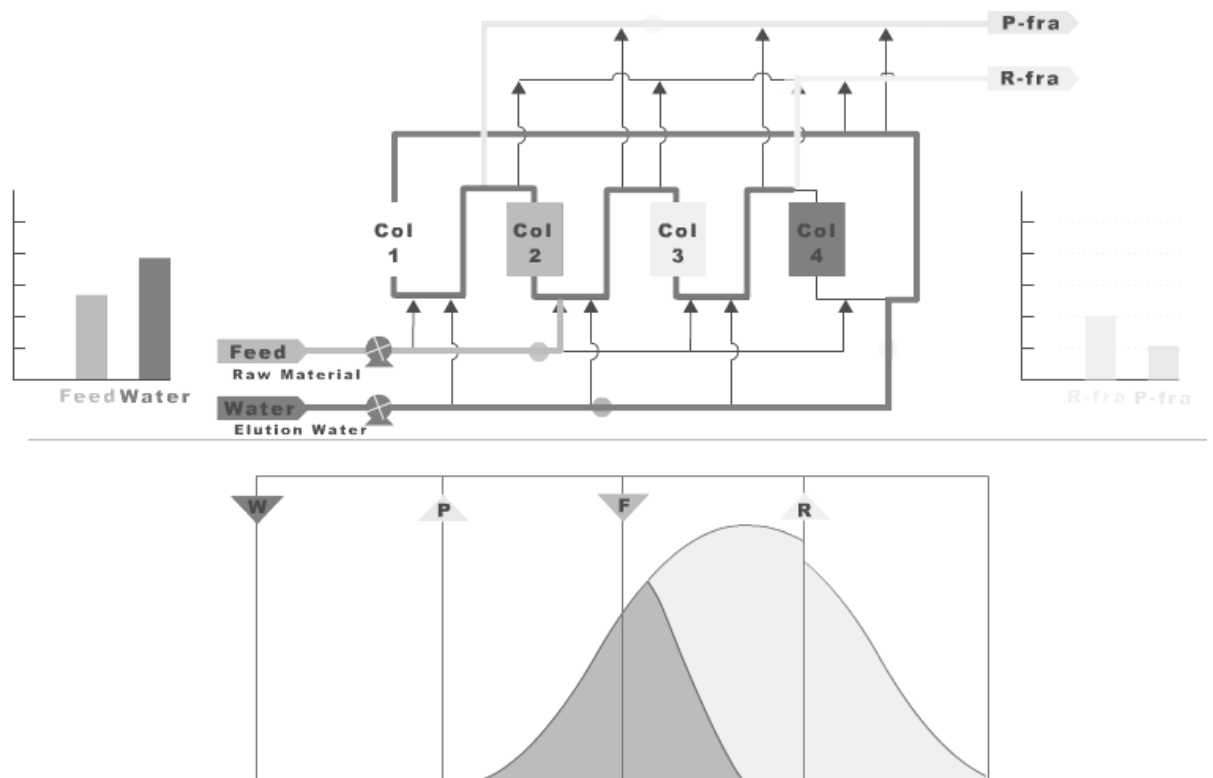


Abb. 67: “Improved Simulated Moving Bed” Prozess zur Trennung in 2 Fraktionen (Nippon Rensui EP 1 2050 224 A1)

Im speziellen Fall eines Aminosäuregemisches kann man dem Kreislauf zwei Vorsäulen mit Harzen die einen besondere Affinität zu phenolischen Molekülen haben vorschalten. An diesen Säulen sollten die phenolischen Aminosäuren Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan sowie weitere polyphenolische Verbindungen mit unterschiedlicher Intensität haften. Damit könnte die Lösung einerseits entfärbt werden andererseits könnten 3 Aminosäuren vom Aminosäurenpool isoliert werden.

Die eigentliche Isolierung der einzelnen Aminosäuren erfolgt nach der Gewinnung einer reinen Aminosäurefraktion. In der Praxis der Gewinnungen von Aminosäuren aus Hydrolysaten werden Ionenaustauscherprozesse zur Fraktionierung in saure, basische und neutrale Aminosäuren angewendet (Dorfner 1991). In weiterer Folge werden einzelne Aminosäuren durch Kristallisation und spezielle Ionenaustauscherprozesse isoliert (Kali Chemie AG 1995 DE 3326633). Klassisch ist die Trennung an Kationenaustauschersäulen bei Gradientenelution (Moore und Stein 1954).

Alternativen zu diesen chemikalien- und energieintensiven Prozessen ist die Verdrängungschromatographie die oft in wissenschaftlichen Publikation angeführt wird, von der aber keine industriellen Applikationen bekannt sind (Horvath et al. 1983).

Eine weitere Möglichkeit zur Fraktionierung wäre die Nanofiltration mit einem Cutoff zwischen großen und kleinen Aminosäuren (Glycin 75 Dalton Alanin 89 Dalton, Gaba 91 Dalton– Isoleucin, Leucin 131 Dalton, Asparagin 132 Dalton , Glutamin 146 Dalton). Die Nanofiltration hätte den Vorteil, dass keine Chemikalien eingesetzt werden müssen.

## **6 Zusammenfassung**

Wie frühere Untersuchungen mit keramischen Membranen (cut-off ca. 1 kD) gezeigt haben, kann der Silagesaft bei relativ hohen Permeatflüssen nanofiltriert werden. Es ist allerdings anzustreben, die Qualität des Permeates durch höhere Rückhaltung möglichst vieler Inhaltsstoffe abgesehen von Milchsäure zu erhöhen. Wie die Untersuchungen zeigen, verringert sich der Permeatfluss bei einer dichteren Membran drastisch. Obwohl durch geeignete Vorbehandlungsmethoden der Fluss etwas gesteigert werden kann, wird zu untersuchen sein, ob nach einer weitgehenden Entfernung anorganischer Salze ein zufriedenstellender Permeatfluss zu erreichen ist. Erst dann können noch dichtere Nanofiltrationsmembranen getestet werden.

Die „Leistungsfähigkeit“ eines zweistufigen ED-Prozesses (entsprechend Abb. 62) nach einer Nanofiltration (keramische Membranen, cut-off 1kD) und einer anschließenden

Phosphatfällung ist in Tab. 20 dargestellt. Wie zu erwarten war, ist eine Nachbehandlung bzw. die Verwendung weiterer Verfahren erforderlich, um eine für den Lebensmittelbereich geeignete Milchsäure zu erzeugen. Naturgemäß ist auch hier eine weitere Optimierung der gesamten Prozesskette erforderlich, da die spezifischen Produktionskosten deutlich über den konventionellen Kosten einer fermentativ hergestellten Milchsäure liegen.

**Tab. 20 "Leistungsfähigkeit eines zweistufigen ED-Prozesses mit Nanofiltration und Phosphatfällung als Vorbehandlungsschritt**

	Ausgangslösung [g/L]	Produktlösung [g/L]
Glucose	8.43	0.12
Fructose	14.28	0.23
Arabinose	1.62	0.03
Galactose	2.70	0.04
Xylose	1.38	0.01
Saccharose	5.00	0.25
Mannitol	2.81	0.13
Amino acids	24.11	2.16
K <sup>+</sup>	17.66	0.19
Na <sup>+</sup>	1.98	0.16
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.65	0.02
Ca <sup>2+</sup>	0.48	0.02
Mg <sup>2+</sup>	0.07	not detectable
Cl <sup>-</sup>	20.37	0.33
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1.52	not detectable
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.04	0.15
Lactate	29.00	28.96 (Milchsäure)
Acetate	1.80	1.87

Nach dem derzeitigen Stand des Wissens ist mittelfristig nicht damit zu rechnen, dass mit einem relativ einfachen chromatographischen Trennprozess, die Abtrennung der Milchsäure aus dem vorliegenden Silagesaft praktisch durchführbar ist. Die Komplexität der Aufgabenstellung ist deutlich aus Abb. 67 erkennbar. Man kann davon ausgehen, dass eine Kombination verschiedener Methoden erforderlich sein wird, um die Milchsäure zu gewinnen.



### **6.1 Schlussfolgerungen für die weitere Entwicklung**

Eine klar definierte Down-stream Prozesskette, die zur Lösung der Aufgabenstellung führt, kann auch nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen noch nicht vorgeschlagen werden. Hierzu sind insbesondere weitere umfangreiche chromatographische Untersuchungen erforderlich. Außer Frage steht, dass die Chromatographie erforderlich sein wird, um die Milchsäure in reiner Form (Lebensmittelqualität) zu gewinnen. Thematisch gehört das Sachgebiet in den Bereich der Grundlagenforschung.

Gesichert ist auch, dass Membranverfahren (NF, ED, EDB) eine zentrale Rolle bei der vorliegenden Aufgabenstellung spielen. Auch hier sind weitere umfangreiche Untersuchungen erforderlich. Bei einer etwaigen Realisierung der ersten ED-Stufe (Milchsäureproduktion ca. 1000 t pro Jahr) würde die Anlage zu den weltweit größten zählen. Die Größe einer derartigen Anlage sowie der neuartige Rohstoff sind zwei Faktoren, die tiefgreifende Untersuchungen hinsichtlich Massentransfer und Zellwiderstand erfordern. Darüber hinaus muss versucht werden einen Teil der anorganischen Salze mittels NF abzutrennen.

Die Down-stream Kosten werden immer höher liegen als dies bei fermentativ hergestellter Milchsäure der Fall ist. Allerdings könnte durch die Aufteilung der Kosten auf verschiedene "wertvolle" Produkte (Aminosäuren, Milchsäure) eine konkurrenzfähige integrierte und nachhaltige Technologie entwickelt werden.

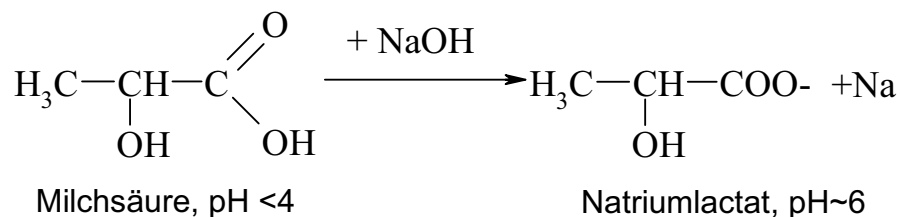
## Anhang G

### Untersuchungen zur Erzeugung von Aminiumlactat und Ethyllactat

#### 1 Herstellung von Aminiumlactat

##### 1.1 Einleitung

Milchsäure wird industriell ausschließlich fermentativ hergestellt. Während der Fermentation sinkt der pH Wert der Fermentationsmaische durch die entstehende Säure und muss durch Zugabe einer Base neutralisiert werden um eine optimale Fermentation (pH~6) zu ermöglichen. Das Produkt ist also nie Milchsäure sondern Milchsäuresalz. Bei der derzeit etablierten Milchsäureherstellung wird meist CaO verwendet (Fällung von Kalziumlactat). Weitere mögliche Neutralisationsmittel sind NaOH und NH<sub>3</sub> die dabei entstehenden Salze sind Natriumlactat und Ammoniumlactat.



**Abb. 68: Neutralisation von freier Milchsäure**

Das gewünschte Produkt Milchsäure wird aber in saurer Form als freie Säure (H-Lactat) für den Einsatz als Lebensmittelsäure oder Ausgangsstoff für Polylactid benötigt. Der wichtigste Schritt zum Produkt saure Milchsäure ist die Trennung des Milchsäuresalz. Zwei unterschiedliche Verfahren werden derzeit angewendet. Im ersten Verfahren wird zuvor aus der Fermentationsmaische gefälltes Kalziumlactat mit großen Mengen Schwefelsäure behandelt wobei das gesamte Kalzium als Kalziumsulfat ausfällt und als Abfall (Gips) anfällt. Im zweiten Verfahren wird ein lösliches Milchsäuresalz wie z.B. Natriumlactat mittels bipolarer Elektrodialyse in Milchsäure und Lauge (NaOH) getrennt.

In einem Patent aus dem Jahr 1997 hat eine deutsche Forschungsgruppe einen Weg zu Milchsäureprodukten über Neutralisation der Milchsäure mit basischen Amiden vorgestellt (Kamm und Kamm 1997).

Das Milchsäureamid (Aminiumlactat) wird von Begleitstoffen getrennt, aufkonzentriert und kristallisiert (Kamm et al. 1997).

Diese Aminiumlactate weisen niedrige Schmelzpunkte zwischen 80 und 140°C, gute Kristallinität, Handhabbarkeit und Lagerfähigkeit auf und werden mit Hilfe eines Katalysators bei hohen Temperaturen zur Synthese von neutralem Dilactid – eine wichtige Vorstufe zu Polylactat - eingesetzt. Das eingesetzte Amid kann nach einer Trennung vom Dilactat (Destillation) recycelt werden (Kamm et al 1998).

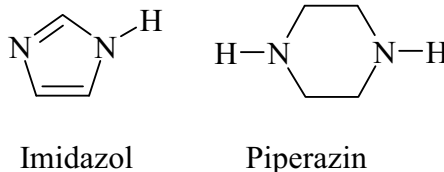
In diesem Projekt wurde die Möglichkeit untersucht, ob auch bei Ausgangslösungen wie sie nach einer Aufreinigung und Konzentrierung von Silagesäften vorliegen der Weg zu reinem Aminiumlactat gangbar ist.

Die Kristallisation von Milchsäure zu Aminiumlactat führt theoretisch auch zu einer Trennung von Milchsäure (als Aminiumlactat) und Verunreinigungen (wie z.B. Glucose und Kaliumchlorid). Bei der Aufreinigung von Milchsäure aus Silagesäften könnte als Endreinigungsschritt die Aminiumlactat-Ausfällung eingesetzt werden. Das gewonnene Aminiumlactat könnte entweder direkt als Wertstoff im Bereich Pharmazie und Kosmetik eingesetzt werden oder als Ausgangsprodukt zur Produktion von Polylactat dienen.

Voraussetzung für die Eignung der Amine sind:

- Wasserlöslichkeit
- ausreichende Basizität für eine gute Salzbildung
- Thermo-, Säure- und Katalysatorenstabilität für ihre Rückgewinnung

Als besonders geeignet gelten Imidazol und Piperazin.



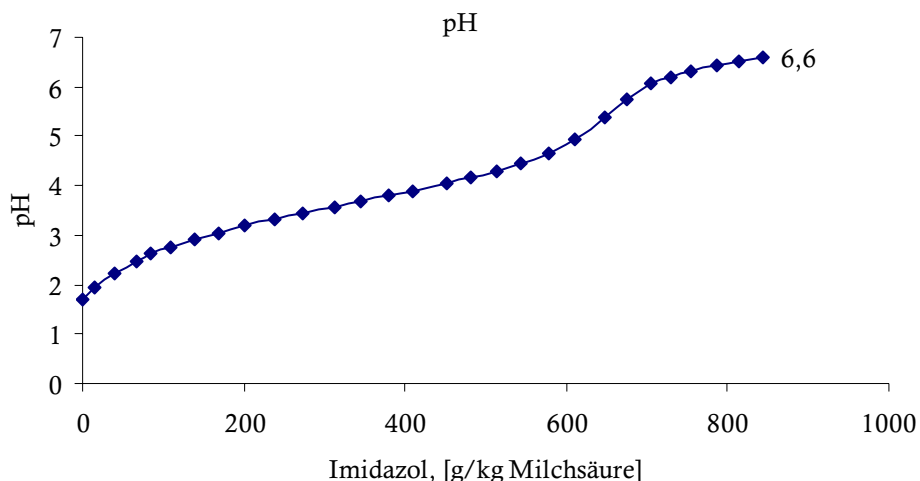
**Abb. 69: Chem. Struktur von Imidazol und Piperazin**

**Tab. 21 Physikalische Eigenschaften von Aminium-lactaten (Kamm und Kamm 1997)**

Verbindung	Schmelzpunkt/-bereich in °C
1,4 Piperazonium –(L,L)-dilactat (rein)	111-115
Imidazolium-(L)-Lactat (rein)	81

## 1.2 Titration

Die Titration von 1,85 molarer Milchsäure ( $M_r=90,08$  g/mol) zeigt, dass die Milchsäure stöchiometrisch mit Imidazol ( $M_r=68,08$  g/mol) neutralisiert werden kann (vgl. Kromus et al. 2002).

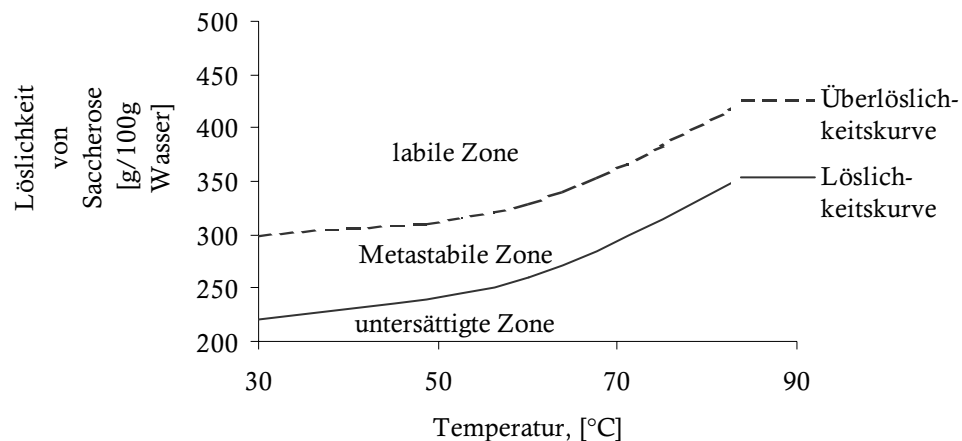


**Abb. 70: Titrations von 0,2 molarer Milchsäure. Titrationsbase Imidazol (fest)**

## 1.3 Kristallisation von Imidazoliumlactat

Ziel der ersten Versuche war ein Herantasten an den metastabilen Bereich des Systems Wasser – Imidazoliumlactats. Wie am Beispiel der Kristallisation von Zucker veranschaulicht, gibt es abhängig von der Temperatur Konzentrationen bei denen es zu Kristallwachstum kommt. Wird die Konzentration ausgehend vom untersättigten Bereich erhöht so kommt es beim Überschreiten der Löslichkeitskurve zu Bildung von Kristallisationskeimen. Bei weiterer Aufkonzentrierung kommt es bei Überschreiten der Überlöslichkeitskurve zu unkontrolliertem Kristallwachstum. Bei einer industriellen Kristallisation wird ver-

sucht im metastabilen Bereich die Kristallisation (Kristallgrösse) zu steuern. In den folgenden Versuchen wurde die Konzentration einer Imidazoliumlactat-Lösung per Vakuumverdampfung erhöht, bzw. die Temperatur verändert und beobachtet ob es zu Bildung von Kristallen kommt (Überschreiten der Löslichkeitskurve).



**Abb. 71: Löslichkeitsdiagramm von Saccharose als Beispiel für typische Kristallisationsbedingungen (übertragen aus Hein 2003)**

#### 1.4 Verdampfungskristallisation

Es soll die Löslichkeit von Imidazoliumlactate bzw. die technische Machbarkeit einer Verdampfungskristallisation untersucht werden. In den folgenden 2 Versuchen zeigt sich, dass eine einfache Verdampfungskristallisation nur unter extremen Bedingungen möglich ist.

##### 1.4.1 Versuch 1 – Verdampfungskristallisation

Eine wässrige Imidazoliumlösung (siehe obige Titration, 300 g/L; Abb. 70) diente als Ausgangssubstanz. Unter Berücksichtigung des Schmelzbereichs von Imidazoliumlactat (76-78°C) wurde eine Prozesstemperatur von 60°C und ein Anfangsdruck von 70 mbar gewählt. Während des Evaporationsprozesses wurde der Unterdruck auf 30 mbar verringert und bei einem errechneten Trockenmassegehalt von 65 % gestoppt. Weder während der Kristallisation noch bei Lagerung bei 4°C kam es zu einem Kristallisationsstart.

#### **1.4.2 Versuch 2 - Verdampfungskristallisation**

Das 65 % ige Imidazoliumlactat von Versuch 1 wurde bei Temperaturen bis 80°C und Drücken unter 10 mbar in der Eindampfvorrichtung bis zu einer errechneten Trockenmasse von 87 % eingedampft. Während der Kristallisation und auch bei Lagerung bei Raumtemperatur kam es zu keiner Kristallbildung.

Während der Lagerung bei 4° C kam es zu einer Kristallisation. Die gesamte ehemalige Lösung verwandelte sich in eine wachsartige Masse mit Kristallen unter 1 mm.

Das Imidazoliumlactat wurde im Vakuumtrockenschrank getrocknet und unter Luftabschluss gelagert. Auch im trockenem Zustand ist wachsartig die zutreffenste Beschreibung.

#### **1.5 Imidazolfällung**

Die Erkenntnis der Versuche 1 und 2 war, dass es schwierig ist jene Konzentrationen zu erreichen bei denen es zu einem Kristallwachstum kommt. In den Versuchen 3 wurde ausgehend von hochkonzentrierten Ausgangsstoffen versucht ein Kristallwachstum zu erzeugen, um reine, große Kristalle zu gewinnen die per Filtration als Reinsubstanz abtrennbar sind. Das gelang mit geringer Ausbeute (weniger als 0,5 g pro 50 g Suspension). Die gewonnen Kristalle wurden ohne Luftabschluss gelagert und lösten sich mit Luftfeuchte wieder vollständig auf.

### 1.5.1 Versuch 3 – Imidazolfällung, reine Milchsäure

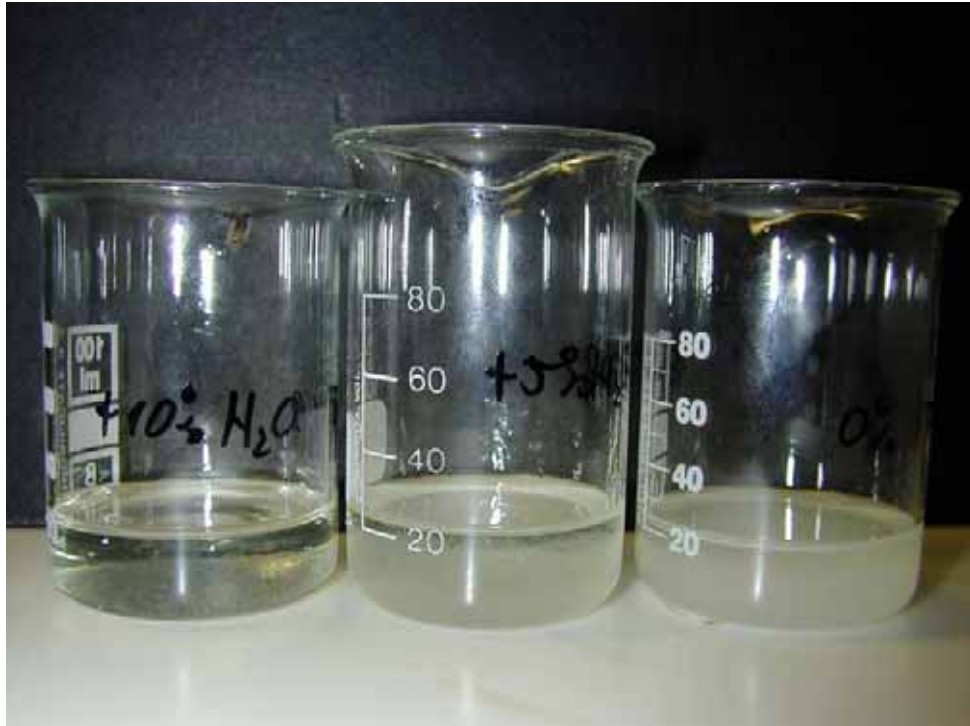
87,5 prozentige L-Milchsäure wurde mit Imidazol versetzt bis es zu einer Kristallbildung kam. Durch Rühren, Temperaturkontrolle und weitere Zugabe von Imidazol wurde versucht im metastabilen Bereich Kristalle zu züchten.



**Abb. 72: Zugabe von Imidazol zu 85 prozentige Milchsäure. Beginn der Kristallkeimbildung**

Milchsäure liegt bei 87,5 prozentiger Konzentration nur mehr zu einem geringen Teil als freie Milchsäure vor und ist dickflüssig. Dies erschwert die Beobachtung da es zu Einrührung von Luftblasen kommt, wobei es zu einer Trübung kommt, die einer Kristallisation ähnelt (bei Zugabe von 20 bis 50 g Imidazol/100 g Milchsäure).

Bei einer Zugabe von rund 60 g Imidazol/100 g Milchsäure wurde die Lösung mit Imidazoliumlactat Kristallen aus Versuch 2 bei 45°C angeimpft. Bei einer Lagerung bei 4 °C kam es zu einer weiteren Kristallisation (siehe Abb. 73 rechts).



**Abb. 73: Imidazoliumlactat in Milchsäure/Wassergemisch bei Raumtemperatur. Rechts: Gemisch von Versuch 3 unverdünnt. Mitte: Gemisch mit 5 % Wasser verdünnt, Links: Gemisch mit 10 % Wasser verdünnt**

Nach Erreichung eines Gleichgewichts bestand die Lösung fast ausschließlich aus einer sehr viskosen Kristallsuspension. Diese Suspension wurde wieder mit Wasser (5 %, 10 %) verdünnt. Es zeigt sich, dass es schon bei einer Zugabe von 5 % Wasser zu einer teilweisen Auflösung der Kristalle und zu einer Trennung Suspension/Mutterlauge kommt. Die mit 5 % Wasser verdünnte Lösung wurde mit einem 0,45 µm Papierfilter bei einem Unterdruck von 100 mbar filtriert. Beim (vorsichtigem) Nachspülen mit Wasser lösen sich alle filtrierten Kristalle. Bei einem weiteren Versuch gelang es rund 0,5 g Imidazoliumlactatkristalle aus rund 50 mL Suspension zu gewinnen.

#### **1.5.2 Versuch 4 – Imidazolfällung, verunreinigte Milchsäure**

Versuch 3 wurde mit einer verunreinigten Milchsäurelösung wiederholt.

Die in Tabelle 22 beschriebene Milchsäurelösung wurde bei langsamen Rühren und Kühlen mit Imidazol versetzt.



**Tab. 22 Zusammensetzung der Milchsäurelösung im Versuch 4**

Stoff	g/100 gMilchsäure
Milchsäure, 87,5 %	114,3
Glucose	0,5
Fructose	0,5
KCl	2
Ala	0,1
Asp	0,3
Glu	0,2
Essigsäure	3
NH <sub>4</sub> Cl	0,5

Bei 50 g/100 g Milchsäure wurde die hochviskose Lösung mit Kristallen aus Versuch 2 angeimpft – (wobei es zu Bildung von großflächigen Kristallen an der Oberfläche kam) - und bei 4 °C gelagert. Die Kristallsuspension (im Gegensatz zu den globularen salzähnlichen Kristallen von Versuch 3 gab es hier nadelförmige Kristalle) wurde wie in Versuch 3 filtriert.

## 1.6 Verdampfungskristallisation mit Kühlung

Die Versuche 5 und 6 wurden mit einem Rotationsverdampfer durchgeführt. Im Gegensatz zu den Versuchen 1 und 3 wurde versucht neben der Aufkonzentrierung durch Abdampfen des Wassers gleichzeitig die Temperatur zu variieren um den Metastabilen Bereich zu erreichen.



Abb. 74: Rotationsverdampfer

### 1.6.1 Versuch 5– reines Imidazoliumlactat

Imidazoliumlactatlösung von Versuch 1 (65 %) wurde beginnend bei 50°C und 35 mbar eingedampft. Im Verlauf des Experiments wurde der Druck bis auf 5 mbar verringert. Bei einer theoretischen Konzentration über 90 % bei 20°C kam es zu einem Kristallisationsstart.

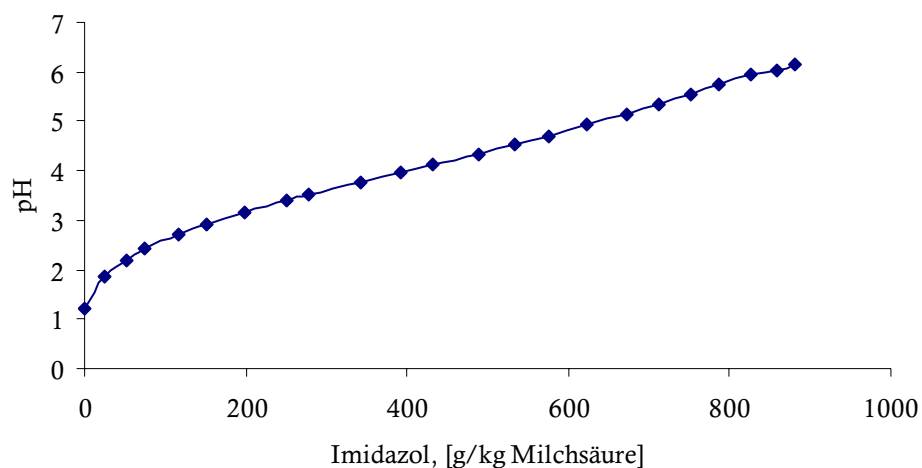


**Abb. 75: Kristallisation bei 20°C**

Die Suspension wird bei 4°C hochviskos und ist nicht mehr fließfähig. Bei rund 30 °C wird die nun wieder fließfähige Suspension filtriert und der kristalline Rückstand vorsichtig gespült. Ausbeute: rund 1 g pro 40 g Suspension.

#### 1.6.2 6. Versuch Milchsäure mit Essigsäureverunreinigung

Ein Gemisch aus Milchsäure und Essigsäure (20:1) wurde mit Imidazol neutralisiert (Abb. 76), eingedampft und durch Kühlung kristallisiert.



**Abb. 76: Kristallisationsbeginn des Gemisch (Imidazol, Lactat/Acetat)**



**Abb. 77: Kristallisationsbeginn des Gemisch (Imidazol, Lactat/Acetat)**

Wie bei Versuch 5 gelingt es aus einer Kombination von Aufkonzentrierung (Eindampfung) und Kühlung eine Kristallbildung einzuleiten. Die Bilder der Kristalle in Abb. 77 sind aus einer Momentaufnahme entstanden. Im weiteren Verlauf kristallisierte der gesamte Gefäßinhalt aus. Um die Kristalle bzw. die Kristallsuspension wie in Versuch zu Filtrieren wurde wieder auf 30 °C erwärmt wobei eine zähflüssige Suspension mit Kristallen unter 0,5 mm entsteht. Ausbeute: rund 1 g pro 40 g Suspension.

### **1.7 Schlussfolgerungen**

Eine Kristallisation von Imidazoliumlactat ist prinzipiell schwierig da die Löslichkeit, auch bei Raumtemperatur, sehr hoch ist (~90 g/100mL). Ein Abdampfen von Wasser aus einer 65 % igen Imidazoliumlactatlösung ist nur bei sehr geringen Drücken (<10 mbar) und Temperaturen um die 50°C möglich. Die im Patent beschriebenen Kristallisationsversuche werden mit einem Umkristallisierungsschritt in organischen Lösungsmitteln durchgeführt. Dieser Aufwand scheint bei einer großtechnischen Gewinnung von Milchsäure nicht sinnvoll.

Das Produkt Imidazoliumlactat ist wachsartig, weiß, angenehm auf der Haut und extrem hyroskopisch. Applikationen im Kosmetikbereich sind denkbar.

Ein Endreinigungsschritt der Milchsäure durch Auskristallisieren von Imidazoliumlactat ist nicht zu favorisieren.

## 2 Herstellung von Milchsäureester (Ethyllactat)

Milchsäureester sind Schlüsselchemikalien für die Herstellung von biologisch abbaubaren Polymeren (Polylactide), für die Herstellung von weiteren sauerstoffhaltigen Grundchemikalien, wie Propylenglykol, Acrylsäure und Acrylsäureestern, von Pflanzenwachstumsregulatoren und "grünen" Lösungsmittel. Milchsäureester sind aufgrund ihres hohen Siedepunktes (nichtflüchtig), nichttoxisch und abbaubare Verbindungen. Die Eigenschaften von D-Milchsäureester und L-Milchsäureester können als identisch angenommen werden. Damit ergibt sich auch für die Silagemilchsäure ein interessantes Produkt.

Tab. 23 Milchsäureethylester: Formel und Eigenschaften

<b>Milchsäureethylester</b> Ethyllactat [97-64-3] $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_3$ M:118,13	<b>Eigenschaften:</b> farblose Flüssigkeit Kp: 154°C (bei 101.3kPa) $\rho$ 1.030 g/cm <sup>3</sup> $n_D^{20}$ 1.4124
mischbar mit Wasser, Ethanol und Diethylether in jedem Verhältnis langsam flüchtiges Lösungsmittel mit mildem Geruch	

### 2.1 Milchsäureethylester aus Grassilagesäften

Zunächst wurden im Rahmen dieses Projekts durch die Partner der Universität Potsdam (B. Kamm) die Untersuchungen an Standard Milchsäurefermentationsbrühen (Rohstoff Getreide), in denen nach der Fermentation eine Konzentration von 10 % Milchsäure vorlag, durchgeführt. Zunächst wurde die Biomasse abgetrennt und anschließend auf eine Konzentration von 50 % Milchsäure mittels Vakuumrotationsverdampfer angereichert. Die BearbeiterInnen gehen davon aus, dass das nutzbare Milchsäure-Potential aus fermentierter Gras-Silage ebenso mit einer Konzentration von ca. 10 % Milchsäure beziffert werden kann. Die Veresterungsreaktionen wurden zunächst in einem 2l-Laborreaktor durchgeführt. Auf Basis der erhaltenen Labor-Daten wird nachstehende Versuchsanordnung und Vorschrift als Grundlage für eine verfahrenstechnische Auslegung auf ein 20 l Reaktionsgefäß und einer Füllkörperkolonne von 3-5 m vorgeschlagen.

#### 2.1.1 Versuchsanordnung und Vorschrift

Ein 20 l Glasreaktionsgefäß (bestehend aus einem Reaktorunterteil, Kammdichtung sowie einem 4 Halsreaktordeckel zum Aufsetzen eines Rührers, mit Thermoelement zur Kontrolle der Reaktionstemperatur, und einer Öffnung zum Einführen der Ausgangskomponenten-

ten, Füllkörperkolonne Höhe 3-5 m gefüllt mit Adsorbentien (Träger auf Siliziumdioxid-Basis oder Aktivkohle-Basis) zur Geruchsentfernung und Kolonnenkopf mit Thermoelement) wird mit 5 kg 50 %iger Milchsäurefermentationslösung (nach Abtrennung der Biomasse und Aufkonzentration auf ca. 50 Massenprozent) gefüllt, die noch Natriumionen oder Ammonium-Ionen (Natriumlactat/ Ammoniumlactat) und einige Verunreinigungen aus der Fermentation (Nährsalze) enthält. Die Mischung wird mit 10 kg technischem Ethanol unter evtl. Rühren versetzt und mit Schwefelsäure auf einen pH-Wert von 0.7-1.4 eingestellt. Die Mischung wird auf eine Temperatur von zunächst 100°C erwärmt und langsam das Wasser/ Ethanol-Gemisch abdestilliert und schließlich 3 Kg Milchsäureethylester destillativ bei einer Temperatur von 175°C gewonnen. Nach destillativer Auftrennung des Wasser/ Ethanol- Gemisches werden 7 kg Ethanol und 2 Kg Wasser zurückgewonnen).

## **2.2 Spezielle Anforderungen aus Silagefermentationsbrühen**

Die Verfahrensgestaltung der Herstellung der Milchsäureester war an Original-Silagefermentationsbrühen so auszulegen, dass sie einerseits weitestgehend an den fermentativen Herstellungsprozess der Milchsäure-Gewinnung gekoppelt wird, andererseits zu hohen Ausbeuten an Produkt führt, um eine Wirtschaftlichkeit des Prozesses sicherzustellen.

## **2.3 Versuchsdurchführung mit einer Silagemilchsäure Modelllösung**

Aufgrund der gestiegenen Komplexität der Milchsäureabtrennung wurde im Projektverlauf entschieden eine Modelllösung für die weiteren Versuche heranzuziehen. Es wurde daher Analog zu den Ergebnissen der Elektrodialyseversuche eine Modelllösung zusammengestellt (Tab. 24).

**Tab. 24 Grassilage-Milchsäure – Modelllösung zur Herstellung von Ethyllactat**

pH Wert	1,8
<b>Milchsäure</b>	<b>200,00 g/l</b>
Glucose	0,50 g/l
Fructose	0,50 g/l
Mannitol	0,03 g/l
Arabinose	0,03 g/l
Xylose	0,03 g/l
<b>Zw. Summe Zucker</b>	<b>1,10 g/l</b>
Na+	0,25 g/l
K+	0,25 g/l
Sulphat	0,20 g/l
Phosphat	0,20 g/l
Cl-	0,10 g/l
<b>Zw. Summe Salz</b>	<b>1,00 g/l</b>
Ala	0,31 g/l
Arg	0,03 g/l
Asn	n.b.
Asp	2,12 g/l
Cys	n.b.
Gln	n.b.
Glu	0,87 g/l
Gly	0,22 g/l
His	0,03 g/l
Ile	0,08 g/l
Leu	0,16 g/l
Lys	0,32 g/l
Met	0,03 g/l
Phe	0,08 g/l
Pro	n.b.
Ser	0,25 g/l
Thr	0,17 g/l
Trp	n.b.
Tyr	0,07 g/l
Val	0,13 g/l
GABA	0,15 g/l
<b>Zw. Summe Aminos.</b>	<b>5,03 g/l</b>
<b>Summe</b>	<b>207,13 g/l</b>

Für die weitere Projektbearbeitung stand B. Kamm im Forschungs-, Entwicklungs- und Praxisverbund Grüne BioRaffinerie Brandenburg eine Anlage der Firma Büchi (Chem-Reaktor, Nennvolumen 15 l., ausgestattet mit 8-Stutzen Haube für Rührer, Einlass der Ausgangskomponenten, Trennkolonne, Temperaturkontrolle) und Ablass, nebst Brüdenrohr, Kopfkondensator, Produktkühler, Phasenabscheider, Destillatgefäß sowie Thermostat und Heizmantel zur Verfügung. Die Anlage wurde eigens für die Herstellung von Milchsäureestern mit einer Betriebstemperatur von  $-50$  bis  $200^{\circ}\text{C}$  sowie Betriebsdruck von  $-1$  bis  $0,5$  bar ausgelegt.

### **2.3.1 Direkte Veresterung**

Die direkte Veresterung von Milchsäure mit Ethanol ist durch das Aufspalten von Wasser eine Gleichgewichtsreaktion. Die Reaktion muss allerdings mit einem hohen Überschuss an Ethanol durchgeführt werden, um hohe Ausbeuten an Ethyllactat zu erreichen. Durch die Abtrennung von Wasser aus der Lösung mittels unterschiedlicher Methoden kann die Ausbeute an Ethyllactat ebenfalls verbessern. Der Prozess benötigt die Zugabe eines Katalysators (Kromus et al. 2002). Im klassischen Prozessweg ist dies Schwefelsäure ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Aufgrund der erforderlichen Temperatur von  $70$  bis  $100^{\circ}\text{C}$  ist dieser Prozess sehr energieintensiv. Außerdem muss die Destillation fraktioniert durchgeführt werden, um die Mischung von Ethanol – Wasser – Ester zu trennen. Es stellte sich gegenüber den Versuchen des Jahres 2000 heraus, dass auch mit wesentlich besser aufgereinigten Säften (siehe Modellösung Tab. 24) keine befriedigenden Ergebnisse erzielt werden konnten. Sowohl die Energie- als auch die Massenbilanzen müssen als unbefriedigend bezeichnet werden. Um ein nachhaltiges System zu schaffen müssen daher andere Wege der Aufarbeitung gefunden werden. Im Rahmen dieses Projektes wurde daraufhin eine Literaturrecherche und erste eigene Versuche durchgeführt, die in diesem Projektbericht zusammenfassend dargestellt werden.



### **3 Alternative Verfahren zur Veresterung von Milchsäure**

#### **3.1 Heterogene Katalysatoren**

Die Verwendung heterogener Katalysatoren ist eine Möglichkeit die Veresterung von Milchsäure effektiver und damit nachhaltiger zu gestalten. Dechang Li et al. (1997) beschreibt die Verwendung von modifiziertem Zirkoniumoxid, um die konzentrierte Schwefelsäure als Katalysator zu ersetzen. Ru-Zhen Li und Tao Su (1999) haben die Effektivität unterschiedlichster feststofflichen Säuren und Salze als Katalysatoren untersucht ( $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{SnCl}_4$ ,  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{CrCl}_2$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ). B. Kamm hat in eigenen Untersuchungen im Rahmen dieses Projekts herausgefunden, dass stark saure Ionenaustauscherharze sehr gut geeignet sind, um Milchsäure in befriedigender Ausbeute herzustellen. Auch bei niedrigen Ausgangskonzentrationen (10-20% w/w) an Milchsäure arbeitete die Versuchsanordnung ausreichend. Das Harz bietet gute katalytische Qualität und führt zu keiner Korrosion. Außerdem wird die Polymerisation der Milchsäure und die Schwarzfärbung der Reaktionsmischung verhindert (Kamm 2003).

Eine weitere Möglichkeit stellt die Herstellung von Dilactid als Vorprodukt dar. Yongcai Meng und Tong Luo (1998) beschrieben die Herstellung von Ethyllactat aus Dilactid. Sie verwendeten stark saure makroporöse Polystyren Austauschharze/ $\text{AlCl}_3$  (0,9-1,1:1).

#### **3.2 Membranverfahren zur Trennung von Ethanol-Wasser-Milchsäureester Gemischen**

Eine neue Möglichkeit Wasser vom Ethanol/Milchsäure Gemisch abzutrennen sind Membranverfahren. Die Veresterung kann mit einer wasserpermeablen Membran kombiniert werden (Pervaporation) (Datta 1998). Allerdings wurden in diesem US-Patent Milchsäurekonzentrationen von 60-80% w/w eingesetzt. Außerdem wurde die Milchsäure vorher in unterschiedlichen Schritten gereinigt.

Jüngste Publikationen von Tanaka et al. (2002) befassen sich mit der Entfernung von Reaktionswasser durch Zeolit T Membrane. Dieser Hybridprozess führte zur annähernd kompletten Umsetzung der Reaktion in einer kurzen Reaktionszeit.

#### **3.3 Schlussfolgerungen**

Die jüngsten Veröffentlichungen und eigene Versuche zeigen, dass durch neue bzw. moderne Materialien, die inzwischen kostengünstig verfügbar sind wichtige technologische Impulse zur Gewinnung von Ethyllactat möglich sind. Für die Weiterverfolgung des Weges

bedarf es allerdings enger internationaler Zusammenarbeit und beträchtliche Forschungsaufwendungen (Versuchsreaktor). Da weder von nationaler noch von EU Seite derzeit zusätzliche Mittel zur Verfügung stehen wird sich die Forschung in Österreich darauf konzentrieren die Vorreinigung der Silage-Milchsäure auf Food Grade Qualität umzusetzen und technologisch im Rahmen einer Pilotanlage zu etablieren, um zu gegebenem Zeitpunkt die Weiterentwicklung der Veresterung im Rahmen einer erweiterten Pilotanlage in Angriff zu nehmen.

## **Anhang H**

# **Wirtschaftliche Bewertung der Gewinnung von Milchsäure aus Silagesäften**

### **1 Ausgangslage und Daten zur Berechnung**

Die Ergebnisse dieses Projekts zeigen sehr deutlich, dass die Herstellung von Milchsäure und Proteinen (Aminosäuren) aufgrund der sehr befriedigenden Ausbeute ausschließlich aus Silage erfolgen sollte. In diesem Kapitel wird daher untersucht, inwieweit derartige Produkte unter heutigen Rahmenbedingungen wirtschaftlich produziert werden könnten. Es wird angenommen, dass eine derartige Anlage zentral auf dem Standort der Fa. LACTOPROT AG in Hartberg (Stmk.) errichtet werden würde. Die Wirtschaftlichkeitsrechnung baut auf die Berechnungen der Vorprojekte auf. Es soll hier daher lediglich auf die Silage-saftschiene eingegangen werden (vgl. Kromus et al. 2002, Kromus 2002, Koschuh et al. 2003). Anhand der in Abb. 78 aufgestellten Parameter und Massenbilanzen kann nun die Wirtschaftlichkeit der "Silage Linie" dargestellt werden. Im Gegensatz zur "Protein Linie" (Koschuh et al. 2003) sind für das Down-stream Processing der Milchsäure und Aminosäuren die Kosten noch nicht ausreichend bekannt. Es sollen hier daher die maximalen Kosten des Down-stream Processing der Produkte (Milchsäure, Peptide, Aminosäuren, Phosphat) ermittelt werden bzw. die Sensitivitäten bei Preisverschiebungen.

Die Grundlagen für die Bewertung der Wirtschaftlichkeit der Grünen Bioraffinerie wurden bereits in einem Vorprojekt entwickelt (Kromus et al. 2002). Die auf MS Excel basierende Datei wird laufend aktualisiert und an die neuen Erkenntnisse angepasst. Inzwischen wurde der Schwerpunkt eindeutig auf die Verarbeitung von Silage mit Milchsäure und Aminosäuren als Hauptprodukte und Zucker und Mineralstoffe als Nebenprodukte gelegt (vgl. Koschuh et al. 2003). Zunächst werden jeweils die aktuellen Stoffbilanzen integriert und anhand von Informationen, die gemeinsam mit den Partnerfirmen recherchiert werden die Wirtschaftlichkeit dargestellt. Die Ergebnisse sind allerdings zunächst als vorläufig anzusehen und große Änderungen (Aufwand des Downstream-Processing) könnten sich noch ergeben. Die Bilanzen werden derzeit auf Basis von 10000 t TM/a Silageinput erstellt.

Zur Durchführung der Bewertung werden folgende Fragestellungen bearbeitet:

1. Erlösstruktur der einzelnen Produkte (pro Tonne Trockenmasse) inkl. Biogas
2. Fraktionierungskosten – Einfach- und Doppelpressung
3. Ermittlung der maximalen Abtrennungskosten für die Produkte im Falle einer Kuppelproduktion inkl. Biogas

Für die Darstellung werden die Daten aus Kromus et al. (2002), Kromus (2002) und Koschuh et al. (2003) herangezogen und mit neuen Informationen ergänzt.

## **2 Erlöse durch die Verarbeitung von Grassilage Säften**

### **2.1 Milchsäure**

Milchsäure birgt laut internationaler Meinung enormes Potenzial als zukünftige Plattform-Chemikalie. Dementsprechend ist man auch bestrebt die Produktionskosten und damit die Verkaufspreise für Milchsäureprodukte massiv zu senken. Für eine Grüne Bioraffinerie ist es daher von großer Bedeutung einerseits Nischenmärkte (Öko-Markt) zu finden, wo Weltmarktverhältnisse keinen direkten Einfluss auf den erzielbaren Preis haben und andererseits aber dennoch zu versuchen zukünftige Weltmarktpreise zu kalkulieren und die Herstellungskosten dieser zukünftigen Entwicklung anzupassen.

In dieser Kalkulation wird auf Milchsäure im "Low-Price" Segment (Food Grade 80% conc.) Bezug genommen, da die Kosten der Technologien zur Weiterverarbeitung noch nicht seriös abgeschätzt werden können. 80 %ige Food Grade Milchsäure (derzeit ca. 1,28 €/kg) könnte in Zukunft mit Citronensäure verglichen werden. Dafür gibt der Markt derzeit ca. 1,00 €/kg. Dieser Wert wurde für die Wirtschaftlichkeitsberechnung herangezogen.

## **2.2 Peptide - Aminosäuren**

In Koschuh et al. (2003) wurde die Aminosäurezusammensetzung von Silagesäften ausführlich beschrieben. Im Gegensatz zum Grünen Presssaft zeigt der Silagesaft, dass das gemessene Rohprotein annähernd deckungsgleich mit den gemessenen Aminosäuren ist (ca. 90 %). Als freie Aminosäuren wurden in Saft 01/63 (Bastardraygras, 3. Schnitt, Jahr 2001) 76 % der gesamten (hydrolysierten) Aminosäuren gemessen. Es sollte möglich sein diese zu einem Großteil abzutrennen (> 75 %). Die Trenntechnologie wird in weiterführender Forschung entwickelt. Als Basispreis eines Aminosäuremischproduktes wird der derzeitige Marktpreis von L-Lysin herangezogen. Die 1,50 €/kg bis 2,50 €/kg Produkt entsprechen dem niedrigsten zu erwartenden Preis im Aminosäuresegment. Preise > 15 €/kg sind für Spezialprodukte oder einzelne Isolate vorstellbar.

Aus diesen Angaben wird berechnet wie viel das Down-stream Processing kosten darf, um wirtschaftlich auf der positiven Seite zu liegen.

## **2.3 Biogas**

In diesem Modell werden die Restströme in einer Biogasanlage verwertet. Es wird angenommen, dass diese den Wärmeüberschuss generell um 0,025 €/kWh verkaufen kann. Der Verkaufserlös für den Biogasüberschussstrom wird 0,125 €/kWh festgelegt (500 bis 1000 kW Leistung) (EVA 2003), wobei der Eigenverbrauch der Bioraffinerie mit nur 0,073 €/kWh bewertet wird.

## 2.4 Massenbilanzen – Produkte aus Grassilage

### 2.4.1 Fraktionierung

Die Fraktionierung von Grassilage wird in Anhang C bzw. Wachter et al. (2003) und Koschuh et al. (2003) ausführlich beschrieben. Anhand der Mittelwerte für die Fraktionierung von Silage des Jahres 2002 wird die Massenbilanz dargestellt.

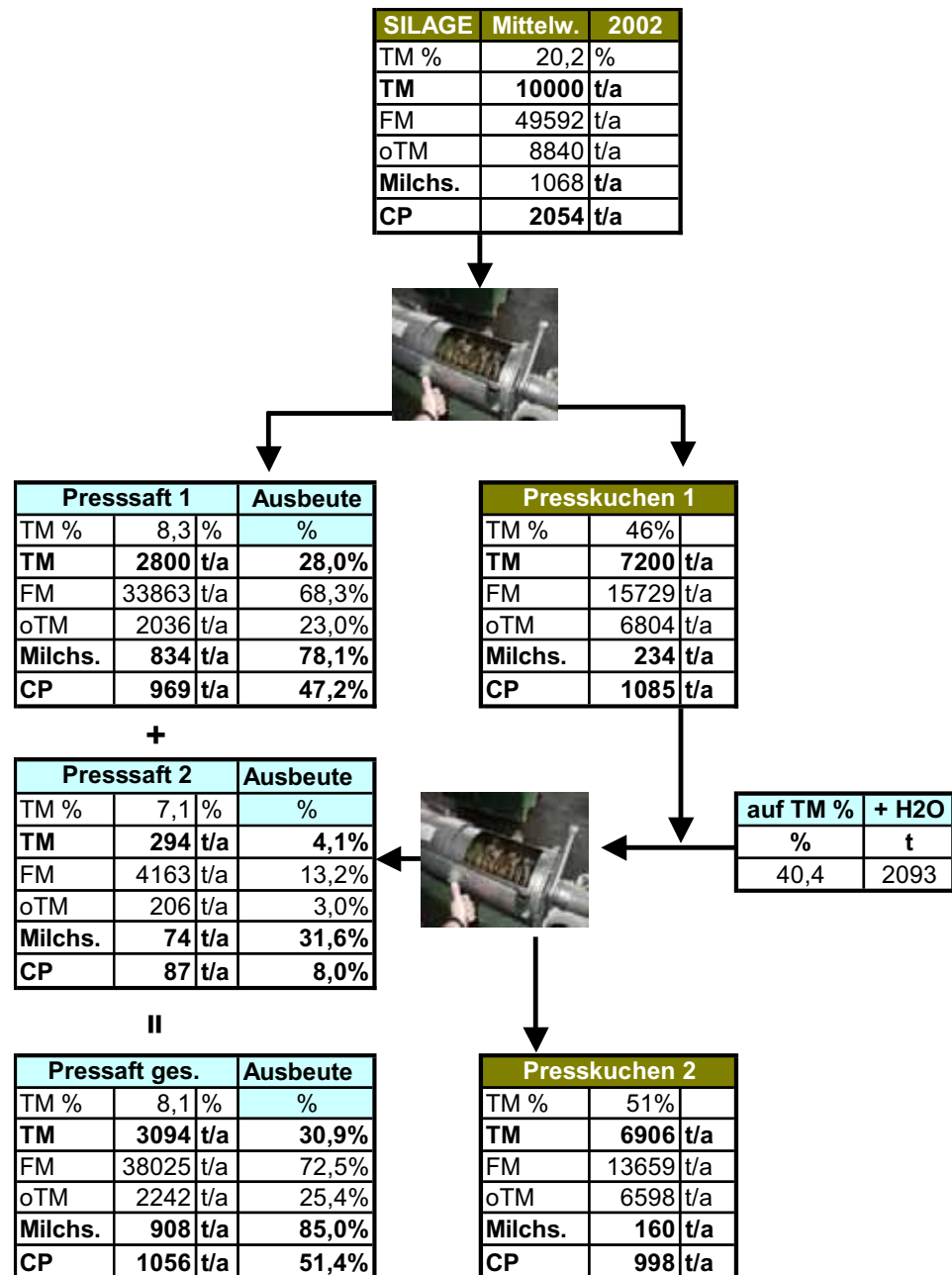


Abb. 78: Massenbilanz der Fraktionierung 2002 anhand der Silage-Mittelwerte – errechnet aus Silage Analytik des BAL-Gumpenstein und IFA-Tulln Saftwerte (TM = Trockenmasse, FM = Frischmasse, oTM = organische Trockenmasse, CP = Rohprotein)

## 2.4.2 Produkte: Milchsäure, Aminosäuren (Peptide)

**Tab. 25** Produktmengen einer 10000 t TM/a Grünen Bioraffinerie basierend auf Grassilage

Produkt	geschätzte Abtrennungsverluste bzw. Eigenbedarf d. Biogasanlage	Produktmenge – 10000 t Anlage mit Doppelpressung
Milchsäure 80%	20%	908 t/a
Aminosäuren 95 % TM	35%	722 t/a
Biogasstrom	20%	3.389.723 kWh/a
Biogaswärme	35%	5.649.538 kWh/a

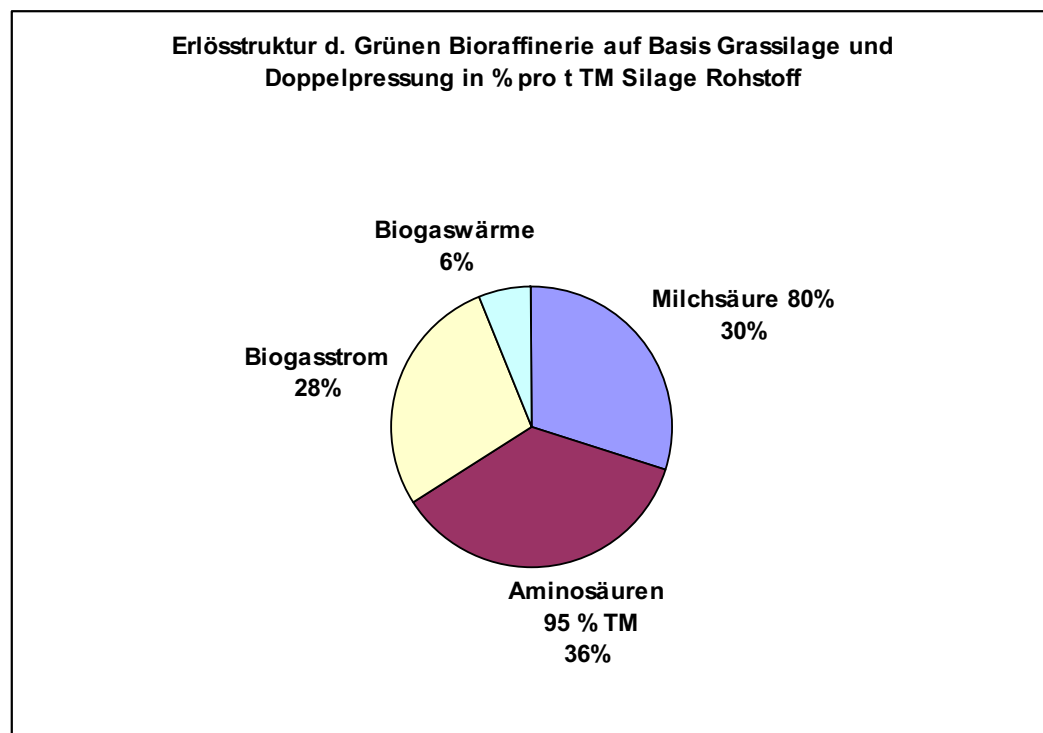
Es wird davon ausgegangen, dass für die Biogasproduktion ca. 3.700 t oTM/a aus Presskuchen 2 und den Reststoffen der Saftverarbeitung für die Biogasanlage zur Verfügung stehen. Dies entspricht einer Anlage mit ca. 1000 kW<sub>el</sub> Leistung.

Die Werte gelten Analog zu Abb. 78 und Tab. 25 auch für die Einfachpressung.

## 2.5 Erlösstruktur

**Tab. 26** Erlösstruktur der Grünen Bioraffinerie mit Grassilage als Rohstoff und Doppelpressung

Produkt	Erlös [€/kg Produkt]	Erlös [€/t TM Silage]	Erlös [€/10000 t TM Silage]
Milchsäure 80%	1,000 €	90,81 €	908.146 €
Aminosäuren 95 % TM	1,500 €	108,35 €	1.083.506 €
Biogasstrom	0,125 €	84,74 €	847.431 €
Biogaswärme	0,025 €	18,36 €	183.610 €
Summe Erlöse		302,27 €	3.022.693 €



**Abb. 79: Erlösstruktur d. Grünen Bioraffinerie auf Basis von Grassilage und Doppelpressung (Mittelwerte 2002) in % pro t TM Silage Rohstoff**

Etwaige Erlöse aus Nebenprodukten (z.B. Phosphat, Düngersalze, Carotinoide, Zucker, etc.) werden hier nicht einbezogen. D.h. es wird angenommen, dass die gesamten organischen Reststoffe in einer Biogasanlage zu Ökostrom verarbeitet werden.



### 3 Wirtschaftlichkeitsrechnung

Die Berechnung der Wirtschaftlichkeit erfolgt auf Basis der Annuitätenmethode, da für eine detailliertere Betrachtung (z.B. Discounted Cashflow) zu große Unsicherheiten existieren.

Für die Berechnung der jährlichen Kapitalkosten für die Investitionen werden daher folgende Parameter definiert:

- 30% Fremdkapital:
  - Zinssatz: 6,5% (effektiv)
  - Laufzeit: 10 Jahre (entspricht der Abschreibung für Maschinen)
  
- 70% Eigenkapital:
  - Zinssatz: 7,5%
  - Laufzeit: 8 Jahre

#### 3.1 Rohstoffkosten

Die Rohstoffkosten wurden ausführlich mit den einschlägigen Experten diskutiert und in Vorprojekten ausführlich dargestellt (Kromus et al. 2002, Kromus 2002). Es wird angenommen, dass für die Grüne Bioraffinerie etwas feuchtere Anweilksilage hergestellt wird (28 bis 32 % TM), die dann mit Recyclingwasser (z.B. Brüden der Eindampfprozesse) auf die Abpressfeuchtigkeit (ca. 20 bis 25 % TM) eingestellt wird (vgl. Abb. 78) (Tab. 27). Es wird angenommen, dass die Rohstoffe zu 75 % aus Feldfutter (z.B. Klee gras, Reingras, Luzernegras) und zu 25 % aus Dauerwiese bestehen.

**Tab. 27 Rohstoffkosten einer 10000 t TM/a Grassilage Grünen Bioraffinerie inkl. Transport zum Werk**

Rohstoffe			€/t TM	€/a
Erlöse			0	0 €
Rohstoffe Grassilage	30,0%	TM	75,54 €	-755.382 €
Transport Standard-LKW	20	km	7,33 €	-73.333 €
<b>Summe Rohstoffkosten</b>	<b>10000 t TM</b>	<b>pro Jahr</b>	<b>82,87 €</b>	<b>-828.715 €</b>

### 3.2 Fraktionierung

#### 3.2.1 Einfachpressung

Für die Fraktionierungskosten werden die Werte aus Kromus (2002) und Koschuh et al. (2003) herangezogen. Die Fraktionierungskosten unterscheiden sich zu Kromus et al. (2002) durch verminderte Investitionen für die Zerkleinerung, da die Ergebnisse aus dem Jahr 2002 vermuten lassen, dass für Silage kein Zellaufschluss notwendig ist.

**Tab. 28 Fraktionierungskosten – Einfachpressung  
10000 t TM/a Grassilage Grüne Bioraffinerie  
ohne Gemeinkosten**

<b>Einfachpressung</b>				<b>%</b>
Erlöse			0 €	
Personal direkt (1,5 AK pro Schicht)	21,00 € pro h		-232.848 €	74,3%
Strom			-23.487 €	7,5%
Miete	3,00 € pro m <sup>2</sup>		-7.200 €	2,3%
Sonstige Betriebskosten			-1.500 €	0,5%
Instandhaltung	2,5% d. Invest		-6.102 €	1,9%
Versicherung	1,5% d. Invest		-3.661 €	1,2%
Kapitalkosten der Investition	FK + EK		-38.736 €	12,4%
<b>Summe Fraktionierungskosten</b>		<b>pro Jahr</b>	<b>-313.534 €</b>	<b>100,0%</b>

#### 3.2.2 Doppelpressung

Für die Fraktionierungskosten werden die Werte aus Kromus (2002) und Koschuh et al. (2003) herangezogen.

**Tab. 29 Fraktionierungskosten – Doppelpressung  
10000 t TM/a Grassilage Grüne Bioraffinerie  
ohne Gemeinkosten**

<b>Doppelpressung</b>				<b>%</b>
Erlöse			0 €	
Personal direkt (1,5 AK pro Schicht)	21,00 € pro h		-232.848 €	66,8%
Strom			-49.562 €	14,2%
Miete	3,00 € pro m <sup>2</sup>		-7.200 €	2,1%
Sonstige Betriebskosten			-1.500 €	0,4%
Instandhaltung	2,5% d. Invest		-7.207 €	2,1%
Versicherung	1,5% d. Invest		-4.324 €	1,2%
Kapitalkosten der Investition	FK + EK		-45.748 €	13,1%
<b>Summe Fraktionierungskosten</b>		<b>pro Jahr</b>	<b>-348.389 €</b>	<b>100,0%</b>

Die Differenz beträgt ca. € 35.000,-- zugunsten der Einfachpressung. Allerdings würde man bei Einfachpressung auf ein Erlöspotenzial in der Höhe von ca. € 160.000,-- verzichten. Damit ist die Doppelpressung eindeutig wirtschaftlich. Damit wird für alle weiteren Berechnungen die Doppelpressung herangezogen.

Bezüglich der Fraktionierung muss allerdings unbedingt der Trockenmassegehalt optimiert werden, da durch den Transport bzw. die Abtrennung des Wassers enorme Kosten zu erwarten sind. Dies ist eine wesentliche Aufgabe der geplanten Pilotanlage.

Die Fraktionierungskosten pro kg Silagesaft belaufen sich somit auf 0,0092 €/kg.

Die Fraktionierungskosten pro kg TM Silagesaft belaufen sich somit auf 0,113 €/kg TM.

### 3.3 Biogaserzeugung aus den Restströmen

Die Investitionskosten von Biogasanlagen wurden bereits sehr ausführlich in Kromus et al. (2002) diskutiert. Die Darstellung bezieht sich auf die Beschickung mit allen festen Reststoffen (Silagepresskuchen) plus der flüssigen Restströme (restl. Biomasse) aus der Milchsäure- und Aminosäurenabtrennung.

Es wird angenommen, dass in Jahr acht das BHKW generalüberholt werden muss. Diese Kosten sind allerdings in dieser vereinfachten Kalkulation nicht berücksichtigt.

**Tab. 30 Wirtschaftlichkeitsberechnung Biogas aus Restströmen einer 10000 t TM/a Grassilage Grünen Bioraffinerie – ohne Rohstoffkosten**

<b>Biogaserzeugung</b>				<b>%</b>
Erlöse Strom			847.431 €	
Erlöse Wärme			183.610 €	
<b>Erlöse gesamt</b>			<b>1.031.041 €</b>	
Personal direkt (1,5 AK pro Schicht)	21,00 €	pro h	-30.660 €	6,4%
Miete Fläche	1,50 €	pro m <sup>2</sup>	-36.000 €	7,5%
Sonstige Betriebskosten			-1.000 €	0,2%
Instandhaltung	4,0%	d. Invest	-77.675 €	16,1%
Versicherung	1,5%	d. Invest	-29.128 €	6,0%
Kapitalkosten der Investition	FK + EK		-308.164 €	63,9%
<b>Summe Kosten Biogaserzeugung</b>			<b>-482.628 €</b>	<b>100,0%</b>
<b>Summe Biogaserzeugung</b>		<b>pro Jahr</b>	<b>548.413 €</b>	

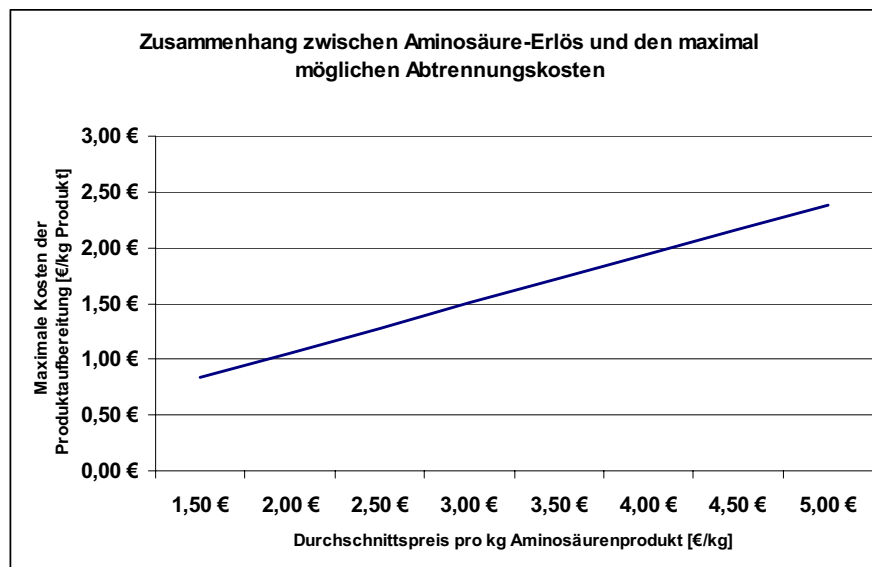
### 3.4 Maximale Abtrennungskosten für Milchsäure und Aminosäuren

**Tab. 31 Erlöse minus vorläufige Kosten (Rohstoffe, Fraktionierung und Biogas) als Grundlage zur Errechnung der maximal möglichen Abtrennungskosten für Milchsäure und Aminosäuren bei gegebenen Produktpreisen**

<b>Maximale Kosten der Produktabtrennung</b>				<b>%</b>
Erlöse Strom	0,125 €	pro kWh	847.431 €	28,0%
Erlöse Wärme	0,025 €	pro kWh	183.610 €	6,1%
Erlöse Milchsäure 80%	1,00 €	pro kg 80%	908.146 €	30,0%
Erlöse Aminosäuren	1,50 €	95 % TM	1.083.506 €	35,8%
<b>Summe Erlöse</b>			<b>3.022.693 €</b>	<b>100,0%</b>
Rohstoffkosten			-828.715 €	49,9%
Fraktionierungskosten (Doppelpressung)			-348.389 €	21,0%
Kosten Biogaserzeugung			-482.628 €	29,1%
<b>Summe vorläufige Kosten</b>			<b>-1.659.732 €</b>	<b>100,0%</b>
<b>Erlöse - vorläufige Kosten</b>			<b>1.362.961 €</b>	

Diese Rechnung ergibt maximale Aufbereitungskosten für die Produkte Milchsäure und Aminosäuren von 0,84 €/kg Produkt. In diesen Kosten müssen alle Kostenarten, wie Personal, Produktionsstätte, Kapitalkosten, Gemeinkosten für Verwaltung u. Vertrieb, etc. enthalten sein. Aufgrund der komplexen Anforderungen an die Abtrennung kann derzeit keine größere Detaillierung vorgenommen werden. Allerdings liegt dieser Wert im Bereich des Machbaren. Außerdem wird es, nach den Ergebnissen des Fabrik der Zukunft Projekts "Proteine aus Grassaft", voraussichtlich möglich sein Aminosäuren zu einem wesentlich höheren durchschnittlichen Produktpreis zu vertreiben (Koschuh et al. 2003).

Der lineare Zusammenhang zwischen Produktpreis und maximal möglichen Abtrennungskosten ist in Abb. 80 dargestellt.



**Abb. 80: Zusammenhang zwischen Aminosäure-Erlös und den maximal möglichen Abtrennungskosten**

#### **4 Schlussfolgerungen und Zukunftsaussichten**

Unter Berücksichtigung der bisherigen Erkenntnisse und den Vorgaben der Firmenpartner (z.B. 7,5% Eigenkapitalrendite) darf das Down-streaming der Produkte Aminosäuren und Milchsäure als integrierte Technologie Kosten zwischen 0,84 bis 1,25 €/kg Produkt verursachen. Diese maximalen Kosten sind von der Erlösstruktur der Aminosäuren abhängig (Annahme: 1,5 bis 2,5 €/kg als Futtermittel). Nach der Diskussion mit den beteiligten Experten liegt dieses Ergebnis durchaus im „machbaren“ Bereich.

Unter Einbeziehung des Mittelwertes der Proben 02/19; 02/24 und 02/26 kann pro Tonne Trockenmasse aus Grassilage durchschnittlich 96,90 kg Rohprotein gewonnen werden. Dieser Mittelwert ergibt sich durch Einfachpressung und ohne vorherige Feinzerkleinerung. Die Silage wird allerdings vor der Abpressung auf ca. 20 bis 22 % TM angefeuchtet. Dieser Wert entspricht einer durchschnittlichen Rohproteinausbeute aus dem Silagerohstoff von 47,7 %. Bei Doppelpressung erhöht sich die Rohproteinausbeute auf durchschnittlich 51,4% oder 105,6 kg/t TM.

Die bisherigen Erfahrungen, ohne Optimierung, zeigen eine mögliche Aminosäureausbeute auf Basis des Rohproteingehaltes im Saft von 65 %. D.h. es könnten pro Tonne Trockenmasse ca. 68,5 kg Aminosäuren gewonnen werden.

Die Milchsäure kann unter den selben Bedingungen wie die Aminosäuren bei Einfachpressung zu 78,1% und bei Doppelpressung zu 85,0% gewonnen werden. Dies bedeutet eine durchschnittliche Milchsäureausbeute pro t TM von optimalen 90,8 kg bei Doppelpressung. Unter der Annahme, dass die Milchsäure in 80%iger Konzentration bei 20% Aufbereitungsverlusten verkauft wird, verbleiben 90,8 kg Milchsäureprodukt aus einer Tonne Trockenmasse Grassilage.

Die Ergebnisse zeigen, dass genügend Spielraum existiert, um gegenüber der Proteingewinnung aus Luzerne (Koschuh et al. 2003), aufwendigere Abtrennungstechnologie zu installieren. Die Strategie sollte allerdings in Richtung höherwertiger Spezialgemische oder Einzelaminosäuren für Food, Kosmetik oder Pharma führen, um langfristig den Investoren eine attraktive Marge zu bieten.

Milchsäure in der Kombination mit weiteren Produkten (z.B. Aminosäuren) kristallisiert sich als jenes Produkt heraus, das einen positiven Beitrag zur Ertragsituation einer Grünen Bioraffinerie leisten kann.

Als Varianten wurden in dem vorliegenden Projekt die Coproduktion von Milchsäure mit Aminosäuren und Biogas dargestellt. Dieses System wurden bereits im Vorfeld dieses Projekts als eines der sinnvollsten Wege identifiziert. Es konnte eindeutig gezeigt werden, dass besonders in den Produkten Milchsäure und Aminosäuren sehr hohes Potenzial liegt. Diese Annahme ist allerdings nur dann zu halten, wenn es tatsächlich gelingt eine integrierte Technologie für die Abtrennung der beiden Produkte zu finden. Die Kosten für das Down-stream Processing sollten allerdings 0,84 €/kg Produkt nicht übersteigen, da sowohl die Erzeugung von Silagegrasfasern als auch die Umsetzung der Restströme (Presskuchen und flüssiger Reststrom) in einer Biogasanlage das System mit Verlusten belasten könnten.

Der durchschlagende Erfolg ist damit erst dann zu erwarten, wenn jedes der definierten Produkte (Milchsäure, Aminosäuren, Biogas, Fasern, etc.) wirtschaftlich positiv oder zumindest ausgeglichen bewertet werden kann.

Neben der durch die Wirtschaftlichkeitsbetrachtungen dargestellten Bedeutung der Milchsäure im bestehenden Preisgefüge sind auch die Zukunftsaussichten dieses Produktes als besonders positiv einzuschätzen. Einerseits steigt der Verbrauch von Milchsäure weltweit. Andererseits profiliert sich Milchsäure immer stärker als Schlüsselprodukt einer auf nachwachsenden Rohstoffen basierenden Stoffflusswirtschaft, da sie als Grundlage sehr unterschiedlicher Produktstränge (von Lebensmittelzusätzen über Lösungsmittel bis hin zu Plasten, um nur einige zu nennen) dienen kann. Durch den Ansatz der Rohstoffkosten zu Vollkosten (inkl. Kapitalkosten für einen neuen Silo) wird außerdem sichergestellt, dass es durch eine Umsetzung der Grünen Bioraffinerie auch zu einer Stärkung landwirtschaftlicher Regionen kommt.

Diese Zukunftsprognose für Milchsäure birgt allerdings auch Risiken für eine Grüne Bioraffinerie, die auf der Milchsäuregewinnung aus Silage basiert. Die beschriebene 10.000 t/a TM Bioraffinerie lässt Milchsäureprodukte im Maßstab von ca. 1.000 t/a erwarten. Bei einem derzeitigen Weltmarkt von ca. 80.000 t/a wäre dies ein Anteil von 1,25 %. Für ein regionales KMU würde dies wahrscheinlich die optimale Menge darstel-

len, um einen „ökologiebewussten“ Nischenmarkt zu bedienen. Ein derartiges KMU wäre voraussichtlich allerdings nicht in der Lage die noch zu erwartenden Entwicklungskosten zu tragen.

Als Industriepartner in diesem Grüne Bioraffinerie Projektbündel hat sich die Firma LACTOPROT AG als verlässlich und sehr interessiert gezeigt und sich zum engagierten Partner entwickelt. Der Standort Hartberg, der derzeit auf die Produktion von Molkepulver und Trockenmilch spezialisiert ist, will heute und zukünftig nicht nur in der Region agieren, sondern den Weltmarkt bedienen. Dies scheint aber mit Milchsäure nur dann möglich zu sein, wenn zumindest 10 % der Weltmarktmenge produziert werden können.

Es wird erwartet, dass innerhalb der nächsten fünf bis zehn Jahre der Weltmarkt auf 500.000 t/a Milchsäure ansteigen wird. D.h. es müssten durch die Firma LACTOPROT 50.000 t/a Milchsäureprodukte auf den Markt gebracht werden. Dies wäre aber nur dann möglich, wenn Zugriff auf die gesamte Silagebiomasse, die bis 2008 Österreichweit prognostiziert wurde, besteht.

Die Möglichkeit der Zentralisierung der Grünen Bioraffinerie ist allerdings durch die landwirtschaftliche Struktur und den resultierenden Logistikaufwand sehr beschränkt. Entsprechend der Grundkonzeption der „österreichischen“ Grünen Bioraffinerie ist die Anlagengröße damit beschränkt. Diese Beschränkung resultiert aus der Forderung nach möglichst kleinen Transporterfordernissen und aus der kleinräumigen und vielfältigen Struktur der österreichischen Kulturlandschaft, in der zusammenhängende große Grünlandflächen die Ausnahme bilden. Damit sind auch der prozesstechnischen „economy of scale“ Grenzen gesetzt. Dies bedeutet im Gegenzug, dass die Investkosten einen (im Vergleich zu anderen Verfahren) hohen Beitrag zu den Gesamtkosten liefern. Um unter diesen Bedingungen zu einem wirtschaftlichen Erfolg zu gelangen ist es notwendig, die (relativ kleinen und daher teuren) Anlagen so weit als möglich auszulasten.

Dieser Sachverhalt könnte erstens über den Zukauf von Silagepresssaft durch die Firma LACTOPROT AG überwunden werden. Silagepresssaft würde damit zur Handelsware. Allerdings funktioniert dies nur, wenn auch der Silagepresskuchen zur „Commodity“ wird. Zweitens wäre es denkbar, dass die Firma LACTOPROT an vielen österreichischen Bioraffinerien beteiligt ist. Oder drittens, dass eine einzige österreichische Silagesaftaufbereitungsanlage installiert wird und alle übrigen Schritte dezentral organisiert werden (Öster-



reichweites Semi-Dezentrales Modell). Eine Empfehlung für eine der vorgeschlagenen Möglichkeiten kann derzeit nicht gegeben werden. Allerdings hätte diese zentrale Aufbereitungsanlage die Möglichkeit die „economy of scale“ voll auszunützen.

Neben der Notwendigkeit diese strukturellen bzw. organisatorischen Fragen zu beantworten wird in naher Zukunft auch die weiterführende Produktentwicklung eine wesentliche Rolle spielen. Können nach erfolgreicher Entwicklung der Trenntechnologie wichtige Produkte wie Ethyllactat oder Dilactid rasch und effizient hergestellt werden? Im Falle der Produktion von Ethyllactat scheint dies jedenfalls vorstellbar. Das wesentliche Hemmnis zur Erzeugung von Dilactid könnte sein, dass Silagemilchsäure nicht in Richtung L(+)-Milchsäure optimiert werden kann.

Für den Verkauf von Aminosäuren scheinen die wesentlichen Risiken in der Produktreinheit zu liegen, und hier speziell für eine Anwendung im Kosmetik- oder Pharmabereich. Vergleicht man allerdings die Aminosäuremengen der Grünen Bioraffinerie mit jenen der AMINO GmbH, so scheint hier mengenmäßig ausreichend Spielraum für die Bioraffinerie zu bestehen, um auf interessanten Märkten Fuß zu fassen. Durch den Verkauf von hochpreisigen Aminosäuren wäre auch der Druck ein möglichst großes System (z.B. 500.000 t TM) nicht gegeben, da es sich bei den meisten Aminosäuren um sehr spezielle Nischenprodukte mit einem relativ kleinen Weltmarkt handelt.

Die Grüne Bioraffinerie profitiert durch die Kombination von Milchsäure und Aminosäuren damit auch in organisatorischer Hinsicht, da der Verkauf der Milchsäure nicht das zentrale Thema sein muss und daher auch kleinere Produktionsmengen interessant sind.

#### **4.1 Zukünftige Strategien zur Entwicklung der Grünen Bioraffinerie**

Für die weitere Entwicklung der Grünen Bioraffinerie ist es notwendig, die Bioraffinerie im Pilotmaßstab zu realisieren. Begonnen wird mit einem Kern, der insbesondere die Silage (die auch dezentral dargestellt werden kann) und die Fraktionierung umfasst. Diese Anlage muss so gestaltet sein, dass eine Eingliederung weiterer Aufarbeitungsschritte (Milchsäureabtrennung, Aminosäuregewinnung, Reduktion des Silagesaftes, biotechnische Weiterverarbeitung des Restsaftes, etc.) in der Folge möglich ist. Eine Anbindung an eine Biogasanlage wäre dabei wünschenswert. Damit kann, den Fortschritten der weiteren und parallel dazu durchgeführten Entwicklung entsprechend, eine Gesamtpilotanlage schrittweise aufgebaut werden.

Die Notwendigkeit für eine solche Kern-Pilotanlage ergibt sich daraus, dass für alle weiteren Entwicklungen entsprechende Mengen von Silagesaft und festem Rückstand nach der Abpressung des Saftes erforderlich sind, die im Labormaßstab nicht erzeugbar sind.

Aus den Ergebnissen des Projektes folgt, dass eine Grüne Bioraffinerie im österreichischen Kontext insbesondere durch die Produktion von Milchsäure und Aminosäuren definiert ist. Dies erfordert verstärkte Anstrengungen im Bereich der Trenntechnik für Milchsäure und Aminosäuren, da nur durch eine effiziente und kostengünstige Aufarbeitungstechnologie der wirtschaftliche Erfolg sichergestellt werden kann. Hier setzt die weitere technische Entwicklung an (weitere Fabrik der Zukunft Projekte). Verschiedene Membran- und Chromatographieverfahren müssen hier weiter verglichen und optimiert werden.

Diese Forschungs- und Entwicklungsaufgabe ist jedoch in einem größeren Rahmen zu sehen. Da Milchsäure in jedem Falle als Schlüsselprodukt einer zukünftigen Nutzung nachwachsender Rohstoffe zu sehen ist, hat die Trenntechnologie für dieses Produkt hohe Priorität und kann durchaus auch auf andere Herstellungsverfahren (etwa im Rahmen der klassischen Fermentation) angewandt werden. Dieses Entwicklungsvorhaben ist in enger Zusammenarbeit mit der einschlägigen österreichischen Industrie (insbesondere aus dem Bereich der Verfahrenstechnik und des Anlagenbaues) durchzuführen, um eine möglichst reibungslose Übertragung des Wissens in die Praxis zu gewährleisten.

Neben diesen Entwicklungsaufgaben müssen auch andere Produktschienen weiter und intensiver verfolgt werden. Dies betrifft insbesondere die Frage der Nutzung der Fasern aus dem Silagerückstand, aber auch die Frage der Nutzung weiterer Inhaltsstoffe.

Da sich herausgestellt hat, dass Milchsäure eines der Schlüsselprodukte der Grünen Bioraffinerie ist und auch auf absehbare Zeit bleiben wird, wäre es wünschenswert, die Produktion von Milchsäure weiter zu intensivieren. Dies kann dadurch erfolgen, dass der Silagevorgang stufenweise durchgeführt wird. Im einzelnen bedeutet das, dass nach Abpressung der Rest der Silagemasse einer neuerlichen Milchsäurefermentation unterworfen wird. Dazu muss diesem Rest eine neue Starterkultur zugeführt werden, die auch Cellulaseproduzenten beinhaltet. Mit Hilfe dieser Mikroorganismen soll der Aufschluss der Zellulose verstärkt werden. Damit wird der Rohstoff stärker genutzt und mehr Milchsäure erzeugt. Gleichzeitig werden auch die Lagersilos besser ausgenutzt, was zu einer weite-

ren Verbesserung der Kostenstruktur beitragen wird. Darüber hinaus ist es auf diese Art möglich, die ganzjährige Nutzung der zentralen Aufarbeitungseinheit sicherzustellen.

Grundsätzlich zeigt das vorliegende Projekt "Milchsäure aus Grassilage", dass die Weiterverfolgung des Konzeptes der Grünen Bioraffinerie hohes Potenzial aufweist. Dies betrifft sowohl die wirtschaftliche Umsetzung, die in einem Zeitraum der nächsten fünf Jahre ins Auge gefasst werden kann, als auch den Wissensgewinn, der für viele andere Verfahren auf der Basis nachwachsender Rohstoffe (Stichwort Membran- und Chromatographieverfahren) nutzbar ist. Die konsequente technische Entwicklung dieses Konzeptes kann der weiteren Nutzung nachwachsender Rohstoffe wichtige Impulse geben und Österreich einen strategischen Vorsprung auf diesem Gebiet sichern.

Die **technologische Weiterentwicklung der Grünen Bioraffinerie** auf Basis von Grünlandsilage kann daher wie folgt begründet werden:

1. Silage bietet durch natürliche und ökologische Vorgänge freie Aminosäuren, die mittels hoch innovativer Technologien gemeinsam mit Milchsäure abgetrennt werden können. Die Technologien benötigen allerdings eine verlängerte Entwicklungsphase. In diesem Projekt konnten dafür wichtige Erkenntnisse gewonnen werden. Die entwickelten Technologien sind aber dafür als einzigartig (Technologievorsprung) anzusehen.
2. Die Erstverarbeitung der Grünlandbiomasse erfolgt in Silos direkt am Bauernhof. Diese Silos dienen als Zwischenlager und bieten über das Jahr verteilt kontinuierliche Rohstoffmengen. Die Anlage muss daher nicht im Kampagnenbetrieb gefahren werden. Außerdem hat der Rohstoff einen Trockenmasseanteil von ca. 25 bis 35 % TM und durch die Verdichtung im Silo eine höhere Transportdichte. Dies führt zu wesentlich geringeren Logistikkosten gegenüber frischer Grünmasse.
3. Kein anderer Rohstoff, außer Grünlandsilage, bietet diesen Kombinationsvorteil von Milchsäure und Aminosäuren. Jegliche andere Proteine, die derzeit im Einsatz sind, müssen aufwendig chemisch hydrolysiert werden.

4. Das mögliche Produktspektrum als Kombination von Aminosäurengewinnung und der Milchsäuregewinnung ist riesig und reicht von Futtermittel über Lebensmittel bis zu Kosmetik und Pharma.
5. Durch die breiten Einsatzmöglichkeiten sind der Produktentwicklungsphantasie keine Grenzen gesetzt. Ein großes Wertschöpfungspotenzial durch Sekundär- und Tertiärprodukte kann prognostiziert werden (z.B. „Functional Food“).
6. Die Technologien können voraussichtlich so flexibel gestaltet werden, dass sie auch die Grundlage für die Abtrennung von Spezialstoffen bieten (Stichwort: „Low volume – High Price“).

Zusammenfassend sind demnach in nächster Zukunft folgende **F & E Strategien** zu empfehlen:

1. Aufbau einer Basis-Pilotanlage
2. Weiterentwicklung der integrierten Trenntechnologie zur Abtrennung von Milchsäure und Aminosäuren durch eine Kombination von Membranverfahren und Chromatographie
3. Entwicklung eines Faserproduktes, das in der Lage ist als echter Kostenträger zu fungieren (Erreichung des Mindestpreises)
4. Re-Silierung des Presskuchens – Erhöhung der Milchsäureproduktion
5. Abklärung der Marktsituation und Entwicklung von Vermarktungsstrategien für die vielversprechenden Produkte Milchsäure und Aminosäuren
6. Weiterführende Überlegungen bezüglich der Anordnung von zentralen und dezentralen Einheiten der Grünen Bioraffinerie (angepasst an den derzeitigen Wirtschaftspartner und die landwirtschaftlichen Strukturen)
7. Erweiterung der Rohstoffbasis, um die wirtschaftliche Tragfähigkeit des Systems zu stabilisieren (eventuell Kombination mit kostengünstigeren Rohstoffen)
8. Anbindung der Pilotanlage an eine Biogasanlage, um die Restströme und den Presskuchen in einem kontinuierlichen Full-scale System zu testen
9. Produktentwicklung als Weiterführung der Technologieentwicklung unter Beachtung der notwendigen Produktreinheit und der Bearbeitung von Nischen in nachhaltigen (ökologisch orientierten) Märkten

## Anhang I Erhebungsbögen und Tabellen

### 1 Analytikergebnisse

**Tab. 32 Übersicht über die durchgeführten Analysen  
– Teil 1 (grüne Säfte 2001)**

Nr. (Jahr, Nummer)	Wiese, Schnitt	Verarbeitung G...Grün, S...Silage mit Bakterienstamm z.B. IFAS3 oder BonS PS...Presssaft (Il...2. Pressung) mit Da- tum SI...Steam Injection (L/P...Liquid/Pellet nach Zentrifugation), UF...Ultrafiltration (Perm/Ret...Permeat, Retentat), 015...15 kD Cut Off	Dry Matter, DM	Asche	Kjeldhal Stickstoff, TKN	Ammonium	Aminosäuren, hydr.	AA, Cys, Pro, Met	AA, Trp	AA, GABA	Aminosäuren, ohne Hydr.	Zucker, org. Säuren	Ionen	Lowry	Elektrophorese
01/01	Kleegras 1.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	-
01/02	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-P	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/03	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-L	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	-	-
01/04	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-L-UF-Ret015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-
01/05	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-L-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/06	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-L-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/07	Kleegras 1.Schnitt	G-PS-SI-L-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/08	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	x
01/09	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	(x)	(x)
01/10	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	(x)	(x)
01/11	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS-SI-P	x	x	x	x	x	x	x	x	-	-	-	-	-
01/12	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
01/13	Dauerwiese 1.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-	-	-
01/14	Kleegras 2.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	x	x
01/15	Kleegras 2.Schnitt	G-PS	x	-	x	-	-	x	x	-	-	-	-	(x)	(x)
01/16	Kleegras 2.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	(x)	(x)
01/17	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/18	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/19	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/20	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/21	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	x	x	-	-	-
01/22	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-
01/23	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	-	x	-	-	x	x	-	-	-	-	-	-
01/24	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	-	x	-	-	-	-	-	-	-	x	-	-
01/25	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	-	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/26	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-SI-P	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-
01/27	Kleegras 2.Schnitt	G-PS-SI-L	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/28	Gemisch	G-PS-UF-Ret015/050, sprühgetr.	x	x	x	x	x	x	x	x	-	x	-	-	-
01/29	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	x
01/30	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	(x)	(x)
01/31	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	-	-	-
01/32	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Ret015	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	x	x
01/33	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Perm050	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	-	-	-
01/34	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Ret050	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	x	x
01/35	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Perm050-UF-Ret001	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
01/36	Bastardraygras 3.Schnitt	G-PS-UF-Perm050-UF-Perm001	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
01/37	Knautgras 2.Schnitt	G-PS	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	x

**Tab. 33 Übersicht über die durchgeführten Analysen  
– Teil 2 (Silageäfte 2001)**

Nr. (Jahr, Nummer)	Wiese, Schnitt	Verarbeitung G...Grün, S...Silage mit Bakterienstamm z.B. I- FAS3 oder BonS PS...Presssaft (II...2. Pres- sung) mit Datum SI...Steam Injection (L/P...Liquid/Pellet nach Zentrifugation), UF...Ultrafiltration (Perm/Ret...Permeat, Re- tentat), 015...15 kD Cut Off	Dry	Asche	Kjeldhal	Ammonium	Aminosäuren, hydr.	AA, Cys, Pro, Met	AA, Trp	AA, GABA	Aminosäuren, ohne Hydr.	Zucker, org. Säuren	Ionen	Lowry	Elektrophorese
			Matter, DM		Stickstoff, TKN										
01/38	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	x	-	-
01/39	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS	x	-	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/40	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS-UF-Ret015	x	x	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-
01/41	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	x	-	-	-	x	x	x	-	-
01/42	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/43	Kleegras 1.Schnitt	SIFAS3-PS-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/44	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	x
01/45	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	(x)	-
01/46	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Perm001	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/47	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Perm001	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/48	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Perm001	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/49	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Ret001	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/50	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Perm001	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/51	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Perm001	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	-	-
01/52	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-UF-Ret001	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/53	Kleegras 1.Schnitt	SIFAM2-PS-Bodensatz	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/54	Dauerwiese 1.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	-
01/55	Dauerwiese 1.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	-
01/56	Kleegras 2.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	x
01/57	Kleegras 2.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	x	-
01/58	Knaulgras 2.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	(x)	-
01/59	Knaulgras 2.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	x	-
01/60	Knaulgras 2.Schnitt	SIFAS3-PS-SI-L	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/61	Knaulgras 2.Schnitt	SIFAS3-PS-SI-P	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/62	Knaulgras 2.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	-	-
01/63	Bastardraygras 3.Schnitt	SIFAS3-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	x	x	-
01/64	Bastardraygras 3.Schnitt	SIFAM2-PS	x	x	x	x	x	-	-	-	-	x	-	x	-
01a/1	SJP02		x	-	x	x	x	-	-	-	x	(x)	(x)	-	-
01a/2	SJP02 ED-Conc after ED1, pH1,8		-	-	-	(x)	-	-	-	-	x	-	(x)	-	-
01a/3	SJP02 ED-Dil after ED1, pH1,8		-	-	-	(x)	-	-	-	-	x	-	(x)	-	-
01a/4	SJP02 ED-Concentrate after ED1, pH6,6		-	-	-	(x)	-	-	-	-	x	-	(x)	-	-
01a/5	SJP02 ED-Diluate after ED1, pH6,6		-	-	-	(x)	-	-	-	-	x	-	(x)	-	-

**Tab. 34 Übersicht über die durchgeführten Analysen  
(alle Säfte 2002)**

Nr. (Jahr, Nummer)	Wiese, Schnitt	Verarbeitung G...Grün, S...Silage mit Bakterienstamm z.B. IFAS3 oder BonS PS...Presssaft (Il...2. Pressung) mit Da- tum SI...Steam Injection (L/P...Liquid/Pellet nach Zentrifugation), UF...Ultrafiltration (Perm/Ret...Permeat, Retentat), 015...15 kD Cut Off	Dry Matter, DM	Asche	Kjeldhal Stickstoff, TKN	Ammonium	Aminosäuren, hydr.	AA, Cys, Pro, Met	AA, Trp	AA, GABA	Aminosäuren, ohne Hydr.	Zucker, org. Säuren	Ionen	Lowry	Elektrophorese
			x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	x	x
02/01	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2305	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	x	x
02/02	Luzerne 1.Schnitt	G-PSII2305	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/03	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2305-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/04	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2305-UF-Ret015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	x	-
02/05	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2305-UF-Ret015, sprühgetr.	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/06	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2405	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/07	Luzerne 1.Schnitt	G-PS2405-SI-Pellet	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-	-	-
02/08	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS0406	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	x	-
02/09	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS0406-UF-Perm015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/10	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS0406-UF-Ret015	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/11	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS0406-UF-Ret01, sprühgetr.	x	x	x	x	-	-	-	x	-	-	-	-	-
02/12	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PSII0406	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/13	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS1106	x	x	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/14	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PS1106-SI-Pellet	x	x	x	x	x	-	-	x	-	-	-	-	-
02/15	Bastardraygras 2.Schnitt	G-PSII1106, bedampft	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/16	Kleegras 2.Schnitt	G-PS1306	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/17	Kleegras 2.Schnitt	G-PSII1306, bedampft	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/18	Bastardraygras 3.Schnitt 01	SIFAM2-PSII2205	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/19	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PS2705	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/20	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PS2705-UF-Perm001	x	x	x	x	x	-	-	x	x	x	-	-	-
02/21	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PS2705-UF-Perm001	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/22	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PS2705-UF-Ret001	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/23	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PSII2705	x	x	x	x	-	-	-	-	-	x	-	-	-
02/24	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PS2805	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/25	Bastardraygras 1.Schnitt	SBonS-PSII2806	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/26	Kleegras 1.Schnitt-	SBonS-PS3105	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-
02/27	Kleegras 1.Schnitt-	SBonS-PSII3105	x	x	x	x	x	-	-	x	-	x	-	-	-

Tab. 35 Grundanalytik, Teil 1

Nr. (Jahr, Nummer)	Drymatter, [g/L]	Asche, [g/L]	Rohprotein, [g/L]	Zucker u. org Säuren, [g/L]
01/01	58,80	30,70	10,42	26,69
01/02	285,77	21,64	56,72	20,71
01/03	44,99	17,33	5,58	23,45
01/04	86,71	15,13	14,11	12,10
01/05	41,08	13,74	5,50	26,04
01/06	39,88	13,47	5,14	-
01/07	41,16	13,46	4,50	-
01/08	70,78	15,14	18,98	20,15
01/09	75,52	14,82	10,28	33,13
01/10	74,10	14,61	9,11	-
01/11	923,01	117,89	294,25	88,41
01/12	50,03	13,17	2,88	35,20
01/13	187,15	18,26	31,08	44,14
01/14	51,41	14,87	12,50	19,54
01/15	56,95		14,28	-
01/16	49,77	14,34	12,43	20,11
01/17	60,72	15,21	7,13	29,69
01/18	34,20	12,61	6,32	19,61
01/19	35,46	13,59	6,50	20,05
01/20	36,10	13,50	6,40	19,85
01/21	35,12	14,98	6,20	19,17
01/22	103,20	17,83	39,99	23,21
01/23	102,16		39,99	-
01/24	37,65		6,37	-
01/25	102,85		39,71	-
01/26	932,52	108,32	475,91	94,91
01/27	36,90	13,45	6,15	17,11
01/28	894,66	106,74	248,41	200,49
01/29	78,12	23,04	18,30	40,02
01/30	78,66	23,41	17,56	-
01/31	65,90	22,81	11,67	39,99
01/32	140,30	24,72	46,70	46,40
01/33	66,18	22,21	12,00	37,11
01/34	195,14	27,22	75,77	44,54
01/35	87,99	23,58	16,75	41,71
01/36	60,19	20,68	11,02	36,18
01/37	44,19	19,73	8,58	13,37



Tab. 36 Grundanalytik, Teil 2

Nr. (Jahr, Nummer)	Drymatter, [g/L]	Asche, [g/L]	Rohprotein, [g/L]	Zucker u. org Säuren, [g/L]
01/38	191,68	51,24	42,09	149,62
01/39	198,77		42,62	-
01/40	240,52	56,77	53,05	140,17
01/41	184,93	52,18	38,58	140,16
01/42	180,25	51,80	40,81	-
01/43	151,27	45,20	34,03	-
01/44	157,85	43,55	33,65	116,40
01/45	151,81	42,25	33,41	-
01/46	128,54	40,39	28,70	104,39
01/47	138,27	43,14	29,63	-
01/48	139,11	41,87	30,03	-
01/49	169,50	42,37	36,90	-
01/50	144,04	45,32	30,78	-
01/51	149,16	43,84	31,86	102,38
01/52	193,48	44,53	41,77	120,76
01/53	168,09	48,20	31,02	-
01/54	202,53	46,08	43,49	144,72
01/55	150,64	34,70	35,94	108,28
01/56	177,69	52,05	53,95	89,39
01/57	151,35	45,90	52,45	88,96
01/58	174,14	61,24	47,27	77,98
01/59	176,15	69,45	48,53	73,56
01/60	145,60	51,96	52,89	65,62
01/61	847,54	199,05	276,25	205,61
01/62	121,55	52,95	33,23	59,85
01/63	115,68	31,66	34,80	54,09
01/64	119,60	74,34	29,50	47,73
01a/1	-	-	-	-
01a/2	-	-	-	-
01a/3	-	-	-	-
01a/4	-	-	-	-
01a/5	-	-	-	-

**Tab. 37 Grundanalytik, Teil 3**

Nr. (Jahr, Nummer)	Drymatter, [g/L]	Asche, [g/L]	Rohprotein, [g/L]	Zucker u. org Säuren, [g/L]
02/01	68,47	17,32	19,44	15,45
02/02	77,09	20,14	21,46	24,19
02/03	53,39	18,17	9,88	13,15
02/04	144,90	20,69	62,23	16,25
02/05	889,35	130,39	409,59	109,16
02/06	74,25	18,35	21,60	17,58
02/07	889,75	156,40	356,84	-
02/08	61,68	14,65	10,51	29,42
02/09	44,84	14,29	4,89	26,92
02/10	156,02	16,60	41,05	45,11
02/11	851,38	106,55	234,88	-
02/12	84,55	22,88	14,61	47,12
02/13	64,53	12,27	15,70	-
02/14	893,74	132,45	413,63	-
02/15	74,40	15,94	13,96	37,77
02/16	51,10	12,55	7,45	19,32
02/17	57,89	14,59	7,97	23,11
02/18	84,39	22,73	26,56	46,74
02/19	85,72	23,84	28,78	49,51
02/20	74,43	21,43	25,17	39,49
02/21	83,55	22,77	27,52	50,81
02/22	150,71	33,66	46,97	46,20
02/23	89,85	21,34	33,26	39,54
02/24	82,28	22,10	29,77	37,19
02/25	56,67	15,24	20,95	31,49
02/26	80,13	21,80	27,78	38,27
02/27	65,25	18,59	22,23	25,55

**Tab. 38 Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 1**

Nr. (Jahr, Nummer)	TKN, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	Lowry-Protein, [g/L]	Summe 16 AA hydr, [g/L]	Summe 14 AA frei, [g/L]
01/01	1,86	0,19	6,75	8,11	-
01/02	9,20	0,13	-	102,51	-
01/03	1,06	0,17	-	4,23	-
01/04	2,59	0,33	-	10,42	-
01/05	1,02	0,14	-	3,15	-
01/06	0,97	0,14	-	-	-
01/07	0,88	0,15	-	12,04	-
01/08	3,19	0,15	5,20	12,04	-
01/09	1,79	0,14	-	7,04	-
01/10	1,60	0,14	-	-	-
01/11	50,31	3,23	-	284,84	-
01/12	0,96	0,50	-	2,99	-
01/13	5,32	0,34	-	25,96	-
01/14	2,13	0,13	4,30	5,90	-
01/15	2,29	-	-	-	-
01/16	2,12	0,13	-	8,46	-
01/17	1,67	0,53	-	5,94	-
01/18	1,14	0,12	-	3,20	-
01/19	1,15	0,11	-	3,23	-
01/20	1,13	0,11	-	3,43	-
01/21	1,09	0,10	-	2,88	1,36
01/22	6,93	0,53	-	29,10	-
01/23	6,53	-	-	-	-
01/24	1,15	-	-	-	-
01/25	6,48	-	-	-	-
01/26	80,67	4,52	-	438,08	-
01/27	1,07	0,09	-	3,36	-
01/28	42,58	2,83	-	218,76	-
01/29	3,12	0,19	7,10	9,93	-
01/30	3,01	0,20	-	-	-
01/31	2,02	0,15	-	7,10	-
01/32	7,92	0,44	30,00	41,15	-
01/33	2,07	0,15	-	7,30	2,79
01/34	12,77	0,65	63,50	66,67	-
01/35	2,88	0,20	-	10,96	-
01/36	1,90	0,14	-	6,39	-
01/37	1,50	0,12	2,20	4,14	-

**Tab. 39 Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 2**

Nr. (Jahr, Nummer)	TKN, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	Lowry-Protein, [g/L]	Summe 16 AA hydr, [g/L]	Summe 14 AA frei, [g/L]
01/38	7,73	1,00	-	23,02	-
01/39	7,82	-	-	-	-
01/40	9,70	1,21	-	29,11	-
01/41	7,22	1,05	-	32,28	27,87
01/42	7,51	0,98	-	-	-
01/43	6,32	0,88	-	-	-
01/44	6,01	0,62	4,00	19,41	-
01/45	5,95	0,60	-	-	-
01/46	5,14	0,55	-	14,18	-
01/47	5,32	0,58	-	-	-
01/48	5,39	0,59	-	-	-
01/49	6,57	0,67	-	-	-
01/50	5,53	0,60	-	-	-
01/51	5,69	0,59	-	22,98	-
01/52	7,42	0,73	-	35,56	-
01/53	5,55	0,58	-	-	-
01/54	7,75	0,79	4,20	20,71	-
01/55	6,57	0,82	3,00	18,05	-
01/56	9,86	1,23	-	24,74	-
01/57	9,46	1,07	5,90	25,13	-
01/58	8,45	0,88	3,00	38,11	-
01/59	8,63	0,87	4,00	38,51	-
01/60	9,20	0,74	-	31,95	-
01/61	48,84	4,64	-	193,14	-
01/62	5,85	0,53	-	29,75	-
01/63	6,30	0,73	2,10	30,52	23,25
01/64	5,19	0,46	2,80	22,56	-
01a/1	-	-	-	26,00	23,22
01a/2	-	-	-	-	1,71
01a/3	-	-	-	-	15,59
01a/4	-	-	-	-	0,98
01a/5	-	-	-	-	17,65

**Tab. 40 Zusammenfassung Stickstoffanalytik, Teil 3**

Nr. (Jahr, Nummer)	TKN, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	Lowry-Protein, [g/L]	Summe 16 AA hydr, [g/L]	Summe 14 AA frei, [g/L]
02/01	3,38	0,27	13,40	12,05	-
02/02	3,72	0,28	-	-	-
02/03	1,77	0,19	-	-	-
02/04	10,75	0,79	26,25	-	-
02/05	66,00	0,47	-	326,44	-
02/06	3,76	0,30	-	-	-
02/07	61,31	4,21	-	303,43	-
02/08	1,80	0,12	4,70	6,58	-
02/09	0,84	0,06	-	-	-
02/10	7,21	0,64	-	-	-
02/11	39,81	2,23	-	194,99	-
02/12	2,49	0,15	-	-	-
02/13	2,70	0,18	-	-	-
02/14	70,12	3,94	-	376,05	-
02/15	2,42	0,18	-	-	-
02/16	1,28	0,08	-	5,46	-
02/17	1,38	0,10	-	-	-
02/18	4,65	0,40	-	-	-
02/19	5,18	0,58	-	22,11	-
02/20	4,56	0,53	-	16,67	11,01
02/21	4,98	0,58	-	19,91	-
02/22	8,31	0,80	-	34,09	-
02/23	5,92	0,59	-	-	-
02/24	5,37	0,60	-	20,90	-
02/25	3,80	0,44	-	13,48	-
02/26	5,08	0,63	-	20,15	-
02/27	4,09	0,53	-	16,11	-

**Tab. 41 Annorganische Analytik, Teil 1**

Nr. (Jahr, Nummer)	Asche, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	PO <sub>4</sub> , [g/L]	K, [g/L]	Ca, [g/L]	Mg, [g/L]	Na, [mg/L]
01/01	30,70	0,19	-	-	-	-	-
01/02	21,64	0,13	-	-	-	-	-
01/03	17,33	0,17	1,15	4,84	0,55	0,23	0,04
01/04	15,13	0,33	-	-	-	-	-
01/05	13,74	0,14	-	-	-	-	-
01/06	13,47	0,14	-	-	-	-	-
01/07	13,46	0,15	-	-	-	-	-
01/08	15,14	0,15	1,53	5,50	0,55	0,32	0,05
01/09	14,82	0,14	-	-	-	-	-
01/10	14,61	0,14	-	-	-	-	-
01/11	117,89	3,23	-	-	-	-	-
01/12	13,17	0,50	-	-	-	-	-
01/13	18,26	0,34	-	-	-	-	-
01/14	14,87	0,13	1,62	5,62	0,58	0,33	0,05
01/15	-	-	-	-	-	-	-
01/16	14,34	0,13	-	-	-	-	-
01/17	15,21	0,53	-	-	-	-	-
01/18	12,61	0,12	-	-	-	-	-
01/19	13,59	0,11	-	-	-	-	-
01/20	13,50	0,11	-	-	-	-	-
01/21	14,98	0,10	-	-	-	-	-
01/22	17,83	0,53	-	-	-	-	-
01/23	-	-	-	-	-	-	-
01/24	-	-	1,39	5,00	0,48	0,28	0,05
01/25	-	-	-	-	-	-	-
01/26	108,32	4,52	-	-	-	-	-
01/27	13,45	0,09	-	-	-	-	-
01/28	106,74	2,83	-	-	-	-	-
01/29	23,04	0,19	1,68	8,50	1,33	0,52	0,21
01/30	23,41	0,20	-	-	-	-	-
01/31	22,81	0,15	-	-	-	-	-
01/32	24,72	0,44	-	-	-	-	-
01/33	22,21	0,15	-	-	-	-	-
01/34	27,22	0,65	-	-	-	-	-
01/35	23,58	0,20	-	-	-	-	-
01/36	20,68	0,14	-	-	-	-	-
01/37	19,73	0,12	1,48	7,70	0,51	0,39	0,13

**Tab. 42 Annorganische Analytik, Teil 2**

Nr. (Jahr, Nummer)	Asche, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	PO <sub>4</sub> , [g/L]	K, [g/L]	Ca, [g/L]	Mg, [g/L]	Na, [mg/L]
01/38	51,24	1,00	6,87	21,40	2,45	1,04	0,21
01/39	-	-	-	-	-	-	-
01/40	56,77	1,21	-	-	-	-	-
01/41	52,18	1,05	6,38	18,59	2,30	0,85	0,22
01/42	51,80	0,98	-	-	-	-	-
01/43	45,20	0,88	-	-	-	-	-
01/44	43,55	0,62	-	-	-	-	-
01/45	42,25	0,60	-	-	-	-	-
01/46	40,39	0,55	-	-	-	-	-
01/47	43,14	0,58	-	-	-	-	-
01/48	41,87	0,59	-	-	-	-	-
01/49	42,37	0,67	-	-	-	-	-
01/50	45,32	0,60	-	-	-	-	-
01/51	43,84	0,59	5,55	16,70	1,66	0,68	0,19
01/52	44,53	0,73	-	-	-	-	-
01/53	48,20	0,58	-	-	-	-	-
01/54	46,08	0,79	-	-	-	-	-
01/55	34,70	0,82	-	-	-	-	-
01/56	52,05	1,23	-	-	-	-	-
01/57	45,90	1,07	6,47	17,32	1,96	1,11	0,20
01/58	61,24	0,88	-	-	-	-	-
01/59	69,45	0,87	7,20	25,28	1,41	1,45	0,30
01/60	51,96	0,74	-	-	-	-	-
01/61	199,05	4,64	-	-	-	-	-
01/62	52,95	0,53	-	-	-	-	-
01/63	31,66	0,73	3,43	11,60	0,19	0,71	0,25
01/64	74,34	0,46	-	-	-	-	-
01a/1	-	-	-	-	-	-	-
01a/2	-	-	-	-	-	-	-
01a/3	-	-	-	-	-	-	-
01a/4	-	-	-	-	-	-	-
01a/5	-	-	-	-	-	-	-

**Tab. 43 Annorganische Analytik, Teil 3**

Nr. (Jahr, Nummer)	Asche, [g/L]	Ammonium-N, [g/L]	PO <sub>4</sub> , [g/L]	K, [g/L]	Ca, [g/L]	Mg, [g/L]	Na, [mg/L]
02/01	17,32	0,27	-	-	-	-	-
02/02	20,14	0,28	-	-	-	-	-
02/03	18,17	0,19	-	-	-	-	-
02/04	20,69	0,79	-	-	-	-	-
02/05	130,39	0,47	-	-	-	-	-
02/06	18,35	0,30	-	-	-	-	-
02/07	156,40	4,21	-	-	-	-	-
02/08	14,65	0,12	-	-	-	-	-
02/09	14,29	0,06	-	-	-	-	-
02/10	16,60	0,64	-	-	-	-	-
02/11	106,55	2,23	-	-	-	-	-
02/12	22,88	0,15	-	-	-	-	-
02/13	12,27	0,18	-	-	-	-	-
02/14	132,45	3,94	-	-	-	-	-
02/15	15,94	0,18	-	-	-	-	-
02/16	12,55	0,08	-	-	-	-	-
02/17	14,59	0,10	-	-	-	-	-
02/18	22,73	0,40	-	-	-	-	-
02/19	23,84	0,58	-	-	-	-	-
02/20	21,43	0,53	-	-	-	-	-
02/21	22,77	0,58	-	-	-	-	-
02/22	33,66	0,80	-	-	-	-	-
02/23	21,34	0,59	-	-	-	-	-
02/24	22,10	0,60	-	-	-	-	-
02/25	15,24	0,44	-	-	-	-	-
02/26	21,80	0,63	-	-	-	-	-
02/27	18,59	0,53	-	-	-	-	-



Tab. 44 Analytik, freie Aminosäuren, Teil 1

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 14 AA frei, [g/L]	Ala, [g/L]	Arg, [g/L]	Asx, [g/L]	Cys, [g/L]	Glx, [g/L]	Gly, [g/L]	His, [g/L]	Ile, [g/L]	Leu, [g/L]	Lys, [g/L]	Met, [g/L]	Phe, [g/L]	Pro, [g/L]	Ser, [g/L]	Thr, [g/L]	Trp, [g/L]	Tyr, [g/L]	Val, [g/L]
01/01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/21	1,36	0,42	0,08	0,12	-	0,04	0,03	0,00	0,05	0,11	0,10	(0,03)	0,07	-	0,12	0,10	-	0,06	0,09
01/22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/33	2,79	0,73	0,20	0,21	-	0,08	0,06	0,00	0,12	0,22	0,25	(0,05)	0,14	-	0,25	0,21	-	0,11	0,21
01/34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 45 Analytik, freie Aminosäuren, Teil 2

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 14 AA frei, [g/L]	Ala, [g/L]	Arg, [g/L]	Asx, [g/L]	Cys, [g/L]	Glx, [g/L]	Gly, [g/L]	His, [g/L]	Ile, [g/L]	Leu, [g/L]	Lys, [g/L]	Met, [g/L]	Phe, [g/L]	Pro, [g/L]	Ser, [g/L]	Thr, [g/L]	Trp, [g/L]	Tyr, [g/L]	Val, [g/L]	Gaba, [g/L]
01/38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/41	27,9	3,23	0,50	4,11	-	1,53	1,47	0,60	1,76	2,97	2,62	(0,67)	1,49	-	2,04	2,00	-	1,11	2,45	-
01/42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/62	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/63	23,3	3,04	0,20	2,09	-	1,94	1,38	0,45	1,41	2,78	2,45	(0,65)	1,51	-	1,34	1,64	-	1,08	1,94	-
01/64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/1	23,2	2,95	0,26	2,60	-	1,73	1,30	0,56	1,49	2,66	2,23	(0,58)	1,37	-	1,45	1,68	-	0,95	1,99	2,76
01a/2	1,71	0,35	0,04	0,13	-	0,09	0,24	0,06	0,06	0,11	0,25	(0,03)	0,04	-	0,13	0,09	-	0,02	0,11	0,49
01a/3	15,6	1,70	0,10	1,96	-	1,30	0,47	0,28	1,10	1,99	1,30	(0,42)	1,03	-	0,94	1,23	-	0,73	1,47	1,01
01a/4	0,98	0,08	0,02	0,39	-	0,15	0,00	0,02	0,02	0,04	0,14	(0,01)	0,02	-	0,06	0,00	-	0,01	0,03	0,05
01a/5	17,6	2,37	0,16	1,61	-	1,25	0,92	0,33	1,25	2,20	1,53	(0,48)	1,11	-	1,15	1,36	-	0,76	1,66	2,13

Tab. 46 Analytik, freie Aminosäuren, Teil 3

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 14 AA frei, [g/L]	Ala, [g/L]	Arg, [g/L]	Asx, [g/L]	Cys, [g/L]	Glx, [g/L]	Gly, [g/L]	His, [g/L]	Ile, [g/L]	Leu, [g/L]	Lys, [g/L]	Met, [g/L]	Phe, [g/L]	Pro, [g/L]	Ser, [g/L]	Thr, [g/L]	Trp, [g/L]	Tyr, [g/L]	Val, [g/L]	Gaba, [g/L]
02/01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/20	11,0	1,50	0,07	0,76	-	1,13	0,65	0,29	0,68	1,37	1,09	(0,34)	0,74	-	0,80	0,90	-	0,09	0,93	1,45
02/21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tab. 47 Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 1**

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 16 AA hydr. [g/L]	Ala. [g/L]	Arg. [g/L]	Asx. [g/L]	Cys. [g/L]	Glx. [g/L]	Gly. [g/L]	His. [g/L]	Ile. [g/L]	Leu. [g/L]	Lys. [g/L]	Met. [g/L]	Phe. [g/L]	Pro. [g/L]	Ser. [g/L]	Thr. [g/L]	Trp. [g/L]	Tyr. [g/L]	Val. [g/L]	Gaba. [g/L]
01/01	8,11	0,78	0,40	1,78	-	1,05	0,43	0,18	0,38	0,62	0,55	-	0,39	-	0,40	0,42	-	0,17	0,55	-
01/02	102,51	7,40	8,10	11,2	-	13,0	7,08	3,10	6,02	10,6	6,68	-	7,20	-	5,00	5,56	-	4,26	7,30	-
01/03	4,23	0,48	0,14	1,24	-	0,52	0,20	0,07	0,17	0,25	0,23	-	0,15	-	0,21	0,22	-	0,06	0,28	-
01/04	10,42	0,97	0,44	2,01	-	1,45	0,63	0,19	0,47	0,79	0,67	-	0,48	-	0,62	0,67	-	0,35	0,70	-
01/05	3,15	0,39	0,08	1,06	-	0,39	0,12	0,04	0,12	0,18	0,13	-	0,09	-	0,16	0,16	-	0,06	0,17	-
01/06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/07	12,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/08	12,04	1,22	0,73	1,53	0,20	1,71	0,75	0,28	0,59	1,08	0,80	0,30	0,69	0,67	0,60	0,73	0,24	0,51	0,81	-
01/09	7,04	0,79	0,37	0,94	-	0,95	0,48	0,16	0,35	0,59	0,50	-	0,37	-	0,41	0,44	-	0,17	0,54	-
01/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/11	284,84	21,9	19,8	32,7	3,2	40,8	18,1	8,5	15,5	27,7	19,8	7,4	18,2	14,9	15,1	16,4	5,7	10,5	20,0	2,4
01/12	2,99	0,48	0,11	0,46	-	0,41	0,19	0,06	0,12	0,20	0,19	-	0,12	-	0,19	0,19	-	0,07	0,21	0,70
01/13	25,96	2,26	1,54	3,16	-	3,57	1,82	0,76	1,35	2,40	1,82	-	1,59	-	1,46	1,61	-	0,76	1,86	0,89
01/14	5,90	0,66	0,36	0,78	-	0,91	0,35	0,13	0,28	0,51	0,39	-	0,32	-	0,32	0,36	-	0,23	0,29	-
01/15	-	-	-	-	0,13	-	-	-	-	-	-	0,19	-	0,53	-	-	0,09	-	-	-
01/16	8,46	0,96	0,47	1,21	-	1,25	0,50	0,18	0,40	0,69	0,58	-	0,43	-	0,44	0,50	-	0,29	0,57	-
01/17	5,94	0,65	0,31	0,79	-	0,94	0,36	0,12	0,27	0,48	0,40	-	0,30	-	0,34	0,37	-	0,20	0,39	-
01/18	3,20	0,53	0,13	0,50	-	0,50	0,16	0,04	0,12	0,22	0,20	-	0,12	-	0,18	0,20	-	0,09	0,19	-
01/19	3,23	0,55	0,08	0,51	-	0,51	0,18	0,05	0,14	0,24	0,13	-	0,13	-	0,19	0,22	-	0,08	0,22	-
01/20	3,43	0,56	0,14	0,50	-	0,49	0,16	0,04	0,13	0,36	0,20	-	0,13	-	0,19	0,21	-	0,10	0,20	-
01/21	2,88	0,52	0,10	0,47	-	0,48	0,15	0,03	0,11	0,20	0,10	-	0,10	-	0,16	0,19	-	0,09	0,18	-
01/22	29,10	2,55	1,70	3,56	-	3,98	1,92	0,82	1,52	2,76	2,01	-	1,79	-	1,51	1,77	-	1,19	2,04	-
01/23	-	-	-	-	0,49	-	-	-	-	-	-	0,85	-	1,80	-	-	0,72	-	-	-
01/24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/26	438,08	33,0	33,0	48,7	5,2	58,7	27,9	12,7	24,7	43,1	32,9	12,8	28,5	24,2	20,6	24,6	10,6	17,6	32,2	-
01/27	3,36	0,53	0,13	0,59	-	0,60	0,17	0,04	0,12	0,20	0,20	-	0,11	-	0,19	0,19	-	0,05	0,22	-
01/28	218,76	18,7	14,0	26,8	4,0	29,5	15,0	6,4	11,8	20,1	14,9	5,1	13,4	13,4	11,9	13,4	4,6	7,0	15,9	5,28
01/29	9,93	1,18	0,54	1,19	0,18	1,63	0,58	0,19	0,43	0,78	0,71	0,20	0,49	1,26	0,58	0,64	0,05	0,33	0,65	-
01/30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/31	7,10	1,10	0,35	0,90	-	1,30	0,37	0,13	0,28	0,44	0,53	-	0,25	-	0,43	0,44	-	0,11	0,47	1,08
01/32	41,15	3,73	2,58	5,07	-	5,78	2,85	1,15	2,07	3,60	3,05	-	2,43	-	2,20	2,47	-	1,29	2,89	1,29
01/33	7,30	1,11	0,36	0,96	-	1,33	0,40	0,13	0,28	0,45	0,51	-	0,27	-	0,45	0,45	-	0,11	0,49	1,08
01/34	66,67	5,64	4,45	7,93	-	8,94	4,65	2,10	3,48	6,04	4,82	-	4,12	-	3,54	4,00	-	2,26	4,71	1,38
01/35	10,96	1,38	0,47	1,55	-	2,04	0,72	0,21	0,45	0,70	0,76	-	0,42	-	0,64	0,68	-	0,26	0,70	1,13
01/36	6,39	1,01	0,33	0,81	-	1,15	0,33	0,11	0,24	0,40	0,45	-	0,24	-	0,40	0,40	-	0,09	0,43	0,97
01/37	4,14	0,50	0,20	0,59	0,07	0,69	0,24	0,06	0,19	0,33	0,23	0,07	0,20	0,28	0,23	0,26	0,01	0,15	0,27	-

**Tab. 48 Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 2**

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 16 AA hydr. [g/L]	Ala, [g/L]	Arg, [g/L]	Asx, [g/L]	Cys, [g/L]	Glx, [g/L]	Gly, [g/L]	His, [g/L]	Ile, [g/L]	Leu, [g/L]	Lys, [g/L]	Met, [g/L]	Phe, [g/L]	Pro, [g/L]	Ser, [g/L]	Thr, [g/L]	Trp, [g/L]	Tyr, [g/L]	Val, [g/L]	Gaba, [g/L]
01/38	23,02	2,31	0,47	5,00	0,20	2,12	1,25	0,56	1,31	2,06	1,72	0,51	1,07	3,93	1,20	1,44	0,21	0,67	1,85	-
01/39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/40	29,11	2,96	0,78	5,68	0,38	3,03	1,61	0,75	1,59	2,51	2,17	0,72	1,40	4,96	1,55	1,94	0,39	0,94	2,21	-
01/41	32,28	3,21	0,62	7,29	-	2,90	1,69	0,98	1,86	2,77	2,29	-	1,44	-	1,78	1,91	-	0,92	2,62	-
01/42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/44	19,41	2,00	0,66	3,25	-	2,13	1,12	0,48	1,12	1,82	1,48	-	0,96	-	0,98	1,24	-	0,62	1,57	-
01/45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/46	14,18	2,11	0,43	3,01	-	0,53	0,99	0,15	0,93	1,60	0,95	-	0,77	-	0,15	0,64	-	0,58	1,34	-
01/47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/51	22,98	2,28	0,74	3,91	-	2,43	1,38	0,64	1,39	2,16	1,81	-	1,12	-	1,19	1,44	-	0,54	1,95	-
01/52	35,56	3,65	1,37	5,53	-	4,18	2,15	1,04	2,09	3,21	2,76	-	1,74	-	1,86	2,22	-	0,93	2,82	-
01/53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/54	20,71	2,27	0,75	2,74	-	2,08	1,34	0,49	1,19	2,03	1,96	-	0,98	-	1,09	1,42	-	0,66	1,71	-
01/55	18,05	2,03	0,33	2,39	-	1,95	1,20	0,42	1,10	1,86	1,71	-	0,88	-	0,86	1,23	-	0,58	1,53	-
01/56	24,74	2,75	0,30	3,50	-	3,00	1,51	0,64	1,49	2,40	2,02	-	1,18	-	1,38	1,72	-	0,79	2,08	-
01/57	25,13	2,76	0,74	3,54	-	2,98	1,51	0,57	1,46	2,39	1,98	-	1,20	-	1,41	1,75	-	0,80	2,05	-
01/58	38,11	4,07	1,14	5,12	-	4,29	2,63	0,83	2,20	3,72	3,59	-	1,84	-	1,89	2,57	-	1,02	3,21	-
01/59	38,51	4,12	1,14	5,11	-	4,29	2,69	0,84	2,23	3,75	3,72	-	1,83	-	1,92	2,59	-	1,05	3,24	-
01/60	31,95	3,43	0,96	4,31	-	3,59	2,19	0,69	1,85	3,13	3,01	-	1,52	-	1,58	2,15	-	0,85	2,70	-
01/61	193,14	19,4	8,5	25,6	-	25,5	12,6	4,5	10,6	17,8	16,4	-	10,6	-	9,3	11,9	-	5,9	14,5	-
01/62	29,75	3,22	1,46	3,66	-	3,28	2,09	0,75	1,71	2,90	2,59	-	1,54	-	1,50	1,83	-	0,81	2,41	-
01/63	30,52	3,42	0,91	3,86	-	3,33	2,16	0,76	1,78	3,04	2,80	-	1,69	-	1,44	1,92	-	0,93	2,49	-
01/64	22,56	2,53	1,09	2,93	-	2,52	1,50	0,44	1,25	2,12	2,03	-	1,03	-	1,22	1,49	-	0,56	1,86	-
01a/1	26,00	2,87	0,39	4,29	-	2,72	1,52	0,60	1,54	2,59	2,29	-	1,41	-	1,27	1,60	-	0,76	2,13	2,29
01a/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tab. 49 Analytik, Aminosäuren nach Hydrolyse der Proteine, Teil 3**

Nr. (Jahr, Nummer)	Summe 16 AA hydr, [g/L]	Ala, [g/L]	Arg, [g/L]	Asx, [g/L]	Cys, [g/L]	Glx, [g/L]	Gly, [g/L]	His, [g/L]	Ile, [g/L]	Leu, [g/L]	Lys, [g/L]	Met, [g/L]	Phe, [g/L]	Pro, [g/L]	Ser, [g/L]	Thr, [g/L]	Trp, [g/L]	Tyr, [g/L]	Val, [g/L]	Gaba, [g/L]
02/01	12,05	0,89	0,62	2,83	-	1,61	0,53	0,23	0,56	0,96	0,83	-	0,61	-	0,65	0,63	-	0,39	0,72	0,54
02/02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/05	326,44	23,0	22,7	44,8	-	43,7	18,3	9,4	17,2	31,2	24,0	-	21,0	-	16,1	18,4	-	14,6	22,0	4,12
02/06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/07	303,43	20,6	21,3	44,5	-	40,6	16,2	8,3	16,4	29,1	22,2	-	19,0	-	14,7	16,7	-	13,7	20,1	3,76
02/08	6,58	0,73	0,36	0,84	-	1,09	0,36	0,14	0,31	0,55	0,49	-	0,33	-	0,35	0,38	-	0,22	0,44	0,71
02/09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/11	194,99	16,0	13,0	23,3	-	29,7	11,8	4,9	10,2	18,1	14,1	-	11,9	-	9,5	10,9	-	7,4	14,0	4,1
02/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/14	376,05	28,3	27,9	42,0	-	53,5	21,7	10,2	20,1	36,3	28,7	-	24,9	-	18,2	21,0	-	16,7	26,5	2,29
02/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/16	5,46	0,64	0,31	0,74	-	0,78	0,30	0,11	0,27	0,47	0,39	-	0,29	-	0,28	0,31	-	0,21	0,37	0,40
02/17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/19	22,11	2,62	0,31	3,03	-	2,60	1,42	0,56	1,37	2,32	1,90	-	1,28	-	1,16	1,47	-	0,24	1,85	2,11
02/20	16,67	1,97	0,20	2,35	-	1,90	1,07	0,43	1,05	1,79	1,46	-	0,96	-	0,85	1,09	-	0,15	1,41	1,68
02/21	19,91	2,47	0,22	2,64	-	2,31	1,22	0,51	1,30	2,16	1,73	-	1,16	-	1,01	1,30	-	0,18	1,71	1,99
02/22	34,09	4,62	0,97	3,69	-	4,77	2,07	0,75	2,01	3,22	3,12	-	1,79	-	1,75	2,10	-	0,66	2,58	1,87
02/23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/24	20,90	2,39	0,26	3,06	-	2,44	1,33	0,53	1,28	2,22	1,84	-	1,25	-	0,98	1,34	-	0,21	1,77	2,00
02/25	13,48	1,50	0,17	2,02	-	1,56	0,88	0,34	0,84	1,44	1,14	-	0,83	-	0,64	0,88	-	0,15	1,12	1,33
02/26	20,15	2,29	0,19	3,42	-	2,40	1,24	0,50	1,29	2,15	1,29	-	1,14	-	1,04	1,30	-	0,17	1,72	1,71
02/27	16,11	1,89	0,16	2,75	-	1,86	0,99	0,38	1,01	1,71	0,99	-	0,97	-	0,85	1,05	-	0,15	1,35	1,42

**Tab. 50 Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 1**

Nr. (Jahr, Nummer)	Zucker u. org Säuren, [g/L]	Lactose, [g/L]	Citrat, [g/L]	Glucose, [g/L]	Xylose, [g/L]	Fructose, [g/L]	Mannitol, [g/L]	Arabinose, [g/L]	Succinat, [g/L]	Milchsäure, [g/L]	Glycerol, [g/L]	Essigsäure, [g/L]	Acetaldehyd, [g/L]	Propionsäure, [g/L]	Ethanol, [g/L]	2-Propanol, [g/L]	Buttersäure, [g/L]	iso-Buttersäure, [g/L]	1,3-Propandiol, [g/L]	1-Propanol, [g/L]	Iso-Valeriansäure, [g/L]	Valerianic Acid, [g/L]	Ameisensäure, [g/L]	1,2-Propandiol, [g/L]	Maltose, [g/L]
01/01	26,7	1,1	0,0	13	0,0	11,2	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/02	20,7	1,4	0,3	9,1	0,0	8,1	0,0	0,3	0,1	0,0	0,5	0,0	0,1	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/03	23,4	1,0	0,6	11,3	0,0	9,7	0,0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/04	12,1	0,0	0,0	5,0	0,0	7,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/05	26,0	1,1	0,7	11,8	0,0	11,0	0,0	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/08	20,1	1,1	0,9	7,6	0,8	6,8	0,0	0,6	0,2	1,7	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/09	33,1	2,1	1,1	9,7	0,6	15,3	0,0	1,0	0,1	0,0	0,4	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	0,0
01/10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/11	88,4	0,0	2,9	30,5	0,0	41,5	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,1	6,1
01/12	35,2	2,6	1,5	10,1	1,0	16,4	0,0	1,3	0,4	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0
01/13	44,1	0,0	1,0	10,1	0,0	27,9	0,0	1,2	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	2,4
01/14	19,5	1,2	0,9	7,7	0,8	7,4	0,0	0,5	0,2	0,3	0,3	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/15	0,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/16	20,1	1,3	0,8	7,7	0,8	7,3	0,0	0,6	0,2	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,0
01/17	29,7	1,7	1,4	9,5	0,7	14,3	0,0	1,0	0,3	0,4	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/18	19,6	1,2	0,9	7,6	0,8	7,5	0,0	0,6	0,2	0,0	0,4	0,2	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/19	20,1	1,1	0,9	6,1	0,8	6,0	0,0	0,5	0,4	3,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/20	19,9	1,2	0,9	7,6	0,8	7,3	0,0	0,6	0,2	0,7	0,0	0,3	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/21	19,2	0,9	0,8	7,0	0,8	6,0	0,0	0,5	0,3	1,9	0,0	0,6	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/22	23,2	1,0	0,7	0,5	0,4	8,6	0,0	0,4	0,1	8,4	0,0	1,5	0,0	0,0	1,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/26	94,9	6,2	4,2	37,0	4,0	34,6	0,0	2,8	1,1	0,0	1,8	0,2	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	
01/27	17,1	1,1	0,7	6,7	0,7	6,3	0,0	0,5	0,2	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	
01/28	200,5	8,5	3,0	56,0	0,0	114,5	0,0	7,3	0,0	2,2	2,8	0,0	6,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/29	40,0	1,4	1,1	16,7	1,0	17,5	0,0	0,9	0,2	0,0	0,7	0,1	0,3	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/31	40,0	1,6	0,9	16,8	0,0	18,0	0,0	1,0	0,2	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	
01/32	46,4	1,5	0,7	18,2	0,0	23,1	0,0	1,1	0,1	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	
01/33	37,1	1,4	0,8	15,5	0,0	16,6	0,0	0,9	0,1	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	
01/34	44,5	1,3	0,4	18,2	0,0	22,6	0,0	0,0	0,1	0,2	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	
01/35	41,7	1,3	0,6	17,5	0,0	19,5	0,0	0,7	0,1	0,3	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	
01/36	36,2	1,3	0,6	15,3	0,0	16,6	0,0	0,7	0,1	0,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	
01/37	13,4	1,3	0,4	3,4	0,4	5,7	0,0	0,9	0,1	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

**Tab. 51 Analytik, Zucker und organische Säuren, Teil 2**

Nr. (Jahr, Nummer)	Zucker u. org Säuren, [g/L]	Lactose, [g/L]	Citrat, [g/L]	Glucose, [g/L]	Xylose, [g/L]	Fructose, [g/L]	Mannitol, [g/L]	Arabinose, [g/L]	Succinat, [g/L]	Milchsäure, [g/L]	Glycerol, [g/L]	Essigsäure, [g/L]	Acetaldehyd, [g/L]	Propionsäure, [g/L]	Ethanol, [g/L]	2-Propanol, [g/L]	Buttersäure, [g/L]	iso-Buttersäure, [g/L]	1,3-Propandiol, [g/L]	1-Propanol, [g/L]	Iso-Valeriansäure, [g/L]	Valerianic Acid, [g/L]	Ameisensäure, [g/L]	1,2-Propandiol, [g/L]	Maltose, [g/L]
01/38	149,6	5,38	2,3	32,5	0,0	39,2	0,0	3,1	2,0	57,3	0,0	3,0	0,0	0,8	3,4	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/40	140,2	4,13	0,9	33,7	0,0	40,2	2,3	0,0	0,0	58,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/41	140,2	5,23	2,2	30,1	0,0	36,3	0,0	2,9	2,0	52,3	0,0	3,1	1,3	0,9	3,1	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/44	116,4	5,06	1,3	13,1	0,0	24,9	0,0	3,5	7,0	58,3	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/46	104,4	5,02	0,7	12,2	0,0	22,6	0,0	2,2	3,8	50,7	0,0	3,6	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/51	102,4	0,92	0,0	12,4	0,0	26,6	0,0	0,0	0,0	62,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/52	120,8	5,86	0,9	14,6	0,0	26,3	0,0	2,6	4,4	58,6	0,0	3,8	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01/54	144,7	5,93	1,9	11,9	0,0	29,9	25,2	0,0	2,7	54,9	0,0	6,3	1,4	0,0	3,2	0,9	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/55	108,3	4,74	1,0	5,1	0,0	21,1	13,1	3,1	2,5	46,0	0,0	3,9	1,1	0,0	4,2	0,8	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/56	89,4	5,61	1,3	8,4	0,0	7,1	6,6	3,2	3,2	44,9	0,0	5,2	0,8	0,0	2,1	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/57	89,0	5,01	0,7	6,2	3,3	0,0	4,7	2,3	3,3	53,5	0,0	5,5	1,1	0,0	2,3	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/58	78,0	6,52	0,8	7,6	5,8	0,0	0,0	2,9	4,8	44,1	0,0	2,5	1,0	0,0	0,5	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0
01/59	73,6	5,59	0,2	6,9	5,0	4,8	0,0	1,9	2,4	41,2	0,0	0,0	2,5	0,8	0,0	0,0	0,0	0,7	0,8	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/60	65,6	5,60	0,7	6,3	4,8	0,0	0,0	2,4	4,1	37,0	0,0	2,1	0,9	0,0	0,9	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/61	205,6	18,0	2,2	20,5	15,4	0,0	0,0	7,5	12,9	122	0,0	4,8	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/62	59,9	2,97	0,1	8,0	0,0	5,0	0,0	1,6	0,9	37,7	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,1	1,1	0,6	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/63	54,1	2,78	0,2	5,3	0,0	5,0	0,0	1,8	1,4	33,4	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	1,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01/64	47,7	4,04	0,5	7,2	0,0	5,9	0,0	1,5	1,5	24,6	0,0	0,0	1,4	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
01a/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
01a/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



**Tab. 52 Analytik, Zucker und organische Säuren,  
Teil 3**

Nr. (Jahr, Nummer)	Zucker u. org Säuren, [g/L]	Lactose, [g/L]	Citrat, [g/L]	Glucose, [g/L]	Xylose, [g/L]	Fructose, [g/L]	Mannitol, [g/L]	Arabinose, [g/L]	Succinat, [g/L]	Milchsäure, [g/L]	Glycerol, [g/L]	Essigsäure, [g/L]	Acetaldehyd, [g/L]	Propionsäure, [g/L]	Ethanol, [g/L]	2-Propanol, [g/L]	Buttersäure, [g/L]	iso-Buttersäure, [g/L]	1,3-Propandiol, [g/L]	1-Propanol, [g/L]	Iso-Valeriansäure, [g/L]	Valerianic Acid, [g/L]	Ameisensäure, [g/L]	1,2-Propandiol, [g/L]	Maltose, [g/L]
02/01	15,4	0,7	0,6	7,4	0,0	0,0	6,3	0,1	0,2	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/02	24,2	1,6	1,0	10,5	0,0	0,0	9,9	0,3	0,4	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/03	13,2	1,5	0,9	9,4	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,4	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/04	16,2	0,0	0,8	7,6	0,0	0,0	5,7	0,5	0,3	0,7	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/05	109,2	7,7	5,6	47,3	0,0	0,0	40,9	0,9	1,4	1,3	3,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
02/06	17,6	0,7	0,7	8,5	0,0	0,0	7,1	0,0	0,2	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/08	29,4	1,0	0,6	14,1	0,2	12,4	0,0	0,5	0,1	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/09	26,9	2,2	0,6	12,5	0,2	10,7	0,0	0,5	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/10	45,1	1,5	0,7	11,8	0,0	23,7	0,0	1,0	2,3	3,2	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/12	47,1	2,6	0,7	18,8	0,0	18,2	0,0	0,6	1,8	2,9	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6
02/13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02/14	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/15	37,8	0,0	1,0	16,1	0,8	14,2	0,0	0,4	0,1	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	4,4
02/16	19,3	0,9	0,8	9,1	0,0	7,4	0,0	0,4	0,2	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/17	23,1	2,8	0,9	6,1	0,0	7,3	0,0	0,5	0,4	2,5	0,0	2,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0
02/18	46,7	2,1	0,1	5,5	0,0	3,8	0,0	1,6	1,0	29,2	0,0	1,5	0,0	0,0	1,0	0,7	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
02/19	49,5	2,3	0,1	2,5	0,0	3,3	4,5	0,9	1,4	30,5	0,0	2,2	0,0	0,0	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/20	39,5	2,2	0,0	2,2	0,0	3,0	4,0	0,8	1,3	21,6	0,0	2,1	0,0	0,2	1,4	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/21	50,8	2,4	0,0	2,0	0,0	2,9	4,5	0,8	1,4	31,8	0,0	2,3	0,0	0,3	1,6	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/22	46,2	2,4	0,0	2,7	0,0	2,5	4,3	1,0	1,4	26,4	0,0	2,3	0,0	0,3	1,6	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5
02/23	39,5	0,0	0,0	2,6	0,0	3,1	3,2	0,6	0,0	27,2	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/24	37,2	2,3	0,0	1,7	0,0	2,3	4,2	0,8	1,6	20,5	0,0	2,2	0,0	0,3	1,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/25	31,5	1,6	0,0	1,1	0,0	1,3	2,7	0,4	1,1	20,8	0,0	1,7	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/26	38,3	2,2	0,0	2,5	0,8	0,0	0,0	0,4	1,3	27,9	0,0	3,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
02/27	25,6	1,8	0,0	2,2	0,8	0,0	0,0	0,5	1,1	15,3	0,0	2,7	0,0	0,1	0,0	0,5	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

## 2 Tabellen zur Milchsäureabtrennung

Tab. 53 ED 1; pH = 6,7

ED1 at pH = 6.7					
SJP02 at pH = 6.7 after the removal of phosphate					
Vc = 540ml					
Vd = 540 ml					
Time, min	Diluate	Concentrate	Current	pH <sub>D</sub>	pH <sub>C</sub>
0	51,1	0,498	0,435	6,80	7,00
3	49,10	2,59	0,865		
6	47,00	5,79	1,119		
12	42,50	13,50	1,311		
15	40,10	17,08	1,320		
20	36,50	22,30	1,130	6,89	7,90
40	30,20	30,60	0,473	6,88	7,86
45	29,30	31,60	0,440		
55	27,80	33,10	0,409		
60	27,20	33,80	0,395	6,81	7,96
65	26,50	34,10	0,383		
80	24,60	36,20	0,355	6,75	8,07
85	23,90	36,80	0,344		
100	22,30	38,20	0,319	6,69	8,13
120	20,20	39,80	0,289	6,62	8,19
135	18,90	40,90	0,269		
150	17,50	41,90	0,249	6,50	8,24
165	16,30	42,70	0,230		
180	15,22	43,50	0,213	6,38	8,32
195	14,24	44,10	0,196		
210	13,36	44,60	0,180	6,23	8,34
225	12,60	45,00	0,168		
240	11,87	45,40	0,155	6,15	8,38
280	10,39	46,00	0,129		
300	9,81	46,20	0,120		
315	9,27	#NV	0,095		
330	8,99	#NV	0,096	5,85	8,29
360	8,42	44,80	0,095	5,75	8,26
375	8,17	45,30	0,092		
390	7,91	44,80	0,090		
420	7,51	43,40	0,080	5,61	8,28
440	7,29	42,80	0,073		
460	7,13	42,60	0,063		

**Tab. 54 ED 1 at pH = 6,7; Change of ions in diluate**

Change of ions in diluate during ED1 at pH = 6.7  
% removal

Time, min	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	V <sub>D</sub>
0	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	540
20	<b>29,90</b>		#NV	7,91	8,33	<b>89,25</b>	<b>78,67</b>	7,26	530
40	42,13		22,67	#NV	#NV	99,79	97,31	9,36	515
60	51,23		39,46	#NV	#NV	100,00	98,81	9,83	504
80	57,23		#NV	#NV	#NV	100,00	98,63	#NV	495
100	65,01		53,88	#NV	#NV	100,00	99,10	#NV	485
120	70,18		59,16	#NV	#NV	100,00	99,67	#NV	480
150	76,42		65,75	#NV	#NV	100,00	99,41	11,96	472
180	81,23		74,12	45,56	14,07	100,00	99,60	12,24	470
210	84,59		76,88	59,93	#NV	100,00	99,40	15,45	462
240	86,98		79,32	64,14	23,65	100,00	99,75	#NV	459
300	89,17		84,23	77,55	45,37	100,00	99,79	#NV	450
330	90,53		85,69	82,04	56,30	100,00	99,91	#NV	440
360	91,48		87,89	91,02	67,22	100,00	99,89	#NV	440
420	92,10		90,09	93,26	78,15	100,00	99,65	33,38	440
	V <sub>C</sub>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
Time, min	540	27,64	0,16	0,74	0,73	0,1	1,99	6,16	2,46
0	550	19,67	0,39	#NV	0,66	0,09	0,21	1,29	2,24
20	560	16,71	0,54	0,60	#NV	0,08	0,004	0,16	2,15
40	565	14,39	0,59	0,48	0,64	0,06	0	0,07	2,12
60	570	12,85	0,68	#NV	0,70	0,10	0	0,08	2,40
80	575	10,73	0,69	0,38	0,62	0,10	0	0,052	2,15
100	577	9,24	0,71	0,34	0,54	0,09	0	0,019	2,12
120	579	7,43	0,75	0,29	0,49	0,09	0	0,034	2,02
150	580	5,94	0,74	0,22	0,37	0,08	0	0,023	2,01
180	585	4,96	0,75	0,20	0,27	0,07	0	0,034	1,92
210	589	4,22	0,74	0,18	0,24	0,07	0	0,014	1,59
240	590	3,58	0,71	0,14	0,15	0,05	0	0,012	1,51
300	590	3,20	0,65	0,13	0,12	0,04	0	0,005	1,39
330	590	2,88	0,64	0,11	0,06	0,03	0	0,006	1,40
360	590	2,67	0,55	0,09	0,045	0,02	0	0,02	1,50
420									

**Tab. 55 Lactate transfer of ED 1, pH=6,7**

ED1 at pH = 6.7  
SJP02 at pH = 6.7 after the removal of phosphate  
Vd = 540ml/450  
Vc = 540 ml/610

Change of lactate during ED1 at pH = 6.8

Time, min	Diluate	Concentrate	LA transfer	V <sub>D</sub>	V <sub>C</sub>	% recovered	Mass transfer
0	37,54	0		540	540	0,00	0,00
20	35,07	1,73		530	550	<b>4,69</b>	8,31
40	32,51	5,79	232,19	515	560	15,99	17,41
60	27,90	9,70	226,83	504	565	27,04	30,63
80	25,16	13,25	210,00	495	570	37,26	38,56
100	20,84	16,44	192,62	485	575	46,63	50,14
120	17,17	19,24	167,08	480	577	54,76	59,34
150	13,58	23,00	149,70	472	579	65,69	68,38
180	10,08	24,99	#NV	470	580	71,50	76,63
210	7,84	26,87	#NV	462	585	77,54	82,13
240	5,64	28,67	78,90	459	589	83,30	87,23
300	3,92	29,55	18,51	450	590	86,00	91,30
330	2,64	29,2	#NV	440	590	84,99	94,27
360	2,03	29,4	17,91	440	595	86,29	95,59
420	1,14	30,02	17,53	440	600	88,85	97,53

**Tab. 56 ED 2 at pH = 2**

Concentrate from ED1 was acidified by HCl 37% (22ml/600ml) to pH =2  
Vd = 620 ml  
Vc = 620 ml

Time, min	Diluate	Concentrate	Current	pH
0	60,5	0,406	0,12	
1	60,2	0,63	0,26	
2	60	0,85	0,378	
4	59,3	1,5	0,57	
5	59	2,05	0,675	
6	58,4	2,69	0,775	
7	57,8	3,41	0,862	
8	57,3	4,11	0,92	
10	55,8	5,77	1,039	
11	55,1	6,85	#NV	
12	54,3	7,84	#NV	
12,5			#NV	
13	53,6	8,76	#NV	
15	52,1	10,72	1,137	
17	50,5	12,93	1,214	
20	47,6	16,36	#NV	
27	40,7	25,2	#NV	
30	37,4	28,9	#NV	
30,5			1,31	
31			1,315	
32	35,4	31,5	1,316	
33	34,4	32,6	1,32	
35	32,5	34,6	1,324	
38	29,7	37,6	1,315	
40	27	40,2	1,294	
45	23,1	44,2	1,244	
47	20,1	46,7	1,198	
60	10,57	54,8	0,9	
65	7,51	58,9	0,72	
70	5,4	61,7	0,511	
75	4,16	62,8	0,34	
80	3,48	63,4	0,242	
85	3,11	63,4	0,203	
90	2,85	63,4	0,191	
105	2,4	63,4	0,194	

**Tab. 57 ED 2; pH = 2; Change of ions in diluate**

Change of ions in diluate during ED2 at pH = 2

Time, min	% removal								
	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	V <sub>D</sub>
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	620
20	36,82	12,28	35,45	40,26	44,24	42,86	30,92	7,11	605
40	70,52	35,19	70,97	69,19	59,56	82,62	65,07	13,81	585
60	92,47	65,93	90,05	83,03	60,39	97,57	90,84	31,57	573
70	97,19	79,53	94,33	90,60	73,69	98,79	97,29	55,72	571
80	98,34	86,09	95,76	98,13	86,89	99,40	99,28	70,88	569
90	99,07	88,91	97,19	98,13	96,08	100,00	99,64	82,41	567
105	99,02	92,64	97,20	98,14	96,09	100,00	99,73	91,24	565
	V <sub>C</sub>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
Time, min	620	17,67	1,98	0,65	0,49	0,07	1,52	20,37	1,04
0	639	11,44	1,78	0,43	0,30	0,04	0,89	14,42	0,99
20	655	5,52	1,36	0,20	0,16	0,03	0,28	7,54	0,95
40	661	1,44	0,73	0,07	0,09	0,03	0,04	2,02	0,77
60	664	0,54	0,44	0,04	0,05	0,02	0,02	0,60	0,50
70	666	0,32	0,30	0,03	0,01	0,01	0,01	0,16	0,33
80	668	0,18	0,24	0,02	0,01	0,003	0	0,08	0,20
90	670	0,19	0,16	0,02	0,01	0,003	0	0,06	0,1
105									

**Tab. 58 pH Change ED**

Time	Diluate of ED1	Diluate of ED2
0	6,70	2,00
20	6,89	2,24
40	6,88	2,44
60	6,81	2,68
70	#NV	2,78
80	6,75	2,87
90	#NV	2,92
100	6,69	#NV
105	#NV	2,98
120	6,62	
150	6,50	
180	6,38	
210	6,23	
240	6,15	
330	5,85	
360	5,75	
420	5,61	
460	5,40	

Time, min	Lactic acid	pH
0	29,00	2,00
20	29,25	2,24
40	29,94	2,44
60	30,40	2,68
70	30,54	2,78
80	30,56	2,87
90	29,71	2,92
105	29,29	2,98