

Grüne Bioraffinerie

Entwicklung von Schlüssel-Trenntechnologien zur
Gewinnung von Milchsäure und anderen
Wertsubstanzen aus Silagesäften

S. Novalin, W. Lorenz, St. Kromus, M. Mandl, Ch. Krotscheck

Berichte aus Energie- und Umweltforschung

33/2005

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>
oder bei:

Projektfabrik Waldhör
Währingerstraße 121/3
1180 Wien

Grüne Bioraffinerie

Entwicklung von Schlüssel-Trenntechnologien zur
Gewinnung von Milchsäure und anderen
Wertsubstanzen aus Silagesäften

Projektleiter:

Dr. Senad Novalin

UNIVERSITÄT FÜR BODENKULTUR WIEN

Projektpartner:

Dipl. Ing. Werner Lorenz

LactoProt AG

Dipl. Ing. Dr. Stefan Kromus

BioRefSys

Dipl. Ing. Michael Mandl

JOANNEUM RESEARCH Forschungsgesellschaft mbH

Dipl. Ing. Dr. Christian Krotscheck

KORNBERG INSTITUT für nachhaltige

Regionalentwicklung und angewandte Forschung,
Steirisches Vulkanland Regionalentwicklung GmbH

Wien, Februar 2005

Ein Projektbericht im Rahmen der Programmlinie



Impulsprogramm Nachhaltig Wirtschaften

Im Auftrag des Bundesministeriums für Verkehr, Innovation und Technologie

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 und die Schriftenreihe gewährleistet wird.

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

Inhalt

Kurzfassung	7
1. Einleitung	13
1.1 Technologien zur stofflichen Nutzung nachwachsender Rohstoffe	13
1.2 Rohstoff Wiesengrünmasse	15
1.3 Konkrete Umsetzung moderner nachhaltiger Technologien am Beispiel Silagesaft	19
2. Projektziele	23
3. Stand der Technik	24
3.1 Gewinnung von Aminosäuren und Peptid/Aminosäuregemischen	24
3.2 Gewinnung von Milchsäure	27
3.3 Die kombinierte Gewinnung von Milchsäure und Aminosäuren aus Silagesaft	30
4. Material und Methoden	31
4.1 Analytikmethoden	31
4.2 Säfte	40
4.3 Vorbehandlung von Silagesaft	41
4.4 Nanofiltration	42
4.5 Chromatographie	54
5. Ergebnisse	63
5.1 Gravimetrische Fällung/Phosphatfällung	63
5.2 Nanofiltration I	64
5.3 Nanofiltration II	78
5.4 Elektrodialyse	79
5.5 Chromatographie	80
6. Technologische und wirtschaftliche Gesamtstrategien	85
6.1 Vergleich dreier Szenarien	85
6.2 Szenario B II	94
7. Zukünftige allgemeine Bedeutung des Projektes und Schlussfolgerung	96
8. Ausblick	97
9. Literatur	98
10. Anhang	101

Kurzfassung

Einleitung

Das vorliegende Projekt befasst sich in erster Linie mit den Anwendungsmöglichkeiten und der Leistungsfähigkeit der Nanofiltration zur Gewinnung von Wertstoffen (Aminosäuren, Milchsäure) aus Silagesaft. Konkret wurde die Nanofiltration entsprechend ihrer Einsatzmöglichkeiten als Vorfiltrationsschritt, zur (selektiven) Isolierung und Konzentrierung von Substanzen, sowie zur Teilentsalzung im Labor- und Pilotmaßstab untersucht. Darüberhinaus wurden in Kombination mit anderen Trenntechnologien komplette Downstreamszenarien aus technologischer und wirtschaftlicher Sicht beleuchtet.

Silagesaft ist Presssaft aus siliertem blattreichen Gras bzw. aus Gemischen von Gras und Klee. Der pH-Wert liegt zwischen 3,9 und 4,2. Neben rund 25 bis 35 % Milchsäure und etwa 20 % freien Aminosäuren besteht die Trockenmasse im Saft noch aus 15 bis 25 % anorganischen Bestandteilen (Kalium, Sulfat, Phosphat, Kalzium, Magnesium usw.) und 5 bis 25 % monomeren Zuckern. Zusätzlich ist der Saft reich an nicht identifizierten „Biomolekülen“ wie beispielsweise Peptiden.

Allgemein betrachtet kann zunächst gesagt werden, dass viele Inhaltsstoffe naturgemäß zu einer höheren Komplexität eines „Rohstoffes“ und damit zu aufwendigeren Trenntechnologien führen. Im vorliegenden Fall (Silagesaft) ist dies besonders ausgeprägt. Bei genauer Betrachtung, handelt es sich um die Gewinnung mehrerer Produkte (Milchsäure, Aminosäuregemische oder im Idealfall bis zu mehr als 15 Einzelaminosäuren). Zudem muss ein solches Vorhaben mit dem Konzept einer nachhaltigen Entwicklung („Fabrik der Zukunft“) im Einklang stehen. Zur Lösung dieser Aufgabenstellung müssen die derzeit modernsten Trenntechnologien Membranverfahren und Chromatographie eingesetzt werden. Vor dem Hintergrund technologischer Gesamtszenarien wurden die theoretischen und praktischen Untersuchungen in „abgekoppelten Forschungsmodulen“ durchgeführt. D. h., dass relevante Teilprozesse auch periphere Verfahren (z. B. Saft-Vorbehandlung) im Wesentlichen eigenständig betrachtet und auf ihre Leistungsfähigkeit untersucht wurden. Aufgrund vorgegebener Rahmenbedingungen des Projektes, konnten allerdings wichtige Verfahren, vor allem die Chromatographie, nicht im ausreichenden Maße untersucht werden.

Projektziele

Die Idee einer Fabrik der Zukunft mit dem Schwerpunkt Gewinnung von Milchsäure und Aminosäuren aus Grassilagesaft beinhaltet im Wesentlichen drei bekannte Kernfragen:

Ist das Gesamtkonzept aus technologischer Sicht in naher Zukunft realisierbar und welche Verfahrensprozesse sind dafür geeignet?

Ist das Gesamtkonzept aus wirtschaftlicher Sicht nach den zu erwartenden marktwirtschaftlichen Strukturen realisierbar?

Erfüllt ein in Frage kommendes technologisches und wirtschaftliches Gesamtkonzept die Kriterien einer nachhaltigen Entwicklung?

Vor diesem Hintergrund besteht somit das wesentliche Ziel darin, möglichst viele Ergebnisse und Einzeldaten zu gewinnen und zu bewerten, um letzten Endes die oben angeführten Kernfragen zu beantworten. Dabei kann aufgrund der Projektformulierung und -festlegung im Wesentlichen nur das Arbeitsfeld („Arbeitsmodul“) Nanofiltration behandelt werden.

Ergebnisse

Die Abb. K1 stellt ein mögliches technologisches Szenario zur Gewinnung von Milchsäure und Aminosäuren aus Silagesaft dar. Es weist die Besonderheit auf, dass die zwei Hauptprodukte Aminosäuren und Milchsäure nahezu vollständig voneinander getrennt und in weiterer Folge einzeln verarbeitet werden können. Neben der zur Diskussion stehenden Nanofiltration spielen in dieser Variante die Elektrodialyse und Chromatographie ebenfalls eine wesentliche Rolle.

Versuche zur Nanofiltration I (Vorfiltration, Vorreinigung) umfassen in erster Linie ein Membranscreening in dem aus sechs verschiedenen Membranen eine geeignete (organische Membran PES-10; cut-off 1000 Da; Fa. Nadir) identifiziert werden konnte. Die Entscheidung für diese Membran beruht auf deren chemischen Beständigkeit, dem akzeptablen Permeatfluss und der hohen Rückhaltung von unerwünschten Substanzen. Eine Gesamtauswertung dieser Versuchsreihe ist in Abb. K2 dargestellt.

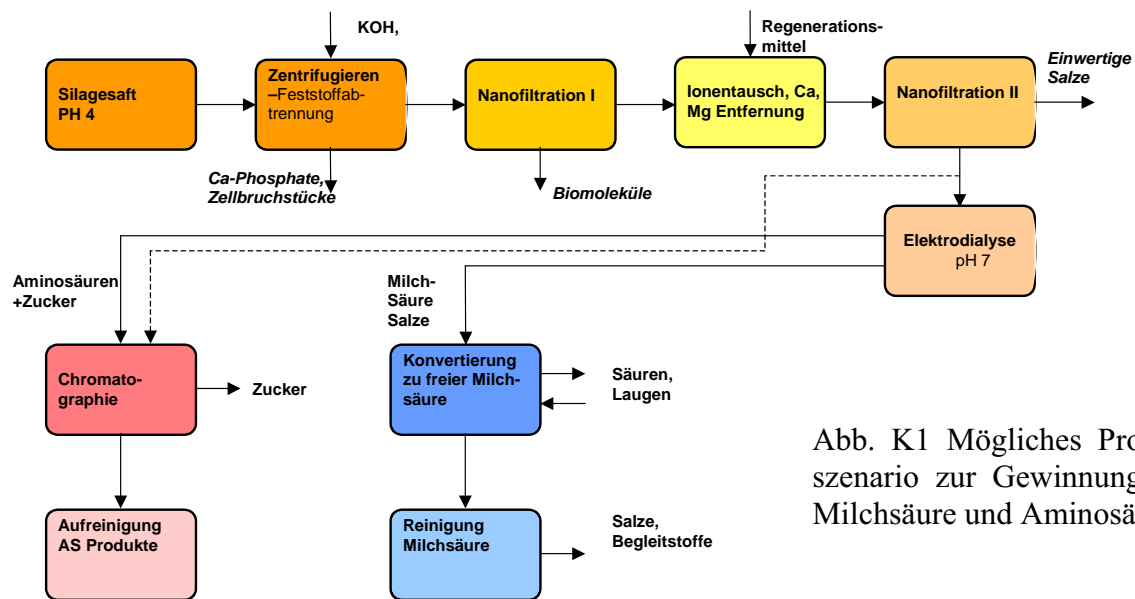


Abb. K1 Mögliches Prozessszenario zur Gewinnung von Milchsäure und Aminosäuren.

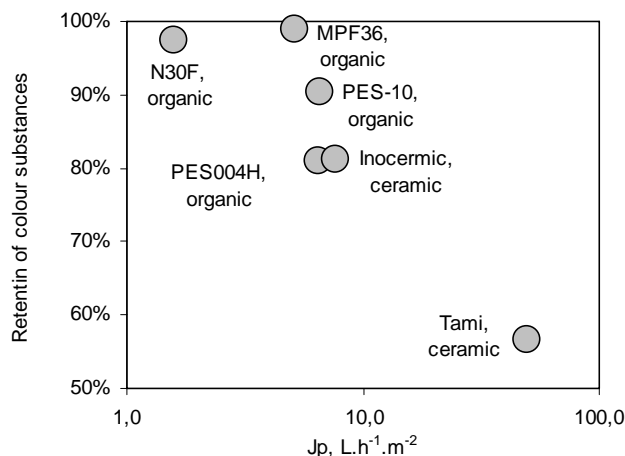


Abb. K2 Rückhaltung von unerwünschten Komponenten (Summenparameter Farbe) bei unterschiedlichen Membrantypen.

Weitere Untersuchungen mit dem Membrantyp PES-10 umfassen die wichtigen Betriebsparameter Druck und Temperatur (siehe Abb. K3). Ein Betriebsdruck von ca. 15 bar liefert einen Fluss von rund 6 L/hm². Auf der Basis dieser Ergebnisse wurde ein Großversuch

im Technikumsmaßstab bei Betriebsdrücken von rund 10 bar erfolgreich durchgeführt. Zum Einsatz kam ein Wickelmodul (spiral wound, SW; PES-10, 1,6 m²), eingesetzt im sogenannten „Feed and Bleed“ Modus. Die Bedingungen sind mit einer realen Produktionsanlage vergleichbar, wenn auch Langzeiteffekte nicht untersucht werden konnten. Die Ergebnisse dieses Pilotversuches sind in Abb. K4 zusammengefasst. Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, wurden zusätzliche Diafiltrationsversuche durchgeführt. Der Flussverlauf nimmt mit der Aufkonzentrierung nicht stark ab und ist, wie anhand der Diafiltration ersichtlich ist, zumindest teilweise reversibel, was aus praktischer Sicht von großem Vorteil ist. Insgesamt wurde festgestellt, dass zur Erreichung einer hohen Produktausbeute (Aminosäuren, Milchsäure im Permeat) die Diafiltration notwendig ist. Es zeigt sich auch, dass „die Aminosäurerückhaltung mit zunehmender Verdünnung“ steigt, was eine Diafiltration bei höheren Konzentrationen erfordert, um übermäßige Wertstoffverluste zu vermeiden.

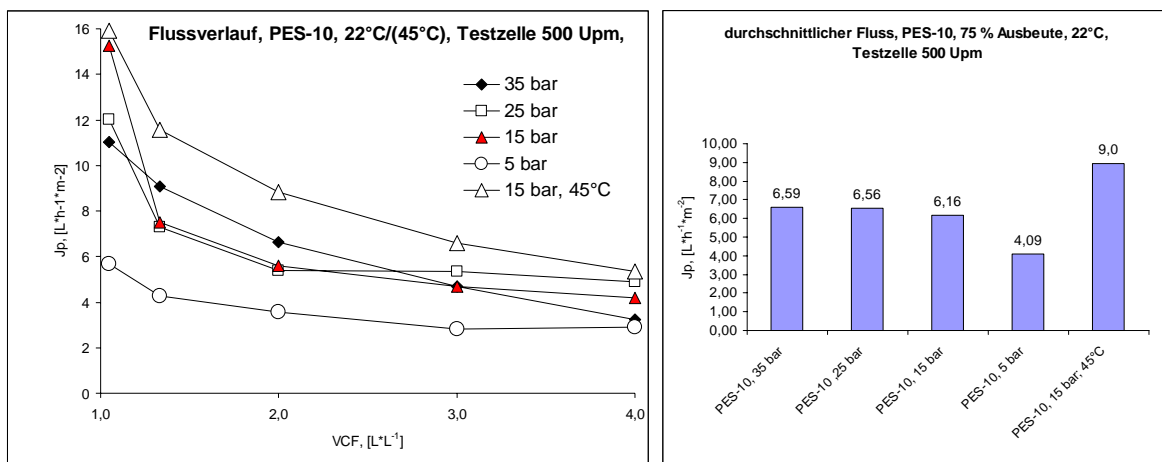
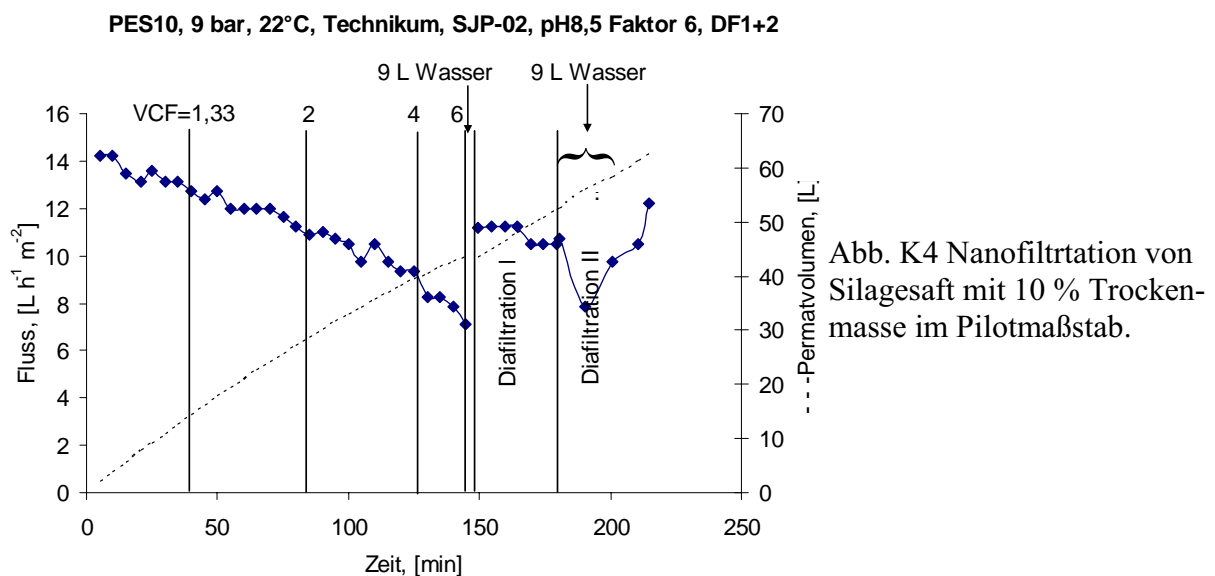


Abb. K3 Filtrationsverlauf von Silagesaft mit 15 % TS, eingesetzte Membran PES-10.



Für Untersuchungen im Zusammenhang mit Nanofiltration II (Konzentrierung, teilweise Entsalzung) wurden 2 Membranen mit einem Cut Off zwischen ca. 150 und 300 Da getestet. Als Feedvorlage diente ein Permeat aus der ersten Nanofiltration. Dieser Prozessschritt steht

auch teilweise in Konkurrenz zu einer Umkehrosmose oder einer einfachen Eindampfung. Der Zusatznutzen liegt allerdings, wie bereits erwähnt, in einer Teilentsalzung. Der Nachteil besteht aus gewissen Verlusten an Wertstoffen. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Abb. K5 teilweise zusammengefasst. Mit Nanofiltration I und II wird somit auch eine „quasiselektive“ Isolierung von Substanzen durchgeführt. Im Konkreten werden Substanzen mit einer Molmasse zwischen ca.1000 und ca. 250 kg/kmol aus dem Silagesaft abgetrennt. Allgemein betrachtet kann man diesen Schritt auch mit einer Fraktionierung mittels Chromatographie vergleichen, wobei letzten Endes im Detail untersucht werden muss, welcher Prozess vorteilhafter ist.

Die Nanofiltration wurde auch als direkter Prozess zur **Trennung Aminosäuren/Milchsäure Fraktionen** untersucht. In jedem Fall deutet dieser Versuch auf neue Entwicklungen. Die Rückhaltung für Aminosäuren betrug etwa 90%, wohingegen die Milchsäure nur zu etwa 35% zurückgehalten wurde, wobei der Prozess sicherlich noch optimierbar ist. Diese Ergebnisse sind für die Weiterentwicklung der Technologie von hohem Interesse, da hier mit einem sehr

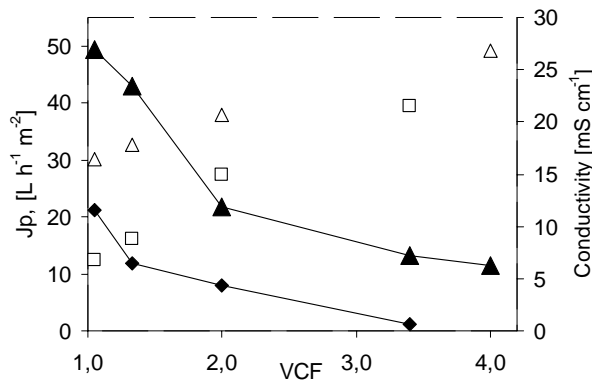
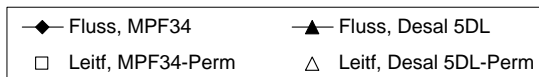


Abb. K5 Nanofiltration als Konzentrierungs- und Teilentsalzungsschritt

b) NF-II, 50 bar.; Feed entspricht 1:2 verdünnten PES10 Permeat, 28 mS/cm



einfachen Verfahren Aminosäuren und Milchsäure relativ gut separiert werden. Mit diesem „Hauptprozess“ wurde auch ein Gesamtdownstreamszenario diskutiert. Das derzeitige reale Potential dieser Prozessvariante kann allerdings erst in einem Vergleich mit Chromatographie richtig beurteilt werden.

Ohne ausreichende Daten zur Chromatographie sind keine praktisch relevanten Aussagen zu **kompletten Produktionsprozessen** möglich. Trotzdem sind diesbezüglich – als Orientierungshilfe - Diskussionen und Abschätzungen (basierend auf dem derzeitigen Wissensstand) sinnvoll. Unter einigen möglichen Szenarien wurden drei etwas genauer diskutiert:

- Szenario A: Nanofiltration – Elektrodialyse - Chromatographie (sieheAbb. 1)
- Szenario B: Nanofiltration – Chromatographie (siehe Abb. K6)
- Szenario C, Nanofiltration (Chromatographie als Nebenprozess).

Dabei wird von folgenden Produkten ausgegangen: Milchsäure; Aminosäurengemisch mit hohem Anteil verzweigt-kettiger Aminosäuren (BCAA); Asparaginsäure (Aminosäure); Cystin

(Aminosäure); Gemisch aus freien Aminosäuren und Zuckern. Ohne auf die Details einzugehen lassen sich folgende Aussagen treffen: Der Haupterlös stammt von der Fraktion 2 (BCAA). Zur Konvertierung von Milchsäuresalz zu freier Milchsäure sind enorme Mengen an anorganischen Säuren notwendig. Eine Konvertierung mittels bipolarer Elektrodialyse (statt Zugabe von Säure) zur Schließung der Kreisläufe scheint unumgänglich. Zur Gewinnung der Fraktion 2 (BCAA) wird in allen drei Szenarien die Chromatographie eingesetzt. Es erscheint sinnvoll, nachdem dieser Schritt immer notwendig ist, die Chromatographie als Trennschritt Aminosäuren/Milchsäure und zur Gewinnung der Fraktion 2 einzusetzen. Wesentlich zur Erreichung der Wirtschaftlichkeit ist eine verlustfreie Gewinnung möglichst zuckerfreier Aminosäurefraktionen. Die Wirtschaftlichkeit der Milchsäureproduktion ist stark von den Aminosäuren abhängig.

Um eine bessere Vorstellung vom technologischen Umfang eines Produktionsprozesses und über die wichtigsten Massenströme zu bekommen wurde die Variante B genauer untersucht und dargestellt (siehe Abb. K6).

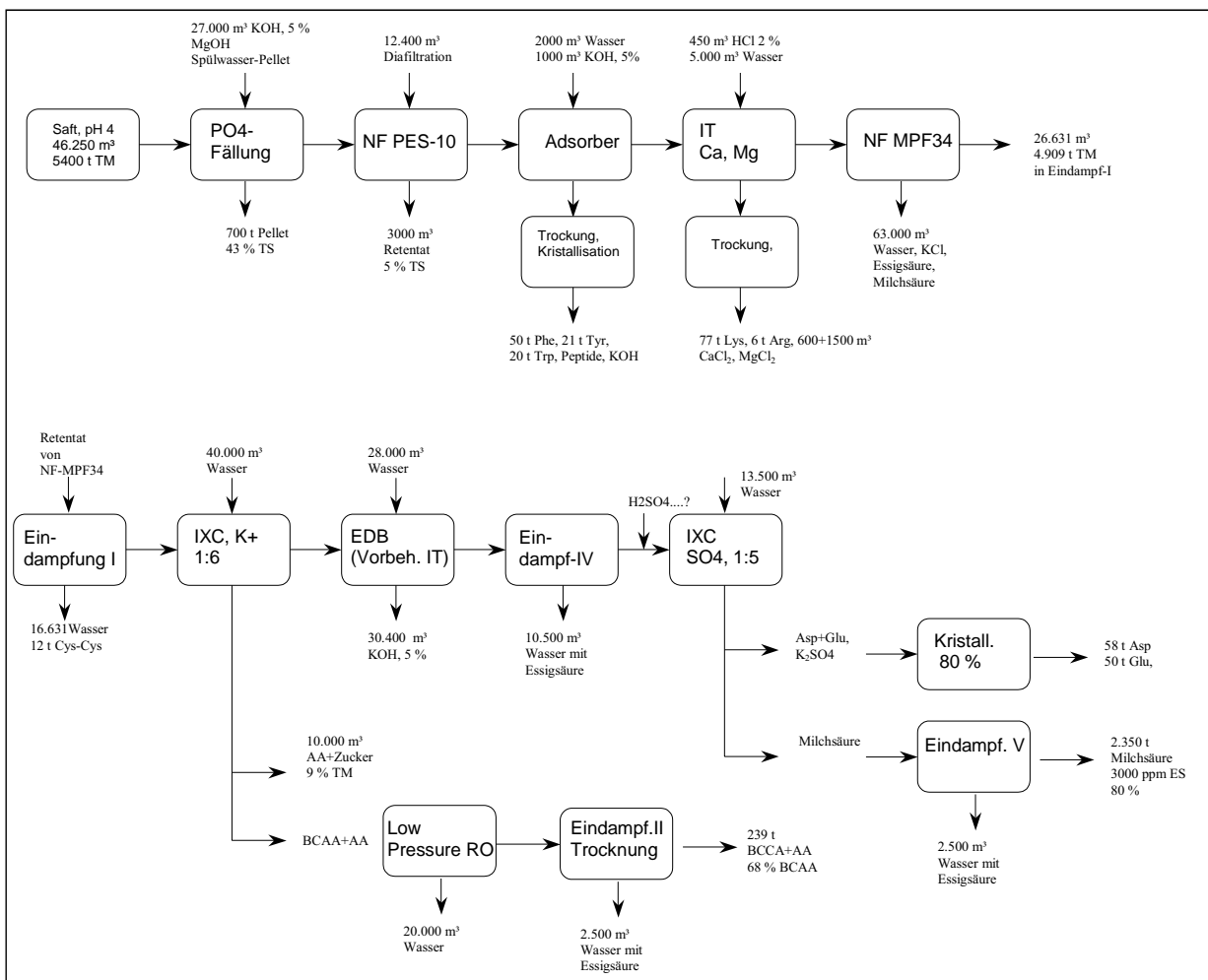


Abb. K6 Mögliches technologisches Szenario zur Gewinnung von Aminosäuren/Gemischen und Milchsäure aus Silagesaft

Zu diesem Szenario wurde auch eine detaillierte Wirtschaftlichkeitsabschätzung durchgeführt. Auch hier ist ausdrücklich zu betonen, dass es sich nur um eine „Orientierungs-Variante“ handelt. Wie zu erkennen ist, wird davon ausgegangen, dass die Chromatographie die wichtigste Technologie darstellt, wobei diese bekannterweise eng mit der Eindampfung

gekoppelt ist. Ob die Trennung einzelner Komponenten, vor allem aus wirtschaftlicher Sicht, tatsächlich möglich ist, muss durch Versuche bestätigt werden. Unter den gegebenen verfahrenstechnischen Annahmen und entsprechenden Produktpreisen (Aminosäuren etwa 10 € pro kg) scheint ein ökonomischer Produktionsprozess möglich.

Zusammenfassung

Umfangreiche Entwicklungsarbeiten in entsprechenden Vorprojekten (z. B. FDZ I, Saftpressung, Elektrodialyse usw.), das vorliegende Projekt (Saftvorbehandlung, Nanofiltration, Szenarienuntersuchungen, usw.) sowie zusätzliche, nicht im Rahmen der FDZ- Finanzierung durchgeführte Forschungsarbeiten (z. B. Elektrodialyse versus Chromatographie, siehe Anhang) haben einen beachtlichen Umfang an wichtigen und notwendigen Informationen geliefert. Dies wird durch einige Berichte und mehrere Publikationen dokumentiert. Die wissenschaftlich methodische Vorgangsweise, die Forschungsarbeiten in „Module“ aufzuteilen, hat sich als sinnvoll und notwendig erwiesen, so dass nun viele Einzel- und Detailfragen beantwortet werden können. Wie die Arbeiten zeigen, bietet die Nanofiltration verschiedene interessante Einsatzmöglichkeiten (beispielsweise definierte Fraktionierung einzelner Stoffgruppen) und die Leistungsfähigkeit dieser Technologie ist klar umrissen.

Analysen zu Gesamtszenarien waren äußerst nützlich, da praktisch relevante Vor- und Nachteile einzelner Prozesskombinationen deutlich erkannt werden konnten. Obwohl kein ausreichendes Datenmaterial zur Chromatographie vorliegt, erscheint eine baldige teilweise Umsetzung der Idee (Grüne Bio-raffinerie) real vorstellbar. Im Konkreten handelt es sich um 2 – 3 Aminosäureprodukte, die Marktchancen aufweisen. In jedem Fall wäre es sehr sinnvoll und aus verschiedenen, nicht nur im Zusammenhang mit diesem Projekt stehenden Gründen notwendig das ausständige Forschungsfeld Chromatographie im Rahmen eines zusätzlichen Projektes zu bearbeiten. So ist zu erwarten, dass viele nachwachsenden Rohstoffen, eine höhere Anforderung an „Down-stream-Prozesse stellen, als dies in konventionellen Produktionsprozessen der Fall ist. Erschwerend kommt hinzu, dass die Separationsprozesse Kriterien einer nachhaltigen Entwicklung erfüllen. Die Erforschung und Entwicklung entsprechender, neuer Trenntechnologien- und Strategien ist somit nicht nur für das vorliegende Vorhaben sondern für viele zukünftige Anwendungen von zentraler Bedeutung. In Abb. K7 ist abschließend die Gesamtentwicklung der Idee Grüne Bioraffinerie dargestellt.

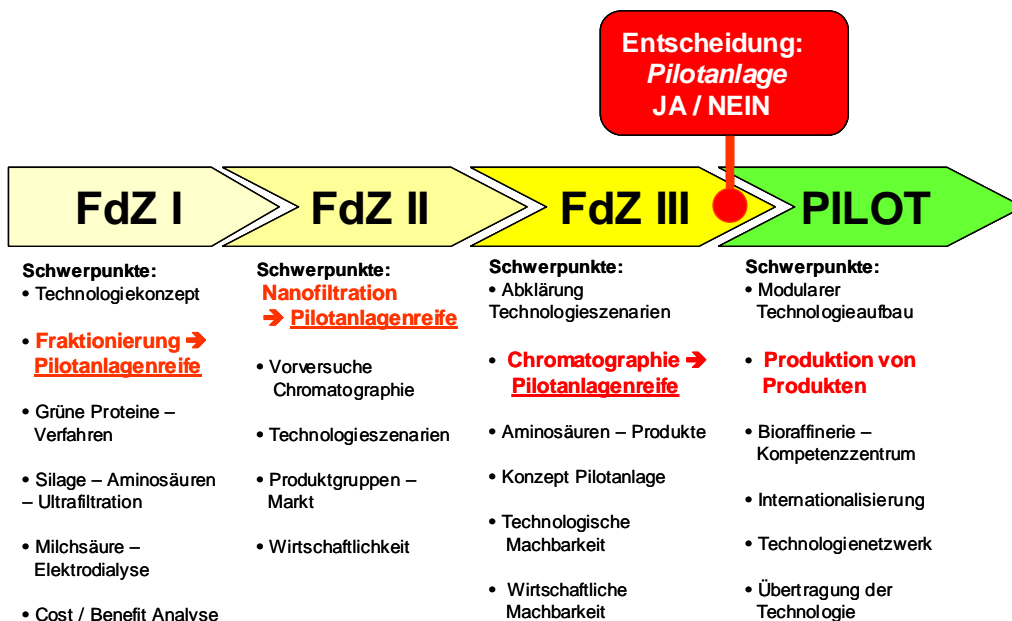


Abb. K7 Gesamtentwicklung der Grünen Bioraffinerie

Grüne Bioraffinerie – Entwicklung von Schlüssel-Trenntechnologien zur Gewinnung von Milchsäure und anderen Wertstoffen aus Silagesäften

1. Einleitung

1.1 Technologien zur stofflichen Nutzung nachwachsender Rohstoffe

Bedeutende Produktionsprozesse zur stofflicher Nutzung erneuerbarer Rohstoffe wie die Raffination von Saccharose aus Zuckerrüben, Gewinnung von Cellulose aus Holz, Stärke und Glucosegewinnung aus Getreide basieren auf Flüssigprozessen. Die dabei eingesetzten Technologien existieren zum Teil seit Jahrzehnten und wurden sukzessiv verbessert. Beispielsweise konnte der Einsatz von Kalziumoxid bei der Carbonatation – ein Schritt in der Zuckerraffination [1] – deutlich verringert werden. Oft sind diese Technologien aber mit ungünstigen Nebenprodukten (Kalziumsulfat, siehe Milchsäure), Abfällen oder ökologisch bedenklichen Betriebsstoffen verbunden, so dass die Nachhaltigkeit nicht erfüllt ist. Man kann davon ausgehen, dass diese Nachteile nicht durch Verbesserungen der eingesetzten Technologien komplett beseitigt werden können. Daneben gibt es neu oder aus anderen Industriezweigen kommende Technologien, die erst seit kurzem verfügbar bzw. wirtschaftlich sind. Diese können eine Alternative zu den etablierten Prozessen darstellen. Hier sind besonders Membranprozesse wie Nanofiltration oder Elektrodialyse mit monopolaren und bipolaren Membranen sowie Prozesschromatographie zu nennen.

Im vorliegenden Projekt werden diese alternativen Trenntechnologien (Membranverfahren und Prozesschromatographie [2], [3] zur Verarbeitung erneuerbarer Rohstoffe (Silagesaft) untersucht und eingesetzt. Die Erkenntnisse, welche im Rahmen der Forschungsarbeit mit Silagesaft gewonnen werden sind allgemein bei der Gewinnung vieler Produkte aus erneuerbaren Rohstoffen und zur Einsparung und Rezyklierung von Betriebsstoffen nutzbar. Insgesamt betrachtet, steht im Vordergrund die Idee einer Zukunftsfabrik, welche die gesamte Biomasse, die eine Pflanze mit Hilfe der Photosynthese generiert, in Produkte mit nahezu 100 % Effizienz umwandelt. Generell wird das auf der Rohstoffseite durch folgende Grundprinzipien umgesetzt:

- Nutzung von Ganzpflanzen
- Einsatz von effektiven Pflanzengesellschaften (Leguminosen zur N-Fixierung)
- Eingliederung in regionale Kreisläufe bzw. Rückführung organischer und anorganischer Nebenströme der Raffinerie als echte Wertstoffe in die Landwirtschaft. (minimaler Einsatz systemfremder Betriebsstoffe).

Auf der produkttechnologischen Seite wird auf folgende wesentlichen Grundforderungen eingegangen:

- Effizienter Energieeinsatz
- Vermeidung zusätzlicher, systemfremder Betriebsstoffe
- Minimale Emissionen.

Durch eine konsequente Umsetzung dieser Leitsätze wird nur ein Minimum an unerwünschten Stoffen in den Produktionskreislauf von Natur, Landwirtschaft und Bioraffinerie eingeschleust.

Das Gesamtsystem Grüne Bioraffinerie (GBR)

Die GBR wird als „Black Box“ betrachtet in der aus den frei verfügbaren natürlichen „Grundsubstanzen“ mit geringem anthropogenen Einsatz (Input in die Black Box) ein optimaler Ertrag für die Gesellschaft generiert wird:

Aus Kohlendioxid, Stickstoff und Wasser aus der Biosphäre wird mit Hilfe von Pflanzen, Bakterien und der Sonne Biomasse generiert bzw. umgewandelt und in einem (komplexen) „Downstream-Process“ in anthropogene Wertstoffgruppen, Energie und wiederverwendbare Mineralstoffe getrennt.

Folgende Prinzipien werden angewandt:

Nachbildung der „Grünen Natur“ (Biosphäre) – Einbau des Produktionsprozesses in die natürlichen Kreislaufsysteme: N-Kreislauf, C-Kreislauf, K-Kreislauf.

Einbettung in ein regionales Konzept – geringe Transportwege.

Ganzjahresbetrieb – Silierung als wesentlicher Schritt zur Lagerung und Transformation.

In Abb. 1 ist ein derartiges Gedankenmodell dargestellt.

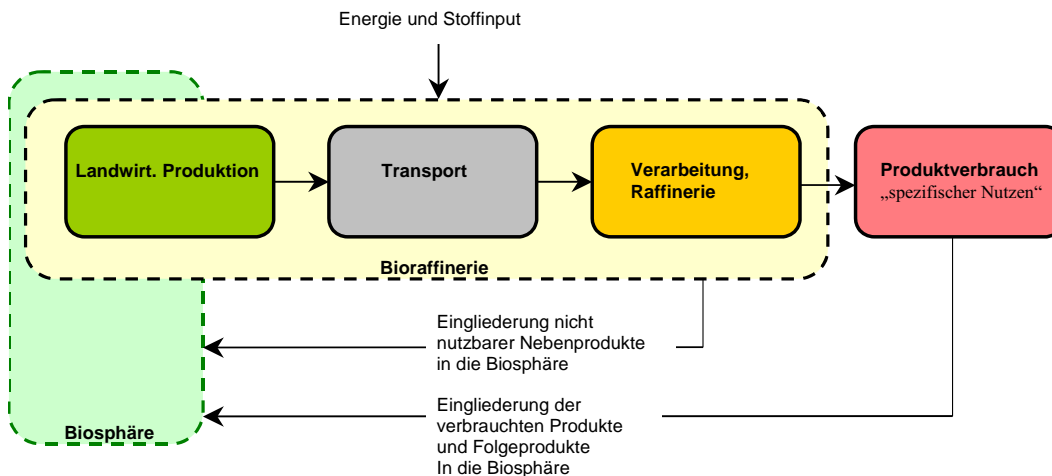


Abb. 1 Grundsätzliches Schema einer Bioraffinerie

Die technische und wirtschaftlich sinnvolle Umsetzung erfolgt zunächst mit Hilfe eines Silierschrittes innerhalb der „Landwirtschaftlichen Produktion“. In diesem traditionellen Schritt gehen folgende biotechnologischen Umwandlungen vor sich. Technisch schwer zu handhabbare Zuckerfraktionen werden zu einem Großteil zu Milchsäure umgewandelt. Die Proteine werden zu Aminosäuren und Peptiden hydrolysiert.

Diese altbewährte Technologie lässt sich in Richtung hohe Milchsäureausbeute und hoher Hydrolysegrad optimieren [4], [5], [6], [7], [8]) und ist in Kombination mit der effizienten Rohstoffgewinnung und entsprechendem Downstream-Processing nach Meinung der Projektteilnehmer mit derzeitigen Produktionssystemen konkurrenzfähig (Kostenwahrheit vorausgesetzt).

Vom Standpunkt außerhalb des Systems betrachtet sind Mineralstoffe (Phosphate, Kaliumsalze, Magnesiumsalze) keine Wertstoffe. Innerhalb des Systems sind sie teilweise notwendige Betriebsstoffe, die bei Bedarf zugeführt werden. Teilweise wird auch versucht aus diesen Stoffströmen brauchbare Güter zu generieren. Im „Transportmodul“ sind die Transporte i) von Silage zur Raffinerie und ii) Reststoffrückführung aufs Feld integriert.

Insgesamt muss das System nahezu geschlossen sein, so dass Probleme mit Reststoffen, Nebenprodukten oder Folgeschäden minimiert werden.

Die technische Umsetzung der gesamten GBR erfolgt wie in Abb. 2 dargestellt.

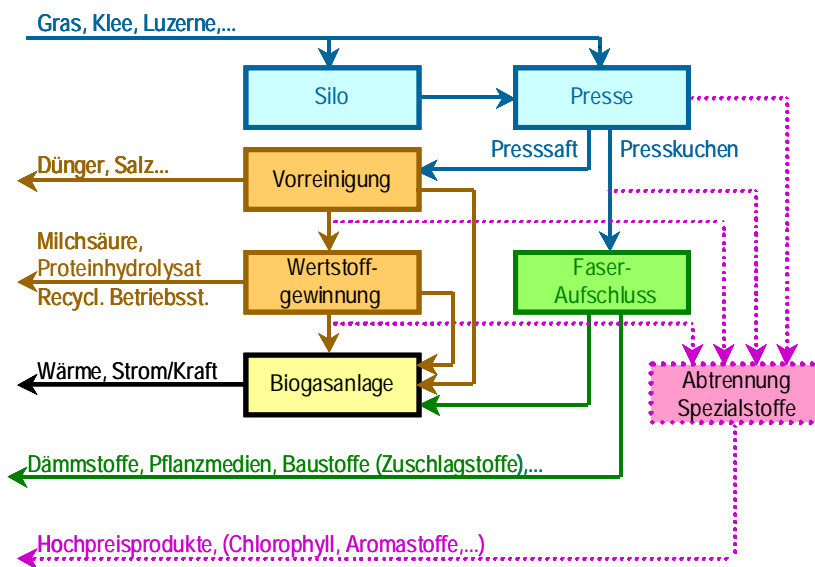


Abb. 2 Flussdiagramm der technischen Umsetzung einer GBR

Im vorliegenden Projekt wird das Downstream-Processing (die Wertstoffgewinnung) der Saftfraktion (rund 1/3 des Trockenmasseninputs) einer solchen GBR untersucht und entwickelt, wobei zu betonen ist, dass dies den Kernbereich der gesamten Idee darstellt. Die Realisierung einer umfassenden GBR ist von der Entwicklung entsprechender Technologien zur Gewinnung dieser Wertstoffe (Aminosäuren und Milchsäure) abhängig.

1.2 Rohstoff Wiesengrünmasse (Gras, Klee, ...)

Über 25 % der Flächen Österreichs bzw. ~1,96 Mio. ha sind mit Gras (Dauergrünland, Almen, davon knapp die Hälfte mehrjährige Wiesen [9]) bedeckt (siehe Abb. 3). Daneben wird auf rund 0,12 Mio. ha Ackerland Gras und Klee in Form von Wechselgrünland zur Gewinnung von Futtermitteln bzw. zur Bodenregeneration angebaut [10].

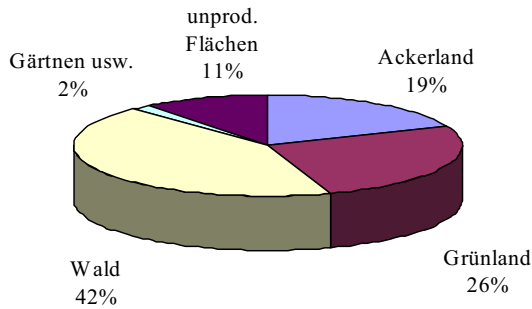


Abb. 3 Flächennutzung in Österreich

Gras bzw. Wiesen grünmasse besteht aus Gräsern (Poacea) und verschiedenen Beikräutern, wobei die Artenvielfalt und der Anteil an Gräsern und Beikräutern im Allgemeinen mit der Extensivität der Wiese steigt. Im Fall der Wechselwiesen werden Gras, Gras+Klee, Klee für eine mittelfristige Periode angesät. Für die Flüssigverarbeitung der GBR ist vor allem der Blattanteil dieser Pflanzen interessant.

Es gibt zwei wesentliche Gründe warum Wiesen grünmasse ein idealer Rohstoffkandidat für eine Fabrik der Zukunft ist:

1) Das „Grüne Blatt“ ist eine Gemeinsamkeit aller Pflanzen

Man betrachte die Entwicklung einer einjährigern Pflanze wie z.B. Mais:

Mit Hilfe der im Samen als Kohlenhydrate gespeicherten Energie beginnt die Pflanze zu wachsen und bildet Blätter. Mit Hilfe dieser Blätter betreibt die Pflanze Photosynthese und eingefangene Sonnenenergie wird nun dazu verwendet um zusätzliche Blätter zu erzeugen. Zum Aufbau der Blätter werden neben Wasser, CO₂ und Mineralstoffen vor allem Stickstoff zur Synthese der für die Photosynthese wichtigen Enzyme (Rubisco, PSI, PSII) benötigt. Wurde eine gewisse Blattfläche erreicht beginnt die Pflanze die gewonnene Energie in Form von Kohlenhydraten zu akkumulieren und in einer letzten Phase in Stärke (Speicherkohlenhydrat) umzuwandeln. Im Fall von (Körner-) Mais ist diese Stärke bzw. das stärkehaltige Korn das Endprodukt. Die anderen Pflanzenteile inkl. der Blätter wandeln sich in der letzten Phase zu Stroh.

Im Fall einer typischen Ertragspflanze wie (Körner-) Mais wird also eine gesamte Produktionsphase (Bildung von Blättern), welche mit großem Ressourceneinsatz (Stickstoffdüngung) verbunden ist, nicht genutzt.

Bei der Grünschnittnutzung wird vor Beginn der Samenbildung geerntet (siehe Abb. 4). Das hat den Nachteil, dass auf eine Phase der effizienten Nutzung der Sonnenkraftwerke „Blätter“ (Grossteil der Akkumulationsphase) verzichtet wird was wiederum zu einem geringeren Ertrag führt. Der Vorteil ist ein hoher Proteinertrag durch Blattmaterial und die bessere Verfügbarkeit der Inhaltsstoffe (freier Zucker). In Summe betrachtet wird die gesamte durch Photosynthese gewonnene Energie als Biomasse geerntet.

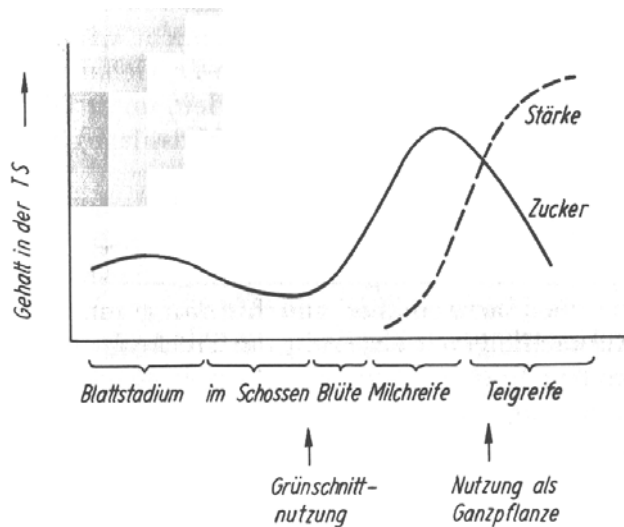


Abb. 4 Entwicklung des Zucker- und Stärkegehalts im Laufe der Vegetationsphase [11]

Wie aus Abb. 4 ersichtlich, gibt es auch noch eine zusätzliche Alternative zwischen Blattnutzung und Samennutzung – die Ganzpflanzennutzung. Hier wird die Pflanze in einem Stadium geerntet in dem auch das Blattmaterial als Wertstoff genutzt werden kann. Vom reinen Biomassertrag ist diese Methode vorzuziehen. Der Proteingehalt ist gegenüber dem Grünschnitt geringer. Diese Art der Nutzung wird vor allem zur Gewinnung von Ganzmaissilage - eingesetzt als Futtermittel - genutzt. Vom Gesichtspunkt der grünen Bioraffinerie würden sich beim Einsatz von Ganzmaissilage die Massenanteile im Silagesaft von Aminosäuren und Milchsäure zu Glucose verschieben. Vom wirtschaftlichen Standpunkt ist eine GBR mit einem Hauptprodukt Glucose nicht durchführbar da die traditionelle Glucoseerzeugung über Maisstärke in Mitteleuropa konkurrenzlos ist.

2) Eine nachhaltige Bewirtschaftung ist mit Wiesen Grünmasse besser möglich als bei klassischen Ertragspflanzen

Bei einer Grünlandbewirtschaftung wird über einen Zeitraum von 1 bis 4 Jahren (Wechselwiese) bzw. 20 Jahren (Dauerwiese) die identische Pflanzenpopulation bewirtschaftet. Im ersten Jahr wird ausgesät. Nach der Saat und in den darauf folgenden Jahren wird das Grünland bei für Grünschnitt optimalen Bedingungen 2 - 6 mal pro Jahr geschnitten. Der Boden wird dabei nicht aufgebrochen, die Pflanzen - inklusive Wurzeln - bleiben am Leben.

Wie auch bei Ertragspflanzen (z.B.: Mais) besteht in der Blattbildungsphase ein großer Bedarf an Stickstoff. Durch die Verteilung des N-Bedarf auf einen längeren Zeitraum und durch die Pufferwirkung der intakten Vegetationsschicht kann mineralischer und organischer Dünger effizienter als bei einem Acker aufgenommen werden. Im Gegensatz zur ertragsorientierten Ackerbewirtschaftung kommt es in diesem Zusammenhang zu deutlich geringeren Lachgas- und Nitratemissionen [12]. Zusätzlich verringert sich der Bedarf an zuzuführenden Stickstoff bei Anwendung einer Mischung von Grassorten mit Klee oder Luzerne da diese Pflanzen aus der Familie der Leguminosen in Symbiose mit Bodenbakterien Stickstoff aus der Atmosphäre nutzen können. Daneben sinkt durch die Artenvielfalt der Bewirtschaftungsart der Bedarf an Pestiziden und Fungiziden.

Generell kann die Frage, welche Bewirtschaftungsform die nachhaltigste ist schwer beantwortet werden. Klar ist, dass ein höherer Ertrag die begrenzte Erdoberfläche besser ausnutzt und somit auch im Sinne der Nachhaltigkeit vorzuziehen ist. Mit zunehmender Ertragsförderung steigt aber auch Ressourcenaufwand. Es muss mehr Dünger eingesetzt werden. Um bei schubweisen Vegetationsphasen das Wachstum zu 100 % auszunutzen muss sogar oft ein Nährstoffüberschuss gewährleistet sein. Dies führt, um extreme Ertragsausbeuten (15 t-TS pro ha und mehr) zu erhalten, zu Überdüngung und zu erhöhten Emissionen, was die ökologische Nachhaltigkeit wiederum negativ beeinflusst. Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte lässt sich ein Optimum der ökologischen Nachhaltigkeit für landwirtschaftliche Produktion zwischen geringen Ressourceneinsatz und Emissionen einerseits und Flächeneffizienz andererseits „erahnen“ (siehe Abb. 5).

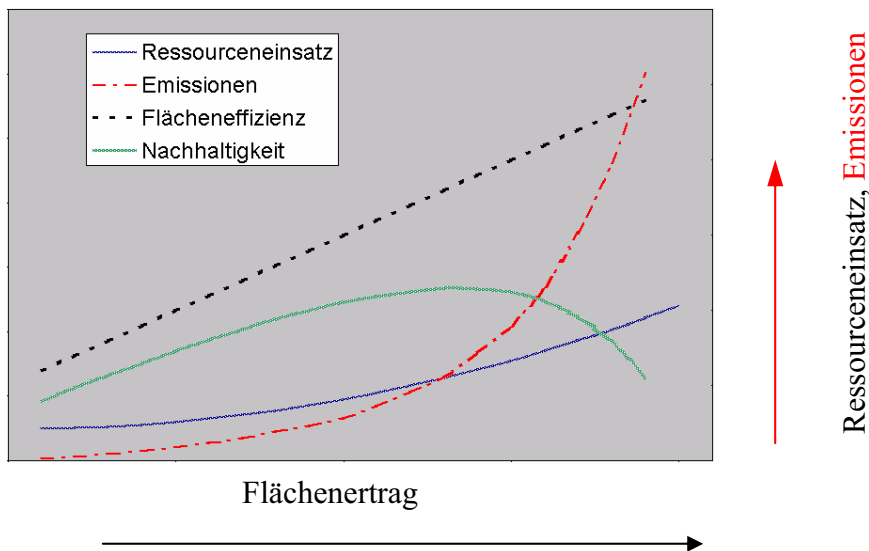


Abb. 5 Zusammenhang von Flächeneffizienz, Emissionen, Ressourceneinsatz und ökol. Nachhaltigkeit

Die Form des Feldfutteranbaus als mehrjährige Zwischenfrucht mit Gras/Klee/Luzerne Kombinationen eignet sich bestens um im Bereich des Maximums der Nachhaltigkeitskurve zu wirtschaften. Einmalige Effekte wie Pflügen teilen sich auf mehrere Jahre auf. Spärlicher Düngereinsatz führt nur zu geringen Ertrags- und Qualitätsminderungen. Bei kleebetonten Feldfutteranbau ist bei einer Stickstoffgabe von 0-40 kg N₂/ha ein Ertrag von 6,5 bis 12,0 t TM/ha zu erwarten [13].

Neben der ökologischen Nachhaltigkeit sollte auch die soziale und wirtschaftliche Nachhaltigkeitssäule in der Diskussion pro/contra GBR einfließen. Bezüglich dieser Fragestellung definiert Schnider [14], [15] drei wichtige Bereiche:

1. Sicherung der menschlichen Existenz
2. Erhaltung des gesellschaftlichen Produktivpotenzials
3. Bewahrung der Entwicklungs- und Handlungsmöglichkeiten der Gesellschaft

Die Untersuchung und vor allem eine exakte Beweisführung zur Behandlung dieser Aspekte sprengen den Rahmen des Projektes. Es sei aber darauf hingewiesen, dass diese Aspekte (bzw. die 3 Säulen der Nachhaltigkeit) sehr wohl seit Beginn der GBR in alle Überlegungen einfließen und eben zu diesen Projekt führten.

Hinzuzufügen wären die Dimensionen welche bei einer Realisierung der GBR eine Rolle spielen. Würden 1 % der Grünflächen Österreich in einer mittleren Bewirtschaftungsintensität für eine GBR zur Verfügung stehen so wären das 20.000 ha bzw. rund 150.000 t Biomasse. Im Vergleich dazu beträgt die im Statistischen Jahrbuch Österreichs als nicht mehr genutzte Grünland-Fläche 40.000 ha [9]. Eine Konkurrenzsituation mit Grünland für Milchkühe ist also nicht gegeben. Die beiden Vorstellungsextreme i) Nutzung von Extensivflächen für eine GBR und ii) Ertragswiesen mit 15 t/ha sind unrealistisch. Vielmehr ist es eine Bewirtschaftungsform aus Maximierung von Ertrag bei minimalem N-Düngeraufwand die zu maximalen Einkommen für den Landwirt führt.

Folgendes Szenario bei Nutzung von 1 % des österreichischen Grünlands durchaus realistisch:

Eine Grüne Bioraffinerie würde die oben angeführte Biomassemenge in Form von Silage abnehmen und für landwirtschaftliche Einkünfte in Höhe von rund 10 Mio. € sorgen. Die Silage würde gepresst und in rund 100.000 t Presskuchen und rund 50.000 t Saft fraktioniert werden. Bei der Nutzung des Presskuchens in Biogasanlagen würden etwa 150 GWh thermische Energie und 100 GWh elektrische Energie zur Verfügung stehen. Aus dem Silagesaft könnten rund 15.000 t Milchsäure und 12.000 t Protein bzw. Aminosäureprodukte mit einem Warenwert von etwa 50 Mio. € gewonnen werden.

Umgesetzt werden könnte das mit 15 dezentralen Bioraffinerien welche jeweils 1330 ha bewirtschaften. Bei einem Einzugsradius von 15 km wären das 2 % der Einzugsfläche bzw. rund 12 % des Grünlands des Einzugsgebiets. Eine GBR führt also selbst in unmittelbarem Wirkungsbereich zu keiner außergewöhnlichen Landschaftsveränderung.

1.3 Konkrete Umsetzung moderner und nachhaltiger Trenntechnologien am Beispiel Silagesaft

Die Aufgabe der Umsetzung einer umfassenden Technologie zur Gewinnung von Milchsäure und Aminosäuren ist geprägt von der Vielfalt der zur Diskussion stehenden möglichen Prozessvarianten. Im Laufe der bisherigen Untersuchungen konnten zwar viele wichtige verfahrenstechnische und wirtschaftliche Detailfragen beantwortet werden, allerdings kam auch klar hervor, dass eine gesamtheitliche Darstellung (technologische und wirtschaftliche) ohne ausreichende chromatographische Untersuchungen nicht möglich ist. Dies wurde im ersten Projektantrag deutlich dargestellt. Angemerkt kann auch werden, dass die Zahl der Varianten eher größer wurde, so dass sich das Diskussionsspektrum ebenfalls vergrößerte. Neu Probleme wie Ausfällungen von Phosphatsalzen bzw. unbekanntem Substanzen erforderten zusätzliche Diskussionen. Aus der Erfahrung der Vorgängerprojekte und der bisherigen Arbeiten wurde folgende flexible Vorgehensweise, die auf diese spezielle Situation eingeht, gewählt:

Arbeitsbereich I - Untersuchung der einzelnen Prozessmodule an Hand einer ausgewählten Prozesskette (Modell-Prozesskette) unter der Berücksichtigung allgemeiner Einsetzbarkeit.

Trotz verschiedener Technologievarianten, erscheint es sinnvoll eine ausgewählte Prozesskette (siehe Abb. 6) zu betrachten und anhand dieser die einzelnen Prozessschritte (Verfahren) zu untersuchen.

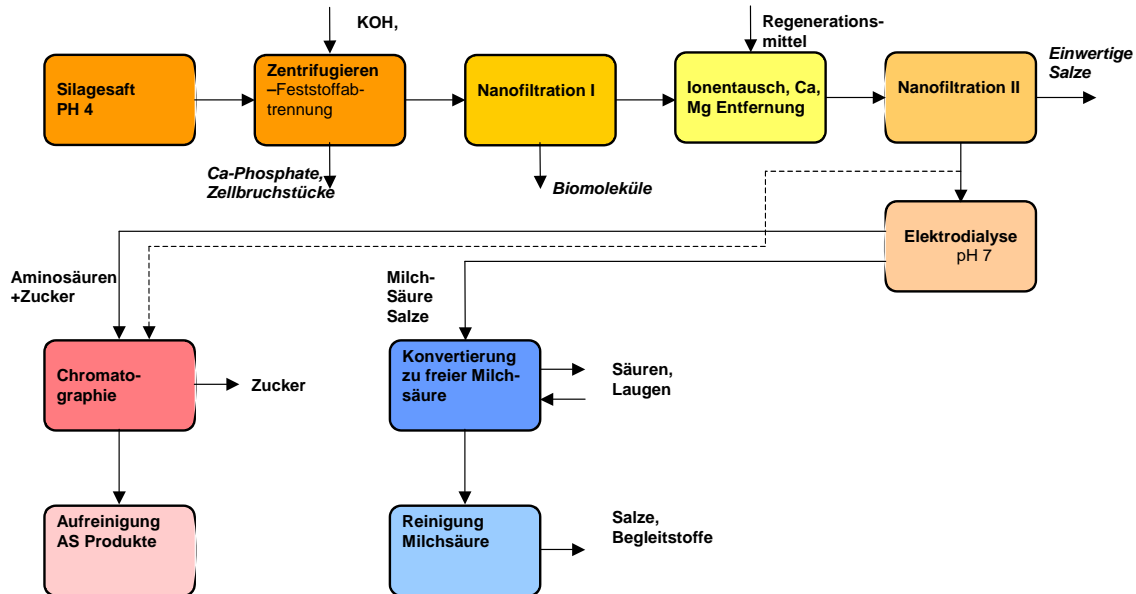


Abb. 6 Mögliche Prozesskette (Modell-Prozesskette) zur Gewinnung von Wertstoffen aus Silagesaft

Insgesamt werden 8 verschiedene Arbeitsmodule definiert (siehe Tabelle 1). Im vorliegenden FDZ Projekt liegt der Schwerpunkt bei der Nanofiltration, welche in Modulen M2 und M3 definiert ist.

Arbeitsbereich II – Diskussion und Beurteilung kompletter Prozessketten (Gesamtszenarien)

Das derzeitige Projekt ist klar abgegrenzt als Forschung zur Nanofiltration von Silagesäften zu sehen. Für sich allein kann die Nanofiltration aber nicht zu verwertbaren Produkten führen und es bedarf zusätzlicher Verfahrensschritte zur Gewinnung der Zielsubstanzen Milchsäure und Aminosäuren. Trotzdem ist es sinnvoll, die Zusammenhänge zwischen der Idee der GBR, der Notwendigkeit eines mehrstufigen Downstream-Processings und dem derzeitigen Projekt in weiterer Folge umfassender darzustellen. D. h., dass auch Erkenntnisse oder Gedankenmodelle zu einzelnen Trennmodulen, die in früheren Projekten oder bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht behandelt wurden, in den Bericht aufgenommen werden.

Tab. 1 Wesentliche in Frage kommende „Module“ einer Technologiekette zur Gewinnung von Wertsubstanzen aus Silagesaft

Modul	WP	Bezeichnung	Arbeiten in diesem Projekt	zitierte Projekte	Bemerkung
	Laut Antrag				
M1	12, 18	Gravimetrische Trennung:	Phosphatfällung/Zentrifugieren	-	Etablierte Technologie – wird in diesem Projekt nur kurz untersucht.
M2	1-3, 19	Nanofiltration I /Ultrafiltration	Schwerpunkt	FdZ-I-Prot/MS	Versuche in früheren Projekten (FdZ-I, Proteingewinnung aus grünem Saft durch Aufkonzentrierung mittels Ultrafiltration).
M3	1-3, 19	Nanofiltration II /Konzentrierung	Schwerpunkt	-	In der angenommenen Prozesskette dient dieser Schritt zur Konzentrierung und Teilentsalzung (Teilfraktionierung).
M4	4-6, 20	Elektrodialyse	-	FdZ-I-MS	Vorversuche an der BOKU im Rahmen FdZ-I-MS. Einsetzbar zur Trennung von Aminosäuren und Lactat.
M5	7-9, 21	Chromatographie	-	-	Chromatographie sollte als eine der wichtigsten Technologien untersucht werden, wurde, allerdings nicht gefördert.
M6	-	Elektrodialyse mit bipolaren Membranen	-	-	Besonders bedeutend hinsichtlich Kreislaufschließung.
M7	-	Produktaufreinigung	-	-	Besonders die Chromatographie scheint hier unerlässlich zur Herstellung von Milchsäure und Aminosäuren.
M8	-	Iontenaucher	-	-	Ionenentfernung

FdZ-I-MS...Fabrik der Zukunft: Grüne Bioraffinerie – Gewinnung von Milchsäure aus Silagesäften – [6]

FdZ-I-Prot...Fabrik der Zukunft: Grüne Bioraffinerie – Gewinnung von Proteinen aus Grassäften – [5]

Die Technologie der Wahl zur Produktaufreinigung (M7) wäre die Chromatographie, der Untersuchungsaufwand übersteigt allerdings den Projektumfang. In vorangegangenen Projekten [5], [6] wurde die Elektrodialyse und die Ultrafiltration von Silagesaft untersucht, wobei die Kosten als die Schlüsselfrage identifiziert wurde. Die Elektrodialyse bei pH 6-8 hat vor allem den Vorteil der Aufkonzentrierung von Milchsäuresalz und der scharfen Trennung zwischen Aminosäuren bzw. organischen und anorganischen Salzen. Vom Gesichtspunkt der Gewinnung eines Aminosäuregemisches mit komplettem Spektrum, stellt die Elektrodialyse bisher die beste Technologie dar. [6].

Die Vorteile der Nanofiltration liegen einerseits in der Abtrennung aller Substanzen größer als 200 Dalton, welche die Funktionsfähigkeit nachfolgender Prozesse negativ beeinflussen könnten. Andererseits können mittels Nanofiltration Stoffgruppen in einem relativ engen Größenbereich, beispielsweise um einen Molekülmassenbereich von etwa 150 Dalton mit relativ hoher Selektivität abgetrennt werden.

Bezüglich Elektrodialyse könnte eine alternative Variante bei pH 2 bis 3 gewählt werden um anorganische Salze abzutrennen. Der verbleibende Reststrom könnte dann mittels Ionenaustauscher, ohne den Nachteil hoher Salzfrachten, fraktioniert werden. Das Elektrodialysekonzentrat wäre in diesem Fall die ideale Ausgangslösung zur Erzeugung von Säuren und Laugen mittels bipolarer Elektrodialyse, die zur Regeneration der Ionenaustauscher und zur pH-Wert Veränderung benötigt werden.

Im Fall der Chromatographie liegen kaum Daten vor. Einige Versuche bei unterschiedlichen pH-Werten und Harzmaterialien werden diskutiert. Auch Aussagen über die Trennung von weiteren Feed-Lösungen (z.B.: Fraktion nach ED) können aus diesen Vorversuchen gewonnen werden. Eine (nicht budgeter) vorgesehene (freiwillige) Arbeit befasst sich mit dem Vergleich Elektrodialyse versus Chromatographie (siehe Publikation).

Weitere Verfahrensvarianten betreffen die gravimetrische Trennung (hier könnte alternativ zu einem Separator/Zentrifuge eine Mikrofiltration eingesetzt werden), die Konvertierung mit Hilfe eines bipolaren Elektrodialyseschlittes, die Entfernung mehrwertiger Ionen mittels Ionenaustauschern, die Bindung von hydrophoben Molekülen an Adsorbermaterialien und die Produktaufreinigung.

2. Projektziele

Die Idee einer Fabrik der Zukunft mit dem Schwerpunkt Gewinnung von Milchsäure und Aminosäuren aus Grassilagesaft beinhaltet im Wesentlichen drei bekannte Kernfragen:

Ist das Gesamtkonzept aus technologischer Sicht in naher Zukunft realisierbar und welche Verfahrensprozesse sind dafür geeignet?

Ist das Gesamtkonzept aus wirtschaftlicher Sicht nach den zu erwartenden marktwirtschaftlichen Strukturen realisierbar?

Erfüllt ein in Frage kommendes technologisches und wirtschaftliches Gesamtkonzept die Kriterien einer nachhaltigen Entwicklung?

Aufgrund des Umfangs und der Komplexität der gesamten Aufgabenstellung war es notwendig die Forschungs- und Entwicklungsarbeiten in Arbeitsfelder („Module“) wie beispielsweise Saftpressung, Trennung von Substanzen mittels Elektrodialyse, Anwendung der Nanofiltration, Trennung der Inhaltsstoffe mittels Chromatographie usw. zu teilen. Erst mit Hilfe einzelner Ergebnisse und Detaildaten und deren Verknüpfung, lässt sich eine Diskussion über die Realisierbarkeit der Idee führen. Im Zusammenhang mit dem Umfang der Aufgabenstellung sei insbesondere auf die enorme Analytik (siehe Kapitel 4 Materialien und Methoden) hingewiesen.

Vor diesem Hintergrund bestand somit das wesentliche Ziel darin, möglichst viele Ergebnisse und Einzeldaten zu gewinnen und zu bewerten, um letzten Endes, die oben angeführten Kernfragen zu beantworten. Dabei kann aufgrund der Projektformulierung und -festlegung im Wesentlichen nur das Arbeitsfeld („Arbeitsmodul“) Nanofiltration behandelt werden.

3. Stand der Technik

3.1 Gewinnung von Aminosäuren und Peptid/Aminosäuregemischen

Extraktion von Aminosäuren nach Hydrolyse [17, 18]

Beinahe alle L-Aminosäuren lassen sich durch Extraktion aus Proteinhydrolysaten gewinnen. Rohstoffe hierfür sind z.B. Keratin, Federn oder Blutmehl. Rückstände bei der industriellen Herstellung von Ölen aus Raps, Hanf und Soja bestehen zu ca. 30 % aus Proteinen. Die Hydrolyse erfolgt durch Kochen mit Salz- (Maggi-Prozess) oder Schwefelsäure, durch Einwirkung eiweißspaltender Enzyme (Pepsin, Trypsin) oder durch Kochen mit Alkalien. Die Melasse aus der Zuckerrübenverarbeitung enthält ebenfalls Aminosäuren, die bei der Firma Amino GmbH, Frelstedt mittels Ionenausschlusschromatographie gewonnen werden.

Der Aufschluss proteinogener Rohstoffe tierischen oder pflanzlichen Ursprungs geschieht durch saure Hydrolyse in emaillierten Autoklaven in 5,8 molarer Salzsäure, je nach Rohstoff über 6 - 10 h bei 130 °C, wobei pro mol Peptidbindung ca.1,2 mol aktive Protonen benötigt werden. Nach der Hydrolyse werden unlösliche Bestandteile (Faserstoffe, Huminstoffe etc.) durch Filtration abgetrennt und der Filterkuchen nachextrahiert. Der Rückstand kann, neutralisiert und gewaschen, als Bodenverbesserer verwendet werden.

Das flüssige Hydrolysat wird über Aktivkohle entfärbt und neutralisiert. Dies erfolgt entweder mit Natronlauge oder durch einen schwachbasischen Anionenaustauscher, der allerdings größere Alkalienmengen (NH₃ und NaOH) zur Regeneration erfordert.

Bei Erreichen des isoelektrischen Punktes der Glutaminsäure (pH-Wert 3,2), lässt sich diese durch Fällungskristallisation zu 60 - 80 % abtrennen. Eine quantitative Abtrennung der sauren Aminosäuren Asparaginsäure und Glutaminsäure erfolgt dann bei pH 4,7 durch Bindung auf einem schwachbasischen Anionenaustauscherharz in Chloridform. Die neutralen und basischen Aminosäuren finden sich hingegen im Durchlauf. Die basischen Aminosäuren Arginin und Lysin binden entsprechend bei pH 7 und Histidin bei pH 4,7 auf einem schwachsauren Kationenaustauscher in H⁺-Form.

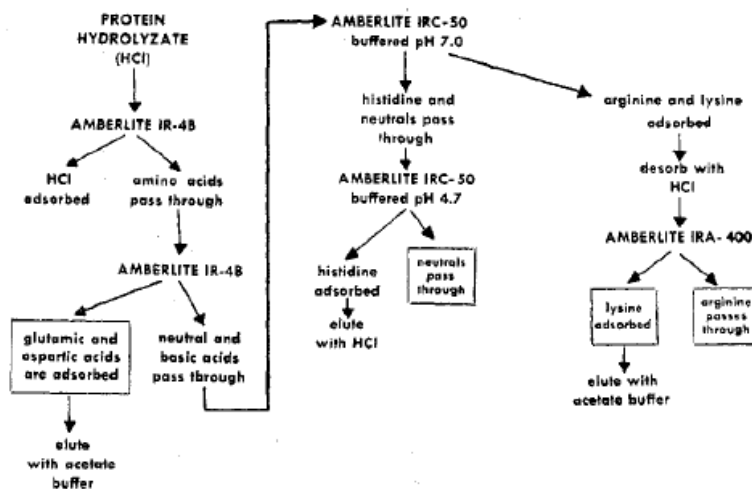


Abb. 7 Ionentauscherkaskade zur Gewinnung verschiedener Aminosäuren

Die aromatischen Aminosäuren werden schließlich durch Adsorption an spezifischen Adsorberharzen von den anderen neutralen Aminosäuren getrennt. Zur Trennung der verbleibenden aliphatischen Aminosäuren Leucin, Isoleucin, Valin, Alanin, Glycin sowie Threonin, Serin, Prolin sind zusätzliche Verfahren notwendig. Tatsächlich führten Gespräche mit europäischen Herstellern zu folgendem Bild: Es gibt mindestens 2 europäische Produktionsstandorte an denen Aminosäuren aus Hydrolysaten gewonnen werden. Neben der in Abb. 7 dargestellten Isolierungsprozedur der sauren und basischen Aminosäuren ist eine zusätzliche Auftrennung zur Erreichung reiner einzelner Aminosäuren notwendig. Über diese Verfahren gibt es nur spärliche Information (teilweise Spekulationen). Denkbar wären eine Kombination aus Extraktion mit höheren Alkoholen, fraktionierte Kristallisation und Ionenauschprozessen mit optimierten Verdrängungseffekten.

Die Säureamide Glutamin und Asparagin sowie Tryptophan werden größtenteils bei den oben beschriebenen Hydrolysebedingungen zerstört und sind deshalb nicht zugänglich.

Chemische Synthese

Im Prinzip lassen sich alle Aminosäuren auch auf chemisch synthetischem Wege gewinnen. Die Strecker Synthese und ihre Varianten führen, ausgehend von einfachen Ausgangssubstanzen, zu racemischen Gemischen der α -Aminosäuren bzw. zum achiralen Glycin.

Die durch Addition von Blausäure an Aldehyde zugänglichen Cyanhydrine gehen mit Ammoniak in Aminonitrile über, aus denen bei der Hydrolyse mit konzentrierten Mineralsäuren α - D,L-Aminosäuren entstehen. Die anschließende Stereoisomerentrennung lässt sich mittels Kristallisationsverfahren oder unter Einsatz von Enzymen erreichen. Zur Nutzung des D-Enantiomers muss dieses racemisiert und erneut getrennt werden. Diese beiden zusätzlichen Verfahrensschritte sind der große Nachteil für die chemische Synthese im Vergleich zur fermentativen Darstellung der L-Aminosäuren. Wirtschaftlich interessante racemische, ernährungsphysiologisch verwertbare Aminosäuren sind Methionin und Alanin. In Einzelfällen lässt sich die L-Aminosäure direkt durch chirale Synthese aus einer prochiralen Vorstufe darstellen. Die N-Acetyl-Derivate von D,L-Valin, D,L-Phenylalanin und D,L-Tryptophan sind Zwischenprodukte bei der Produktion von L-Aminosäuren mittels der enzymatischen Racematspaltung. [19].

Fermentation

Durch den Einsatz von Mikroorganismen in Fermentationsprozessen lassen sich optisch reine Aminosäuren produzieren. Als C-Quelle werden hier Saccharose (aus Melasse) oder Glucose (aus Stärkehydrolysat) verwendet. Als Stickstoffquelle dient entweder Harnstoff oder Ammoniumsulfat. Wildstämme führen zu den Aminosäuren: Glutaminsäure, Alanin und Valin. Durch Mutanten zugänglich sind: Lysin, Threonin, Arginin, Citrullin, Ornithin, Homoserin, Tryptophan, Phenylalanin, Histidin. Durch Zusatz von Precursoren zur Fermentation erhält man Threonin, Isoleucin, Tryptophan.

Die Entwicklung der Fermentation stellte eine Revolution auf dem Gebiet der Aminosäureproduktion dar. 1957 isolierten japanische Wissenschaftler der Firma Kyowa Hakko einen Stamm eines Corynebakteriums, der in Kultur große Mengen an Glutaminsäure produzierte. Rasch etablierte sich die großtechnische Fermentation von Glutaminsäure und reduzierte deren Weltmarktpreis auf mehr als ein Viertel unter 2 US\$.

Durch intensive Forschung an verschiedenen Bakterienarten wurden durch Mutationsmethoden und Screening Stämme isoliert, durch die auch andere Aminosäuren zugänglich wurden.

Durch die technischen Möglichkeiten der modernen Molekularbiologie sind spezifische Manipulationen der Mikroorganismen und deren Stoffwechselverhalten möglich. Dies bedeutet für die Zukunft ein enormes Potential im Bereich der Fermentation.

Die Wirtschaftlichkeit dieses Verfahrens ist von den Kosten der C-Quelle, der Produktausbeute, und der Aufreinigung abhängig. Für einige Aminosäuren sind derzeit noch keine leistungsfähigen Produktionsstämme vorhanden, weshalb deren Fermentation wegen der geringen Ausbeute teuer ist. Während für Glutamat, Lysin und Threonin die Fermentation das Standardverfahren zur billigen Massenproduktion darstellt, gibt es bei Tryptophan offenbar hartnäckige Probleme, die von den großen Firmen trotz jahrelanger Bemühungen nicht in den Griff zu bekommen sind. Dies zeigt sich im zehnfach höheren Preis für Tryptophan im Vergleich zu den obengenannten Aminosäuren. Ebenso gelingt es bei der Fermentation von Isoleucin nicht, Valin als Nebenprodukt zu unterdrücken [20]. Da die Trennung dieser zwei Aminosäuren aufgrund ihrer ähnlichen Eigenschaften äußerst aufwendig ist, konnte der Preis dieser Aminosäure durch die Fermentation nicht gesenkt werden.

Die wichtigsten Kriterien bei der Auswahl der Produktionsstämme sind: Nichtpathogenität, weites Spektrum assimilierbarer C-Quellen, billige C- und N-Quellen, schnelles Wachstum, Bacteriophagenresistenz, wenig Nebenprodukte

Beim Downstream Processing werden im Wesentlichen zwei Verfahren angewandt. Nach der Abtrennung der Zellen durch Zentrifugation oder Ultrafiltration erfolgt entweder eine Ionenaustauschchromatographie mit anschließender Kristallisation oder Sprühtrocknung, oder es wird lediglich konzentriert und kristallisiert. Die erste Methode erreicht höhere Reinheiten, ist aber aufwändiger und produziert mehr Abwasser. Das zweite Verfahren ist einfacher, man erreicht damit jedoch weniger reine Produkte, die jedoch als Futtermittel geeignet sind. Eine Möglichkeit die Mutterlaugen zu verwerten, ist deren Beimengung in Düngern. [21]

3.2 Gewinnung von Milchsäure

Derzeit sind drei relevante Verfahren zur Gewinnung von freier Milchsäure im Einsatz:

Chemische Synthese aus Ethanal (aus fossilen Quellen)

Fermentation aus erneuerbaren C-Quellen – Downstream-Processing über Kalziumsulfatfällung sowie

Fermentation aus erneuerbaren C-Quellen – Downstream-Processing mittels Membranverfahren (bipolare Elektrodialyse).

Seit der amerikanische Konzern Cargill-DOW in Nebraska (USA) eine Produktionsanlage von 180.000 Jahrestonnen Milchsäure als Ausgangsstoff für die Polylactatproduktion in Nebraska errichtet hat, ist die Erzeugung von Milchsäure zu einem vielfach diskutierten Thema geworden.

Wirtschaftlich gesehen ist unter aktuellen Bedingungen die Kalziumfällung am attraktivsten. Der Nachteil der Erzeugung von großen Gipsmengen (Kalziumsulfat) als schwer verwertbares Nebenprodukt ist zwar nicht gelöst aber die Einschätzungen, ob ein Gipsberg neben einer Anlage zur Produktion von ökologisch vermarkteten Produkten ein Problem ist, gehen auseinander. Die Recherche welches Verfahren in Nebraska eingesetzt wird führte zu keinem eindeutigen Ergebnis. Laut unbestätigter Auskunft des Weltmarktführers für Elektrodialysmembranen scheint klar, dass Cargill-DOW auf Verfahren 2 setzt.

Allen Verfahren ist gemeinsam, dass eine Säure aus einem organischen Grundstoff ohne Carboxylgruppe (COO⁻) erzeugt werden muss. Es ist also immer ein Schritt zur Erzeugung der Acidität notwendig. Bei der chemischen Synthese und dem Verfahren über die Kalziumsulfatfällung wird die Acidität durch eine anorganische Säure (Schwefelsäure, produziert in einem exothermen Verfahren aus Schwefel – Abfallprodukt in der Erdölraffinerie) eingebracht. Im dritten Verfahren wird die Acidität durch Wasserspaltung in einer Bipolaren Elektrodialyse erzeugt. Die dabei erzeugte Base kann wieder zur Neutralisation der Milchsäure in der Fermentation verwendet werden. Der Prozess ist somit frei von Nebenprodukten.

Tab. 2 Vergleich der Verfahren zur Gewinnung von Milchsäure

	Chem. Synthese	Ca-Fällung	Membranverfahren
<i>Rohstoffe</i>	fossiler Rohstoff	billiger nachwachsender Rohstoff einsetzbar	nachwachsende Rohstoffe die aufbereitet werden müssen - reine C-Quellen - Glucosesirup
<i>Energieeinsatz</i>	-	gering	hoch durch benötigte elektr. Energie in den Membranverfahren
<i>Hilfstoffe</i>	Hydrogencyanid, Salzsäure, Schwefelsäure	Kalziumoxid, Schwefelsäure	-
<i>Nebenprodukte</i>	Ammoniumchlorid	Kalziumsulfat	-
<i>sonstiges</i>	Produkt ist Racemat	die Erzeugung von Kalziumoxid ist energieintensiv und mit prozessbedingten Kohlendioxidemissionen belastet, Zur Gewinnung reiner Milchsäure ist ein zusätzlicher Verfahrensschritt (Esterifikation) notwendig	Die Konvertierung von Ammoniumlactat zu freier Milchsäure setzt einen Kalziumgehalt von >1ppm voraus

Chemische Synthese (J.H. Clark, J.J.E. Hardy, 2004 [16])

Ein geringer Anteil der weltweit hergestellten Milchsäure wird aus fossilen Ressourcen synthetisiert. Ausgehend von Rohöl wird Ethanal gewonnen welches unter Verwendung von Salzsäure, Hydrogencyanid zu D,L-Milchsäure synthetisiert wird. Zur Reinigung des Produkts wird unter Verwendung eines Katalysators aus Milchsäure und Methanol Methylactat hergestellt (Veresterung) und über Rektifikation als Reinstoff gewonnen. Durch Hydrolyse in Wasser entsteht Methanol und freie Milchsäure. Die so gewonnene Milchsäure ist ein Racemat, was ein wesentlicher Nachteil ist.

Fermentation und Kalziumsulfatfällung [22, 23, 24]

Bei der industriellen Produktion von Milchsäure gibt es zwei wichtige Faktoren:

- 1) Reinheit der Kohlenhydratquelle
- 2) Downstreamkosten

Je reiner die Kohlenhydratquelle umso weniger Probleme gibt es beim Downstreaming. Im Idealfall wird reiner Glucosesirup oder kristallisierte Saccharose eingesetzt. Die aktuelle Einschätzung der Autoren ist: Es ist am wirtschaftlichsten „teureren“ reinen Rohstoff einzusetzen und die anschließenden Produktaufreinigung einfach zu gestalten.

Die Fermentation erfolgt mit homofermentativen Mikroorganismen (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *delbrueckii*) bei Temperaturen um 50°C. Die erzeugte Milchsäure muss während der Fermentation neutralisiert werden. Dazu wird Kalziumcarbonat eingesetzt. Das frei werdende Kohlendioxid treibt dabei den restlichen Sauerstoff aus der Fermentationslösung, was wiederum zu optimalen anaeroben Bedingungen führt. Eine technisch perfekte Fermentation erzeugt aus 100 kg Milchsäure 95 kg L-Milchsäure in Form von Kalziumlactat. Der möglichs geringe Gehalt an Restglucose und ungewollten Nebenprodukten (Essigsäure, Propionsäure) ist ein Qualitätskriterium der Fermentation (siehe Abb. 8).

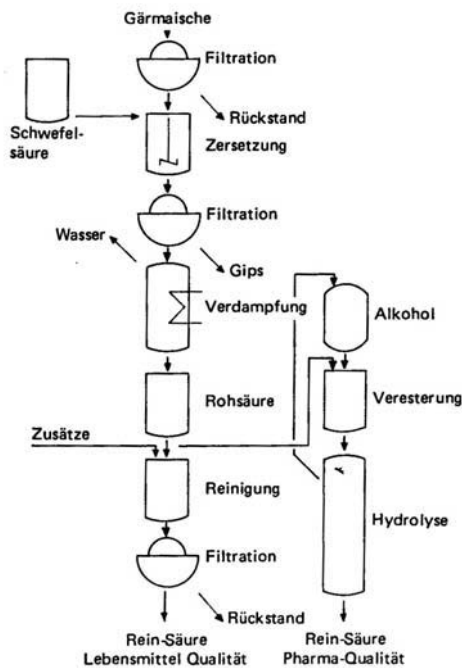


Abb. 8 Milchsäuregewinnung [29]

Die Fermentationslösung wird filtriert und mit Schwefelsäure (78%, 0,5 mol pro mol Milchsäure) angesäuert. Das nun ausfallende Kalziumsulfat wird abgetrennt und die in Lösung gehende freie Milchsäure (Rohmilchsäure) durch Verdampfung der überschüssigen Wassermengen aufkonzentriert. Die so erhaltene Milchsäure (technische Qualität) ist versetzt mit Reststoffen (Restglucose, N-Verbindungen die als Stickstoffquellen in der Fermentation gedient haben) die teilweise mittels Aktivkohle und Ionentauschern abgetrennt werden. Zur Erreichung einer höheren Qualität ist aber ein zusätzlicher Prozessschritt notwendig.

Als Endreinigung wird in der Literatur die Esterifikation mit Methanol (100°C, MeOH Überschuss, Anwesenheit von Schwefelsäure) angegeben. (Me-Acetat: bp=56,9, wasserlöslich; Me-Lactat: bp=144, zersetzt sich mit Wasser; Et-Acetat bp=77°C, azeotropic (6,1 %w/w) mit H₂O – 70,4°C und (9 %w/w) Alkohol – 70,3°C, langsam zersetzend in Wasser; Et-Lactat: bp=154, wasserlöslich mit teilweiser Zersetzung). Über Rektifikation gewonnenes Methyl-Lactat zersetzt sich in wässriger Lösung wieder zu freier Milchsäure und leicht flüchtigen Methanol welches im Kreislauf geführt wird. Die so gewonnene Milchsäure erreicht Pharmaqualität.

Alternativ zur Fällung von Kalziumsulfat aus der Kalziumlactatlösung wird auch über eine Fällung von Kalziumlactat aus der Fermentationslösung berichtet. Die Kalziumlactatkonzentration in der Fermentationslösung hat bei Fermentationstemperatur die Löslichkeitsgrenze fast erreicht. Wird nun die Konzentration weiter erhöht und die Lösung abgekühlt so kann Kalziumlactat kristallisiert werden. Das so gewonnene Kalziumlactat wird mit Schwefelsäure zu freier Milchsäure konvertiert und das ausfallende Kalziumsulfat mittels Filter abgetrennt. Die Reinheit der so gewonnenen Milchsäure kann durch mehrfaches Kristallisieren (Erhitzen und Auflösen des festen Kalziumlactats und Rekrystallisieren.) erhöht werden.

Alternativ zum Einsatz von Kalziumcarbonat als Neutralisationsmittel in der Fermentation ist auch die Verwendung von Ammoniak in der Literatur beschrieben [31] Ammoniumlactat aus der Fermentation wird wiederum mit Schwefelsäure zu freier Milchsäure konvertiert. Das anorganische Salz (Ammoniumsulfat) wird erst nach der Veresterung und Neutralisation der Esterlösung aus der Alkohol-Lactatlösung abgetrennt. Danach wird über Rektifikation der reine Alkohol gewonnen und in Wasser zu Alkohol und Milchsäure zersetzt. Nach der Abdampfung des Alkohols erhält man reine Milchsäure.

Fermentation und Downstream Processing mittels Membranverfahren (bipolare Elektrodialyse) [24]

Hier gilt noch mehr als bei der Kalziumsulfatfällung - ein reiner Ausgangsrohstoff bringt Kostenersparnisse beim Downstream-Processing, die den teureren Rohstoff rechtfertigen. In der Fermentation wird Ammoniumhydroxid (NH₃-OH) zur Neutralisation verwendet. Das entstehende Ammoniumlactat wird filtriert und zweiwertige Kationen werden mittels Ionentauscher entfernt. Über einen Elektrodialyseschnitt (EDC/ED) wird Ammoniumlactat von neutralen Molekülen wie Restzucker abgetrennt und aufkonzentriert. Die im Diluat der Elektrodialyse verbleibenden Moleküle werden der Fermentation als Nährstoff zurückgeführt. Das nun reine Ammoniumlactat wird in einer bipolaren Elektrodialyse (EDBM/EDB, Wasser wird gespalten um Hydroniumionen/H₃O⁺ und Hydroxylionen/OH⁻ zu erzeugen) in freie „saure“ Milchsäure und Ammoniumhydroxid umgewandelt. Die Base (NH₃-OH) kann wiederum zur Neutralisation in der Fermentation verwendet werden (siehe Abb.9).

Die Kosten dieses Verfahrens sind geprägt von den beiden Elektrodialyseschnitten. Bailly et al. (2002) berechnen für die Downstreamingkosten 0,47 € pro kg Milchsäure. Die Probleme in

diesem Verfahren betreffen die Betriebsvoraussetzungen für ED und EDB. Um eine hohe Standzeit des ED-Schritts zu gewährleisten sollten bei der vorhergehenden Filtration alle membranverblockenden Substanzen abgetrennt werden. Statt der hier vorgestellten Mikrofiltration könnte hier auch eine Ultrafiltration eingesetzt werden. Sang Hyeon Kang et al. (2004) [26] schlägt hier sogar eine Nanofiltration, die neben Mikroorganismen und Proteinen auch Glucose und zweiwertige Ionen selektiv abtrennen soll, vor.

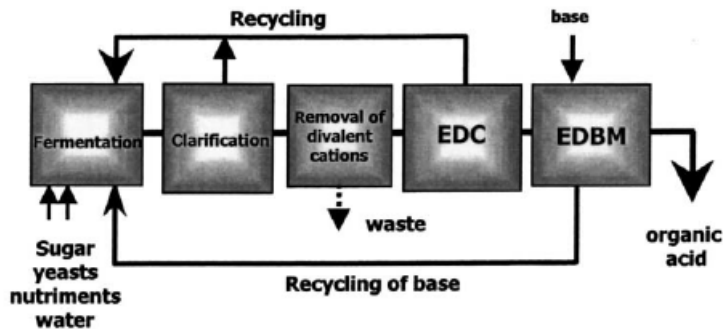


Abb. 9 Membranverfahren zur Gewinnung von freier Milchsäure

Voraussetzung zur Realisierung dieses Prozesses ist ein Fermentationsrohstoff mit geringen Verunreinigungen und eine gute Fermentation. Essigsäure und Propionsäure, die während einer nicht perfekten Fermentation als ungewolltes Nebenprodukt anfallen können, würden das Produkt verunreinigen.

3.3 Die kombinierte Gewinnung von Milchsäure und Aminosäuren aus Silagesaft

Recherchen, Experimente und Diskussionen in diesem Projekt führten zu folgenden Ansichten. Chloroplastenreiche Wiesengrünmasse ist der primäre Proteinlieferant in der Natur. Die Nutzung als Rohstoffquelle zur Gewinnung von Aminosäuren wäre naheliegend und erfüllt die Vorgaben der ökologischen und sozialen Nachhaltigkeit über den reinen Aspekt der erneuerbaren Rohstoffe hinaus in einem hohen Maße.

Bei der Gewinnung des potentiellen Hauptprodukts „Aminosäurefraktion“ ist die Abtrennung von Milchsäure bzw. Milchsäuresalz ein notwendiger Schritt. Nach der Fraktionierung in ein Zwischenprodukt 1) milchsäurehaltige Fraktion und 2) aminosäurehaltige Fraktion muss ein Vergleich mit Milchsäurefermentationsmaischen und Proteinhydrolysaten durchgeführt werden. Dieser Vergleich sollte eine wirtschaftliche, qualitative (bezüglich der Produktqualität) und eine technische Bewertung beinhalten.

Milchsäurefermentationsmaischen [27]: 90 g/L Milchsäure, rund 20 g/L Ammonium, 0,5 bis 5 g Glucose, ~1 g/L Aminosäuren/Peptonreste, 1 bis 5 g verschiedene Salze, 3 g/L Biomasse, geschätzte Produktionskosten –Ausgang Fermenter: 0,4 €/kg Milchsäure [30]

Proteinhydrolysat [28]: 5 % Feuchte, 43 % NaCl, 31,3 % Crude Protein (CP), geschätzte Produktionskosten 2 €/kg-CP (0,6 € pro kg Produkt)

Silagesaft: 29 g/L Milchsäure, 23 g/L Aminosäuren (29 g/L CP), 20 €/m³ - entspricht 0,87 €/kg Aminosäuren bei 0 €/kg Milchsäure.

4. Material und Methoden

4.1 Analytikmethoden

Der Rohstoff Saft aus „Grünem Blattmaterial“ bzw. aus „Siliertem Grünen Blattmaterial“ - Silage Saft - ist eine komplexe wäßrige Lösung. Zur Bestimmung und Quantifizierung der Inhaltstoffe wurden verschiedene Analytikmethoden angewendet die sich in zwei Kategorien einteilen lassen.

Methoden zur Bestimmung von Summenparametern

Bestimmung der Konzentrationen identifizierter Moleküle

Im ersteren Fall wurde Trockenmasse, Rohprotein, Rohasche und optische Dichte gemessen. Zur Bestimmung der Konzentration von Zuckern, Aminosäuren, Ionen und organischen Säuren wurden verschiedene HPLC (High Performance Liquid Chromatography) Methoden verwendet.

Bei der Besprechung der verschiedenen Chromatographiemethoden wird auch auf die Trennmechanismen speziell eingegangen, da in weiterer Folge der Einsatz dieser Methoden, oder Methoden die auf vergleichbaren Effekten basieren, in den großtechnischen Szenarien diskutiert wird.

4.1.1 Trockenmassebestimmung

Prinzip:

Die Probe mit Seesand verrieben und bei 105°C bis zur Massenkonstanz getrocknet. Der Rückstand wird durch Differenzwiegung gravimetrisch bestimmt.

Geräte und Hilfsmittel:

Trockenschrank Heraeus BR6000

Feinwaage Satorius BP210S

Keramikschalen, Pistillen, Seesand

Durchführung:

Eine Wägeschale wird mit 20 g Seesand befüllt. 5 g Probe werden mit einer Glaspistille im Seesand verrieben und bei 105°C 3 Stunden getrocknet. Danach wird im Exicator abgekühlt und gewogen.

4.1.2 Aschebestimmung (IFA-Tulln)

Im Rahmen des Projekts Fabrik der Zukunft „Proteine aus Grassäften“ wurde am IFA Tulln parallel zur Trockenmassbestimmung der Rohaschegehalt bestimmt. Nach der Trockenmassebestimmung (ohne Seesand) wurden die Wägeschalen mit der trockenen Probe in einem Muffelofen gestellt. Die Veraschung erfolgte bei 550 °C und dauerte 8 Stunden.

4.1.3 Rohproteinbestimmung nach Kjeldahl

Prinzip:

Die Untersuchungssubstanz wird mit konzentrierter Schwefelsäure unter Zusatz eines Katalysatormischungs (Metallsalze/oxide dienen zur Sauerstoffübertragung unter intermediären Bedingungen nasierenden Sauerstoff; Kaliumsulfat dient zur Erhöhung der Siedetemperatur) oxidativ aufgeschlossen, aus dem entstandenen Ammoniumsulfat wird das nach Alkalizusatz freigesetzte Ammoniak mit Hilfe einer Wasserdampfdestillation in eine borsäurehaltige Vorlage übergetrieben und mit Salzsäure-Maßlösung titrimetrisch bestimmt. Der Proteingehalt wird unter Berücksichtigung des durchschnittlichen Stickstoffanteils der Proteinart und unter Abzug des Ammoniumteils berechnet.

Geräte und Hilfsmittel:

Schwefelsäure p.A. ($\rho = 1,84 \text{ g/ml}$, 96 %-ig)

Kjeltabs

Natronlauge p.A. 30 %ig

Borsäurelösung: 100 g Borsäure p.A. werden in warmen Wasser gelöst, mit 2,5 ml Mischindikator 5 versetzt und auf 5 l mit aqua dest aufgefüllt.

HCl (0,1 N)

Feinwaage Satorius BP210S

Mischindikator 5 Merck Nr. 6103

Büchi Destillation Unit B323

Büchi 435 Digestion Unit

Büchi 412 Scrubber

Metrohm 775 Dosimat

Durchführung:

2 g Probe werden in die Kjeldahlkolben eingewogen und mit dest. Wasser von den Wänden gespült. Eine Katalysatortablette (Kjeltab) wird zugesetzt und mit 20 ml Schwefelsäure und mit einem Temperaturprogramm langsam erhitzt (20 min. 120 °C, 30 min. 140 °C, 50 min. 160 °C, 50 min. 180°C, 50 min. 200 °C, 50 min. 250 °C, 40 min. 300 °C, 40 min. 350°C, 40 min. 420 °C) aufgeschlossen. Nach dem Abkühlen wird der fertige Aufschluss in die Destillationsapparatur eingesetzt .

Destillation: Es werden 5 Sekunden Wasser zugesetzt. Der saure Aufschluss wird mit Natronlauge alkalisch gemacht und das freiwerdende Ammonium durch Wasserdampfdestillation in eine saure Vorlage übergeleitet. Dazu wird für 15 Sekunden Natronlauge zugesetzt, um pH 14 zu erreichen. Die Destillation erfolgt 3 Minuten. Als Vorlage werden 25 ml 2 %ige Borsäure mit Mischindikator 5 verwendet.

Das Destillat wird bis zum Farbumschlag tropfenweise (Dosimat) titriert.

Die Berechnung erfolgt automatisch mit dem Programm auf %-N. Damit wird der Gesamt-N erfasst.

Berechnung der Ergebnisse:

$N_{\text{org}} + \text{NH}_4^+ - \text{N} [\text{mg/g}] = (\text{ml Säureverbrauch} * \text{Normalität der Säure} * 14 * 1000) / \text{Einwaage}$

Der Gehalt des Rohproteins errechnet sich aus der Differenz des TKN-Wertes (Kjeldahl-Stickstoff) und des zugehörigen Ammoniumstickstoffgehaltes (Bestimmung per Ionen-HPLC), die mit dem Proteinfaktor 6.25 multipliziert wird.

4.1.4 Optische Dichte

Die Bestimmung der optischen Dichte der verschiedenen Nanofiltrationpermeate erfolgte mittels eines Beckman Coulter Spectrometer (DU 800). Als geeignete Wellenlänge zur Quantifizierung der Farbinhaltstoffe wurde 400 nm gewählt.

4.1.5 Bestimmung der freien Aminosäuren per RP-HPLC mit Vorsäulenderivatisierung

Prinzip:

Zur selektiven Detektion werden die Aminosäuren mit ortho-Phtaldialdehyd (OPA) derivatisiert. OPA reagiert im Alkalischen mit primären Aminen, wobei ein instabiles, intensives fluoreszierendes Addukt aus OPA, einem als Hilfsreagenz zugesetzten Thiol und dem Amin gebildet wird. Das so entstandene Indolderivat kann durch pH-Erniedrigung (pH 7) etwas stabilisiert werden. Die Trennung der einzelnen derivatisierten Aminosäuren erfolgt mittels Reverse Phase HPLC. Die fluoreszierenden Derivate werden ohne Überlagerung von sonstigen Matrixbestandteilen mittels Fluoreszenzdetektor quantifiziert.

Geräte und Hilfsmittel:

Dionex Summit HPLC System bestehend aus Pumpe (P680), programmierbaren Autosampler (ASI100), Säulenofen (STH-5885) und Fluoreszenzdetektor (RF2000)

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pA

Methanol, Acetonitril, Tetrahydrofuran (THF) „HPLC-Qualität“

OPA3 Kit from Grom (D) bestehend aus Säule (3 μm , 120 mm x 4,6 mm, C18 ODS), Boratpuffer (pH 10,7), Aminosäurenstandard, Vorsäulen und OPA-Reagent

Glasviales mit Schraubkappen und 300 μL Einsatz

Durchführung:

Nanofiltrationspermeatproben werden 1:1000 verdünnt und ohne weitere Vorbehandlung verwendet. Proben ursprünglichen Saftes oder Retentate werden zentrifugiert. Der Überstand wird ohne weitere Vorbehandlung 1:1000 verdünnt und verwendet.

Zur automatischen Derivatisierung wird ein Programm des Autosamplers eingesetzt. Zuerst werden 10 μL Luft angesagt. Danach wird 70 μL OPA Reagent (1:10 mit Boratpuffer vermischt) aufgezogen. Nach weiteren 10 μL Luft werden 110 μL Probe aufgezogen und der gesamte Inhalt in einem freien Probengefäß mit 300 μL Einsatz zusammengemischt. 2 Minuten danach wird injiziert.

Als flüssige Phase wird ein Gradientengemisch aus (A) Phosphatpuffer (pH 7 mit 0,75 % THF) und einem Gemisch (B) aus Phosphatpuffer, Methanol und Acetonitril (50/35/15). Der von 0 auf 100 % ansteigende Anteil von Eluent B ist in unterem Chromatogramm (Abb. 10) abgebildet. Der Fluss beträgt 1,1 mL/min bei 20 °C.

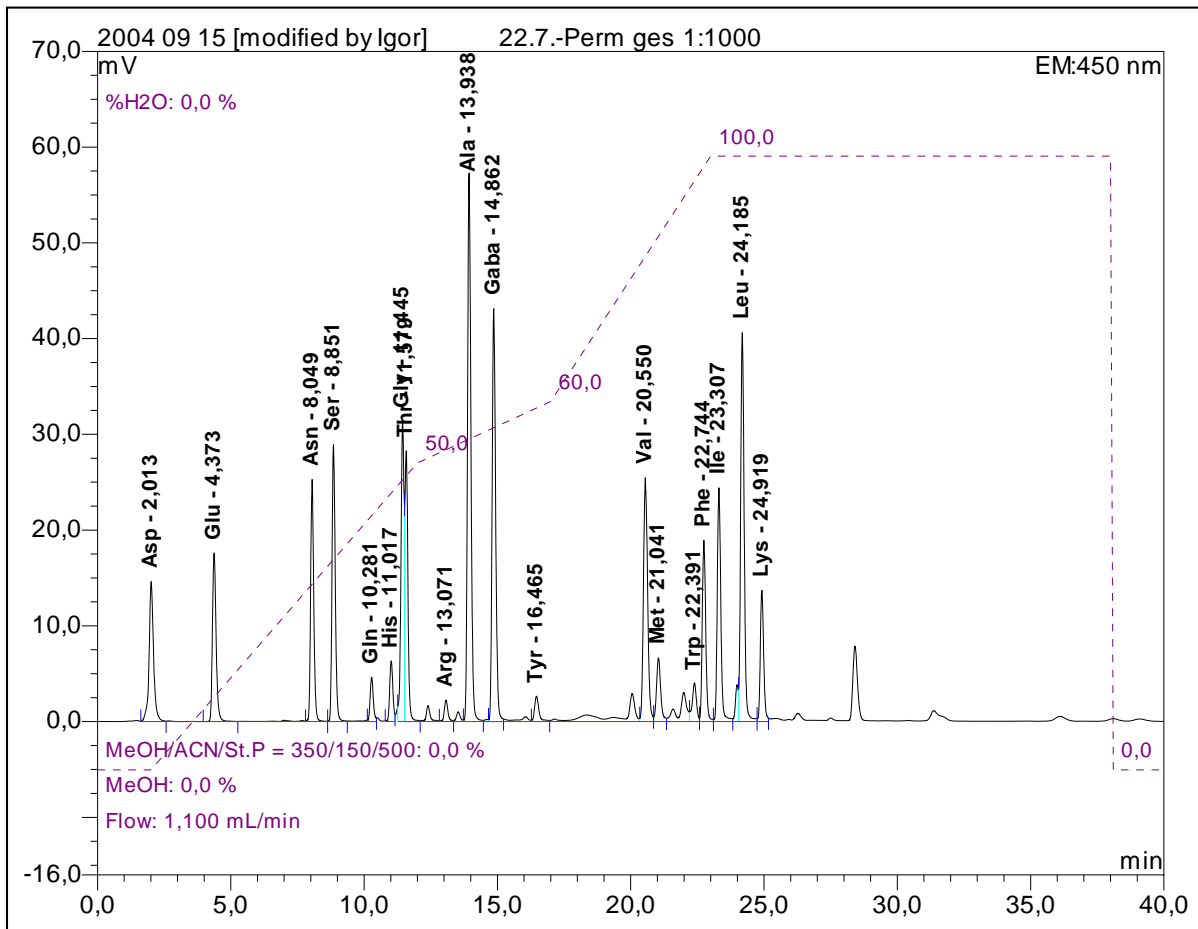


Abb. 10 Chromatogramm einer Silagesaft-Permeatprobe

Die Detektion erfolgt mit einer Anregungswellenlänge von 330 nm und einer Emissionswellenlänge von 450 nm. Die Auswertung erfolgt mittels Dionex Chromelion Software.

4.1.6 Bestimmung von Mono- und Disaccheriden per Ionentausch HPLC.

Prinzip:

Die gleichzeitige Trennung von Monosaccheriden und Disaccheriden erfolgt mittels High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection (HPAE-PAD). Hier wird sich zu Nutze gemacht, dass Monosaccheride Eigenschaften einer schwachen Säure haben. Der Dissoziationskonstante pKa der wichtigsten Monosaccheride liegt zwischen 12,0 und 12,4.¹ Bei pH Werten über 12,5 werden dissoziierte Monosaccheride bzw. aus Monosaccheriden bestehende Disaccheride am Anionentauscher gebunden und in weiterer Folge vom basischen Eluenten verdrängt. Die Quantifizierung erfolgt über gepulste amperometrische Detektion.

Geräte und Hilfsmittel :

HPLC System „Dionex 500“ bestehend aus Pumpe (GP50), amperometrischer Detektor (ED40) und Entgasungssystem (heliumbasierend)

Säule: CarboPac PA1, inkl. Vorsäule

Autosampler Holland Spark, Basic Marathon

Natronlauge 50 %, „Baker Analysed“

Durchführung :

Nanofiltrationspermeatproben werden 1:1000 verdünnt und ohne weitere Vorbehandlung verwendet. Proben ursprünglichen Saftes oder Retentate werden zentrifugiert. Der Überstand wird ohne weitere Vorbehandlung 1:1000 verdünnt und verwendet.

Die Trennung erfolgt mittels eines isokratischen Eluenten: 25 mmol NaOH, 1 mL/min (Abb. 11)

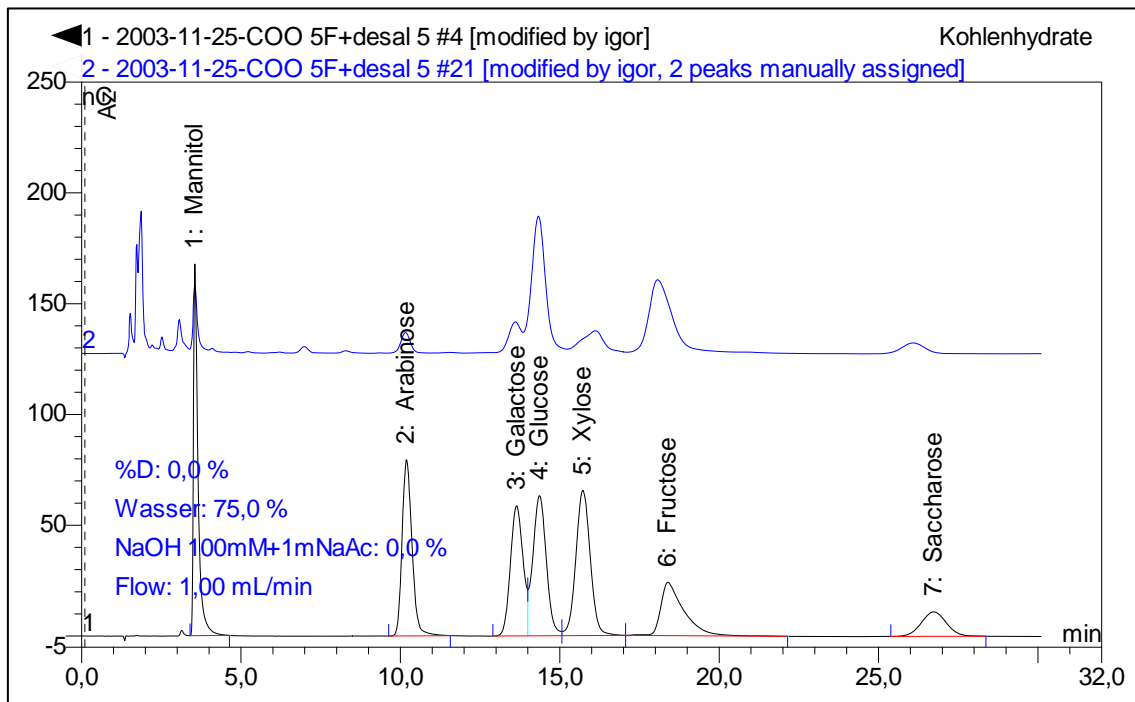


Abb 11 Chromatogramm eines Zuckerstandards und einer Silagesaftprobe (oben)

4.1.7 Bestimmung von Kationen und Anionen per Dionex® - Ionenchromatographie

Anionen

Prinzip:

Die Trennung der anorganischen Anionen erfolgt an starken Anionentauschern geringer Kapazität. Anionen werden an den funktionellen Gruppen ($-N^+R_3$) des Harzes gebunden durch ein geeignetes Eluentensystem verdrängt. Bei der verwendeten Methode kommt eine wässrige Lösung aus Natriumhydrogencarbonat und Carbonat zum Einsatz. Um die Leitfähigkeit des Eluenten/Probengemisch nach der Säule zu verringern und somit eine empfindliche Detektion zu ermöglichen wird der Trennsäule ein Suppressor nachgeschaltet. Dieser besteht aus einem Hohlfaserionentauscher mit hoher Kapazität. Auf Grund der des Donnananenschlusses können die negative geladenen Probenanionen und Eluionsionen (OH^-) die Membran nicht passieren, während Kationen wie Na^+ und H^+ entsprechend dem bestehenden Ionengefälle hindurchwandern. Auf diese Weise verlassen den Suppressor außer den freien Säuren der Probe nur Wasser und CO_2 .

Geräte und Hilfsmittel:

Ionenchromatograph DX120 (DIONEX®) bestehend aus Pumpe, Suppressor (ASRS Ultra) und Leitfähigkeitszelle.

Trennsäule Dionex AS14 (250*4 mm, Alkyl quaternary ammonium, 9 μm) mit Vorsäule AG14 (4*50 mm)

Natriumhydrogencarbonat p.A. (Merck)

Natriumcarbonat wasserfrei, p.A: (Fluka)

Ionenstandards CertiPUR (Merck)

PC und Dionex Chromelion Software

Durchführung:

Nanofiltrationspermeatproben werden 1:1000 verdünnt und ohne weitere Vorbehandlung verwendet. Proben ursprünglichen Saftes oder Retentate werden zentrifugiert. Der Überstand wird ohne weitere Vorbehandlung 1:1000 verdünnt und verwendet.

Die Proben werden händisch in die Probenschleife injiziert. Die Trennung und Datenaufzeichnung wird über den PC gestartet. In Abb. 12 ist ein typisches Chromatogramm zu sehen.

Die Elution erfolgt mittels eines linearen Gradienten mit 22 mM MSA, 1mL/min und Raumtemperatur.

Kationen

Prinzip:

Die Trennung der anorganischen Kationen erfolgt an relative schwachen Kationentauscher. Kationen werden an den funktionellen Gruppen (-COO⁻) des Harzes gebunden und durch ein geeignetes Eluentensystem verdrängt. Bei der verwendeten Methode kommt eine wässrige Lösung mit Methansulfonsäure zum Einsatz. Um die Leitfähigkeit des Eluenten/Probengemisch nach der Säule zu verringern und somit eine empfindliche Detektion zu ermöglichen wird der Trennsäule ein Suppressor nachgeschaltet.

Geräte und Hilfsmittel:

Ionenchromatograph DX120 (DIONEX[®]) bestehend aus Pumpe, Suppressor (CSRS Ultra) und Leitfähigkeitszelle.

Trennsäule Dionex CS12A (250*4 mm, Carboxyl Acid/Phosphoric Acid, 8,5 µm) mit Vorsäule CG12 (4*50 mm)

Methansulfonsäure (MSA), 99% purris (Fluka)

Ionenstandards CertiPUR (Merck)

PC und Dionex Chromelion Software

Durchführung:

Nanofiltrationspermeatproben werden 1:1000 verdünnt und ohne weitere Vorbehandlung verwendet. Proben ursprünglichen Saftes oder Retentate werden zentrifugiert. Der Überstand wird ohne weitere Vorbehandlung 1:1000 verdünnt und verwendet.

Die Proben werden händisch in die Probenschleife injiziert. Die Trennung und Datenaufzeichnung wird über den PC gestartet. In Abb. 12 ist ein typisches Chromatogramm zu sehen.

Die Elution erfolgt mittels eines linearen Gradienten mit 23,5 mM NaCO₃/ 1,0 mM NaHCO₃, 1 mL/min und Raumtemperatur.

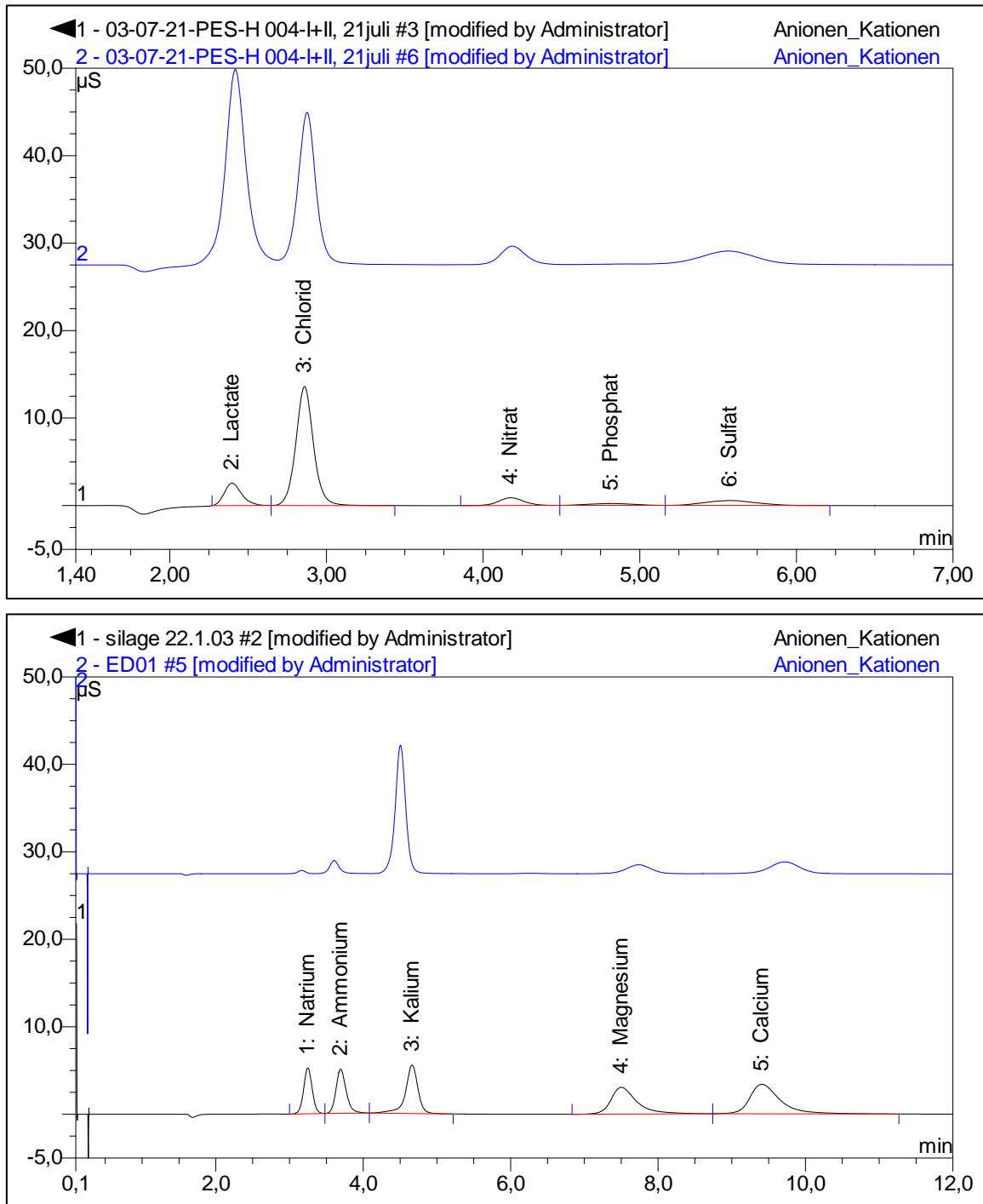


Abb. 12 Anionen- und Kationenchromatogramm mit Standards und einer typischen Silagesaftprobe

4.1.7 Bestimmung organischer Säuren mittels Ionenausschlusschromatographie

Prinzip:

Im Gegensatz zur Reversed Phase Chromatographie handelt es sich hier um eine Normalphasenchromatographie (NP-HPLC). Als feste Phase wird ein „gel-type“ Standard Ionentauscherharz basieren auf Polystyrene mit 8 % Divenylbenzen (DVB) in der H-Form eingesetzt. Der Trennmechanismus beruht auf Ionenausschluss-, Grössenausschluss- und Normalphasenverteilungs-effekten.² Die Trennung erfolgt im sauren Bereich (verdünnte Schwefelsäure als Eluent), so dass organische Säuren in ihrer undissoziierten Form nicht mit anorganischen Ionen in der Ionenausschlussfraktion eluiert werden. Die Trennung zwischen organischen Säuren erfolgt hauptsächlich nach der Molmasse. So eluiert Succinat (118 g/mol) vor Milchsäure (90 g/mol) und Essigsäure (~60 g/mol).

Die Methode hat den Nachteil, dass alle organischen (und anorganischen) Bestandteile detektiert werden und Überlagerungen nicht ausgeschlossen werden können. Im vorliegenden Fall wurden nur Milchsäure und Essigsäure eindeutig identifiziert.

Geräte und Hilfsmittel:

HPLC System „Merck Hitachi“ bestehend aus Pumpe (L6200A), Autosampler (AS2000A), Säulenofen (L5025) und RI-Detector (Erma ERC 7512)

Aminex HPLC Säule HPX-87H

Durchführung:

Nanofiltrationspermeatproben werden 1:5 verdünnt und ohne weitere Vorbehandlung verwendet. Proben ursprünglichen Saftes oder Retentate werden zentrifugiert. Der Überstand wird ohne weitere Vorbehandlung 1:50 verdünnt und verwendet. Die Trennung erfolgt mittels eines isokratischen Eluenten (5 mmol H₂SO₄) bei 70 °C und 0,7 mL/min (Abb. 13).

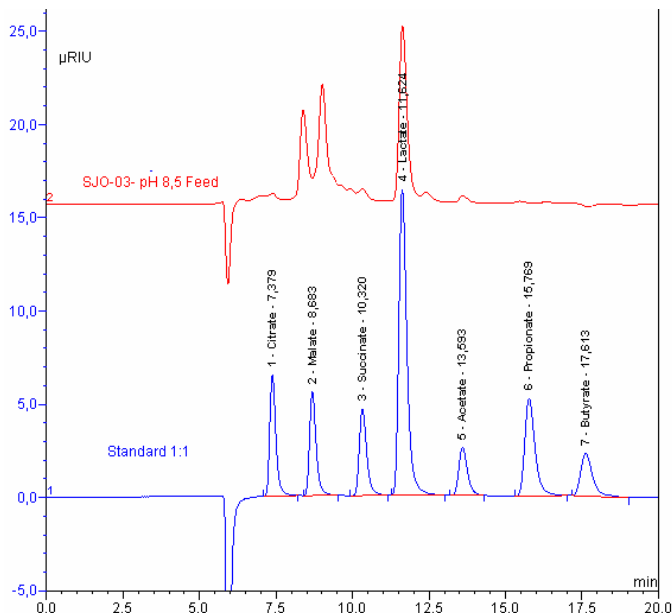


Abb. 13 Chromatogramm einer Silagesaftprobe (oben) und eines Standards (org. Säuren)

4.2 Säfte

In den Jahren 2001 und 2002 sind im Rahmen österreichischer Bioraffinerieprojekte Ertragsuntersuchungen zu einzelnen Grünlandbewirtschaftungsformen durchgeführt worden.³ Die mechanische Fraktionierung⁴ führte je nach Ausgangsmaterial zu verschiedenen Silagesäften. Frisch geschnittenes Gras wurde am Feld liegend leicht angewelkt (Erhöhung des Trockenmasseanteils; 2001 auf rund 35 %, 2002 auf rund 25 %). Das angewelkte Gras wurde mit Hilfe einer in der Landwirtschaft üblichen Ballenwickelmaschine aufgerollt wobei das Blattmaterial mit einer Versuchsbakterienmischung (Stamm S3, IFA Tulln) bzw. einer kommerziellen Milchsäuremischung (Bonsilage, Fa. Schaumann) versetzt wurde. Die mit einer Plastikfolie abgedichteten Ballen wurden mindestens 4 Wochen gelagert.

Vor der Pressung wurden die Ballen geöffnet und das Gras gehäckselt. Der frische Saft wurde filtriert (300 µm), auf 4 °C gekühlt und eingefroren bzw. direkt verarbeitet.

Tab. 3 Eingesetzte Silagesäfte

	Abkürzung	Trocken- masse, [g/kg]	Asche, (Summe Ionen) [g/kg]	Rohprotein, [g/kg]	Zucker [g/L]	Milchsäure, [g/L]
Kleegras 2001, 1. Schnitt, Stamm IFA S3	KLG-01S1-IFAS3	195	51	42	82	57
Bastardraygras 2001, 3.Schnitt, Stamm IFAS3	BRG-01S3-IFAS3	118	32	32	15	33
Bastardraygras 2002, 1.Schnitt, Stamm BonS	BRG-01S2-BonS	88	21	32	16	27
Mischung KLG-01S1 und BRG-01S1, 1:2	SJO-01	141	37	44	36	47
SJO-01 Phosphatgefällt und zentrifugiert	SJP-01	160	45	42	36	47
BRG-01S2-BonS, Phosphatgefällt und zentrif.	SJP-02	102	27	33	16	27

Auffällig ist die Diskrepanz zwischen der Summe der einzelnen Bestandteile und der Gesamttrockenmasse. Dies lässt sich nur zum Teil durch Effekte beim Trocknen (Abspaltung von Wasser aus Zucker, Verdampfen von flüchtigen Säuren usw.) zurückzuführen. Grundsätzlich gilt aber, dass die ermittelte Trockenmasse ein Summenparameter zur Charakterisierung des Saftes ist und ausschließlich über die Methode definiert ist. Gut geeignet zur Charakterisierung des Saftes ist die Titrationskurve (siehe Abb. 14).

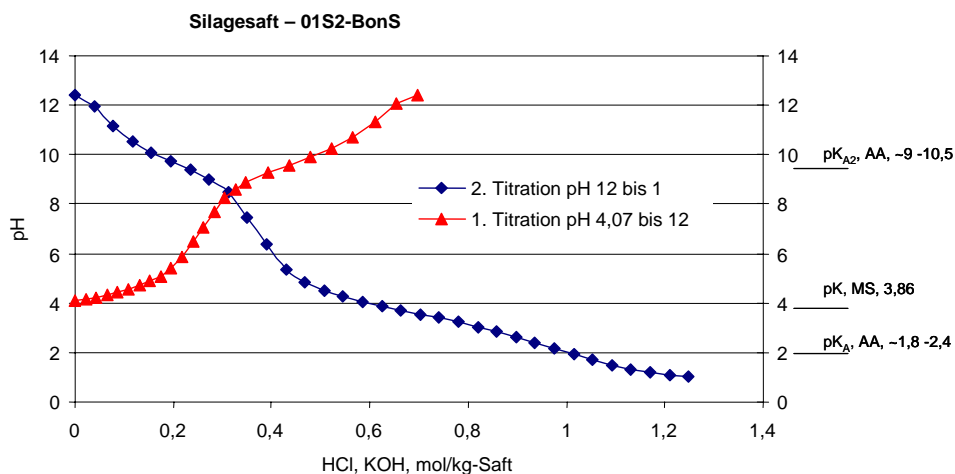


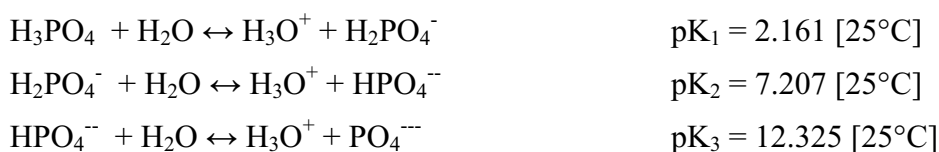
Abb. 14 Titrationskurve von Silagesaft

4.3 Vorbehandlung von Silagesaft - Phosphatfällung und Zentrifugation

Prinzip:

Membrananlagen z. B. Elektrodialyseanlagen sind empfindlich auf kristalline Ausfällungen. Insbesondere Phosphatsalze können auf Grund atypischer Löslichkeitseigenschaften (Verringerung der Löslichkeit mit steigender Temperatur) ein großes Problem darstellen [32]. Die Vorbehandlung dient also in erster Linie dazu den Phosphatgehalt zu verringern. Dies wird durch eine pH-Erhöhung auf pH 8,5 erreicht.

Die Orthophosphorsäure ist eine dreibasige mittelstarke Säure. Sie dissoziiert über 3 Stufen zum Phosphat:



Bei pH Werten über 7,2 liegt ein gewisser Teil des Phosphats als dreiwertiges Phosphat vor und bildet unlösliche Phosphatsalze. Aus der Literatur ist bekannt, dass bei ähnlichen Applikationen ein pH Wert von 8,5 zu ausreichend effizienter Fällung führt [46].

Geräte und Hilfsmittel:

Tischzentrifuge Megafuge 1.0 R (Kendro, 6000g bei 6000Upm)

Großtechnischer Separator Westfalia K6

Vakuumtrockenschrank, VD53, WTB Binder

Kaliumhydroxid p.A. in Pelletform

pH-Meter Metrohm 744, Magnetrührer

Durchführung:

1 L Silagesaft (SJO-01) wurde mit festem KOH-Pellets versetzt bis pH 8,5 erreicht wurde.

Je 2 mal 30 g Silagesaft (SJO-01) wurden in ein 50 mL Zentrifugenröhrchen gefüllt und in der Tischzentrifuge bei unterschiedlicher Drehzahl (3000, 6000 Upm) und Dauer (2, 4, 8, 16 Minuten) zentrifugiert. Der Überstand wurde abdekantiert und analysiert. Das Zentrifugenröhrchen mit dem festen Pellet wurde im Vakuumtrockenschrank bei 60 °C getrocknet um die Pelletrockenmasse zu bestimmen.

Zur großtechnischen Durchführung bzw. zur Gewinnung des Versuchsmaterials für die Nanofiltration wurden 40 Liter BRG-01S3-IFAS3 und 20 Liter KLG-01S1-IFAS3 vermischt. Durch Zugabe von KOH-Pellets wurde der pH-Wert auf 8,5 angehoben. Nach 30 Minuten Reaktionszeit wurde der Saft mit 5 L/min durch den Westfalia K6 Separator geschickt. Insgesamt wurden 56 Liter klarer Silagesaft gewonnen.

4.4 Nanofiltration, Feinultrafiltration

Allgemein

Wie die Ultrafiltration ist auch die Nanofiltration ein druckgetriebenes Membranverfahren. Neben Größenausschlusseffekten spielen aber auch Rückhaltungseffekte beruhend auf die Ladung des gelösten Stoffes und der Membranoberfläche als zusätzlicher Effekte eine Rolle.

Die Nanofiltration von Silagesäften ist gezeichnet durch hohe Konzentrationen von anorganischen und organischen Salzen. Die zu erwartenden osmotischen Drücke, bedingt durch eine teilweise Rückhaltung der Salze, reduzieren den Nettodruck als Triebkraft des Transports durch die Membran. Der Druck muss also im Vergleich zur Ultrafiltration wesentlich erhöht werden. Der Osmotische Druck von idealen Flüssigkeiten errechnet sich über folgende Beziehung.

$$\pi = \sum z_i * \frac{(c_{mi} - c_{pi})}{M_i} * R * T \quad (1)$$

π osmotischer Druck [kPa]

z Ladungszahl der Komponente i, [-]

c_{mi} ... Konzentration der Komponente i an der Membraninnenseite, [g/L]

c_{pi} ... Konzentration im Permeat, [g/L]

M_i ... molare Masse der Komponente i, [g/mol]

R allgemeine Gaskonstante, [8,314 J/K mol]

T Temperatur, [K]

Für einen Konzentrationsdifferenz von 0,2 mol Kaliumlactat (~26 g/L) ergibt sich nach obiger Formel ein osmotischer Druck 954 kpa (9,54 bar). Der tatsächliche osmotische Druck lässt sich nur schwer bestimmen und ist auch von den dynamischen Strömungszuständen (Konzentration an der Membran) abhängig.

Allgemein gilt für die Crossflow Filtration:

$$J = A * (\Delta p_{TM} - \Delta \pi) \quad (2)$$

J Permeatfluss, [L/hm²]

A Permeabilität [L/hm²bar]

Δp_{TM} ... Transmembrandruckdifferenz, [bar]

$\Delta \pi$ osmotischer Druckdifferenz [bar]

Die Permeabilität kann „Systemkonstante“ aufgefasst werden. Sie ist von Medieneigenschaften (Viskosität...) und Membraneigenschaften abhängig.

In der Praxis ist der gemessene Fluss von Bedeutung. Zur Charakterisierung der Membranleistung wird der Permeatfluss bei gegebenem Druck und Temperatur entlang der Zeitachse in einem Fluss/Zeitdiagramm dargestellt. Der Fluss ergibt sich aus Formel (3).

$$J = \frac{\Delta V}{\Delta t * A_M} \quad (3)$$

J..... Permeatfluss, [L/hm²]

ΔV Volumenänderung des gemessenen Permeates im Zeitintervall, [L]

Δt ... Zeitintervall, [h]

A_M .. aktive Membranfläche [m²]

Das gemessene Zeitintervall beträgt je nach Permeatfluss 10/20/30 Minuten. Das Permeat wird einem Messzylinder aufgefangen.

Eine zweite Darstellungsart ist die Beschreibung des Flusses in Abhängigkeit des Volumenkonzentrationsfaktors (VCF). Bei einem Batchversuch ergibt sich der Volumenkonzentrationsfaktor aus Formel (4):

$$VCF(t) = \frac{V_F}{V_F - V_P(t)} \quad (4)$$

VCF(t) Volumenkonzentrationsfaktor, [-]

V_F Feedvolumen am Anfang des Experiments, [L]

$V_{P(0)}$.. Permeatvolumen, [L]

Von spezieller Bedeutung ist die Permeabilität bei der Filtration von Wasser. Wird reines Wasser (deionisiertes Wasser - Umkehrosmosewasser) als Medium verwendet so fällt der osmotische Druck weg und die Permeabilität für reines Wasser (Pure Water Permeability - PWP) kann aus dem gemessenen Fluss errechnet werden.

$$PWP = \frac{J}{p} \quad (5)$$

PWP... Pure Water Permeability [L/hm²bar]

J..... Permeatfluss, [L/hm²]

p... Druck feedseitig/Transmembrandruck, (p Permeat sei Null), [bar]

Die Veränderung der PWP nach Filtration von Silagesaft wird laufend beobachtet und ist ein Maß für das irreversible Fouling der Membran bei der vorhandenen Anwendung. Der PWP nach den einzelnen Versuchen wird ermittelt und mit dem anfänglichen PWP-Wert in Relation gesetzt. Das Verhältnis zwischen erstem PWP und PWP nach einer Anwendung wird relativer Flux genannt, nach Formel xy berechnet, und ist im Idealfall Eins.

$$RF = \frac{PWP_a}{PWP_b} \quad (6)$$

RF... relativer Fluss, [-]

PWP_b ... Pure Water Permeability "before" [L/hm²bar]

PWP_a ... Pure Water Permeability "after" – nach der Anwendung [L/hm²bar]

Die Rückhaltung eines Stoffes durch die Membran errechnet sich nach Formel xy.

$$R = \frac{c_F - c_P}{c_F} * 100 \quad (7)$$

R... Rückhaltung, [%]

c_P... Konzentration des Stoffes feedseitig [g/L]

c_F... Konzentration des Stoffes permeatseitig [g/L]

Bei den Versuchen in der Nanofiltrationszelle wurde als c_F die Anfangskonzentration vor Beginn der Filtration eingesetzt. Als c_P wurde die Konzentration des gesamten gesammelten Permeats verwendet. In allen übrigen Fällen gilt: c_F und c_P sind die jeweiligen Konzentration zu dem Zeitpunkt der Probenentnahme (Formel xy) wobei die Permeatprobe direkt aus dem Permeatabfluss des Membranmoduls entnommen wird. Um unkorrekte Vergleiche zu verhindern ist bei der Angabe der Retention (Rückhaltung) der Fluss J der jeweiligen Messung anzugeben.

$$R(t)|_J = \frac{c_F(t) - c_P(t)}{c_F(t)} * 100 \quad (8)$$

R(t)_J... Rückhaltung zum Zeitpunkt t (Probenentnahmen) unter Angabe des Flusses J, [%]

c_P(t)... Konzentration des Stoffes feedseitig zum Zeitpunkt der Probenentnahme [g/L]

c_F(t)... Konzentration des Stoffes permeatseitig zum Zeitpunkt der Probenentnahme [g/L]

4.4.1 Membranen

Die eingesetzten Membranen unterscheiden sich nach allgemeinen Gesichtspunkten (siehe Tabelle) und nach Einsatzform (Flachmembran, Rohrmodul, Spiralmodul).

Tab. 4 Eingesetzte Membranen

Membran	nomineller MWCO, Da	Material	Einsatzbereich pH, Temp. in °C	Hersteller
Tami	1000	keramisch	0-14, >100°C	Tami
Inocermic	500	keramisch	0-14, >100°C	Inocermic
PES-10	1000	Polyethersulfon	0-14, 95 °C	Microdyn-Nadir
N30F	400	Polyethersulfon	0-14, 95 °C	Microdyn-Nadir
Desal 5DL	300	Polysulfon/Polyamid	1-11,5 °C	Osmonics, GE
MPF34	300	-	0-14, 70°C	Koch
MPF36	1000	-	1-13, 70 °C	Koch
PES004H	4000	Polyethersulfon	0-14, 95 °C	Microdyn-Nadir
C005	5000	Cellulose	1-11, 55°C	Microdyn-Nadir

Die keramische Membran der Fa. Tami (D) ist ein Rohrmodul mit 23 Kanälen (&~3,5 mm) und erfordert dementsprechend einen Versuchsaufbau mit hohen Pumpströmen. Das keramische Membranmodul von Inocermic hat einen Kanal mit 7 mm Durchmesser. Die Membran PES-10 wird einerseits als Flachmembran in der Rührzelle (4.4.2) und andererseits als Spiralmodul (4.4.5) eingesetzt. Dabei handelt es sich um die gleiche Membran die im ersteren Fall zusammen mit Spacern und einer undurchlässigen Zwischenfolie um ein Permeatsammelrohr gewickelt ist (siehe Abb. 15). Die übrigen Membranen werden als Flachmembranen eingesetzt wobei die großtechnische Anwendung als Spiralmodul gedacht ist.

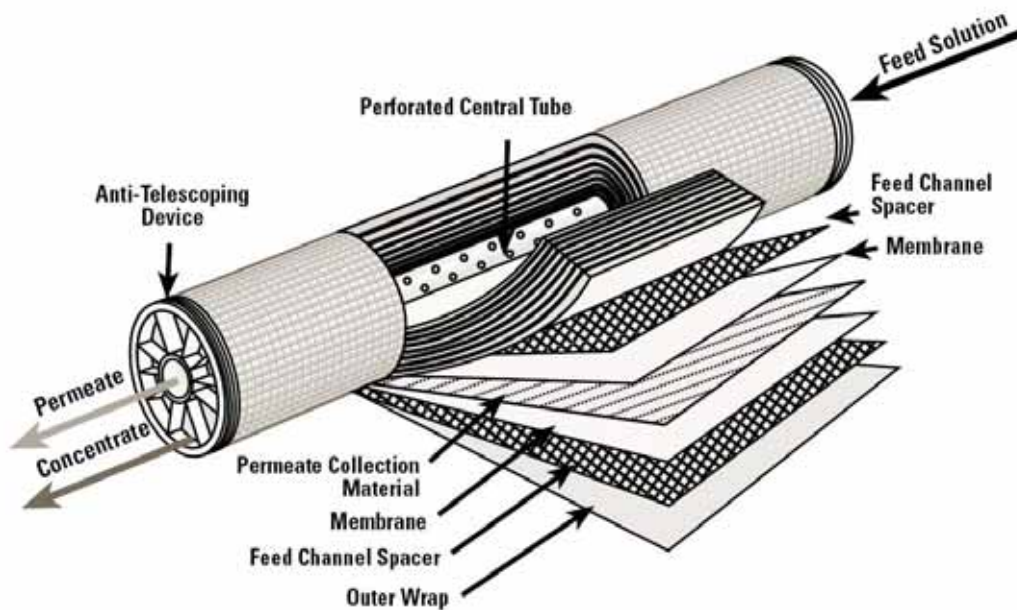


Abb. 15 Spiralmodul [32]

4.4.2 Nanofiltrationszelle – Versuchsaufbau A

Prinzip:

Zum Testen der einzelnen (Flach)-Membranen wurde eine Hochdruckrührzelle aus Edelstahl verwendet. Im Wesentlichen besteht sie aus einem nach oben und unten offenen Edelstahlhohlzylinder mit einem Fassungsvermögen von 1,8 L. Der obere Verschluss mit integrierter Kühl- bzw. Heizschlange wird mit dem Zylinder verschraubt. Der untere Abschluss besteht aus einem Topf in dem eine poröse Metallscheibe permeatseitig eingelegt wird. Die Membran wird entsprechend der porösen Metallscheibe zugeschnitten und mit der Trennschicht nach oben eingesetzt. Zylinder und Topf werden mit einer massiven Spange zusammengespannt. Im Zylinder befindet sich ein drehbar fixierter Magnetstab. Die gesamte Apparatur steht auf einem Magnetrührer mit einstellbarer Drehzahl des rotierenden Magnetfelds das den Magnetstab in Rotation versetzt (Abb. 16). Die durch den rotierenden Stab erzeugten Strömungsverhältnisse sollen die Verhältnisse in einem Wickelmodul, betrieben im Cross-Flow Modus, simulieren.

Die eingesetzten Membranen sind organische Flachmembranen die bei großtechnischem Einsatz in Spiralmodulen zusammen mit Spacern aufgewickelt werden.

Der retentatseitige Druck wird durch eine angeschlossene Stickstoffflasche erzeugt und ist die treibende Kraft um Lösungsmittel und Solut entgegen eines Konzentrationsgradienten zu transportieren. Der Permeatvolumenfluss wird periodisch gemessen.

Geräte und Hilfsmittel:

Nanofiltrationszelle

Membran (effektive Membranfläche: 0,0152 m²)

Stickstoff

Silagesaft

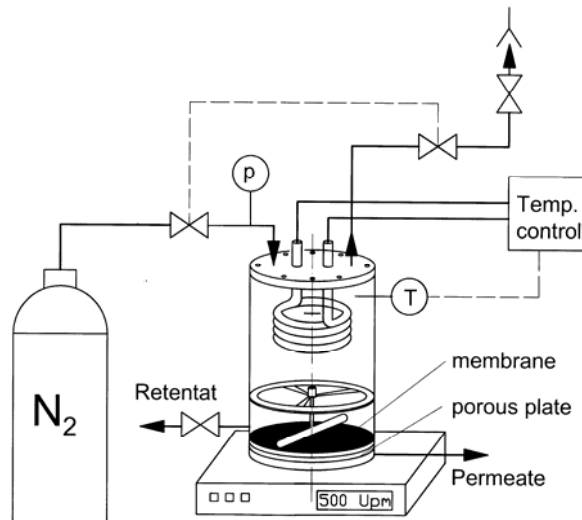


Abb. 16 Nanofiltrationszelle

Durchführung - Messung Pure Water Permeabilität (PWP):

Die fabriksneue Membran wird in die Zelle eingespannt und der Zylinder mit deionisiertem Wasser befüllt. Nach Verschrauben des oberen Verschlusses wird der Magnetrührer eingeschaltet und auf 500 Upm eingestellt und der Druck allmählich erhöht. Nach

Einstellung des Arbeitsdrucks und der Arbeitstemperatur wird der Permeatfluss über den Zeitraum von einer Stunde gemessen. Nach Erreichen eines konstanten Flusses wird aus Druck, Permeatfluss und Membranfläche errechnet. Nach den eigentlichen Versuchen und der Reinigung wird die PWP-Messung mit gleichem Prozedere wiederholt.

Durchführung – Messung des Fluxverlaufs, Filtration von Silagesaft:

Die mit Wasser benetzte Membran und die im Permeatraum mit Wasser befüllte Zelle wird feedseitig mit 1 L Silagesaft befüllt. Nach Verschließen der Zelle wird die Drehzahl auf 500 Upm eingestellt und der Druck langsam bis zum Arbeitsdruck erhöht. Nach Verwerfen der ersten 30 mL wird das Permeat in einem Messzylinder aufgefangen. Der Permeatfluss errechnet sich aus Membranfläche und zeitliche Zunahme des gesammelten Permeatvolumens. Bei Erreichen eines VCF von 1,33, 2 und 4 wird eine Permeatprobe entnommen wobei zwischen „Punkt“- und „Gesamt“-Probe unterschieden wird. Die Punktprobe entspricht dem zu einem Zeitpunkt direkt entnommenem Permeat während die Gesamtprobe dem gesamten bis zu einem Zeitpunkt gesammelten Permeat entspricht. Die für den Membranvergleich relevante Rückhaltung wird aus der Feedkonzentration und Permeatkonzentration (Gesamtprobe bei Erhalt von 750 mL Permeat; 720 mL+30 mL) nach Formel xy errechnet.

Tab. 5 Durchgeführte Versuche mit der Testzelle

Lauf	Membran	Feed	Druck, [bar]	Temperatur, [°C]	VCF bei Probenentnahme	Reinigung	Druck bei PWP-Messung
TZ-1	PES-10	SJP-01	35	22	1,05/1,33/2/4/6	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-2	PES-10	SJP-01	35	22	1,05/1,33/2/4	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-3	PES-10	SJP-01	25	22	4	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-4	PES-10	SJP-01	15	22	4	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-5	PES-10	SJP-01	5	22	4	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-6	PES-10	SJP-01	15	45	4	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-7	PES-10	SJP-01 mit HCl auf pH2 gebracht	35	22	~1,2	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-8	PES-10	SJP-01 mit HCl auf pH2 gebracht, 1:2 verdünnt	35	22	1,33/2/4	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-9	PES-10	BRG-01S2-BonS	15	22	1,33	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-10	PES-10	SJP-02	15	22	4	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-11	PES-004H	SJP-01	7	22	1,05/1,33/2/4	pH14, 50 °C	2 bar
TZ-12	PES-004H	SJP-01	7	22	1,05/1,33/2/5	pH14, 50 °C	2 bar
TZ-13	PES-004H	SJP-01	5	22	4	pH14, 50 °C	2 bar
TZ-14	PES-004H	SJP-01	3	22	4	pH14, 50 °C	2 bar
TZ-15	PES-004H	SJP-01	3	45	4	pH14, 50 °C	2 bar
TZ-16	N30F	SJP-01	35	22	1,33/2/3,3	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-17	MPF36	SJP-01	35	22	1,33/2/4	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-18	MPF36	SJP-01	35	22	1,33/2/4	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-19	C005F	SJP-01	7	22	1,33/2/4	pH12, 50 °C	2 bar
TZ-20	C005F	SJP-01	1	22	1,33/2/4	Wasser	2 bar
TZ-21	MPF34	Permeat von TZ-1	50	22	1,33/2	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-22	MPF34	Permeat von TZ-1, 1:2 verd.	50	22	1,33/2/3,41	pH14, 50 °C	10 bar
TZ-23	Desal 5DL	Permeat von TZ-1, 1:2 verd.	50	22	1,33/2/4	pH12, 50 °C	10 bar
TZ-24	Desal 5DL	BRG-01S2-BonS	15	22	1,1	Wasser	10 bar
TZ-25	Desal 5DL	BRG-01S2-BonS	25	22	1,25	Wasser	10 bar
TZ-26	Desal 5DL	BRG-01S2-BonS	35	22	1,33/2/2,87	Wasser	10 bar
TZ-27	Desal 5DL	BRG-01S2-BonS, Tamir 4kD	35	22	1,33/2/3- 2	Wasser	10 bar

Durchführung - Membranreinigung:

Auf Grund der komplexen Matrix des eingesetzten Feeds ist mit starken Fluxverringierungen durch Beläge unterschiedlichster Matrixbestandteile zu rechnen. Um einen berechenbaren Betrieb über mehrere Monate zu gewährleisten werden größtenteils chemisch beständige Membranen eingesetzt welche mit starker Lauge zu reinigen sind.

Chemisch beständige Membranen (PES-10, PES004H, N30F, MPF36, MPF34) werden mit 0,5 molarer Natronlauge 30 Minuten bei 50°C gereinigt.

Die Membranen C005F (Cellulose) und Desal 5DL (Polypiperazine?) mit stark hydrophilen Charakter werden mit 0,01 molarer Natronlauge 30 Minuten bei 50 °C gereinigt. Danach wird die Zelle exzessive mit deionisiertem Wasser gespült bis pH 8 erreicht ist. Im Anschluss folgt die Bestimmung der PWP.

Wird trotz exzessiver Reinigung die anfängliche PWP nicht zu 50 % erreicht erfolgt eine zusätzliche Reinigung mit verdünnter Salpetersäure.

4.4.3 Ultrafiltrationsanlage – Versuchsaufbau B

Prinzip:

Das zu filtrierende Medium wird mittels einer Rotationskolbenpumpe mit entsprechender Strömungsgeschwindigkeit durch ein Rohrmodul (quer zur Filterfläche/Zylindermantel – „Cross Flow“) gepumpt (Abb. 17). Zur Erreichung des Arbeitsdrucks wird durch ein Drosselventil ein Druckgefälle aufgebaut was zu einer starken Erwärmung des Mediums führt und einen Wärmetauscher zur Temperaturstabilisierung notwendig macht. Der Permeatfluss zusammen mit dem VCF, Druck und Temperatur aufgezeichnet.

Geräte und Hilfsmittel:

Ultrafiltrationsanlage

Membran, Tami 1kD, 26 Kanal, 0,35 m², 860 L/h für 1 m/s

Membranhäuse

Natronlauge



- FI... Durchflussmesser
- PI... Manometer
- TI... Temperatursensor
- M... Membranmodul
- WT... Wärmetauscher
- K... Kühlaggregat
- D... Drossel
- V_F... Feedvolumen
- V_R... Retentatvolumen

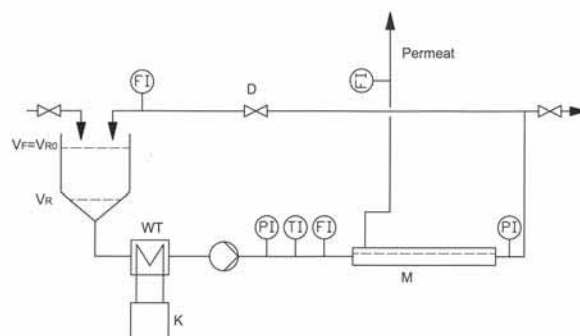


Abb. 17 Ultrafiltrationsanlage

Durchführung - Messung Pure Water Permeabilität (PWP)/allgemeiner Versuchsaufbau:

Die mit Natronlauge (pH 14, 75°C) und Salpetersäure gereinigte Membran ist in einem Edelstahlgehäuse eingespannt und in den Pumpkreislauf eingebunden. Die PWP wird bei einem Transmembrandruck von 2 bar einer Überströmgeschwindigkeit von 2 m/s und einer Temperatur von 20°C mit RO Wasser ermittelt.

Durchführung – Messung des Fluxverlaufs, Filtration von Silagesaft:

Die Anlage wird mit 9,1 L Silagesaft (SJP-01) befüllt. Durch allmähliches Anpassen von Pumpstrom und Drosselventileinstellung wird der Arbeitspunkt (Transmembrandruck 7 bar, 3 m/s) erreicht. Das bis dahin rückgeführte Permeat wird nun gesammelt. Der Permeatfluss wird durch kontinuierliches Messen des Permeatvolumens bestimmt und errechnet sich aus Permeatfläche und zeitliche Veränderung des Permeatvolumens nach Formel xy. Bei Erreichen eines VCF von 1,33/2/4 werden Permeatproben entnommen. Der Versuch endet bei einem VCF von 4 (6,8 L Permeat). Die zum Vergleich heranzuziehende Rückhaltung errechnet sich aus den Konzentrationen im Feed und Gesamtpermeat.

Durchführung - Membranreinigung:

Die Membran wird mit 0,5 molarer Natronlauge 30 Minuten bei 50°C gereinigt. Danach wird die Zelle exzessive mit deionisiertem Wasser gespült bis pH 8 erreicht ist. Im Anschluss folgt die Bestimmung der PWP.

Wird trotz exzessiver Reinigung die anfängliche PWP nicht zu 50 % erreicht erfolgt eine zusätzliche Reinigung mit verdünnter Salpetersäure.

Tab. 6 Durchgeführte Versuche – Ultrafiltrationsanlage

Lauf	Membran	Feed	Druck, [bar]	Temperatur, [°C]	VCF bei Probenentnahme	Reinigung	Druck bei PWP-Messung
UF-1	Tami 1kD	SJP-01	7	22	1,05/1,33/2/4	pH14, 50 °C	2 bar

4.4.4 Ultrafiltrationsanlage 2 – Versuchsaufbau C

Prinzip: - wie bei Versuchsaufbau B

Geräte und Hilfsmittel:

Ultrafiltrationsanlage

Membran, Inocermic, 1 Kanal (7 mm)

Membrangehäuse (Eigenbau)

Natronlauge

Durchführung - Messung Pure Water Permeabilität (PWP)/allgemeiner Versuchsaufbau: - wie Versuchsaufbau B

Durchführung – Messung des Fluxverlaufs, Filtration von Silagesaft:

Die Anlage wird mit 6 L Silagesaft (SJP-01) befüllt. Durch allmähliches Anpassen von Pumpstrom und Drosselventileinstellung wird der Arbeitspunkt (Transmembrandruck 7 bar, 3 m/s) erreicht. Das bis dahin rückgeführte Permeat wird nun gesammelt. Der Permeatfluss wird durch kontinuierliches Messen des Permeatvolumens bestimmt und errechnet sich aus Permeatfläche und zeitliche Veränderung des Permeatvolumens. Bei Erreichen eines VCF von 1,33/2/4 werden Permeatproben entnommen. Der Versuch endet bei einem VCF von 4 (4,5 L Permeat). Die zum Vergleich heranzuziehende Rückhaltung errechnet sich aus den Konzentrationen im Feed und Gesamtpermeat.

Durchführung - Membranreinigung:

Die Membran wird mit 0,5 molarer Natronlauge 30 Minuten bei 50°C gereinigt. Danach wird die Zelle exzessive mit deionisiertem Wasser gespült bis pH 8 erreicht ist. Im Anschluss folgt die Bestimmung der PWP.

Wird trotz exzessiver Reinigung die anfängliche PWP nicht zu 50 % erreicht erfolgt eine zusätzliche Reinigung mit verdünnter Salpetersäure.

Tab. 7 Durchgeführte Versuche – Ultrafiltrationsanlage

Lauf	Membran	Feed	Druck, [bar]	Temperatur, [°C]	VCF bei Probenentnahme	Reinigung	Druck bei PWP-Messung
UF-2	Inocermic	SJP-01	7	22	1,05/1,33/2/5	pH14, 50 °C	2 bar

4.4.5 Nanofiltrationsanlage – Versuchsaufbau D

Prinzip: Zur Nanofiltration von Silagesaft im Technikumsmaßstab wurde ein industrielles Wickelmodul eingesetzt. In einem inneren Kreislauf wird das zu filternde Feed (Silagesaft) mit dem für das Modul notwendigen Pumpstrom bei einem Betriebsdruck umgewälzt (Abb. 18). Durch eine zusätzliche Pumpe, die Feed mit geringerem Pumpstrom aus einem Reservoir unter Überwindung der Druckdifferenz (Betriebsdruck-Luftdruck) in den inneren Kreislauf pumpt, wird ein Austausch zwischen den zwei Kreisläufen gewährleistet. Trotzdem kommt es zu einer geringeren Konzentrationserhöhung im inneren Kreislauf die mit zunehmendem Verhältnis Dosierstrom/Permeatstrom abnimmt. Der Betriebsdruck wird durch Dosierpumpstrom und Ventileinstellung des rückführenden Stroms (vom inneren Kreislauf zum Reservoir) geregelt. Durch einen internen Wärmetauscher wird die Arbeitstemperatur konstant gehalten.

Geräte und Hilfsmittel:

Nanofiltrationsanlage inkl. PC-Steuerung

Membran, PES-10 OX- 2420, 44 mill Diamant Spacer, 1,6 m²

Membrangehäuse aus Edelstahl

Natronlauge

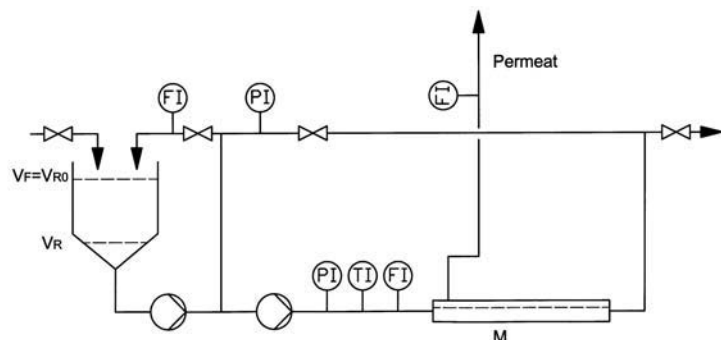


Abb. 18 Technikumsnanofiltrationsanlage, „Feed and Bleed Modus“

Durchführung - Messung Pure Water Permeabilität (PWP)/allgemeiner Versuchsaufbau: Die mit Natronlauge (pH12) gereinigte und mit Wasser gespülte Membran ist in einem Edelstahlgehäuse eingespannt und wie in Fig. 18 abgebildet in den Pumpkreislauf eingebunden. Die PWP wird bei einem Transmembrandruck von 10 bar einer Überströmgeschwindigkeit von 2 m/s und einer Temperatur von 20°C mit RO Wasser ermittelt.

Durchführung - Membranreinigung:

Danach wird die Zelle exzessive mit deionisiertem Wasser gespült bis pH 8 erreicht ist. Im Anschluss folgt die Bestimmung der PWP.

Durchführung – Messung des Fluxverlaufs, Filtration von Silagesaft:

Die Anlage wird mit 54 L Silagesaft (SJP-02) befüllt. Durch allmähliches Anpassen von Pumpstrom und Drosselventileinstellung wird der Arbeitspunkt (Transmembrandruck 9,0 bis 10,5 bar, 2500 L/h innerer Kreislauf, 200 L/h Dosierpumpe) erreicht. Das bis dahin rückgeführte Permeat wird nun gesammelt. Der Permeatfluss wird durch kontinuierliches Messen des Permeatvolumens bestimmt und errechnet sich aus Permeatfläche und zeitliche Veränderung des Permeatvolumens nach Formel xy . Bei einem VCF von 1,33/2/4/6 werden Permeat – bzw. Retentatproben entnommen. Bei Erreichen von VCF=6 werden 9 Liter RO-Wasser in den Reservoirtank eingefüllt und die Anlage wird 10 Minuten unter Rückführung des Permeats im Kreis gefahren. Nach Erreichen einer ausreichenden Durchmischung wurde der Permeatfluss wieder ausgeleitet – Beginn Diafiltration 1. Nun wurde wieder aufkonzentriert bis 9 Liter Permeat (Permeat DF-1) erhalten wurden. Anschließend wurde bei konstant gehaltenen Volumenstand im Reservoir (Zugabe weiteren Diafiltrationswassers äquivalent zum abfließenden Permeat) weiterfiltriert. Nachdem wiederum 9 L Permeat (Permeat DF-2) erhalten wurden, wurde der Versuch gestoppt. Permeat DF-1 und Permeat DF-2 wurden nun aus den gesammelten 9 Litern Diafiltrationsvolumen entnommen. Die im weitem Text als Retentat und Permeat benannten Proben bezeichnen jeweils Proben entnommen direkt aus dem Permeatstrom bzw. Retentat aus dem inneren Kreislauf.

Durchführung – Fluxverlauf und PWP - Filtration von Silagesaft nach einem und mehreren Filtrations bzw. Reinigungsdurchläufen :

16 Liter Silagesaft (SJP-02) werden bis VCF=2 aufkonzentriert, danach wird der Permeatfluss in den Reservoirtank rückgeführt und bei konstanten Konzentrationen filtriert. Der Permeatflussverlauf wird unter konstanten Bedingungen über einen Zeitraum von 3 Stunden aufgezeichnet. Danach wird die Anlage entleert und mit Wasser gespült. Die PWP wird nun bei 20°C und 10 bar Transmembrandruck gemessen. Nach Erreichen eines konstanten Wasserflusses wird die Anlage mit 2 prozentiger Natronlage 30 Minuten bei 50 °C gereinigt. Nach der Reinigung und Spülung wird die PWP wiederum gemessen.

Der Vorgang wird an 2 aufeinanderfolgenden Tagen wiederholt und die Silagesaftpermeatflüsse sowie, die PWP nach Wasserspülung und Reinigung miteinander verglichen.

Tab. 8 Durchgeführte Versuche – Nanofiltration Technikum

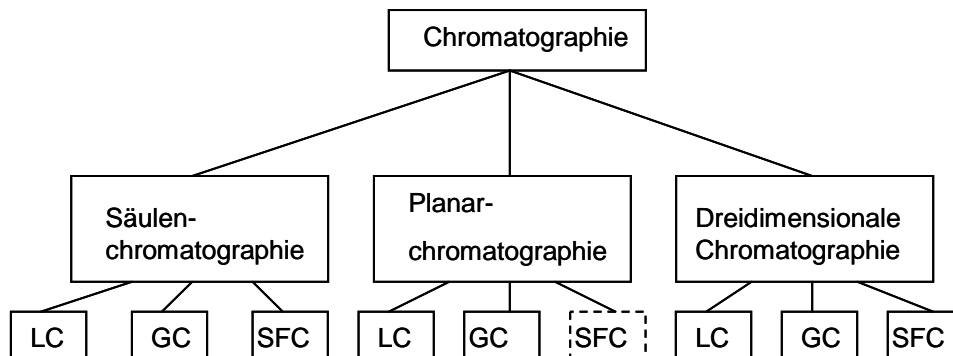
Lauf	Membran	Feed	Druck, [bar]	Temperatur, [°C]	VCF bei Probenentnahme	Reinigung	Druck bei PWP-Messung
NF-1	PES-10, SW	SJP-02	9-10,5	22	1,05/1,33/2/4/6/DF1/DF2	pH14, 50 °C	10 bar
NF-2	PES-10, SW	SJP-02	9-10,6	22	-	pH14, 50 °C	10 bar
NF-3	PES-10, SW	SJP-02	9-10,7	22	-	pH14, 50 °C	10 bar

4.5 Chromatographie

Allgemein:

Unter Chromatographie versteht man den Stofftransport durch ein für den Stoffaustausch selektives Zweiphasensystem, bewirkt durch Relativbewegung der Phasen. Eine Phase ist stets kompakt die andere fluid. (Eppert 1985) [36]

Die Anwendungsformen der Chromatographie sind vielfältig. Eine eindeutige Einteilung die von der gesamten Fachwelt akzeptiert wird wurde vom Autor nicht gefunden. Eppert (1997) versucht eine grobe Gliederung nach operativen Aufbau und mobiler (fluid) Phase – Abb. 19.



Systematik der Chromatographie, LC – Flüssigchromatographie, GC – Gaschromatographie, SFC – Superkritische Fluidchromatographie

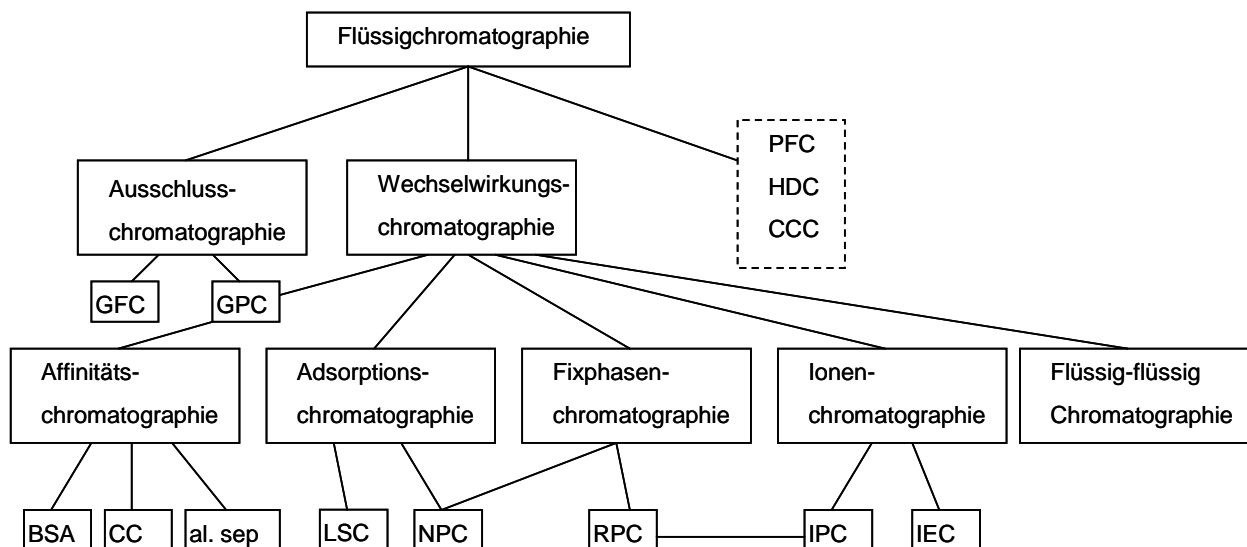


Abb 19 Zur Systematik der Chromatographie: BSA – Bioselektive Adsorptionschromatographie; CC – Kovalentchromatographie; CCC – Gegenstromchromatographie; GFC – Gelfiltrationschromatographie; GPC – Gelpermeationschromatographie; HDC – Hydrodynamische Chromatographie; IEC – Ionentauschchromatographie; IPC – Ionenpaarchromatographie; LSC – Flüssig-fest-Chromatographie; NPC – Normalphasenchromatographie; PFC – Perfusionschromatographie; RPC – Umkehrphasenchromatographie; al- sep. – sonstige Trennungen;

In dieser Arbeit werden im Analytikbereich die RPC (Aminosäuren, siehe 3.1.5) und die IEC (Mono- und Disaccharide, siehe 3.1.6, Kationen, Anionen siehe 3.17) angewendet. Die Zuordnung der Bestimmung organischer Säuren an einer Kationentauscher in der H⁺-Form ist nicht eindeutig. Vorherrschend sind Ionenausschluss- und Grössenausschlusseffekte. Durch diese zwei Mechanismen lässt sich eine Trennung zwischen Bernsteinsäure (Succinic acid), Milchsäure (Lactic acid) und Essigsäure (Acetic acid; siehe 3.1.8) erklären. Die zusätzliche Trennung von Propionsäure (ähnliche Molmasse wie Milchsäure) und Buttersäure lässt sich allerdings nur durch unterschiedliche Selektivitäten zu den 2 Phasen erklären. Der Hersteller der analytischen Säule spricht von Normalphasenverteilungs- und Umkehrphasenverteilungseffekten: „HPLC separations on Aminex resins use the mechanisms of ion exclusion, ion exchange, ligand exchange, size exclusion, reversed phase, and normal phase partitioning.“ [33]

Helferich [34] berichtet über verschiedene Wirkprinzipien welche den Verteilungskoeffizienten von Nichtelektrolyten in einem Lösungsmittel/Ionentauscherharz – System beeinflussen:

- *Siebwirkung*: Die mittlere Maschenweite von vollständig gequollenen Kunstharz Ionentauschern liegt etwa zwischen 0,6 und 3 nm. Da die Maschenweite nicht einheitlich ist, führt die Siebwirkung nicht zu scharfen Trenngrenzen. Bei hinreichend kleinen Molekülen können andere Effekte eine größere Rolle spielen.
- *Aussalzeffekt*: Der Austauschere enthält Festionen und Gegenionen die bestrebt sind, sich mit Solvathüllen zu umgeben. In den Poren liegt also nur ein Teil des Lösungsmittels in „freier“ Form vor. Der Nichtelektrolyt kann also ausgesalzt werden – ähnlich wie bei der Verteilung zwischen zwei flüssigen Phasen wenn der einen ein löslicher Elektrolyt zugesetzt wird.
- *Wechselwirkungskräfte* – Londonsche Kräfte: Entgegen dem Siebeffekt wächst die Affinität zur Austauscherphase mit dem Molekulargewicht eines organischen Moleküls. So kann Buttersäure nach Essigsäure eluieren (Fig. xy). Die Stärke der Wechselwirkung hängt vom molekularen Bau der Austauschermatrix und des gelösten Stoffes ab. Allgemein gilt. Bei ähnlicher Molekularstruktur starke Wechselwirkung.

Mit zunehmender Vernetzung wird die Ausschlussgrenze kleiner. Weitere Auswirkungen mit steigender Vernetzung: Aussalzeffekte und Wechselwirkungen nehmen durch erhöhte Konzentration von Matrix und Ionen (geringere Quellung bei erhöhter Vernetzung) zu.

Die Ionenausschlusschromatographie an Ionentauscherharzen des Gelytys in Kaliumform entspricht der analytischen Variante zur Bestimmung der organischen Säuren mit dem Unterschied, dass die funktionellen Gruppen des Harzes (Sulfongruppen SO₃⁻) mit dem Gegenion Kalium (an Stelle von H⁺) beladen sind. In beiden Fällen wird Polystyreneharz des Gelytys mit Divenylbenzen als Copolymer eingesetzt. Durch den Einbau von Sulfongruppen wird ein hydrophiler Charakter erreicht.

Zwischen den Konzentrationen eines Stoffes der in zwei nicht mischbaren, miteinander in Berührung befindlichen Flüssigkeiten (Phasen) gelöst ist, stellt sich ein Verteilungsgleichgewicht ein – die Differenz der chemischen Potentiale ist Null.

$$\mu_{i1} = \mu_{i1}^0 * RT \ln a_{i1}; \quad \mu_{i1} = \mu_{i1}^0 * RT \ln a_{i1} \Rightarrow \ln \frac{a_{i1}}{a_{i2}} = \frac{\mu_{i2}^0 - \mu_{i1}^0}{RT}; \quad \mu_{i1}^0 = \mu_{i2}^0$$

$$\frac{a_{i2}}{a_{i1}} = 1; \quad a = x * f \Rightarrow \frac{x_{i2} * f_{i2}}{x_{i1} * f_{i1}} = 1; \quad \text{unendl. verdünnte Lösung} : \frac{x_{i2}}{x_{i1}} = K_i^{th}, \quad \Delta G_i^0 = -RT \ln K_i^{th};$$

K_i^{th} Thermodyn. Gleichgewichtskonstante

- $\mu^{(0)}_{i1,2}$ Chemisches (Standard) Potential der Komponente i in Phase 1(fluid) bzw. 2 (stat.), []
 $a_{i1,2}$ Gleichgewichtsaktivitäten,
 f Fugazität ...Faktor für zusätzlichen Term welcher den Unterschied zwischen theoret. und realem chem. Potential berücksichtigt
 R Allgemeine Gaskonstante
 T Temperatur, [K]

In der Chromatographie ist es etwas „unkorrekt“ üblich, in Anlehnung an den thermodynamischen Verteilungskoeffizienten, eine Verteilungskonstante K_i der gelösten Komponente i zu definieren.

$$K_i = \frac{\text{Konzentration in der stationären Phase}}{\text{Konzentration in der mobilen Phase}} \quad (9)$$

In Anlehnung an die obige Herleitung müsste für K_i die Konzentration im Lösungsmittel des Kompartiment „feste Phase“ eingesetzt werden. In der Praxis hat sich aber eingebürgert die Konzentration in der festen Phase als Masse der Komponente i pro Harzvolumen (mal 1 für die Dichte des Lösungsmittel Wassers) oder Masse pro (getrocknete) Harzmasse einzusetzen.

Die Abhängigkeit der Verteilungskonstante von der Konzentration in der flüssigen Phase bei konstanter Temperatur wird „Verteilungsisotherme“ genannt und kann experimentell bestimmt werden. Überlagern sich die Verteilungsisothermen zweier Solute (unter Voraussetzung gleicher Bedingungen – Harz, Temp., Experimentdurchführung) so ist bei dem Überlagerungspunkt (Konzentration in fluiden Phase) praktisch keine Trennung möglich.

Im realen Fall der präparativen Chromatographie wird der Gleichgewichtszustand der Verteilungsisotherme meist nicht erreicht –es kommt zu einem verzögerten Massentransport zwischen den 2 Phasen (Abb. 20).

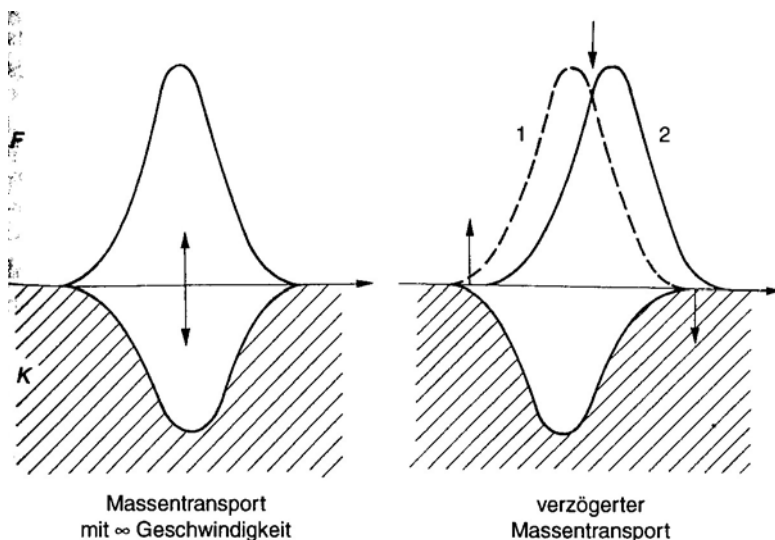


Abb. 20 Darstellung der Solut-Konzentration in flüssiger (F) und kompakter (K) Phase, links: unendlich langsame Relativgeschwindigkeit der Phasen, rechts: erhöhte Relativgeschwindigkeit – führt zur Peakverzerrung und Verbreiterung [35]

Neben der Wahl der für die Trennung zweier Solute geeigneten Phasen kann die präparative Trennung durch technische bzw. geometrische Parameter beeinflusst werden.

Der Massentransport zwischen fester und flüssiger Phase ist naturgemäß bei kleineren Harzpartikeln schneller.

Durch Wahl einheitlich großer sphärisch (monodisperser) Harzpartikel kann ein einheitlich verzögerter Massentransport und somit eine geringere Peakverzerrung erreicht werden.

Bei gleichem Phasensystem (identisches Harzmaterial und Harzpartikelgeometrie) führt eine längere Säule zu einer – unter der Bedingung konstanten Säulendurchmessers und konstantem Verhältnis Probenvolumen zu Bettvolumen – besseren Trennung der zwei Solute. Anders ausgedrückt: Wird das Verhältnis Peakbreite zu Partikeldurchmesser - bei gleichbleibenden sonstigen geometrischer Verhältnissen - vergrößert so wirkt sich das positiv auf die Trennung aus.

Für die Flüssigkeits-Säulen-Chromatographie, gelten folgende Parameter wie sie an Hand von Abb. 21 erklärt werden:

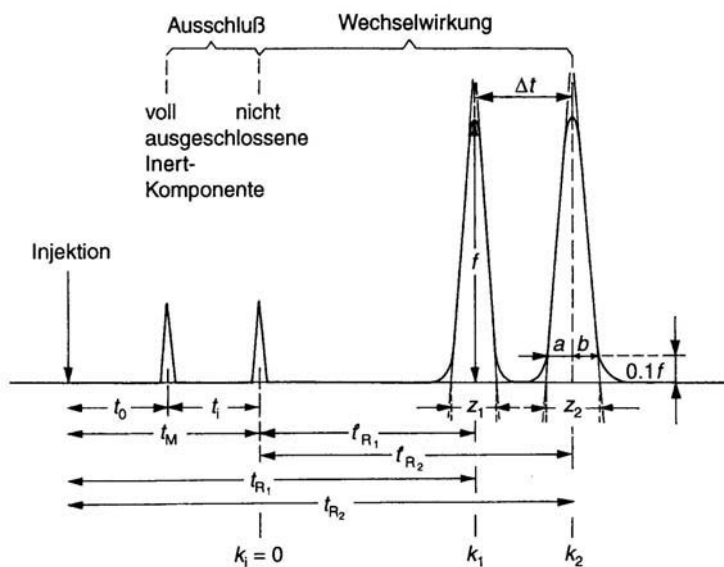


Abb. 21 Ermittlung der Chromatogrammparameter nach Eppert [36]

- t_0 Ausschlusszeit. Mittlere Wanderungszeit hinreichend grosser inerter Moleküle die auf Grund ihrer Grösse nicht in das Porensystem der Kompaktphase eindringen können.
- t_M Leer-, Tot-, oder Mobilzeit. Mittlere Wanderungszeit einer Inertkomponente, die in alle (zugänglichen) Poren eindringen kann. – Im Fall der Ionenausschlusschromatographie mit Ionentauschern des Gelytys gibt es keine makroskopischen Poren. Der Siebeffekt bedingt durch das engmaschige Matrixnetz des Polymergemischs ist vorherrschend – t_M das zu Berechnung der Partikelporosität empirisch ermittelt wird hat keine Bedeutung. Es gilt $t_M = t_0$.
- t_{Ri} Bruttoretentionszeit des i-ten Peaks
- t_{Ri}' Nettoretentionszeit, effektive Retentionszeit, $t_{Ri}' = t_{Ri} - t_M$
- b, a Symmetrieparameter, benötigt zur praktischen Ermittlung der theoretischen Trennstufenhöhe
- k' Kapazitätsfaktor, Retentionskapazität, Massenverteilungsverhältnis... oft einfach als k' , engl.: [kei-pram] bezeichnet; $k' = \frac{t_{Ri}'}{t_M} = \frac{t_{Ri}}{t_0}$ (10)

k' lässt sich einfach empirisch für Einzelkomponenten ermitteln. Stark unterschiedliche Kapazitätsfaktoren zweier Solute lassen den Praktiker auf die praktisch mögliche Trennung schließen.

Problem des ungewollten Ionentausch in der Ionenausschlusschromatographie

Für eine Ionenausschlusschromatographie ist eine vorherrschende Ionenart über den gesamten Betriebszeitraum notwendig. Im Fall von zu trennenden Flüssigkeiten aus Naturstoffen ist die vorherrschende Kationenart oft Kalium (z.B. Melasse). Um einen ungewollten Ionentausch zu verhindern müssen Kationen mit höherer Affinität zu den Fixionen (SO_3^-) größtenteils entfernt werden. Für die Affinität zur Sulfongruppe als Fixion gilt folgende Reihung der Selektivitätskoeffizienten ($H^+=1$)

$\text{Li}^+ (0,79) - \text{H}^+ (1) - \text{Na}^+ (1,56) - \text{NH}_4^+ (2,01) - \text{K}^+ (2,28) - \text{Mg}^{++} (2,59) - \text{Ca}^{++} (4,06)$ [37]

Anwendungen der Ionenausschlusschromatographie

Die Ionenausschlusschromatographie ist bei der Trennung von Melasse im großtechnischen Einsatz. [38, 39, 40, 41, 42]. In großen Anlagen mit Säulenlängen von bis zu 20 m und Säulendurchmessern von bis zu 5 Metern erfolgen Trennung für Low Cost Producte [44].

Weitere großtechnische Anwendungen: Xylose aus Nebenströmen der Cellulosegewinnung aus Holz (auch in Lenzing wird eine solche Anlage von der Finisch/Dänischen Danisco betrieben). [43]

In einer Dissertation an der Univ. Bodenkultur wurde die Ionenausschlusschromatographie zur Gewinnung von freier Milchsäure untersucht [45].

4.5.1 Ionenausschlusschromatographie an Kalium beladenen

Ionentauschern des Geltyps

Prinzip:

Zur Trennung von Milchsäure und Aminosäuren wird Silgasaft über eine Säule, gefüllt mit Ionentauscherharz (starker Kationentauscher, Geltyp, Kaliumform), geleitet und mit Wasser eluiert. Am Säulenende wird das Gemisch aus Eluat und Silgasaft mittel UV, RI, Leitfähigkeits- und pH-Detektor online beobachtet und in Fraktion aufgefangen die mittels HPLC auf verschiedenen Inhaltstoffe untersucht werden.

Geräte und Hilfsmittel:

Chromatographieanlage I, analytische HPLC-Anlage Dionex-Summit bestehend aus Pumpe (P680), programmierbaren Autosampler (ASI100), Säulenofen (STH-5885), RI-Detektor, Photodiodenarray-Detektor (PDA) und analytische Säule Aminex HPX-87K.

Chromatographieanlage II (siehe Abb. 22) bestehend aus Doppelkolbenpumpe, Mixer, Injektionseinheit, Säule (25*2000 mm) und Detektoren (RI, UV, pH, RI)

Chromatographieanlage III (Äkta), Säule (12,5*600 mm)

Wasserbad zur Temperierung des Eluenten und der Säule

Silagesaft (Permeat aus Versuchsaufbau A, TZ-2)

Kationentauscherharze, Geltyp 6 bis 8% DVB: Mitsubishi – UBK (220 µm) , DOW-99 (330 µm), DOW-50WX8 (70-140 µm), Purolite (20-40 µm)

Modellösung aus Kaliumlactat, Fructose, L-Asparagin, L-Alanin, L-Isoleucin, L-Phenylalanin Blue Dextran (500.000 Da) (überprüfen)

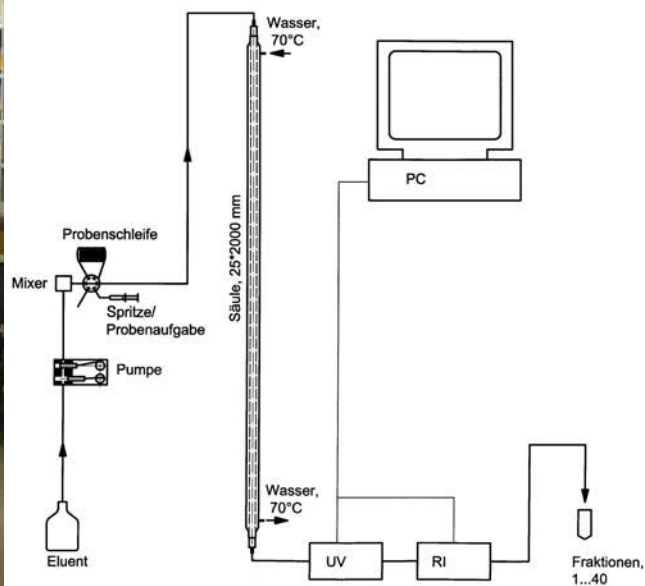


Abb. 22 Präparative Chromatographie

Tab. 9 Verwendete Kationentauscher des Geltyps

Akürzung	Bestellname	Handelsform	Partikel- durchmesser, [µm]	Copolymergehalt, %-DVB	Hersteller
Purolite -I	- (Prototyp)	Na	20-40	8%	Purolite (GB)
UBK530	UBK530	Na	~220, monodisp.	6-8 %	Resindion(I)/ Mitsubishi (J)
DOW99	Dowex Mono- sphere 99K/320	K	~320, monodisp.	6-8 %	DOW (USA)
50WX8	Dowex 50WX8, 100-200 mesh	Na/H	74-140	8%	DOW (USA)
Aminex	Aminex HPX-87K	K	9	8%	Biorad, (USA)

Modellösung

Modellösung	g/L
Kaliumlactat	154,3
Fructose	43,6
L-Asparagin	28,6
L-Alanin	28,6
L-Isoleucin	14,3
L-Phenylalanin	15,7

Durchführung – Bestimmung der Verteilungsisothermen :

50 g Dowex Monosphere 99 Harz (aus der Originalverpackung) wird mit 1 L HQ-Wasser vermischt. Nach 1 Stunde wird die Suspension über einen 0,4 µm Filter abfiltriert und mit weiteren 0,5 Litern gewaschen. Das Harz (je rund 2 g) wird nun in verschraubbare Glasröhrchen (10 mL) gefüllt und die eingewogene Menge mittel Feinwaage ermittelt. Die Glasröhrchen werden mit unterschiedlichen Mengen der Modellösung und Wasser befüllt und bei 60 °C über 20 h gelagert. Danach wird eine Probe des Überstandes in den Röhrchen entnommen und hinsichtlich Fructose und Aminosäuregehalt untersucht (siehe 2.1.6, 2.1.5). Parallel dazu wird die Trockenmasse des eingewogenen Harzes (siehe 2.1.1) bestimmt. Der Gehalt an Solute-Substanzen in der stationären Phase wird nach Formel 11 berechnet:

$$c_{i,stat-Phase} = \frac{m_{i,stat-Phase}}{m_{Harz}}; \quad m_{i,stat-Phase} = m_{i,input} - V_{input} * c_{i,Messung} \quad (11)$$

$$c_{i,fluid} = c_{i,Messung}$$

$c_{i, stat-Phase}$ Konzentration des Soluts in der stationären Phase, [g/kg]

$c_{i, Fluid}$ Konzentration in der fluiden Phase – aus der Messung des Überstands, [g/L]

Die Konzentration der stationären Phase wird als Funktion der Konzentration in der festen Phase in einem zweidimensionalen Diagramm (Verteilungsisothermen) dargestellt.

Durchführung – allg. Säulenpräparation:

Das gewaschene Ionentauscherharz wird in einem Becherglas mit HQ-Wasser zu einer Suspension angerührt und langsam in die Glasssäule eingefüllt. Nach Absetzen des Ionentauscherharzes und Abrinnen des überschüssigen Wassers durch den unteren Stempel

der die Säule abschließt, wird die Prozedur wiederholt bis das gewünschte Säulenvolumen erreicht ist. Die Säule wird nun mit Wasser bis zur oberen Kante befüllt, so dass der obere Stempel (durch dem Eluent/Wasser mit geringer Flussrate rinnt und an dem sich ein nach unten hängender Tropfen gebildet hat) ohne Luftblase in die Säule eingebracht werden kann. Der verstellbare obere Stempel wird nun so fixiert, dass rund 5 % zusätzliches Säulenvolumen (gefüllt mit Wasser) frei ist. Das gesamte Chromatographiesystem wird nun mit entgastem HQ-Wasser (temperiert/Arbeitstemperatur) gespült und auf Arbeitstemperatur gebracht. Nachdem stabile Verhältnisse herrschen wird durch Ändern der Flussrichtung das Bett aufgewirbelt, wobei sich die gesamte Harzmenge nach oben bewegt bis das freie, ausschließlich mit Wasser gefüllte Volumensegment sich am unterem Säulenende befindet. Der Fluss wird nun gestoppt und das Harz beginnt sich zu setzen. Es bewegt sich nun ein schmaler Bereich aufgewirbeltes Harzvolumensegment von unten nach oben. In diesem etwa zwei Zentimeter hohen Segment sammeln sich Luftblasen die mit der aufgewirbeltem Schicht/Segment nach oben wandern. Nachdem die aufgewirbelte Schicht das obere Ende erreicht hat ist das Säulenbett in einem gleichmäßigen Zustand ohne eingeschlossene Luftbläschen. Die am Säulenkopf gesammelten Luftbläschen werden durch neues Aufsetzen des oberen Stempels entfernt. Das Säulenbett hat in diesem Zustand (Arbeitstemperatur sei Maximaltemperatur, reines Wasser) sein Maximalvolumen und wird durch Beladung und Fluss durch die Säule zusätzlich komprimiert. Nach Einstellung des gewünschten Flusses wird der obere Stempel nach, bis 2 mm über dem Harzbett nach unten geschraubt. Das Chromatographiesystem ist nun einsatzbereit.

Konvertierung des Ionentauscherharzes von der Natriumform in die Kaliumform: Viele Harze sind nur als Natrium beladene Harze käuflich. Die Konvertierung in die Kaliumform wird mittel eines 0,5 molaren Kaliumchlorid-Eluenten durchgeführt. Die Konvertierung ist vollständig wenn sich eine stabile Basislinie des Leitfähigkeitsdetektionssystem eingestellt hat.

Tab. 10 Durchgeführte Pulsversuche

Lauf	Chromatographie-anlage	Harz	Säulendurchmesser, [mm]	Bettvolumen, [mL]	Feed	Temp.	Fluss
C1	II	DOW99	25	432	Alanin 10g/L, 10 mL	70°C	5 mL/min
C2	II	DOW99	25	432	Alanin 10g/L, 10 mL	70°C	10 mL/min
C3	II	DOW99	25	432	Alanin 10g/L, 10 mL	70°C	15 mL/min
C4	II	DOW99	25	432	Alanin 10g/L, 10 mL	70°C	20 mL/min
C5	II	50WX8	25	432	Alanin 10g/L, 10 mL	70°C	5 mL/min
C6	II	50WX8	25	432	Alanin 10g/L, 10 mL	70°C	10 mL/min
C7	II	50WX8	25	432	Alanin 10g/L, 10 mL	70°C	15 mL/min
C8	II	50WX8	25	432	Alanin 10g/L, 10 mL	70°C	20 mL/min
C9	II	UBK530	25	908	10 mL SJP0, Ca-entfernt	60°C	8 mL/min
C10	II	UBK530	25	908	150 mL SJP0, Ca-entfernt auf 50 mL eingeengt	60°C	8 mL/min
C11	III	Purolite	12,5	55	Alanin 10g/L, 10 mL	60-70°C	1,4 mL/min
C12	III	Purolite	12,5	55	Alanin 10g/L, 10 mL	60-70°C	2 mL/min
C13	III	Purolite	12,5	55	Alanin 10g/L, 10 mL	60-70°C	2,6 mL/min
C14	III	Purolite	12,5	55	Alanin 10g/L, 10 mL	60-70°C	3,2 mL/min
C15	III	Purolite	13,5	55	Alanin 10g/L, 10 mL	60-70°C	3,8 mL/min
C16-21	III	Purolite	12,5	55	Modellösung; 5,1 mL	60-70°C	2,6 mL/min

Durchführung – Bestimmung der HETP und des Kapazitätsfaktors:

Das Totvolumen des Chromatographiesystems II (ohne Säule): Die Glassäule wurde durch ein kurzes Kunststoffrohr in dem die beiden Stempel ohne Zwischenvolumen gegeneinander zusammengefügt wurden ersetzt. Es wurde 10 mL Blue Dextran (1:1000) injiziert und bei 600 nm mit dem UV-Detektor detektiert. Das so ermittelte System-Totvolumen (bzw. System-Totzeit) wird den weitem ermittelten Eluationsvolumina abgezogen.

Das Totvolumen der Säule (25*950 mm) wird bei eingebauter Säule (oberer Stempel bis 0,5 mm auf das Harzbett, 432 mL Bettvolumen), 10 mL/Min Eluentfluss und 70°C gemessen. Als Ausschlusssubstanz wird Blue Dextran (Detektion per UV 600 nm) verwendet.

Der Kapazitätsfaktor k' und die HETP wird für die Aminosäure L-Alanin in den Pulsversuchen C1-C8 und C11-C15 ermittelt. Die Berechnung des Kapazitätsfaktor k' erfolgt

mittels der Formel $k' = \frac{t_{Ri}}{t_0}$. Die Berechnung der HETP bei definierter Geschwindigkeit und

Temperatur erfolgte für die 3 Harze DOW99, 50WX8 und Purolite und der Aminosäure L-Alanin (Lauf C1-C8 und C11-C15) nach Formel xy (siehe auch Fig. xy):

$$H_T = \frac{L}{41,7} * \frac{(a + b)^2}{t_{Ri}^2} * \left(1,25 + \frac{b}{a}\right) \quad [36] \quad (12)$$

H_T Höhe einer theoretischen Platte (Height Equal to one Theoretical Plate - HETP), [m]

L Säulenlänge [m]

a,b Symmetrieparameter des Peaks, [s]

t_{Ri} Bruttorententionszeit, [s]

Die HETP (H_T , height of one theoretical plate) ist eine Maßzahl für die ungewollte Peakverzerrung des technischen Chromatographiesystems. Bedingt durch Harzmaterial (verantwortlich für Verteilungskoeffizient), Harzgeometrie (Partikeldurchmesser und Größenverteilung) und Säulengeometrie erhält man für eine auf die Säule gegebene Komponente einen mehr oder weniger verbreiterten und verzerrten Peak. Eine kleinere HETP bedeutet geringe Peakverbreiterung und Verzerrung. In der Praxis wird das durch kleine uniforme Harzpartikeln erreicht. Durch Variation der Säulenlänge kann man bei gegebenen HETP des Harzes die Stufenanzahl variieren.

Bei der Trennung zweier Komponenten gilt. Voraussetzung ist eine unterschiedliche Affinität zur festen Phase (unterschiedliche Verteilungsisotherme bzw. Kapazitätsfaktor). Die HETP gibt nur welche Peakverzerrung/Verbreiterung das technische Trennsystem verursacht – bei nur knapp getrennten Peakmaxima und ist dieser Faktor wesentlich.

5. Ergebnisse

Im vorliegenden Projekt wurden zahlreiche Experimente durchgeführt deren Ergebnisse in diesem Kapitel dargestellt werden. Neben den Daten aus den Experimenten ergaben sich auch neue Erkenntnisse (Ergebnisse) aus Literaturrecherchen, Gesprächen mit internationalen Experten und aus allgemeinen Überlegungen, die an der entsprechenden Stelle in den Kontext eingefügt wurden. In Anlehnung an die Prozessmodule in Tabelle 1 werden die Projektergebnisse der Reihe nach dargestellt:

5.1 Gravimetrische Trennung/Phosphatfällung

Die Phosphatfällung und Abtrennung mittels Separator wurde als Vorstufe für verschiedene Prozesse durchgeführt und brachte folgende Ergebnisse. Die Phosphatkonzentration im Saft sank von 5,1 g/L auf 0,3 g/L. Die Konzentration von Kalzium und Magnesium sank von 2,2 bzw. 0,8 g/L auf 0,7 bis 0,5 g/L bzw. 0,5 bis 0,3 g/L. Bezüglich sonstiger Substanzen (Mono- und Disaccheride, freie Aminosäuren, weitere Ionen, organische Säuren) wurde mit Ausnahme der Trockensubstanz keine signifikante Konzentrationsänderung festgestellt.

Die Phosphatfällung ist ein Schritt, der wichtiger sein könnte als ursprünglich angenommen wurde. Neben unlöslichen Salzen könnten bei gesteigerten Trennleistungen auch zusätzliche Substanzen (Zellbestandteile) abgetrennt werden. Neben der Zentrifugation könnte hier ein Mikrofiltrationsschritt eingesetzt werden. Zusätzlich ist eine Erhöhung der Kristallisationsdauer denkbar, was durch größere Kristalle zu einem besseren Trenneffekt führen könnte.

Ein wesentlicher Faktor für die Fällung von Phosphat ist das Verhältnis zwischen Phosphat und zweiwertigen Ionen. Nur wenn einen Überschuss an Kalzium und Magnesium vorliegt kann das gesamte Phosphat als Kalziumphosphat bzw. Magnesium-Ammonium-Phosphat gefällt werden. Im Laufe des Projektes zeigte sich, dass dieses Verhältnis stark variieren kann. Beide Extremfälle i) Restphosphat bei vollständiger Kalziumentfernung ii) Restkalzium bei vollständiger Phosphatentfernung sind möglich.

Hinsichtlich der Gewinnung/Abtrennung von Spezialstoffen sei darauf hingewiesen, dass neben Phosphatsalzen auch ein Großteil der grünen Pigmentstoffe durch Zentrifugieren abgetrennt werden. Die potentiellen Spezialstoffe Chlороphyll/Chlorophyllin/Porphorine dürften sich mit hoher Wahrscheinlichkeit in der Pelletfraktion befinden.

5.2 Nanofiltration I

5.2.1 Membranscreening

Der Teil dieser Forschungsarbeit wurde im Rahmen einer Publikation veröffentlicht. Die Publikation ist im Anhang zitiert.

5.2.2 Ergänzende Versuche

Cellulosemembran:

Nach Gesprächen mit Prof. Nyström (FIN, Univ. for Techn, Lappeenranta, FIN) wurde eine alternative Filtrationsvariante mit einer Cellulosemembran überprüft. Die eingesetzte Membran C005F ist im Gegensatz zu den im Membranscreening eingesetzten nicht bei extremen Bedingungen reinigbar. Die Empfehlung der Expertin Nyström beruht auf der Erfahrung, dass hydrophile Membranen (Cellulose ist hydrophil) bei niedrigen Drücken und wässrigen Medien ein günstiges Foulingverhalten zeigen. Um eventuelle Alternativen nicht unberücksichtigt zu lassen wurden 2 Versuche in der NF-Testzelle bei 1 und 7 bar durchgeführt – TZ-19, TZ-20, Versuchsaufbau A (siehe Abb. 23).

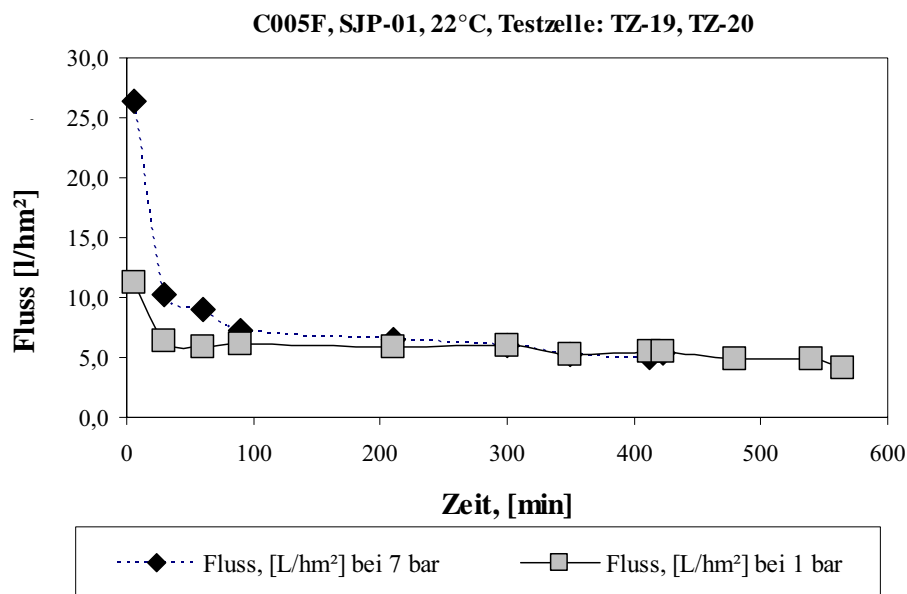


Abb. 23 Nanofiltration von Silagesaft mit einer 5kD-Cellulosemembran

Es zeigte sich bei den Versuchen, dass die Cellulosemembran keine herausragenden Fluss- oder Rückhaltungseigenschaften hat (siehe Tab. 11).

Tab. 11 Vergleich der Cellulosemembrane mit den getesteten chem. Stablen Membranen

	DM	CP	Flux, [L/hm ²]
PES-10, TZ-2	24%	28%	6,6
N30F, TZ-16	31%	39%	1,6
MPF36, TZ17, 18	25%	47%	5,1
PES004H, TZ11, 12	8%	9%	6,5
Inocermic, UF-2	21%	9%	7,7
Tami, UF-1	11%	5%	49,4
C005F, 7 bar, TZ-19	6%	5%	6,9
C005F, 1 bar, TZ-20	3%	5%	5,2

Filtration bei pH 2:

Silagesaft (SJP-01, zuerst bei pH 8,5 phosphatgefällt, dann mit HCl auf pH2 titriert) wurde bei 35 bar und 22°C mit der favorisierten PES-10 Membran in der Testzelle (TZ-7) filtriert. Nach 30 Minuten stellte sich ein Fluss bei etwa 3 L/hm² ein. Der Versuch wurde abgebrochen. 500 mL des sauren Feeds wurde mit 500 mL HQ-Wasser verdünnt und wiederum bei 22°C, 35 bar filtriert (TZ-8) (siehe Abb. 24).

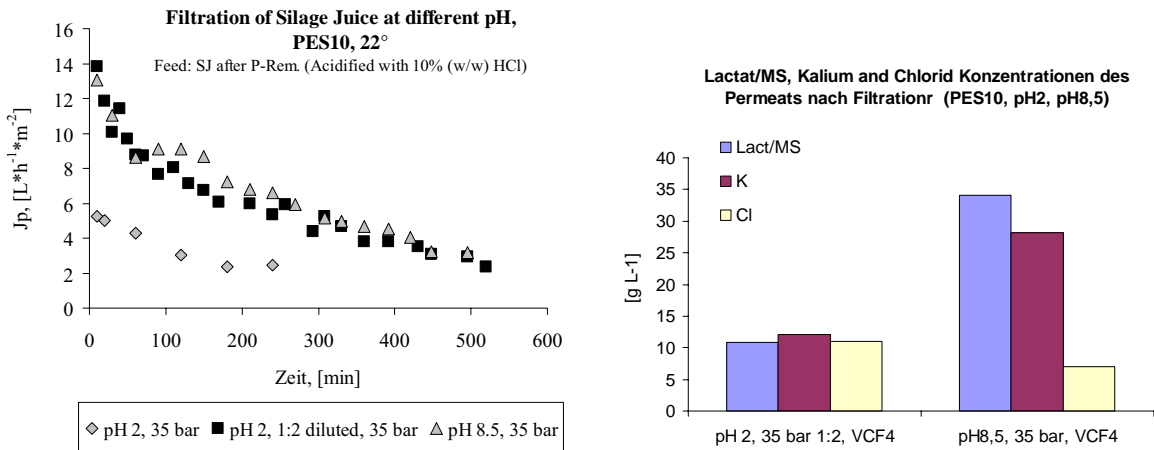


Abb. 24 Vergleich des Fluxverlaufs und der Kalimchlorid-, Kaliumlactat- und Milchsäurekonz. im Permeat, pH2 versus pH 8,5

Tab. 12 Rückhaltung bei unterschiedlichen pH-Werten

	DM	CP	Lactat	K	Frc	SO4	Flux, [l/hm ²]
pH2	40%	61%	26%	6%	59%	55%	5,7
pH8,5	24%	28%	12%	15%	12%	54%	6,6

Die Versuche sind geprägt durch die große Verdünnung des Silagesaft um pH 2 zu erreichen. Das Verhältnis Milchsäure zu Chlorid ist bei pH 2 naturgemäß sehr ungünstig. Allgemein ist erkennbar, dass im sauren Bereich die Rückhaltung von Zuckern (siehe Fructose -Frc) und Aminosäuren (siehe Summenparameter Rohprotein - CP) höher ist.

Der Permeatfluss bei pH 2 ist trotz zusätzlicher Verdünnung (Trockenmasse bei TZT-8: 7,3 %, bei pH 8,5: ~15 %) gering als im höheren pH-Bereich.

Filtration von unbehandeltem Silagesaft

Erste Vorversuche des Projekts zeigten extrem niedrige Permeatflüsse bei der Filtration von unbehandeltem Saft. Der hier durchgeführte Versuch soll einen Vergleich zwischen Filtrationsverhalten von phosphatgefälltem Saft und unbehandeltem Saft erbringen (siehe Abb. 25).

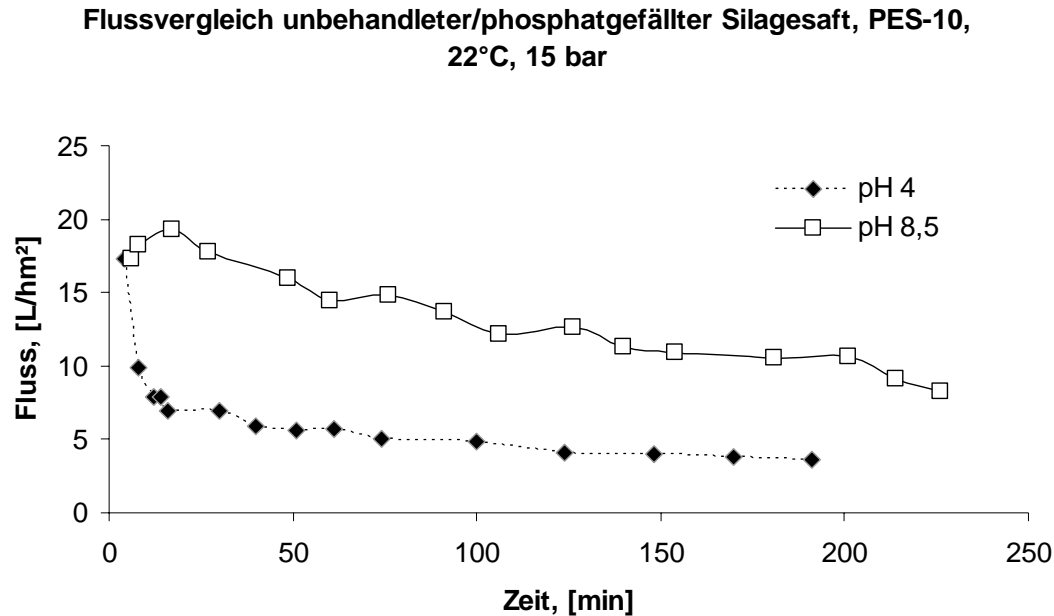


Abb. 25 Nanofiltration von unbehandeltem und phosphatgefälltem Saft

Der Filtrationsversuch von unbehandeltem Silagesaft (pH 4, TZ-9) wurde bei einem Volumenkonzentrationsfaktor (VCF) von 1,33 abgebrochen. In Abb. 25 ist der Lauf „TZ-9“ mit dem Lauf TZ-10 (Silagesaft aus dem Jahr 2002, phosphatgefällt) verglichen. Im Unterschied zu den Filtrationsläufen des Membranscreenings und Druckvariationen handelt es sich hier um einen Saft mit rund 9 % Trockenmasse. Die Rückhaltewerte in Tab. 13 zeigen eine leicht höhere Rückhaltung von Rohprotein im Vergleich zu Milchsäure.

Tab. 13 Rückhaltung - berechnet aus Feed und Permeat bei VCF 1,33

	DM	CP	Lactat	K	Frc	SO4	Flux, [l/hm²]
pH 4	35%	43%	25%	14%	36%	47%	5,0

Die wichtigste Erkenntnis aus diesem Vergleich besteht darin, dass die Phosphatfällung zu einer Fluxerhöhung von rund 200 % bei organischen NF-Membranen führt, wobei dieser Unterschied bei NF Membranen mit geringerem Cut-Off noch deutlicher ausfällt, siehe 5.2.5.

5.2.3 Druck und Temperaturvariation mit ausgewählten Membranen

Auf der Basis des Membranscreenings wurde die Nanofiltrationsmembran PES-10 (Polyethersulfon, hydrophilisiert, 1000 Da NMWCO) als optimalste Membran zur Trennung unerwünschter Substanzen (Biomoleküle/Farbe, Peptide, zweiwertige Ionen) ermittelt. Für einen Vorfiltrationsschritt käme allerdings auch die Ultrafiltrationsmembran PES-004H (Polyethersulfon, hydrophilisiert, 4000 Da NMWCO) in Frage. Neben der Membranauswahl, ist es vor allem aus energetischen Gründen notwendig den Einfluss des Druckes und der Temperatur auf die Permeatleistung zu kennen. In Abb. 26 sind diesbezügliche Ergebnisse mit dem Membrantyp PES-10 dargestellt

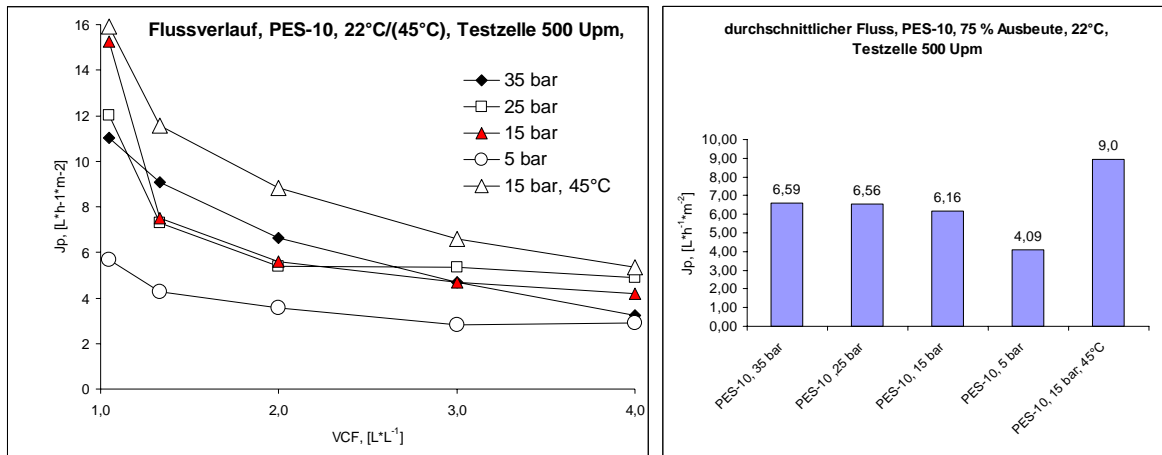


Abb. 26 Permeatflüsse bei unterschiedlichen Drücken und Temperaturen (Silagesaft SJP-01, (pH 8,5, rund 15 % TM)

Die Ergebnisse zeigen klar, dass ein Druck größer als 15 bar keinen deutlichen Flussgewinn bringt. Im vorliegenden Fall wird ein Druck zwischen 10 und 15 bar als optimal betrachtet. Um über die besonders wichtige Aminosäurerückhaltung genauere Aussagen treffen zu können wurden auch frühere Versuchsergebnisse in die Bewertung einbezogen. In Abb. 27 sind die Auswertungen zusammengefasst. Wie erkennbar ist zeigt sich, dass bei dem geringsten Druck (5 bar) eine erhöhte Aminosäuredurchlässigkeit, insbesondere für die nicht neutralen Aminosäuren Lysin und Asparaginsäure vorliegt. Dies ist wahrscheinlich auf Wechselwirkungen zurückzuführen, die im Zusammenhang mit der Deckschichtbildung (niedriger bei geringen Drücken) stehen.

Fasst man die Erkenntnisse aus Flussverhalten und Rückhaltung zusammen, so ist ein Betriebsdruck von etwa 15 bar günstig. Eine erhöhte Temperatur scheint die Aminosäuretransmission zu begünstigen und führt naturgemäß auch zu höheren Flüssen. Ob in der Praxis tatsächlich auch höhere Temperaturen anzuwenden sind, muss unter Einbeziehung weiterer Kriterien z. B. Energieverbrauch noch genauer geprüft werden.

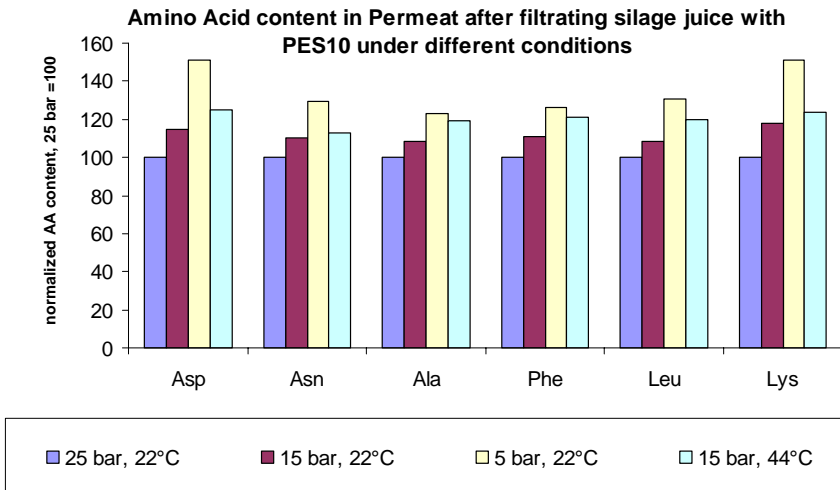


Abb. 27 Aminosäureration im Zusammenhang mit der Rückhaltung, Konzentration des Permeats gewonnen bei 22°C und 25 bar Druck entspricht 100 %

Druck- und Temperatureinfluss beim Membrantyp PES-004H

In den Filtrationsläufen TZ-12 bis TZ-15 wurden Druck und Temperatur bei der Ultrafiltrationsmembran PES-004H (4000 Da) variiert. Die Ergebnisse zeigen, dass praktisch keine Unterschiede in der Rückhaltung vorhanden sind, d. h., die Rückhaltung ist im Gegensatz zur Nanofiltration druckunabhängig. Der Permeatfluss zeigt bei 5 bar ein Maximum. (siehe Abb. 28).

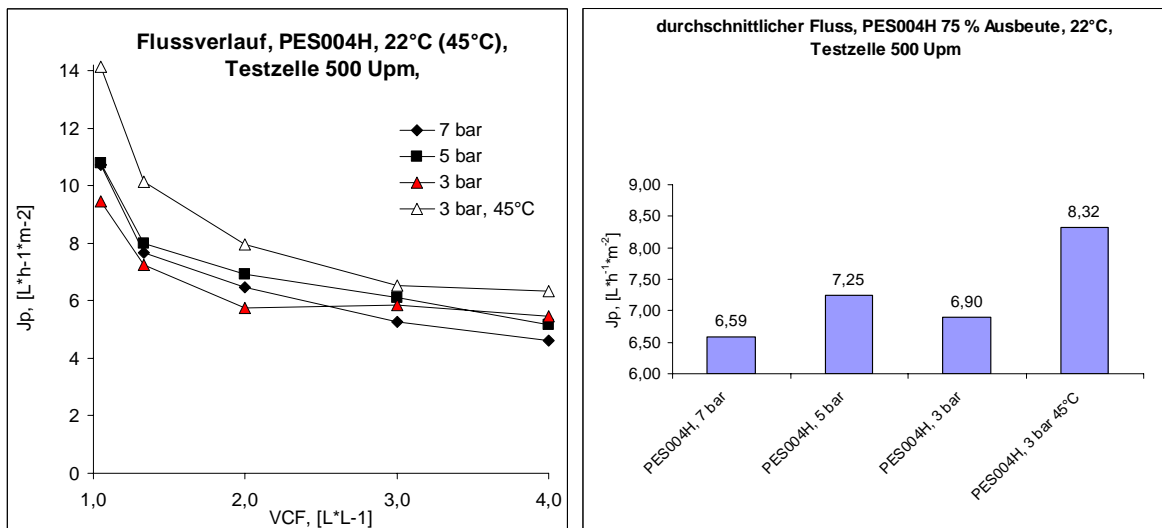


Abb.28 Permeatflüsse bei unterschiedlichen Drücken und Temperaturen

5.2.4 Technikumsversuche mit dem Membrantyp PES-10 - Spiralmodul

Die im Labormaßstab getesteten Flachmembranen werden in einer industriellen Anwendung meist in so genannten Wickelmodulen (spiral wound - SW) eingesetzt. Die Ergebnisse von Testzellenläufen sind nicht immer mit den industriellen Modulen vergleichbar. Im Lauf TZ-

10 wurde mit selbem Feed und ähnlichen Betriebsbedingungen wie in den Technikumsversuchen filtriert. Der Vergleich der zwei Läufe ist in Abbildung 29 dargestellt.

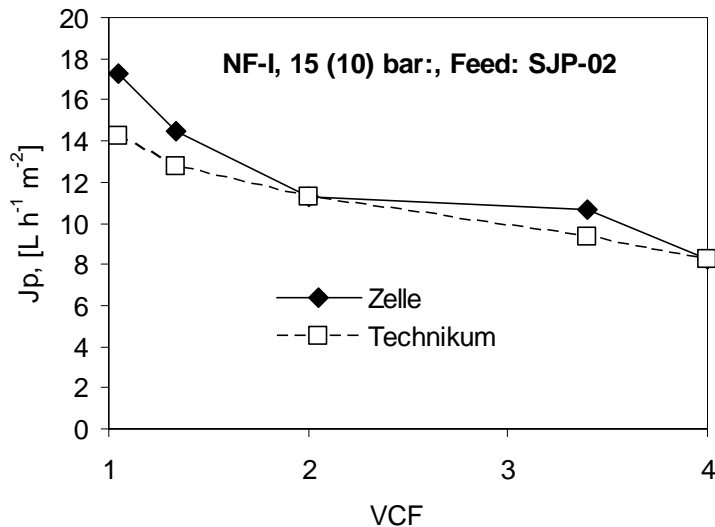


Abb. 29 Vergleich Testzelle mit Spiralmodul/Technikum, PES-10 membran, Feed: SJP-02

Im Laborversuch wurde zwar ein etwas höherer Fluss gemessen, trotzdem liegt im vorliegendem Fall eine ausgesprochen gute Übereinstimmung vor.

„Feed and Bleed“ Modus der Technikumsversuche, gekoppelt mit Diafiltration

Zunächst muss angeführt werden, dass, entsprechend dem Aufbau der Pilotanlage (Industriebetrieb, zwei Pumpkreisläufe) leicht unterschiedliche Retentatkonzentration vorliegen. In den dargestellten Diagrammen und Tabellen ist als Retentatkonzentration stets die Konzentration im inneren Kreislauf, also Konzentration direkt im Modul, angegeben.

Wie in Abb. 30 ersichtlich ist, nimmt der Fluss mit zunehmendem Volumenkonzentrationsfaktor (VCF), beginnend mit 14,2 L/hm² (VCF=1) bis 7,1 (VCF=6), in einem bestimmten Maße ab. Bei VCF=6 wurden die ursprünglichen 54 Liter Feed auf rund 9 Liter aufkonzentriert und durch Zugabe von 9 Liter RO-Wasser (Diafiltration I) wieder auf 18 Liter verdünnt (Diafiltration). Nach einer kurzen Zirkulationsphase (Durchmischung) steigt der Fluss wiederum abrupt auf 11,2 L/hm², was auf eine gutes reversibles Flussverhalten hinweist. Dieser Fluss bleibt relativ konstant bis es auf Grund eines Behälterwechsels zu einem kurzen Stillstand kommt. In der anschließenden zweiten Diafiltrationsphase wird bei konstantem Retentatvolumen kontinuierlich 9 Liter Wasser retentatseitig zugegeben. Dabei erhöht sich der Fluss von 8 auf 12,2 L/hm².

Der mittlere Permeatfluss bis VCF=4 beträgt 11,7 L/hm². Bezogen auf VCF=6 beträgt der mittlere Fluss 11,3 L/hm². Der mittlere Permeatfluss mit einbezogener Diafiltration beträgt 10,9 L/hm², dieser Wert ist allerdings weniger von Bedeutung. Relevant ist die Gesamtfiltrationsdauer bezogen auf die ursprüngliche Feedmenge, die 214 Minuten für 54 Liter Silagesaft beträgt. Damit errechnet sich ein mittlerer Permeatfluss von 9,4 L/hm². Diese Filtrationsleistung ist zwar nicht besonders hoch, trotzdem zeigt dieser wichtige Pilottest insgesamt, dass die Anwendung der Naofiltration zur Behandlung von Grassilagepressäften im industriellen Maßstab gut funktionieren würde. Allerdings müssten diese Ergebnisse noch in Langzeitversuchen bestätigt werden.

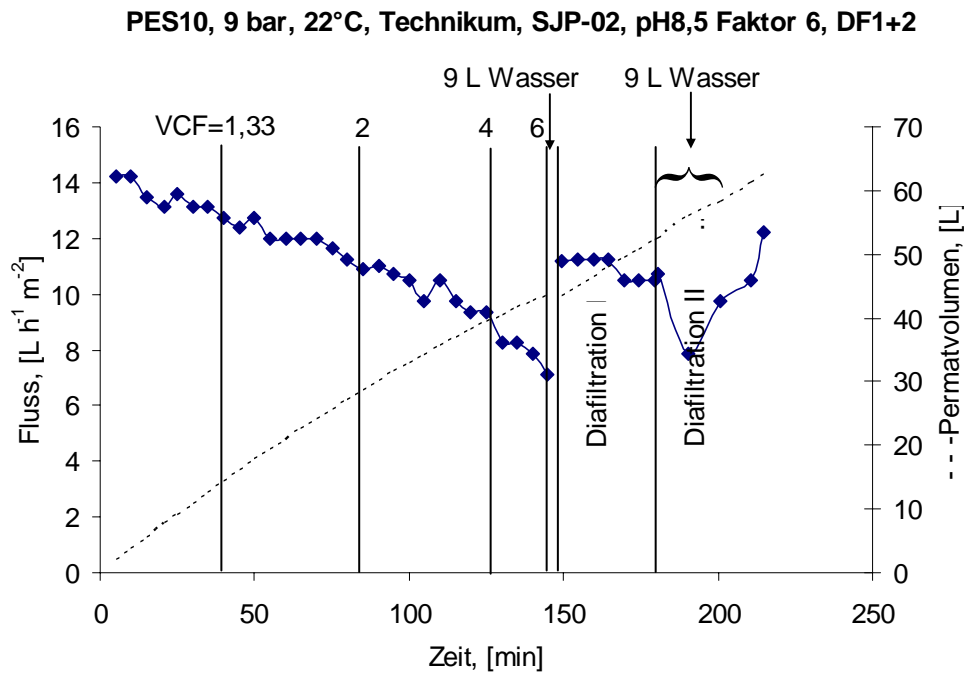


Abb. 30 Flussverlauf, Nanofiltration (inklusive Diafiltration) im Technikumsmaßstab

Was die Rückhaltung, die für die Wirtschaftlichkeit von Bedeutung ist, anbelangt, so sieht die Situation wie folgt aus.

Rückhaltung von Trockenmasse und Rohprotein – Phase 1 VCF 1 bis 6

Während der Aufkonzentrierung kommt es in Abhängigkeit des VCF zu unterschiedlichen Rückhaltungen. Die nachfolgenden Abbildungen (31 – 35) zeigen die gewonnenen Ergebnisse.

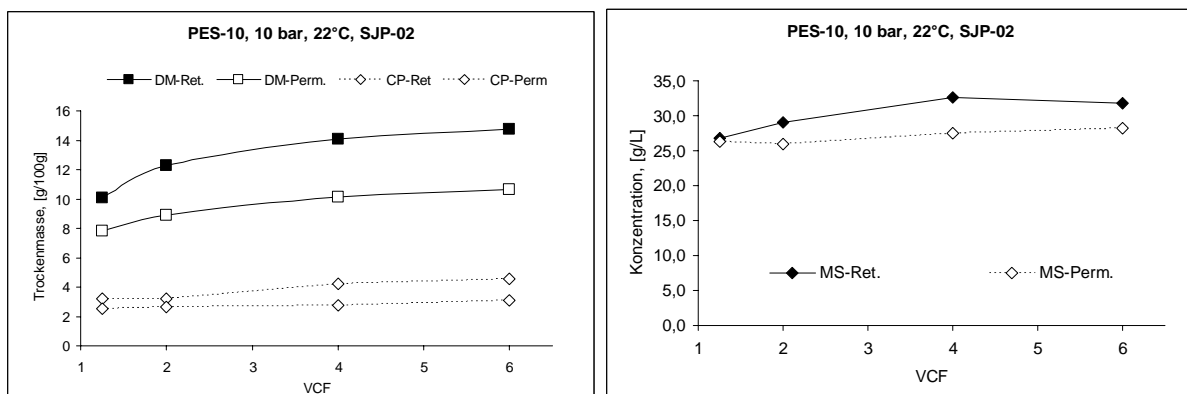


Abb. 31 Rückhaltung a) Trockenmasse und Rohprotein; b) Milchsäure

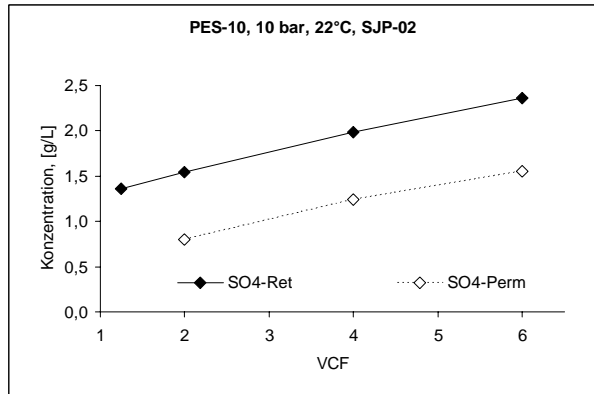
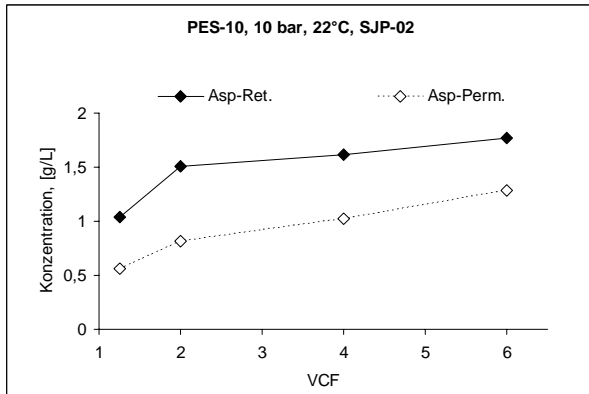


Abb. 32 Rückhaltung a) saure Aminosäure Aspartat, b) zweiwertiges Sulfat

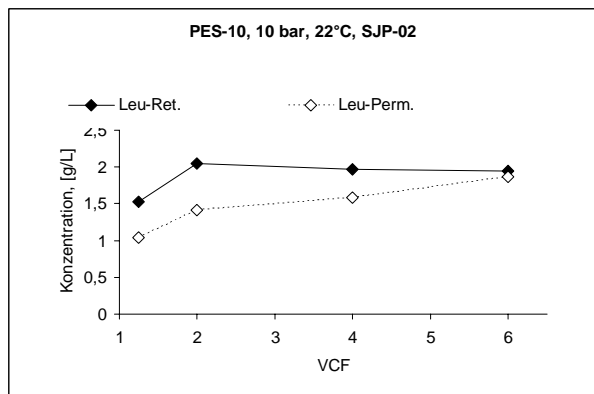
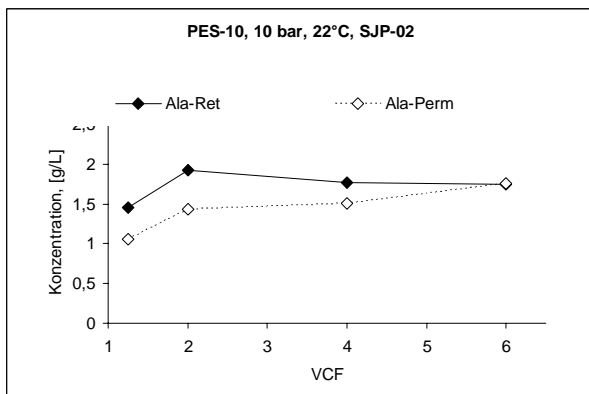


Abb. 33 Rückhaltung a) Alanin, b) Leucin

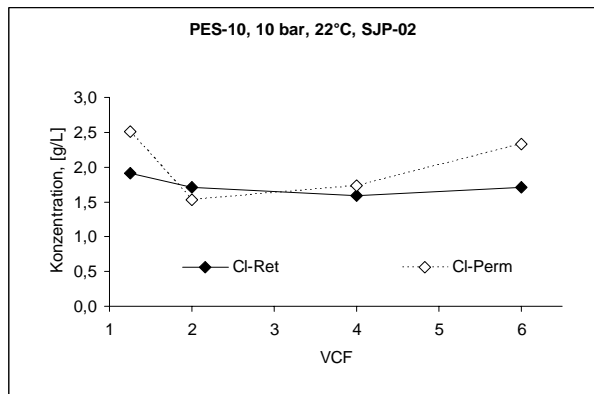
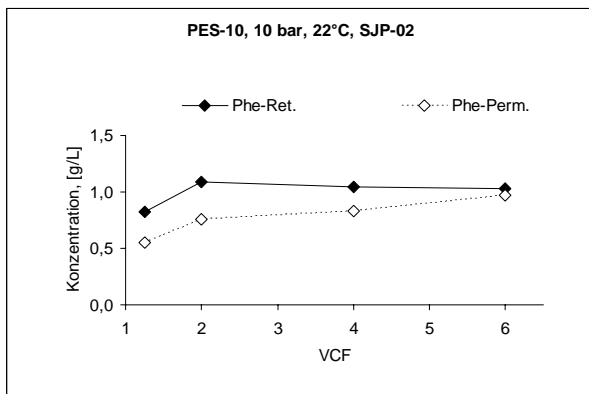


Abb. 34 Rückhaltung a) Phenylalanin, b) Chlorid

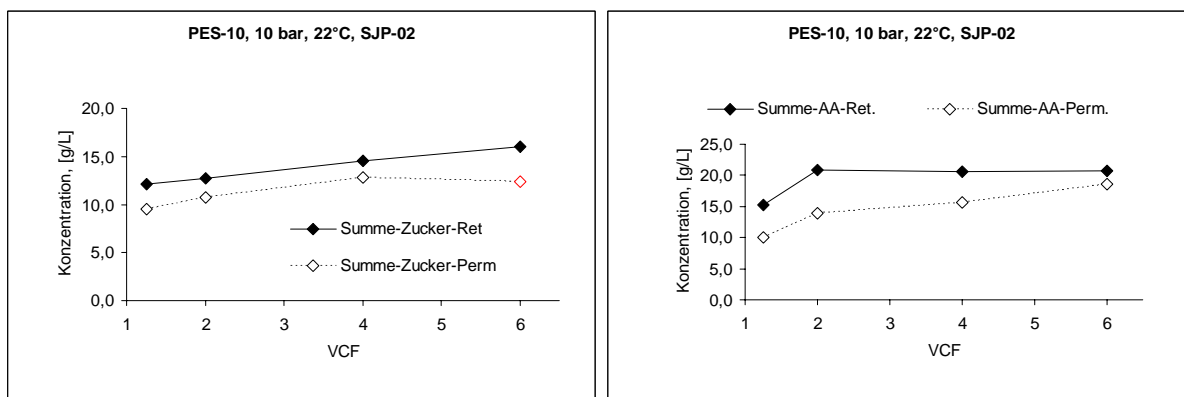


Abb. 35 Rückhaltung a) Zucker, b) Summe 19 Aminosäuren

Mit zunehmender Aufkonzentrierung steigen zwar alle Konzentrationen, dies deutet allerdings nicht auf eine „problematische“ Rückhaltung. Phenylalanin ist eine neutrale Aminosäure mit größerer Molmasse (165 g/mol), trotzdem zeigt sich ein ähnliches Verhalten wie bei Alanin (90 g/mol) und Leucin (131 g/mol). Bei Chlorid zeigt sich eine „negative“ Rückhaltung (siehe Membranscreening - Donnaneeffekt). Wie die tatsächliche, praktisch relevante Gesamtrückhaltung aussieht, wird nachfolgend detaillierter dargestellt.

Diafiltration

Um eine möglichst große Ausbeute an Aminosäuren zu erzielen, wird das in der Aufkonzentrierungsphase erzeugte Retentat mit Wasser verdünnt und weiter filtriert bzw. nochmals aufkonzentriert (siehe Abb. 30). Dadurch kommt es zu einer „Auswaschung“ der Wertstoffe, wobei unerwünschte Komponenten ebenfalls mitpermeieren können. Die im vorliegenden Fall erzielten Ergebnisse sind in Tab. 14 dargestellt.

Tab. 14 Konzentrationen wichtiger Saftkomponenten während der Diafiltration

	DM, [g/100g]	CP, [g/100g]	Ala, [g/L]	Leu, [g/L]	Asp, [g/L]	Phe, [g/L]	MS, [g/L]	K, [g/L]	SO ₄ , [g/L]	Zucker ges., [g/L]
Ret. VCF-6	14,7	4,6	1,75	1,94	1,8	1,0	31,8	27,6	2,36	16,1
Ret. VCF-6, 1:2	7,4	2,3	0,87	0,97	0,9	0,5	15,9	13,8	1,18	8,0
Perm. DF-I, 9 L	5,3	2,0	0,91	0,99	0,7	0,5	15,7	10,1	0,74	9,2
Ret-DF-I	9,6	3,2	0,74	0,87	0,9	0,5	13,0	9,6	0,94	7,3
Perm. DF-II, 9 L	3,4	1,2	0,27	0,30	0,3	0,2	8,4	6,3	0,58	0,0
Ret-DF-II (Ende)	6,7	2,2	0,50	0,61	0,8	0,3	4,0	8,4	0,76	1,7

Wie die Probenentnahme erfolgte ist in Abb. 36 dargestellt.

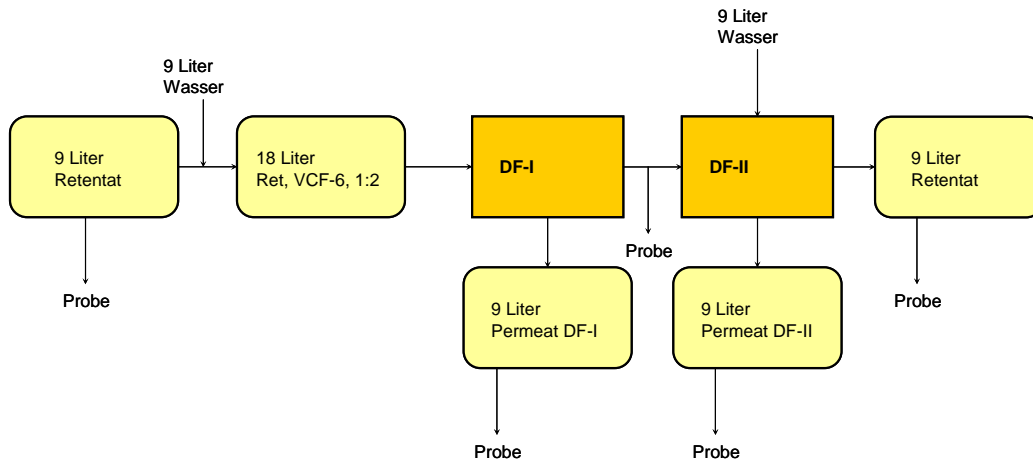


Abb. 36 Schema der Probenentnahme während der Diafiltration

In den nachfolgenden Abbildungen 37 und 38 wird deutlich sichtbar, wie mit Hilfe eines Diafiltrationsschrittes die Ausbeute gesteigert werden kann, wobei nicht zu vergessen ist, dass die volumetrische Ausbeute primär die Produktausbeute bestimmt.

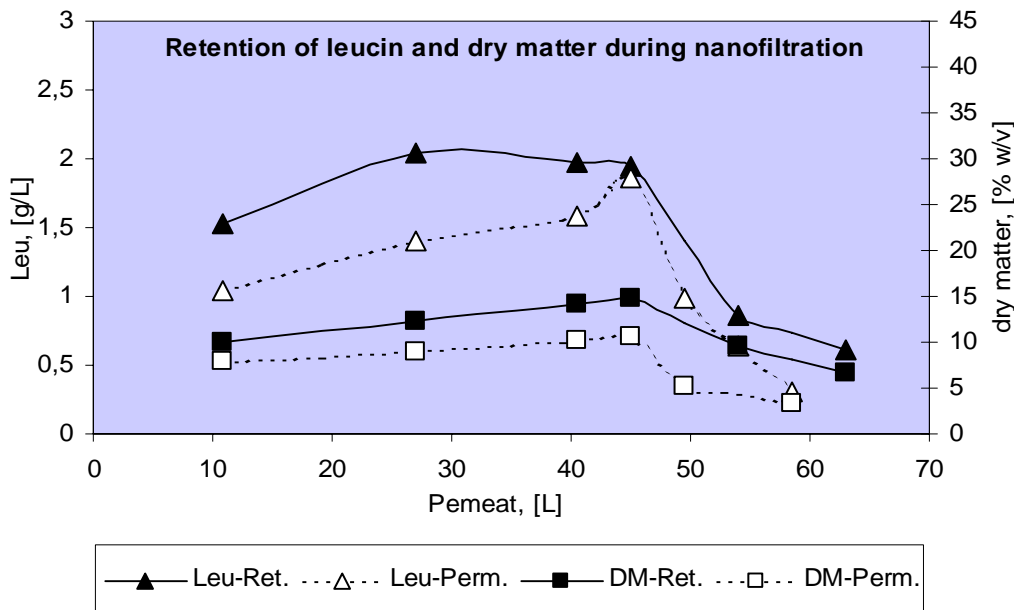


Abb. 37 Verlauf Rückhaltung Leucin im Vergleich zur Trockenmasse

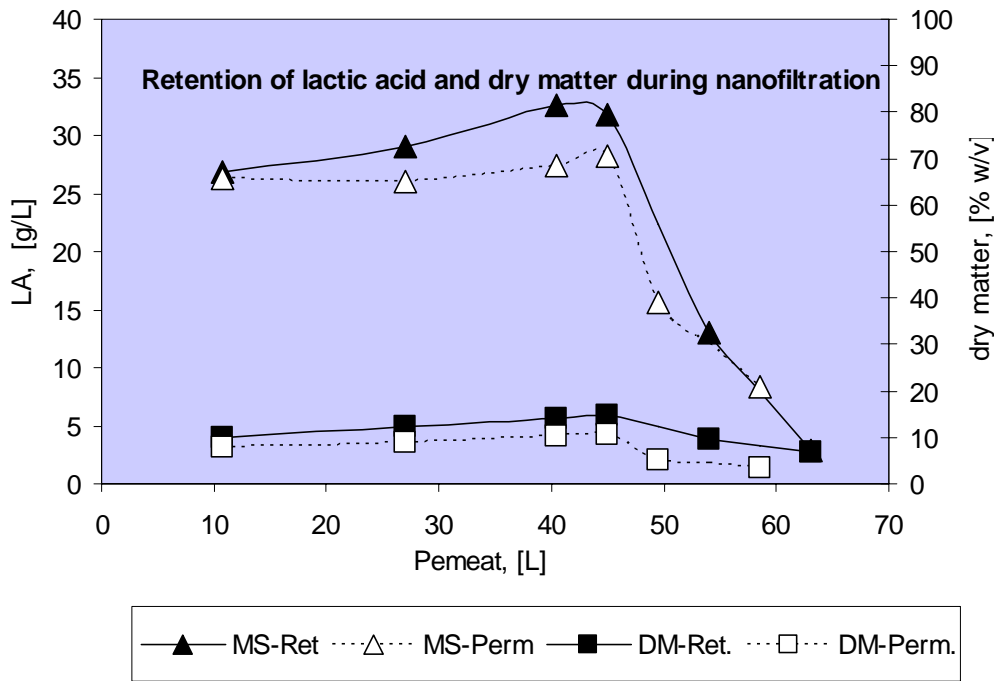


Abb. 38 Rückhaltung Milchsäure im Vergleich zur Trockenmasse

Abschließend wurde noch eine Massenbilanz, die den praktischen Betrieb widerspiegelt, erstellt (Abb. 39).

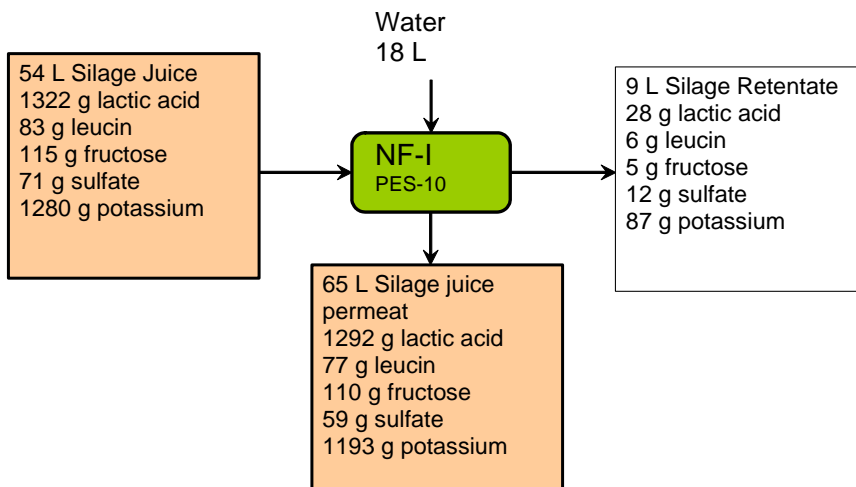


Abb. 39 Massenbilanz für den Technikumsversuch (inklusive Diafiltration)

Wie die Berechnung zeigt, erhält man eine 97%-ige Milchsäureausbeute und eine 93 %ige Leucinausbeute. Zwar sind 7 % Leucinverlust nicht besonders hoch, trotzdem muss der Prozess noch weiter optimiert werden. Der Grund für die im Vergleich zur Milchsäure etwas schlechtere Ausbeute liegt in der erhöhten Rückhaltung der Aminosäuren bei Verdünnung.

Die Diafiltration sollte daher unter Zugabe minimaler Wassermengen erfolgen. Denkbar wäre eine Diafiltration unter Beibehaltung der Konzentration entsprechend VCF 4 bis 6 bei kontinuierlicher Wasserzugabe und Volumensverkleinerung.

5.2.5 NF als Trennschritt zwischen Aminosäuren und Milchsäure

Aus der aktuellsten Literatur ist bekannt, dass die Nanofiltration zur Aufreinigung von Milchsäure-Fermentationsmaischen genutzt wird. Im Gegensatz zur sonst üblichen Mikrofiltration soll dieser Schritt nicht nur makromolekulare Bestandteile und Bakterien abtrennen sondern auch zweiwertige Ionen und Glucose (Fermentationsrohstoff) entfernen. Angewendet auf Silagesaft ist es denkbar, dass eine NF-Membran mit nominellen Cut Of von rund 200 Da zu einer teilweisen selektiven Trennung zwischen Aminosäuren und monomeren Zuckern einerseits und Milchsäure andererseits führt. Zur Überprüfung dieser Überlegungen wurde eine für viele Anwendungen wie z.B. Farb/Salz-Trennung eingesetzte Membran Desal 5DL von Osmonics (nun General Electrics) eingesetzt.

Versuche mit unbehandeltem Saft – BRG-01S2-BonS, Lauf TZ-24 bis TZ 26.

Unbehandelter Silagesaft wurde in der Testzelle (Versuchsaufbau „A“) bei unterschiedlichen Drücken filtriert. Nach Erreichen eines definierten Flusses wurde der Versuch abgebrochen. Bei einem Druck von 35 bar wurde bis VCF=3 filtriert was 666 mL aus 1000 mL entspricht (siehe Abb. 40).

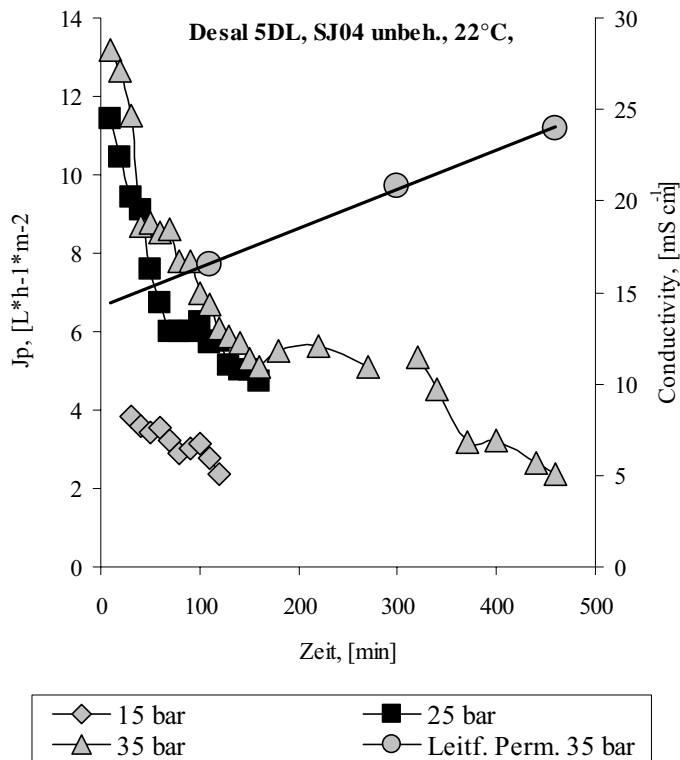


Abb. 40 Permeatflüsse bei der Filtration von unbehandeltem Silagesaft mit der NF Membran Desal 5DL, Cut-Off ~200 Da

Die Milchsäurerückhaltung, berechnet aus den direkt entnommenen Proben (Formel 8), beträgt im Punkt VCF=1,33 42 % und bei VCF=3 38 %, während für Aminosäuren eine Rückhaltung von 90 % und höher gemessen wurden. Eine Diafiltration von Kaliumlactat und frier Milchsäure (bei pH 4 ist rund die Hälfte der Milchsäure in undissoziierter Form) bei gleichzeitiger Rückhaltung von Wertstoff Aminosäuren ist theoretisch denkbar.

Filtration von ultrafiltriertem Silagesaft (TZ-27)

Die niedrigen Flüsse der obigen Variante lassen eine Vorbehandlung des Rohsaftes sinnvoll erscheinen. Im Gegensatz zur Erhöhung des pH-Wertes und Abtrennung unlöslicher Phosphatsalze könnte auch eine reine Ultrafiltration (ohne Änderung des pH-Werts) eine Flusserrhöhung ergeben. Für die Versuche wurde ein Silagesaftpermeat aus dem Projekt Fabrik der Zukunft-I (Jahre 2002) verwendet. Der Rohsaft wurde direkt nach der Presse mit einer keramischen Ultrafiltrationsmembran (1kDa) filtriert.

Versuchsaufbau „A“. Die Testzelle wurde mit 666 mL Silagesaftpermeat und 333 mL HQ-Wasser gefüllt. Bei 35 bar wurde bis VCF=3 (666 mL Permat aus 1000 mL) filtriert. Die 333 mL Retentat wurden mit 333 mL Wasser verdünnt und in einem zweiten NF-Schritt wieder bis zum Erreichen von 333 mL Permeat filtriert (siehe Abb. 41).

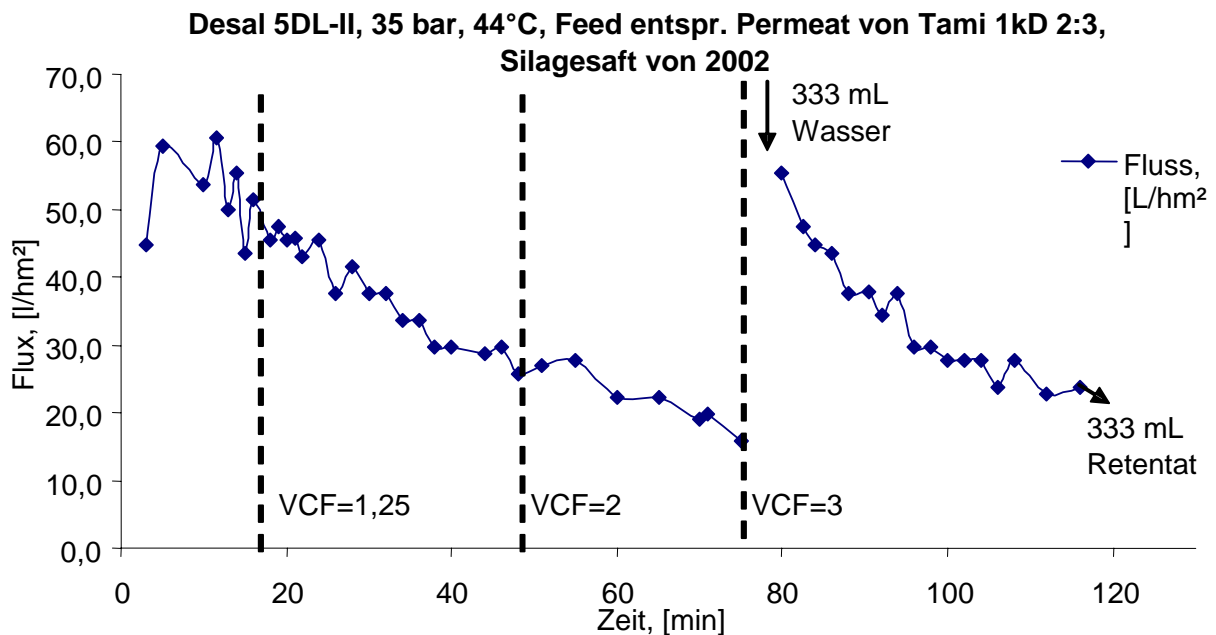


Abb. 41 Nanofiltration von ultrafiltriertem Silagesaft mit einer NF Membran (Desal 5DL, Cut.Off ~200 Da), Feed entspricht BRG-01S2-BonS, Tami 1kD filtriert.

Die Rückhaltung im Punkt VCF=3 (Minute 75) betrug für die Aminosäure Ala: 82 % und für Asp, Leu: 96 %. Die Rückhaltung bei Minute 120 betrug für Ala: 84 % und für Asp, Leu: 96 %. Die Leitfähigkeit (als Indikator für Salz bzw. Milchsäure) des Feeds betrug 17,4 mS/cm, während die Leitfähigkeit der Permeat bei Minute 75 bzw. 120 12,0 bzw. 10,9 betrug.

Eine ausgezeichnete Selektivität wurde nicht erwartet, allerdings zeigen die Versuche prinzipiell ein interessantes zukünftiges Entwicklungspotential für die Nanofiltration. In jedem Fall sind diese Untersuchungen mit etwaigen zukünftigen chromatographischen Trennversuchen zu vergleichen.

5.2.6 Reinigung von NF-Membranen

In der nachfolgenden Abb. 42 sind die Ergebnisse einiger Reinigungstests dargestellt. Die Reinigung von Membranen ist ein wesentlicher Prozessschritt.

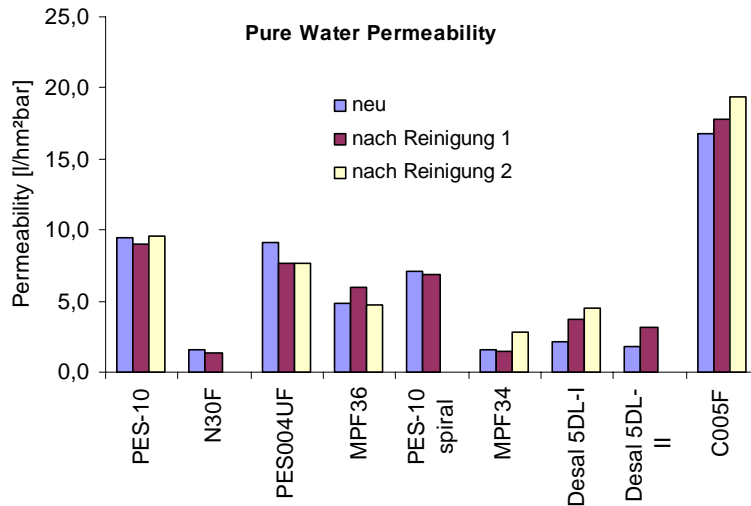


Abb. 42 Versuche zur Reinigung der eingesetzten Membranen

Alle organischen Membranen mit hoher chemischer Stabilität lassen sich sehr gut reinigen. Im Fall der organischen Membranen mit geringerer chemischer Resistenz führte auch eine einfache Spülung mit Wasser zu guten Reinigungsergebnissen.

5.3 Modul 3 – Nanofiltration II

Die durchgeführten Versuche sollten Hinweise hinsichtlich Entsalzung und gleichzeitig Fraktionierung eines Stoffgemisches mit einem Molmassenspektrum zwischen etwa 1000 und 200 Dalton liefern. Um Produktverluste zu vermeiden müssen naturgemäß möglichst dichte NF-Membranen eingesetzt werden. Ausgewählt wurden zwei bekannte Membrantypen mit den Bezeichnungen MPF34 (chemisch stabil, Fa. KOCH, D) und die bereits verwendete Desal 5DL. Als Feedvorlage diente ein 1:2 verdünntes PES10 Permeat. Die Verdünnung ist sinnvoll, da die Erfahrung zeigt (hoher osmotischer Druck), dass sonst zu geringe Flüsse zu erwarten sind. In Abb. 43 sind zunächst die Permeatleistungen dargestellt, wobei grundsätzlich gesagt werden kann, dass diese akzeptabel sind.

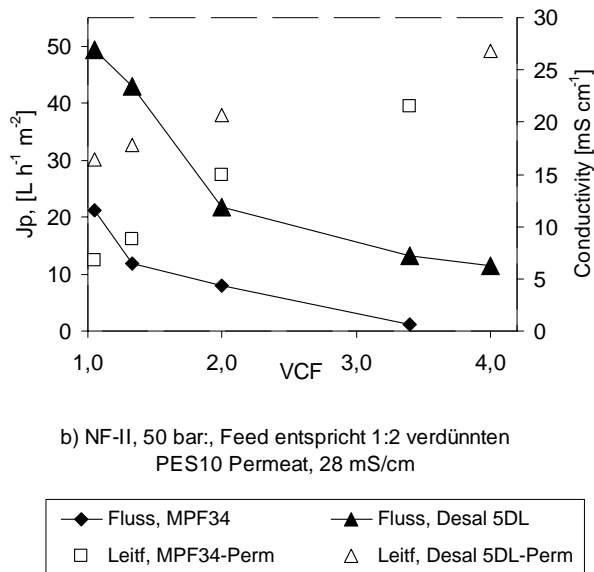


Abb. 43 Nanofiltration eines PES10 Permeates mit zwei „dichten“ NF Membranen

In Tab. 15 sind die entsprechenden Rückhaltungsergebnisse zusammengefasst. Es zeigt sich zunächst deutlich, dass nicht jede „dichte“ Membran für die vorliegende Applikation geeignet ist. Andererseits sind die Ergebnisse mit dem Membrantyp MPF34 durchaus akzeptabel. Die Milchsäureverluste (Rückhaltung nur 84%) können mit einem zweistufigen Prozess wesentlich gesenkt werden, ohne dabei die Selektivität beispielsweise bezüglich einwertiger Salze zu verändern.

Tab. 15 Rückhaltung bei der Nanofiltration eines PES10 Permeates entsprechend Abb. 43.

Rückhaltungen

Summery

	DM	CP	Lactat	Potassium	Fructose	SO4	Flux, l/hm ²
MPF34	83%	69%	84%	65%	89%	95%	6,7
Desal 5DL	57%	75%	66%	40%	60%	90%	24,6

Amino Acids

	CP CP	Aspartate Asp	Asparagine Asn	Alanine Ala	Phenyl- alanine Phe	Leucine Leu	Lysine Lys	AA gesamt	Flux, l/hm ²
MPF34	69%	99%	94%	90%	100%	100%	100%	6,7	
Desal 5DL	75%	79%	71%	53%	62%	72%	77%	24,6	

Bem.: hohe Aminosäurerückhaltung widerspricht der niedrigeren Rohproteinrückhaltung.

Salts

	NH4	K	Mg	Ca	Cl	NO3	SO4	Flux, l/hm ²
MPF34	56%	65%	100%	92%	13%	7%	95%	6,7
Desal 5DL	44%	40%	-	53%	0%	-10%	90%	24,6

Sugars

	Man	Ara	Gal	Glc	Xyl+	Frc+	Suc	Flux, l/hm ²
MPF34	82%	92%	96%	89%	96%	89%	89%	6,7
Desal 5DL	58%	49%	62%	63%	66%	60%	57%	24,6

organic acids

	Lactat	Acetat
MPF34	84%	77%
Desal 5DL	66%	49%

5.4 Modul 4 – Elektrodialyse

Drei Forschungsarbeiten im Zusammenhang mit der Elektrodialyse (auch frühere Projekte, teilweise nicht durch FDZ finanziert) wurden veröffentlicht. Die Publikationen sind im Anhang zitiert.

5.5 Modul 5 – Chromatographie

Wie bereits angeführt, gehört die Chromatographie neben Membranverfahren zu den Schlüsseltechnologien der GBR. Chromatographische Untersuchungen konnten allerdings nicht im Rahmen des vorliegenden Projektes im ausreichenden Maße durchgeführt werden (Schwerpunkt Nanofiltration). Einige Versuche sollten trotzdem zumindest als Orientierungshilfe bei diversen Diskussionen und Beurteilungen technologischer Gesamtszenarien dienen. In Abb. 44 sind einige Aminosäure-Adsorptionsisotherme (Modelllösung) dargestellt. Diese sollten erste Hinweise über die grundsätzliche Trennbarkeit einiger wichtiger Aminosäuren liefern, wobei ein Industrieharz (Ionenausschlusschromatographie, DOW99, siehe Methoden und Materialien) verwendet wurde.

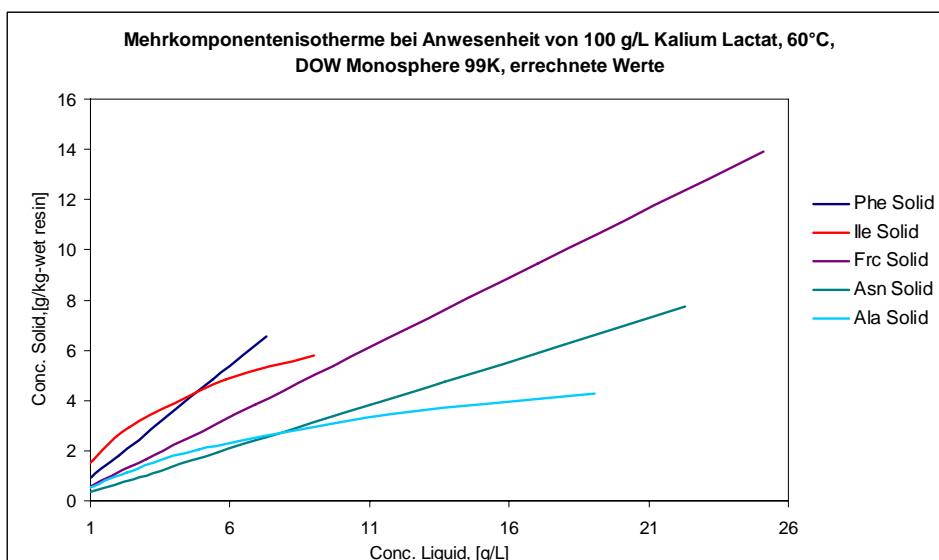
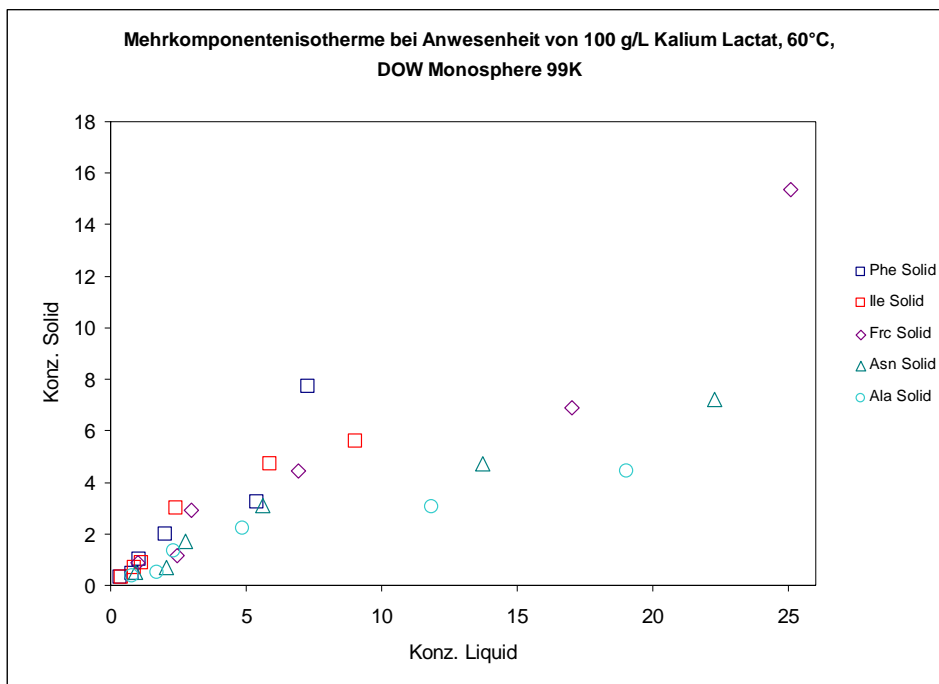


Abb. 44 Adsorptionsisotherme eines Aminosäuregemisches (Modelllösung), Harztyp DOW99

Genauso wurde ein Versuch durchgeführt, in dem mit einem bestimmten Harztyp (Aminex HPX-87K, Partikeldurchmesser 9 μm) versucht wurde aus Trennverhalten im analytischen Maßstab auf Trennverhalten in größeren Maßstäben zurück zu schließen (siehe Abb. 45). Wie aus der Abb. 45 ersichtlich ist, können unter der Berücksichtigung entsprechender Probenkonzentrationen und Trennstufenzahlen praktisch relevante Trennungen erwartet werden.

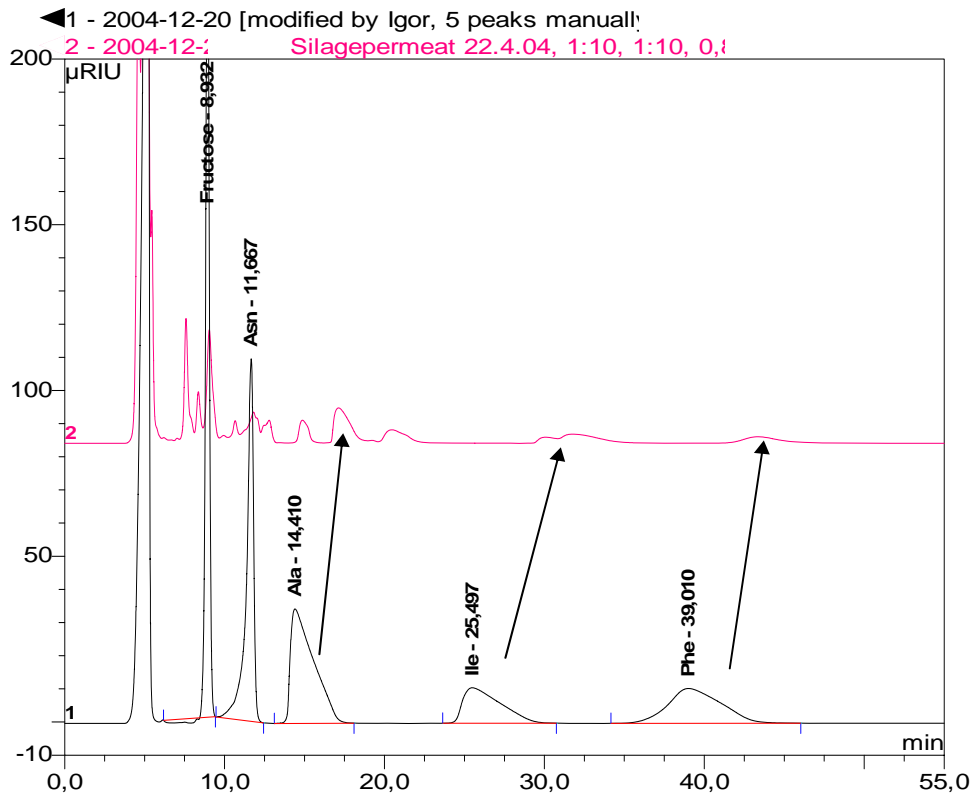


Abb. 45 Chromatographischer Trennung Vergleich: Silagesaft (oben) und Modellösung (unten); Aminex HPX-87K, 20 μL Probenvolumen, Aminex-Säule siehe Methoden.

Um auch erste (orientierende) Informationen über den Einfluss der Partikelgröße auf die Bodenzahl (theoretische Bodenhöhe) zu erhalten, wurde ein entsprechender Versuch mit kommerziell verfügbaren Harzen durchgeführt (Abb. 46, siehe auch Methoden und Materialien). In diesem Versuch zeigen sich die Einflüsse der Partikelgröße und Uniformität deutlich in der Weise, dass Harze mit größerem Durchmesser und geringerer Partikelgrößenstreuung nicht unbedingt ähnliche Trenneigenschaften aufweisen wie Harze mit kleineren Partikeldurchmessern. Der in Abb. 47 dargestellte Versuch soll erste Hinweise auf die Trenncharakteristik bei praktischen Beladungskonzentrationen- und Volumina zeigen. Die Trennung zwischen Salzen und Nichtsalzen scheint auch bei höheren Beladungen möglich. Gleichzeitig ist ersichtlich, dass Phenylalanin (vertretend für aromatische Aminosäuren – Trp., Tyr.) zwar abgetrennt werden kann, allerdings wäre die Trennung mit wirtschaftlichen Problemen verbunden. Der Gehalt an Isoleucin (BCAA) in der aufgegeben Probe betrug 14 g/L die Konzentration in Fraktion A6 beträgt 7 g/L. Betrachtet man die Isothermen (Abb. 44) so erkennt man, dass eine Trennung von Ile bzw. BCAA's von Zuckern bzw. anderen Aminosäuren erst bei niedrigeren Konzentrationen möglich ist – im Bild der Isotherme also links des gedachten Schnittpunkt

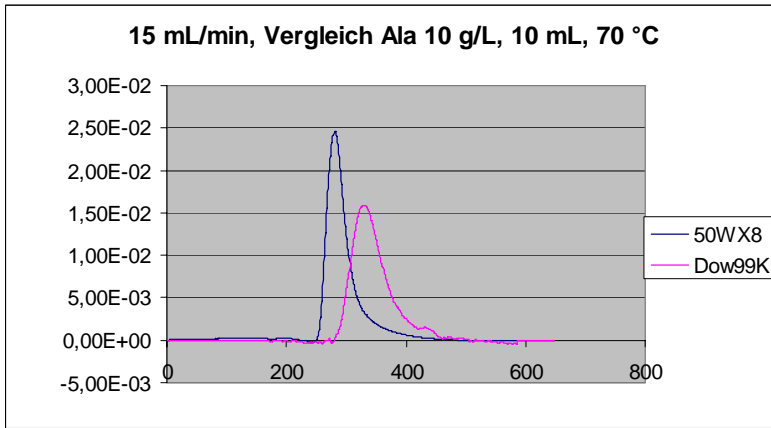


Abb. 46 Vergleich kleiner Partikeldurchmesser monodisperse Partikelverteilung

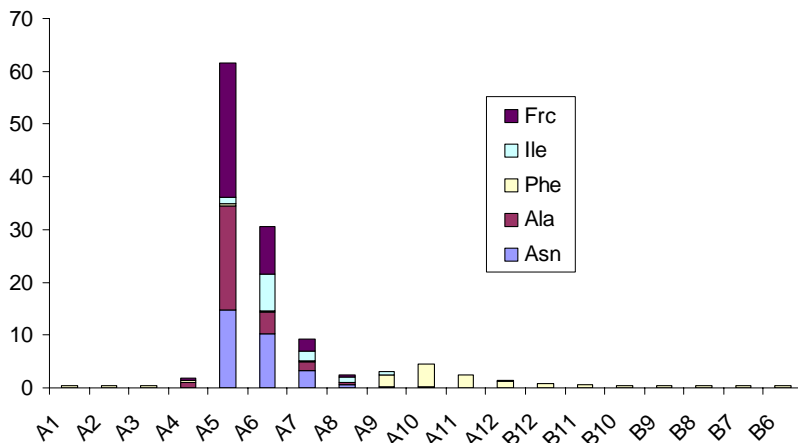
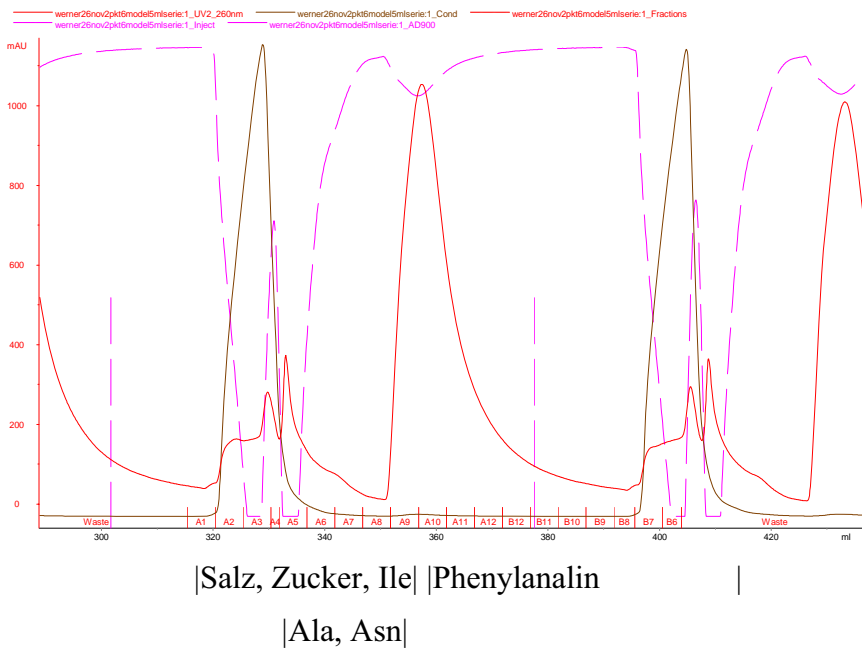


Abb. 47 Pulsversuch mit Modellösung (C 16-21), siehe Methoden, Trenncharakteristik bei praktischen Beladungszuständen (Konzentration, Volumen, siehe Methoden)

der roten Ile-Kurve und der Fructosekurve. Damit wird auch das Funktionieren der Trennung bei geringen Konzentrationen (siehe Analytik und Pulsversuch mit geringer Probenmenge – Abb. 47) erklärt während bei hohen Ile-Konzentrationen die Trennung nicht so deutlich ist. Übertragen auf bekannte Prozesse wie der Gewinnung verzweigt-kettiger BCAA's aus Melasse heißt dies: der Ile Gehalt bzw. (BCAA-Gehalt) in Melasse ist sehr gering, so dass eine Abtrennung der verzweigt-kettigen Aminosäuren relativ gut funktioniert. Schließlich zeigt Abb. 48 zwei Versuche mit Silagesaft, bei denen unter sonst identischen Bedingungen nur das Probenvolumen unterschiedlich ist.

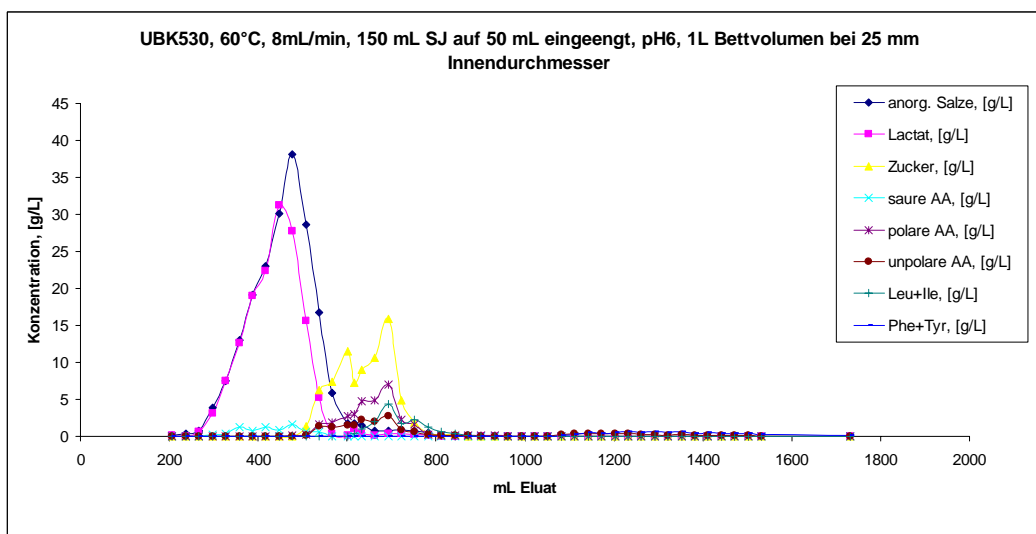
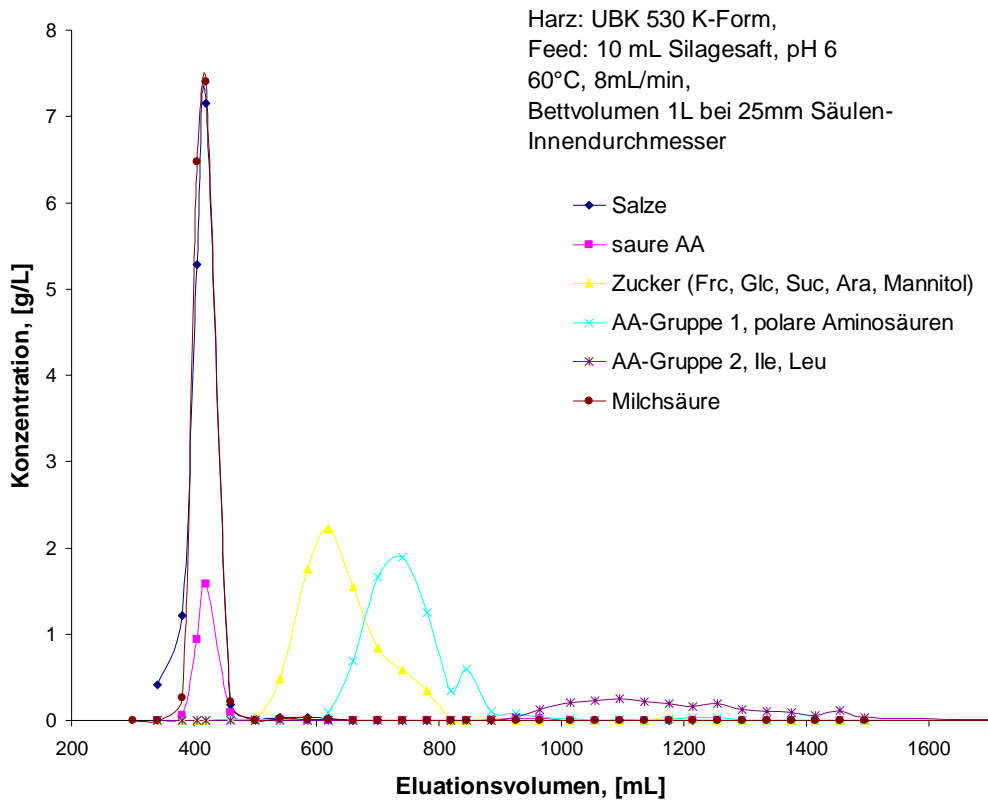


Abb. 48 Chromatographieversuche mit Silagesaft bei unterschiedlichen Probenvolumina

Dieser Test zeigt zunächst deutlich, wie schwierig es sein dürfte, ein derart komplexes Gemisch in einzelne Substanzen zu trennen. Insbesondere zeigt sich auch der ungünstige Einfluss der Probenaufgabemenge, wenn an industrielle Maßstäbe gedacht wird.

Weiter Forschungsarbeiten im Zusammenhang der Chromatographie (teilweise nicht durch FDZ finanziert) wurden im Rahmen einer Publikation veröffentlicht. Die Publikation ist im Anhang zitiert.

5.6 Modul 6 – Konvertierung

Zu diesem Arbeitsmodul wurden keine experimentellen Arbeiten durchgeführt. Allerdings spielt dieser technologische Bereich eine wesentliche Rolle im Zusammenhang mit der Anwendung nachhaltiger technologischer Prozesse. Es ist davon auszugehen, dass hier die Elektrodialyse mit bipolaren Membranen von besonderer Bedeutung sein wird.

5.7 Modul 7 – Produktaufreinigung

Zu diesem Arbeitsmodul wurden keine experimentellen Arbeiten durchgeführt. Die Chromatographie wird im Zusammenhang mit der Produktaufreinigung eine wesentliche Rolle spielen.

5.8 Modul 8 – Ionentausch

Zu diesem Arbeitsmodul wurden keine experimentellen Arbeiten durchgeführt. Allerdings ist zu betonen, dass diese Technologie zur Trennung zwischen Aminosäuren und Zuckern angewendet werden könnte, wobei dies unter Berücksichtigung einer nachhaltigen Entwicklung (Kreislaufschließung) erfolgen muss. D. h. entweder Rückgewinnung der Regenerationsmittel oder Einbindung der anfallenden Regenerationssalze in die regionalen Kreisläufe (Dünger).

6. Technologische und wirtschaftliche Gesamtstrategien

6.1 Vergleich dreier Szenarien

Auf Basis bisheriger Ergebnisse der Phosphatfällung (Modul 1), Nanofiltration (Modul 2, 3), Elektrodialyse (Modul 4) und Annahmen zur Chromatographie (Modul 5) wurden einige Gesamtszenarien diskutiert, von denen 3 hinsichtlich Massenströme und Wirtschaftlichkeit detaillierter verglichen und nachfolgend dargestellt wurden. Es muss allerdings ausdrücklich betont werden, dass keines dieser Szenarien als praktisch umsetzbar oder favorisiert betrachtet werden kann, da keine Detailinformationen zur Chromatographie vorliegen.

Tab. 16 Silagesaftzusammensetzung als Grundlage für die Szenarien

	g/mol	Formel	Gehalt im Silagesaft, [g/L]
Anorg. Ionen			26,09
Ammonium	18,039	NH ₄ ⁺	0,68
Kalium	39,102	K ⁺	11,66
Magnesium	24,3	Mg ⁺⁺	0,55
Calcium	40,08	Ca ⁺⁺	1,54
Chlorid	35,453	Cl ⁻	4,13
Nitrat	62,007	NO ₃ ⁻	1,70
Phosphat	94,974	PO ₄ ⁻⁻⁽⁻⁾	3,62
Sulfat	96,064	SO ₄ ⁻⁻	2,21
Mol-Equ+			0,46
Mol-Equ-			0,27
Kohlenhydrate			26,59
Mannitol	182,178	C ₆ H ₁₄ O ₆	3,36
Arabinose	150,1	C ₅ H ₁₀ O ₅	1,35
Galactose	180,2	C ₆ H ₁₂ O ₆	2,12
Glukose	180,2	C ₆ H ₁₂ O ₆	6,91
Xylose	150,1	C ₅ H ₁₀ O ₅	0,51
Fructose	180,2	C ₆ H ₁₂ O ₆	9,84
Saccharose	342,3	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₂	2,50
org. Säuren			34,30
Milchsäure	90,08	C ₃ H ₆ O ₃	29,72
Essigsäure	60,05	C ₂ H ₄ O ₂	4,58
Molequ. -			0,19
Aminosäuren			20,27
Asparaginsäure	133,1	C ₄ H ₇ NO ₄	2,27
Glutaminsäure	147,1	C ₅ H ₉ NO ₄	1,04
Asparagin	132,1	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	0,98
Serin	105	C ₃ H ₇ NO ₃	0,95
Glutamin	146,1	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	0,16
Histidin	155,2	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	0,39
Glycin	75,07	C ₂ H ₅ NO ₂	0,81
Threonin	119,1	C ₄ H ₉ NO ₃	1,05
Arginin	174,2	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	0,22
Alanin	89,09	C ₃ H ₇ NO ₂	1,82
Gaba	103,1	C ₄ H ₉ NO ₂	1,40
Tyrosin	181,2	C ₉ H ₁₁ NO ₃	0,62
Valin	117,1	C ₅ H ₁₁ NO ₂	1,35
Methionin	149,2	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	0,44
Tryptophan	204,2	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	0,30
Phenylalanin	165,2	C ₉ H ₁₁ NO ₂	0,94
Isoleucin	131,2	C ₆ H ₁₃ NO ₂	0,96
Leucin	131,2	C ₆ H ₁₃ NO ₂	1,77
Lysin	146,2	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	1,39
Prolin	115,1	C ₅ H ₉ NO ₂	1,10
Cystein	121,2	C ₃ H ₇ NO ₂ S	0,30
Mol-Equ+			0,013
Mol-Equ-			0,024
Trockensubstanz, DM	-		100
Rohprotein, CP	-		31,3
Peptide			11,06
Vers. Subst. >300 D			2
Vers. Subst. <300 D			2

Tab. 17 Parameter zur wirtschaftlichen Berechnung der 3 Szenarien

Gesamt GBR Parameter, ----- veränderbare Parameter		
Parameter 1	Zinssatz für Kredite	7%
Parameter 2	Faktor , RMZ bei 10a Lebensdauer, nach DINXXX	0,1424
Parameter 3	Faktor , RMZ bei 5a Lebensdauer, nach DINXXX	0,2439
Parameter 4	Faktor , RMZ bei 20a Lebensdauer, nach DINXXX	0,0944
Parameter 5	Kosten elektr. Energie, €/kWh	0,07
Parameter 6	Kosten therm. Energie, €/kWh	0,02
Parameter 7	Betriebstunden pro Jahr	7700
Parameter 8	Betriebstunden pro Jahr, ED	7000
Parameter 9	Jahresinput, m ³ -Saft mit 10 % TS	30000
Parameter 10	Infrastrukturinvest, per m ³ auf 10 a	30
Parameter 11	Infrastrukturinvest, per m ³ auf 20 a	60
Parameter 12	Saftrohstoffkosten, per m ³ mit 10 %TS	25 €
Parameter 13	PK-Kosten	65 €
Parameter 14	Silagegraskosten am Ort der GBR, per t DM	90 €
Parameter 15	Personalkosten, 1 Schichtarbeiter	40.000 €
Parameter 16	Personal pro 1000 m ³	0,5
Parameter 17	Investkosten IXC pro 10 m ³ , (4 bis 40 m ³ BV), 10 m ³ , Exp0,6	€ 1.000.000
Parameter 18	Verdampferkosten (0,5 bis 10 m ³ /h), per 2 m ³ /h, $(x \text{ m}^3/\text{h}/2)^{0,6}$	€ 400.000
Parameter 19	Invest Biogas pro kWel, (200-1000), per 500 kWel., Faktor exp-0,7	€ 900.000
Parameter 20	ED-Membrankosten, €/m ² eff	250 €
Parameter 21	Preis für Elektr. Strom aus Biomasse	0,12 €
Parameter 22	Preis für 1 t 37%ige HCl	200 €
Parameter 23	Preis für 20 %ige KOH	100 €
Parameter 24	Membranpreis, desal 5DL, per m ²	100 €
Parameter 25	Membranpreis, Nadir C005, per m ²	80 €
Parameter 26	Invest . 3 stufiger Fallfilverd. 3 m ³ /h, Faktor 0,6, 1 bis 5 m ³ /h	€ 450.000
Parameter 27	E-th.-Bedarf 3 stufiger Fallfilmverdampfer, per kWh/m ³ -Wasser	200
Parameter 28	E-el.Bedarf 3 stufiger Fallfilmverdampfer, per kWh/m ³ -Wasser	10
Parameter 29	Invest UF/NF per m ³ /h Umwälzpumpe, bis 12 bar	900 €

Szenario A

Nach Phosphatfällung, NF-I und NF-II werden in einem *Elektrodialyses*schritt (ED-1) anorganisches und organisches Salze (Lactat) von Zuckern und Aminosäuren getrennt. Zur Gewinnung der freien Milchsäure wird das Kaliumlactat/Kaliumchloridgemisch (verunreinigt mit andren anorganischen Salzen und Aminosäurenverlusten der ED-1) mit konzentrierter Salzsäure konvertiert. Durch einen weiteren Elektrodialysesschritt (ED-2) wird nun die undissoziierte freie Milchsäure entsalzt. Die Aminosäurefraktion (Diluat der Elektrodialyse ED-1) wird mittels Ionenausschlusschromatographie in weitere Fraktion getrennt (siehe Abb. 49). Die dabei wichtigste Fraktion ist die mit verzweigt-kettigen Aminosäuren angereicherte.

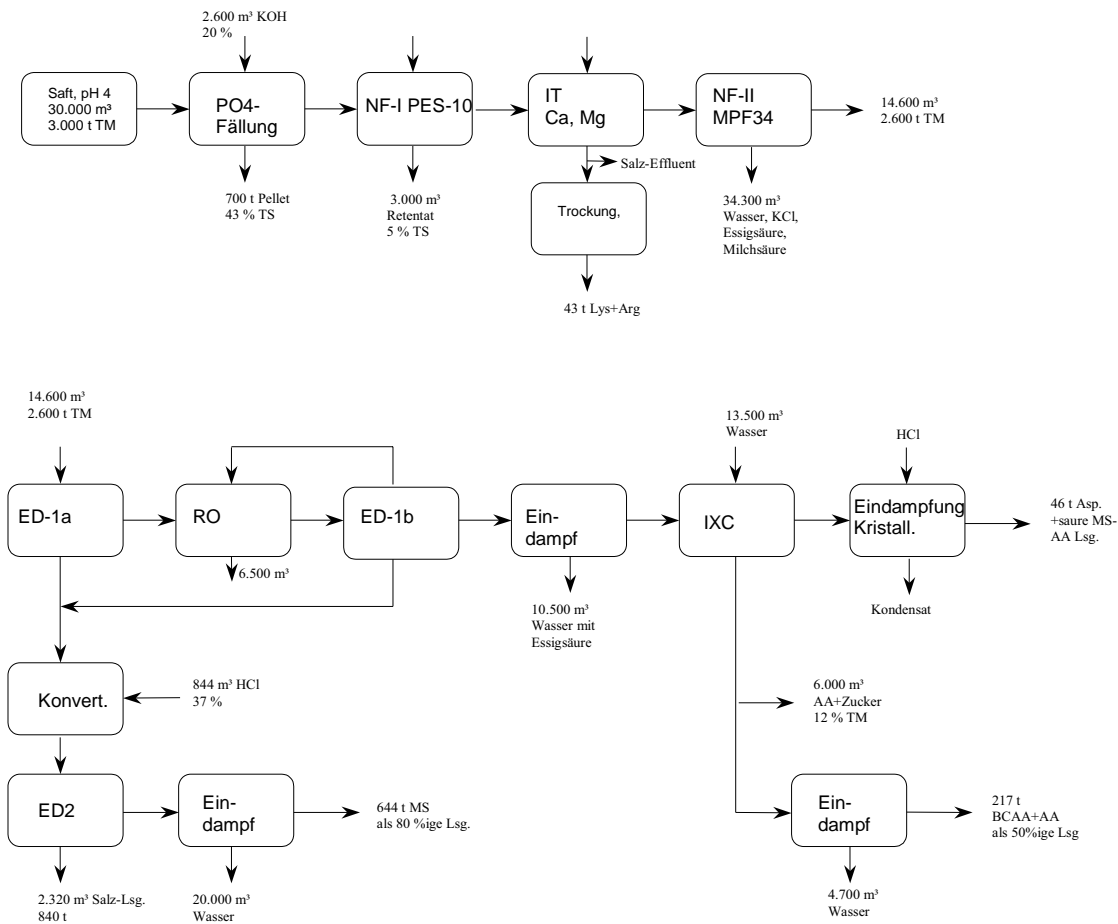


Abb. 49 Szenario A - Hauptprozessschritte: Elektrodialyse, Nanofiltration und Chromatographie

Szenario B

Die nachfolgende Abb. 50 zeigt das zweite Szenario B.

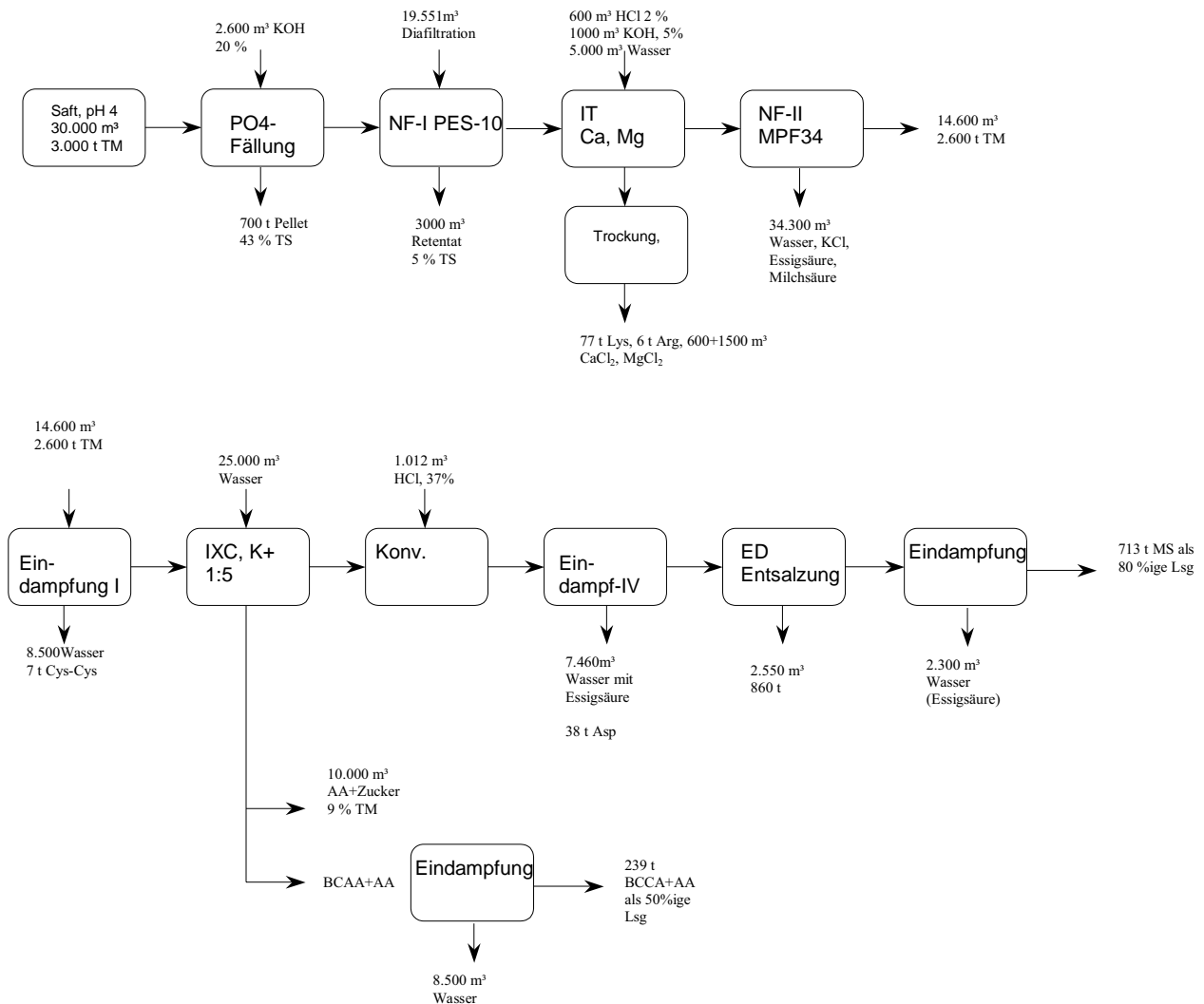


Abb. 50 Szenario B - Hauptprozessschritte: Nanofiltration und Chromatographie

Wie bei Szenario A wird beim Szenario B zuerst der pH-Wert auf 8,5 angehoben und unlösliche Phosphatsalze entfernt. Nach den 2 Nanofiltrationsstufen (NF-I, NF-II) wird nach Aufkonzentrierung mittels Ionenausschlusschromatographie der Silagesaft in 2 Fraktionen aufgetrennt. 1) Salze – hauptsächlich Kaliumlactat und Kaliumchlorid- aber auch Aminosäuresalze und Glutamat 2) Zucker und neutrale Aminosäuren, wobei hier spekuliert wurde, dass es zu einer zusätzlichen Auftrennung oder besser Verzögerung der verzweigt-kettigen und aromatischen Aminosäuren kommt, welche als hochpreisige Fraktion (siehe auch Szenario A) der Haupterlösbringer des Szenarios ist. Die freie Milchsäure wird durch Ansäuerung (Konvertierung) mit Salzsäure und anschließender Entsalzung mittels Elektrodialyse gewonnen. Die in der Salzfraktion des Hauptprozesses Ionenausschlusschromatographie befindlichen sauren Aminosäuren Aspartat und Glutaminsäure könnten zu einem gewissen Teil durch Ausfällung am isoelektrischen Punkt (3,2 für Glu und 2,8 für Asp) teilweise entfernt bzw. gewonnen werden.

Szenario C

Im Gegensatz zu A und B wird Silagesaft bei unverändertem pH-Wert nanofiltriert bzw. Diafiltriert und damit ein Großteil der Milchsäure und einwertiger Salze von der Aminosäurefraktion abgetrennt. Das Nanofiltrationspermeat wird eingedampft und mit konzentrierter Schwefelsäure angesäuert. Die Fraktion enthält nun freie Milchsäure zusammen mit Kaliumsulfat und anderen anorganischen Salzen. In einem Chromatographieschritt (an hydrophoben Polystereneharzen ohne Ladungsgruppen (XAD1600 Rohm&Haas) werden ähnlich wie bei der Ionenausschlusschromatographie polare Substanzen von weniger polaren Substanzen getrennt. Die nachlaufende Fraktion wäre in diesem Fall freie Milchsäure. Die Aminosäurefraktion (Nanofiltrationsretentat) wird wie auch bei Szenario A u. B mittel Ionenausschlusschromatographie in 2 Fraktion getrennt 1) Salze, 2) Zucker und Aminosäuren wobei es wieder zu einer zusätzlichen Verzögerung der verzweigtkettigen Aminosäuren kommen soll was wiederum zu dem Haupterlösprodukt führt.

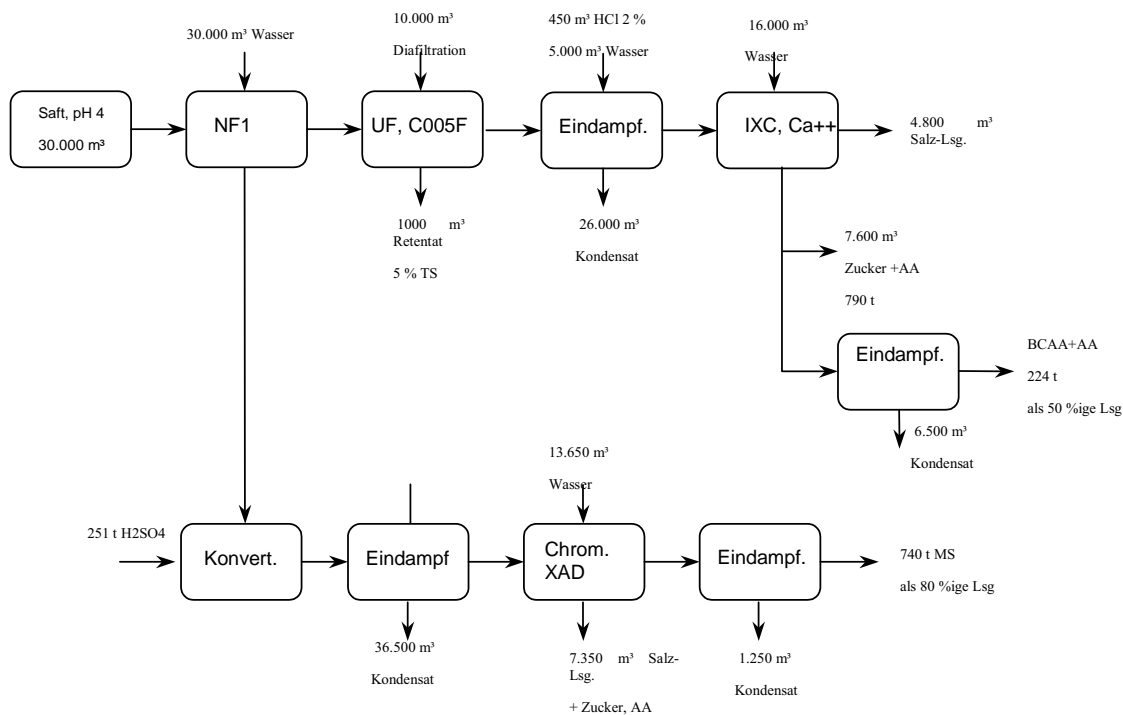


Abb. 51 Szenario C - Hauptprozessschritte: Nanofiltration (und Chromatographie)

Tab. 18 Wirtschaftlicher Vergleich der drei Szenarien

Zusammenfassung, El.-Energieeinkauf um 0,12 €/kWh, Verkauf um 0,07 €/kWh	A - Chrom	B - ED1	E - NF, "Biogasbetreiber"
Kosten:	-4.036.457 €	-4.198.267 €	-3.705.719 €
Rostoffkosten Silage	-900.000 €	-900.000 €	-900.000 €
Rohstoff, Saft	-750.000 €	-750.000 €	-750.000 €
Rohstoff PK, Biogas	-455.000 €	-455.000 €	-455.000 €
Personal	-600.000 €	-600.000 €	-600.000 €
Energie, el. 7Cent/kWh	-187.285 €	-250.669 €	-152.194 €
Energie, Therm	-103.758 €	-61.318 €	-346.166 €
Verbrauchsmaterialien	-734.961 €	-873.826 €	-302.580 €
Kapitalkosten Basisinvest	-298.047 €	-298.047 €	-298.047 €
Kapitalkosten, Downstreaming	-689.311 €	-691.312 €	-583.638 €
Kapitalkosten, Biogas	-158.095 €	-158.095 €	-158.095 €
Entsorgung???	0 €	0 €	0 €
laufende Kosten, 10 % der Personalkosten	-60.000 €	-60.000 €	-60.000 €
Erträge	4.035.435 €	3.695.444 €	3.852.389 €
Erträge elektr. Strom aus Biogas, 12 Cent/kWh	648.000 €	648.000 €	648.000 €
Wärme, Biogas, "Nullsumme"	103.758 €	61.318 €	346.166 €
AA-Säuren Kategorie 30 €/kg, Tyr	-	-	-
AA-Säuren Kategorie 10 €/kg, Phe	-	-	-
AA-Säuren Kategorie 10 €/kg-AA, Produkt mit 40 % BCAA	2.432.128 €	2.169.301 €	2.262.275 €
AA-Säuren Kategorie 10 €/kg, Cys ²	72.002 €	60.933 €	-
AA-Säuren Kategorie 5 €/kg, Asp	189.691 €	229.590 €	-
Aminosäuren Kategorie 1 €/kg-AA unter 25 % AA	162.018 €	139.901 €	152.612 €
Aminosäuren Kategorie 2 €/kg-AA über 40 % AA			
MS, 0,6 €/kg	427.839 €	386.402 €	443.335 €
Pigmente -	-	-	-
Kennzahlen			
Leu, t (Leitsubstanz unp. AA), (theor.)	44,69, (52,96)	41,19, (52,96)	44,07, (52,96)
MS, t	713	644	739
Invest Downstreaming	-4.841.430 €	-4.855.483 €	-4.099.228 €
Nebenprodukt Salz, t	780	934	798 (SO4)
polare AA+Zucker, t, (% AA)	853, (19%)	728, (19%)	836, (18%)
Bruttortendite bei 66 % Eigenkapital	-0,03%	-13,31%	4,31%
Kosten KOH, HCl	-497.083 €	-492.402 €	-31.250 €
Anteil Rohstoffkosten	22%	21%	24%
Ausnutzung therm. Energie bei E-therm=50 % Eges	63%	34%	192%
E-el-Prozess/E-el-Biogas, weniger ist besser	50%	66%	40%

Betrachtet man die obige Tabelle 18, so lassen sich folgende Grundaussagen tätigen:

- Haupterlösprodukt ist das Produkt „Aminosäurengemisch mit verzweigtkettigen AA“
- Die Gewinnung des Haupterlösprodukts erfolgt in allen 3 Szenarien mit Hilfe eines chromatographischen Ionenausschlussprozesses.
- Folgerungen aus den Szenarien:

Die erkannten Probleme und verfahrenstechnischen Details zu den unterschiedlichen Prozessschritten werden in den nachfolgenden drei Matrizen dargestellt.

Szenarienmatrix

Szenariomatrix	Szenario I	Szenario II	Szenario III
Trennung MS/AA	Elektrodialyse	IXC	Hybridprozess-NF
Abtrennung Biomoleküle	NF-I	NF-I	UF, IXC (AA-Gewinnung)
Konvertierung freie MS	EDB	EDB	H ₂ SO ₄ , (EDB?)
Gewinnung BCAA-Fraktion	IXC-K+	IXC-K+	IXC-Ca++
Gewinnung phenolischer AA	- ? -	Adsorption an XAD	- ? -
Gewinnung basischer AA	IT, bei Ca Entfernung	IT, bei Ca-Entfernung	- ? -
Gewinnung Cystein	Ausfällung for IXC	Ausfällung for IXC	Ausfällung for IXC
Gewinnung saurerer AA	Verluste bei ED, gute Gewinnbarkeit (Kristallisation) in Salzfraktion der IXC	schwierige Kristallisation aus Salzfraktion der IXC	gute Gewinnbarkeit (Kristallisation) aus IXC-Fraktion
Gewinnung MS	aus zusätzlichen Chromatographieschritt	aus zusätzlichen Chromatographieschritt	aus zusätzlichen Chromatographieschritt
Zuckerproblematik	als AA+Zucker Fraktion in der IXC	als AA+Zucker Fraktion in der IXC	als AA+Zucker Fraktion in der IXC
Phosphatproblematik	PO ₄ -Fällung am Beginn	PO ₄ -Fällung am Beginn	Phosphat teilweise in Milchsäure-fraktion. Entfernung über IT?
Ca, Mg Problematik	PO ₄ -Fällung, IT vor IXC, spez. IT vor EDB	PO ₄ -Fällung, IT vor IXC, spez. IT vor EDB	- ? - offene Fragen zur IXC-Ca++ EDB unmöglich??
Reststoffproblematik	geringe Reststoffe - als Kaliumdünger verwertbar Chloride???	geringe Reststoffe - als Kaliumdünger verwertbar Chloride???	Sulfatsalze (K-SO ₄), sauer
E-Bedarf, elektr.	hoch	moderat	(ungewiss) - moderat

Technologiematrix

Technologiematrix	Elektrodialyse	IXC-K+	NF/Hybridprozess
allgemeine Beschreibung	Trennung von ionogenen Molekülen aus einem Gemisch. Aufkonzentrierung des Elektrolyten	Elektrolytvorlaufverfahren. Trennt ionogene von neutralen Molekülen. Zusätzliche Effekte: Phasenverteilung, Grössenausschluss	Entsalzung durch NF. Rückführung von verlustigen Werstoffen durch Kombination ED/RO. Gewinnung hochkonz. MS/Salz-Gemisches durch ED
Vorteile hinsichtlich Fraktionierung AA/MS	Trennt in einem Schritt MS und Salze von allen AA	keine MS-Verluste	geringste AA-Verluste
Nachteile hinsichtlich Fraktionierung AA/MS	teilweise Verluste von AA	saure AA in der Salzfraction, basische AA müssen entfernt werden	Hohe Restmenge an MS.
Voraussetzungen für optimalen Betrieb	hohe Salzkonzentration, niedriger Widerstand des Diluats, keine Störstoffe (Fouling durch Biomoleküle). Keine Ausfällungen	geringe Konzentration an mehrwertigen Kationen. Keine Ausfällungen.	gute Vorfiltrierung
E-Bedarf, elektr.	hoch, 85 Wh/mol Salz	sehr gering	moderat bis hoch
E-Bedarf, therm.	kaum vorhanden	hoch durch Eindampfung der Fraktionen	kaum vorhanden
Invest. Kosten	gering zu den Betriebskosten	bestimmt durch Eluatenverbrauch und dessen Rückführung über Eindampfung.	moderate - durch hohe Standzeiten der Mebranen (ED, RO permeatseitig)
Betriebskosten	bestimmt durch E.Bedarf und Membranstandzeit	wie oben	bestimmt durch elektr. Energie
wichtige Betriebskennzahlen	Membranfläche, E-Bedarf pro mol	Verhältnis Feed zu Eluent, 1:6	Membranfläche NF-1

Aminosäurenmatrix

AA-Matrix	g/L in Silagesaft	derzeit. Produktion	Erlöspotential Euro/kg	GBR-Trennung
saure AA, Asparaginsäure, Glutaminsäure	1,7 - 1,52	Enz. - Ferm.	5 - 1,0	Kristallisation und Ausfällung am pl ~ 2,8 bzw. ~3
basische AA, Lysin, Arginin, (Histidin)	1,88 - 0,16	Ferm. - Extrakt. - (Extrakt.)	2 - 10 bis 25 - 10 bis 25	Bindung an Kationentauscher bei pH < 8
phenolische AA, Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan	1,14 - 0,50 - 045	Enz./Ferm./Extrakt. - Extrakt. - Ferm.	10 bis 25 - 20 bis 25 - 20 bis 40	Adsorption an Adsorberharzen. Eventuell als spät eluiernede Fraktion in der IXC. Ausfällung des schwer löslichen Tyrosins.
BCAA-Fraktion, Leucin, Isoleucin, Valin	2,07 - 1,04 - 1,38	Extrakt.	10 - 15 als Gemisch, Leu: 10 bis 25; Val: 15 bis 35; Ile: 30 bis 60	Als nachlaufende Fraktion in der IXC. Kristallisation aus IXC- Fraktion.
Asparagin, Glutamin, Serin, Threonin, Alanin, Glycin, Gaba, Methionin, (Prolin)	1,47 - 0,26 - 1,10 - 1,29 - 2,01 - 0,95 - 1,93 - 0,57 - 1,1	Glycin synthetisch, Serin extrakt. aus Molasse, DL-Methionin synthetisch, L- Methionin enzym., Threonin-Ferm.	5 bis 20 als reine AA Gemische 10 bis 25 als einzelne AA	- ? -
Cystein	0,3	Extrakt.	10 bis 20	Ausfällung bei pH 4 bis 7 nach Oxidation zu Cys-Cys

6.2 Szenario B II

Basierend auf den Erkenntnissen der 3 diskutierten Szenarien sowie der Berücksichtigung bestimmter Pressergebnisse der Jahre 2002-2004 wurde das Szenario B nochmals detaillierter betrachtet und als Basis für eine genauere Wirtschaftlichkeitsbetrachtung verwendet. Nach wie vor dienen alle Überlegungen und Berechnungen nur als Orientierungshilfe zur Beantwortung der im Kapitel 2 definierten Projektziele und Fragestellungen.

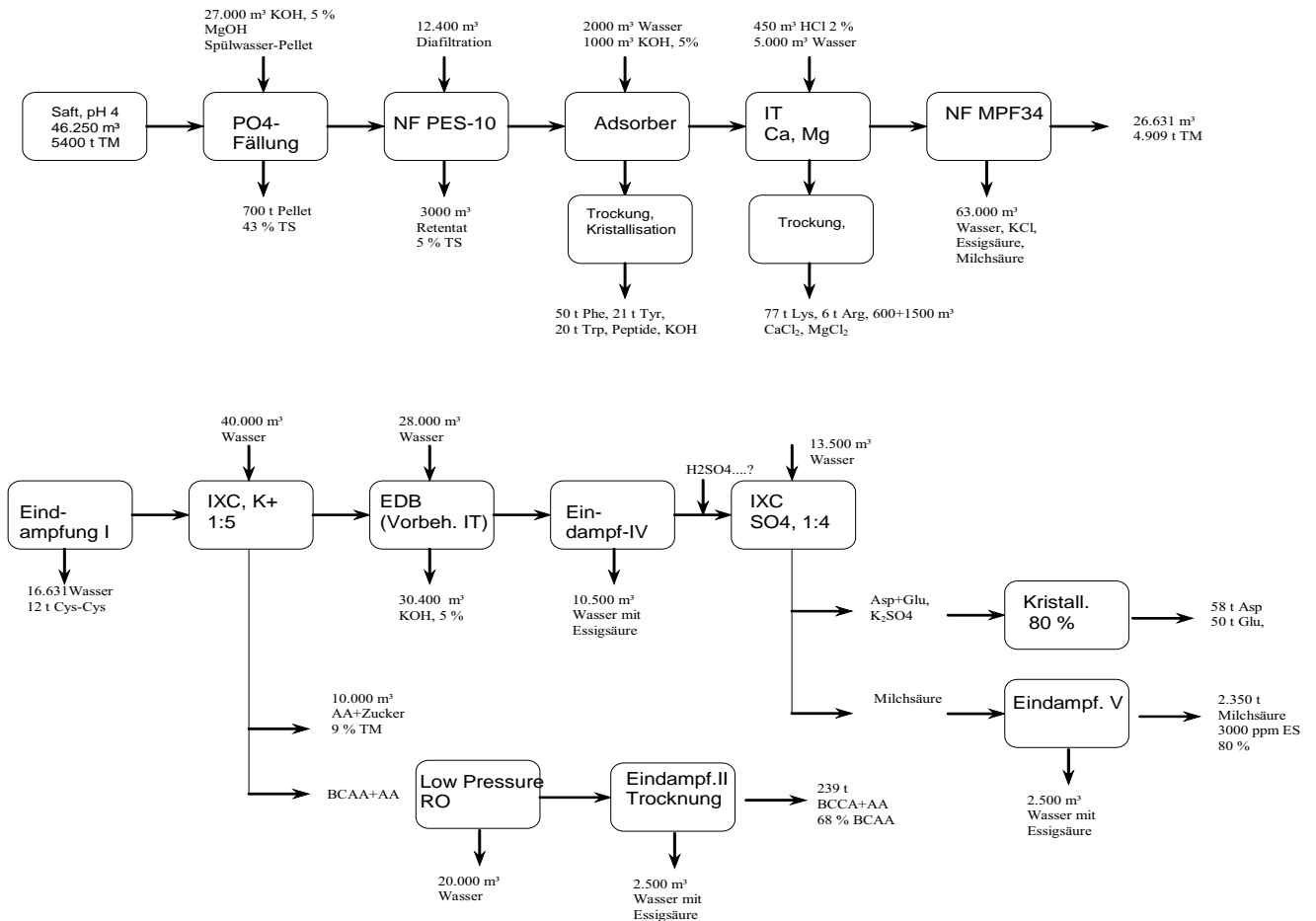


Abb. 52 Szenario B II – verbessertes Szenario B

Die wesentlichsten Unterschiede zu Szenario B sind:

- Kaliumlactat wird mittels bipolarer Elektrodialyse zu freie Milchsäure konvertiert, was auch zur Folge hat, dass das zur Phosphatfällung notwendige KOH sehr verdünnt ist und somit zusätzliche Flüssigkeitsmengen ins Spiel kommen.
- Aromatische Aminosäuren werden vor der IXC entfernt - Adsorptionsschritt
- Grössere Massenströme

Für die umfassendere Wirtschaftlichkeitsbetrachtung wurde die Rohstoffzusammensetzung entsprechend Tab. 19 angenommen.

Tab. 19 Saftzusammensetzung für Szenario B II

	g/mol	Formel	Gehalt im Silagesaft, [g/L]
Anorg. Ionen			21,06
Ammonium	18,039	NH ₄ ⁺	1,23
Kalium	39,102	K ⁺	9,60
Magnesium	24,3	Mg ⁺⁺	0,25
Calcium	40,08	Ca ⁺⁺	0,78
Chlorid	35,453	Cl ⁻	2,22
Nitrat	62,007	NO ₃ ⁻	2,74
Phosphat	94,974	PO ₄ ⁻⁻⁽⁻⁾	2,93
Sulfat	96,064	SO ₄ ⁻⁻	1,31
Mol-Equ+			0,37
Mol-Equ-			0,20
Kohlenhydrate			11,00
Mannitol	182,178	C ₆ H ₁₄ O ₆	4,24
Arabinose	150,1	C ₅ H ₁₀ O ₅	0,13
Galactose	180,2	C ₆ H ₁₂ O ₆	0,74
Glukose	180,2	C ₆ H ₁₂ O ₆	1,21
Xylose	150,1	C ₅ H ₁₀ O ₅	0,00
Fructose	180,2	C ₆ H ₁₂ O ₆	2,07
Saccharose	342,3	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₂	2,62
org. Säuren			56,92
Milchsäure	90,08	C ₃ H ₆ O ₃	46,92
Essigsäure	60,05	C ₂ H ₄ O ₂	10,00
Molequ. -			0,32
Aminosäuren			23,56
Asparaginsäure	133,1	C ₄ H ₇ NO ₄	1,70
Glutaminsäure	147,1	C ₅ H ₉ NO ₄	1,52
Asparagin	132,1	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	1,47
Serin	105	C ₃ H ₇ NO ₃	1,10
Glutamin	146,1	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	0,26
Histidin	155,2	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	0,74
Glycin	75,07	C ₂ H ₅ NO ₂	0,95
Threonin	119,1	C ₄ H ₉ NO ₃	1,29
Arginin	174,2	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	0,16
Alanin	89,09	C ₃ H ₇ NO ₂	2,01
Gaba	103,1	C ₄ H ₉ NO ₂	1,93
Tyrosin	181,2	C ₉ H ₁₁ NO ₃	0,50
Valin	117,1	C ₅ H ₁₁ NO ₂	1,38
Methionin	149,2	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	0,57
Tryptophan	204,2	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	0,45
Phenylalanin	165,2	C ₉ H ₁₁ NO ₂	1,14
Isoleucin	131,2	C ₆ H ₁₃ NO ₂	1,04
Leucin	131,2	C ₆ H ₁₃ NO ₂	2,07
Lysin	146,2	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	1,88
Prolin	115,1	C ₅ H ₉ NO ₂	1,10
Cystein	121,2	C ₃ H ₇ NO ₂ S	0,30
Mol-Equ+			0,019
Mol-Equ-			0,023
Trockensubstanz, DM	-		117
Rohprotein, CP	-		31,3
Peptide			3,00
Vers. Subst. >300 D			2
Vers. Subst. <300 D			2

7. Zukünftige allgemeine Bedeutung des Projektes und Schlussfolgerungen

In vielen Industriebereichen (Lebensmitteltechnologie, Biotechnologie, chemische Industrie usw.) spielen „Downstreamprozesse“ bei der Herstellung von Produkten eine zentrale Rolle. Die Produktkosten (die Wirtschaftlichkeit) wird sehr oft maßgeblich von den Downstreamkosten bestimmt. Gleichzeitig wird die Umweltfreundlichkeit (Nachhaltigkeit) vieler Produktionstechnologien ebenfalls von Downstreamprozessen in hohem Maße beeinflusst. In zukünftigen nachhaltigen Fabriken, in denen auch nachwachsende Rohstoffe bevorzugt eingesetzt werden sollen, werden Downstreamprozesse eine noch zentralere Rolle spielen als dies derzeit der Fall ist. Dies geht jedenfalls aus dem vorliegenden Projekt klar hervor, wobei durchaus die Frage gestellt werden kann, ob nicht in ferner Zukunft nachhaltige Fabriken ohne „viel Downstreamprocessing“ vorstellbar sind.

Downstreamprozesse sind zumeist Trennprozesse (Separationsprozesse), wobei heutzutage von konventionellen Trennprozessen (z. B. chemische Fällung, Rektifikation usw.) und „modernen“ „zukunftsorientierten“ Separationsprozessen (z. B. Membranverfahren, Prozesschromatographie oder Überkritische Extraktion) gesprochen werden kann. Diese zum Teil erst seit wenigen Jahren verfügbaren Technologien z. B. Elektrodialyse mit bipolaren Membranen oder Nanofiltration weisen klare Vorteile gegenüber konventionellen Verfahren auf. Solche Technologien werden im Rahmen des vorliegenden Projektes eingesetzt und weiter entwickelt. Vor diesem Hintergrund braucht nicht besonders betont werden, dass die Entwicklung dieser Verfahren auch für viele andere Anwendungsfälle von essenzieller Bedeutung ist. Von Bedeutung ist vielmehr die Erkenntnis, dass solche Verfahren für die Zukunft sowohl aus wirtschaftlicher als auch aus technologischer Sicht wahrscheinlich unumgänglich sind.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Fabrik der Zukunft (Gewinnung von Wertsstoffen aus Grassilagesaft) können mit den Ergebnissen und der gewonnenen Erfahrung viele auch weiterreichende Fragen beantwortet werden. Die Leistungsfähigkeit von Membranverfahren kann für verschiedene Prozessvarianten detailliert beurteilt werden. Eine umfassende und abschließende Diskussion über die Gewinnung von Aminosäuren und Milchsäure aus Grassilagesaft lässt sich ohne Detailinformationen zur Chromatographie nicht führen. Trotzdem lassen die Ergebnisse und die durchgeführten Analysen zu möglichen Gesamtscenarien eine optimistische Sichtweise zu. Sowohl aus technologischer als auch aus wirtschaftlicher Sicht ist eine baldige zumindest teilweise Umsetzung der Idee (Grüne Bioraffinerie) real vorstellbar, da 2 – 3 Aminosäureprodukte konkrete Marktchancen aufweisen.

8. Ausblick

Man kann davon ausgehen, dass nach etwa 1,5 Jahren Entwicklungszeit mit chromatographischen Trennoperationen ein Konzept für eine Fabrik der Zukunft im Pilotmaßstab erstellt werden kann. Real vorstellbar ist dabei eine erste industriell orientierte Pilotanlage, in der zunächst zwei bis drei Aminosäurefraktionen für Musterzwecke hergestellt werden können, wobei diese Produkte reale marktwirtschaftliche Chancen aufweist. In diesem Zusammenhang zeigt die Abb. 53 die Gesamtentwicklung der Idee Grüne Bioraffinerie

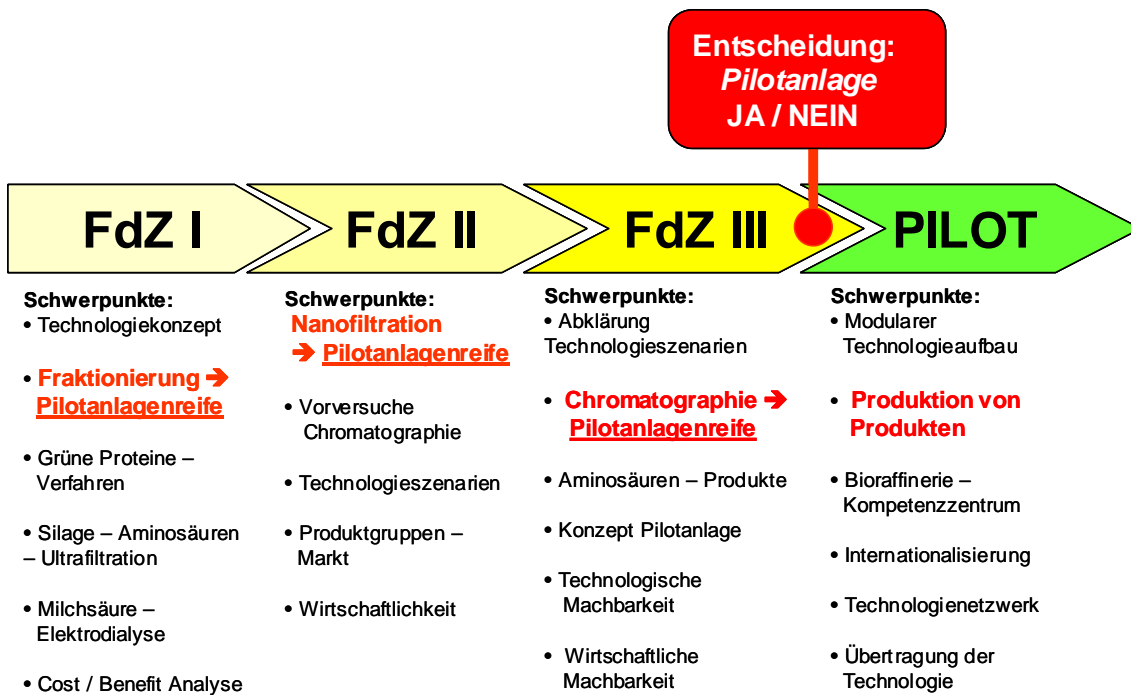


Abb. 53 Gesamtentwicklung der Grünen Bioraffinerie

9. Literatur

- [1] Hein W., 2002: persönliche Mitteilung in Rahmen einer Exkursion in der Zuckerfabrik Tulln
- [2] Nyström et. al 2002, Patent WO02053781, Separation Process
- [3] Florence Lutin, Mathieu Bailly, Daniel Barb, 2002: Process improvements with innovative technologies in the starch and sugar industries, Desalination - 148, 121-124
- [4] C. Krotscheck, S. Kromus, W. Koschuh, M. Narodoslowsky, 2002: Grüne Bioraffinerie Österreichs - Integrierte Grasnutzung als Eckstein einer nachhaltigen Kulturlandschaftsentwicklung, Buch - Endbericht BBK Projekt, Kornberg Institut
- [5] Kromus, Krotscheck, Koschuh, Povoden, 2003: Grüne Bioraffinerie – Gewinnung von Proteinen aus Grassäften, FdZ, Projekt 804136
- [6] Krotscheck, Kromus, Koschuh, 2003: Grüne Bioraffinerie – Gewinnung von Milchsäure aus Graspresssäften, FdZ, Projekt 804141
- [7] Wachter, Mandl, 2003: Grüne Bioraffinerie – Verwertung der Grasfaserfraktion, FdZ, Projekt
- [8] Kromus Stefan, 2003: Grüne Bioraffinerie Österreich – Entwicklung eines integrierten Systems zur Nutzung von Grünlandbiomasse, Dissertation - Inst. F. Grundlagen der Verfahrenstechnik, TU-Graz
- [9] Statistik Austria, 2003: Statistisches Jahrbuch Österreichs 2002, Tab. 17.04
- [10] Statistik Austria, 2003: Statistisches Jahrbuch Österreichs 2002, Tab. 18.01
- [11] Heinz Jeroch, Gerhard Flachowsky, Friedrich Weißbach, 1993: Futtermittelkunde
- [12] Frank Schmädeke, 1998: Lachgas- und Methanflüsse eines Gley-Auenbodens unter dem Einfluß einer Rapsfruchtfolge und in Abhängigkeit von der N-Düngung; Dissertation Universität Göttingen
- [13] BFL, 1999: Richtlinien für die sachgerechte Düngung, Institut für Bodenkultur am Bundesamtund Forschungszentrum für Landwirtschaft, BMLF, Wien
- [14] Schnider 2003: Technikfolgenabschätzung – Theorie und Praxis Nr. 3/4, 12. Jg., November 2003
- [15] Schnider 2003: Technikfolgenabschätzung der Grünen Bioraffinerie, Institut für Technikfolgenabschätzung, Wien
- [16] Clark et al in 2004: Sustainable development in practice - case studies for engineers and scientists,- Adisa Azapagic (Editor), Wiley
- [17] Winters, Kunin, 1949: Ion Exchange in the pharmaceutical field, Industrial Engineering Chemical - 41-
- [18] Dorfner Konrad, 1990: Ion Exchangers]
- [19] Schwabe Eckhard, Optimierung neuartiger Aufreinigungsverfahren in der Aminosäuredarstellung am Beispiel Leucin und Isoleucin, Diss
- [20] Schärtges 1993
- [21] Leuchtenberger W. 1996 in Biotechnology 6 - Products of Primary Metabolism, Biotechnology - Rehm H., Reed G

- [22] Kascak J.S., Kominel J., Max Roehr 1996 in : Biotechnology 6 - Products of Primary Metabolism, Biotechnology - Rehm H., Reed G
- [23] Atkinson B. 1983, Biochemical engineering and biotechnology handbook II, S1044 ff
- [24] Van Velthuisen (Purac), 1994, Lactic acid production and utilization - in Carbohydrats as organic raw Materials III, Wageningen
- [25] Bailly M., Roux-de Balman h., Aimar P., Lutin F., Cheryan M., 2001: Production processes of fermented organic A targeted around membrane operations - design of the concentration step by conventional electrodialysis, Journal of Membranscience - 191, 129-141
- [26] Sang Hyeon Kang, Yong Keun Chang, and Ho Nam Chang, 2004: Recovery of Ammonium Lactate and Removal of Hardness from Fermentation Broth by Nanofiltration, Biotechnology Progress - 20, 764-770
- [27] SHIGENOBU MIURA et al, 2004: Enhanced Production of L-Lactic Acid by Ammonia-Tolerant Mutant Strain Rhizopus sp. MK-96-1196, JOURNAL OF BIOSCIENCE AND BIOENGINEERING - Vol. 97, No. 1, 19–23. 2004
- [28] <http://www.protchem.com/hvp.html>
- [29] Präve P., 1994: Handbuch der Biotechnologie, Oldenburg Verlag,
- [30] Rathin Datta , Shih-Perng Tsai, Patrick Bonsignore, Seung-Hyeon Moon, James R. Frank, 1995: Technological and economic potential of poly(lactic acid) and lactic acid derivatives, FEMS Microbiology Reviews - 16 (1995) 221-231
- [31] Patent, WO9300440, RECOVERY OF LACTATE ESTERS AND LACTIC ACID FROM FERMENTATION BROTH, Du Pont 1993
- [32] Jørgen Wagner, 2001: Membrane Filtration Handbook Practical Tips and Hints, Buch - Second Edition, Revision 2.
- [33] Aminex 2001(?), Guide to Aminex HPLC Columns, Bulletin 1928, Biorad
- [34] Helferich 1959, Ionentauscher, Band I, Verlag Chemie Weinheim
- [35] Jack Cazes, Raymond P. W. Scott, 2002: Chromatography Theory, Marcel Dekker
- [36] Eppert Günter J., 1997: Flüssigchromatographie, Buch - Verlag Vieweg
- [37] DOW-Chemical, 2002, Using Ion Exchange Resin Selectivity Coefficients
- [38] Dominique PAILLAT, Michel COTILLON and Marc-André THÉOLEYRE, 2000: Technology of chromatographic separation in glucose syrup processes, sonstiges - Association AVH – 7e Symposium – Reims, mars 2000
- [39] Saska et. al, 1993: Application of continuous chromatographic separation in the sugar industry –Part II Equilibria and separation of salt – sugar solutions, International Sugar Journal, Vol 95-1132
- [40] Saska et. al, 1994: Application of continuous chromatographic separation in the sugar industry –III Desugarization of can molasses, International Sugar Journal, Vol 96-1150
- [41] Ewald Seidelmann, 1997: Erste Erfahrungen mit einer chromatographischen Melasseentzuckerungsanlage, Zuckerindustrie - 122 (1997) Nr. 1, S. 13-21

[42] Saska et. al, 1991: Application of continuous chromatographic separation in the sugar industry –Part I . Glucose/fructose equilibria on Dowex Monosphere 99 CA resin at high sugar concentration, International Sugar Journal, Vol 95-1132

[43] HEIKKILA HEIKKI (FI) Anmelder : SUOMEN SOKERI OY (FI), 1986: Production of pure sugars and lignosulfonates from sulfite spent liquor, Patente - US4631129

[44] Bruce Pynnonen, 1998: Simulated moving bed processing: escape from the high-cost box, Journal of Chromatography A - 827 (1998) 143–160

[45] A. Cramer, 1995: Optimierung der Aufbereitungsverfahren zur Gewinnung von Milchsäure aus Fermentationsmaischen, Dissertation Univ. f. Bodenkultur, Wien

[46] I. Stratful et. al, 2001: Conditions influencing the precipitation of Magnesium Ammonium Phospahte, Water Research - Vol. 35, No. 17, pp. 4191–4199

10. Anhang

Publikationen:

Flux and retention behaviour of nanofiltration and fine ultrafiltration membranes in filtrating juice from a Green Biorefinery: a Membrane Screening

Werner Koschuh*, Vu Hong Thang, Stanimira Krasteva, Senad Novalin, Klaus D. Kulbe

Department of Food Science and Technology, University of Natural Resources and Applied Life Science - Vienna, Muthgasse 18, 1190 Vienna, Austria

Desalination of high salt content mixture by two-stage electro dialysis as the first step of separating valuable substances from grass silage

Vu Hong Thang, Werner Koschuh, Klaus D. Kulbe, Stefan Kromus, Christian Krotschek, Senad Novalin*

Department of Food Science and Technology, University of Natural Resources and Applied Life Science - Vienna, Muthgasse 18, 1190 Vienna, Austria

Detailed investigation of an electro dialytic process during the separation of lactic acid from a complex mixture

Vu Hong Thang, Werner Koschuh, Klaus D. Kulbe, Senad Novalin*

Department of Food Science and Technology, University of Natural Resources and Applied Life Science - Vienna, Muthgasse 18, 1190 Vienna, Austria

Electro dialysis versus chromatography for desalting silage juice: comparison of both processes with regard to energy consumption

Vu Hong Thang, Werner Koschuh, Klaus D. Kulbe, Senad Novalin*

Department of Food Science and Technology, University of Natural Resources and Applied Life Sciences (BOKU), Muthgasse 18, A-1190 Vienna, Austria.