

**Modellbildung, Simulation und ökologische  
Bewertung in der Entwicklung  
biotechnologischer Prozesse**

**Dissertation  
zur Erlangung des Grades  
des Doktors der Naturwissenschaften  
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät III  
Chemie, Pharmazie und Werkstoffwissenschaften  
der Universität des Saarlandes**

**von  
Arno P. Biwer**

**Saarbrücken  
2003**

**Tag des Kolloquiums:**

**17.07.2003**

**Dekan:**

**Prof. Horst Vehoff**

**Berichterstatter:**

**Prof. Elmar Heinzle**

**Prof. Horst Chmiel**

Bittet, so wird euch gegeben;  
suchet, so werdet ihr finden;  
klopfet an, so wird euch aufgetan.  
Mt 7,7 – aus der Bergpredigt

Quidquid agis, prudenter agas et respice finem.  
(Was du auch tust, tu es klug und bedenke das Ende.)  
Gesta Romanorum 103

So eine Arbeit wird eigentlich nie fertig,  
man muss sie für fertig erklären, wenn man nach  
Zeit und Umständen das möglichste getan hat.  
Goethe, Italienische Reise (über sein Drama *Iphigenie auf Tauris*)



# DANKSAGUNG

---

Mein erster Dank gilt Herrn Prof. Elmar Heinzle für die Überlassung des Themas, für seine tatkräftige Unterstützung und für seinen Humor, den ihm auch eine Überfülle an Aktivitäten nicht austreiben konnte. Neben seiner immensen fachlichen Hilfe, war er mir in den vergangenen drei Jahren ein Doktorvater im besten Sinne.

Herrn Prof. Horst Chmiel danke ich herzlich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.

Mein bester Dank gilt allen Mitarbeitern am Institut für Technische Biochemie für das gute und offene Arbeitsklima. Für ihre Diskussionsbereitschaft, die Hilfe bei Computerproblemen, für das Korrektur lesen dieser Arbeit und für das gemeinsame Tee trinken danke ich dabei besonders Svenja Weiss, Ditte Bungert, Tae Hoon Yang (Superweiser) und Dr. Christoph Wittmann und seinem breiten Wissen der Biotechnologie.

Der Deutschen Bundesstiftung Umwelt danke ich für die finanzielle und ideelle Unterstützung.

Bei den Partnern im „Ökoeval“-Projekt, hier insbesondere bei Pascal Zuber, bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit. Gleiches gilt für die Projektpartner aus dem DBU-Verbund „Biokatalyse“ vom Forschungszentrum Jülich (IBT I + II), der TU Hamburg (Technische Mikrobiologie) und der Universität Köln (Institut für Biochemie).

Jasmina danke ich für ihre Liebe, Unterstützung und Geduld.

Mein letzter und größter Dank gilt meinen Eltern, die mir stets den Freiraum für meine eigenen Entscheidungen geben und mich auf dem einmal eingeschlagenen Weg immer unterstützt haben.



# INHALT

---

## ZUSAMMENFASSUNG

## ABSTRACT

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>EINFÜHRUNG IN DEN THEMENBEREICH.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1.</b>	<b>Ökoeffizienz und Nachhaltigkeit.....</b>	<b>3</b>
<b>2.2.</b>	<b>Ökoeffizienz und integrierte Prozessentwicklung .....</b>	<b>4</b>
<b>2.3.</b>	<b>Potential der Biotechnologie für die Nachhaltigkeit .....</b>	<b>7</b>
<b>III.</b>	<b>BEWERTUNGSMETHODE .....</b>	<b>9</b>
<b>3.1.</b>	<b>Methodisches Vorgehen .....</b>	<b>9</b>
<b>3.2.</b>	<b>Wirkungskategorien.....</b>	<b>10</b>
	3.2.1. Ressourcenverfügbarkeit und Grey Inputs .....	13
	3.2.2. Umweltkompartiment Luft .....	15
	3.2.3. Umweltkompartimente Wasser und Boden.....	18
	3.2.4. Wirkung auf Organismen .....	19
	3.2.5. Sicherheitsaspekte .....	23
<b>3.3.</b>	<b>Ableitung Environmental Factors .....</b>	<b>24</b>
<b>3.4.</b>	<b>Indizes.....</b>	<b>30</b>
	3.4.1. Mass Indices .....	30
	3.4.2. Environmental Indices.....	30
	3.4.3. General Effect Index .....	31
	3.4.4. Impact Category Indices und Impact Group Indices.....	31
<b>3.5.</b>	<b>Einbindung der Methode in die Prozessentwicklung.....</b>	<b>32</b>
<b>3.6.</b>	<b>Literaturbeispiel Spaltung von Penicillin G .....</b>	<b>33</b>
	3.6.1. Verfahrensalternativen .....	33
	3.6.2. Ökologische Bewertung .....	34
<b>IV.</b>	<b>MODELLBILDUNG UND SIMULATION.....</b>	<b>39</b>
<b>4.1.</b>	<b>Einführung.....</b>	<b>39</b>
<b>4.2.</b>	<b>Modellierung der Grundoperationen .....</b>	<b>41</b>
	4.2.1. Allgemeines.....	41
	4.2.2. Vorratstanks und kontinuierliche Sterilisation .....	42
	4.2.3. Zentrifugation.....	44
	4.2.4. Mikrofiltration.....	45
	4.2.5. Ultrafiltration.....	46
	4.2.6. Vakuumtrommelfilter .....	47

4.2.7. Ionentauscher .....	47
4.2.8. Adsorption .....	48
4.2.9. Wasserdampfdestillation .....	49
4.2.10. Extraktion .....	51
4.2.11. Elektrodialyse .....	53
4.2.12. Kristallisation .....	55
4.2.13. Kondensator .....	56
4.2.14. Dekanter .....	58
4.2.15. Trockner .....	58
<b>4.3. Modellierung Fermenter und Reaktoren .....</b>	<b>60</b>
<b>4.4. Grundlagen der Energieverbrauchsabschätzung .....</b>	<b>62</b>
4.4.1. Heizen, Kühlen und Kondensieren .....	63
4.4.2. Rühren .....	66
<b>4.5. Abschätzung pH-Regulierung .....</b>	<b>67</b>
<b>V. FALLBEISPIEL ZITRONENSÄURE .....</b>	<b>69</b>
<b>5.1. Einleitung .....</b>	<b>69</b>
<b>5.2. Fermentation .....</b>	<b>69</b>
<b>5.3. Verfahrensaufbau und Simulation .....</b>	<b>71</b>
<b>5.4. Unsicherheiten .....</b>	<b>75</b>
<b>5.5. Sachbilanz und Energiebedarf .....</b>	<b>76</b>
<b>5.6. Ökologische Bewertung .....</b>	<b>79</b>
<b>5.7. Fazit .....</b>	<b>81</b>
<b>VI. FALLBEISPIEL <math>\alpha</math>-CYCLODEXTRIN .....</b>	<b>83</b>
<b>6.1. Einleitung .....</b>	<b>83</b>
<b>6.2. Stoffumwandlung .....</b>	<b>84</b>
<b>6.3. Verfahrensaufbau und Simulation .....</b>	<b>86</b>
6.3.1. Solvent-Verfahren .....	86
6.3.2. Non-Solvent-Verfahren .....	89
<b>6.4. Unsicherheiten .....</b>	<b>92</b>
<b>6.5. Sachbilanz und Energiebedarf .....</b>	<b>93</b>
<b>6.6. Ökologische Bewertung .....</b>	<b>96</b>
<b>6.7. Sensitivitätsanalysen .....</b>	<b>100</b>
6.7.1. Ausbeute der enzymatischen Umwandlung .....	100
6.7.1.1. Modelländerungen .....	100
6.7.1.2. Ergebnis .....	101
6.7.2. Raum-Zeit-Ausbeute .....	104
6.7.2.1. Dauer der enzymatischen Umwandlung .....	104
6.7.2.2. Startkonzentration Stärke .....	105
6.7.3. Einsatz thermostabiler CGTasen .....	108
6.7.3.1. Enzymatische Umwandlung und Reaktionsführung .....	108



6.7.3.2. Energiebetrachtung .....	110
6.7.4. Eluatmenge Adsorption .....	111
<b>6.8. Fazit .....</b>	<b>113</b>
<b>VII. FALLBEISPIEL BRENZTRAUBENSÄURE .....</b>	<b>117</b>
<b>7.1. Einleitung .....</b>	<b>117</b>
<b>7.2. Stoffumwandlung .....</b>	<b>118</b>
<b>7.3. Verfahrensaufbau und Simulation .....</b>	<b>121</b>
7.3.1. Abbildung der Entwicklungsstadien .....	122
7.3.1.1. Version 1.....	122
7.3.1.2. Version 2 und 3.....	125
7.3.2. Alternative Aufreinigungsverfahren.....	127
7.3.2.1. Kristallisation aus Diethylether .....	127
7.3.2.2. Elektrodialyse.....	128
<b>7.4. Unsicherheiten .....</b>	<b>130</b>
<b>7.5. Sachbilanz und Energiebedarf.....</b>	<b>131</b>
<b>7.6. Ökologische Bewertung .....</b>	<b>138</b>
<b>7.7. Sensitivitätsanalysen .....</b>	<b>143</b>
7.7.1. Volumen organische Aufnehmerphase in Extraktion P-37 .....	143
7.7.1.1. Modelländerungen.....	143
7.7.1.2. Ergebnis.....	144
7.7.2. Stoffeigenschaften Lösungsmittel 1 .....	146
7.7.2.1. Modelländerungen.....	146
7.7.2.2. Ergebnis.....	147
<b>7.8. Fazit .....</b>	<b>149</b>
<b>VIII. ABSCHLUSSDISKUSSION.....</b>	<b>153</b>
<b>IX. LITERATUR.....</b>	<b>159</b>

## ANHANG

- Anhang A: Bewertungsmethodik**
- Anhang B: Prozessparameter Modelle**
- Anhang C: Fallbeispiel Zitronensäure**
- Anhang D: Fallbeispiel  $\alpha$ -Cyclodextrin**
- Anhang E: Fallbeispiel Brenztraubensäure**

## PUBLIKATIONSLISTE

# ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

ADI	Acceptable Daily Intake (FAO/WHO)
ait	Selbstzündungstemperatur
AOX	Absorbable Organic Halogens
AP	Acidification Potential
6-APS	6-Aminopenicillansäure
ATP	Adenosintriphosphat
BTS	Brenztraubensäure
bv	Bettvolumen
CD	Cyclodextrin
CGTase	Cyclodextringlycosyltransferase
CH-Giftkl.	Schweizer Giftklassen nach dem schweizerischen Giftgesetz
$c_i$	Konzentration Stoff i
COD	Chemical Oxygen Demand (Chemischer Sauerstoffbedarf, CSB)
$c_p$	Wärmekapazität
DBU	Deutsche Bundesstiftung Umwelt
DDT	Dichlor-diphenyl-trichlorethan
DIN	Deutsches Institut für Normung
EC	Effektkonzentration
ED	Elektrodialyse
EDP	Endocrine Disruption Potential
EF	Environmental Factor
$EF_{Mult}$	Multiplikativ ermittelter Environmental Factor
$EF_{Mw}$	Mittelwertbasierter Environmental Factor
EGW	Einwohnergleichwert
EI	Environmental Index
$EI_{Mult}$	Environmental Index, mit $EF_{Mult}$ ermittelt
$EI_{Mw}$	Environmental Index, mit $EF_{Mw}$ ermittelt
EPA	Environmental Protection Agency (US)
ERPG	Emergency Response Planning Guidelines (American Industrial Hygiene Association)
EU	Gefahrensymbole, Klassifizierung der Europäischen Union (EU)
FAD	Flavin-adenin-dinucleotid

---

FCKW	Fluorchlorkohlenwasserstoffe
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
fp	Flammpunkt
GEI	General Effect Index
GWP	Global Warming Potential (International Panel on Climate Change)
IARC	Klassifizierung der International Agency for Research on Cancer (WHO)
IBT I+II	Institut für Biotechnologie I+II, Forschungszentrum Jülich
IC	Impact Category (Wirkungskategorie)
ICI	Impact Category Index
IDLH	Immediately Dangerous to Life and Health (National Institute for Occupational Safety and Health, USA)
IG	Impact Group (Wirkungsklasse)
IGI	Impact Group Index
IPCC	International Panel on Climate Change
ISO	International Organization for Standardization
kg/kg P	kg Stoff pro kg Endprodukt
$K_i$	Verteilungskoeffizient Stoff i
l	Spezifischer Trockengasbedarf
LC <sub>50 %</sub>	Letale Konzentration, 50 %
LD <sub>50 %</sub>	Letale Dosis, 50 %
LCA	Life Cycle Assessment
LM	Lösungsmittel
log ( $\lambda$ )	Logarithmus der elektrischen Leitfähigkeit
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration (nach § 3 Abs. 5 Gefahrstoff-Verordnung)
MI	Mass Index
$m_i$	Menge/Masse Stoff i
MO	Mikroorganismen
$m_p$	Menge Produkt
MW	Molekulargewicht
NAD	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NADP	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat
NFPA	Hazard Classes US National Fire Protection Agency (H = Health, F = Flammability, R = Reactivity)
NOEL	No Observed Effect Level (FAO/WHO)
ODP	Ozone Depletion Potential (UNEP, Montrealer Protokoll)

OECD	Organization for Economic Cooperation and Development
p	Dampfdruck
PCB	Polychlorierte Biphenyle
PIUS	Produktionsintegrierter Umweltschutz
pK <sub>s</sub>	negativer dekadischer Logarithmus der Dissoziationskonstante K einer Säure (K <sub>s</sub> )
POCP	Photochemical Ozone Creation Potential
P <sub>sp</sub>	Spezifische Leistung
Q	Energiemenge/Wärmemenge
R	Retention (Rejection)
r	relative Luftfeuchtigkeit
RFB	Repetitive Fed-Batch
T	Temperatur
T <sub>i</sub>	Transportzahl Stoff i
T decomp.	Zersetzungstemperatur
TCA	Tricarbonsäurezyklus
ThOD	Theoretical Oxygen Demand (Theoretischer Sauerstoffbedarf)
TOC	Total Organic Carbon
UNEP	United Nations Environment Programme
Unit Risk	Klassifizierung Krebsrisiko US Environmental Protection Agency
VOC	Volatile Organic Carbons
V <sub>s</sub>	Sedimentationsgeschwindigkeit
WDD	Wasserdampfdestillation
WGK	Wassergefährdungsklasse nach der Verwaltungsvorschrift wassergefährdender Stoffe (VwVwS)
WHO	World Health Organization
WSED	Water Splitting Electrodialysis

### Griechische Buchstaben

$\Delta h_v$	Verdampfungsenthalpie
$\Delta T_K$	Temperaturänderung Kühlmittel
$\eta$	Übertragungseffizienz
$\mu$	Viskosität
$\rho$	Dichte

## ZUSAMMENFASSUNG

---

In der Entwicklung biotechnologischer und chemischer Prozesse sind die frühen Entwicklungsphasen entscheidend für die in der späteren Produktion anfallenden Kosten und Umweltbelastungen. Um die Nachhaltigkeit neuer Verfahren zu verbessern, müssen daher bereits zu diesem Zeitpunkt ökologische und ökonomische Charakteristika berücksichtigt werden. Das vorhandene Prozesswissen ist in frühen Entwicklungsphasen jedoch naturgemäß gering. In der vorgelegten Arbeit wird eine Methode vorgestellt, die basierend auf den in frühen Phasen verfügbaren Prozessdaten eine einfache und schnelle ökologische Bewertung ermöglicht. Die erstellten Modelle bilden darüber hinaus eine solide Grundlage für die Bewertung ökonomischer und teilweise auch sozialer Aspekte der Nachhaltigkeit.

Hierzu werden zunächst alle im Entwicklungsprojekt vorhandenen relevanten Daten erfasst. Diese werden durch eine umfangreiche Literatur- und Patentrecherche ergänzt. Darauf aufbauend wird ein Modell des erwarteten Produktionsverfahrens erstellt und Simulationen des Modells durchgeführt. Aus den Simulationen erhält man die Quantifizierung der wichtigsten Stoffströme und eine Sachbilanz, die sowohl die Input- und Outputstoffe als auch den Energiebedarf des Prozesses enthält.

Die ermittelte Sachbilanz wird im nächsten Schritt ökologisch bewertet. Hierzu werden alle beteiligten Stoffe in einer Reihe von Wirkungskategorien nach ihrer Relevanz für die in der jeweiligen Kategorie betrachtete Umweltbelastung eingeteilt. Dabei wird eine einfache, dreistufige ABC-Klassifizierung verwendet. Aus ihrer Einteilung in den Wirkungskategorien wird für jeden Stoff ein so genannter Environmental Factor abgeleitet, der ein Maß für die vom Stoff ausgehende Umweltgefährdung darstellt. Mit diesem Faktor werden die Input- und Outputstoffe der Sachbilanz gewichtet und eine Reihe von Indizes berechnet. Diese Indizes geben die potentielle Umweltbelastung des gesamten Verfahrens an und ermöglichen die Identifizierung ökologischer Schwachstellen, also jener Stoffe oder Prozessschritte, die den größten Anteil an der Umweltgefährdung durch das Verfahren haben und bei denen folglich das größte Potential für Verbesserungen liegt. Darüber hinaus geben sie Auskunft, welchen Anteil die verschiedenen Arten der Umweltbelastung an der Gesamtbelastung haben.

Die entwickelte Methode wird in der vorgelegten Arbeit auf drei Fallbeispiele angewendet. Im ersten Fallbeispiel wird die Vorgehensweise anhand eines neuen Verfahrens zur

fermentativen Herstellung von Zitronensäure aus Stärke verdeutlicht. Im Fallbeispiel  $\alpha$ -Cyclodextrin wird der bereits bestehende enzymatische Prozess (Solventverfahren) modelliert, bewertet und mit einem Alternativverfahren, dem sogenannten Non-Solventverfahren verglichen. Hierbei zeigt sich, dass hinsichtlich der potentiellen Umweltbelastung kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte. Ausgehend von den erstellten Modellen werden die Auswirkungen, die neue und verbesserte Enzyme auf den Prozess haben, mit Sensitivitätsanalysen beschrieben und bewertet. Dabei wird deutlich, dass die Reaktionsdauer nicht über 24 h steigen sollte, die Stärkekonzentration zu Beginn mindestens 20 % betragen sollte und das größte Verbesserungspotential in einer Steigerung der Ausbeute der enzymatischen Umwandlung liegt. Die Verwendung thermostabiler Enzyme lässt dagegen nur leichte Verbesserungen erwarten.

Das Fallbeispiel Pyruvat betrachtet den Entwicklungsprozess eines neuen fermentativen Verfahrens zur Herstellung von Natriumpyruvat. Dabei wird die Verfahrensentwicklung anhand der zu verschiedenen Zeitpunkten erstellten Modelle und Bewertungen untersucht und Sensitivitätsanalysen werden durchgeführt. Hierbei kann eine schrittweise Verringerung der potentiellen Umweltbelastung gezeigt werden, die auf der Optimierung des verwendeten Mikroorganismus und der Fermentation beruht. Für die weitere Prozessentwicklung wurden aus den Simulationen und der Bewertung der erhaltenen Sachbilanzen weitere ökologische Verbesserungspotentiale identifiziert. Weiterhin wurden alternative Aufreinigungsverfahren verglichen. Dabei wurde deutlich, dass bei der Verwendung einer Extraktion in der Aufreinigung ein organisches Lösungsmittel gefunden werden muss, das eine optimierte Trennung ermöglicht und sich gleichzeitig durch eine gute Umweltverträglichkeit auszeichnet. Ein Vergleich von Extraktion und Elektrodialyse als alternative Aufreinigungsschritte zeigte, dass die Elektrodialyse aus Umweltsicht deutliche Vorteile hat, was auch durch die Sensitivitätsanalysen bestätigt wurde.

Die Anwendung auf die Fallbeispiele konnte zeigen, dass die Methode, bestehend aus Modellbildung, Simulation und Bewertung, zur Identifizierung ökologischer Charakteristika biotechnologischer Verfahren in frühen Phasen der Prozessentwicklung geeignet ist und so zu einer integrierten Entwicklung ökologisch optimierter Prozesse beitragen kann.

## ABSTRACT

---

Early phases of process development are crucial for future production costs and environmental burdens. Therefore, aspects of sustainability have to be considered during process design. However, most of the data necessary for a detailed evaluation is missing at this stage. In this thesis, a method which enables an easy and rapid ecological evaluation based on the available process data, is presented.

In the first step, any relevant existing available process data is collected. Additional information is found by an extensive literature and patent search. Starting from this basic information the most probable industrial production process is modelled and this model is transferred to a simulation. The simulation supplies a mass balance of the whole process and gives an overview of the most important material streams and their properties as well as on the energy consumption.

In the next step the inventory analysis received provides the basis of an ecological evaluation. All input and output components are assessed in 14 impact categories for their environmental relevance. For this a simple ABC-classification is used, from which an Environmental Factor is derived for each component. This Environmental Factor is a measure of the environmental relevance of the compound. The constituents of the material balance are weighed with this factor and a set of indices is calculated. These indices show the potential environmental burdens of the whole process and identify the ecological “hot spots”, the components or process steps which have the biggest share in the expected ecological damage, and where consequently is the highest potential for improvements. In addition the indices show the relevance of the different impact categories for the overall environmental impact.

The approach presented is applied to three case studies. In the first case study the procedure is demonstrated with a new fermentative process for the production of citric acid from starch. In the second case study  $\alpha$ -cyclodextrin, the enzymatic process already used under industrial conditions (solvent process) is modelled, evaluated and compared with an alternative process, the so called non-solvent process. The environmental assessment of these two processes does not show significant differences. Starting from the models created the impact that new and improved enzymes have on the process are described and evaluated by sensitivity analyses. The results indicate that the reaction time should not rise above 24 h

and the starting concentration of starch has to be at least 20 %. An increase of the yield of the enzymatic conversion has the biggest potential for improvement. The use of new thermostable enzymes leads only to small ecological improvements.

The case study pyruvic acid deals with the development of a new process for the production of sodium pyruvate. The process development is studied based on models and evaluations prepared at different times and sensitivity analyses are done. Thereby a successive reduction of the potential environmental burden was shown caused by the optimization of the microorganism used and the optimization of the fermentation process. Further potential ecological improvements could be identified from the models and the environmental assessment.

In addition two alternative downstream processes are compared. It becomes apparent that if a liquid-liquid extraction is used, an organic solvent has to be found that enables an optimal separation and at the same time is characterized by an optimal environmental compatibility. The comparison of an extraction and an electrodialysis as alternative purification steps shows a clear advantage of the electrodialysis. This advantage is also confirmed by the sensitivity analyses carried out.

The application to the case studies could show that the method including modeling, simulation and environmental evaluation is suitable for the identification of ecological characteristics of biotechnological processes in early phases of process design. So the method can be a part of an integrated development that leads to ecologically optimized processes. Furthermore the models created establish a basis for the assessment of economic and partly social aspects of sustainability.



# **I. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG**

---

Bei der Entwicklung neuer Produkte und Prozesse spielen heute Aspekte der Nachhaltigkeit eine immer größere Rolle. Ökonomische und ökologische Charakteristika von Produktionsverfahren werden bereits zum größten Teil durch die Entscheidungen in frühen Phasen der Prozessentwicklung bestimmt. Daher bestehen auch dort die größten Chancen, Prozesse hin zu einer nachhaltigeren Produktion zu verändern. Das vorhandene Prozesswissen ist jedoch in frühen Phasen naturgemäß gering und damit die Basis einer Bewertung beschränkt.

Die im Folgenden beschriebene Methode wurden im Rahmen des Verbundes „Biokatalyse“ der Deutschen Bundesstiftung Umwelt (DBU) im Projekt „Ökonomische und Ökologische Evaluation biokatalytischer Prozesse während ihrer Entwicklung“ (AZ 13040/02) erarbeitet. Neben dem Lehrstuhl für Technische Biochemie der Universität des Saarlandes (Prof. Heinzle) haben an diesem Projekt der Lehrstuhl für Allgemeine BWL und Produktionswirtschaft der Universität Mainz (Prof. Bellmann) und die Arbeitsgruppe Bioverfahrenstechnik der Dechema in Frankfurt (Dr. Sell) teilgenommen. Bei der Methodenentwicklung konnte auf Arbeiten aus der Gruppe für Umwelt- und Sicherheitstechnologie der ETH Zürich (Prof. Hungerbühler) zurückgegriffen werden.

Die vorgelegte Arbeit beschreibt eine Methode zur frühen ökologischen Bewertung biotechnologischer Prozesse und ihre Anwendung auf Fallbeispiele. Parallel erfolgte an der Universität Mainz die Entwicklung einer Methode zur Bewertung ökonomischer Charakteristika in frühen Entwicklungsphasen. Zwei der bearbeiteten Fallbeispiele sind Entwicklungsprojekte aus dem Verbund „Biokatalyse“, die federführend am Institut für Biotechnologie am Forschungszentrum Jülich (Prof. Sahn) und am Institut für Technische Mikrobiologie der TU Hamburg-Harburg (Prof. Antranikian) durchgeführt werden. Das dritte Fallbeispiel greift auf Daten einer älteren Arbeit an der ETH Zürich zurück und ein weiteres Fallbeispiel beruht ausschließlich auf Literaturdaten.

Die entwickelte Methode hat zum Ziel, basierend auf den in frühen Phasen der Prozessentwicklung vorhandenen Informationen, die Prozesscharakteristika zu erfassen, fehlende Daten durch Modellbildung und Simulation abzuschätzen und eine einfache und schnelle ökologische Bewertung zu ermöglichen. Dabei spielt die Anwendung und Validierung der Methode an den beschriebenen Fallbeispielen aus dem Bereich der

Biotechnologie, mit allen in der Entwicklung auftretenden Schwierigkeiten und Unsicherheiten, eine entscheidende Rolle. Hierbei wurde stets sichergestellt, dass die erzeugten Modelle, Simulationen und Bewertungen auch als Grundlage für eine ökonomische Bewertung dienen können, so dass eine Beurteilung der Ökoeffizienz möglich ist. Damit kann die Methode zu einer integrierten Verfahrensentwicklung beitragen, die zu ökologisch und ökonomisch optimierten Prozessen führt, welche sich durch verbesserte Konkurrenzfähigkeit und minimierte Umweltbelastung auszeichnen.

## II. EINFÜHRUNG IN DEN THEMENBEREICH

---

### 2.1. Ökoeffizienz und Nachhaltigkeit

Der Begriff der Nachhaltigkeit oder der nachhaltigen Entwicklung wurde im so genannten Brundtland-Bericht (World Commission on Environment and Development, 1987) wie folgt definiert: „Sustainable Development is the development that meets the needs of the present without compromising the ability of future generations to meet their own needs“. Verstärkt durch die Rio-Konferenz 1992 hat das Konzept einer nachhaltigen Entwicklung in hohem Maße Eingang in die wissenschaftliche, politische und gesellschaftliche Diskussion gefunden (Heiden, 2001). Die Nachhaltigkeit umfasst ökologische, ökonomische und soziale Aspekte. Man spricht daher auch vom so genannten Drei-Säulen-Modell (s. Abb. 2-1). Eine nachhaltige Entwicklung hat die Sicherstellung und Verbesserung der ökologischen, ökonomischen und sozialen Leistungsfähigkeit, also aller drei Säulen zum Ziel. Diese Aspekte bedingen sich gegenseitig und können daher nicht teLOPTIMIERT werden (Enquete-Kommission, 1998).

Die Ökoeffizienz ist ein Teilaspekt der Nachhaltigkeit. Sie berücksichtigt ökologische und ökonomische Aspekte, die bei der Betrachtung von konkreten Produktionsprozessen eine dominante Rolle spielen. DeSimone und Popoff (1997) definieren Ökoeffizienz wie folgt: „Eco-efficiency is reached by the delivery of competitively priced goods and services that satisfy human needs and bring quality of life, while progressively reducing environmental impacts and resource intensity throughout the life cycle, to a level at least in line with the earth’s estimated carrying capacity.“

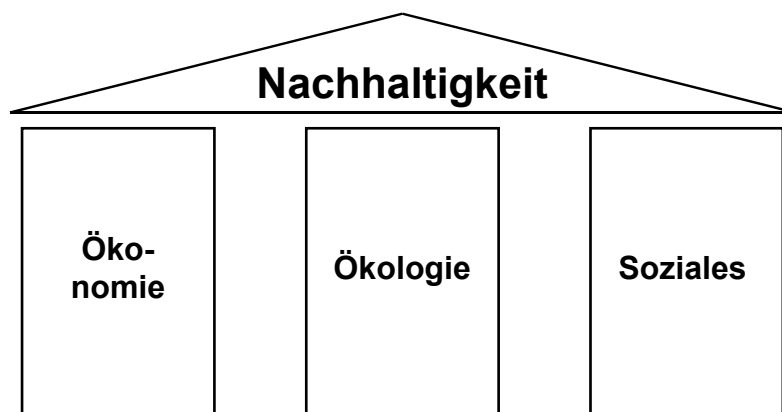


Abb. 2-1: Das Drei-Säulen-Modell der Nachhaltigkeit.

Ökoeffizienz verbindet folglich wirtschaftlichen Nutzen mit einer Reduzierung der Umweltbelastung. Eine Verbesserung der Ökoeffizienz bedeutet also auch immer eine Steigerung der Nachhaltigkeit und zwar letztlich aller drei Säulen. Denn die Entwicklung wettbewerbsfähiger Produkte ermöglicht eine wirtschaftliche Nachhaltigkeit, die Reduzierung der Umweltbelastung und des Rohstoffverbrauches verbessert die ökologische Nachhaltigkeit und die Befriedigung menschlicher Bedürfnisse in Einklang mit der Umwelt stärkt die soziale Nachhaltigkeit.

Während über die Aufgaben und Ziele der Ökoeffizienz weitgehend Einigkeit besteht, gibt es zahlreiche Vorschläge, wie die Ökoeffizienz zu messen und zu berechnen ist. Allgemein kann man die Ökoeffizienz als Quotient von wirtschaftlichem Nutzen und der dabei entstehenden Umweltbelastung definieren (Verfaillie und Bidwell, 2000):

$$\text{Ökoeffizienz} = \frac{\text{Produktwert}}{\text{Umweltbelastung}}$$

## 2.2. Ökoeffizienz und integrierte Prozessentwicklung

Die chemische Produktion war in der Vergangenheit mit einem hohen Anfall von Reststoffen verbunden. Sie wurden zunächst durch nachgeschaltete Verfahren des additiven Umweltschutzes (End-of-Pipe-Technologien) reduziert. Dieser Ansatz brachte deutliche Verbesserungen für Umwelt und Gesundheit. Heute sind jedoch weitere Verbesserungen, zumindest in den Industrieländern, nur noch unter hohem Kosteneinsatz möglich (Schnitzer, 1998). In den letzten beiden Jahrzehnten verlagerte sich der Schwerpunkt der Umweltschutzbemühungen in der Industrie daher von den End-of-Pipe-Technologien zu integrierten Maßnahmen (El-Hawagi, 1997).

Abfälle und Emissionen sind eingekaufte - und teuer bezahlte - Roh-, Hilfs- und Betriebsstoffe, die nicht in verkaufbare Produkte umgewandelt wurden. Diese Nicht-Produkte verursachen dreimal Kosten. Zunächst müssen sie als Input eingekauft werden, dann führt ihr Transport durch den Produktionsprozess zu Kosten und schließlich müssen sie als Abfälle behandelt und entsorgt werden. Dieser Problematik kann mit Hilfe des Ökoeffizienzansatzes des produktionsintegrierten Umweltschutzes (PIUS) begegnet werden. Das Ziel ist ein integrierter Entwicklungsprozess, der zu einer markt- und zeitgerechten Bereitstellung sicherer und umweltschonender Produkte und Prozesse führt. Er enthält Maßnahmen des Vermeidens, des Reduzierens und des Verwertens von Reststoffen. Man kann folglich unter PIUS alle Maßnahmen zusammenfassen, die die Bildung unerwünschter

Substanzen und ihre Freisetzung im Produktionsprozess verhindern oder reduzieren (El-Halwagi, 1997). Im Gegensatz dazu versteht man unter additivem Umweltschutz (End-of-Pipe-Technologien) Verfahren, die Abfälle und Emissionen nachträglich, also nach ihrer Entstehung im Produktionsprozess, so behandeln, dass ihre negativen Auswirkungen auf die Umwelt und die menschliche Gesundheit auf ein akzeptables Maß reduziert werden.

Eine integrierte Entwicklung führt folglich zu einer effizienteren Nutzung der Rohstoffe. Dies bedeutet einen geringeren Rohstoffverbrauch, natürliche Ressourcen werden geschont. Gleichzeitig entstehen durch höhere Ökoeffizienz weniger Emissionen und Abfälle. Bei der Verwendung von End-of-Pipe-Technologie werden dagegen in der Regel zusätzlich Rohstoffe verbraucht und es entstehen Sekundärreststoffe wie Deponiesickerwässer, Klärschlämme, Schlacken und Aschen. Die Materialintensität wird also erhöht. Trotz dieser Nachteile wird der additive Umweltschutz auch weiterhin eine wichtige Rolle spielen, da ein Vermeiden und Verwerten nicht immer möglich und wünschenswert ist.

Ein möglichst effektiver Umgang mit den eingesetzten Rohstoffen und Energien führt somit zu Verbesserungen im Umweltschutz und bringt wirtschaftliche Vorteile. Additiver Umweltschutz stellt dagegen unproduktiv gebundenes Kapital dar. Weiterhin ist beim Einsatz von End-of-Pipe-Technologien bei einer linearen Emissionsminderung mit steigenden Grenzkosten bzw. stark fallendem Grenznutzen zu rechnen (Christ, 2000). Jede weitere Verbesserung verursacht also überproportional mehr Kosten. Schließlich ist eine integrierte Vorgehensweise ein sicherer Weg um bestehende und zukünftige Grenzwerte und andere regulative Vorgaben zu erfüllen.

Die Prozessentwicklung muss dabei iterativ erfolgen, d. h. in jeder Entwicklungsphase werden alle vorherigen und nachfolgenden Entwicklungsstufen in die Überlegungen mit einbezogen. Dies erfordert einen hohen Grad an Interdisziplinarität. Eine ganzheitliche Betrachtung bedeutet auch das System als Ganzes zu optimieren, d. h. einzelne Bestandteile können sich, allein betrachtet, durchaus nicht im Optimum befinden. Das Ziel ist also nicht die Laborausbeute zu optimieren, sondern einen hinsichtlich Produktivität und Umweltschutz optimierten Produktionsprozess zu erreichen (Spriggs, 1994).

Dabei kommt frühen Entwicklungsphasen eine besondere Bedeutung zu. Sowohl die späteren Produktionskosten als auch die in der Produktion entstehenden Umweltbelastungen werden zu einem hohen Maße bereits in diesen frühen Phasen festgelegt (s. Abb. 2-2). Daher müssen bereits zu Beginn der Prozessentwicklung ökologische und ökonomische Aspekte berücksichtigt werden. Werden Umwelt-, Gesundheits- und Sicherheitsaspekte dagegen erst nach Ende des Prozessdesigns betrachtet, können meist nur noch End-of-Pipe-Technologien

eingesetzt werden. Um optimierte Prozesse zu erhalten, sollten additive Maßnahmen jedoch erst eingesetzt werden, wenn die Möglichkeiten des PIUS erschöpft sind. Die Bedeutung früher Phasen wird weiterhin dadurch verstärkt, dass die Kosten zur Beseitigung von Fehlentwicklungen mit zunehmendem Entwicklungsstand deutlich zunehmen.

Zu Beginn der Prozessentwicklung ist die Entwicklungsfreiheit maximal, das vorhandene Prozesswissen jedoch gering (s. Abb. 2-2). Daten, die für eine ökologisch-ökonomische Bewertung notwendig wären, sind nur bedingt verfügbar. Durch Modellbildung und Simulation des Prozesses, basierend auf den vorhandenen Prozessdaten und ergänzt durch Patent- und Literaturrecherchen, kann diese Lücke teilweise geschlossen werden und eine fundierte Bewertung wird möglich (s. Abb. 2-3).

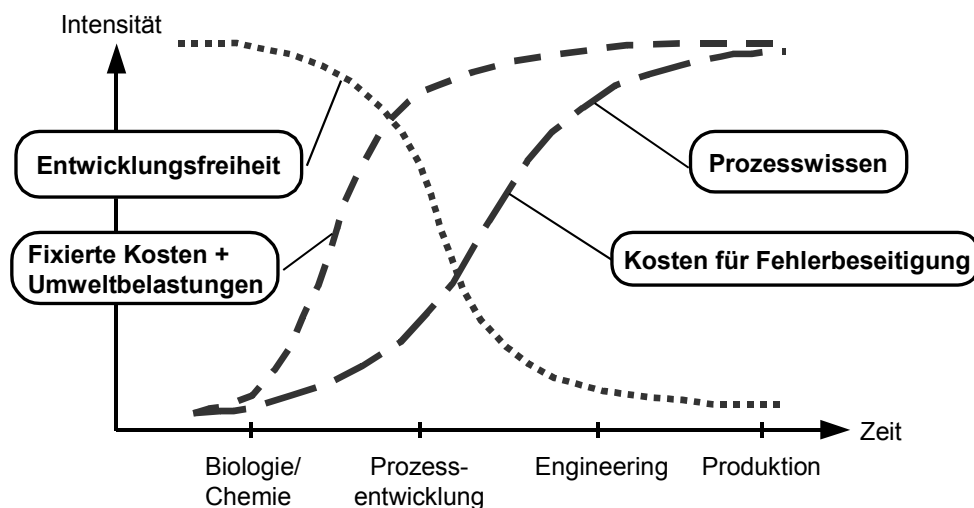


Abb. 2-2: Entwicklungsfreiheit, Prozesswissen, fixierte Umweltwirkungen und Kosten im Entwicklungsprozess (Heinzle und Hungerbühler, 1997).

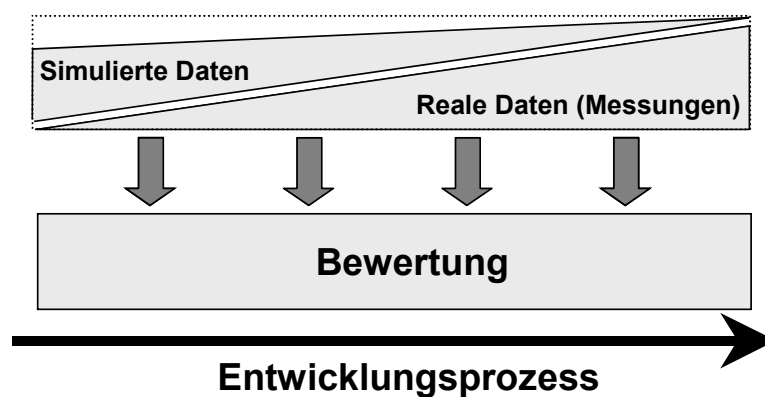


Abb. 2-3: Verbesserung der Datengrundlage durch Modellbildung und Simulation im Verlauf des Entwicklungsprozesses.

### **2.3. Potential der Biotechnologie für die Nachhaltigkeit**

Die Umweltbiotechnologie, die die biologische Behandlung von Abfällen umfasst (Abwasser, Abgase, Bodensanierung etc.) und somit zum additiven Umweltschutz gehört, muss getrennt von der übrigen Biotechnologie betrachtet werden, die die Anwendung von biotechnologischen Prozessen für die Produktion zum Ziel hat. Die Umweltbiotechnologie kann deutliche Umweltschutzverbesserungen bei der Behandlung von Abfällen erzielen. Zu einer nachhaltigeren Entwicklung kann sie letztlich jedoch nur sehr beschränkt beitragen, da es sich um eine End-of-Pipe-Technologie handelt. Im Folgenden wird unter dem Terminus Biotechnologie daher nur der Teil der Biotechnologie verstanden, der sich mit der Entwicklung und Anwendung neuer Produktionsprozesse und Produkte beschäftigt.

Allgemein wird der Biotechnologie ein hohes Potential für das Erreichen einer nachhaltigeren Entwicklung zugesprochen. Sie ist eine leistungsstarke Basistechnologie, mit der sich umweltverträglichere Prozesse entwickeln lassen, die den Weg für ein nachhaltiges Wirtschaften im industriellen Bereich ebnen können (OECD, 1998). Neue Prozesse und Produkte werden vor allem in den Bereichen Grund- und Feinchemikalien, Pharmawirkstoffe, Ernährung und Landwirtschaft gesehen (Heiden, 2001; Dürkop et al., 1999; Brellocks et al., 2001).

Als Vorteile biotechnologischer Prozesse werden meist der Einsatz erneuerbarer Rohstoffe (Ressourcenschonung), die milden Reaktionsbedingungen, das seltene Vorkommen problematischer Stoffe und die gute biologische Abbaubarkeit von Abfällen und Produkten identifiziert (Brellocks et al., 2001, Dürkop et al., 1999). Für die tatsächliche industrielle Implementierung bleiben jedoch weiterhin wirtschaftliche und Marketinggründe die entscheidenden Triebfedern (OECD, 1998).

Trotz der genannten Vorteile kann nicht davon ausgegangen werden, dass ein biotechnologischer Prozess per se umweltfreundlicher oder gar nachhaltiger ist als ein chemisches Alternativverfahren. Die bessere Umweltverträglichkeit muss jeweils durch gründliche Analysen nachgewiesen werden (OECD, 1998). Da die Entscheidung zwischen biotechnologischen und chemischen Alternativverfahren häufig in der Prozessentwicklung getroffen wird, sind Methoden notwendig, die eine zügige und trotzdem gründliche Bewertung der Nachhaltigkeit bereits zu diesem Zeitpunkt ermöglichen.





### **III. BEWERTUNGSMETHODE**

---

#### **3.1. Methodisches Vorgehen**

Das generelle Vorgehen ist in Abb. 3-1 dargestellt. Die Basis bildet die aus der Modellierung und Simulation eines Prozesses oder aus anderen Quellen erhaltene Sachbilanz. Sie enthält (im Idealfall) alle Input- und Outputstoffe mit den jeweilig verbrauchten bzw. gebildeten Mengen. Zur Bewertung dieser Sachbilanz sind eine Vielzahl von Stoffdaten notwendig. Für die hier bearbeiteten Fallbeispiele wurden diese Daten in einer eigenen Datenbank zusammengetragen, die auf der beiliegenden CD-Rom hinterlegt ist. Nähere Erläuterungen hierzu finden sich in Anhang A3.

Die Methode stellt eine Weiterentwicklung des von Heinzle et al. (1998) veröffentlichten Verfahrens dar. Die Zahl der berücksichtigten Wirkungskategorien wurden jedoch deutlich erhöht. Zusätzliche Anregungen wurden auch von Koller (2000) übernommen. Die verschiedenen Schadwirkungen, die die Stoffe auf die Umwelt und die Gesundheit des Menschen haben können, werden in insgesamt 14 Wirkungskategorien (Impact Categories) erfasst (näheres siehe 3.2.). Die Stoffe werden, basierend auf ihren Eigenschaften, in jeder Wirkungskategorie nach einer einfachen ABC-Klassifizierung (hohes - mittleres - geringes Schadpotential) bewertet. Ein hochtoxischer Stoff würde beispielsweise in der Kategorie „Acute Toxicity“ (Akute Toxizität) der Klasse A zugeordnet, ein schwach toxischer Stoff der Klasse B und ein ungiftiger Stoff der Klasse C. Das Ziel der Arbeit ist eine einfache und schnell anwendbare Methode. Jeder Schritt, der die Methode komplexer macht, muss dies durch einen Informationsgewinn rechtfertigen. Daher wurde das Prinzip einer einfachen ABC-Klassifizierung von Heinzle et al. (1998) beibehalten und auf eine differenziertere Einstufung verzichtet, wie sie etwa von Koller (2000) oder Eissen (2001) vorgenommen wurde. Hierbei ist zu bedenken, dass die möglichst exakte Abschätzung der Sachbilanz in frühen Entwicklungsphasen mindestens ebenso wichtig zu sein scheint wie die genaue Gewichtung der einzelnen Stoffe.

Alle Stoffe werden in jeder Wirkungskategorie in die beschriebenen ABC-Klassen eingeordnet. In einem ersten Bewertungsschritt werden alle Stoffe mit Klasse A-Einstufungen näher betrachtet und geprüft, inwieweit ihre negativen Eigenschaften im betrachteten Prozess relevant werden können (s. Abb. 3-1).

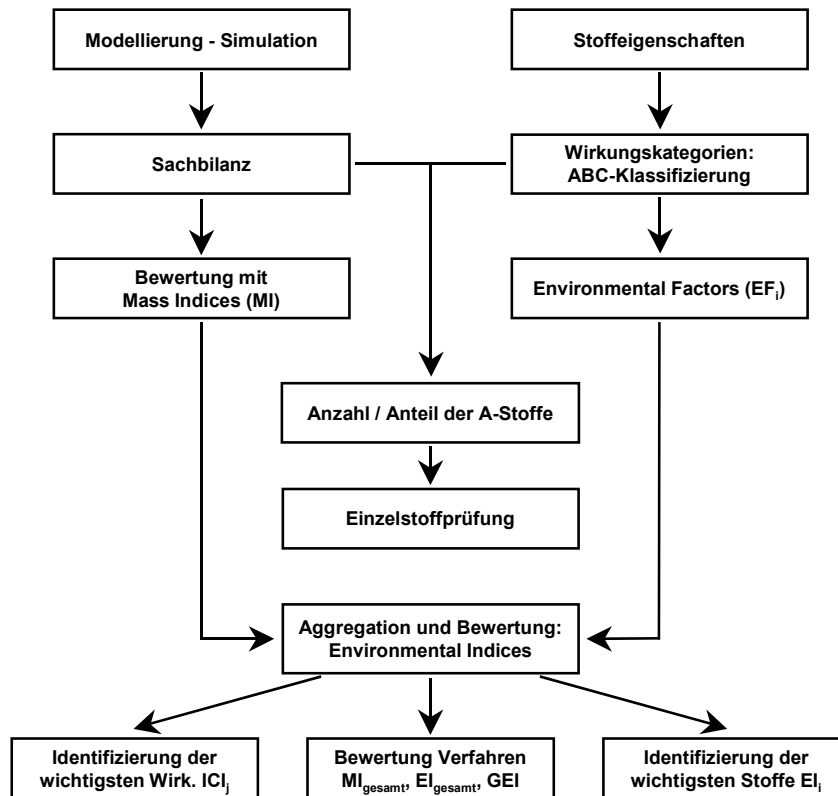


Abb. 3-1: Struktur des Bewertungsschemas. EF = Environmental Factor, MI = Mass Index, EI = Environmental Index, GEI = General Effect Index, ICI = Impact Category Index. Definition der Indizes in Tab. 3-2.

Für eine weitergehende Bewertung werden die Mengenanteile der Stoffe in der Sachbilanz miteinbezogen und eine Reihe von Indizes abgeleitet (s. Kap. 3.4.). Die Bedeutung eines Stoffes unter Umwelt-, Gesundheits- und Sicherheitsaspekten wird dabei durch einen Gewichtungsfaktor, den so genannten Environmental Factor ausgedrückt, dessen Ableitung in Kap. 3.3. erläutert wird.

## 3.2. Wirkungskategorien

Eine umfangreiche Literaturdurchsicht (s. Anhang A1) zeigt, dass bei den Outputkategorien grundsätzlich zwischen stoffbezogenen Kategorien und wirkungsbezogenen Kategorien unterschieden werden muss. Stoffbezogene Kategorien beziehen sich auf einzelne Stoffe und Stoffgruppen, die durchaus verschiedene Wirkungen haben können (z. B. Schwermetalle). Wirkungsbezogene Kategorien beziehen sich dagegen nur auf eine einzige Wirkung (oder Wirkgruppe), können aber eine Vielzahl von teilweise völlig verschiedenen Stoffen und Stoffgruppen umfassen (z. B. akute Toxizität). Bei der vorgestellten Methoden sollen im Sinne einer konsistenten Vorgehensweise ausschließlich wirkungsbezogene Kategorien verwendet werden.

Die verwendeten Wirkungskategorien (Impact Categories, IC) und die festgelegten Klassengrenzen für die ABC-Klassifizierung sind in Tab. 3-1 zusammenfassend dargestellt. Bei der Klasseneinteilung wurde grundsätzlich das Gesamtspektrum möglicher Wirkungen (bzw. Wirkungsintensitäten) betrachtet und darauf aufbauend die Klasseneinteilung vorgenommen. Dort, wo mehrere Kriterien zur Einteilung zur Verfügung stehen, werden diese nach ihrer Verfügbarkeit, allgemeinen Bekanntheit und wissenschaftlichen Fundiertheit in eine Präferenzordnung gebracht, die die Reihenfolge ihrer Berücksichtigung festlegt (s. Tab. 3-1). Durch die Verwendung von 14 verschiedenen Wirkungskategorien verbindet die Methode eine große Anzahl von Daten, die sich hinsichtlich Qualität, Verfügbarkeit und Verwendbarkeit teilweise deutlich unterscheiden. Die benötigten Stoffdaten sind für die Fallbeispiele in der Stoffdatenbank hinterlegt (s. Anhang A3). Bei Wirkungskategorien, für die nur eine beschränkte Anzahl von Stoffen relevant ist, aber für die es keine zusammenfassenden Listen in der Literatur gibt (wie etwa für das Global Warming Potential vorhanden), wurden eigene Übersichten erstellt und im Anhang A hinterlegt (z. B. für endokrin wirksame Substanzen in Anhang A5). Bei der Beschreibung der einzelnen Wirkungskategorien wird auf die entsprechenden Anhänge verwiesen.

Tab. 3-1: Kriterien und Klassengrenzen der Wirkungskategorien. I = Kategorie Inputstoffe, O = Kat. Outputst.

Wirkungskategorie	I/O	Klasse A	Klasse B	Klasse C
<b>Raw Material Availability</b>	I	keine erneuerbaren Ressourcen, erwartete Erschöpfung innerhalb von 30 J.	keine erneuerbaren Ressourcen, erwartete Erschöpfung in 30-100 J.	erneuerbare Ressourcen oder erwartete Erschöpfung > 100 J.
<b>Complexity of the Synthesis</b>	I	> 10 Synthesestufen	3-10 Synthesestufen	< 3 Synthesestufen
<b>Critical Materials Used</b>	I	kritische Stoffe (z. B. Schwermetalle, AOX, PCB) in stöchiometrischen Mengen verwendet o. gebildet	kritische Stoffe in nicht stöchiometrischen Mengen verwendet, o. gebildet o. unerwünschte Stoffe in stöchiometrischen Mengen verwendet o. gebildet	keine kritischen Stoffe verwendet o. gebildet
<b>Thermal Risk</b>	I/O	<ol style="list-style-type: none"> <li>R 1, 3, 4, 9, 12, 15-17, 30; EU: F<sup>+</sup>, E; NFPA F+R: 3, 4;</li> <li>fp &lt; 38°C; ait &lt; 38°C; T decomp. &lt; 38°C; log (λ) = -12 - -11; instabile Gruppen: dinitro, nitro, ether, peroxy</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>R 2, 5-8, 10, 11, 14, 18, 19, 30, 44; EU: F, O; NFPA F+R: 2; 38°C &lt; fp &lt; 100°C; 38°C &lt; ait &lt; 100°C; 38°C &lt; T decomp. &lt; 100°C; log (λ) = -10 - -8; instabile Gruppen: azo, cyanat</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>NFPA F+R: 0, 1;</li> <li>fp &gt; 100°C; ait &gt; 100°C; T decomp. &gt; 100°C; log (λ) &gt; -8; keine instabile Gruppen</li> </ol>

Wirkungs-kategorie	I/O	Klasse A	Klasse B	Klasse C
<b>Acute Toxicity</b>	I/O	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. EU: T<sup>+</sup>; R 26-28, 32, 50; CH-Giftkl.: 1, 2; NFPA H: 4; WGK 3</li> <li>2. ERPG: &lt; 100 mg/m<sup>3</sup>; IDLH: &lt; 100 mg/m<sup>3</sup>;</li> <li>3. LC<sub>50</sub> inh. &lt; 200 mg/m<sup>3</sup>; LD<sub>50</sub> oral &lt; 25 mg/kg; LC<sub>50</sub> der. &lt; 50 mg/kg</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. EU: T, X<sub>n</sub>, X<sub>i</sub>, C; R 20-25, 29, 31, 34-39, 41-43, 51, 52, 54-57, 65; CH-Giftkl.: 3, 4; NFPA H: 2, 3; WGK 2</li> <li>2. ERPG: 100-1000 mg/m<sup>3</sup>; IDLH: 100-1000 mg/m<sup>3</sup>;</li> <li>3. LC<sub>50</sub> inh. 200-2000 mg/m<sup>3</sup>; LD<sub>50</sub> oral 25-200 mg/kg; LC<sub>50</sub> der. 50-400 mg/kg</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. CH-Giftkl.: 5 o. frei; NFPA H: 0, 1; WGK 1</li> <li>2. ERPG: &gt; 1000 mg/m<sup>3</sup>; IDLH: &gt; 1000 mg/m<sup>3</sup>;</li> <li>3. LC<sub>50</sub> inh. &gt; 2000 mg/m<sup>3</sup>; LD<sub>50</sub> oral &gt; 200 mg/kg; LC<sub>50</sub> der. &gt; 400 mg/kg;</li> </ol>
<b>Chronic Toxicity</b>	I/O	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. MAK: &lt; 1 mg/m<sup>3</sup>; IARC: 1, 2A; R 45-49, 60, 61, 64;</li> <li>2. Unit risk: 10<sup>-4</sup>-10<sup>-5</sup></li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. MAK: 1-10 mg/m<sup>3</sup>; IARC: 2B, 3; R 33, 40, 53, 58, 62, 63;</li> <li>2. Unit risk: 10<sup>-6</sup>-10<sup>-8</sup>;</li> <li>3. EU: T, T<sup>+</sup>, X<sub>n</sub>; CH-Giftkl.: 1, 2</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. MAK: &gt; 10 mg/m<sup>3</sup>; IARC: 4;</li> <li>2. Unit risk: &gt; 10<sup>-9</sup>;</li> <li>3. CH-Giftkl.: 3, 4, 5;</li> </ol>
<b>Endocrine Disruption Potential</b>	I/O	-	nachgewiesen / Verdacht	keine hormonelle Effekte bekannt
<b>Global Warming Potential (GWP)</b>	O	GWP > 20	GWP < 20	keine klimarelevante Wirkung bekannt
<b>Ozone Depletion Potential (ODP)</b>	O	ODP > 0,5	ODP < 0,5	keine ozonabbauende Wirkung bekannt
<b>Acidification Potential (AP)</b>	O	AP > 0,5	AP < 0,5	kein Versauerungspotential bekannt
<b>Photochemical Ozone Creation Potential (POCP)</b>	O	POCP > 30 oder NO <sub>x</sub>	30 > POCP > 2	POCP < 2 o. keine Wirkung bekannt
<b>Odour</b>	O	-	Geruchsschwellenwert < 300 mg/m <sup>3</sup>	Geruchsschwellenwert > 300 mg/m <sup>3</sup> o. kein Geruchsbildner
<b>Eutrophication Potential</b>	O	N-Gehalt > 0,2 oder P-Gehalt > 0,05	N-Gehalt < 0,2 und P-Gehalt < 0,05	N- und P-freie Verbindungen
<b>Organic Carbon Pollution Potential (OCPP)</b>	O	-	ThOD und COD > 0,2 g O <sub>2</sub> /g substrate	ThOD und COD < 0,2 g O <sub>2</sub> /g sub. o. keine org. C-Verbindung

ThOD = Theoretical Oxygen Demand; COD = Chemical Oxygen Demand; EU = EU-Gefahrensymbole; R = R-Sätze; CH-Giftkl. = Schweizer Giftklassen; ERPG = Emergency Response Planning Guidelines; IDLH = Immediately Dangerous to Life and Health; LC, LD = Letale Konzentration/Dosis; MAK = Maximale Arbeitsplatzkonzentration; IARC = Klass. International Agency for Research on Cancer; Unit Risk: Klass. Krebsrisiko US Environmental Protection Agency; NFPA = Klass. US National Fire Protection Agency (H = Health, F = Flammability, R = Reactivity); fp = Flammpunkt; ait = Selbstzündungstemperatur; T decomp. = Zersetzungstemperatur; log (λ) = Logarithmus elektrische Leitfähigkeit; WGK = Wassergefährdungsklasse

Es werden sowohl die Inputstoffe als auch die Outputstoffe bewertet. In vielen Bewertungsmethoden werden die Inputstoffe nicht berücksichtigt (s. Anhang A1). Die Einbeziehung der Inputseite erscheint jedoch aus zwei Gesichtspunkten erforderlich: Zum einen sind in einer Welt mit steigendem Verbrauch und damit zunehmend knapper werdenden Rohstoffen die Größe der Rohstoffreserven und der gesicherte Zugang zu diesen Reserven ein wichtiger Faktor zur Bewertung der Nachhaltigkeit. Der reine Rohstoffpreis bildet die Ressourcensituation dabei jedoch nur ungenügend ab. Zum anderen ist für die Bereitstellung der einzelnen Inputs je nach Stoff ein ganz unterschiedlicher Aufwand notwendig (sog. grey inputs), der die ökologische Bewertung entscheidend beeinflussen kann. Ein Beispiel für die Berücksichtigung der Ressourcenverfügbarkeit ist die Ökoeffizienz-Analyse der BASF (Schrott und Saling, 2000). Die Kategorien für die Bewertung der Ressourcenverfügbarkeit und der so genannten Grey Inputs werden weitgehend unverändert aus Heinzle et al. (1998) übernommen.

Neben diesen Kategorien, die die Herkunft und den Aufwand für die Bereitstellung der Inputstoffe betrachten, werden auch die Eigenschaften der Inputstoffe selbst berücksichtigt (s. Tab. 3-1). Die Wirkung auf Organismen und ihre Bewertung unter Sicherheitsaspekten wird bei Input- und Outputstoffen gleichermaßen berücksichtigt (s. Kap. 3.2.4 und 3.2.5.). Darüber hinaus werden die Outputstoffe nach ihren verschiedenen Wirkungen auf die Umweltkompartimente Luft, Wasser und Boden bewertet.

Die vorgelegte Arbeit ist in deutscher Sprache geschrieben, jedoch werden bei der Benennung der Wirkungskategorien, Wirkungsklassen und den daraus abgeleiteten Indizes englische Begriffe verwendet, da diese oft geläufiger sind und ihre Definition zum großen Teil letztlich aus der „International Scientific Community“ stammt (z. B. Global Warming Potential, Ozone Depletion Potential etc.). Für eine geschlossene Darstellung werden alle Kategorie, Klassen und Indizes mit englischen Bezeichnungen belegt, auch solche, bei denen dies nicht unbedingt zu einer Vereinfachung führt ist (z. B. Acute Toxicity - Akute Toxizität).

### **3.2.1. Ressourcenverfügbarkeit und Grey Inputs**

In der Wirkungskategorie (IC) „Raw Material Availability“ (Rohstoffverfügbarkeit) wird geprüft, ob der Inputstoff auf einer regenerierbaren oder nichtregenerierbaren Rohstoffquelle basiert. Wenn es sich um nichtregenerierbare Quellen handelt, entscheidet die Dauer bis zur Erschöpfung der heute bekannten und abbaubaren Ressourcen über die Einteilung. Dabei

wird das zur Zeit vorherrschende Produktionsverfahren zugrunde gelegt. Viele Stoffe, die heute fast ausschließlich petrochemisch hergestellt werden, können auch aus regenerierbaren Rohstoffen produziert werden. Diese Möglichkeit wird bei der Einteilung jedoch nicht berücksichtigt, da der tatsächlich stattfindende Ressourcenverbrauch als der entscheidende Parameter angesehen wird.

Bei regenerativen Quellen wird nicht berücksichtigt, wenn eine Rohstoffquelle zwar regenerierbar ist, aber nicht nachhaltig bewirtschaftet wird. Fisch beispielsweise wäre, theoretisch gesehen, eine regenerative Rohstoffquelle. Die für viele Meeresgebiete und Fischarten zur Zeit bestehende Überfischung kann jedoch nicht als nachhaltige Nutzung bezeichnet werden. Grundsätzlich wäre eine Einbeziehung dieses Umstandes wünschenswert. Um eine nachhaltige oder nicht nachhaltige Nutzung festzustellen, sind jedoch Daten notwendig, die für die meisten regenerativen Rohstoffe nicht verfügbar sind.

Unter Grey Inputs versteht man den Verbrauch an Rohstoffen und die Umweltbelastungen, die bei der Bereitstellung eines Inputstoffes anfallen. Für eine exakte Quantifizierung der Grey Inputs wäre eine umfassende Ökobilanz vom Abbau des Rohstoffes bis zum Eintritt des Inputstoffes in das untersuchte Verfahren notwendig. Diese ist aber nur in den wenigsten Fällen vorhanden. Daher soll versucht werden mit leicht zugänglichen Informationen die Grey Inputs abzuschätzen. Zum einen kann man annehmen, dass ein Stoff, der mehrere Herstellungsschritte durchlaufen hat, tendenziell mehr Grey Inputs einbringt, als ein Stoff, der direkt von der Rohstoffquelle in den Prozess eingebracht werden kann. Je mehr Herstellungsschritte notwendig sind, desto höher erfolgt daher die Einstufung in die IC „Complexity of the Synthesis“ (Komplexität der Synthese). Als Informationsquellen dienen Nachschlagewerke wie Weissermel und Arpe (1998), Keim et al. (1986) und Falbe und Regnitz (1999).

Komplette Ökobilanzen sind in der Literatur kaum verfügbar. Die Verwendung bzw. der Anfall von kritischen Stoffen (z. B. Schwermetalle, AOX u. a.) wird dagegen regelmäßig in der Literatur vermerkt. Diese sind ein wichtiger Teil der Grey Inputs und können daher ebenfalls zur Abschätzung herangezogen werden (IC „Critical Materials Used“, Verwendung kritischer Material). Die Informationen über den Anfall von kritischen Stoffen sind häufig weniger gut zugänglich als Informationen über die Anzahl der Herstellungsschritte. Daher ist man hier teilweise auf eigene Abschätzungen angewiesen.

In einem typischen chemischen oder biotechnischen Prozess trägt der Energieverbrauch zu einem nicht geringen Maße zur entstehenden Umweltbelastung bei (Castells et al., 1994). Der Energieverbrauch kann jedoch mit der ABC-Klassifizierung nicht bewertet werden. Er

wird daher, ergänzend zur Stoffbewertung, gesondert betrachtet (ähnliches Vorgehen z. B. bei Glauser und Müller, 1997). Alternativ könnte man, vom derzeitigen Energiemix in Deutschland ausgehend, die zur Bereitstellung der verbrauchten Energie notwendige Menge an primären Energieträgern ermitteln und diese Stoffmengen wie die anderen Inputstoffe mit der ABC-Klassifizierung bewerten (ähnliches Vorgehen z. B. bei Brand et al., 1998). Konsequenterweise müsste man dann allerdings auch die normalerweise entstehenden Abfälle (Grey Inputs) bei der Energiebereitstellung in die Bilanz mit aufnehmen (ähnliches Vorgehen z. B. bei Stephan et al., 1994). Um eine einfache und schnelle Durchführung zu gewährleisten, wird jedoch wie oben beschrieben vorgegangen.

### **3.2.2. Umweltkompartiment Luft**

Die Beeinträchtigung des Umweltkompartiments Luft wird in fünf Impact Categories (IC) bewertet. Das Global Warming Potential (GWP, Potential für Treibhauseffekt) betrachtet die Auswirkungen von Schadstoffen auf den Klimahaushalt. Der Strahlungshaushalt der Erde wird durch Treibhausgase beeinflusst. Sie lassen kurzwellige Sonnenstrahlen ungehindert passieren, absorbieren jedoch die von der Erdoberfläche abgegebene, langwellige Wärmestrahlung. Durch Verbrennung fossiler Energieträger, Freisetzung chemischer Stoffe, intensive Landwirtschaft, Abfalldeponien und die fortschreitende Tropenwaldvernichtung werden verstärkt Treibhausgase freigesetzt, die den natürlichen Treibhauseffekt verstärken (anthropogener Treibhauseffekt). Für den Treibhauseffekt verantwortlich sind vor allem Kohlendioxid (50 %), Methan (19 %) und FCKWs (17 %) (Streit, 1994; Walz et al., 1997). Das International Panel on Climate Change (IPCC) hat das Global Warming Potential (Referenzsubstanz CO<sub>2</sub>; GWP<sub>CO<sub>2</sub></sub> = 1,0) definiert und gibt in regelmäßigen Abständen aktualisierte Listen heraus, die als Grundlage der ABC-Klassifizierung dienen (z. B. Houghton et al., 2001). Hierzu sei jedoch einschränkend angemerkt, dass für die betrachteten Prozesse der indirekte Effekt durch den Verbrauch von Energie für das Global Warming teilweise wichtiger ist, als die direkte Freisetzung von klimarelevanten Gasen im Prozess.

In der Methode wird nicht unterschieden, ob das freigesetzte CO<sub>2</sub> aus fossilen oder regenerativen Quellen stammt (was teilweise gefordert wird). Die Erneuerbarkeit eines Rohstoffes wird bereits in der IC „Raw Material Availability“ berücksichtigt und soll hier nicht noch einmal in die Bewertung eingehen.

Die Ozonschicht befindet sich in 30-50 km Höhe in der Stratosphäre und schützt die Erdoberfläche vor schädlichen UV-B-Strahlen. Verschiedene anthropogene Schadgase

führen zu einem verstärkten Abbau des Ozon in diesen Luftschichten, wodurch die Schutzwirkung teilweise verloren geht. Vollhalogenierte Fluorchlorkohlenwasserstoffe (FCKWs) und Halone (bromierte Halogenkohlenwasserstoffe) sind die wichtigsten ozonzerstörenden Substanzen. Alle diese Stoffe zeichnen sich durch eine hohe chemische Beständigkeit und damit durch eine beträchtliche Langlebigkeit aus. Erste Hinweise auf ihre ozonabbauende Wirkung waren bereits zu Beginn der 70er Jahre bekannt (Molina und Rowland, 1974).

Im so genannten Montrealer Protokoll wurde der Begriff des Ozone Depletion Potential (ODP, Ozonabbaupotential) eingeführt, der die Gefährlichkeit einer Verbindung für die Ozonschicht in Bezug auf die Referenzsubstanz Trichlorfluormethan (R-11;  $ODP_{R-11} = 1,0$ ) definiert. Die im Montrealer Protokoll erstellten Stofflisten mit ODP-Werten werden regelmäßig überprüft und veröffentlicht (z. B. UNEP-Ozone Secretariat, 2000). Diese Listen bilden die Grundlage für die Klassifizierung in der IC „Ozone Depletion Potential“.

In der Stratosphäre erfüllt das Ozon eine wichtige Funktion. An der Erdoberfläche gilt Ozon dagegen als aggressives Reizgas, das bei erhöhten Konzentrationen in der Luft die Atemwege von Mensch und Tier angreift, Membranen in pflanzlichen Zellen beeinträchtigt und Werkstoffe schädigt. Flüchtige organische Substanzen (VOC = Volatile Organic Carbons) und Stickoxide ( $NO_x$ ) sind wichtige Vorläufersubstanzen für die Bildung von Photooxidantien, insbesondere von Ozon, deren erhöhtes Auftreten zum so genannten Sommersmog führt. Das Photochemical Ozone Creation Potential (POCP) gibt das photochemische Ozonbildungspotential von flüchtigen organischen Verbindungen an (Referenzsubstanz Ethylen;  $POCP_{Ethylen} = 100$ ). Für die ABC-Klassifizierung werden die von Derwent et al. (1996 u. 1998) veröffentlichten Listen von POCP-Werten organischer Verbindungen verwendet. Brand et al. (1998) stellten fest, dass die Ozonbildung in der Schweiz stickoxidlimitiert ist. Da die Situation in der Bundesrepublik vermutlich ähnlich ist, werden Stickoxide abweichend von den festgelegten Klassengrenzen der Klasse A zugeordnet.

Unter Versauerung versteht man allgemein das Absinken des pH-Wertes in Medien der Umwelt, vor allem in Gewässern und im Boden (Streit, 1994). Verantwortlich für die anthropogen bedingte Versauerung sind vor allem Schwefeldioxid und Stickoxide aus Verbrennungsprozessen und Ammoniak aus der Landwirtschaft (Walz et al., 1997). Diese Stoffe werden in der Atmosphäre zu Schwefel- und Schwefliger Säure, Salpeter- und Salpetriger Säure umgesetzt. Sie gelangen durch nasse (saurer Niederschlag) und trockene Deposition in Böden und Gewässer und verursachen dort Nährstoffauswaschung und einen



kombinierten toxischen Effekt von freigesetzten Protonen und Metallionen, der als Mitverursacher der neuartigen Waldschäden gilt (Brauer, 1996). In Gewässern kann es ebenfalls zur Versauerung mit Freisetzung von toxischen Metallionen kommen.

Zur Aggregation säurebildender Emissions- bzw. Immissionsmengen wurde ähnlich wie beim GWP oder ODP ein Acidification Potential (AP) definiert, das die Fähigkeit eines Stoffes,  $H^+$ -Ionen zu bilden, beschreibt. Im Gegensatz zu GWP und ODP ist dieser Indikator jedoch nicht durch internationale Vereinbarungen anerkannt (Stahl, 1998). Als Referenzsubstanz dient Schwefeldioxid ( $AP_{SO_2} = 1,0$ ). Da das AP der drei wichtigsten Substanzen ( $SO_2$ ,  $NO_x$ ,  $NH_3$ ) relativ eng beieinander liegt, erscheint eine Aufteilung dieser Substanzen in der IC „Acidification Potential“ (Versauerungspotential) in zwei Klassen nicht sinnvoll. Die Klassengrenze wird daher so gelegt, dass diese Substanzen alle in Klasse A eingeordnet sind. Informationen zu den AP-Werten einzelner Stoffe werden aus Stahl (1998) und Goedkoop (1995) entnommen.

Unter Geruchsbelästigung versteht man die Beeinträchtigung des menschlichen Wohlbefindens über einen gewissen Zeitraum durch emittierte Geruchsstoffe (Streit, 1994). In § 3 des Bundesimmissionsschutzgesetz (BImSchG) werden Geruchsstoffe ausdrücklich als schädliche Umwelteinwirkungen definiert. Der Geruchsschwellenwert einer Substanz ist die kleinste Stoffmenge (bzw. -konzentration) in der Luft, die von einem Menschen gerade noch wahrgenommen wird (Streit, 1994). Die Geruchswahrnehmung ist jedoch eine subjektive Empfindung. Bei der Ermittlung von Schwellenwerten kommt es daher oft zu abweichenden Angaben. Geruchsschwellenwerte sind somit zwar keine „harten“ Grenzwerte, aber doch wichtige Richtwerte zur Bewertung geruchstragender Luftverunreinigungen (Brauer, 1996). Da die von Gerüchen ausgehenden Umweltbeeinträchtigungen zwar lokal unangenehm sind, aber kein den übrigen Kategorien vergleichbares, langfristiges Schadpotential haben, wurde für die Impact Category „Odour“ keine Klasse A (= hohes Schadpotential) definiert. Die Grundlage für die Klassifizierung bildet eine in Anhang A4 zusammengestellte Liste von veröffentlichten Geruchsschwellenwerten.

In mehreren Bewertungsmethoden wird eine Kategorie „Wintersmog“ verwendet (s. Anhang A1). Wintersmog wird im wesentlichen durch Schwefeldioxid und Stäube verursacht und war lange Zeit ein wichtiges Umweltthema. Durch die heute praktizierte Abluftreinigung spielt der Wintersmog in Mitteleuropa jedoch keine Rolle mehr. Daher soll der Wintersmog in der Methode nicht als eigene Kategorie berücksichtigt werden, zumal der Hauptverursacher  $SO_2$  bereits beim „Acidification Potential“ in Klasse A eingestuft wird.

### **3.2.3. Umweltkompartimente Wasser und Boden**

Die Schadwirkung auf die Umweltkompartimente Wasser und Boden wird in zwei Wirkungskategorien bewertet. Als Eutrophierung bezeichnet man die Zunahme der Primärproduktion in einem Ökosystem, vor allem in Gewässern, und die damit verbundenen Folgen. Verursacht wird die Eutrophierung fast immer durch die erhöhte Zufuhr der Pflanzennährstoffe Stickstoff und Phosphor. Diese bedingen ein starkes Wachstum des Phytoplanktons und der Wasserpflanzen. Diesem Wachstum folgt ein vermehrtes Absterben und Zersetzen von toter Biomasse, die zu einem starken Sauerstoffverbrauch, der Bildung von sauerstoffarmen oder sauerstofffreien Zonen und zur Entstehung von toxischen Substanzen, z. B. Ammoniak und Schwefelwasserstoff führt. Weiterhin verursacht die Eutrophierung eine Verarmung und Verschiebung des Artenspektrums (Fent, 1998). Das Wachstum ist in den Binnengewässern in der Regel P-limitiert, in Meeresgewässern dagegen meist N-limitiert. Die Eutrophierung ist vor allem für stehende Gewässer relevant, während in Fließgewässern andere Faktoren das Wachstum begrenzen.

Als Kriterium für die Impact Category „Eutrophication“ (Eutrophierung) dient der leicht zu berechnende Stickstoff- und Phosphorgehalt eines Stoffes. Damit werden alle P- und N-haltigen Stoffe (Ausnahme N<sub>2</sub>) berücksichtigt. Dies ist insofern gerechtfertigt, da die allermeisten Verbindungen entweder in Behandlungsanlagen (Kläranlagen etc.) oder im Ökosystem früher oder später zu pflanzenverfügbaren Verbindungen ab- oder umgebaut werden. Da die Primärproduktion in Binnengewässern in der Regel P-limitiert ist und der Stickstoffgehalt des Phytoplanktons (und damit der Bedarf) deutlich höher ist, wurde die Klassengrenze für P-Verbindungen niedriger angesetzt als für N-Verbindungen.

Die Zufuhr von organischen Verbindungen belastet die Gewässer ebenfalls durch eine verstärkte Sauerstoffzehrung, die je nach Stärke der Verschmutzung bis zur Entstehung von anaeroben Zonen führen kann. Der Chemische Sauerstoffbedarf (Chemical Oxygen Demand, COD) gibt an, wie viel Sauerstoff benötigt wird, um eine organische Verbindung zu oxidieren. Der COD, oder zu deutsch CSB, wurde als Parameter für die IC „Organic Carbon Pollution Potential“ (OCPP, Verschmutzungspotential organischer Verbindungen) ausgewählt. Wo der COD nicht bekannt ist, wird ersatzweise der ThOD (Theoretical Oxygen Demand) berechnet und zur Einteilung des Stoffes verwendet. Der COD kann in der Regel in jeder Kläranlage auf ein erträgliches Maß reduziert werden, während N- und P-Verbindungen dagegen nur in größeren Anlagen und dort auch nur teilweise zurückgehalten

werden und dann im Gewässer ihre eutrophierende Wirkung entfalten können. Daher wurde für das OCPP auf eine Klasse A verzichtet.

In vielen Bewertungsmethoden wird eine Kategorie Abfall/Waste definiert (s. Anhang A1). Aus mehreren Gründen soll hier jedoch darauf verzichtet werden:

- Die Wirkungskategorie Waste stellt eine Sammelkategorie dar, die eine Vielzahl von Wirkungen zusammenfasst. Das macht ihre Verwendung schwierig und unterscheidet sie von allen anderen vorgeschlagenen ICs, die immer nur eine Wirkung bzw. eine eng begrenzte Gruppe von Wirkungsarten betrachten.
- Zumindest einige der Wirkungen, die in der Kategorie Waste von Bedeutung sind, werden bereits in anderen Kategorien berücksichtigt (z. B. Toxizität, Wassergefährdung).
- Bei der Bewertung in frühen Entwicklungsphasen kommt das Problem hinzu, dass die Abschätzung der tatsächlichen Abfallströme recht unsicher ist. Diese sind aber notwendig, um eine Einteilung (z. B. hazardous/non-hazardous) in nationale und internationale Abfallkataloge (z. B. EPA-Listen in Bishop, 2000) vornehmen zu können. Eine Berücksichtigung erscheint daher erst in späteren Entwicklungsphasen sinnvoll.

### **3.2.4. Wirkung auf Organismen**

Diese Gruppe enthält die drei Kategorien, die die direkte Wirkung auf Organismen (Mensch, Tier) berücksichtigen, während die übrigen Kategorien indirekt auf die Organismen, über veränderte Lebensbedingungen wirken. Man könnte dabei auch von indirekter ökotoxikologischer Wirkung sprechen.

Die Toxizität ist ein Maß für die gesundheitsschädigende Wirkung, das toxische Potential, einer chemischen Substanz (Streit, 1994). Von Toxizität spricht man, wenn als Folge der Einwirkung einer Chemikalie negative Veränderungen bei Organismen auftreten (Fent, 1998). Die toxische Wirkung einer Substanz ist abhängig von ihren Stoffeigenschaften, der Konzentration (Dosis) am Wirkort, Dauer und Häufigkeit der Exposition und darüber hinaus von der Bioverfügbarkeit und den Expositionswegen (Fent, 1998).

Von akuter Toxizität spricht man, wenn die toxische Wirkung nach einer einmaligen Verabreichung bzw. nach einer kurz andauernden Exposition innerhalb kurzer Zeit auftritt. Die Dauer liegt, abhängig von den betrachteten Testorganismen, zwischen wenigen Stunden und wenigen Tagen. Bei längerer Dauer spricht man von subakuter oder subchronischer Wirkung. Die akute Toxizität wird in der Regel mit Hilfe von Labororganismen ermittelt, bei denen man die Mortalität, seltener das Auftreten bestimmter Effekte, erfasst (Streit, 1994).

Es existiert noch kein allgemeiner Konsens für eine bestimmte Methode zur Bewertung von akuter und chronischer Toxizität, wie sie etwa für das Global Warming oder den Ozonabbau besteht (Jensen et al., 1997). Es müssen daher, ähnlich wie bei der Sicherheitsbetrachtung (s. Kap. 3.2.5.), für die ABC-Klassifizierung mehrere Parameter berücksichtigt werden.

Die Basis für Abschätzungen der akuten Toxizität bilden meist LD<sub>50</sub>- (Letale Dosis, bei der 50 % der Testorganismen sterben), LC<sub>50</sub>- (Letale Konzentration, bei der 50 % der Testorganismen sterben) und EC<sub>50</sub>-Werte (Konzentration, bei der bei 50 % der Testorganismen ein bestimmter Effekt auftritt). Die Tests werden im Labor bei definierten Umweltbedingungen durchgeführt. In der natürlichen Umwelt wird die toxische Wirkung eines Stoffes jedoch durch biotische und abiotische Faktoren beeinflusst. Weiterhin variieren die LD-, LC- und EC-Werte zwischen verschiedenen Spezies und zwischen unterschiedlichen Entwicklungsstadien der selben Spezies. Die Aussagekraft eines einzelnen Tests ist daher limitiert und er stellt nur einen Richtwert für die Toxizität eines Stoffes dar (Fent, 1998). Bei der Einteilung von Stoffen in nationalen und internationalen Toxizitätsbewertungen werden daher meist mehrere LC/LD-Werte und teilweise zusätzlich die mögliche Exposition (biologische Abbaubarkeit, Verteilungskoeffizienten) berücksichtigt. Daher erhalten solche Bewertungen, wie R-Sätze, EU-Gefahrensymbole, Schweizer Giftklassen bei der IC „Acute Toxicity“ (Akute Toxizität) eine höhere Priorität.

Einteilungen mit wenigen Klassen oder Abstufungen, wie R-Sätze, Gefahrensymbole und Wassergefährdungsklassen stellen recht starke Vereinfachungen dar. Dadurch werden manche Wirkungen nicht vollständig berücksichtigt und eine differenziertere Gewichtung ist nicht mehr möglich. Trotz dessen sollten sie für eine erste ökologische Abschätzung ausreichend sein und sie haben den großen Vorteil, dass der „normale“ Prozessentwickler mit Termini wie R-Sätze und Gefahrensymbole vertraut ist und die Angaben in praktisch jedem Chemikalienkatalog nachschlagen kann. Das methodische Vorgehen wird in Abb. 3-2 dargestellt. Ein detaillierter Programmablaufplan für die Klassifizierung in der IC „Acute Toxicity“ wird in Anhang A2 gegeben. Sind für einen Stoff nicht genügend Parameter zur Einteilung verfügbar und ist er nicht als allgemein unproblematisch bekannt, wird er vorläufig der Klasse A zugeordnet (s. Abb. 3-2). Dies sagt nichts über seine tatsächliche Relevanz aus, sondern zeigt an, dass für diesen Stoff noch Abklärungsbedarf besteht.

Ätzende Stoffe und Stoffe, die Augen-, Haut- und Atemwegsreizungen verursachen, wirken ebenfalls akut auf Organismen, auch wenn es sich dabei nicht um toxische Wirkungen im engeren Sinne handelt. Angelehnt an Koller (2000) werden für die ABC-Klassifizierung die EU-Gefahrensymbole und die R-Sätze der Gefahrstoffverordnung zur Abschätzung ihrer

ätzenden und reizenden Wirkung verwendet. Die entsprechenden Gefahrensymbole und R-Sätze werden der Einteilung der akuten Toxizität beigelegt. Verglichen mit der Toxizität ist das Schädpotential jedoch geringer, weshalb keine Klasse A-Einteilung vorgenommen wird (nur Klasse B und C definiert).

Bei chronischer Toxizität tritt die toxische Wirkung erst nach lang andauernder bzw. häufig wiederholter Exposition bzw. Verabreichung auf. Für die Einzelgabe bzw. -exposition kann kein negativer Effekt nachgewiesen werden. Die Ursache für die Toxizität ist die Bioakkumulation des Schadstoffes im Organismus oder die Häufung von zahlreichen kleinen Einzelschäden. Chronische Toxizität entwickelt sich folglich oft sehr langsam. Von chronischen Wirkungen spricht man beim Mensch und anderen größeren Säugern ab einer Einwirkdauer von einem halben bis zwei Jahren, bei kleineren Organismen aufgrund der kürzeren Generationszeit schon bei geringeren Zeitperioden (Streit, 1994). Unter chronischer Toxizität werden eine Vielzahl von negativen Wirkungen auf den Organismus zusammengefasst. Sie betrifft die Bereiche Physiologie (Wachstum, Entwicklung), Biochemie (Blutplasma, Enzymaktivität), Zellstruktur (Histologie) und Reproduktion und zeigt sich in Mutagenität, Kanzerogenität, Immuntoxizität (erhöhte Krankheitsanfälligkeit, Parasiten) und histopathologischen Gewebeschäden (Fent, 1998).

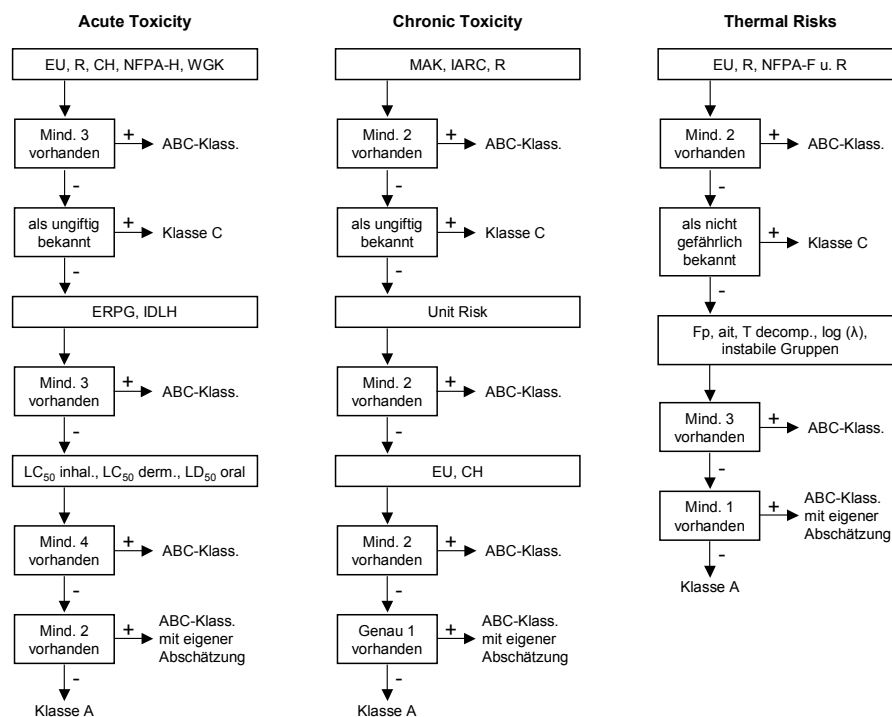


Abb. 3-2: Durchführung der ABC-Klassifizierung der Wirkungskategorien „Acute Toxicity“, „Chronic Toxicity“ und „Thermal Risk“. Erläuterung der Abkürzungen siehe Tab. 3-1.

Die chronische Toxizität kann nicht aus der akuten Toxizität abgeleitet werden. Beispiele für die große Divergenz zwischen akuter und chronischer Toxizität von Stoffen werden u. a. bei Fent (1998) gegeben. Global gesehen haben chronische Belastungen sowohl human- als auch ökotoxikologisch eine größere Bedeutung als Einzelereignisse, wie etwa große Chemieunfälle u. ä. und die damit verbundenen akuten Toxizitäten. Wichtige Umweltbeeinträchtigungen, die auf chronische Belastungen zurückgehen, wurden in der Vergangenheit nicht vorhergesehen, sondern erst mit den auftretenden Schäden erkannt (z. B. die negativen Wirkungen von DDT und PCBs) (Fent, 1998).

Entsprechend zur IC „Acute Toxicity“ werden für die Einteilung der IC „Chronic Toxicity“ (Chronische Toxizität) bevorzugt nationale und internationale Klassifizierungen der chronischen Toxizität verwendet (s. Abb. 3-2, Programmablaufplan Anhang A2). Für die Methode wurden dabei ebenfalls Parameter verwendet, die nach eigener Erfahrung am einfachsten zugänglich sind und die durch Berücksichtigung verschiedener Primärdaten und Expertenwissen gebildet wurden. Daneben gibt es zahlreiche weitere Parameter, wie z. B. die NOEL- (No Observed Effect Level) oder ADI-Werte (Acceptable Daily Intake), die grundsätzlich genauso gut geeignet, aber weniger gut zugänglich sind.

Wie oben diskutiert, gibt es keine allgemein anerkannte Vorgehensweise für die Einbeziehung von toxikologischen Daten in die Stoffbewertung. Manche Methoden berücksichtigen nur die akute Toxizität, andere vermischen akute und chronische Toxizität bei der Bewertung. Eine Übersicht über bestehende Methoden der Toxizitätsbewertung wird beispielsweise bei Jensen et al. (1997) gegeben. Eine ausführliche Diskussion über die Schwächen und Limitierungen der derzeitigen Stoffbewertung erfolgt u. a. bei Brauer (1996). Allen Methoden gemein ist, dass Veränderungen des Stoffes in der Umwelt und mögliche Synergieeffekte mit anderen Stoffen nicht in der Bewertung berücksichtigt werden. Eine Ausnahme hiervon bildet die Arbeit von Haase (2002). Dort wird versucht auch die Abbauprodukte eines Stoffes zu berücksichtigen, was sich in der Anwendung jedoch als schwierig erweist, da neben der Toxizität der Abbauprodukte auch die bloße Anzahl der berücksichtigten Abbauprodukte die Bewertung beeinflusst.

Unter endokriner Wirkung von Chemikalien werden alle Arten von Wirkungen verstanden, die das endokrine System, d. h. das Hormonsystem von Mensch und Tier betreffen. So vielfältig die physiologischen Funktionen von Hormonen sind, so vielfältig sind die von endokrin wirksamen Substanzen (endocrine disruptors, endocrine modifiers, hormonally active agents) verursachten Effekte. Allgemein kann man dabei unterscheiden, ob die

Chemikalie selbst wie ein Hormon wirkt oder ob es die Wirkung und/oder die Konzentration von natürlichen Hormonen verändert. (Bruhn et al., 1999; National Research Council, 1999). In Anhang A5 ist eine Liste von Substanzen aufgeführt, von denen eine endokrine Wirkung bekannt ist, bzw. die in Verdacht stehen eine solche Wirkung zu besitzen. Die Liste ist das Ergebnis einer umfangreichen Literaturstudie. Bei dieser Literaturdurchsicht wurde deutlich, dass hinsichtlich der endokrinen Wirkung von Chemikalien die Meinungen noch weit auseinander gehen und die tatsächliche Relevanz dieser Wirkungen noch nicht abschließend geklärt ist. Aufgrund der Unsicherheit hinsichtlich der Relevanz wurde in der IC „Endocrine Disruption Potential“ (Endokrines Wirkpotential) auf die Definition der Klasse A verzichtet.

### **3.2.5. Sicherheitsaspekte**

Ein Teil jeder Prozessentwicklung ist eine umfassende Risikobetrachtung (Risk Assessment). Die Verwendung der Impact Category „Thermal Risk“ (Thermisches Risiko) soll ein solches Risk Assessment ausdrücklich nicht ersetzen. Vielmehr soll sie in frühen Phasen erste Hinweise geben, welche Stoffe ein Gefahrenpotential besitzen, auf die dann im späteren Risk Assessment besonders geachtet werden sollte. Ein umfassendes Risk Assessment, das die Abschätzung von Häufigkeit und Ausmaß der Folgewirkungen von Unfällen in Abhängigkeit der chemischen, technischen und organisatorischen Merkmale der Produktionsanlage einschließt, ist in frühen Entwicklungsphasen aufgrund der beschränkten Datenlage nicht möglich (Koller, 2000). In den meisten Methoden zur ökologischen Bewertung werden Risikobetrachtungen ausgeklammert (s. Anhang A1). Eine vergleichbare Verwendung findet sich außer bei Koller (2000) nur noch bei Elliott et al. (1996). Die Bewertung der IC „Thermal Risks“ orientiert sich an der Arbeit von Koller (2000), weicht von dieser jedoch hinsichtlich Umfang und Klassengrenzen deutlich ab.

Als Gefahr bezeichnet man einen Vorgang oder Zustand aus dem ein Schaden für Mensch, Umwelt oder Sachgüter entstehen kann. Unter Gefährdung versteht man eine Gefahr, die sich gegen ein bestimmtes Schutzgut (z. B. Person, Sachgut) richtet. Der Begriff Risiko bewertet einen möglichen Schaden nach Eintretenswahrscheinlichkeit und der Tragweite der Schadenswirkung (Käppeli, 1995).

Sowohl die Input- als auch die Outputstoffe werden mit der Risikokategorie bewertet. Zwischenprodukte, die dagegen im Prozess entstehen und noch im Prozess wieder umgesetzt werden, also im Output nicht enthalten sind, werden nicht in die Risikobetrachtung einbezogen. Die IC berücksichtigt die Zündfähigkeit, Brandgefährdung, die thermische

Stabilität, die Explosionsgefährdung und die Inkompatibilität mit Luft, Wasser und anderen Stoffen. Die R-Sätze der Gefahrstoffverordnung, die EU-Gefahrensymbole, die Flammability Hazard Classes und die Reactivity Hazard Classes der US National Fire Protection Agency (NFPA) decken diese Gefahrenpotentiale ab, sind sehr leicht zugänglich und wurden für eine sehr große Zahl von Stoffen ermittelt. Sie werden bei der Bewertung daher mit erster Priorität verwendet (s. Abb. 3-2, Programmablaufplan Anhang A2). Nur wenn die dort verfügbaren Daten nicht ausreichend sind, wird auf die Basisdaten wie Flammpunkt, Selbstzündungstemperatur, Zersetzungstemperatur, elektrische Leitfähigkeit und das Vorhandensein von instabilen Gruppen zurückgegriffen.

Bei der Verwendung zellulärer biologischer Systeme kann zusätzlich ein biologisches Risiko bestehen. In eine Methode zur ökologischen Bewertung von Prozessen wurde das biologische Risiko bisher jedoch nur von Stephan et al. (1994) integriert. In der Öffentlichkeit steht vor allem die Anwendung von genetisch modifizierten Organismen in offenen Systemen (z. B. Landwirtschaft) im Vordergrund (s. hierzu z. B. Klöpffer et al., 1999; Röver et al., 2000). Biotechnische Anlagen sind dagegen in der Regel geschlossene Systeme. In ihnen werden meist Organismen der Gefährdungsgruppe 1 (S1) verwendet, die als inhärent sicher betrachtet werden (Käppeli, 1995). Mit Mikroorganismen einer höheren Gefährdungsgruppe findet in der Regel gar keine Prozessentwicklung statt. Daher kann auf eine Berücksichtigung des biologischen Risikos in der Methode verzichtet werden.

### **3.3. Ableitung Environmental Factors**

Im Entscheidungsprozess müssen die zu einem Stoff in den Wirkungskategorien gesammelten Informationen aggregiert werden, um zu einer Formulierung einer ganzheitlichen Aussage über seine Umweltrelevanz zu gelangen. Für das Zusammenführen der verschiedenen Umweltwirkungen ist eine rein wissenschaftliche Begründung nicht möglich, auch wenn dies durch Definition von Bezugsgrößen in manchen Bewertungsmethode suggeriert wird (z. B. bei Haase, 2002). Es spielen auch immer subjektive Gewichtungen eine Rolle, dass heißt, welche Bedeutung einer Umweltwirkung (z. B. Global Warming) im Vergleich zu einer anderen (z. B. Toxizität) beigemessen wird. Gerade deshalb ist dabei ein transparentes Vorgehen wichtig. Die im Folgenden abgeleiteten Environmental Factors (EF) stellen aggregierte Wichtungsfaktoren dar, die die Relevanz eines Stoffes unter Umwelt-, Gesundheits- und (in beschränktem Maße) Sicherheitsaspekten wiedergeben. Die in der Sachbilanz ermittelten Mengen der einzelnen Stoffe werden mit diesen Faktoren



gewichtet. Die EFs werden getrennt für Input- und Outputstoffe ermittelt. Ihre Ableitung aus den Wirkungskategorien ist in Abb. 3-3 dargestellt, die Berechnung in Tab. 3-2 (S. 29).

Die Klassifizierung in den Wirkungskategorien (Impact Categories = IC) bildet die Grundlage für die Bestimmung. Jeder Stoff wird dort nach seiner Relevanz für die Wirkungskategorie in die Klasse A, B oder C eingeteilt (s. Kap. 3.2.). Jede Wirkungskategorie ist einer Wirkungsklasse (Impact Group = IG) zugeordnet (s. Abb. 3-3). Die Aufteilung der Wirkungskategorien ist jedoch nicht scharf, da viele Wirkungskategorien auf mehr als eine Wirkungsklasse Einfluss haben. Das „Acidification Potential“ beruht beispielweise auf Emissionen von Luftschadstoffen, die in der Atmosphäre weiterreagieren. Die umweltschädigende Wirkung tritt jedoch erst bei der Immission dieser Reaktionsprodukte in die Umweltkompartimente Boden und Wasser auf.

Die IGs werden ebenfalls der Klasse A, B oder C zugeteilt. Dabei bestimmt die höchste Klasseneinteilung der zugeordneten ICs die Klassifizierung der IG. Ist ein Stoff beispielsweise in den fünf Luftkategorien dreimal in Klasse C, einmal in Klasse B und einmal in Klasse A eingestuft, erhält die IG „Air“ die Klasse A als Einteilung. Dies bedeutet, dass ein Stoff mit fünf Klasse A-Einteilungen in der IG „Air“ die gleiche Gewichtung erhält wie ein Stoff mit nur einer Klasse A-Einteilung. Dies ist insofern gerechtfertigt, da jede Impact Group einen bestimmten Wirkungsbereich, z. B. das Umweltkompartiment Luft repräsentiert und die Relevanz des betrachteten Stoffes für diesen Wirkungsbereich für die IG-Einteilung entscheidend ist. Dort wo einer Wirkungsklasse nur eine Wirkungskategorie zugeordnet ist, wird deren Wert automatisch übernommen (z. B. IG „Resources“).

Die Klassifizierung der Impact Groups ist eine erste Stufe der Aggregation. Den entscheidenden Aggregationsschritt stellt die Ableitung der Environmental Factors (EF) aus den Wirkungsklassen dar. Der EF für Inputstoffe wird aus den Klassen „Resources“, „Grey Input“, „Organisms“ und „Component Risk“ ermittelt. Der EF für Outputstoffe ergibt sich aus den IGs „Air“, „Water/Soil“, „Organisms“ und „Component Risk“. Beide EFs beruhen also auf je 4 IGs, wobei die IGs „Component Risk“ und „Organisms“ für beide Seiten verwendet werden. Für einen Stoff, der sowohl Input als auch Output ist (z. B. ein Rohstoff, der nicht vollständig verbraucht wird), können sich folglich zwei gänzlich unterschiedliche EFs ergeben. Dies entspricht der unterschiedlichen Zielsetzung der EFs. Der Input-EF betrachtet vor allem den Weg, den der Stoff bis zum Eintritt in den Prozess genommen hat und seine toxischen Eigenschaften („Organisms“) und sein Verhalten im Prozess („Component Risk“). Der Output-EF betrachtet dagegen toxische Eigenschaften und Verhalten des Stoffes im Prozess und nach seiner Freisetzung in die Umwelt.

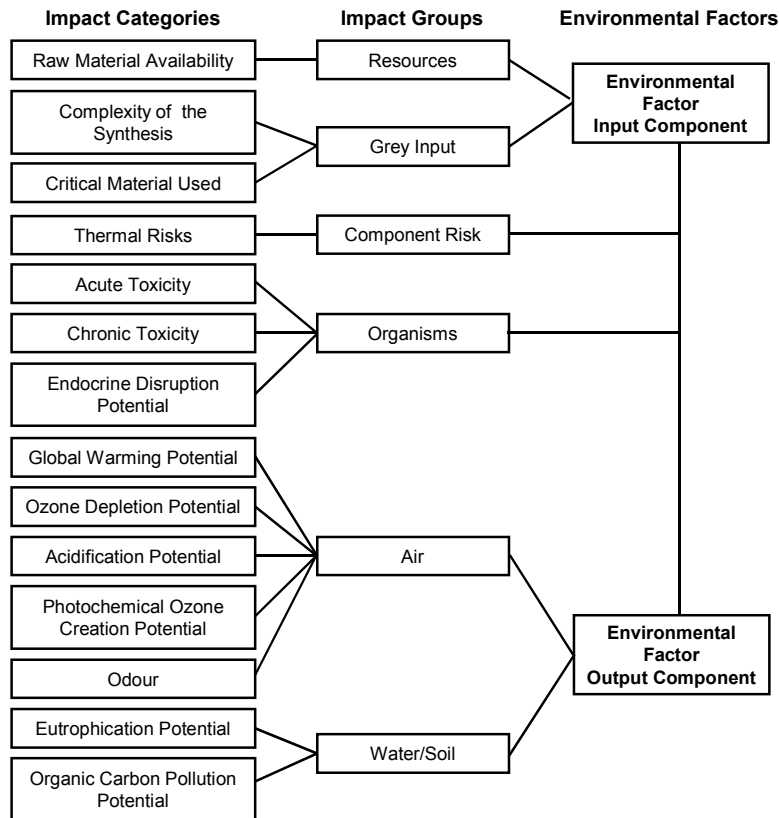


Abb. 3-3: Übersicht der verwendeten Wirkungskategorien (Impact Categories), Wirkungsklassen (Impact Groups) und Ableitung der Environmental Factors für Input- und Outputstoffe.

Um das Zusammenführen der vier relevanten Impact Groups zu einem EF zu ermöglichen, müssen den drei Klassen A, B und C Zahlenwerte zugeordnet werden. Die Aggregation der IGs zu den EFs ist der zentrale Abstraktionsschritt der Methode. Die Ermittlung wird durch zwei Faktoren entscheidend bestimmt: Durch die Zahlenwerte, die den drei Klassen (A, B, C) zugeordnet werden und die Art der Aggregation der so erhaltenen Zahlenwerte der vier IGs. Eine ausschließlich wissenschaftliche Begründung der Vorgehensweise ist nicht möglich. Viel mehr ist ein subjektives Abwägen notwendig, um die Gewichtungverteilung, die als zielführend erachtet wird, zu ermitteln.

Für die Zahlenwerte der ABC-Klassen wurden zwei Optionen näher betrachtet. Aus Heinzle et al. (1998) wurden die dort ermittelten Werte  $A = 4$ ,  $B = 1,3$  und  $C = 1$  übernommen. Diese wurden so gewählt, dass ein Stoff mit einer Klasse A-Einteilung einen Stoff, der in allen Kategorien in Klasse B eingeteilt ist, dominiert und damit eine Klasse A-Einteilung in der Bewertung betont wird. Daneben wird die Verteilung  $A = 1$ ,  $B = 0,3$  und  $C = 0$  betrachtet. Der entscheidende Unterschied zwischen diesen beiden Möglichkeiten ist, dass man entweder der Klasse C den Wert  $C = 0$  zuordnet und die Klasse A dann  $A = 1$  setzt oder der Klasse C den Wert  $C = 1$  vergibt und dann für die übrigen Klassen Werte  $> 1$  definiert. Dies

beeinflusst entscheidend die Bewertung eines konkreten Prozessbeispiels. Ist  $C = 1$ , geht jeder Stoff, auch ein als völlig unbedenklich eingestuftes Stoff, z. B. Wasser, in die Berechnung der verschiedenen Indizes ein (wenn auch mit geringer Gewichtung). Ist dagegen  $C = 0$  fallen alle völlig unbedenklichen Stoffe (Klasse C-Einstufungen in allen IGs) ganz aus der Bewertung heraus und es werden nur jene Stoffe berücksichtigt, die in irgendeiner Weise eine Umweltrelevanz besitzen. Gerade bei biotechnischen Prozessen, in denen häufig unbedenkliche Stoffe mit großen Mengenanteilen vorkommen, kann dies zu großen Unterschieden in den ermittelten Indizes und damit in der Bewertung führen.

Beide Zahlenverteilungen betonen Klasse A-Einteilungen. Natürlich führt auch eine Variation der drei Zahlenwerte zueinander zu gewissen Unterschieden in der Gewichtung. Diese beeinflussen die Bewertung jedoch nicht so entscheidend wie die grundsätzliche Definition der Klasse C.

Input- und Outputstoffe sind nun je in vier Wirkungsklassen bewertet, denen entsprechend ihrer Einteilung (A, B, C) vier Zahlenwerte zugeordnet sind. Im nächsten Schritt werden die Zahlenwerte der vier IGs zu einem EF aggregiert. Für die Aggregation wurden vier Möglichkeiten in Betracht gezogen: Multiplikation, Addition oder Mittelwertbildung der vier IG-Werte oder die Verwendung des Maximalwerts aus den vier IGs (ähnlich zur Ermittlung der IG-Klassen). Bei der Definition  $C = 0$  entfällt die Multiplikation als Möglichkeit. In Abb. 3-4 ist die Verteilung der Output-EFs aller bisher erfassten Stoffe bei verschiedenen Aggregationsmethoden und verschiedenen Zahlenwerten dargestellt. Die Werte sind auf 1 normiert, um eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Die Verteilung der Input-EF ist ähnlich (nicht dargestellt).

Verwendet man jeweils den Maximalwert aus den vier Wirkungsklassen, ergeben sich nur drei verschiedenen Stufen: Entweder 0-0,3-1 (Kurve 4,  $C = 0$ ) oder 1-1,3-4 (Kurve 2,  $C = 1$ ). Die Differenzierung ist damit sehr gering und eine ziemlich große Zahl von Stoffen erhält den maximalen EF. Damit bestehen zwischen sehr problematischen Stoffen und minderproblematischen Stoffen teilweise keine Unterschiede. Die Verwendung des Maximalwerts erscheint daher nicht sinnvoll.

Bei der Aggregation durch Multiplikation der vier Zahlenwerte (Kurve 1) liegt der EF zwischen 1 ( $1^4$ ) und 256 ( $4^4$ ). Klasse C-Stoffe verbleiben in der Bewertung ( $C = 1$ ). Die Wichtungverteilung zeigt, dass die problematischen Stoffe (mit mehreren Klasse A-Einteilungen) sehr stark gewichtet werden (in Abb. 3-4 Stoffe 1-10). Stoffe mit überwiegend Klasse B-Einteilungen (Stoffe 10-25) setzen sich dagegen nur geringfügig von Stoffen ab, die fast ausschließlich Klasse C-Einteilungen besitzen (Stoffe 25-60).

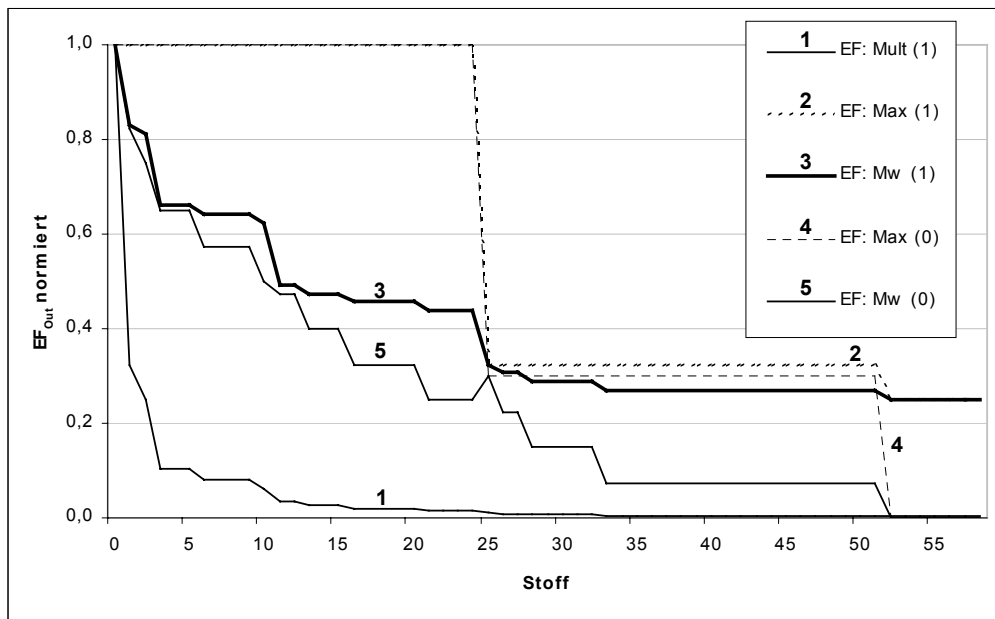


Abb. 3-4: Verteilung der EF-Werte bei verschiedenen Aggregationsmethoden und verschiedenen Zahlenwerten der ABC-Klassifizierung (EF-Output). Zur Vergleichbarkeit sind die Werte auf 1 normiert. Mult = multiplikative Ermittlung, Max = Ermittlung als Maximalwert, Mw = EF durch Mittelwertbildung, (1) = mit  $C = 1$ , (0) = mit  $C = 0$ .

Die normierte Verteilung der EF-Werte, wohl gemerkt nicht die absoluten Zahlen, sind bei der Aggregation durch Addition und durch Mittelwertbildung der Zahlenwerte identisch. Bei der Addition liegen die EFs zwischen 0 und 4 ( $C = 0$ ) bzw. 4 und 16 ( $C = 1$ ), bei der Mittelwertbildung dagegen bei 0-1 bzw. 1-4. Die absoluten Problemstoffe sind im Verhältnis zu den B-Stoffen weniger stark gewichtet als bei der multiplikativen Aggregation. Bei den Zahlenwerten mit  $C = 1$  (Kurve 3) sind die B-Stoffe wiederum relativ schwach gegenüber Klasse C-Stoffen betont. Bei  $C = 0$  (Kurve 5) sind sie dagegen stärker betont. Hier ist dadurch die Verteilung der EFs am gleichmäßigsten und die Differenzierung maximal.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass die Verwendung des Maximalwertes zu wenig differenziert. Die Aggregation durch Addition führt zur gleichen Wichtungsverteilung wie die Mittelwertbildung, hat aber den Nachteil, dass die Werte 4-16 bzw. 0-4 weniger gut kommunizierbar sind und eine übersichtliche Darstellung erschweren. Sowohl Mittelwertbildung als auch Multiplikation liefern mit einer großen Anzahl an Stufen eine ausreichende Differenzierung. Die multiplikative Aggregation betont stärker die problematischsten Stoffe, während die Gewichtung bei der mittelwertgestützten Aggregation gleichmäßiger verteilt ist. Die Gleichmäßigkeit der Verteilung ist bei der Verwendung von  $C = 0$  am größten. Deshalb wird diese bei der Mittelwertbildung bevorzugt.

Bei der Bewertung der Fallbeispiele werden zwei EF verwendet. Einmal der durch Multiplikation ermittelte  $EF_{Mult}$  mit  $C = 1$  und der durch Mittelwertbildung aus den Zahlenwerten der vier Wirkungsklassen abgeleitete  $EF_{Mw}$  mit  $C = 0$ . Beide EFs sind Gewichtungsfaktoren, die die Umweltrelevanz des Stoffes angeben. Sie stellen zwei von mehreren Möglichkeiten dar, die verschiedenen Umweltwirkungen eines Stoffes zusammen zu fassen. Obwohl es nicht die „eine“ richtige Art der Aggregation gibt und immer auch subjektive Bewertungen eine Rolle spielen, ist die Ableitung eines Gewichtungsfaktors notwendig, um im Entscheidungsprozess zu klaren Aussagen zu gelangen. In Anhang A6 sind die EFs aller bewerteten Stoffe zusammenfassend dargestellt. Bei der Ableitung sind die vier Wirkungsklassen in beiden Fällen zueinander gleich gewichtet. Die relative Bedeutung der verschiedenen Wirkungen wird damit letztlich allein durch die Festlegung der Klassengrenzen in den Kategorien bestimmt.

Tab. 3-2: Mathematische Bestimmung der Wichtungsfaktoren und Indizes.

Indizes / Wichtungsfaktoren	Berechnung
<b>Mass Index Stoff i</b> , $MI_i$ [kg/kg P] $m_i$ = Menge Stoff i [kg]; $m_p$ = Menge Produkt [kg P]	$MI_i = \frac{m_i}{m_p}$
<b>Mass Index Verfahren</b> , $MI_{gesamt}$ [kg/kg P]	$MI_{gesamt,In} = \sum_1^i \frac{m_i}{m_p}; \quad MI_{gesamt,Out} = 1 + \sum_1^i \frac{m_i}{m_p}$
<b>Environmental Factor Stoff i</b> , $EF_i$ [Indexpunkte/kg] <b>über Mittelwert</b> ; als $EF_{Mw,i,In}$ u. $EF_{Mw,i,Out}$ $IG_{j,i}$ = Zahlenwert Stoff i in Impact Group j; $j$ = Anzahl der Impact Groups	$EF_{Mw,i} = \frac{IG_{1,i} + IG_{2,i} + IG_{3,i} + IG_{4,i}}{j}$
<b>Environmental Factor Stoff i</b> , $EF_i$ [Indexpunkte/kg] <b>über Multiplikation</b> ; als $EF_{Mult,i,In}$ u. $EF_{Mult,i,Out}$	$EF_{Mult,i} = \prod_1^j IG_{j,i}$
<b>Environmental Index Stoff i</b> , $EI_i$ [Indexpunkte/kg P]; (als $EI_{i,In}$ u. $EI_{i,Out}$ )	$EI_i = \frac{EF_i \cdot m_i}{m_p} = EF_i \cdot MI_i$
<b>Environmental Index Verfahren</b> , $EI_{gesamt}$ [Indexpunkte/kg P], (als $EI_{In}$ u. $EI_{Out}$ )	$EI_{gesamt} = \sum_1^i EI_i$
<b>General Effect Index Verfahren</b> , $GEI$ [dimensionslos]	$GEI = \frac{EI_{gesamt}}{MI_{gesamt}}$
<b>Impact Category Index</b> <b>Wirkungskategorie j</b> , $ICI_j$ [dimensionslos] $IC_{j,i}$ = Zahlenwert Stoff i in Impact Category j	$ICI_j = \frac{\sum_1^i IC_{j,i} \cdot MI_i}{MI_{gesamt}}$

## 3.4. Indizes

Die Berechnung der verwendeten Indizes ist in Tab. 3-2 dargestellt.

### 3.4.1. Mass Indices

Der Mass Index wird von Heinzle et al. (1998) übernommen. Er gibt an, welche Menge eines Stoffes pro funktioneller Einheit (z. B. 1 kg Endprodukt) verbraucht (Inputstoff) bzw. gebildet wird (Outputstoff). Er wird aus der Sachbilanz ermittelt. Dieser rein mengenbezogene Index gibt einen ersten Hinweis auf die wichtigsten Input- und Outputstoffe. Abweichend von Heinzle et al. (1998) wird der Index für Input- und Outputseite berechnet und jeweils als Mass Index bezeichnet (statt Mass Loss Index).

Die Summe aller Mass Indices ergibt, separat für Input- und Outputseite berechnet, den Mass Index des Prozesses. Er ist damit ein Maß für die Materialintensität des Verfahrens. Die Mass Indices bilden die Grundlage für die Ableitung der übrigen Indizes.

Neben der Verwendung bei Heinzle et al. (1998) gibt es darüber hinaus noch zahlreiche andere Bewertungsmethoden mit einem ähnlichem Ansatz, z. B. das MIPS-Konzept (Material Intensity per Service Unit) von Schmidt-Bleek (1993), die Materialflussanalyse von Steinbach (1998) oder das EATOS von Eissen (2001) (s. Anhang A1).

### 3.4.2. Environmental Indices

Zur Ermittlung des Environmental Index (EI) eines Stoffes wird sein Mass Index nach seiner ökologischen Relevanz (Environmental Factor) gewichtet (s. Tab. 3-2). Er verknüpft also die eingesetzte oder gebildete Menge des Stoffes mit seinem Umweltgefährdungspotential. Je geringer der EI eines Stoffes, desto geringer seine Bedeutung im Prozess. Der Index wird sowohl für die Input- als auch die Outputstoffe berechnet. Durch einen Vergleich der berechneten EIs kann man die aus ökologischer Sicht prioritären In- und Outputstoffe des Verfahrens identifizieren, in deren Verringerung folglich auch das größte Potential für Verbesserungen liegt.

Die Handhabung der mengenmäßig überragenden Bedeutung des Wassers in biokatalytischen Verfahren, die so bei chemischen Prozessen nicht oder nur äußerst selten vorkommt, stellt dabei ein Problem für die Evaluation dar. Bei der Verwendung des gemittelten  $EF_{Mw}$  mit  $C = 0$  fällt das Wasser aufgrund seiner völligen Unbedenklichkeit ( $EF = 0$ ) aus der Berechnung heraus. Verwendet man dagegen den multiplikativen  $EF_{Mult}$

( $C = 1$ ) bleibt das Wasser ( $EF = 1$ ) in der Berechnung. Natürlich hat auch der Wasserverbrauch eine gewisse Bedeutung für die Bewertung. Andererseits wird dann jedoch jeder andere Stoff, und sei er noch so toxisch, meist von der schieren Masse des Wassers in der Bewertung überdeckt. In der Darstellung kann dies durch eine zweifache Betrachtung, einmal mit und einmal ohne Wasser, gelöst werden.

Die Summation der einzelnen EIs ergibt jeweils separat für die Input- und Outputseite den Environmental Index für das Gesamtverfahren, der als Vergleichsgrundlage für die Bewertung von alternativen Verfahren oder Verfahrensschritten dient.

### **3.4.3. General Effect Index**

Der General Effect Index (GEI) gibt für den Prozess das Verhältnis von Environmental Index zu Mass Index an (s. Tab. 3-2). Er stellt damit einen gewichteten Mittelwert der EFs dar und wird separat für Input- und Outputseite berechnet. Bei der Verwendung des gemittelten  $EF_{Mw}$  (mit  $EF = 0-1$ ) liegt der  $GEI_{Mw}$  zwischen  $GEI = 0-1$ , wobei für den optimalsten Prozess  $GEI = 0$  gilt (alle  $EF_i = 0$ ) und für den ungünstigsten Prozess  $GEI = 1$  (alle  $EF_i = 1$ ). Mit multiplikativem  $EF_{Mult}$  liegt der Index zwischen 1 und 256.

Der GEI kann ebenfalls zum Vergleich von Verfahren oder Verfahrensalternativen verwendet werden. Aufgrund seines definierten Minimal- und Maximalwertes eignet er sich sehr gut für eine Portfoliodarstellung (z. B. Ökoeffizienzportfolio). Die Materialintensität kommt in diesem Index jedoch nicht mehr zum Ausdruck. Zwei Prozesse mit gänzlich verschiedenen Mass Indices, aber ähnlicher Struktur (Verteilung) der EIs, können einen identischen GEI haben. Daher ist es wichtig bei der Verwendung des GEI zusätzlich die Materialintensität des Verfahrens anzugeben.

### **3.4.4. Impact Category Indices und Impact Group Indices**

Die bisher vorgestellten Indizes aggregieren die Informationen für jeden Stoff bzw. für das ganze Verfahren. Damit ist eine Aussage über die Umweltrelevanz eines Stoffes oder des Prozesses möglich. Welche Umweltgefährdungen jedoch für diese ermittelte Relevanz verantwortlich sind, geht aus den Indizes nicht hervor. Darum wird zusätzlich ein Wirkindex (Impact Category Index,  $ICI_j$ ) berechnet, der aufzeigt welchen Anteil die einzelnen Umweltgefährdungen an der Gesamtgefährdung haben (s. Tab. 3-2). Die Berechnung kann sowohl für die Wirkungskategorien ( $ICI_j$ ) als auch auf der höheren Ebene der

Wirkungsklassen (Impact Group Index, IGI<sub>j</sub>) erfolgen. Der ICI bzw. IGI stellt einen mit den Mass Indices gewichteten Mittelwert der einzelnen IC bzw. IG dar. Die Berechnung erfolgt getrennt für Input- und Outputseite. Beim Vergleich alternativer Verfahren oder Verfahrensschritte liefert die Verwendung von ICI und IGI zusätzliche Informationen.

### 3.5. Einbindung der Methode in die Prozessentwicklung

Die Einbindung der Methode in den Entwicklungsprozess wird in Abb. 3-5 dargestellt. Die Methode kann bereits in sehr frühen Entwicklungsphasen direkt nach der Entscheidung für eine Prozessentwicklung eingesetzt werden und ermöglicht so eine integrierte Entwicklung. Sie wurde daher einfach strukturiert, um eine unkomplizierte Anwendung durch die Prozessentwickler zu ermöglichen und bereits früh erste Ergebnisse zu liefern. Durch die Modellierung und Simulation der Prozesse kann die Bewertung bereits zu einem frühen Zeitpunkt auf eine breitere Basis gestellt werden.

In einem iterativen Prozess dienen die Ergebnisse der Bewertung kontinuierlich als Entscheidungshilfen in der Syntheseforschung und Verfahrensentwicklung. Dadurch können ökologisch optimierte Prozesse erreicht werden, die in die technische Realisierung überführt werden können. Zeigt die ökologische Bewertung dagegen schwerwiegende Probleme auf, die einer Realisierung entgegenstehen und die nicht durch weitere Prozessverbesserungen behoben werden können, kann der Entwicklungsprozess frühzeitig abgebrochen und damit der Verlust an Investitionen verringert werden. Die Anwendung ist insbesondere in Kombination mit einer frühen ökonomischen Bewertung sinnvoll.

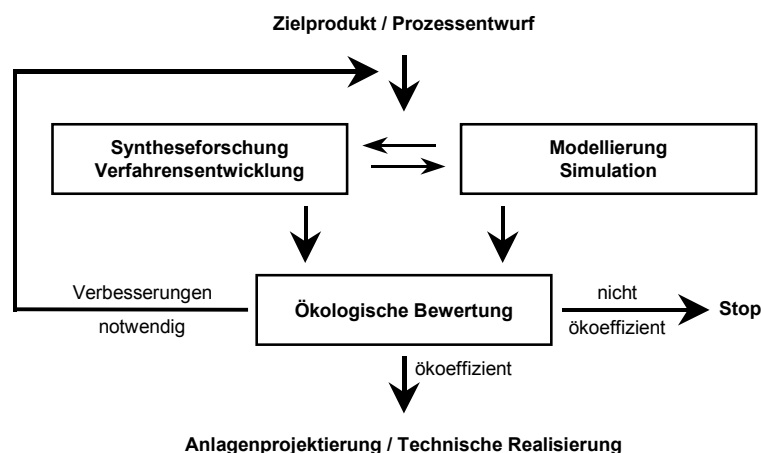


Abb. 3-5: Einbindung der Bewertungsmethode in den Entwicklungsprozess.



## 3.6. Literaturbeispiel Spaltung von Penicillin G

### 3.6.1. Verfahrensalternativen

Für den Vergleich der chemischen und enzymatischen Spaltung von Penicillin G zu 6-Aminopenicillansäure (6-APS) wurden Daten aus Wiesner et al. (1995) verwendet. Penicilline sind die am häufigsten eingesetzten Antibiotika. Penicillin G und seine Folgeprodukte haben dabei einen Anteil von 80 % (Falber und Regnitz, 1999). Durch die Abspaltung der Seitenkette erhält man aus Penicillin G die 6-APS, die als Zwischenprodukt zur Herstellung von halbsynthetischen Penicillinen (Ampicillin, Amoxycillin) dient, welche sich durch verbesserte Eigenschaften wie höhere Stabilität und breiteres Wirkungsspektrum auszeichnen. Im Jahr 1995 wurden etwa 4000 t 6-APS produziert (Wiesner et al, 1995).

Zur Herstellung von 6-APS existiert sowohl ein chemisches als auch ein biokatalytisches Verfahren (Reaktionsschemata s. Abb. 3-6). Im biokatalytischen Verfahren erfolgt die Umwandlung des Penicillins (hier des stabileren Kaliumsalzes) in 6-APS in einem Schritt mit Hilfe von genetisch modifizierten, an Polymeren immobilisierten Penicillinacylasen (Penicillinamidasen). Das vierstufige chemische Verfahren ist älter und wurde fast vollständig vom enzymatischen Verfahren verdrängt. In Tab. 3-3 wird der Verbrauch an Rohstoffen der beiden Verfahren verglichen. In der anschließenden Aufreinigung werden im chemischen Verfahren Aceton und Ammoniumbicarbonat, im biokatalytischen Verfahren Aceton, Butylacetat und Salzsäure benötigt. Da die verbrauchten Mengen nicht ermittelt werden konnten, wird die Aufreinigung bei der Bewertung nicht berücksichtigt.

Tab. 3-3: Mass Indices der Inputstoffe des chemischen und enzymatischen Verfahrens zur Penicillinspaltung (ohne Berücksichtigung eines möglichen Recyclings der Lösungsmittel).

Stoff	chemisch MI [kg/kg P]	enzymatisch MI [kg/kg P]
Penicillin G, Kaliumsalz	2,0	2,0
N,N-Dimethylanilin	1,6	-
Phosphorpentachlorid	1,2	-
Dimethyldichlorsilan	0,6	-
Ammoniak	0,3	0,1
Dichlormethan	11,1	-
Butanol	6,8	-
Enzyme	-	0,002
Wasser	-	20,0
<b>Summe (MI)</b>	<b>23,7</b>	<b>22,1</b>
<b>Summe ohne Wasser</b>	<b>23,7</b>	<b>2,1</b>

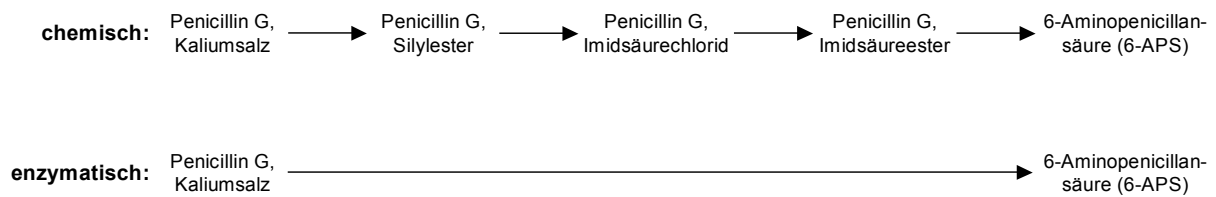


Abb. 3-6: Reaktionsschema der chemischen und enzymatischen Spaltung von Penicillin G zu 6-Aminopenicillansäure (verändert aus Wiesner et al., 1995).

### 3.6.2. Ökologische Bewertung

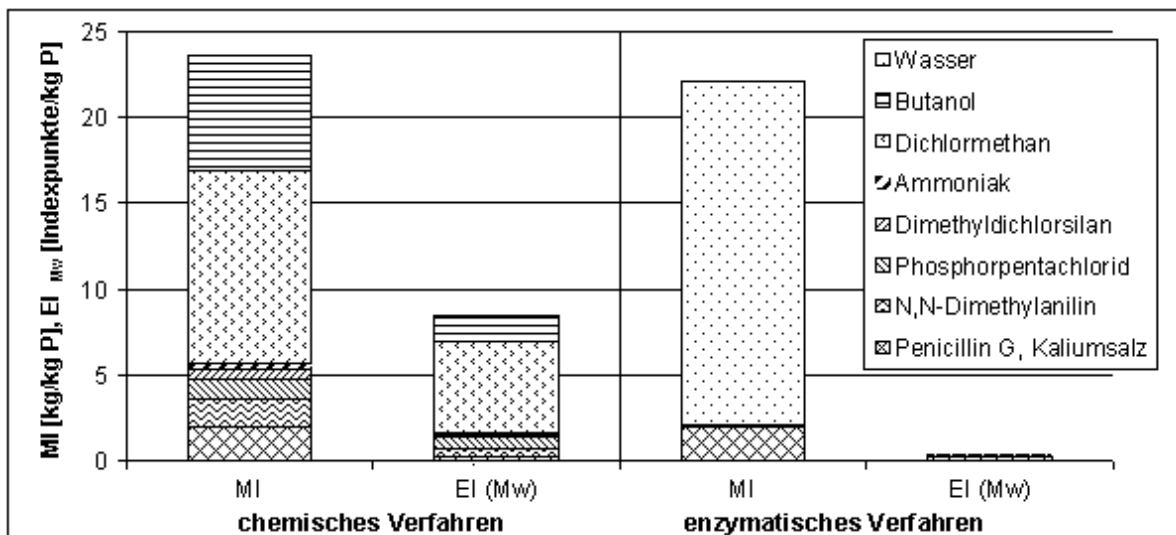
Die verfügbare Inputseite der Stoffbilanz wurde mit der beschriebenen Methode bewertet. Die Ergebnisse sind in Tab. 3-4 zusammengefasst. Die Mass Indices der beiden Verfahren sind ähnlich. Hier ist kein grundsätzlicher Unterschied festzustellen. Im chemischen Verfahren haben die beiden Lösungsmittel Dichlormethan und Butanol den größten Massenanteil. Daneben spielt das Penicillin G als Ausgangsstoff eine größere Rolle. Aber auch alle anderen in Tab. 3-3 aufgeführten Inputstoffe werden in relevanten Mengen benötigt. Im enzymatischen Verfahren dominiert mit großem Abstand das Wasser und daneben das Penicillin. Enzyme und Ammoniak spielen dagegen nur eine untergeordnete Rolle.

In der ABC-Klassifizierung werden drei Stoffe des chemischen Verfahrens und ein Stoff im enzymatischen Verfahren in mindestens einer Kategorie der Klasse A zugeordnet. Das im chemischen Verfahren eingesetzte Phosphorpentachlorid ist in den Wirkungskategorien „Acute Toxicity“ und „Chronic Toxicity“ der Klasse A zugeordnet. Die Einteilung bei der akuten Toxizität beruht auf den R-Sätzen (R 26, sehr giftig beim Einatmen), den EU-Gefahrensymbolen (T<sup>+</sup>, sehr giftig), der Einteilung in den Schweizer Giftklassen (Kl. 1) und dem IDLH-Grenzwert. Bei der chronischen Toxizität ist der MAK-Wert für die Einteilung verantwortlich. Ebenfalls eine Klasse A-Einteilung hat das Ammoniak, das in beiden Verfahren verwendet wird. Die Einteilung beruht auf den R-Sätzen (R 50, sehr giftig für Wasserorganismen) und den Schweizer Giftklassen (Kl. 2). Das im chemischen Verfahren verwendete Dichlormethan ist dagegen in der Kategorie „Critical Materials Used“ der Klasse A zugeteilt. Bei der Herstellung von Dichlormethan aus Methan durch thermische Chlorierung entstehen als Nebenprodukte die toxischen Trichlorethylen und Hexachlorethan.

Tab. 3-4: Kennzahlen der ökologischen Bewertung der Verfahren zur Spaltung von Penicillin G (Inputseite).

Bewertungskriterium	Chemisches Verfahren	Enzymatisches Verfahren	
		mit Wasser	ohne Wasser
Mass Index MI [kg/kg P]	23,7	22,1	2,1
Anzahl A-Stoffe	3	1	
Environmental Index $EI_{Mw}$ [Indexpunkte/kg P]	8,5	0,34	
Environmental Index $EI_{Mult}$ [Indexpunkte/kg P]	135	24	4,0
General Effect Index $GEI_{Mw}$ (0-1)	0,36	0,015	0,16
General Effect Index $GEI_{Mult}$ (1-256)	5,7	1,1	1,9

Die Environmental Indices (EI) bewerten die Umweltrelevanz des Verfahrens. Abb. 3-7 vergleicht die mittelwertbasierten EIs. Obwohl die Mass Indices nahezu identisch sind, zeigt sich sowohl beim multiplikativ ermittelten  $EI_{Mult}$  als auch beim mittelwertbasierten  $EI_{Mw}$  ein deutlicher Unterschied zwischen chemischem und enzymatischem Verfahren. Der EI des chemischen Verfahrens liegt, je nach Berechnungsweise, um den Faktor 6-34 über dem EI des enzymatischen Verfahrens (s. Tab. 3-4). Die General Effect Indices bestätigen die Ergebnisse der EIs. Die Bewertung zeigt damit für das chemische Verfahren ein deutlich größeres Belastungspotential an als für das enzymatische Verfahren.

Abb. 3-7: Mass Index (MI) und mittelwertbasierter Environmental Index ( $EI_{Mw}$ ) der Inputseite des chemischen und enzymatischen Verfahrens zur Spaltung von Penicillin G.

Die General Effect Indices stellen einen gewichteten Mittelwert der EIs dar. Nimmt das gänzlich unproblematische Wasser beim enzymatischen Verfahren aus der Berechnung heraus, steigt damit der mittlere EI des Verfahren (= GEI). Die Werte von  $GEI_{Mw}$  und  $GEI_{Mult}$  bleiben aber auch dann deutlich unter den Werten des chemischen Verfahrens (s. Tab. 3-4).

Um die Bedeutung der einzelnen Stoffe aufzuzeigen, sind in Abb. 3-8 MI,  $EI_{Mw}$  und  $EI_{Mult}$  zum Vergleich auf 1 normiert. Der Mass Index wurde bereits oben diskutiert. Bei beiden EIs dominiert im chemischen Verfahren eindeutig das Dichlormethan (Klasse A-Einteilung und größter Massenanteil im Mass Index). Danach folgt das Butanol (vor allem aufgrund seines Massenanteils), Phosphorpentachlorid (vor allem aufgrund seiner Klasse A-Einteilung) und Dimethylanilin. Im  $EI_{Mult}$  werden die A-Stoffe stärker betont. Das Phosphorpentachlorid ist beispielsweise in beiden EIs der drittichtigste Stoff. Im  $EI_{Mult}$  wird es aufgrund seiner A-Einteilung jedoch stärker gewichtet und liegt in der gleichen Größenordnung wie das massenmäßig wichtigere Butanol (mit Klasse B-Einteilungen). Im  $EI_{Mw}$  ist dem B-Stoff Butanol dagegen ein deutlich größere Bedeutung zugeordnet.

Beim enzymatischen Verfahren sind weniger Stoffe beteiligt. Beim  $EI_{Mw}$  fallen C-Stoffe aus der Bewertung heraus ( $C = 0$ ). Dadurch geht das Wasser als massenmäßig wichtigster Stoff nicht in die Bewertung ein. Damit verbleiben nur noch das Penicillin G und das Ammoniak.

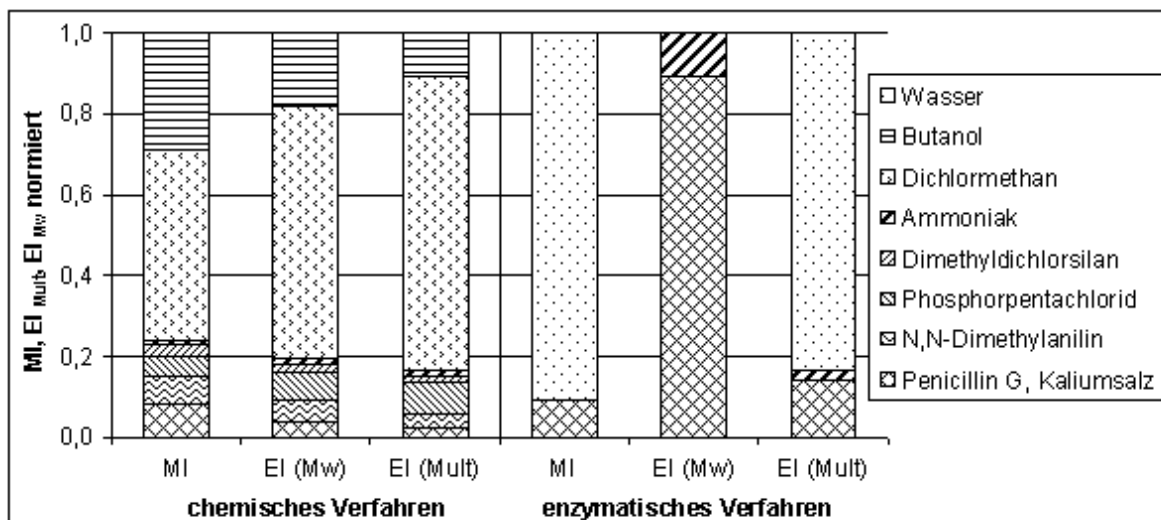


Abb. 3-8: Normierte Mass Indices und Environmental Indices ( $EI_{Mw}$ ,  $EI_{Mult}$ ) der Inputseite für chemisches und enzymatisches Verfahren. Die Werte sind auf 1 normiert.

Da beim  $EI_{Mult}$   $C = 1$  gilt, gehen auch C-Stoffe in die Bewertung ein. B-Stoffe sind dadurch relativ schwach gewichtet. A-Stoffe, die dagegen stark betont werden, sind im enzymatischen Verfahren nicht in größeren Mengen beteiligt (Ammoniak-Anteil gering). Dadurch dominiert aufgrund seines hohen Massenanteils wie im Mass Index das Wasser. Grundsätzlich werden A-Stoffe beim  $EI_{Mult}$  deutlich stärker gewichtet als im  $EI_{Mw}$ . Da im  $EI_{Mw}$  jedoch mit dem Wasser der größte Massenanteil nicht berücksichtigt wird, ist der A-Stoff Ammoniak in  $EI_{Mw}$  stärker betont als im  $EI_{Mult}$ .

Die Impact Category Indices (ICI) und Impact Group Indices (IGI) vergleichen die Bedeutung der verschiedenen Wirkungskategorien (IC) bzw. Wirkungsklassen (IG) für die Umweltrelevanz des Verfahrens. Im  $IGI_{Mw}$  des chemischen Verfahrens hat die IG „Grey Input“ die größte Bedeutung (42 %). Dies beruht vor allem auf der Klasse A-Einteilung des Dichlormethans in der Kategorie „Critical Materials used“. Weiterhin sind die IG „Resources“ (23 %) und IG „Organisms“ (25 %) wichtig, während die IG „Component Risk“ kaum eine Rolle spielt. Die meisten Inputstoffe basieren in ihrer Herstellung auf Erdöl oder Erdgas und werden daher in der Kategorie „Raw Material Availability“ der Klasse B zugeordnet. Die Gewichtung der IG „Organisms“ beruht vor allem auf dem toxischen Potential von Dichlormethan, Phosphorpentachlorid und Butanol. Die Werte der  $IGI_{Mult}$  zeigen sehr ähnliche Ergebnisse.

Im enzymatischen Verfahren wird der  $IGI_{Mw}$  wie der  $EI_{Mw}$  durch das Penicillin G dominiert. Dementsprechend spiegelt der  $IGI_{Mw}$  dessen Einteilung wider, mit einer hohen Bedeutung von „Resources“ und „Grey Input“ und einer geringer Bedeutung von „Organisms“ und „Component Risk“. Das Penicillin wird zwar fermentativ hergestellt, aber die verwendete C-Quelle Phenyllessigsäure basiert auf Erdöl, weshalb das Penicillin in der Kategorie „Raw Material Availability“ der Klasse B zugeordnet wird. Insgesamt sind bei der Herstellung 5 Syntheseschritte notwendig, was auch zu einer Klasse B-Einteilung in der Kategorie „Complexity of the Synthesis“ führt.

Der  $IGI_{Mult}$  beruht auf den multiplikativ ermittelten Environmental Factors ( $EF_{Mult}$ ) und betont daher A-Einteilungen. Da das enzymatische Verfahren keine A-Stoffe in nennenswerten Mengen enthält, zeigt der  $IGI_{Mult}$  im Gegensatz zum  $IGI_{Mw}$  auch keine deutlichen Wichtungsunterschiede zwischen den einzelnen Klassen.

Bei Wiesner et al. (1995) werden keine Angaben zu den Outputstoffen gemacht. Angesichts der eingesetzten Inputstoffe und der stattfindenden Stoffumwandlungen kann jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden, dass sich das enzymatische Verfahren auch bei der Bewertung der Outputstoffe als vorteilhaft erweisen wird.



# IV. MODELLBILDUNG UND SIMULATION

---

## 4.1. Einführung

Die Modellierung und Simulation eines untersuchten Prozesses ist der entscheidende Schritt, um die in frühen Entwicklungsphasen bestehende ungenügende Datenlage so weit zu verbessern, dass eine ausreichende Grundlage für die ökologische und ökonomische Bewertung des Verfahrens vorhanden ist. Hierfür ist ein schrittweises Vorgehen notwendig (s. Abb. 4-1).

Im ersten Schritt werden die Bilanzgrenzen und das zu betrachtende Produkt (= funktionelle Einheit) festgelegt. Dieser Schritt entspricht der „Goal and Scope Definition“ der Ökobilanzierung (ISO 14040, s. DIN, 1997). Das Modell soll das gesamte Produktionsverfahren vom Eintritt der benötigten Rohstoffe in den Prozess bis zum aufgereinigten Produkt umfassen, also die Bereiche Rohstoffvorbereitung (Upstream), Stoffumwandlung und Aufreinigung (Downstream). Damit wird sicher gestellt, dass Probleme, die erst in der Aufreinigung auftreten, ebenfalls erfasst werden. Gerade in biotechnischen Prozessen hat die Aufreinigung einen entscheidenden Anteil an Kosten und Umweltbelastungen (siehe hierzu z. B. Fischer und Hungerbühler, 2000).

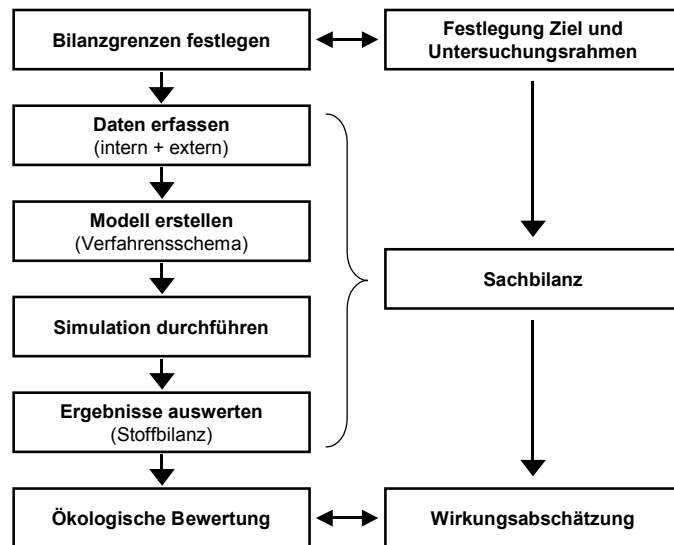


Abb. 4-1: Vorgehen bei der Modellierung und Simulation eines untersuchten Verfahrens (links) und Vergleich mit den entsprechenden Schritten der Ökobilanzierung nach ISO 14040ff (rechts).

Die Behandlung der entstehenden Abfallströme (Abgase, Abwässer, feste Abfälle) wird dagegen nicht in das Modell einbezogen. Dies erfolgt zunächst aus praktischen Überlegungen, um die Modelle nicht zu groß und unübersichtlich werden zu lassen. Darüber hinaus ist das Ziel der Methode im Sinne des integrierten Umweltschutzes das frühzeitige Erkennen und Reduzieren von Abfällen und nicht die Darstellung ihrer Behandlung. Hinzu kommt, dass die exakte Zusammensetzung der Abfallströme in frühen Phasen oft nicht genau bekannt ist. Folglich wäre auch eine Modellierung der Abfallbehandlung recht unsicher.

Nachdem die Bilanzgrenzen festgelegt wurden, werden im nächsten Schritt die notwendigen Daten für die Modellierung erfasst. In der Verfahrensentwicklung ist, wie bereits diskutiert, nur eine beschränkte Menge an Prozessdaten verfügbar. Die Informationen für die Modellbildung setzen sich daher immer aus Daten zusammen, die direkt aus dem betrachteten Entwicklungsprojekt stammen und aus Daten, die durch eine weitergehende Literatur- und Patentrecherche beschafft wurden. Zusätzlich können diese Daten durch einfache Laborexperimente ergänzt werden. Die Projektdaten werden unter Zuhilfenahme eines ausgearbeiteten Fragebogens erfasst (s. Anhang B1).

Basierend auf den erfassten Daten wird das Modell erstellt. Hierbei wird zunächst der grundsätzliche Verfahrensaufbau, d. h. die Folge der Prozessschritte und Grundoperationen festgelegt. Der Begriff der Grundoperation ist in der Literatur unterschiedlich definiert. Unter Grundoperationen (Unit Operations) sollen hier alle vor- und nachbereitenden Schritte (z. B. Filtrieren, Zentrifugieren, Kristallisieren etc.) des Verfahrens zusammengefasst werden (entspricht Definition von Vauck und Müller, 1988). Die eigentliche Stoffumwandlung steht dem als Reaktionstechnik (Unit Processes, Reaction Kinetics) gegenüber (McCabe et al., 2001).

Im Modell werden die Mengen der einzelnen Inputstoffe, die Prozessparameter der einzelnen Grundoperationen und die Reaktionsgleichungen und -bedingungen der Stoffumwandlung festgelegt. Bei der Beschreibung der Stoffumwandlung ist das Vorgehen gleich, egal ob es sich um eine chemische oder enzymatische Reaktion oder eine Fermentation handelt. In allen Fällen werden eine oder mehrere Reaktionsgleichungen erstellt, die den gemessenen oder erwarteten Bedingungen am besten entsprechen.

Das ermittelte Modell wird anschließend in eine Simulation überführt. Hierzu wird die Software SuperPro Designer (Intelligen Inc., USA; Version 4.9) verwendet. Entsprechend dem Vorgehen bei der Modellbildung wird zunächst das Verfahrenschema mit allen Prozessschritten und Stoffströmen im Programm abgebildet. Anschließend werden die



Inputmengen, die Reaktionsgleichungen und die Prozessparameter der einzelnen Grundoperationen eingegeben. In der Software ist bereits ein Großteil der in biotechnischen und chemischen Verfahren vorkommenden Grundoperationen als einfache Modelle hinterlegt. Diese Modelle enthalten Standardwerte für die einzugebenden Schlüsselparameter, die Erfahrungswerten aus der Literatur entsprechen. Für verschiedene Parameter wurden die im SuperPro Designer angegebenen Werte mit Erfahrungswerten aus Standardwerken (z. B. Perry et al., 1997; McCabe et al., 2001 u. a.) verglichen. Alle diese Angaben stimmen in der Regel überein. Kann für einen betrachteten Prozessparameter kein spezifischer Wert ermittelt werden, kann auf diese Defaultwerte zurückgegriffen werden. Im Programm können weitere Grundoperationen definiert werden. Zusätzlich werden die Eigenschaften aller im Modell vorkommenden Stoffe in die Simulation eingegeben. Häufig verwendete Stoffe sind bereits in der programminternen Datenbank vorhanden.

Als Ergebnis der Simulation erhält man eine übersichtliche Darstellung des Verfahrensfließbildes, die Berechnung aller Stoffströme und Anlagengrößen, eine Abschätzung des Energiebedarfs und als aggregiertes Ergebnis eine Stoffbilanz des Verfahrens. Diese Stoffbilanz umfasst alle Input- und Outputstoffe. Die Schritte Datenerfassung, Modellbildung, Simulation und Ergebnisauswertung entsprechen der Sachbilanz in der Ökobilanzierung (ISO 14040). Die ermittelte Stoffbilanz wird daher im Folgenden auch als Sachbilanz bezeichnet. Sie bildet die Grundlage für die ökologische Bewertung, die wiederum der Wirkungsabschätzung in der Ökobilanzierung entspricht (s. Abb. 4-1).

## **4.2. Modellierung der Grundoperationen**

Im Folgenden werden die Annahmen und Abschätzungen bei der Modellierung der einzelnen Grundoperationen und Prozessschritte erläutert. Eine tabellarische Übersicht über die einzelnen Prozessparameter ist in Anhang B2 gegeben. Die Abschätzungen zur Energieverbrauchsrechnung und zur pH-Regulierung werden separat in Kap. 4.4 bzw. 4.5 erläutert.

### **4.2.1. Allgemeines**

Die Simulationen sind in der Regel in die Abschnitte (Sections) Upstream (Rohstoffvorbereitung etc.), Fermentation und Downstream (Aufreinigung) unterteilt. In den

Simulation auf der beiliegende CD-ROM ist der Upstreambereich ist dabei in blau, der Fermenterbereich in braun und die Aufreinigung in grün dargestellt (Abbildungen in Text dagegen schwarz/weiß).

Innerhalb eines Prozessschrittes (Unit Procedures) wird für jeden Einzelschritt (Unit Operation) eine Vorbereitungszeit (Rüstzeit, Setup time) von 10 min angenommen.

Bei Kesselanlagen (Vorrattanks, Fermenter etc.) wird von einem maximalen Arbeitsvolumen von 90 % des Behältervolumens und einem minimalen Arbeitsvolumen von 15 % ausgegangen. Ist aus besonderen Gründen eine Abweichung notwendig, wird dies im jeweiligen Fallbeispiel erläutert.

Werden zwei oder mehrere Flüssigkeitsströme zwischen zwei Verfahrensschritten zusammengeführt (Prozessschritt „Mischen“), wird angenommen, dass hierfür keine Energie notwendig ist bzw. der notwendige Energiebedarf vernachlässigbar ist. Die Annahme gilt ebenso für das Auftrennen eines Stroms.

Die Auslegung vieler Prozessschritte (Zentrifugen, Sterilisatoren, Filter etc.) wird in der Simulation durch die benötigte Prozessdauer und den Durchsatz bestimmt. Dabei gibt es zwei mögliche Vorgehensweisen. Für jede Grundoperation wird eine bestimmte Prozessdauer angenommen. Das bedeutet, je größer die Menge, die verarbeitet werden muss, um so größer der Durchsatz und damit die Apparategröße. Die zu verarbeitende Menge legt also die Anlagengröße und damit die Investitionskosten fest. Die Prozessdauer ist dagegen unabhängig von der Menge. Alternativ kann man für jede Grundoperation einen durchschnittlichen Mengendurchsatz festlegen, d. h. die durchgesetzte Menge bestimmt die Prozessdauer. Die Anlagengröße ist dann jedoch unabhängig von der Menge. Bei einer realen Anlagenplanung liegt die Vorgehensweise je nach Problemstellung zwischen diesen beiden Möglichkeiten. Eine genaue Festlegung ist in frühen Phasen jedoch nicht möglich. Im Sinne eines konsistenten Vorgehens wird für jede Grundoperation im Modell eines konkreten Verfahrens ein mittlerer Durchsatz festgelegt, d. h. die Prozesszeit ist die abhängige Variable und variiert bei Prozessveränderungen.

#### **4.2.2. Vorrattanks und kontinuierliche Sterilisation**

Für alle Vorrattanks gilt die grundsätzliche Abfolge Befüllen - Vorhalten - Ablassen. Für das Befüllen wird, unabhängig vom Volumen, eine Befüllungszeit von 1 h angenommen. Das Ablassen wird in der Regel vom nachfolgenden Prozessschritt bestimmt. Das Vorhalten erfolgt adiabatisch für 30 min unter kontinuierlichem Rühren.

Bei Fermentationen ist fast immer eine Sterilisation der Inputstoffe notwendig. Von einem sterilen Ansatz spricht man in der Regel, wenn die Überlebenswahrscheinlichkeit von Fremdkeimen kleiner  $10^{-6}$  ist (Köhler und Hofmann, 1992). Im industriellen Maßstab erfolgt die Sterilisation von Medien und anderen Flüssigkeiten fast immer durch Hitzesterilisation, die Sterilisation von Luft und anderen Gasen dagegen meist durch Filtrationsverfahren (Köhler und Hofmann, 1992). Enthält eine Flüssigkeit sehr hitzeempfindliche Stoffe (z. B. verschiedene Vitamine oder Aminosäuren) erfolgt die Sterilisation ebenfalls durch (Mikro-)Filtration. Lösungen mit sehr hoher Säure- oder Laugenkonzentration benötigen keine zusätzliche Sterilisation.

Zur Sterilisation der Zuluft des Fermenters werden meist so genannte Oberflächenfilter eingesetzt (Aiba et al., 1973). Durchsatz und Prozessdauer ergeben sich aus Belüftungsrate und -dauer des Fermenters. Die Zuluft wird mit Hilfe eines Kompressors durch den Luftfilter und in den Fermenter transportiert (Parameter s. Anhang B2).

Die Hitzesterilisation kann entweder im Batch oder durch kontinuierliche Sterilisation erfolgen. Bei der kontinuierlichen Sterilisation werden bis zu 80 % weniger Heizdampf benötigt, die Sterilisation nimmt weniger Zeit in Anspruch, hitzeempfindliche Medienbestandteile werden weniger stark geschädigt und der notwendige Arbeitsaufwand ist geringer (Doran, 1995; Bailey und Ollis, 1986). Allerdings muss bei der Verwendung von kontinuierlichen Sterilisatoren mit höheren Investitionskosten gerechnet werden. Dort wo möglich, werden in den Modellen kontinuierliche Sterilisatoren angenommen.

Bei der kontinuierlichen Hitzesterilisation unterscheidet man den Injektionstyp, bei dem der Heizdampf direkt in die Flüssigkeit injiziert wird und den Wärmetauschertyp, bei dem die Wärmeübertragung durch Wärmeaustauschflächen erfolgt. Obwohl die Heizperiode länger ist und gelegentlich Fouling-Probleme auftreten, werden im industriellen Bereich meist Sterilisatoren vom Wärmetauschertyp eingesetzt. Dabei wird die Flüssigkeit mit einer konstanten Rate durch zwei Wärmetauscher geführt. Im ersten wird die Flüssigkeit auf die Sterilisationstemperatur aufgeheizt, im zweiten wieder auf die Austrittstemperatur abgekühlt. Die Strecke zwischen den beiden Wärmetauschern muss so lang sein, dass die bei der gegebenen Sterilisationstemperatur notwendige Sterilisationsdauer erreicht wird. Sie liegt bei einer Sterilisationstemperatur von  $140^{\circ}\text{C}$  in der Regel bei 60-180 s (Doran, 1995; Köhler und Hofmann, 1992). Weiterhin gehört zur Energieeinsparung zu jedem kontinuierlichen Sterilisator ein weiterer Wärmetauscher, in dem die heiße, bereits sterilisierte Flüssigkeit einen Teil ihrer Wärme an die frische (kalte), noch nicht sterilisierte Flüssigkeit abgibt. Dadurch werden nur vergleichsweise geringe Mengen Kühlwasser benötigt.

Um die kontinuierliche Sterilisation (Wärmetauschertyp) im Modell zu beschreiben, sind nur einige wenige Schlüsselparameter notwendig (s. Anhang B2). Die Berechnungswege dieser Parameter im Programm entsprechen den in der Fachliteratur angegebenen (Aiba et al., 1973; Bailey and Ollis, 1986; Jackson, 1990). Für die in den Fallbeispielen zu sterilisierenden Volumina wird ein Sterilisator mit Durchsatz von etwa 10 m<sup>3</sup>/h festgelegt. Dies ist eine relativ willkürliche Festlegung. Bei einer realen Anlagenplanung muss das ökonomische Optimum zwischen verlängerter Prozessdauer und erhöhten Investitionskosten gefunden werden.

### 4.2.3. Zentrifugation

Tellersatzzentrifugen (disk-stack centrifuges) sind die in der Biotechnologie am häufigsten eingesetzten Zentrifugentypen (Gmehling und Brehm, 1996; Chmiel, 1991; Doran, 1995). Die Abschätzungen werden daher auf diesen Zentrifugentyp bezogen. Zur Abtrennung von Feststoffen können grundsätzlich auch Filtrationen eingesetzt werden, die teilweise geringere Kosten als Zentrifugen verursachen (s. 4.2.4) und bei denen keine Aerosolbildung erfolgt. Bei kleinen Partikeln (wie z. B. Bakterien oder Hefen) ist jedoch die Abtrennung mittels Zentrifugation meist effizienter als Filtration (Doran, 1995; Diekmann und Metz, 1991). Teilweise werden Suspensionen zur Verbesserung der Zentrifugationsleistung vorbehandelt (pH-Wertänderung, Zugabe von Flockungsmitteln, Wärmebehandlung etc.). Eine solche Vorbehandlung wird in den Modellen nicht berücksichtigt.

Die Modellierung im SuperPro Designer beruht auf der Berechnung des Volumendurchsatzes durch eine Tellersatzzentrifuge, der sich unter Berücksichtigung der Sinkgeschwindigkeit und einer theoretisch berechneten Sedimentationsfläche ermitteln lässt:

$$\dot{V} = \underbrace{\frac{2\pi \cdot (r_a^3 - r_i^3) \cdot N_T}{3r_a \cdot \tan(\varphi)}}_{A_T} \cdot \underbrace{\frac{r_a \cdot \omega^2}{g}}_Z \cdot \underbrace{\frac{d_p^2 \cdot \Delta\rho \cdot g}{18\mu_t}}_{V_s} \quad (\text{Gl. 4-1})$$

$\dot{V}$  = Durchsatz [m<sup>3</sup>/s];  $r_a$  = Außenradius des Tellers [m];  $r_i$  = Innenradius des Tellers [m];  $N_T$  = Anzahl der Tellerspalt;  $\varphi$  = halber Telleröffnungswinkel;  $A_T$  = Mantelfläche o. äquivalente Klärfläche [m<sup>2</sup>];  $d_p$  = Partikeldurchmesser [m];  $\Delta\rho$  = Dichtedifferenz [kg/m<sup>3</sup>];  $\mu_t$  = Viskosität der Trägerflüssigkeit [kg/m s];  $\omega$  = Winkelgeschwindigkeit [1/s];  $g$  = Erdbeschleunigung [m/s<sup>2</sup>];  $Z$  = Schleuderziffer

Die Mantelfläche  $A_T$  und die Schleuderziffer  $Z$  sind gerätespezifische Parameter, deren Produkt auch als Sigmafaktor bezeichnet werden. In den Modellen wird als Sigmafaktor der Defaultwert des Programms verwendet. Die Sedimentationsgeschwindigkeit  $V_s$  wird

dagegen nur von der Flüssigkeit und den abzutrennenden Partikeln bestimmt (produktspezifischer Parameter). Im Modell werden die relevanten produktspezifischen Parameter abgeschätzt. Da die oben genannte Formel auf idealisierten Annahmen beruht, muss zusätzlich eine Zentrifugeneffizienz definiert werden. In den Modellen sind Zentrifugen zur Abtrennung von Biomasse und zur Abtrennung des (suspendierten) Cyclodextrinkomplexes vorgesehen. Aufgrund der unterschiedlichen Eigenschaften der aufzutrennenden Suspensionen, müssen die Parameter für beide Fälle separat ermittelt werden (s. Anhang B2).

#### **4.2.4. Mikrofiltration**

Mikrofiltration wird in den Modellen zur Abtrennung von Biomasse mit Hilfe von Membranen verwendet. Grundsätzlich werden in der Membrantechnik teildurchlässige, selektivwirkende Membranen zum Trennen eines Mehrstoff-Ausgangsgemischs (Feed, Zulauf) in Permeat und Retentat eingesetzt. Zum Transport von Wasser und niedermolekularen Stoffen muss dabei Druck aufgewendet werden (= Triebkraft des Stofftransports).

Von Mikrofiltration spricht man in der Regel bei einem Porendurchmesser von 0,1-10 µm (Blanch und Clark, 1996; Harrison et al., 2003), wobei teilweise als Grenze zur Ultrafiltration auch Porendurchmesser > 0,1 µm genannt werden (z. B. McCabe et al., 2001). Mikrofiltration dient zur Abtrennung von kleinen Feststoffpartikeln, Ultrafiltration dagegen zum Abtrennen großer (gelöster) Moleküle. Der Rückhalt von Biomasse erfolgt also durch Mikrofiltration. Mikrofiltrationen werden nach Fermentationen häufig zum Aufreinigen der Fermenterbrühe, zum Zellrecycling, sowie zum Abtrennen und Waschen der Zellen verwendet (Perry et al., 1997; Ladisch, 2001). Sie konkurrieren damit mit Zentrifugation, Vakuumtrommelfiltration und Dekantieren. Die Kapitalkosten liegen für Mikrofiltrationen meist höher, die Gesamtkosten können jedoch niedriger als bei den Konkurrenzverfahren liegen (Perry et al., 1997). Man erreicht hohe Ausbeuten und ein sauberes Permeat. Der Einsatz von Filterhilfsmittel ist i. d. R. nicht notwendig. Mikrofiltration kann sowohl im Kreuzstrom (cross flow) als auch als Dead-End-Filtration (z. B. Nutsche) erfolgen. Diese Unterscheidung ist für die Modelle zunächst nicht von Bedeutung.

Die Prozessparameter sind in Anhang B2 erläutert. Die Begriffe Retention und Trennfaktor werden in Kap. 4.2.5. definiert.

### 4.2.5. Ultrafiltration

Für verschiedene Aufreinigungsschritte müssen nach der Biomasseabtrennung auch die noch in der Lösung enthaltenen Proteine und Peptide entfernt werden. Dies erfolgt im Bioprocessing i.d.R. durch Ultrafiltration (Perry et al., 1997; Ladisch, 2001). Von Ultrafiltration spricht man bei einem Durchmesser der Membranporen von 0,001-0,1  $\mu\text{m}$  (Blanch und Clark, 1996). Der „Molecular Weight Cutoff“ einer Membran gibt dabei das Molekulargewicht eines globulären Proteins an, das von der Membran zu 90 % zurückgehalten wird. Um eine ausreichende Trennung zu erreichen, muss zwischen dem Molekulargewicht zweier Stoffe mindestens der Faktor 10 liegen (Perry et al., 1997). Die Ultrafiltration wird bei der Aufreinigung von Pyruvat (Molekulargewicht, MW = 88 g/mol) und Zitronensäure (MW = 192 g/mol) verwendet. Damit sollte die Abtrennung von Proteinen (MW > 5.000 g/mol) und Peptiden mit mehr als 15-20 Aminosäurenresten (durchschnittliches MW von Aminosäuren > 110 g/mol) problemlos möglich sein.

Die Ultrafiltration erfolgt kontinuierlich, indem der Feed an der Membran entlang geführt wird (Cross flow filtration). Dadurch wird das Ausgangsgemisch aufgetrennt und Partikel (Zellreste etc.) und Makromoleküle (Proteine, Peptide u. a.) zurückgehalten. Dazu genügt meist ein Druck von 10 bar oder weniger (Vauck und Müller, 1988; Gmehling und Brehm, 1996). Die Reinigungsleistung einer Membran wird dabei durch die Retention (Rejection) R definiert:

$$R = 1 - \left( \frac{c_{i,p}}{c_{i,f}} \right) \quad (\text{Gl. 4-2})$$

$c_{i,p}$  = Konzentration von Stoff i im Permeat,  $c_{i,f}$  = Konzentration im Feed

Die Auftrennung zweier Stoffe wird durch den Trennfaktor  $\alpha$  beschrieben:

$$\alpha = \frac{\left( \frac{c_i}{c_j} \right)_p}{\left( \frac{c_i}{c_j} \right)_f} \quad (\text{Gl. 4-3})$$

$c_i$  = Konzentration Stoff i,  $c_j$  = Konzentration Stoff j

In den Fallbeispielen wird für Proteine und Zellreste jeweils eine Retention von  $R = 1$  angenommen (Rückhalt 100 %).

#### **4.2.6. Vakuumtrommelfilter**

Vakuumtrommelfilter werden in den Modellen zur Abtrennung der suspendierten Kristalle nach der Kristallisation und zur Abtrennung von Biomasse nach der (Zitronensäure-) Fermentation eingesetzt. Für beide Anwendungen werden Vakuumtrommelfilter auch industriell häufig verwendet (Doran, 1995; Gmehling und Brehm, 1996; Perry et al., 1997). Vakuumtrommelfilter werden kontinuierlich betrieben. Sie haben eine Filterfläche von 0,2-100 m<sup>2</sup>, einen Durchmesser von 0,5-3 m, eine Kuchendicke von 2-30 mm, einen Filterdurchsatz von 0,2-10 m/h und die Trommel bewegt sich mit 0,1-2 rpm (Doran, 1995; Gmehling und Brehm, 1996). Die Abschätzung der Prozessparameter ist in Anhang B2 gegeben.

Elektrische Energie wird im Vakuumtrommelfilter für verschiedene Aufgaben benötigt. Die Trommel muss gedreht, die Suspension (Input) gerührt werden. Mit einer Vakuumpumpe wird im Inneren der Trommel als treibende Kraft der Filtration Unterdruck zur Abtrennung von Fest- und Flüssigphase erzeugt. Eine weitere Pumpe wird benötigt, um das Filtrat (aus dem Inneren der Trommel) abzuführen und schließlich muss der Filterkuchen (= Kristalle, Biomasse) von der Trommel abgelöst werden. Zur Abschätzung des Energiebedarfs wurden Angaben von Herstellern von Vakuumtrommelfiltern zugrunde gelegt (s. Anhang B2).

#### **4.2.7. Ionentauscher**

Ionentauscher finden sich in den meisten biotechnischen Downstreamprozessen (Chmiel, 1991). Bei den verwendeten Ionentauscherharzen handelt es sich um organische Polymere (z. B. Polystyrene) an die ionische Gruppen (z. B. SO<sub>3</sub><sup>-</sup>) chemisch gebunden sind (McCabe et al., 2001). Bei Ionentauscher handelt es sich weiterhin fast immer um gepackte Säulen (fixed-bed exchangers) (Jackson, 1990; Doran, 1995).

In den Modellen werden Kationentauscher in der Zitronensäureaufreinigung und vor den Extraktionsschritten der Pyruvatsimulation benötigt, da hohe Kationenkonzentrationen die Extraktion stören (Yao et al., 2001). Die Säule wird zunächst mit der Produktlösung beschickt. Dabei werden die anorganischen Kationen (z. B. K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> etc.) zurückgehalten (es wird davon ausgegangen, dass anorganische Salze vollständig dissoziiert vorliegen). Es handelt sich dabei um einen reversiblen Austausch von Kationen (Gegenionen), die an der stationären Phase gebunden sind, gegen die Kationen der Produktlösung. Das Produkt und die übrigen org. Verbindungen fließen dagegen ungehindert

durch die Säule. Anschließend wird die Säule mit Wasser gewaschen, wobei nicht adsorbiertes Material entfernt wird. Im letzten Schritt werden die Kationen eluiert und die Säule regeneriert. Zur Elution von Ionentauschern werden nach McCabe et al. (2001) in der Regel konzentrierte Lösungen von Säuren, Basen bzw. Salzen verwendet. In einem Beispiel verwenden McCabe et al. (2001) eine zweimolare Lösung zur Elution (und gleichzeitigen Regeneration) der Säule. In den Simulationen wird (2N)HCl-Lösung als Elutionsmittel verwendet. Waschwasser und Eluat werden als Abwasser weggeführt. Das Design eines Ionentauschers wird durch die benötigte Durchflussrate, die Größe des Batches und die Kapazität des Harzes bestimmt (Perry et al., 1997). Für eine genaue Auslegung sind Experimente unerlässlich. Für die Modelle können die relevanten Parameter jedoch abgeschätzt werden (s. Anhang B2).

#### **4.2.8. Adsorption**

Adsorptionseinheiten werden in der Biotechnologie regelmäßig zur Aufreinigung von Vitaminen und anderen Produkten verwendet (Blass, 1997). Gmehling und Brehm (1996) nennen die Auftrennung von Kohlenwasserstoffen (geradkettige, verzweigte, zyklische) als einen technischen Anwendungsbereich der Adsorption. Dabei wird meist mit mehreren Festbetten gearbeitet, die abwechselnd adsorbieren und desorbieren, um einen quasi-kontinuierlichen Betrieb zu ermöglichen (Blass, 1997). Mit Adsorptionen können auch bei geringen Produktkonzentrationen zufriedenstellende Ausbeuten erreicht werden (Sattler 1995).

In den Modellen wird eine Adsorptionssäule zur Abtrennung von  $\alpha$ -Cyclodextrin ( $\alpha$ -CD), also einem zyklischen Kohlenwasserstoff, verwendet. Das  $\alpha$ -CD wird als Adsorptiv an makroporösen Polymerharzen zurückgehalten, während die anderen organischen Verbindungen ungehindert durchfließen. Anschließend wird die Säule mit Waschwasser bei Raumtemperatur gewaschen, um verbliebene Verunreinigungen zu entfernen. Danach wird das CD mit heißem Wasser eluiert. Das Adsorptionsgleichgewicht ist temperaturabhängig und verschiebt sich bei steigenden Temperaturen zur flüssigen Phase.

Die Abschätzung von Bindekapazität, Ausbeute und Selektivität der Säule, benötigter Wassermenge und notwendigen Prozesstemperaturen ist in Anhang B2 wiedergegeben. Vereinfachend wird bei der Abschätzung angenommen, dass die Adsorptionenthalpie vernachlässigbar und damit keine Temperaturregelung (z. B. mit Heizmantel) der Säule notwendig ist. Diese Vereinfachung ist wegen der hohen Wärmekapazität der relativ stark



verdünnten Lösungen in den Fallbeispielen gerechtfertigt. Im Beladungsschritt werden in der Simulation nur die Mengen der Stoffe berücksichtigt, die anschließend tatsächlich im Eluatstrom enthalten sind. Die Stoffanteile, die zunächst zurückgehalten werden und dann mit dem Waschwasser verloren gehen, wurden nicht berücksichtigt. Da ein selektives Auswaschen im Waschschrift im Simulationsprogramm nicht möglich ist, musste diese Vereinfachung vorgenommen werden. Daraus ergibt sich ein geringfügiger Fehler bei der Abschätzung des Säulenvolumens. Dieser sollte jedoch vernachlässigbar sein, da die meisten Stoffe, die im Waschschrift entfernt werden, wahrscheinlich nicht an den Bindestellen des Polymerharzes adsorbiert sind, sondern als Verunreinigungen durch andere Vorgänge zurückgehalten wurden. Der beschriebene Waschschrift wird bei Verfahren von Okabe et al. (1993), Tsuchiyama et al. (1991) und Horikoshi et al. (1981) durchgeführt, während Mäkelä et al. (1989) und Sato et al. (1994) in ihren Adsorptionsverfahren keinen Waschschrift vorsehen.

Eine Sonderform der Adsorption ist die Aktivkohlebehandlung. In mehreren Modellen ist die Behandlung des Produktstroms mit Aktivkohle vorgesehen. Dabei wird der Produktstrom über eine mit Aktivkohle gepackte Säule geführt und hydrophobe Verbindungen, die häufig für Verfärbungen verantwortlich sind, werden zurückgehalten. In der Software ist ein Modell einer mit Aktivkohle gepackte Adsorptionssäule enthalten, das unverändert für die Fallbeispiele übernommen wurde (s. Anhang B2).

#### **4.2.9. Wasserdampfdestillation**

Eine Wasserdampfdestillation wird nur im Model der Cyclodextrinaufreinigung verwendet. Sie dient zum Ausschleppen einer mit Wasser nichtmischbaren Flüssigkeit (Decanol) aus einer wässrigen Lösung mit Hilfe von Wasserdampf, da das Decanol aufgrund seiner hohen Siedetemperatur nicht direkt aus der Lösung abgedampft werden kann.

Für eine Wasserdampfdestillation ist kein eigenes Model im Programm enthalten. Sie wird daher durch Verwendung eines Reaktors, eines Kondensators, eines Dekaners und eines Durchlauferhitzers dargestellt. Im Reaktor wird zunächst der suspendierte Komplex von Cyclodextrin und Decanol durch Erhitzen aufgelöst. Anschließend wird das Decanol durch Zufuhr von Wasserdampf, der zuvor im Durchlauferhitzer gebildet wurde, aus der Lösung entfernt. Das Wasserdampf-Decanol-Gemisch wird zum Kondensator geführt, wo es vollständig kondensiert. Anschließend werden im Dekanter organische und wässrige Phase getrennt. Die Modelle für Dekanter und Kondensator werden in den entsprechenden Kapiteln

behandelt (4.2.14, 4.2.15). Im Folgenden soll nur auf die eigentliche Wasserdampfdestillation eingegangen werden.

Die Dampfmenge, die zum vollständigen Entfernen des Decanols benötigt wird, lässt sich aus den Dampfdrücken von Wasser und Decanol abschätzen. Wasser und Decanol sind nicht miteinander mischbar. Der Dampfdruck über der Lösung ist daher gleich der Summe der beiden Dampfdrücke von Wasser und Decanol und beträgt im Siedepunkt 1 bar. Das Verhältnis der molaren Anteile in der Gasphase ( $n$ ) ist gleich dem Verhältnis der beiden Dampfdrücke. Es gilt also:

$$\frac{n_D}{n_W} = \frac{p_D}{p_W} \quad (\text{Gl. 4-4})$$

$n$  = molarer Anteil in der Gasphase;  $p$  = Dampfdruck;  $W$  = Wasser;  $D$  = Decanol

Die Dampfdruckkurven wurden mit Hilfe einer Regressionsberechnung mit bekannten Werten abgeschätzt (s. Abb. 4-2). Mit Hilfe der beiden Kurven wurde durch eine numerische Nullstellenberechnung der Siedepunkt ( $p_D + p_W = 1$  bar) bestimmt ( $99,7^\circ\text{C}$ ). Setzt man die beiden Dampfdrücke von Wasser und Decanol bei der ermittelten Siedetemperatur in Gleichung 4-4 an, ergibt sich ein spezifischer Dampfbedarf von  $14,1$  kg Dampf/kg Decanol. Die übrigen Prozessparameter sind in Anhang B2 erläutert.

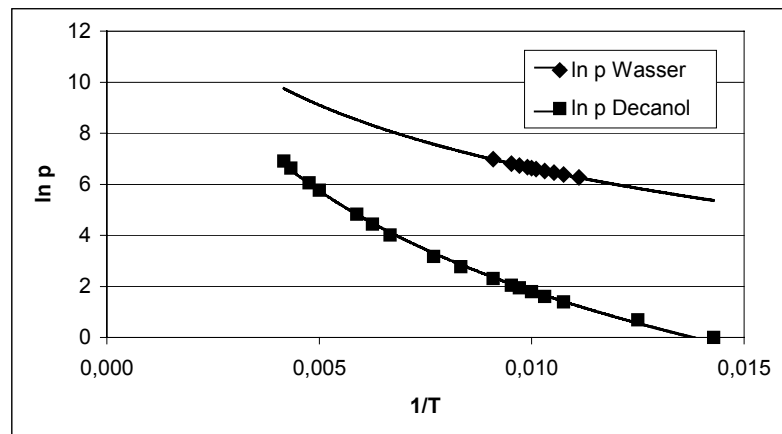


Abb. 4-2: Dampfdruckkurven für Wasser und Decanol, abgeschätzt aus Daten von Atkins (1988) für

Wasser und Jordan (1954) für Decanol. Für Wasser wurde folgende Gleichung interpoliert:

$\ln(p_W) = -3,5605 \ln(1/T) - 9,7611$ , für Decanol:  $\ln(p_D) = -5,6614 \ln(1/T) - 24,251$ .

$T$  = Temperatur [ $^\circ\text{C}$ ]

#### **4.2.10. Extraktion**

Extraktionen werden in den Modellen zur Pyruvatherstellung verwendet. Bei einer Flüssig-Flüssig-Extraktion werden ein oder mehrere Stoffe aus einem Lösungsmittel mit Hilfe eines zweiten Lösungsmittels entfernt. Die Trennung beruht auf den unterschiedlichen Löslichkeiten der Komponenten im Feed (Abgeberphase) und im Trennmittel (Aufnehmerphase). Der Feed und das als Trennhilfsmittel fungierende Lösungsmittel sind dabei nicht oder kaum ineinander löslich. Sie werden gemischt. Dabei findet der Stoffübergang statt. Anschließend erfolgt die Phasentrennung, aus der die Raffinatphase (1. Lösungsmittel und Reste) und die Extraktphase (2. Lösungsmittel und abgetrenntes Produkt) hervorgehen. Bei Fermentationen liegen die gewünschten Produkte meist in vergleichsweise geringen Konzentrationen vor, sind also aus verdünnten wässrigen Lösungen abzutrennen. Sattler (1995) gibt als Erfahrungswert an, dass eine Extraktion bis zu einer Stoffkonzentration von 10 % im Feed wirtschaftlicher ist als eine alternative Destillation. Beispiele für eine großtechnische Anwendung von Extraktionen sind die Aufreinigung verschiedener Säuren, z. B. Essigsäure, Zitronensäure, Salpetersäure (Sattler, 1995; Köhler und Hofmann, 1992). Die rektifikatorische Lösungsmittelaufbereitung verursacht dabei meist höhere Kosten als der eigentliche Extraktionsschritt.

So genannte Mischer-Abscheider (Mixer-Settler) sind die einfachsten Extraktoren. Im industriellen Bereich werden jedoch meist Gegenstromkolonnen verwendet (Vauck und Müller, 1988; Blass, 1997). Vor allem bei großen Massenströmen, wie sie ja auch in den Modellen vorliegen, können Gegenstromextraktionen sehr wirtschaftlich betrieben werden (Jakubith, 1998). In der Gegenstromkolonne wird das schwere Lösungsmittel (in den Modellen die wässrige Phase) oben und die leichtere Phase (organisches Lösungsmittel) unten zugegeben. Eine Phase (disperse Phase) wird in Tropfen zerlegt, z. B. durch Siebböden, und bewegt sich durch die kontinuierliche Phase. Für das Ergebnis ist eine gute Durchmischung, eine ausreichende Kontaktzeit und anschließend eine saubere Trennung von Raffinat- und Extraktphase wichtig.

Die Aufnehmerphase hat in der Regel ein deutlich geringeres Volumen als die Abgeberphase (Köhler und Hofmann, 1992). Bailey und Ollis (1986) geben bei der Penicillinextraktion ein Verhältnis Solvent/Broth von 1:10 an, McCabe et al. (2001) ebenfalls für eine Penicillinextraktion ein Verhältnis von 6:100. Katicaneni und Cheryan (2002) bei der Extraktion von Essigsäure und Benthin und Villadsen (1995) bei der Extraktion von Milchsäure aus einer Fermenterbrühe verwenden dagegen ein Verhältnis von 1:1. Aufgrund

der relativ ungünstigen Verteilungskoeffizienten (s. u.) wird in den Modellen ebenfalls ein Verhältnis von 1:1 angenommen.

In Extraktionen werden eine Vielzahl von Lösungsmitteln eingesetzt (s. z. B. Perry et al., 1997 und Kertes und King, 1986). Zur Extraktion von Brenztraubensäure gibt es nur sehr wenige Veröffentlichungen. Uchio et al. (1976) empfehlen als Lösungsmittel für die Brenztraubensäureextraktion Ether (wobei nicht deutlich wird, ob damit Diethylether oder die Stoffgruppe Ether im allgemeinen gemeint ist), Kertes und King (1986) nennen als mögliches Lösungsmittel Diethylether.

Die Gleichgewichtsverteilung eines Stoffes in einem Gemisch von zwei Lösungsmitteln wird durch den Verteilungskoeffizient  $K_i$  beschrieben. Es gilt (Nernst'scher Verteilungssatz):

$$K_i = \frac{y_i}{x_i} \quad (\text{Gl. 4-5})$$

$y_i$  = Konzentration Stoff  $i$  in der leichten Phase [g/l];  $x_i$  = Konzentration Stoff  $i$  in der schweren Phasen [g/l]

Der Verteilungskoeffizient kann je nach Stoff und Lösungsmitteln sehr unterschiedliche Werte annehmen, von  $K_i < 0,01$  bis  $K_i > 80$ . Der Verteilungskoeffizient bei der Abtrennung von Penicillin aus einer wässrigen Phasen beträgt beispielsweise  $K_{\text{Pen}} = 80$  (McCabe et al., 2001). Carbonsäuren haben dagegen in der Regel mit klassischen Lösungsmitteln deutlich schlechtere Verteilungskoeffizienten (Schierbaum und Vogel, 1998). Kertes und King (1986) geben beispielsweise je nach Lösungsmittel Verteilungskoeffizienten für Milchsäure von maximal  $K_{\text{Lac}} = 0,75$ , für Weinsäure  $K_{\text{Tar}} = 0,16$  und für Zitronensäure  $K_{\text{Cit}} = 0,3$  an. Perry et al. (1997) nennen für Propansäure  $K_{\text{Pro}} = 3,5$ . Der einzige in der Literatur gefundene Verteilungskoeffizient für Brenztraubensäure beträgt für das System Wasser/Diethylether  $K_{\text{Pyr}} = 0,16$  (Kertes und King, 1986). Allgemein gilt, dass für Carbonsäuren Alkohole bessere Verteilungskoeffizienten liefern als Ether und Ketone und die besten Ergebnisse mit organischen Phosphorverbindungen erzielt werden können (Kertes und King, 1986). In der Literatur sind jedoch weder für Alkohole noch für organische Phosphorverbindungen Verteilungskoeffizienten für Brenztraubensäure zu finden. Es kann jedoch angenommen werden, dass durch ein umfangreiches Lösungsmittelscreening Lösungsmittel gefunden werden, die deutlich bessere Verteilungskoeffizienten als Diethylether besitzen. Es wird daher ein theoretisches Lösungsmittel 1 mit mittleren Eigenschaften definiert, für das ein Verteilungskoeffizient von  $K_{\text{Pyr}} = 1$  angenommen wird. Die übrigen Prozessparameter werden in Anhang B2 erläutert.

Eine Weiterentwicklung der Extraktion ist die Reaktivextraktion, bei der die Aufnehmerphase aus einem Lösungsmittelgemisch besteht, wobei einer der Bestandteile mit dem Produkt reagiert und so höhere Verteilungskoeffizienten ermöglicht. Auch für Brenztraubensäure ist hierzu ein Verfahren publiziert. Mit dem System Tri-n-octylamin (TOA)-Octanol untersuchten Yao et al. (2001) die Abhängigkeit der Brenztraubensäureextraktion von der Salzkonzentration in der wässrigen Phase. Bei geringen Salzkonzentrationen werden Verteilungskoeffizienten erreicht, die  $\gg 1$  liegen. Aufgrund der deutlich höheren Komplexität werden Reaktivextraktionen industriell jedoch kaum eingesetzt. Daher wurde hierzu auch kein Modell erstellt.

#### **4.2.11. Elektrodialyse**

Eine Elektrodialyse (ED) wird in den Modellen nur zur Aufreinigung von Brenztraubensäure verwendet. Im Programm ist kein Model zur Elektrodialyse enthalten. Stattdessen wurde ein so genannter „Component Splitter“ verwendet, der es ermöglicht für jeden Stoff die Verteilung auf die drei Outputströme der Einheit individuell festzulegen. Diese Einheit hat jedoch nur einen Inputport. Für die Elektrodialyse werden jedoch neben dem Produktstrom noch zwei weitere Inputströme benötigt (s. u.). Diese werden in einer Mischoperation vor der Dialyse zugeführt.

Es gibt zahlreiche Veröffentlichungen zur Aufreinigung von fermentativ hergestellten organischen Säure mittels ED, z. B. Milchsäure (Kim und Moon, 2001; Xuemei et al., 1999; Danner et al., 2002; Lee et al., 1998), Zitronensäure (Novalic und Kulbe, 1998), Weinsäure (Andrés et al., 1997), Propionsäure (Narebska et al., 2001), Itaconsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Acetylsalicylsäure und Aminosäuren (alle Pourcelly und Gavach, 2000). Zumindest zur Milchsäureaufreinigung wird die ED auch industriell eingesetzt. Pourcelly und Gavach (2000) beschreiben eine Anlage mit einem Jahresdurchsatz von 5.000 t.

Die Elektrodialyse ist ein Membranverfahren, das aus ionenselektiven Membranen (Ionenaustauschermembranen) aufgebaut ist und dessen Trenneffekt nicht auf einem Druckgefälle sondern auf der Potentialdifferenz eines gerichteten elektrischen Feldes beruht. Der Transport durch die Membran erfolgt durch Ionendiffusion. Aus einem flüssigen Feedstrom werden gelöste Ionen abgetrennt und man erhält einen verdünnten Permeatstrom und einen oder mehrere Konzentratströme. Es ist sowohl eine batchweise als auch eine kontinuierliche Betriebsweise möglich. Die Ionenaustauschermembranen bestehen aus gequollenen Gelen aus hydrophoben, unlöslichen Polymeren mit fixierten ionischen

Ladungen und mobilen Gegenionen in den Zwischenräume. Eine ED-Einheit besteht aus einer Anionen- und einer Kationenaustauschermembran, die selektiv nur Anionen bzw. Kationen passieren lassen. Der elektrische Fluss wird durch zwei Elektroden erzeugt.

Eine besondere Form der ED ist die ED mit bipolaren Membranen. Zwischen der Kationen- und der Anionenmembran befindet sich eine bipolare Membran, die Wasser in  $H^+$ - und  $OH^-$ -Ionen spaltet. Daher spricht man hier auch von „Water Splitting Electrodialysis“ (WSED). Die WSED eignet sich sehr gut zum Aufspalten und Reinigen von dissoziierten Salzen, z. B. aus einer vorgereinigten Fermenterbrühe. In den Modellen wird der pH-Wert im Fermenter bei kontinuierlicher Säureproduktion durch die Zugabe von Ammonium konstant gehalten. Dadurch liegt am Ende de facto dissoziiertes Ammoniumpyruvat vor, das in der WSED aufgespalten wird. Hierbei gibt es drei Input- und drei Outputströme. Als Input hat man den Feedstrom (Fermenterbrühe), eine Säure- und eine Basenlösung (mit geringen Konzentrationen der abzutrennenden Säure bzw. Basen, vereinfachend wird im Modell nur Wasser verwendet). Das Ammonium diffundiert durch die Kationentauschermembran in die Basenlösung und bildet mit den von der bipolaren Membran gebildeten Hydroxid-Ionen Ammoniumhydroxid. Das Pyruvat diffundiert durch die Anionentauschermembran in die Säurelösung. In der Säurelösung reagiert das von der bipolaren Membran gebildete Proton mit dem Pyruvat zur Brenztraubensäure. Damit erhält man als Output einen Produktstrom mit Brenztraubensäure, einen Strom mit Ammoniumhydroxid, der wieder im Fermenter zur pH-Regulation eingesetzt werden kann und einen Diluatstrom, der die übrigen Bestandteile der Fermenterbrühe enthält.

Für den Stofffluss durch die Membran gilt (Perry et al., 1997):

$$J_n = C_{n,m} \cdot U_{n,m} \cdot \frac{\Delta\varphi}{\Delta x} \quad (\text{Gl. 4-6})$$

$J_n$  = Stofffluss Stoff n [ $\text{kmol}/\text{m}^2 \text{ s}$ ];  $C_{n,m}$  = Konzentration Stoff n in Phase m [ $\text{kmol}/\text{m}^3$ ];  $U_{n,m}$  = Ionenbeweglichkeit von Stoff n in Phase m [ $\text{m}^2/\text{V s}$ ];  $\varphi$  = Elektrisches Potential [V];  $x$  = Distanz [m];  $z_n$  = Valenz von Stoff n.

Die Transportzahl  $T$  ist ein Maß für die Permselectivität der Membran. Sie gibt das Verhältnis des Flusses eines Ions zum Fluss aller Ionen an:

$$T = \frac{z_n \cdot J_n}{\sum_n |z_n \cdot J_n|} \quad (\text{Gl. 4-7})$$

Mit den aus der Literatur abgeschätzten Prozessparametern (s. Anhang B2) ergibt sich aus Gl. 4-7 für Pyruvat eine Transportzahl von  $T = 20$ . Dabei wird angenommen, dass sich der nicht zurückgehaltene Anteil an Glucose und multivalenten Ionen gleichmäßig auf Säure- und Basenstrom verteilt.

#### **4.2.12. Kristallisation**

Eine Kristallisation ist in den Modellen bei der Aufreinigung von Zitronensäure, Brenztraubensäure, Natriumpyruvat und Cyclodextrin vorgesehen. Bei Brenztraubensäure und Natriumpyruvat erfolgt die Kristallisation nicht nur aus einer wässrigen Lösung, sondern in verschiedenen Szenarien auch aus Diethylether und einem weiteren organischen Lösungsmittel. Für den Komplex Kristallisationsstufe, Kristallabtrennung (Vakuumfiltration) und Rückführung der Mutterlauge zur Kristallisation wird in allen Modellen die für die Zitronensäureaufreinigung veröffentlichte Ausbeute von 98 % übernommen (Marending, 1992). Aus der Löslichkeit des Produktes, der Produktkonzentration des Inputstroms, dem Volumen von Inputstrom und Waschwasserstrom (in Vakuumfiltration) sowie der Restfeuchte der abgetrennten Kristalle kann man für jedes Modell berechnen, wie viel Lösungsmittel ungefähr verdampft werden muss, um die gewünschte Ausbeute zu erreichen und welches Volumen der verbleibende Bleedstrom hat.

Ohne Laborexperimente kann man jedoch keine Aussagen darüber machen, ob diese Ausbeute nur mit Verdampfungskristallisation erreicht werden. Möglicherweise ist ein anschließender Kühlschritt notwendig. Weiterhin ist unklar, ob eine einfache Batchkristallisation ausreicht oder ob ein Recycling der Mutterlauge notwendig ist und wenn ja, welche Recyclingquote angenommen werden soll. Auch die während der Kristallisation tatsächlich stattfindenden Vorgänge können nur experimentell untersucht werden. Man ist hier folglich auf Abschätzungen angewiesen. In allen Modellen wird davon ausgegangen, dass nach dem Verdampfen des Lösungsmittels ein Kühlschritt folgt, in dem der Großteil der Kristallisation stattfindet. Insbesondere beim Cyclodextrin, dessen Löslichkeit stark temperaturabhängig ist, kann dies als sehr wahrscheinlich angesehen werden. Weiterhin wird von einer Rückführung der Mutterlauge zur Kristallisationsstufe ausgegangen. Hier wird jedoch eine vergleichsweise geringe Recyclingquote angenommen. Bei einer hohen Recyclingquote wäre das mehrmalige Aufheizen und Abkühlen (Kühlschritt) sehr energieintensiv und eine andere Vorgehensweise müsste gewählt werden. Geht man dagegen von einer kleinen Recyclingquote aus, dominiert der Energiebedarf zum Verdampfen des

Lösungsmittels. Vereinfachend wird daher davon ausgegangen, dass der zusätzliche Energiebedarf durch die Rückführung der Mutterlauge vernachlässigt werden kann. Damit ist eine genaue Abschätzung der Recyclingquote nicht mehr notwendig (solange die Quote gering ist).

Bei der Berechnung des Bleedstroms wird davon ausgegangen, dass 2 % des Produkts mit dem Bleedstrom verloren gehen und dass der Bleedstrom bei der gegebenen Temperatur eine gesättigte Lösung des Produkts darstellt. Damit ergibt sich das Volumen des Bleedstroms und dadurch die insgesamt zu verdampfende Menge an Lösungsmittel. Alle übrigen Bestandteile des Inputstroms werden darauf geprüft, ob sie im Bleedstrom um oder über ihrer Sättigungsgrenze liegen. Wenn ja, wird der entsprechende Anteil berechnet, der wahrscheinlich auskristallisiert und als Verunreinigung in das Endprodukt eingeht. Da die exakten Löslichkeiten in organischen Lösungsmitteln für die meisten Stoffe nicht bekannt sind und eine genaue Auslegung der Kristallisation sowieso nur experimentell möglich ist, werden die Löslichkeiten bei der Verwendung von Diethylether und theoretischem Lösungsmittel abgeschätzt. Der Anteil des Waschwassers aus der Vakuumfiltration, der in die Mutterlauge eingeht, wird durch die Kuchenfeuchte der abgetrennten Kristalle bestimmt. Eine Übersicht über die abgeschätzten Prozessparameter ist in Anhang B2 gegeben.

#### **4.2.13. Kondensator**

Beim Kondensieren handelt es sich um einen Wärmeaustauschvorgang mit einer Phasenänderung. Heißer Dampf wird unter seinen Taupunkt abgekühlt und kondensiert. Die am häufigsten eingesetzten Kondensatoren sind Rohrbündelwärmetauscher (= Oberflächenkondensatoren), in denen das Kühlmittel (meist Frischwasser) durch die Rohre fließt und der Dampf in dem die Rohre umgebenden Mantelraum kondensiert. Dampf und Kühlmittel werden dabei meist im Gegenstrom geführt. Rohrbündelwärmetauscher haben den Vorteil einer hohen spezifischen Wärmeaustauschfläche (VDI, 1997; Gmehling und Brehm, 1996). Dieser Wärmetauschertyp wird auch für die Abschätzungen in den Modellen angenommen.

Der Wärmetransport im Kondensator lässt sich in drei Schritte einteilen. Im ersten Schritt wird der überhitzte Dampf auf die Sättigungstemperatur abgekühlt. Im nächsten Schritt erfolgt die Kondensation des Satttdampfes bei konstanter Temperatur und im letzten Schritt wird das Kondensat auf die Austrittstemperatur abgekühlt. Der Kühlmittelverbrauch und die Dimensionierung des Kondensators hängen somit von drei Temperaturwerten ab: der



Eintrittstemperatur des Dampfes, der Austrittstemperatur des Kondensats (diese Werte bestimmen die frei werdende Wärme) und der Temperaturänderung des Kühlmittels (bestimmt die Wärmemenge, die das Kühlmittel aufnehmen kann).

Die Eintrittstemperatur ergibt sich aus den vorherigen Prozessschritten (es handelt sich meist um Wasserdampf mit ca. 100°C). Die Austrittstemperatur des Kondensats spielt für die Gesamtwärmemenge nur eine untergeordnete Rolle (solange sie unter dem Taupunkt des Dampfes liegt).

Die Temperaturänderung des Kühlmittels ( $\Delta T_K$ ) ist eine Frage der ökonomischen Optimierung. Leitet man sehr viel Kühlwasser pro Zeiteinheit durch den Kondensator, ist die Temperaturänderung gering, der Wasserverbrauch hoch und die notwendige Wärmetauscherfläche gering. Dies bedeutet vergleichsweise niedrigere Investitionskosten (bedingt durch die notwendige Austauschfläche), aber hohe Betriebskosten (durch erhöhten Wasserverbrauch). Reduziert man dagegen die Kühlm Wassermenge pro Zeit sinkt der Wasserverbrauch, Temperaturänderung und benötigte Austauschfläche werden jedoch größer, d. h. Betriebskosten sinken, Investitionskosten steigen. Die ökonomisch optimalen Bedingungen und damit die optimale Temperaturänderung hängen neben den Stoffeigenschaften des Dampfes vom Wasserpreis, den Kosten pro m<sup>2</sup> Wärmetauscherfläche, der Jahreslaufzeit des Kondensator und weiteren ökonomischen Parametern ab. Die exakte Berechnung der ökonomisch optimalen Temperatur ist bei Peters und Timmerhaus (1991) angegeben. Da die notwendigen Angaben in frühen Entwicklungsphasen nicht zur Verfügung stehen bzw. nur mit größerem Aufwand zu beschaffen sind, wird der Defaultwert des Programms  $\Delta T_K = 5^\circ\text{C}$  übernommen, der wohl einen mittleren Wert darstellt. Peters und Timmerhaus (1991) kommen dagegen für ein konkretes Beispiel auf eine optimale Änderung von  $\Delta T_K = 22^\circ\text{C}$ .

In den Modellen muss der Wärmeübergangskoeffizient  $U$  vom Dampf über die Rohrwand zum Kühlmittel festgelegt werden, um die notwendige Austauschfläche zu bestimmen. Es werden in den Modellen verschiedene Dämpfe kondensiert: reiner Wasserdampf, das theoretische Lösungsmittel 1, Diethylether sowie Wasserdampf mit geringen Mengen an theoretischem Lösungsmittel 1 oder an Decanol. In Rohrbündelwärmetauschern liegt der Wärmeübergangskoeffizient für kondensierende organische Lösungsmittel 4-5fach unter dem Übergangskoeffizienten für Wasserdampf (Perry et al., 1997). Aus der Literatur wurde der Wert für reinen Wasserdampf ermittelt. Es wurde angenommen, dass dieser Wert auch für Wasserdampf mit Beimischungen von organischem Lösungsmittel und Decanol

verwendet werden kann. Für das Kondensieren des theoretischen Lösungsmittels und des Diethylethers wurde der Wert dagegen um den Faktor 4 reduziert (siehe Anhang B2).

Weiterhin wird angenommen, dass sich Gas- und Flüssigkeitsströme immer als ideale Gase bzw. Lösungen verhalten. Nichtkondensierende Gase (z. B. Luft) verschlechtern den Wärmetransport in sehr hohem Maße (Vauck und Müller, 1988). Daher wurde davon ausgegangen, dass dort, wo Wasserdampf mit sehr viel Luft gemischt ist, z. B. in der Abluft des Trockners, keine Kondensation durchgeführt wird.

#### **4.2.14. Dekanter**

In einem Dekanter werden zwei nicht oder kaum mischbare Flüssigkeiten auf der Basis ihrer unterschiedlichen Dichten getrennt. Nach der benötigten Absetzzeit bilden sich drei Schichten: Eine Schicht der schweren Phase, eine Schicht der leichten Phasen und dazwischen die Übergangs- oder Dispersionsschicht. In den Modellen bildet Decanol, das recycelt werden soll, die leichte Phase und Wasser oder eine wässrige Zuckerlösung die schwere Phase. Das Decanol wird abgetrennt und wiederverwendet. Der verbleibende Rest wird zu Abwasser oder kann ebenfalls im Prozess recycelt werden. Ohne Experimente ist schwer abzuschätzen wie viel Decanol durch Lösung in der wässrigen Phase und durch nicht vollständig dispergierte Phasenbereiche verloren geht. Für die Modelle wurde ein Verlust von 5 % angenommen.

Die Größe des Dekanters wird bestimmt durch den erforderlichen Volumendurchsatz und die erforderliche Verweilzeit, die wiederum durch die Sinkgeschwindigkeit der Tropfen im Dekanter bestimmt wird. Die Abschätzung der notwendigen Parameter ist in Anhang B2 gegeben, wobei hier mehrmals auf Defaultwerte zurückgegriffen wird.

#### **4.2.15. Trockner**

Grundsätzlich unterscheidet man bei Trocknern Konvektionstrockner und Kontaktstrockner. Bei Konvektionstrocknern tritt das Trockengas in direkten Kontakt mit dem Trockengut, während bei Kontaktstrocknern die Wärmeübertragung indirekt über eine Apparatewand erfolgt. Da die (thermische) Trocknung relativ energieintensiv ist, wird ihr häufig noch eine mechanische Entwässerung (Vakuumfiltration, Zentrifugation) vorangestellt (Jakubith, 1998). Bei der Konvektions- oder Verdunstungstrocknung gibt ein vorgewärmtes Trockengas Wärme an das Trockengut ab. Diese Wärme dient zum Verdunsten des dort

enthaltenen Wassers in das Trockengas hinein. Das Trockengas kühlt sich bei der Verdunstung ab und nimmt die Feuchtigkeit auf. Das Trockengut gibt die Feuchtigkeit ab und wird durch das warme Trockengas erwärmt (Sattler, 1995). Für die Modelle wurde davon ausgegangen, dass ein Fließbett- oder Wirbelschichttrockner (= Konvektionstrockner) verwendet wird. Ein solcher Trockner erzielt einen schnellen Wärme- und Stoffaustausch; die durchschnittliche Aufenthaltszeit eines Partikels im Trockner beträgt nur 30 – 120 s (McCabe et al., 2001). Die Verarbeitung erfolgt kontinuierlich, das Trockengas wird im Kreuzstrom zugeführt. Das Trockengas versetzt das Trockengut dabei in einen flüssigkeitsähnlichen Zustand, sobald die Gasgeschwindigkeit einen bestimmten Grenzwert (sog. Lockerungsgeschwindigkeit) überschreitet. Die Wirbelschicht dehnt sich dabei aus (Sattler, 1995). Der Trockner besteht im Wesentlichen aus drei Teilen: dem Gasgebläse (Blower), dem Gaserhitzer (Gas Preheater) und dem eigentlichen Trockner (Dryer), in dem sich Trockengut und Trockengas mischen.

Für den spezifischen Luftbedarf  $l$  [kg/kg H<sub>2</sub>O] des idealen Trockners gilt (Jakubith, 1998):

$$l = \frac{\dot{m}_L}{\dot{m}_F} = \frac{1}{X_{L,1} - X_{L,0}} \quad (\text{Gl. 4-8})$$

$\dot{m}_L$  = Massenstrom des Trockengases [kg/h],  $\dot{m}_F$  = Massenstrom der entzogenen Feuchte [kg/h],

$X_L$  = Feuchte des Trockengases [kg/kg] vor (0) und nach dem Trockenvorgang (1)

McCabe et al. (2001) geben an, dass die Abluft eines Fließbettrockners fast immer gesättigt ist. Geht man von einer mittleren Temperatur der Zuluft von 20°C und einer mittleren Feuchtigkeit von 70 % aus (Luftfeuchtigkeit in Deutschland im Jahresmittel 70 %; Vauck und Müller, 1988), kann man den minimalen spezifischen Luftbedarf  $l$  des Trockners bestimmen. Für den Feuchtegehalt  $X$  [kg H<sub>2</sub>O/kg Luft] gilt:

$$X = 0,622 \cdot \frac{e}{p - e} \quad (\text{Gl. 4-9})$$

Für den Partialdruck  $e$  gilt:

$$e = \frac{r \cdot E(T)}{100} \quad (\text{Gl. 4-10})$$

$e$  = Partialdruck des Wasserdampfs [hPa];  $p$  = Luftdruck [hPa],  $r$  = relative Luftfeuchtigkeit [%];  $E(T)$  = Sättigungsdampfdruck des Wasserdampfs bei der Temperatur  $T$  [hPa]

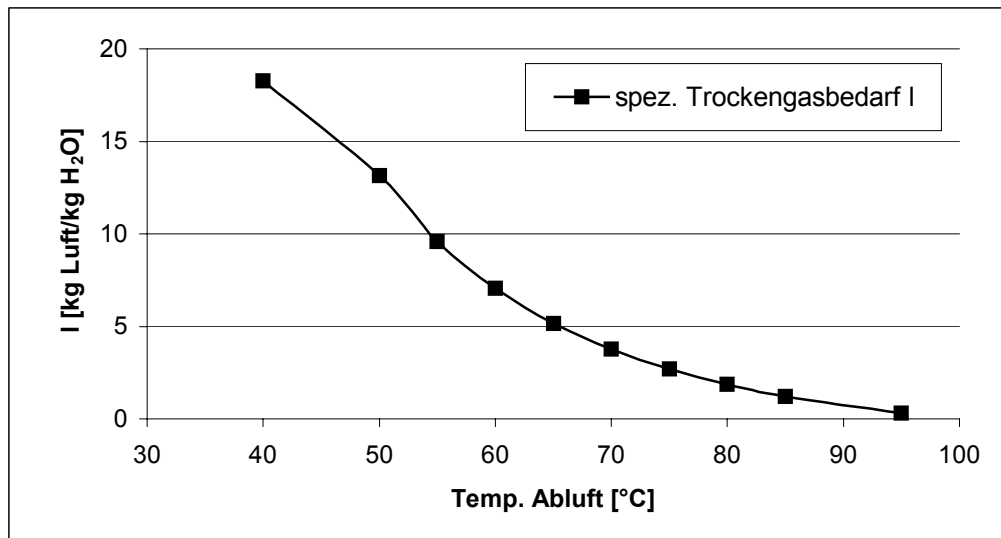


Abb. 4-4: Spezifischer Trockengasbedarf  $l$  in Abhängigkeit von der Temperatur der (gesättigten) Abluft (Zuluft: 20°C, 70 % Luftfeuchtigkeit)

Der Luftdruck beträgt 1.013 hPa. Mit Hilfe des bekannten Sättigungsdampfdrucks (z. B. aus Jakubith, 1998) kann der Partialdruck der Abluft (50°C, gesättigt) und der Partialdruck und der Feuchtegehalt für verschiedene Luftfeuchtigkeiten der Zuluft aus den Gleichungen 4-9 und 4-10 berechnet werden. Durch Einsetzen der ermittelten Werte in Gl. 4-8 wird der spezifische Luftbedarf  $l$  ermittelt. Variiert man die Temperatur der Abluft (die nach McCabe et al., 2001 stets gesättigt ist), zeigt sich eine Temperaturabhängigkeit in der Kurve der spezifischen Trockengasmenge (s. Abb. 4-4). Die Endtemperatur in den modellierten Verfahren ist nicht genau bekannt. Es wird angenommen, dass sie etwa 50°C beträgt, was einem spezifischen Trockengasbedarf von  $l = 13,2 \text{ kg/kg H}_2\text{O}$  entspricht. Der Defaultwert des Programms (5 kg/kg) entspricht in etwa dem Wert für eine Ablufttemperatur von 70°C.

### 4.3. Modellierung Fermenter und Reaktoren

Die Stoffumwandlungen und die notwendigen Reaktionsbedingungen sind für jedes Fallbeispiel verschieden. Es gibt jedoch Teilschritte, die in jedem Fermenter/Reaktor gleich sind. Für die Verfahren, die von Stärke als Rohstoff ausgehen, steht beispielsweise am Anfang immer die Hydrolyse der Stärke zu Dextrin. Die Stärkehydrolyse erfolgt in den Modellen immer unter den gleichen Annahmen, die in Anhang B3 erläutert sind.

Den ersten Schritt stellt stets das Befüllen des Reaktors da. Unabhängig von der Größe des Reaktors wird für alle Modelle angenommen, dass das gesamte Befüllen (Wasser, Medium, Feststoffe etc.) nach 1,5 h abgeschlossen ist. Werden im späteren Prozessverlauf noch

weitere Lösungen zudosiert, wird für große Volumina (z. B. mehrere  $\text{m}^3$  Medium) eine Befüllungsrate von 500 kg/min angenommen. Für kleine Volumina (z. B. Enzymzugabe etc.) wird eine Rate von 50 kg/min festgelegt. Für das Ablassen am Ende des Prozessschritts wird, wie beim Befüllen, eine Dauer von 1,5 h angenommen. Beim Entleeren werden immer 100 % des Volumens abgelassen.

Beim Erwärmen und Kühlen werden die in Kap. 4.4. erläuterten Abschätzungen verwendet. Die Heiz- und Kühlrate wird in Abhängigkeit von der Reaktorgröße festgelegt. Nach Industrieangaben ist für  $10 \text{ m}^3$ -Fermenter eine Rate von  $1,5\text{-}3^\circ\text{C}/\text{min}$  anzunehmen, für  $50 \text{ m}^3$ -Fermenter  $1\text{-}2^\circ\text{C}/\text{min}$ . Für die Modelle wird bis zu einer Fermentergröße von  $20 \text{ m}^3$  eine Heizrate von  $2,2^\circ\text{C}/\text{min}$  angenommen. Bei größeren Fermenter wird von  $1,5^\circ\text{C}/\text{min}$  ausgegangen.

Zur Vereinfachung wird die Inokulumanzucht nicht dargestellt. Die Biomasse wird als eigener Strom zugeführt, um die gewünschte Startkonzentration zu erreichen. Die Zellen im Fermenter müssen mit Sauerstoff versorgt werden. Die Begasung erfolgt in industriellen Prozessen aus Kostengründen meist mit Luft und nicht mit reinem Sauerstoff (Diekmann und Metz, 1991). Der Luftbedarf liegt in der Regel zwischen 0,1 und 2 vvm, oft im Bereich von 1 vvm. Mit steigender Fermentergröße verbessert sich jedoch die Ausnutzung der Luft und der Luftbedarf sinkt (Diekmann und Metz, 1991). Nach Matthey und Kristiansen (1999) beträgt die Belüftungsrate bei der Zitronensäurefermentation zu Beginn 0,1 vvm und wird dann schrittweise auf 0,5-1 vvm erhöht. Perry et al. (1997) geben für große Fermenter einen mittleren Luftbedarf von 0,5 vvm an. Dies entspricht auch dem Defaultwert des Programms. In den Modellen werden alle Fermenter mit dieser Rate belüftet. Für alle Modelle wird weiterhin angenommen, dass das gebildete Kohlendioxid vollständig in die Gasphase übergeht und emittiert.

Auf eine ggf. notwendige Zugabe von Antischaummittel wird in allen Modellen verzichtet, da es verschiedene Methoden zur Schaumkontrolle gibt und nicht geklärt ist, ob und welche Art der Kontrolle in einem späteren Produktionsprozess zu erwarten ist.

Die Nährsalze und der Großteil der Säuren und Basen, die dem Reaktor zugeführt werden, liegen als Ionen dissoziiert in der Reaktorlösung vor. Als solche werden sie von den Mikroorganismen aufgenommen und als solche werden sie in der späteren Aufreinigung vom Produkt getrennt. Daher ist es notwendig, den Vorgang der Dissoziation in der Simulation zu berücksichtigen. Hierzu wird in allen Modellen ein eigener Reaktionsschritt im Reaktor definiert. Zunächst werden alle Salze aufgespalten (z. B. Magnesiumchlorid in ein Magnesium-Ion und zwei Chlorid-Ionen). Bei den in den Modellen vorkommenden pH-

Werten (pH 2-7) kann für fast alle Salze eine vollständige Dissoziation angenommen werden. Das Gleiche gilt für die eingesetzten starken Säuren und Laugen. Die Dissoziationsreaktionen der Säuren und Laugen werden zunächst so definiert, dass sich die beteiligten Protonen und Hydroxidionen zu Wasser verbinden. Die Dissoziation schwacher Säuren und Basen (Milchsäure, Brenztraubensäure, Essigsäure, Zitronensäure) wird dagegen in der Regel in den Modellen nicht berücksichtigt, da sie bei den vorgegebenen pH-Werten nicht vollständig dissoziiert vorliegen. Dort, wo die Dissoziation entscheidende Bedeutung für den Prozess hat, z. B. bei der Extraktion von Milchsäure und Brenztraubensäure, wird sie separat diskutiert (s. Kap. 4.5).

Durch die Nichtberücksichtigung der schwachen Säuren und Basen besteht immer ein (den realen Bedingungen nicht unbedingt entsprechender) Überschuss an einer starken Säure oder Base. Für Bilanzierungszwecke wird diese in das entsprechende Ion (z. B. für HCl Chlorid) und Wasser aufgespalten. Das Ion (z. B. Chlorid) wird formal als selbstständig behandelt und die freigesetzten Protonen und Hydroxid-Ionen massenmäßig dem Wasser zugeschlagen, obwohl nur Protonen (Säure) bzw. Hydroxid-Ionen (Base) vorhanden sind. Aufgrund der großen Wassermenge und der Tatsache, dass die pH-Regulierung gesondert betrachtet wird kann der entstehende Fehler als vernachlässigbar angesehen werden, wohlwissend dass tatsächlich immer Elektroneutralität besteht, wie in Kap. 4.5 diskutiert. Für alle Dissoziationsreaktionen wird angenommen, dass die Reaktionswärme vernachlässigbar ist. Bei der Bewertung der Outputströme werden die tatsächlich vorliegenden Formen (Säuren, Basen, anorganische Salze) berücksichtigt.

Die Reaktionsbedingungen, die anschließende Inaktivierung und Sterilisierung und das Abdampfen von Lösungsmitteln sind für jedes Fallbeispiel spezifisch und werden in den entsprechenden Kapiteln erläutert.

#### **4.4. Grundlagen der Energieverbrauchsabschätzung**

Die Grundoperationen Heizen, Kühlen, Rühren, Kondensieren, Zentrifugieren, (Vakuum-)Filtration und Trocknen wurden als die für den Energieverbrauch entscheidenden Vorgänge identifiziert und bei der Abschätzung des Energiebedarfs berücksichtigt. Vereinfachend wird angenommen, dass der Energiebedarf der übrigen Grundoperationen, wie Mischen und Dekantieren, für eine frühe Abschätzung des Energieverbrauchs vernachlässigbar ist. Ebenso wird der Energieverbrauch nicht berücksichtigt, der durch den Transport der Stoffströme (Pumpen etc.) entsteht. Zum einen, weil er in frühen

Entwicklungsphasen recht schwer abzuschätzen sein dürfte und zum anderen da er nicht zum inhärenten Energiebedarf des Verfahrens im engeren Sinne gehört. Der ermittelte Energieverbrauch entspricht somit nicht dem tatsächlichen Gesamtverbrauch einer späteren Produktionsanlage, sondern versucht die wichtigsten verfahrensinhärenten Energiebedarfe zu quantifizieren.

Die Berechnung der Energieverbräuche erfolgt bereits weitgehend programmintern. Parallel wird der Bedarf zur Überprüfung auch extern berechnet. Die Ergebnisse stimmen in den meisten Fällen überein, es kommt jedoch auch zu Abweichungen, die in den jeweiligen Fallbeispielen erläutert werden.

(Vakuum-)Filtration, Zentrifugation und Trocknen kommen nur in den entsprechenden Prozessschritten vor und der Energiebedarf ist dort abgeschätzt (Kap. 4.2). Heizen, Kühlen, Kondensieren und Rühren sind dagegen Teil verschiedener Prozessschritte. Die Abschätzung ihres Energiebedarfs soll daher im Folgenden hier erläutert werden.

#### **4.4.1. Heizen, Kühlen und Kondensieren**

Heizen und Kühlen erfolgt in den Modellen sowohl batchweise, z. B. beim Erwärmen einer Reaktorlösung, als auch in kontinuierlichen Wärmetauschern, z. B. Hitzesterilisatoren. Die Grundlagen des Wärmeaustauschs sind jedoch in beiden Fällen gleich. Als Wärmeüberträger zum Heizen wird Niederdruckdampf mit einer Temperatur von 150°C angenommen. Zum Kühlen wird Kühlwasser mit 25°C und vorgekühltes Wasser (chilled water) mit 5°C angenommen. Das vorgekühlte Wasser wird im Folgenden als Kaltwasser bezeichnet. Beim Kühlwasser wird davon ausgegangen, dass zur Bereitstellung keine Energie notwendig ist. Das Kaltwasser wird dagegen unter Energieeinsatz abgekühlt. Die Bereitstellung erfolgt meist durch Kühltürme, solegekühlte Rohrbündel- oder Schlangenrohrwärmetauscher oder Dampfstrahlkälteanlagen (näheres hierzu z. B. bei Vauck und Müller, 1988). Für die Modelle wird vereinfachend davon ausgegangen, dass der Energiebedarf zur Bereitstellung von 1 kg Kaltwasser gleich der Energiemenge ist, die bei der Abkühlung des Wassers von 25°C auf 5°C abgeführt werden muss.

Geht man bei der Temperaturänderung des Kühlmittels vom Defaultwert  $\Delta T_K = 5^\circ\text{C}$  aus (siehe hierzu auch Kap. 4.2.13), ergibt sich für Kühlwasser eine Endtemperatur von 30°C und für Kaltwasser 10°C. Die Endtemperatur eines Kühlmittels liegt in der Regel 5-40°C unter der Endtemperatur der gekühlten Flüssigkeit (Vauck und Müller, 1988). In den Modellen wird daher bis zu einer Endtemperatur der gekühlten Lösung von 35°C

Kühlwasser verwendet, bei tieferen Temperaturen dagegen Kaltwasser. Bei kontinuierlichen Wärmetauschern, in denen Kühlmittel und zu kühlende Lösung im Gegenstrom geführt werden, wird Kühlwasser bis zu einer vorgesehenen Temperatur von 30°C verwendet.

Für die Wärmemenge  $Q$  [J], die beim Heizen benötigt wird und beim Kühlen abgeführt werden muss, um eine Lösung der Masse  $m_r$  [kg] mit der spezifischen Wärmekapazität  $c_{p,r}$  [J/kg K] um einen gewünschten Temperaturbetrag  $\Delta T_r$  [K] zu erwärmen bzw. zu kühlen, gilt:

$$Q = m_r \cdot c_{p,r} \cdot (T_{r,E} - T_{r,A}) = m_r \cdot c_{p,r} \cdot \Delta T_r \quad (\text{Gl. 4-11})$$

$T_{r,E}$  = Endtemperatur [K],  $T_{r,A}$  = Anfangstemperatur [K]

Die Gesamtmasse, der Anteil der einzelnen Stoffe und die Anfangstemperatur ist jeweils aus der Simulation bekannt, die Endtemperatur ergibt sich aus der Prozessplanung. Bei der Berechnung der Gesamtwärmemenge wird vereinfachend davon ausgegangen, dass die gesamte Wärmemenge gleich der Summe der Wärmemengen ist, die benötigt würden, um jeden einzelnen Stoff  $i$  mit seiner spezifischen Wärmekapazität  $c_{p,i}$  um den gewünschten Temperaturbetrag zu erwärmen bzw. zu kühlen. Folglich gilt:

$$Q = \sum m_i \cdot c_{p,i} \cdot \Delta T_r \quad (\text{Gl. 4-12})$$

Die spezifischen Wärmekapazitäten sind nicht für alle Stoffe verfügbar. Teilweise weichen die Angaben in verschiedenen Quellen stark voneinander ab. Unterschiede von 200-300 % sind durchaus möglich. Dadurch sind die ermittelten Wärmemengen mit einer gewissen Unsicherheit behaftet. Da die Werte für die Stoffe mit den größten Massenanteilen in den Modellen relativ sicher sind, dürften mögliche Fehler jedoch gering bleiben.

Beim Heizen wird die benötigte Wärmemenge durch den Niederdruckdampf geliefert. Der Dampf kondensiert an der Wärmeaustauschfläche, ohne dass sich seine Temperatur verändert. Es wird folglich nur die aus der Kondensation stammende Wärmemenge übertragen. Somit gilt:

$$Q = m_D \cdot h_K \quad (\text{Gl. 4-13})$$

$m_D$  = Dampfmenge [kg],  $h_K$  = Kondensationsenthalpie [J/kg]

Die Kondensationsenthalpie des Wasserdampfes beträgt bei 150°C  $h_{K,150^\circ\text{C}} = 2.115$  kJ/kg (Vauck und Müller, 1988). Durch Gleichsetzen der Gleichungen 4-12 und 4-13 lässt sich die notwendige Dampfmenge ermitteln:



$$m_D = \frac{\sum m_i \cdot c_{p,i} \cdot \Delta T_r}{\eta \cdot h_{K,150^\circ C}} \quad (\text{Gl. 4-14})$$

Mit der zusätzlich eingeführten Übertragungseffizienz  $\eta$  können mögliche Wärmeverluste berücksichtigt werden. Es wird sowohl beim Heizen als auch beim Kühlen von einer Übertragungseffizienz von 90 % ausgegangen.

Beim Kühlen gilt für die vom Kühlmittel aufgenommene Wärmemenge  $Q$  [J]:

$$Q = m_K \cdot c_{p,K} \cdot (T_{K,mE} - T_{K,A}) = m_K \cdot c_{p,K} \cdot \Delta T_{m,K} \quad (\text{Gl. 4-15})$$

$c_{p,K}$  = Wärmekapazität des Kühlmittels [J/kg K],  $T_{K,A}$  = Anfangstemperatur Kühlmittel [K],  $T_{K,mE}$  = mittlere Endtemperatur des Kühlmittels [K],  $\Delta T_{m,K}$  = mittlere Temperaturänderung des Kühlmittels [K]

Durch Gleichsetzen mit Gl. 4-12 lässt sich, wiederum unter Berücksichtigung der Übertragungseffizienz, der Kühlmittelbedarf berechnen:

$$m_K = \frac{\sum m_i \cdot c_{p,i} \cdot \Delta T_r}{\eta \cdot c_{p,K} \cdot \Delta T_{m,K}} \quad (\text{Gl. 4-16})$$

Zum batchweisen Kühlen, z. B. eines Fermenters, müssen noch folgende einschränkende Bemerkungen gemacht werden. Bei diesen Kühlvorgängen handelt es sich um periodisches Kühlen mit nichtstationärem Wärmeübergang. Die Temperaturdifferenz zwischen Lösung und Kühlmittel ändert sich entlang der Austauschfläche und in jedem Punkt der Austauschfläche mit der Zeit. Der Wärmedurchgang von der Reaktorlösung über die Reaktorwand zum Kühlmittel ist proportional zu dieser Temperaturdifferenz. Das heißt, dass sich der Wärmeübergang an jedem Punkt der Austauschfläche im Verlauf des Kühlvorgangs verändert (= nichtstationär). Daraus folgt, dass sich auch die ausgetauschte Wärmemenge pro Zeiteinheit im Verlauf des Vorgangs verändert. Da die Temperaturdifferenz abnimmt, nimmt auch die ausgetauschte Wärmemenge ab. Dies bedeutet, dass die Endtemperatur des Kühlmittels, der abnehmenden zugeführten Wärmemenge entsprechend, im Verlauf des Kühlvorgangs abnimmt (bei konstanter Flussrate). Für eine exakte Abschätzung müsste die mittlere Temperaturdifferenz mit Hilfe der so genannten Temperaturkennzahl ermittelt werden (näheres s. Vauck und Müller, 1988). Diese kann jedoch nur experimentell für eine bestehende Anlage bestimmt werden. In den Modellen wird daher immer 5°C als mittlere Temperaturänderung  $\Delta T_K$  angenommen. Der entstehende Fehler sollte gering sein, zumal die ausgetauschte Wärmemenge davon nicht beeinflusst wird.

Die Vorgänge beim Kondensieren sind ähnlich und wurden bereits bei der Beschreibung der Kondensatoren erläutert (s. Kap. 4.2.13). Die durch das Kühlmittel abzuführende Wärmemenge stellt die Summe aus der beim Abkühlen frei werdenden Wärme und der frei werdenden Verdunstungswärme dar:

$$Q = m_D \cdot (h_{D,A} - h_S) + m_D \cdot h_K + m_D \cdot c_{p,i} \cdot (T_{D,S} - T_{Ko}) \quad (\text{Gl. 4-17})$$

$h_{D,A}$  = spezifische Enthalpie des Dampfes bei der Eintrittstemperatur [J/kg],  $h_S$  = spezifische Enthalpie des Dampfes bei Sättigungstemperatur [J/kg],  $c_i$  = spezifische Wärmekapazität [J/kg K],  $T_{D,S}$  = Sättigungstemperatur [K],  $T_{Ko}$  = Endtemperatur des Kondensats [K]

Durch Gleichsetzen mit Gl. 4-15 lässt sich wiederum der Kühlmittelbedarf berechnen.

$$m_K = \frac{m_D \cdot (h_{D,A} - h_S) + m_D \cdot h_K + m_D \cdot c_{p,i} \cdot (T_{D,S} - T_{Ko})}{\eta \cdot c_{p,K} \cdot \Delta T_{m,K}} \quad (\text{Gl. 4-18})$$

#### 4.4.2. Rühren

Es ist schwierig, den tatsächlichen Stromverbrauch zum Rühren in den einzelnen Prozessschritten exakt zu ermitteln, da die Leistungsaufnahme des Rührers neben seiner Geschwindigkeit und dem Volumen der Lösung, auch von der Geometrie des Rührers und des Reaktors, von der Dichte und der effektiven Viskosität der Flüssigkeit, die im Verlauf des Prozesses variieren kann (z. B. bei der Stärkeverflüssigung oder durch Begasung) und von der Rauigkeit der Reaktorwand abhängt. Zusätzliche Bauteile im Reaktor, wie Strombrecher, Thermometerrohre oder Heizschlangen, können die notwendige Rührleistung um das zwei- bis dreifache erhöhen.

Im Programm ist zur Abschätzung der Rührleistung kein Modell enthalten. Die Leistungsaufnahme wird direkt als spezifischer Verbrauch  $P_{sp}$  in [kW/m<sup>3</sup>] angegeben. Für die Modelle sollen Erfahrungswerte aus der Literatur verwendet werden. Dabei sind drei Fälle zu unterscheiden: das Rühren einer wenig viskosen Lösung zum Mischen der Bestandteile (z. B. Vorhalten Medium), das Rühren einer Feststoffsuspension (z. B. Kristallisation) und das Rühren eines Fermenters mit suspendierten Mikroorganismen zum Sauerstoffeintrag.

Vauck und Müller (1988) nennen als Erfahrungswerte für die spezifische Rührleistung zum Mischen von Flüssigkeiten  $P_{sp} = 0,2-0,5$  kW/m<sup>3</sup>. McCabe et al. (2001) unterscheiden ohne nähere Definition dieser Formen zwischen „mildem“, „starkem“ und „intensivem“ Rühren und geben entsprechende Richtwerte von  $P_{sp} = 0,1-0,2$  kW/m<sup>3</sup>,  $P_{sp} = 0,4-0,75$  kW/m<sup>3</sup> bzw.

$P_{sp} = 0,8-2,0 \text{ kW/m}^3$  an. Der spezifische Bedarf zum Mischen wenig viskoser Flüssigkeiten wird in den Modellen auf  $P_{sp} = 0,4 \text{ kW/m}^3$  festgelegt. Für den spezifischen Verbrauch beim Rühren von Feststoffsuspensionen geben Vauck und Müller (1988) als Richtwert  $P_{sp} = 0,3-1,0 \text{ kW/m}^3$  an. In den Modellen soll von  $P_{sp} = 0,6 \text{ kW/m}^3$  ausgegangen werden.

Für Fermenter geben Perry et al. (1997) eine Spanne von  $P_{sp} = 0,2-3,2 \text{ kW/m}^3$  an. Die benötigte Leistungsaufnahme des Rührers ist bei begasten Flüssigkeiten meist deutlich niedriger als bei nicht begasten (Aiba et al., 1973). Doran (1995) gibt für nicht begaste Fermenter einen spezifischen Bedarf von  $P_{sp} = 1,5 \text{ kW/m}^3$ , für begaste  $P_{sp} = 0,8 \text{ kW/m}^3$  an. Aiba et al. (1973) geben für „mildes“ Rühren eine spezifische Leistungsaufnahme von  $P_{sp} = 0,2-0,75 \text{ kW/m}^3$ , für „starkes“ Rühren  $P_{sp} = 0,75-3,0 \text{ kW/m}^3$  an. In den Modellen werden alle Fermenter begast. Für sie soll ein mittlerer Bedarf von  $P_{sp} = 0,8 \text{ kW/m}^3$  gelten.

## 4.5. Abschätzung pH-Regulierung

In den Modellen ist zu verschiedenen Zeitpunkten im Prozess die Einstellung des pH-Werts notwendig. Die hierfür benötigten Säure- bzw. Basenmengen werden aus der Ionenbilanz abgeschätzt. Zu jedem Zeitpunkt ist die Summe der Ladungen der Kationen gleich der Summe der Ladungen der Anionen. Die Ionenbilanz wird nach dem Ion umgestellt, das zur pH-Regulierung verwendet wird, also z. B. nach der Chloridkonzentration, wenn Salzsäure verwendet wird oder nach der Kalium-Ionenkonzentration, wenn Kalilauge verwendet wird. Für den mit Ammoniaklösung regulierten Fermenter des Pyruvatmodells lautet die umgestellte Ionenbilanz beispielsweise (Ac = Acetat, Pyr = Pyruvat):

$$[\text{NH}_4^+] = [\text{Ac}^-] + [\text{Pyr}^-] + [\text{OH}^-] + [\text{Cl}^-] + 2[\text{SO}_4^{2-}] + [\text{HSO}_4^-] + 3[\text{PO}_4^{3-}] + 2[\text{HPO}_4^{2-}] + [\text{H}_2\text{PO}_4^-] - [\text{Na}^+] - [\text{H}^+] - [\text{K}^+] - 2[\text{Mg}^{2+}] \quad (\text{Gl. 4-19})$$

Um aus der Ionenbilanz die notwendige Menge an Säure bzw. Lauge zur pH-Regulierung zu berechnen, müssen die Konzentrationen der einzelnen Ionen bestimmt werden. Durch den festgelegten pH-Wert ist die Konzentration an  $\text{H}^+$ - und  $\text{OH}^-$ -Ionen bereits bekannt. Aus dem Modell sind die zugeführten Konzentrationen an Salzen (NaCl,  $\text{MgSO}_4$  etc.), Säuren und Basen ebenfalls bekannt. In den Modellen liegt der eingestellte pH-Wert zwischen pH 2 und pH 7. Für diesen pH-Bereich kann vereinfachend angenommen werden, dass die zugeführten Salze vollständig dissoziiert vorliegen. Der dissoziierte Anteil und die Ionenkonzentration der übrigen Stoffe (v. a. schwache Säuren und Basen) wird nach folgender Formel berechnet (John und Heinzle, 2001):

$$[H_{n-L}A^{L-}] = \frac{[H^+]^{n-L} \cdot [A]_{ges} \cdot \prod_{q=0}^L K_{Sq}}{\sum_{m=0}^n \left\{ [H^+]^{n-m} \cdot \prod_{q=0}^m K_{Sq} \right\}} \quad \text{mit } K_{S0} = 1 \quad (\text{Gl. 4-20})$$

n = Anzahl der Protonen der Säure; L = Anzahl der dissoziierten Protonen;  $K_S$  = Säurekonstante;

$[A]_{ges}$  = Gesamtkonzentration der Säure

Die  $K_S$ -Werte wurden aus Seel (1970) und Lide (2002) entnommen. Für Essigsäure ( $pK_S = 4,75$ ) ergibt sich beispielsweise bei pH 7:

$$[Ac^-] = \frac{K_{Ac} \cdot [Ac^-]_{[ges]}}{[H^+] + K_{Ac}} \rightarrow [Ac^-] = \frac{10^{-4,75} \cdot [Ac^-]_{[ges]}}{10^{-7} + 10^{-4,75}} \rightarrow [Ac^-] = 0,99441 \cdot [HAc]_{[ges]} \quad (\text{Gl. 4-21})$$

Bei pH 7 liegen also 99,4 % der Essigsäure dissoziiert vor. Bei der pH-Regulierung eines Fermenters wird immer davon ausgegangen, dass das gebildete  $CO_2$  unmittelbar in die Gasphase übergeht und somit den pH-Wert nicht beeinflusst.

Nachdem alle Ionenkonzentrationen bestimmt wurden, wird die benötigte Säuren- bzw. Basenmenge aus der Ionenbilanz berechnet und in das Modell eingesetzt. Natürlich kann es in der Realität zu gewissen Abweichungen vom berechneten Bedarf kommen. Diese sollten jedoch gering genug sein, um hier vernachlässigt zu werden. Eine pH-Pufferung, wie sie ggf. notwendig sein könnte, wird nicht berücksichtigt.

## V. FALLBEISPIEL ZITRONENSÄURE

---

### 5.1. Einleitung

Das Fallbeispiel beruht auf der Arbeit von Marending (1992) an der ETH Zürich zur Herstellung von Zitronensäure mit *Aspergillus niger*. Die dort im Labor durchgeführten Fermentationen und Versuche zur Aufreinigung wurden als Grundlage der Modelle übernommen. Im Gegensatz zum derzeitigen Produktionsprozess, der von Molasse ausgeht, verwendet Marending (1992) Stärke als Rohstoff. Lesniak (1999), Sarangbin und Watanapokasin (1999) sowie Mourya und Jauhri (2000) haben ebenfalls Verfahren veröffentlicht, die von Stärke ausgehen.

Die Arbeiten von Marending wurden im Rahmen einer Diplomarbeit durchgeführt. Sie stellen ein recht frühes Stadium der Prozessentwicklung dar. Zur Erstellung des Modells wurden die Labordaten durch Literaturdaten ergänzt (v. a. Kristiansen et al., 1999). Anhand dieses Fallbeispiels soll das grundsätzliche methodische Vorgehen aufgezeigt werden und die ökologischen Schwachstellen bzw. Verbesserungspotentiale werden identifiziert.

Die Jahresproduktion von Zitronensäure liegt bei etwa 400.000 t (Mattey und Kristiansen, 1999). Der größte Teil davon wird im Lebensmittelbereich eingesetzt, wo Zitronensäure vor allem als Geschmacksverstärker und zum Haltbarmachen von Lebensmitteln dient (Mattey und Kristiansen, 1999). Weitere Anwendungen liegen in der pharmazeutischen und chemischen Industrie (Geschmacksstoff, Puffer, Antioxidationsmittel, Salzbildung mit Metallen).

### 5.2. Fermentation

Der Ablauf der Stoffumwandlungen im Fermenter ist in Abb. 5-1 dargestellt. Zunächst erfolgt die Hydrolyse der Stärke zu Dextrin mit durchschnittlich 5 Glucoseresten. Hierzu wird der Stärkelösung  $\alpha$ -Amylase zugegeben. Dabei werden auch Proteine und Fette als Verunreinigungen der Stärke freigesetzt. Der Prozessablauf der Stärkehydrolyse und die stattfindenden Reaktionen wurden bereits in Kap. 4.3 und den entsprechenden Anhängen B3 und B4 erläutert.

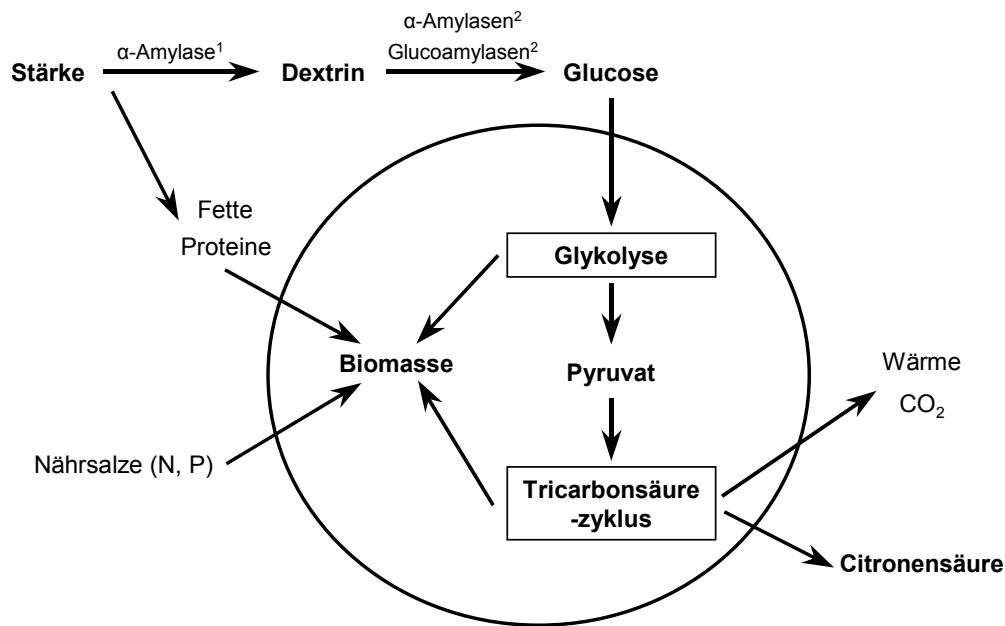


Abb. 5-1: Reaktionsschema der Zitronensäurefermentation aus Stärke mit *Aspergillus niger*.

<sup>1</sup> zugesetzt, <sup>2</sup> von *A. niger* ins Medium abgegeben.

Nach der Dextrinbildung erfolgt die Einstellung von pH-Wert und Fermentationstemperatur und die Animpfung mit *A. niger*. In der dann folgenden Fermentation laufen verschiedene Stoffumwandlungen mehr oder minder parallel ab. Der eingesetzte Pilzstamm produziert  $\alpha$ -Amylasen und Glucoamylasen und gibt diese ins Medium ab. Die Enzyme hydrolysieren unter Wasserverbrauch das Dextrin vollständig zu Glucose, das vom Mikroorganismus aufgenommen wird. Die Glucose wird zum Aufbau von Biomasse verwendet, über die Atmungskette zu Kohlendioxid veratmet und in Zitronensäure umgewandelt. Dabei kann man zwei Phasen unterscheiden. In der ersten Phase erfolgt vor allem der Dextrinabbau und die Biomassebildung. In der zweiten Phase wird überwiegend Zitronensäure produziert. Im Modell werden diese Phasen jedoch nicht unterschieden, da für den Prozess nur die Endkonzentrationen relevant sind. Die Startkonzentrationen der Rohstoffe und die erreichten Endkonzentrationen von Biomasse und Zitronensäure wurden aus Marending (1992) entnommen. Basierend auf diesen Daten wurden die Reaktionsgleichungen der stattfindenden Stoffumwandlungen ermittelt (siehe Anhang C2).

Bei der Bildung der Biomasse wird der verfügbare Stickstoff vollständig aufgebraucht (Marending, 1992). Als N-Quelle dienen Ammoniumnitrat aus dem Medium und die in der Stärke enthaltenen Proteine. Um die insgesamt verfügbare Stickstoffmenge zu ermitteln, wurde die mittlere Zusammensetzung der Proteine aus Literaturdaten abgeschätzt (siehe Anhang C2). Nielsen und Villadsen (1994) nennen für die Biomasse von *A. niger* die

Zusammensetzung  $\text{CH}_{1,72}\text{O}_{0,55}\text{N}_{0,17}$ . Nimmt man diese Summenformel an, würde deutlich mehr Stickstoff benötigt, als aus dem Ammoniumnitrat und den Proteinen geliefert werden kann. Aus der tatsächlich verfügbaren Stickstoffmenge und der gebildeten Biomasse ergibt sich die Summenformel  $\text{CH}_{1,72}\text{O}_{0,55}\text{N}_{0,09}$ . Der Stickstoffgewichtsanteil sinkt damit von 9,3 % auf 5,5 %. Schlieker (1995) konnte zeigen, dass der Stickstoffgehalt von Zellen bei Stickstofflimitierung deutlich absinken kann. In Experimenten sank der N-Gehalt von 7,0 % auf 3,9 %. Dies entspricht weitgehend der oben berechneten Abnahme. Die Zitronensäurefermentation findet ebenfalls überwiegend bei Stickstofflimitierung statt. Es wird daher angenommen, dass der Stickstoffanteil der Zellen am Ende der Fermentation dem oben berechneten Wert entspricht.

Bezieht man den verfügbaren Phosphor mit ein, ergibt sich die Summenformel  $\text{CH}_{1,72}\text{O}_{0,55}\text{N}_{0,09}\text{P}_{0,002}$  und ein Molekulargewicht von 23,89 g/C-Mol. Der mittlere Phosphorgehalt von *A. niger* konnte nicht ermittelt werden. Der berechnete Wert erscheint jedoch sehr gering. Es wird angenommen, dass sich der P-Gehalt, ähnlich wie der N-Gehalt, im Laufe der Fermentation (P-Mangel) auf den berechneten Wert verringert.

Im Modell werden, den beiden Stickstoffquellen entsprechend, zwei Biomassebildungsreaktionen definiert, mit der jeweiligen N-Quelle als limitierendem Faktor. Die gebildete  $\text{CO}_2$ -Menge wurde von Marending (1992) nicht bestimmt. Sie wird über die C-Bilanz der Fermentation abgeschätzt (siehe Anhang C2).

Bei der Zitronensäurebildung wird die Glucose von den Zellen aufgenommen und über die Glykolyse bis zum Pyruvat abgebaut. Ein Teil des Pyruvats wird über die Pyruvatdehydrogenase in Acetyl-CoA umgewandelt. Dabei wird Kohlendioxid abgespalten. Das Kohlendioxid bildet mit dem übrigen Pyruvat unter Einfluss der Pyruvatcarboxylase Oxalacetat. Oxalacetat und Acetyl-CoA werden im Tricarbonsäurezyklus zu Citrat umgewandelt, das als Zitronensäure ausgeschleust wird. Im Modell wird angenommen, dass die Zitronensäure als Monohydrat anfällt. Die Reaktion läuft solange ab, bis die Glucosekonzentration 0,2 g/l unterschreitet (Marending, 1992). Eine detaillierte Beschreibung der Zitronensäure-Biosynthese findet sich z. B. bei Wolschek und Kubicek (1999) und Karaffa und Kubicek (2003).

### 5.3. Verfahrensaufbau und Simulation

Das Verfahrenschema der Zitronensäureherstellung ist in Ab. 5-2 dargestellt. Mit den Informationen aus Marending (1992) und weiteren Literaturquellen wurde ein Modell des

erwarteten Produktionsprozesses erstellt und in eine Simulation überführt. Das Simulationsmodell ist auf der beigefügten CD-ROM hinterlegt.

Zitronensäure wird heute in großen Mengen produziert. Man kann daher davon ausgehen, dass im Produktionsverfahren großvolumige Fermenter eingesetzt werden. Im Modell wird ein Arbeitsvolumen von 105 m<sup>3</sup> angenommen. Abb. 5-3 zeigt das Verfahrensfliessbild der Simulation. Der zentrale Prozessschritt ist der Fermenter (P-6), in dem die im vorherigen Kapitel beschriebenen Stoffumwandlungen stattfinden. Zunächst werden dem Fermenter Stärke, Wasser und  $\alpha$ -Amylase (S-109 bis S-111) zugegeben und die Stärkehydrolyse durchgeführt. Anschließend wird der Fermenter mit Medium (P-1) und Wasser (S-107) aufgefüllt, der pH-Wert mit Salzsäure eingestellt (S-112) und die Lösung mit *A. niger* angeimpft (S-113). Die Nährlösung und das zugeführte Wasser werden vorher sterilisiert (P-2, P-3). Die bereits zur Stärkehydrolyse zugeführten Stoffe müssen nicht über Hitzesterilisatoren geführt werden, da das Heizprofil während der Stärkehydrolyse bereits einer Sterilisation entspricht. Während der Fermentation wird der Reaktor belüftet (S-114). Die Luft wird durch den Kompressor (P-4) bereitgestellt und durch den Luftfilter (P-5) sterilisiert. Eine Filterung der Abluft (S-117) wird nicht vorgenommen. Diese wäre nur notwendig, wenn der Pilz während der Fermentation Sporen bildet, was jedoch nicht zu erwarten ist. Nach Ende der Stoffumwandlung werden die pilzeigenen Proteasen durch Erhitzen inaktiviert. Die Fermenterbrühe, die Biomasse, Zitronensäure, Reste der Inputstoffe und verschiedene anorganische Salze enthält, wird zur Vakuumfiltration (P-7) geführt.

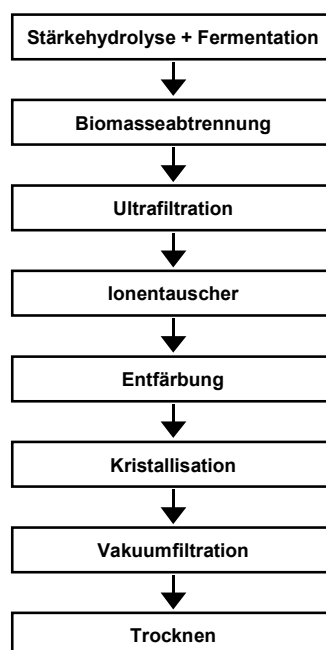


Abb. 5-2: Verfahrensschema der Zitronensäureherstellung nach Marending (1992).



Im Vakuumtrommelfilter wird die Biomasse weitgehend abgetrennt. Um den Produktverlust gering zu halten, wird die abgetrennte Biomasse gewaschen (S-119). In der anschließenden Ultrafiltration (P-8) werden die verbliebenen Reste der Biomasse, Proteine und Peptide zurückgehalten. Im Ionentauscher (P-9) werden die in der Produktlösung enthaltenen Kationen ( $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ) abgetrennt. Die Kationen werden beim Beladen an die stationäre Phase der Säule gebunden, während die übrigen Stoffe die Säule ungehindert passieren. Anschließend wird die Säule gewaschen (S-124) und die Kationen mit Salzsäure eluiert und die Säule regeneriert (S-125). Die Produktlösung (S-127) wird im nächsten Prozessschritt (P-10) mit Aktivkohle entfärbt und hydrophobe Fettverbindungen werden abgetrennt. Nach der Aktivkohlebehandlung liegt in der Simulation eine 10%ige Zitronensäurelösung vor (S-130), was mit Angaben von Marending (1992) übereinstimmt.

Im dargestellten Ionentauscher werden nur die Kationen zurückgehalten. Die mineralischen Anionen Sulfat, Chlorid und Phosphat fließen dagegen, ebenso wie das weitgehend dissoziierte Produkt, ungehindert durch die Säule. Sollte es für die Kristallisation notwendig sein die mineralischen Anionen abzutrennen, wäre dies über einen Anionentauscher mit genauer pH-Reglung möglich. Der  $pK_S$ -Wert von Salz-, Schwefel- und Phosphorsäure ist deutlich geringer als der  $pK_S$ -Wert von Zitronensäure ( $pK_1 = 3,13$ ). Die Produktlösung würde dann bei einem pH-Wert über den Ionentauscher geführt, bei dem die mineralischen Säuren noch weitgehend, die Zitronensäure aber so gut wie nicht mehr dissoziiert vorliegt. Dies würde jedoch zu Produktverlusten führen und eine aufwendige Prozesskontrolle (pH) erfordern.

Im Modell wird vor der Kristallisation eine äquimolare Menge Natriumhydroxid (S-144, (5N)NaOH) zugegeben, um ein Abdampfen von HCl zu verhindern. Das so gebildete Natriumchlorid wird mit dem Bleedstrom abgetrennt.

In der Kristallisationsstufe (P-12) wird ein Großteil des Wassers abgedampft. Anschließend wird die Lösung abgekühlt und die Zitronensäure kristallisiert (Vorgehen entspricht Angaben von Dorokhov et al., 1997). Der Wasserdampf wird kondensiert (P-13) und kann ggf. im Prozess wiederverwendet werden. Die Zitronensäurekristalle werden im Vakuumtrommelfilter (P-14) abgetrennt und gewaschen (S-136). Es wird angenommen, dass zum Erreichen einer höheren Ausbeute die Mutterlauge (S-137) zur Kristallisation zurückgeführt wird. Um eine Anreicherung unerwünschter Stoffe zu verhindern, wird in P-15 ein Bleedstrom abgetrennt (S-138). Dorokhov et al. (1997) gehen im Gegensatz dazu von einer Batchkristallisation aus. Für die Kristallisation wird eine Ausbeute von 98 % aus Marending (1992) übernommen. Angaben von Gluszczyk und Ledalowicz (1999) lassen dagegen eine niedrigere Ausbeute vermuten.

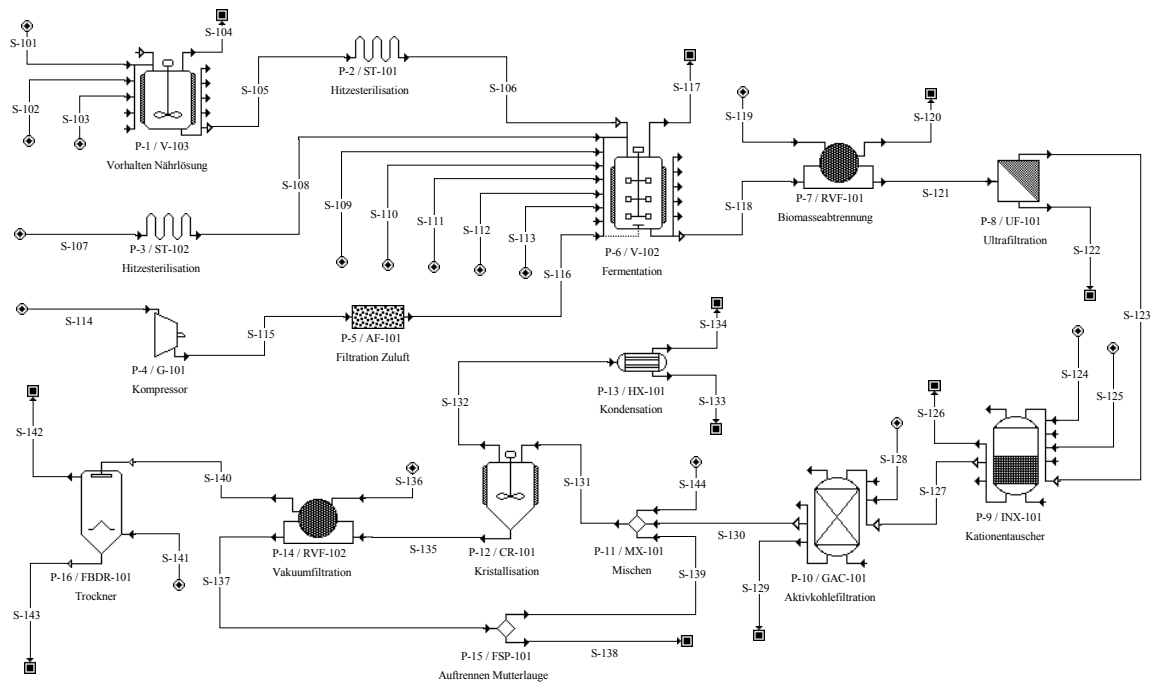


Abb. 5-3: Fließbild der Simulation der Zitronensäureherstellung.

Zur Modellierung von Kristallisation, Vakuumfiltration und Recyclingquote siehe Kap. 4.2.6 und 4.2.12. Bei einer Löslichkeit der Zitronensäure von 59,2 % (Budavari et al., 1989) müssen insgesamt 111 t Wasser verdampft werden. Dies entspricht 9,6 t/t Zitronensäure, was mit den Angaben von Marending (1992) übereinstimmt.

Um eine hohe Reinheit des Endprodukts sicherzustellen, sollten alle Verunreinigungen des Produktstroms (S-130) mit dem Bleedstrom (S-138) abgetrennt werden können. Dies ist nur möglich, wenn ihre Konzentrationen im Bleedstrom deutlich unter ihren Sättigungskonzentrationen liegen. In der Simulation sind Glucose, Phosphat, Sulfat, Fette, Natrium und Chlorid als Verunreinigungen enthalten. Das Phosphat wird im Fermenter vollständig verbraucht. Der in der Simulation verbleibende Rest beruht auf einem Rundungsfehler der Software. Im Modell wurde die Schwefelaufnahme in der Fermentation nicht berücksichtigt, wodurch das Sulfat der Salzlösung den Fermenter unverändert verlässt. Doran (1995) gibt für *E. coli* einen durchschnittlichen Schwefelgehalt von 1 % an. Selbst wenn der Schwefelgehalt des *A. niger*-Stamms deutlich geringer wäre, würde das vorhandene Sulfat, auch wenn man den Schwefelgehalt des Proteins mitberücksichtigt, vollständig in die Biomasse eingebaut und würde folglich in der Aufreinigung keine Rolle spielen.

Damit bleibt das Chlorid im dissoziierten Natriumchlorid das einzige Anion, das in einer realen Anlage tatsächlich zu erwarten ist. Die Konzentration im Bleedstrom beträgt 0,92 mol/l H<sub>2</sub>O und liegt damit weit unter der Sättigungsgrenze. Um die Zugabe von

Natriumhydroxid vor der Kristallisation zu vermeiden, könnte zur pH-Regulierung im Fermenter statt Salzsäure Phosphorsäure verwendet werden. Damit könnte man auch den Bedarf an Kaliumhydrogenphosphat reduzieren und die Bedingungen im Ionentauscher durch Abwesenheit der starken Salzsäure verbessern. Die im Bleedstrom enthaltenen Glucose und Fette bleiben ebenfalls weit unter ihren Sättigungsgrenzen.

Das in der Vakuumfiltration (P-14) abgetrennte Zitronensäure-Monohydrat wird im Fließbettrockner (P-16) mit Luft (S-141) getrocknet. Bei einem Einsatz von 14,2 t Stärke im 105 m<sup>3</sup>-Fermenter erhält man 11,5 t Zitronensäure-Monohydrat (S-143) mit einer Reinheit von > 99 %. Der Wasseranteil im Monohydrat beträgt 8,6 %. Die Menge Endprodukt entspricht 10,6 t reiner Zitronensäure.

Die Modelle der verwendeten Grundoperationen sind in Kap. 4.2. und Anhang B2 erläutert.

## 5.4. Unsicherheiten

Die Fermentation und die damit verbundenen Grundoperationen wurden aus der Arbeit von Marending (1992) und weiteren Literaturquellen (siehe Anhang C1) entnommen und sind gut abgesichert. Die Aufreinigung beruht dagegen fast ausschließlich auf Literaturdaten und ist daher grundsätzlich unsicherer. Die einzelnen Aufreinigungsschritte weichen dabei hinsichtlich der Sicherheit der vorgenommenen Abschätzungen deutlich voneinander ab. Die Abschätzung von Biomasseabtrennung (Vakuumfiltration, Ultrafiltration), Kationentauscher, Aktivkohlebehandlung, Kondensation und Fließbettrockner kann als relativ gut gesichert angesehen werden, da Prozessparameter, Produktverlust und notwendige Inputstoffe gut aus Literaturdaten abgeleitet werden können und keine große Schwankungen zu erwarten sind (siehe Anhang B2, C1). Die größte Unsicherheit besteht bei der Kristallisation. Im Modell werden die Stoffflüsse bei der Kristallisation ausschließlich aus den Löslichkeiten des Produktes und der Verunreinigungen abgeschätzt. Die tatsächlich stattfindenden Vorgänge werden jedoch nicht nur von den Löslichkeiten bestimmt. Sie können nur durch Laborexperimente näher spezifiziert werden. Die Modellierung der Kristallisation ohne Laborexperimente stellt somit nur eine grobe Abschätzung dar.

Grundsätzlich sei noch angemerkt, dass das Modell auf Informationen aus frühen Entwicklungsphasen aufbaut und folglich eine inhärente Unsicherheit bei der Darstellung des (späteren) Produktionsprozesses besteht. Weiterhin ist jedes Modell nur ein Abbild der realen Bedingungen. Es beruht teilweise auf Annahmen und Vereinfachungen. Damit weicht jedes Modell zu einem gewissen Grad von der Realität ab.

## 5.5. Sachbilanz und Energiebedarf

Die Sachbilanz bezieht sich auf das in Kap. 5.3. dargestellte Modell mit einem Fermenter von 105 m<sup>3</sup>-Arbeitsvolumen und der Produktion von 11,5 t Zitronensäure-Monohydrat. Die ermittelte Prozessdauer beträgt 175 h, wobei die Rohstoffvorbereitung 2,5 h, der Fermenter 158 h und die Produktaufreinigung 21 h in Anspruch nimmt. Bottleneck ist der Fermenter. Durch den Einsatz mehrerer Fermenter kann die jährliche Produktionsmenge deutlich gesteigert und die Auslastung der Aufreinigung deutlich verbessert werden.

Die Ausbeute des Verfahrens beträgt 75 % (kg Zitronensäure/kg eingesetzte Stärke) bzw. 64 % (C-Mol/C-Mol Glucose). Die Fermentation hat dabei eine Ausbeute von 77 % (bzw. 66 %). Die Ausbeute der Aufreinigung beträgt 97 %. In der Ultrafiltration geht 1 % Produkt, in der Kristallisation 2 % Produkt verloren. Mögliche Produktverluste im Aktivkohlefilter, Ionentauscher und Vakuumtrommelfilter wurden nicht berücksichtigt. Hier wird von idealen Bedingungen ausgegangen. Real kann die Ausbeute daher etwas geringer ausfallen.

Die Stoffbilanz des Verfahrens ist in Tab. 5-1 dargestellt. Die Inputstoffe sind typisch für ein fermentatives Verfahren. Zunächst wird ein große Menge an Wasser benötigt. Weiterhin spielen die Stärke als C-Quelle, der Sauerstoff für die Atmung der Mikroorganismen und in weitaus geringerem Maße die Stickstoffquelle eine Rolle. Alle übrigen Stoffe sind hinsichtlich ihres Massenanteils vernachlässigbar. Insgesamt werden 156 t Rohstoffe benötigt, was einem spezifischen Bedarf von 13,5 kg/kg Endprodukt (= kg/kg P) entspricht. Ohne Wasser beträgt der Bedarf 20 t bzw. 1,7 kg/kg P.

Neben Wasser und Endprodukt haben auf der Outputseite die gebildete Biomasse, das Kohlendioxid aus der Atmung der Mikroorganismen und die Produktverluste der Aufreinigung (Loss) den größten Anteil. Daneben fällt noch eine Reihe anorganischer Salze in geringen Mengen an. Recyclingmöglichkeiten innerhalb des Prozesses bestehen kaum. Das in der Kristallisation abgedampfte und anschließend wieder kondensierte Wasser (S-133) kann ggf. nochmals im Prozess verwendet werden.

Im Verfahren fallen feste Abfälle, Abwasser und Emissionen an. Die abgetrennte Biomasse (1,8 t, mit Wasseranteil 3 t) ist der einzige feste Abfall. Sie fällt im Vakuumtrommelfilter P-7 an. Sie muss entsorgt werden, kann ggf. auch der Kläranlage zugegeben werden. Die Emissionen umfassen die Abluft von Fermenter und Trockner und enthalten außer Luft nur Kohlendioxid (4,6 t) und Wasserdampf (7,4 t). Den größten Abfallanteil hat das Abwasser (117,5 t, 10 kg/kg P). Es fällt in der Ultrafiltration, dem Ionentauscher, der Aktivkohlebehandlung und in der Kristallisation (Kondensation, Bleedstrom) an. Es enthält

jedoch nur 0,6 t gelöste Feststoffe. Dabei handelt es sich vor allem um organische Verbindungen und anorganische Salze. Die Kläranlage wird mit einem CSB von 740 kg O<sub>2</sub> belastet (65 g O<sub>2</sub>/kg P). Bezieht man die abgetrennte Biomasse mit ein, beträgt die Belastung 3.980 kg O<sub>2</sub> (345 g O<sub>2</sub>/kg P). Unter Berücksichtigung der Prozessdauer kann die Belastung in Einwohnergleichwerte (EGW, 1 EGW = 120 g O<sub>2</sub>/d) umgerechnet werden. Sie beträgt 850 EGW ohne abgetrennte Biomasse und 4.550 EGW (0,4 EGW/kg P) mit Biomasse.

Als Energieüberträger dienen Heißdampf, Kaltwasser, Elektrizität und Kühlwasser. Es wird angenommen, dass zur Bereitstellung des Kühlwassers keine Energie benötigt wird. Es wird daher separat betrachtet. Die Berechnungen beruhen auf den in Kap. 4 gemachten Angaben. Der Energiebedarf beträgt insgesamt 1.060 GJ bzw. 92 MJ/kg P. Der Strombedarf hat dabei den höchsten Anteil (55 %). Der Anteil des Heißdampfs beträgt 35 %, von Kaltwasser 10 %. Zusätzlich müssen 630 GJ Wärme bzw. 55 MJ/kg P über das Kühlwasser abgeführt werden. Der spezifische Bedarf der Wärmeüberträger beträgt 2,6 m<sup>3</sup>/kg P Kühlwasser, 0,4 m<sup>3</sup>/kg P Kaltwasser und 15 kg/kg P Heißdampf.

Tab. 5-1: Stoffbilanz der Zitronensäureproduktion (berechnet für 105 m<sup>3</sup>-Fermenter und 11,5 t Endprodukt).

[kg/kg P] = kg Stoff pro kg Endprodukt (=Zitronensäure-Monohydrat); Loss = Produktverlust.

Stoff	Input [kg/kg P]	Output [kg/kg P]
α-Amylase	< 0,01	< 0,01
Ammoniumnitrat	0,02	-
Biomasse	< 0,01	0,16
Kohlendioxid	-	0,40
Chlorid	-	< 0,01
Zitronensäure-Monohydrat (Produkt)	-	1,00
Zitronensäure-Monohydrat (Loss)	-	0,03
Fette	-	0,01
Glucose	-	< 0,01
HCl	< 0,01	-
NaOH	< 0,01	-
Natrium (gelöst)	-	< 0,01
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	< 0,01	-
Magnesiumsulfat	< 0,01	-
Magnesium (gelöst)	-	< 0,01
Sauerstoff	0,49	-
Kalium (gelöst)	-	< 0,01
Stärke	1,23	-
Sulfat	-	< 0,01
Wasser	11,78	11,92
<b>Summe (Mass Index) mit Wasser</b>	<b>13,5</b>	<b>13,5</b>
<b>Summe (Mass Index) ohne Wasser</b>	<b>1,7</b>	<b>1,6</b>

Bei den verschiedenen Energieverbrauchsvorgängen dominieren deutlich das Komprimieren von Luft (Begasen des Fermenters) und die Heizvorgänge. Daneben spielt der Energiebedarf zum Kühlen, Rühren und Trocknen eine gewisse Rolle, während der Bedarf zum Filtrieren vernachlässigbar ist. Abb. 5-4 zeigt die Allokation des Energiebedarfs auf die einzelnen Prozessschritte. Der Kompressor (P-4) zum Begasen des Fermenters hat den größten Energiebedarf (Elektrizität), gefolgt von der Kristallisationsstufe (Heizen, Verdampfen, Rühren) und dem Fermenter (Heizen, Kühlen, Rühren). Einen kleineren Anteil am Gesamtverbrauch hat auch der Trockner, während der Energiebedarf aller übrigen Prozessschritte vernachlässigbar ist. Beim Kühlwasserverbrauch dominieren der Kondensator (P-13) und die Kühlung des Kompressor (P-4).

Die meiste Energie benötigen das Begasen des Fermenters und das Verdampfen in der Kristallisationsstufe. Sie machen zusammen  $\frac{3}{4}$  des Gesamtenergieverbrauchs aus. Der Bedarf des Kompressors wird direkt durch das Volumen und die Belüftungsrate des Fermenters und die Fermentationsdauer bestimmt. Je höher die Belüftungsrate, je größer das Volumen und je länger die Fermentationsdauer, desto höher der Energiebedarf. Die zu verdampfende Menge in der Kristallisation P-12 wird durch die Konzentration der Zitronensäure nach der Aktivkohlebehandlung (S-130) bestimmt. Je höher die Produktkonzentration, desto geringer der spezifische Energiebedarf.

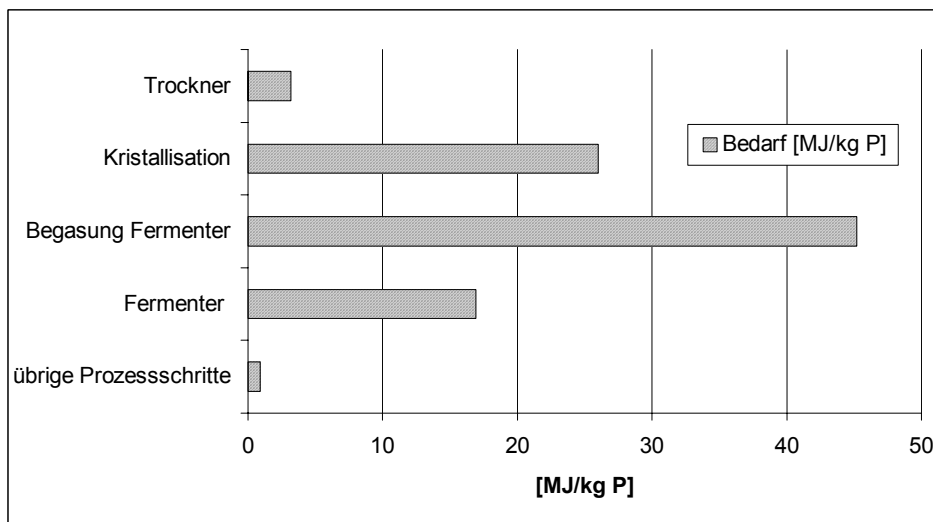


Abb. 5-4: Spezifischer Energiebedarf der einzelnen Prozessschritte im Modell der Zitronensäureherstellung (Arbeitsvolumen Fermenter: 105 m<sup>3</sup>; 11,5 t Endprodukt).

## 5.6. Ökologische Bewertung

Die Sachbilanzergebnisse wurden mit der in Kapitel 3 beschriebenen Methode bewertet. Die Ergebnisse sind in Tab. 5-2 zusammengefasst. Auf der Inputseite haben drei Stoffe Klasse A-Einteilungen: Ammoniumnitrat, HCl und Natriumhydroxid. Das Ammoniumnitrat dient als N-Quelle der Fermentation. Es ist in der Wirkungskategorie „Thermal Risk“ in Klasse A eingeteilt, da es bei Mischung mit brennbaren Stoffen explosionsgefährlich ist (R-Satz 9). Das eingesetzte HCl (als konzentrierte Salzsäure) dient zur pH-Regulierung im Fermenter und zur Regeneration der Ionentauschersäule. Es wird aufgrund seiner hohen akuten Toxizität der Klasse A zugeordnet (Schweizer Giftklasse, IDLH-Grenzwert). Das Natriumhydroxid (als konzentrierte Natronlauge) ist ebenfalls aufgrund seiner hohen akuten Toxizität der Klasse A zugeordnet (Schweizer Giftklasse, IDLH-Grenzwert, NFPA-Klassifizierung). Es wird in sehr geringer Menge vor der Kristallisation zur Bildung von Natriumchlorid verwendet. Bei allen drei Stoffen kann durch entsprechendes Handling das Risiko im Prozess minimiert werden. Auf der Outputseite besitzt nur Phosphat, aufgrund seiner Bedeutung für die Eutrophierung, eine Klasse A-Einteilung. Die Phosphatmenge ist jedoch so gering, dass dieser Effekt vernachlässigbar ist.

Die Environmental Indices (EI) bewerten die Umweltrelevanz des Verfahrens. Bei der multiplikativen Ermittlung der Wichtungsfaktoren ( $EF_{Mult}$ ) und dem daraus abgeleiteten  $EI_{Mult}$  wird der Klasse C der Wert 1 zugeordnet. Das heißt, der minimal erreichbare  $EI_{Mult}$  ist  $EI_{Mult} = MI$ . Die  $EI_{Mult}$  von Input- und Outputseite sind praktisch identisch und liegen nur geringfügig über dem Mass Index, was auf eine geringe Umweltrelevanz der beteiligten Stoffe hindeutet.

Tab. 5-2: Kennzahlen der ökologischen Bewertung der Zitronensäureherstellung.

Bewertungskriterium	Input		Output	
	mit Wasser	ohne Wasser	mit Wasser	ohne Wasser
Mass Index MI [kg/kg P]	13,5	1,7	13,5	1,6
Anzahl A-Stoffe	3		1	
Environmental Index $EI_{Mw}$ [Indexpunkte/kg P]	0,01		0,05	
Environmental Index $EI_{Mult}$ [Indexpunkte/kg P]	13,7	1,9	13,7	1,8
General Effect Index $GEI_{Mw}$ (0-1)	0,0007	0,006	0,003	0,029
General Effect Index $GEI_{Mult}$	1,01	1,09	1,01	1,12

Bei den mittelwertbasierten Wichtungsfaktoren ( $EF_{Mw}$ ) gilt  $C = 0$  und  $A = 1$ . Das bedeutet, der maximal erreichbare  $EI_{Mw}$  ist  $EI_{Mw} = MI$  und der minimale Wert  $EI_{Mw} = 0$ . Der  $EI_{Mw}$  ist auf Input- und Outputseite sehr klein, also auch hier ergibt sich eine geringe Umweltrelevanz. Weiterhin zeigt sich, dass, auf niedrigem Niveau, die Belastungseffekte der Outputstoffe die Belastungseffekte der Inputstoffe überwiegen.

Die General Effect Indices (GEI) bewerten die Umweltrelevanz aller Verfahren innerhalb einer definierten Wertespanne. Alle GEIs zeigen ein geringes Belastungspotential (s. Tab. 5-2). Die  $GEI_{Mw}$  zeigen wiederum die größere Bedeutung der Outputstoffe.

Um die Bedeutung der einzelnen Stoffe aufzuzeigen, sind in Abb. 5-5 MI,  $EI_{Mw}$  und  $EI_{Mult}$  zum Vergleich auf 1 normiert. Der Mass Index wurde bereits in Kap. 5.5 erläutert. Beim  $EI_{Mw}$  fallen alle C-Stoffe aus der Bewertung heraus ( $C = 0$ ), auf der Inputseite z. B. Sauerstoff und Stärke. Dadurch werden Stoffe betont, die mindestens eine Klasse B-Einteilung haben. Auf der Inputseite dominieren die Nährsalze und die Säure, also genau die beiden bereits oben diskutierten Klasse A-Stoffe Ammoniumnitrat und HCl (und in geringerem Maße auch Natriumhydroxid). Auf der Outputseite sind vor allem das Kohlendioxid (Klimarelevanz) und in geringerem Maße die gebildete Biomasse und die organischen Verbindungen (Glucose, Fette, Produktverlust) relevant.

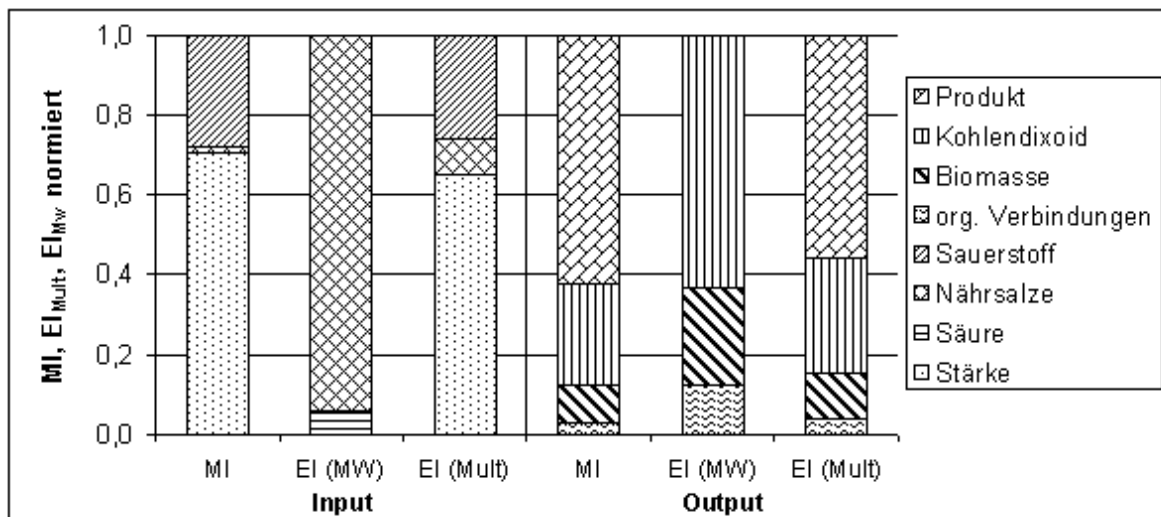


Abb. 5-5: Normierte Mass Indices und Environmental Indices ( $EI_{Mw}$ ,  $EI_{Mult}$ ) für Input- und Outputstoffe (ohne Wasser). Die Werte sind auf 1 normiert. Die ökologische Bedeutung des Endprodukts wird nicht berücksichtigt. Das Endprodukt wird in allen Wirkungskategorien der Klasse C zugeordnet.



Der  $EI_{Mult}$  betont Klasse A-Stoffe. Klasse C-Stoffe gehen ebenfalls in die Bewertung ein ( $C = 1$ ), wodurch B-Stoffe relativ schwach gewichtet sind. Da die Sachbilanz nur wenige A-Stoffe in geringen Massenanteilen enthält, ändert sich der  $EI_{Mult}$  im Vergleich zum Mass Index kaum. Lediglich die größere Bedeutung der Nährsalze wird deutlich (s. Abb. 5-5). Die Bedeutung der Säure wird dagegen durch die in der Bewertung verbleibenden C-Stoffe, im Gegensatz zum  $EF_{Mw}$ , völlig zugedeckt.

Die Impact Category Indices (ICI) und Impact Group Indices (IGI) vergleichen die Bedeutung der verschiedenen Wirkungskategorien (IC) bzw. Wirkungsklassen (IG) für die Umweltrelevanz des Verfahrens. Ebenso wie die Environmental Indices (EI) zeigen die mittelwertbasierten  $ICI_{Mw}$  und  $IGI_{Mw}$  deutliche Abstufungen, während die multiplikativen  $ICI_{Mult}$  und  $IGI_{Mult}$  kaum Unterschiede in der Gewichtung zeigen. Auf der Inputseite hat die Wirkungsklasse „Component Risk“ (IG „Risk“) den größten Anteil (50 %), bedingt vor allem durch das Ammoniumnitrat. Die Anteile der übrigen Wirkungsklassen (Resources, Grey Inputs, Organisms) sind in etwa gleich. Bei den Output-Klassen dominiert die IG „Air“ (Umweltkompartiment Luft) mit 65 %. Diese Dominanz beruht auf der Klimarelevanz des Kohlendioxids (IC „Global Warming Potential“). Eine wichtige Rolle spielt weiterhin die IG „Water/Soil“ mit 30 %, die durch die Bedeutung der Biomasse und der organischen Verbindungen für die Eutrophierung und Gewässerbelastung bedingt wird (IC „Eutrophication“, IC „Organic Carbon Pollution Potential“). Sicherheitsaspekte (IG „Component Risk“) und Toxizität (IG „Organisms“) sind dagegen bedeutungslos.

## 5.7. Fazit

Mit den in frühen Entwicklungsphasen vorhandenen Daten konnte der erwartete Produktionsprozess für Zitronensäure modelliert und simuliert werden. Die bestehenden Unsicherheiten bei der Modellierung sind dabei zwischen den einzelnen Prozessschritten sehr unterschiedlich, wobei das Modell der Kristallisationsstufe die größten Unsicherheiten aufweist. Aus der Simulation wurde die Sachbilanz des Verfahrens ermittelt. Sie bildet die Grundlage für die weitere Bewertung.

Lässt man die große Wassermenge außer Acht, hat der Prozess eine relativ geringe Materialintensität. Die verschiedenen Indizes zur ökologischen Bewertung lassen weiterhin ein geringes Umweltbelastungspotential des Verfahrens vermuten. Auf der Inputseite sind aus Umweltsicht vor allem das Ammoniumnitrat (Sicherheitsrisiken) und die Salzsäure (Toxizität) relevant. Durch entsprechende Maßnahmen im Prozess kann dieses Risiko jedoch

minimiert werden. Auf der Outputseite spielen vor allem das freigesetzte Kohlendioxid (Klimarelevanz), die gebildete Biomasse und verschiedene organische Verbindungen eine Rolle. Die Ausbeute des Verfahrens beträgt 64 % (bezogen auf C-Mol). Eine Reduzierung des spezifischen Anfalls an CO<sub>2</sub>, Biomasse und organischen Verbindungen ist letztlich nur durch eine Erhöhung der Ausbeute erreichbar, was durch verbesserte Fermentationsverfahren mit einer geringeren Biomassebildung und einer höheren Endkonzentration des Produktes möglich ist.

Für die Ermittlung der ökologischen Indizes haben die verschiedenen Wirkungsklassen unterschiedliche Bedeutung. Die Umweltrelevanz des Verfahrens wird auf der Inputseite vor allem durch Sicherheitsaspekte bedingt (Ammoniumnitrat), während die übrigen Klassen in etwa gleichbedeutend sind. Auf der Outputseite dominieren die Wirkungen auf das Umweltkompartiment Luft (CO<sub>2</sub>) und in geringerem Maße auf das Umweltkompartiment Wasser/Boden (Biomasse, organische Verbindungen). Sicherheitsaspekte und Toxizität spielen dagegen keine Rolle.

Eine große Bedeutung für die Umweltbelastung des Verfahrens hat der relativ hohe Energieverbrauch. Die größten Energieverbräuche haben der Kompressor zum Belüften des Fermenters und der Verdampfungsschritt in der Kristallisation. Durch eine Verkürzung der Fermentationsdauer, eine Erhöhung der Biomasse- und Produktkonzentration (Raum-Zeit-Ausbeute) oder durch eine Verringerung der Belüftungsrate kann der Energieverbrauch des Kompressors reduziert werden. Der spezifische Energiebedarf der Kristallisation wird durch die Produktkonzentration im Zustrom bestimmt. Der Bedarf kann gesenkt werden, indem man entweder bereits im Fermenter eine höhere Produktkonzentration erreicht oder die Produktlösung vor der Kristallisation mit geringerem Energieaufwand aufkonzentrieren kann.

## VI. FALLBEISPIEL $\alpha$ -CYCLODEXTRIN

---

### 6.1. Einleitung

Die enzymatische Herstellung von  $\alpha$ -Cyclodextrin ( $\alpha$ -CD) wird bereits seit langem industriell angewendet. Innerhalb des DBU-Verbunds „Biokatalyse“ werden im Projekt „Hochwertige Kohlenhydrate“ neue Enzyme mit veränderten Eigenschaften zur  $\alpha$ -Cyclodextrinherstellung entwickelt. Um die Auswirkungen dieser neuen Enzyme auf den Prozess und die durch ihn verursachten Umweltbelastungen abschätzen zu können, wurde in der vorliegenden Arbeit der derzeitige Produktionsprozess auf Literaturdaten basierend modelliert und bewertet. Ausgehend von diesem Modell werden mögliche Veränderungen des Verfahrensschemas und von einzelnen Prozessparametern untersucht und diskutiert.

Cyclodextrine (CD) sind zyklische Oligosaccharide bestehend aus Glucoseresten, die über  $\alpha$ -1,4-glykosidische Bindungen verbunden sind. Nach der Anzahl von Glucoseresten pro Molekül unterscheidet man drei verschiedene Cyclodextrintypen:  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -CD mit 6, 7 bzw. 8 Glucoseresten pro Molekül. Ausführliche Angaben zu den physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften der verschiedenen CD-Typen finden sich bei Szejtli (1996). Alle drei Typen werden heute industriell hergestellt. Die weltweite Produktion betrug 1998 etwa 6.000 t bei einer jährlichen Steigerung von 15-20 % (McCoy, 1999). Der größte Teil der Produktion entfällt auf das vergleichsweise preisgünstig zu produzierende  $\beta$ -CD (Preis: 3-4 \$/kg). Der Preis von  $\alpha$ -CD beträgt dagegen etwa 20-25 \$/kg (Biwer et al., 2002). Sollte sich der Preis von  $\alpha$ -CD durch verbesserte Produktionsverfahren reduzieren, wird mit einer deutlichen Zunahme des  $\alpha$ -CD-Anteils am Gesamtverbrauch gerechnet (McCoy, 1999).

Cyclodextrine haben einen zylinderförmigen Aufbau mit einer hydrophoben Innen- und einer hydrophilen Außenseite. Dadurch können sie Einschlusskörper (sog. „inclusion bodies“) mit vielen hydrophoben Verbindungen bilden und so deren physikalische und chemische Eigenschaften verändern. Diese und weitere Eigenschaften ermöglichen die Verwendung von CD in der Lebensmittel-, Chemie-, Pharma- und Textilindustrie. Ein umfassender Überblick über bestehende und potentielle Anwendungsmöglichkeiten wird von Atwoods et al. (1996) und Biwer et al. (2002) gegeben.

## 6.2. Stoffumwandlung

Zur Herstellung von  $\alpha$ -Cyclodextrin wird Stärke als Rohstoff verwendet. Die stattfindenden Stoffumwandlungen sind in Abb. 6-1 dargestellt. Zunächst wird die Stärke mit Hilfe von  $\alpha$ -Amylase zu Dextrin mit durchschnittlich 5 Glucoseresten abgebaut. Dabei werden Fette und Proteine als Verunreinigungen der Stärke freigesetzt. Der Prozessablauf der Stärkehydrolyse und die stattfindenden Reaktionen werden in Kap. 4.3 und den entsprechenden Anhängen B3 und B4 erläutert.

Nach der Stärkehydrolyse erfolgt die eigentliche Cyclodextrinbildung. Es handelt sich hierbei ebenfalls um eine enzymatische Reaktion, die durch die Cyclodextringlycosyltransferase (1,4- $\alpha$ -D-glucan 4- $\alpha$ -D-(1,4- $\alpha$ -D-glucano)-transferase, EC 2.4.1.19, CGTase) katalysiert wird. Neben den drei Cyclodextrintypen werden auch Glucose und Maltose als Nebenprodukte gebildet.

Die CGTase katalysiert verschiedene Transglycosilierungsreaktionen (Kobayashi, 1996): Die so genannten Coupling- und Disproportionierungsreaktionen setzen an den  $\alpha$ (1-4)-Positionen der Oligosaccharide an und verändern die Kettenlänge nichtzyklischer Dextrine. Anschließend folgt die intramolekulare Zyklisierung, bei der aus einem linearen Dextrin ein zyklisches Dextrin gebildet wird. Daneben sind CGTasen auch in der Lage, hydrolytische Reaktionen zu katalysieren, d. h. ähnlich wie eine  $\alpha$ -Amylase zu wirken.

CGTasen werden von einer Reihe von Bakterienarten produziert (siehe Biwer et al., 2002). Je nach Herkunftsorganismus variieren die Eigenschaften der CGTase und die gebildeten Mengenanteile der Cyclodextrintypen. Die Eigenschaften einer CGTase werden heute häufig durch gentechnische Methoden verändert. Neben den Eigenschaften der CGTase werden Art und Menge des gebildeten Cyclodextrins durch das Substrat, den Komplexbildner (s. u.) und die Reaktionsbedingungen bestimmt (Blackwood und Bucke, 2000). Dabei ist es das Ziel, vornehmlich einen CD-Typ zu bilden, da die Auftrennung der CD-Typen aufwendig ist und für eine Anwendung in der Regel nur ein CD-Typ und nicht ein Gemisch der drei CD-Typen benötigt wird.

Man unterscheidet bei der Cyclodextrinherstellung grundsätzlich Solventverfahren und Non-Solventverfahren (Hedges, 1992). Bei den Solventverfahren lenkt ein organischer Komplexbildner die Enzymreaktion. Der Komplexbildner und der gewünschte Cyclodextrintyp (hier  $\alpha$ -CD) bilden einen Komplex und fallen aus. Dadurch wird in der Gleichgewichtsreaktion kontinuierlich  $\alpha$ -CD abgezogen (s. Abb. 6-1). Im Non-Solventverfahren wird kein organischer Komplexbildner eingesetzt. Das Verhältnis der

verschiedenen CD-Typen wird allein durch die eingesetzte CGTase und die Reaktionsbedingungen bestimmt.

Industriell wird vor allem das Solventverfahren eingesetzt (Schmid, 1996). Daher wurde zunächst das Modell eines Solventverfahrens erstellt. Als Komplexbildner dienen dabei meist organische Lösungsmittel, die im Idealfall nur mit einem CD-Typ komplexieren. Eine gute Übersicht über die verwendeten Komplexbildner wird von Rendleman (1997) gegeben. Für das erstellte Modell werden Angaben von Schmid (1996) für einen industriellen Prozess übernommen, der die CGTase von *Klebsiella oxytoca* und Decanol als Komplexbildner verwendet. Die Abschätzung der Reaktionsgleichungen wird in Anhang D2 erläutert.

In der Regel hemmt die Anreicherung von  $\alpha$ -CD im Reaktor die Bildung von weiterem  $\alpha$ -CD und verstärkt die Produktion der übrigen CD-Typen (Bender, 1986). Daher werden im Non-Solventverfahren in der Regel Mischungen der drei CD-Typen produziert. Ein Ziel des bewerteten Partnerprojektes im DBU-Verbund ist jedoch, eine hohe Selektivität ohne den Einsatz eines Komplexbildners (oder anderer Maßnahmen zum Reduzieren der  $\alpha$ -CD-Konzentration) zu erreichen, also auch bei hohen  $\alpha$ -CD-Konzentrationen noch eine weitgehend selektive Bildung von  $\alpha$ -CD zu ermöglichen. Basierend auf dem Modell des Solventverfahrens wird in einem zweiten Modell ein solches Non-Solventfahren dargestellt. Die in Anhang D2 abgeleiteten Reaktionsgleichungen werden dabei unverändert übernommen. Nur die Komplexbildung von  $\alpha$ -CD und Decanol entfällt. Für die  $\alpha$ -CD-Bildung wird damit also zunächst, auch ohne den Einsatz eines Komplexbildners, die gleiche Ausbeute und Selektivität angenommen.

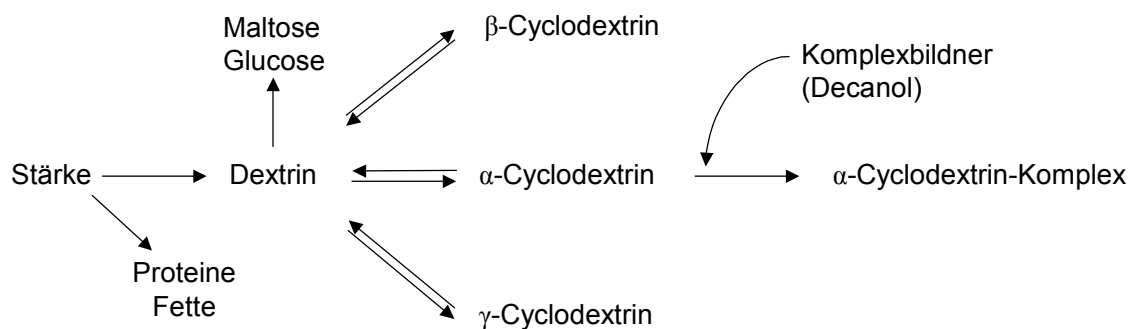


Abb. 6-1: Reaktionsschema der Cyclodextrinherstellung (Biwer et al., 2002). Im Nonsolvent-Verfahren entfällt der Komplexbildner.

### 6.3. Verfahrensaufbau und Simulation

Der grundsätzliche Verfahrensaufbau des Solventverfahrens und des untersuchten Non-Solventverfahrens sind in Abb. 6-2 dargestellt. Informationen zum Verfahrensaufbau des Solventverfahrens wurde vor allem aus Schmid (1996), Ammeraal (1988) und Hedges (1992) entnommen. Der Verfahrensaufbau des betrachteten Non-Solventverfahrens stammt aus Okabe et al. (1993), Mäkelä et al. (1989) und Tsuchiyama et al. (1991). Eine Übersicht bestehender Verfahrensvarianten wird in Biwer et al. (2002) gegeben.

Aus dem Verfahrensaufbau und weiteren verfügbaren Prozessdaten wurde ein Modell des Solventverfahrens erstellt und in eine Simulation überführt. Basierend auf diesem Modell wurde das Modell des betrachteten Non-Solventverfahrens entwickelt. Die Verfahrensfliessbilder der Simulationen sind in Abb. 6-3 dargestellt. Die Simulationsmodelle sind auf der beigefügten CD-ROM hinterlegt.

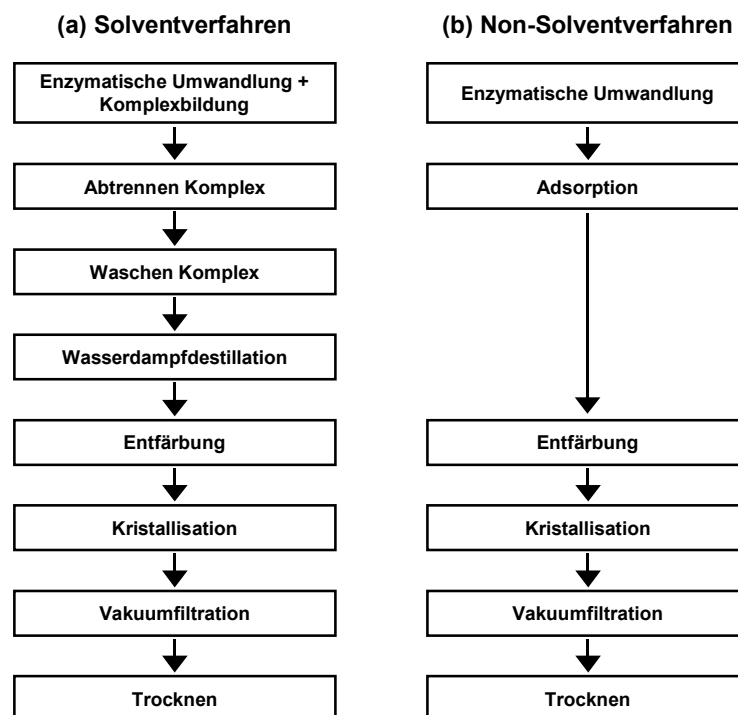


Abb. 6-2: Verfahrensschema von Solvent- und Non-Solventverfahren.

#### 6.3.1. Solvent-Verfahren

Die enzymatischen Reaktionen finden im Reaktor P-1 statt (s. Abb. 6-3a). Der Reaktor wird mit Wasser, Stärke und  $\alpha$ -Amylase befüllt (S-101 bis S-103) und die Stärkehydrolyse, wie in Anhang B3 und B4 beschrieben, durchgeführt. Anschließend wird die  $\alpha$ -Amylase durch

Erhitzen inaktiviert, da sie die nachfolgende Cyclodextrinbildung stört (Seres et al., 1989; Bender, 1986). Nach der Inaktivierung wird dem Reaktor Decanol (Komplexbildner, S-104) zugeführt und die Reaktorlösung auf die Reaktionstemperatur abgekühlt. Nach Erreichen der

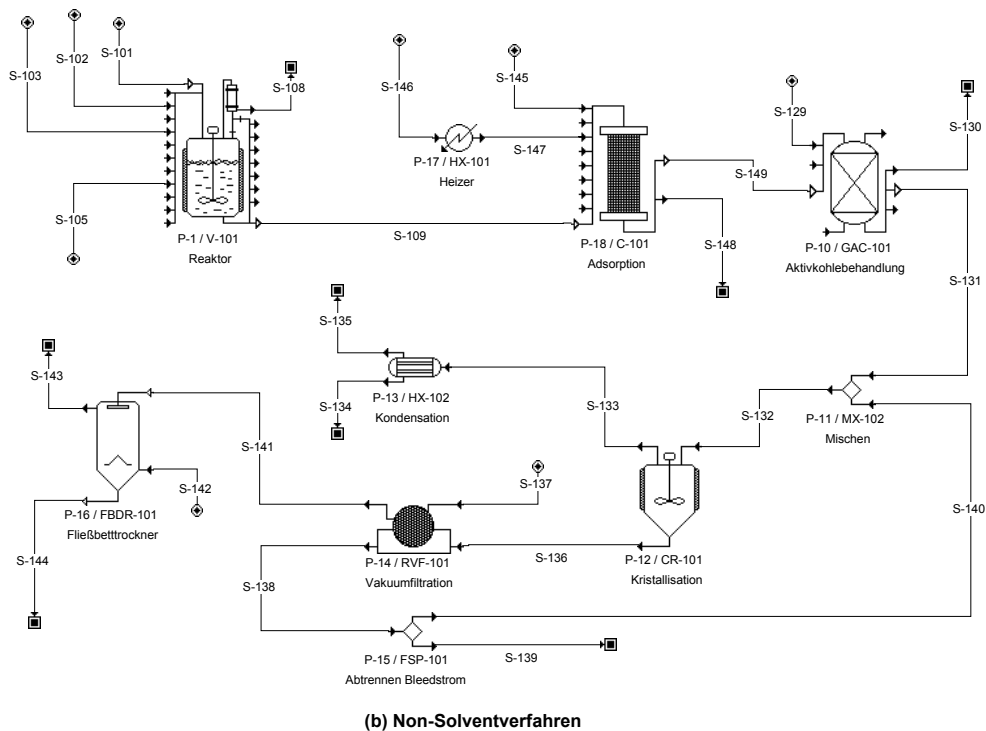
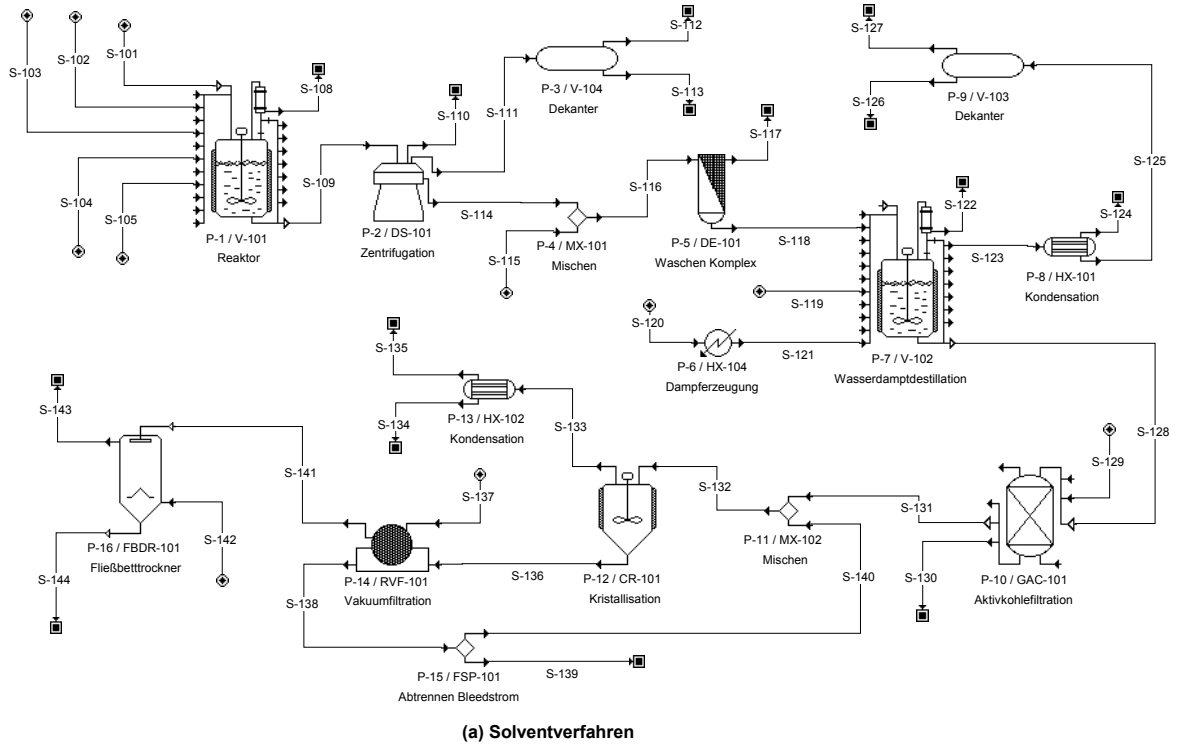


Abb. 6-3: Fließbilder zur  $\alpha$ -Cyclodextrinherstellung (SuperPro Designer, v 4.9): (a) Modell Solventverfahren, (b) Modell Non-Solventverfahren.

vorgesehenen Temperatur wird die CGTase zugegeben (S-105) und die enzymatische Cyclodextrinbildung erfolgt über einen Zeitraum von 6 h. Das entstehende  $\alpha$ -CD bildet einen Komplex mit dem Decanol und fällt aus. Eine geringe Menge an  $\beta$ -CD wird ebenfalls mit Decanol gefällt. Nach Ende der enzymatischen Umwandlung wird der Reaktor geleert (S-109) und anschließend gereinigt. Der Strom S-109 enthält den suspendierten Komplex von  $\alpha$ -CD und  $\beta$ -CD mit Decanol, daneben  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -CD in gelöster Form, Glucose, Maltose und Dextrin als Nebenprodukte, unverbrauchte Reste an Decanol und Stärke sowie Proteine und Fette als Verunreinigungen der Stärke. Die Prozessparameter des Reaktors und die Reaktionsgleichungen sind in den Anhängen D1 und D2 erläutert. Es wird dabei von einem Arbeitsvolumen des Reaktors von etwa  $10 \text{ m}^3$  ausgegangen.

In der Zentrifuge P-2 wird der Produktkomplex abgetrennt. Die verbleibende Reaktionslösung (S-111) wird zum Dekanter P-3 geführt, wo ein Großteil des Decanols abgetrennt wird. Das Decanol kann im Prozess wiederverwendet werden. Die wässrige Phase wird entweder zu Abwasser oder kann ggf. als C-Quelle in biotechnologischen Produktionsverfahren dienen (z. B. von Alkoholen oder Antibiotika, siehe hierzu Kim et al., 1995). Im nächsten Schritt wird der abgetrennte Komplex gewaschen. Hierzu wird dem Produktstrom in P-4 Waschwasser (S-115) zugeführt und in der Filtrationseinheit P-5 der Cyclodextrinkomplex zurückgehalten. Das Filtrat wird über S-117 abgeführt, die Produktsuspension über S-118 zur Wasserdampfdestillation geleitet.

Für eine Wasserdampfdestillation ist kein Modell im Programm enthalten. Die Wasserdampfdestillation wird daher durch Verwendung eines Reaktors (P-7), eines Kondensator (P-8) und eines Durchlauferhitzers (P-6) dargestellt. Im Reaktor P-7 wird die Produktsuspension erhitzt, wodurch der Cyclodextrin-Decanol-Komplex aufgelöst wird. Um das frei werdende  $\alpha$ -Cyclodextrin vollständig zu lösen, muss der Produktsuspension zusätzliches Wasser zugeführt werden (S-119). Anschließend wird das freigesetzte Decanol (= organische Phase) durch Zufuhr von Wasserdampf, der vom Durchlauferhitzer P-6 erzeugt wurde, aus der Lösung entfernt. Das Gemisch von Wasserdampf und Decanol wird im Kondensator P-8 wieder verflüssigt. Anschließend werden im Dekanter P-9 organische und wässrige Phasen getrennt. Wasser und Decanol können beide im Prozess wiederverwendet werden.

Im nächsten Aufreinigungsschritt wird die Produktlösung zur Entfärbung und zur Abtrennung von hydrophoben Substanzen (z. B. Fette) mit Aktivkohle behandelt (Aktivkohlefilter, P-10). Der Schritt ist optional und hängt wohl vor allem vom Reinheitsgrad der verwendeten Stärke ab. Die Produktlösung wird über S-131 der



Kristallisation P-12 zugeführt. Die zurückgehaltenen Verunreinigungen werden eluiert und als Abwasser abgeführt (S-130).

In der Kristallisationsstufe P-12 wird ein Großteil des Wassers abgedampft. Anschließend wird die Lösung abgekühlt und das  $\alpha$ -CD, dessen Löslichkeit stark temperaturabhängig ist, kristallisiert. Aufgrund seiner geringen Löslichkeit (15 g/l) kristallisiert auch ein großer Teil des noch enthaltenen  $\beta$ -CDs. Das verdampfte Wasser wird kondensiert (P-13) und kann ggf. im Prozess wiederverwendet werden. Die Cyclodextrinkristalle werden im Vakuumtrommelfilter P-14 abgetrennt und gewaschen (S-137). Es wird angenommen, dass zum Erreichen einer höheren Ausbeute die Mutterlauge (S-138) zur Kristallisation zurückgeführt wird und in P-15 ein Bleedstrom (S-139) abgetrennt wird, um eine Anreicherung unerwünschter Stoffe zu verhindern.

Zur Modellierung von Kristallisation, Vakuumfiltration und Recyclingquote siehe Kap. 4.2.6 und 4.2.12. Bei einer Kristallisationstemperatur von 20°C und einer Löslichkeit von 101 g  $\alpha$ -CD/l müssen insgesamt 3,5 t Wasser verdampft werden (2,3 t/t Produkt). Der Bleedstrom stellt eine mit  $\alpha$ -CD und  $\beta$ -CD gesättigte Lösung dar. Alle anderen Verunreinigungen bleiben weit unter ihren Sättigungsgrenzen. Es wird daher angenommen, dass sie vollständig mit dem Bleedstrom abgetrennt werden können.

Das in der Vakuumfiltration P-14 abgetrennte Cyclodextrin wird im Fließbettrockner P-16 mit Luft (S-142) getrocknet. Bei der Verwendung von 3 t Stärke im 10 m<sup>3</sup>-Reaktor erhält man in S-144 1,55 t Endprodukt. Das Endprodukt besteht aus 91,5 %  $\alpha$ -Cyclodextrin, 3,5 %  $\beta$ -Cyclodextrin und 5 % Wasser.

Die Modellierung der verwendeten Grundoperationen ist in Kap. 4.2. und in den Anhängen B2 und D1 erläutert.

### **6.3.2. Non-Solvent-Verfahren**

Zur Modellierung des Non-Solventverfahrens wird vom Modell des Solventverfahrens ausgegangen, an dem verschiedene Änderungen vorgenommen werden. In modellierten Prozess ist durch den Einsatz neuer CGTasen eine hohe Ausbeute und Selektivität auch ohne Einsatz eines Komplexbildners möglich. Dadurch ergeben sich sowohl einige Veränderungen im Reaktor als auch in der anschließenden Aufreinigung.

Da kein Komplexbildner mehr benötigt wird, entfällt im Reaktor die Zufuhr von Decanol und folglich bei den Stoffumwandlungen die Komplexbildung. Die übrigen Reaktionen und Reaktionsausbeuten wurden nicht verändert, so dass sich die gebildeten Mengen nicht

unterscheiden. Alle übrigen Schritte im Reaktor bleiben ebenfalls unverändert und es wurden im Reaktormodell keine weiteren Schritte zugefügt (Ausnahme: Kühlschritt vor Adsorption, s. u.). Aus der Literatur ergeben sich jedoch einige optionale Prozessschritte, die kurz diskutiert werden sollen.

Nach dem Ende der enzymatischen Umwandlung wird teilweise Kochsalz (NaCl) zugegeben, um ein Zurückhalten der CGTase in der anschließende Adsorption (s. u.) zu verhindern (Tsuchiyama et al., 1991; Okabe et al., 1993). Die Angaben in der zitierten Literatur beziehen sich jedoch auf ein Reaktor-Adsorptionsäulen-System, bei dem die Reaktionslösung die Säule mehrmals passiert. Es wird angenommen, dass beim einmaligen Beladen der Säule nur wenig CGTase zurückgehalten wird. Weiterhin wird angenommen, dass eine Inaktivierung der CGTase nicht notwendig ist, da ihre Aktivität bei der vorgesehenen Adsorptionstemperatur von 30°C schon deutlich geringer ist als im Temperaturoptimum (Okabe et al., 1993). Außerdem sollte auch von einer teilweise aktiven CGTase keine relevante Störung des Adsorptionsvorgangs zu erwarten sein.

Bei mehreren Verfahren, die mit einer Adsorptionssäule in der Aufreinigung arbeiten, werden die nach der enzymatischen CD-Bildung verbleibenden Stärke- und Dextrinreste und teilweise auch  $\beta$ - und  $\gamma$ -CD in einem zusätzlichen Prozessschritt zu Maltose und Glucose hydrolysiert. Hierzu werden der Reaktionslösung, meist bei pH 5-6 und 40-85°C, Glucoamylasen u./o.  $\alpha$ -Amylasen zugesetzt, die über einen Zeitraum von mehreren Stunden die azyklischen Dextrine weitgehend hydrolysieren. Hierbei ist meist auch eine vorhergehende Inaktivierung der CGTase notwendig. Ein solches Vorgehen wird z. B. von Sato et al. (1994), Yang und Su (1990), Nagano et al. (1987), Yamamoto und Horikoshi (1981) und Japan Maize Products (1981) beschrieben. Dabei ist nicht immer klar, ob die Hydrolyse notwendig ist, um die Viskosität der Reaktionslösung in der Säule zu reduzieren oder weil die Adsorptionssäule nicht ausreichend selektiv zwischen zyklischen und azyklischen Dextrinen unterscheidet. Die von Mäkelä et al. (1989), Tsuchiyama et al. (1991) und Okabe et al. (1993) beschriebenen Adsorptionsverfahren benötigen keine Hydrolyse der nichtzyklischen Dextrine. Daher wurde auch in der Simulation darauf verzichtet.

Durch die veränderte Reaktionsführung im Reaktor ändern sich auch die Bedingungen für die Produktaufreinigung. Im Solventverfahren liegt die Produktfraktion nach der enzymatischen Umwandlung als suspendierter Feststoff vor, der zunächst abzentrifugiert wird und dann der weiteren Aufreinigung schon weitgehend ohne Verunreinigungen zugeführt wird. Ohne den Einsatz eines Komplexbildners liegt das Produkt dagegen in der

Reaktorbrühe gelöst vor. Eine Abtrennung mit Hilfe einer Filtration oder Zentrifugation ist folglich nicht möglich. Der wahrscheinliche Aufreinigungsweg wurde für das Modell auf der Basis einer Literaturlauswertung ermittelt. Zum einen besteht die Möglichkeit, das CD in der Aufreinigung mit einem organischen Lösungsmittel zu fällen (siehe z. B. Yang und Su, 1990; Shieh und Hedges, 1994). Dies erscheint jedoch nicht sinnvoll, da man dadurch alle Vorteile, die man mit dem Verzicht auf einen organischen Komplexbildner in der enzymatischen Umwandlung erreicht, wieder verliert (unbeschränkter Einsatz im Lebensmittelbereich etc.). Die vielversprechendste Option, die auch im Modell verwendet werden soll, ist der Einsatz einer Adsorptionssäule (physikalische Adsorption). Dort wird das  $\alpha$ -CD selektiv gebunden, während alle anderen Bestandteile der Reaktionslösung die Säule ungehindert passieren.

Nach der enzymatischen Umwandlung wird die Produktlösung (S-109) demnach über eine Adsorptionssäule (P-18) geführt (s. Abb. 6-3b). Das  $\alpha$ -CD wird als Adsorptiv an makroporösen Polymerharzen zurückgehalten, während die anderen CD-Typen, Stärke, Dextrin, Glucose und Maltose ungehindert durchfließen und im Abwasserstrom S-148 weggeführt werden. Bei der angenommenen Ausbeute der Säule wird die gleiche Menge an  $\alpha$ -CD zurückgehalten, wie im Solventverfahren mit Decanol ausgefällt und abgetrennt wird. Die Adsorption erfolgt bei 30°C. Die Produktlösung könnte direkt in der Säule oder durch einen vorgeschalteten Wärmetauscher abgekühlt werden. Im Modell wird jedoch davon ausgegangen, dass die Temperaturreduzierung bereits im Reaktor und zwar direkt nach der enzymatischen Umwandlung erfolgt.

Nach dem Beladen wird die Säule mit Waschwasser (S-145) bei Raumtemperatur gewaschen, um verbliebene Verunreinigungen zu entfernen. Danach wird das CD mit heißem Wasser (S-147) eluiert. Das Adsorptionsgleichgewicht ist temperaturabhängig und verschiebt sich bei steigenden Temperaturen zur flüssigen Phase. Das heiße Wasser wird durch den Wärmetauscher P-17 bereitgestellt. Auch das Aufheizen der Säule mit einem Mantelwärmetauscher wäre möglich (Horikoshi et al., 1981). Nach dem Eluieren ist kein weiterer Wasch- oder Regenerationsschritt notwendig. Die Säule kann nach dem Abkühlen wieder mit Produktlösung beschickt werden (Horikoshi et al., 1981). Die getroffenen Annahmen für die Adsorptionssäule sind Kap. 4.2.8. und in Anhang B2 detailliert erläutert.

Durch den Verzicht auf einen organischen Komplexbildner und den Einsatz der Adsorptionssäule entfallen im Non-Solventverfahren die Prozessschritte Zentrifugieren, Waschen und Filtrieren, die Wasserdampfdestillation und die Dekanter zum Abtrennen des Decanols. Dies bedeutet eine deutliche Vereinfachung des Verfahrensaufbaus.

Nach der Adsorption wird der Produktstrom (S-149) dem Aktivkohlefilter P-10 und der weiteren Aufreinigung zugeführt, die sich nicht vom Solventverfahren unterscheidet. Menge und Reinheit des Endproduktes sind in beiden Modellen identisch.

## 6.4. Unsicherheiten

Beide Modelle beruhen ausschließlich auf Literaturdaten und sind dadurch per se mit einer gewissen Unsicherheit behaftet. Aufgrund der großen Zahl an Veröffentlichungen, sowohl zur enzymatischen Umwandlung als auch zur Aufreinigung, können die einzelnen Prozessschritte, vor allem beim Solventverfahren, jedoch als recht gut gesichert angesehen werden.

Wie in den beiden anderen Fallbeispielen beruht die Abschätzung der Kristallisation ausschließlich auf den Löslichkeiten der beteiligten Stoffe. Für den Kristallisationsvorgang spielen, wie in Kap. 5.4 diskutiert, aber auch andere Faktoren eine Rolle. Somit kann die bestehende Unsicherheit bei der Modellierung der Kristallisation nur durch Laborexperimente verringert werden.

Neben der Kristallisation sind im Solventverfahren die Annahmen zum Recycling des Decanols relativ unsicher. Ob in den Dekantern der angenommene Anteil an Decanol tatsächlich abgetrennt werden kann und ob dies ohne Zusatzstoffe möglich ist, kann ebenfalls nur durch Versuche ermittelt werden.

Im Non-Solventverfahren kommen, neben der Kristallisation, zwei entscheidende Unsicherheiten hinzu. Zum einen wurde die gleiche Ausbeute und Selektivität angenommen wie im Solventverfahren. Dies stellt jedoch nur das Entwicklungsziel bei der Suche nach neuen und der Verbesserung bekannter CGTasen dar. Ob dieses Ziel erreicht werden kann, wird erst die weitere Forschung zeigen. Dieser Aspekt wird bei den Sensitivitätsanalysen noch näher betrachtet (Kap. 6.7.1). Zum anderen konnte die Wassermenge, die zum Eluieren des CDs von der Adsorptionssäule notwendig ist, nur grob abgeschätzt werden (s. Anhang B2). Diese Wassermenge bestimmt jedoch die Produktkonzentration vor der Kristallisation und damit entscheidend den Energiebedarf der Kristallisation und des Verfahrens (s. Kap. 6.7.4).

## 6.5. Sachbilanz und Energiebedarf

Die Sachbilanz bezieht sich auf die beiden oben beschriebenen Modelle mit einem Arbeitsvolumen des Reaktors von ca.  $10 \text{ m}^3$  und der Produktion von 1,55 t Endprodukt mit einer Reinheit von 91,5 % (Verunreinigungen: Wasser,  $\beta$ -CD). Das Solventverfahren benötigt in der Simulation insgesamt 26 h, das Non-Solventverfahren 23 h. Der Reaktor ist in beiden Modellen 15 h in Betrieb. Die Aufreinigung benötigt im Solventverfahren 13 h, im Non-Solventverfahren 9 h. Bottleneck ist bei beiden Verfahren der Reaktor (P-1). Durch den Einsatz mehrerer Reaktoren kann die Jahresproduktion deutlich erhöht und die Auslastung der Aufreinigung verbessert werden.

Die Menge an eingesetzter Stärke und an erhaltenem Endprodukt ist in beiden Verfahren identisch. Damit haben die Verfahren folglich auch die gleiche Ausbeute: 47,3 % (C-Mol  $\alpha$ -CD/C-Mol Stärke). Die enzymatische Umwandlung hat im Solventverfahren bezogen auf das komplexierte  $\alpha$ -CD eine Ausbeute von 48,2 %, auf das insgesamt gebildete  $\alpha$ -CD eine Ausbeute von 50,4 % (C-Mol/C-Mol). Für den Reaktor im Non-Solventverfahren ergibt sich ebenfalls eine Ausbeute von 50,4 %. Der Downstreambereich hat in beiden Fällen eine Ausbeute von 94 % (bezogen auf die insgesamt produzierte  $\alpha$ -CD-Menge). Im Solventverfahren geht das nicht komplexierte  $\alpha$ -CD in der Zentrifugation P-2 verloren (4 %). Im Non-Solventverfahren wird das  $\alpha$ -CD in der Adsorptionssäule nicht vollständig zurückgehalten (Produktverlust 4 %). Im Abschnitt Kristallisation, Vakuumfiltration und Rückführung der Mutterlauge gehen in beiden Modellen weitere 2 % Produkt verloren. Für alle übrigen Prozessschritte wurden ideale Bedingungen angenommen (kein Produktverlust), wodurch die Ausbeute real noch etwas niedriger liegen kann.

Im Reaktor werden pro kg Endprodukt 7,6 kg an Rohstoffen benötigt (= kg/kg P). Im Non-Solventverfahren werden in der anschließenden Aufreinigung weitere 8,3 kg/kg P, im Solventverfahren 6,8 kg/kg P verbraucht. In beiden Fällen handelt es sich dabei ausschließlich um Wasser oder Wasserdampf. In Tab. 6-1 ist die Stoffbilanz der Verfahren dargestellt. Auf der Inputseite haben das Wasser und die Stärke als C-Quelle den größten Anteil. Im Solventverfahren kommt noch das Decanol hinzu. Auf der Outputseite spielen neben dem Wasser, dem Produkt und dem Decanol (Solventverfahren) vor allem organische Nebenprodukte der enzymatischen Reaktionen, wie Glucose, Maltose, Dextrin und  $\beta$ -Cyclodextrin eine größere Rolle. Der Wasserverbrauch liegt im Non-Solventverfahren höher als im Solventverfahren.

Tab. 6-1: Stoffbilanz von Solvent- und Non-Solventverfahren (berechnet für 10 m<sup>3</sup>-Reaktor und 1,55 t Endprodukt); [kg/kg P] = kg Stoff pro kg Endprodukt (=  $\alpha$ -Cyclodextrin, Reinheit 91,5 %)

Stoff	Solventverfahren		Non-Solventverfahren	
	Input [kg/kg P]	Output [kg/kg P]	Input [kg/kg P]	Output [kg/kg P]
$\alpha$ -Amylase	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
$\alpha$ -Cyclodextrin (Produktverlust)	-	0,06	-	0,06
$\alpha$ -Cyclodextrin (Endprodukt)	-	0,91	-	0,91
$\beta$ -Cyclodextrin	-	0,12	-	0,12
$\beta$ -Cyclodextrin (im Endprodukt)	-	0,04	-	0,04
CGTase	0,01	0,01	0,01	0,01
Decanol*	0,17	0,17	-	-
Dextrin	-	0,23	-	0,23
Fette	-	0,02	-	0,02
$\gamma$ -Cyclodextrin	-	0,03	-	0,03
Glucose	-	0,25	-	0,25
Maltose	-	0,24	-	0,24
Proteine	-	0,02	-	0,02
Stärke	1,93	0,06	1,93	0,06
Wasser	12,5	12,4	14,0	13,9
<b>Summe (Mass Index) mit Wasser</b>	14,6	14,6	15,9	15,9
<b>Summe (Mass Index) ohne Wasser</b>	2,1	2,2	1,9	2,0

\*Menge ohne Recycling von Decanol. Mit Recycling reduziert sich der Wert auf 18 kg/batch und 0,01 kg/kg P.

In beiden Verfahren bestehen einige Recyclingmöglichkeiten. Im Solventverfahren können, basierend auf den Modellannahmen, 93,5 % des Decanols (S-112, S-127) wiederverwendet werden. Dadurch nimmt die Bedeutung des Decanols in der Stoffbilanz stark ab. Die abgetrennte Reaktionslösung (S-113 bzw. S-148), die größere Mengen an Dextrin, Glucose, Maltose und Stärke enthält, kann in beiden Verfahren möglicherweise als C-Quelle für eine Fermentation eingesetzt werden, soweit entsprechende Anlagen in unmittelbarer Nähe vorhanden sind. Als vorbereitender Schritt ist dabei eine Eindickung notwendig. Der kondensierte Wasserdampf aus der Kristallisation (S-134) kann ebenfalls in beiden Verfahren wiederverwendet werden.

In den Verfahren fallen keine festen Abfälle an, abgesehen von den in regelmäßigen Abständen zu erneuernden Füllungen von Adsorptionssäule und Aktivkohlefilter. Die gasförmigen Emissionen enthalten, außer Luft, nur Wasserdampf und spielen aus Umweltsicht damit keine Rolle. Der allergrößte Teil der Abfälle liegt als Abwasser vor, das

mit leicht abbaubaren organischen Verbindungen belastet ist. Im Solventverfahren beträgt der Abwasseranfall  $19 \text{ m}^3$  ( $=12 \text{ l/kg P}$ ), im Non-Solventverfahren  $21,5 \text{ m}^3$  ( $= 14 \text{ l/kg P}$ ).

Die organische Belastung des Abwassers (CSB) beträgt im Solventverfahren  $1.930 \text{ kg O}_2$  ( $= 1.240 \text{ g O}_2/\text{kg P}$ ). Die Belastung im Non-Solventverfahren liegt geringfügig darunter:  $1.880 \text{ kg O}_2$  ( $= 1.210 \text{ g O}_2/\text{kg P}$ ). Berücksichtigt man das Decanolrecycling, sind die Werte praktisch identisch. Bei der Prozessdauer von ca. einem Tag ergibt sich in beiden Verfahren in Einwohnergleichwerten (EGW) eine Belastung von  $16.000 \text{ EGW}$  ( $= 10 \text{ EGW/kg P}$ ).

Als Energieüberträger dienen in den Modellen Heizdampf, Kaltwasser, Elektrizität und Kühlwasser. Es wird angenommen, dass zur Bereitstellung des Kühlwassers keine Energie benötigt ist. Das Kühlwasser wird daher separat betrachtet. Die Berechnungen beruhen auf den in Kap. 4 gemachten Angaben.

Der Gesamtenergiebedarf beträgt im Modell des Solventverfahrens  $28,3 \text{ GJ}$  ( $7,9 \text{ MWh}$ ) bzw.  $18 \text{ MJ/kg P}$  ( $5 \text{ kWh/kg P}$ ). Im Non-Solventverfahren liegt der Bedarf mit  $20,2 \text{ GJ}$  und  $13 \text{ MJ/kg P}$  deutlich darunter. Die Reduzierung beträgt  $29 \%$ . Im Solventverfahren müssen zusätzlich  $21,6 \text{ GJ}$  Wärme über das Kühlwasser abgeführt werden ( $14 \text{ MJ/kg P}$ ). Im Non-Solventverfahren sind dies nur  $13,3 \text{ GJ}$  ( $8,5 \text{ MJ/kg P}$ ). Die Reduzierung beträgt  $38 \%$ .

Der mit Abstand wichtigste Energieträger ist der eingesetzte Heizdampf (Solventverfahren:  $92 \%$ , Non-Solventverfahren:  $89 \%$ ). Elektrizität ( $6 \%$  bzw.  $7 \%$ ) und Kaltwasser ( $2 \%$  bzw.  $5 \%$ ) haben nur einen geringen Anteil. Da die Reaktorlösung vor der Adsorption zusätzlich mit Kaltwasser abgekühlt werden muss, liegt dessen Anteil im Non-Solventverfahren etwas höher. Der spezifische Bedarf an Wärmeüberträgern liegt im Solventverfahren für Heizdampf bei  $8 \text{ kg/kg P}$ , für Kaltwasser bei  $16 \text{ kg/kg P}$  und für Kühlwasser bei  $660 \text{ kg/kg P}$  (Non-Solventverfahren entsprechend  $5,5 \text{ kg/kg P}$ ,  $28 \text{ kg/kg P}$  und  $440 \text{ kg/kg P}$ ). Bei den Energieverbrauchsvorgängen dominiert bei beiden Verfahren das Heizen (inkl. Verdampfen) mit einem Anteil von  $83 \%$  ( $76 \%$ ) und in weit geringerem Maße die Trocknungsvorgänge ( $10 \%$  bzw.  $14 \%$ ). Die übrigen Vorgänge (Kühlen, Zentrifugieren, Filtrieren, Rühren) haben zusammen einen Anteil von  $7 \%$  ( $9 \%$ ).

Die Allokation des Energiebedarfs auf die einzelnen Prozessschritte ist in Abb. 6-4 gezeigt. Im Solventverfahren sind die Wasserdampfdestillation (P-6 + P-7) und die Kristallisation (P-12) die wichtigsten Schritte, gefolgt vom Reaktor (P-1) und dem Fließbettrockner (P-16). Den größten Anteil am Energieverbrauch haben dabei die Bereitstellung des Dampfes in P-6 und das Verdampfen in der Kristallisation (zusammen  $66 \%$ ). Beim Kühlwasserverbrauch dominieren die beiden Kondensatoren (P-8, P-13), die zusammen  $83 \%$  des Bedarfs ausmachen.

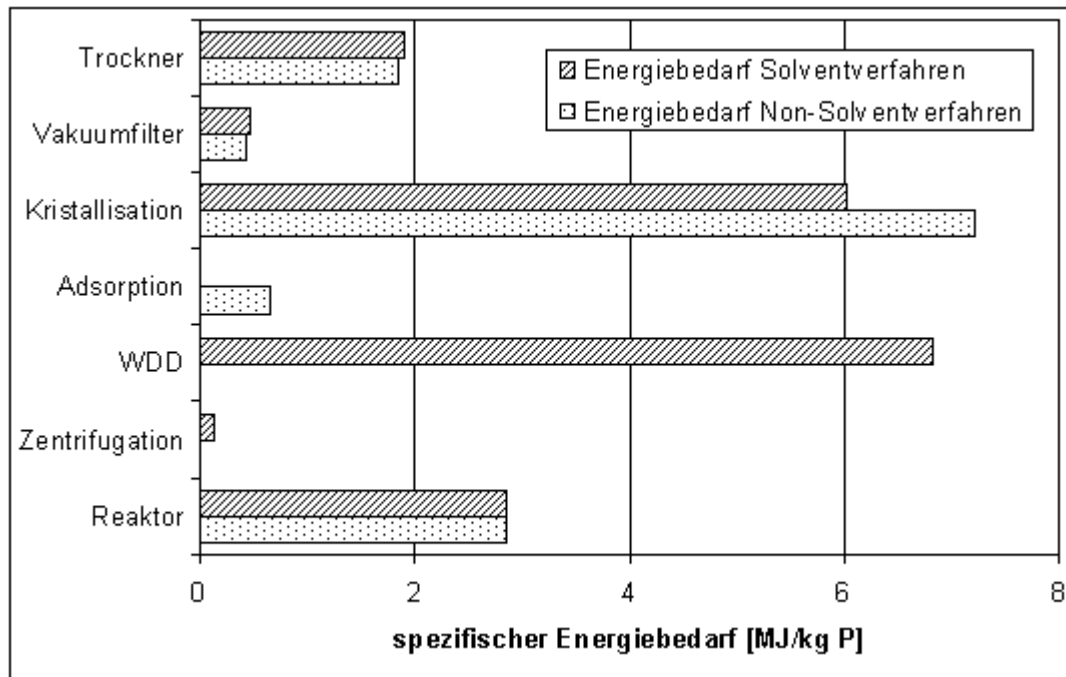


Abb. 6-4: Spezifischer Energiebedarf der einzelnen Prozessschritte in den Modellen von Solvent- und Non-Solventverfahren (Arbeitsvolumen Fermenter: 10 m<sup>3</sup>, 1,55 t Endprodukt). WDD = Wasserdampfdestillation.

Im Non-Solventverfahren (s. Abb. 6-4) dominiert mit großem Abstand die Kristallisationsstufe (55 %), gefolgt vom Reaktor (22 %) und dem Trockner (14 %). Beim Vergleich mit dem Solventverfahren zeigt sich, dass bei den angenommenen Modellbedingungen der Wegfall der Wasserdampfdestillation (und der Zentrifugation) durch die hinzukommende Adsorption und den größeren Bedarf der Kristallisation nur teilweise ausgeglichen wird. Die Zunahme bei der Kristallisation beruht auf der geringeren Produktkonzentration nach der Adsorption. Folglich muss mehr Wasser pro Produkteinheit verdampft werden. Der Bedarf der übrigen Schritte unterscheidet sich kaum. Der Kühlwasserbedarf ist im Non-Solventverfahren ebenfalls geringer, da der Kondensationsschritt nach der Wasserdampfdestillation (P-8) entfällt und die Verbrauchszunahme des der Kristallisation nachgeschalteten Kondensators (P-13) dies nicht vollständig ausgleicht.

## 6.6. Ökologische Bewertung

Die Sachbilanzergebnisse wurden nach der in Kapitel 3 beschriebenen Methode bewertet. Die Ergebnisse sind in Tab. 6-2 zusammengefasst. Der höhere Wasserverbrauch im Non-Solventverfahren führt zu einer höheren Materialintensität. Der Mass Index ohne



Tab. 6-2: Kennzahlen der ökologischen Bewertung von Solvent- und Non-Solventverfahren. m. W. = mit Wasser, o. W. = ohne Wasser

Bewertungskriterium	Solventverfahren				Non-Solventverfahren			
	Input		Output		Input		Output	
	m. W.	o. W.	m. W.	o. W.	m. W.	o. W.	m. W.	o. W.
Mass Index MI [kg/kg P]	14,6	2,1	14,6	2,2	15,9	1,9	15,9	2,0
Anzahl A-Stoffe	0		0		0		0	
Environmental Index EI <sub>Mw</sub> [Indexpunkte/kg P]	0,03		0,12		0,00		0,08	
Environmental Index EI <sub>Mult</sub> [Indexpunkte/kg P]	14,7	2,2	15,1	2,7	15,9	1,9	16,2	2,3
General Effect Index GEI <sub>Mw</sub> (0-1)	0,002	0,012	0,008	0,056	0,0	0,0	0,005	0,041
General Effect Index GEI <sub>Mult</sub> (1-256)	1,01	1,06	1,04	1,25	1,0	1,0	1,02	1,17

Wasser ist dagegen im Solventverfahren etwas höher. Der Unterschied beruht auf dem Wegfall des Decanols im Non-Solventverfahrens. Berücksichtigt man das Recycling des Decanols, sind die Werte praktisch gleich. In beiden Verfahren sind sowohl auf der Inputseite als auch auf der Outputseite keine Klasse A-Stoffe beteiligt. Die Verfahren enthalten also keine Stoffe höchster Umweltpriorität.

Die Environmental Indices (EI) bewerten die Umweltrelevanz des Gesamtverfahrens. Bei der multiplikativen Ermittlung der Wichtungsfaktoren ( $EF_{Mult}$ ) und dem daraus abgeleiteten  $EI_{Mult}$  wird der Klasse C der Wert 1 zugeordnet. Das heißt, der minimal erreichbare  $EI_{Mult}$  ist  $EI_{Mult} = MI$ . Die  $EI_{Mult}$  der Inputseite sind jeweils praktisch identisch mit den Mass Indices. Die  $EI_{Mult}$  der Outputseite liegen bei beiden Verfahren dagegen etwas über den MIs. Die erwarteten Belastungseffekte der Outputseite überwiegen folglich die Effekte der Inputseite.

Abb. 6-5 vergleicht den mittelwertbasierten  $EI_{Mw}$  für die Outputseite der beiden Verfahren. Die Indices sind sehr ähnlich. Bei den mittelwertbasierten Wichtungsfaktoren ( $EF_{Mw}$ ) gilt  $C = 0$  und  $A = 1$ . Das bedeutet, der maximal erreichbare  $EI_{Mw}$  ist  $EI_{Mw} = MI$  und der minimale Wert  $EI_{Mw} = 0$ . Der  $EI_{Mw}$  ist auf Input- und Outputseite in beiden Verfahren vergleichsweise gering. Auch hier zeigt sich eine etwas höhere Bedeutung der Outputstoffe.

Die General Effect Indices (GEI) bewerten die Umweltrelevanz aller Verfahren innerhalb einer definierten Wertespanne (s. Tab. 6-2). Alle GEIs zeigen ein geringes Belastungspotential und wiederum die größere Bedeutung der Outputstoffe.

Mit Ausnahme des  $EI_{Mult}$  mit Wasser liegen die EIs und die GEIs des Solventverfahrens über den Werten des Non-Solventverfahrens. Die Unterschiede sind jedoch vergleichsweise gering und werden marginalisiert, wenn man das Recycling des Decanols mit einbezieht.

Grundsätzlich liegen alle Indizes auf einem niedrigen Niveau und deuten somit für beide Verfahren auf eine relativ geringe potentielle Umweltbelastung hin.

Um die Bedeutung der einzelnen Stoffe aufzuzeigen, sind in Abb. 6-6 MI,  $EI_{Mw}$  und  $EI_{Mult}$  des Solventverfahrens zum Vergleich auf 1 normiert. Beim  $EI_{Mw}$  fallen alle C-Stoffe aus der Bewertung heraus ( $C = 0$ ), auf der Inputseite sind dies Wasser und Stärke, auf der Outputseite Wasser und Produkt. Damit verbleibt auf der Inputseite nur das Decanol als umweltrelevanter Stoff (die Menge der Enzyme ist verschwindend gering). Auf der Outputseite haben die leicht abbaubaren organischen Verbindungen (Glucose, Maltose, Dextrin, Produktverlust etc.) eine größere Bedeutung, aber auch das Decanol spielt eine Rolle. Berücksichtigt man das Recycling des Decanols, nimmt seine Bedeutung stark ab.

Der  $EI_{Mult}$  betont Klasse A-Stoffe. Da die Sachbilanz des Solventverfahrens keine A-Stoffe enthält, ändert sich der  $EI_{Mult}$  im Vergleich zum Mass Index kaum. Die im Vergleich zum MI größere Bedeutung des Decanols auf Input- und Outputseite und der organischen Verbindungen auf der Outputseite wird jedoch auch beim  $EI_{Mult}$  deutlich (s. Abb. 6-6). Das Einbeziehen des Recyclings reduziert auch hier die Bedeutung des Decanols stark.

Der Unterschied zwischen Solvent- und Non-Solventverfahren beruht fast ausschließlich auf dem Wegfall des Decanols. Abgesehen von der Wassermenge sind die übrigen Stoff-EIs identisch. Lässt man das Decanol außer Acht, bleiben die organischen Verbindungen die einzigen umweltrelevanten Stoffe der Outputseite. Eine Verringerung dieser Stoffe ist, genauso wie eine Verringerung des Stärkeverbrauchs auf der Inputseite, letztlich nur durch eine Verbesserung von Ausbeute und Selektivität zu erreichen.

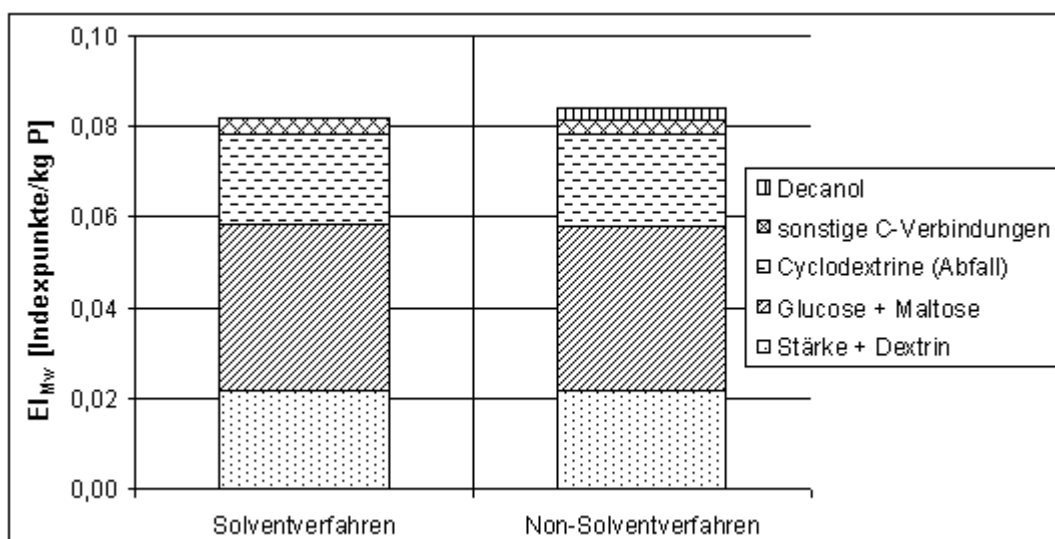


Abb. 6-5: Environmental Indices ( $EI_{Mw}$ ) für die Outputstoffe von Solvent- und Non-Solventverfahrens. Das mögliche Recycling von Decanol ist nicht berücksichtigt.

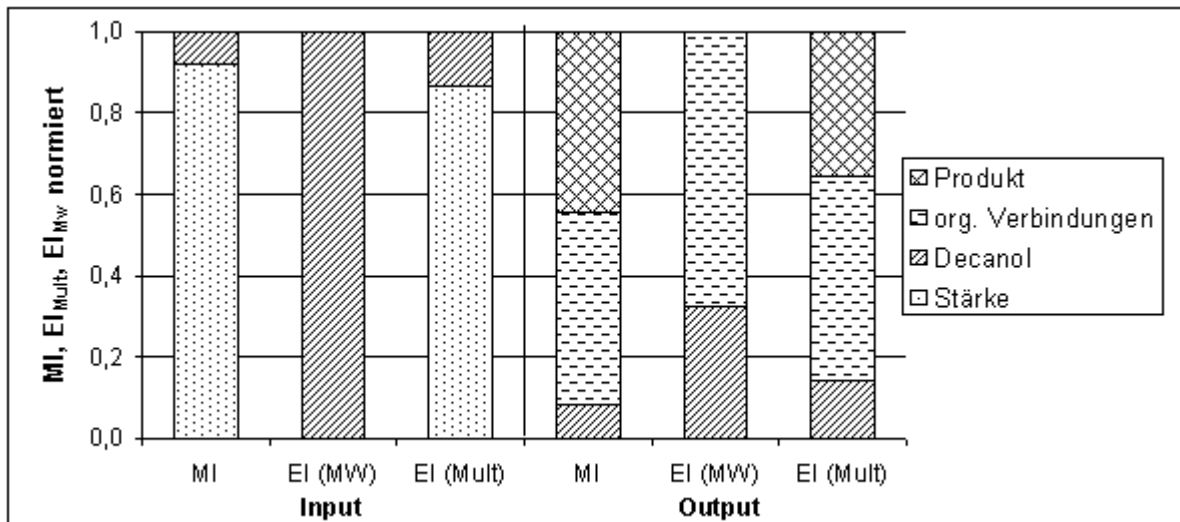


Abb. 6-6: Normierte Mass Indices und Environmental Indices ( $EI_{MW}$ ,  $EI_{Mult}$ ) für Input- und Outputstoffe des Solventverfahrens (ohne Wasser). Die Werte sind auf 1 normiert. Die ökologische Bedeutung des Endprodukts wird nicht berücksichtigt. Das Endprodukt wird in allen Wirkungskategorien der Klasse C zugeordnet. Das mögliche Recycling von Decanol ist nicht berücksichtigt.

Die Impact Category Indices (ICI) und Impact Group Indices (IGI) vergleichen die Bedeutung der verschiedenen Wirkungskategorien (IC) bzw. Wirkungsklassen (IG) für die Umweltrelevanz des Verfahrens. Die  $IGI_{Mult}$  zeigen kaum Unterschiede in der Bedeutung der einzelnen Wirkungsklassen. Die  $IGI_{MW}$  haben dagegen deutliche Schwerpunkte.

Im Solventverfahren sind auf der Inputseite die Klassen „Resources“, „Component Risk“ und „Organisms“ gleich gewichtet, während die „Grey Inputs“ keinen Einfluss haben. Die Verteilung beruht allein auf den Eigenschaften des Decanols, das in den drei oben genannte Klassen jeweils der Klasse B zugeordnet ist (basiert auf Erdöl als Rohstoff, hat niedrigen Flammpunkt (NFPA-Einteilung) und reizt Augen und Haut (R-Sätze, EU-Gefahrensymbole)). Im Non-Solventverfahren befinden sich nur C-Stoffe auf der Inputseite. Daher bestehen bei den Wirkungsklassen keine Gewichtungsunterschiede.

Auf der Outputseite dominiert die Wirkungsklasse „Water/Soil“ (Anteil: 75 %). Dies beruht vor allem auf der Bedeutung der verschiedenen organischen Verbindungen (Glucose, Maltose, CD, Decanol etc.) für die Wirkungskategorie „Organic Carbon Pollution Potential“ (CSB) und in geringerem Maße auch für die Kategorie „Eutrophication Potential“ (N- und P-Gehalt). Einen weitaus geringeren Einfluss haben die Wirkungsklassen „Organisms“ und „Component Risk“, die wiederum vor allem durch das Decanol bestimmt werden. Im Non-Solventverfahren ist deren Bedeutung durch den Verzicht auf Decanol geringer, wodurch die Dominanz der „Water/Soil“-Klasse noch zunimmt (95 %). Die Wirkungsklasse

„Air“ hat in beiden Prozessen keinen Einfluss, d. h. für das Umweltkompartiment Luft haben die Verfahren keinen direkten Belastungseffekt (wohl aber indirekt über die Energiebereitstellung).

## 6.7. Sensitivitätsanalysen

### 6.7.1. Ausbeute der enzymatischen Umwandlung

#### 6.7.1.1. Modelländerungen

Die Ausbeute der enzymatischen Umwandlung ist im Solventverfahren definiert als das Verhältnis des als Komplex abgetrennten Cyclodextrins (CD) zur eingesetzten Stärke. Im Non-Solventverfahren sei die Ausbeute das Verhältnis von in P-18 adsorbiertem CD zur eingesetzten Stärke. In beiden Modellen wird von einer Ausbeute von 50 % ausgegangen, d. h. bei 3 t eingesetzter Stärke werden 1,5 t Cyclodextrin gebildet und im Solventverfahren als Komplex ausgefällt bzw. im Non-Solventverfahren in der Adsorptionssäule zurückgehalten. Darüber hinaus werden weitere Mengen aller drei CD-Typen gebildet. Diese verbleiben jedoch in der Reaktionslösung und gehen nicht in die weitere Aufreinigung und das Endprodukt ein. Im Folgenden soll nun die Auswirkung unterschiedlicher Ausbeuten der enzymatischen Umwandlung auf das Prozessergebnis untersucht werden. Hierzu wird die Ausbeute schrittweise von 25 % bis 85 % variiert.

Bei den Stoffumwandlungen im Reaktor bleibt die Hydrolyse der Stärke zu Dextrin unverändert. In allen Fällen ist somit die Ausgangsmenge an Dextrin gleich. Auch wird davon ausgegangen, dass die Menge an gelöstem, nicht in das Endprodukt eingehendem CD unverändert bleibt. Der Umsetzungsgrad der CD-Bildung und der Komplexbildungsreaktion (Solventverfahren) bzw. die Ausbeute der Adsorptionssäule (Non-Solventverfahren) werden so variiert, dass die entsprechenden Mengen an  $\alpha$ - und  $\beta$ -CD gebildet und ausgefällt bzw. adsorbiert werden. Das Verhältnis der beiden CD-Typen im Produktstrom bleibt dabei unverändert. Das Verhältnis der drei wichtigsten Nebenprodukte Dextrin, Glucose und Maltose bleibt in allen Fällen ebenfalls gleich, nur die Gesamtmenge ändert sich mit unterschiedlichen CD-Ausbeuten.

Durch die veränderte Produktmenge bei unterschiedlichen Ausbeuten ändern sich auch die Mengen mehrerer Inputströme. Je mehr CD gebildet wird, desto mehr Decanol wird im Solventverfahren benötigt, um das CD zu fällen. Die Decanalmenge wird entsprechend

angepasst, wobei jeweils von einem 10%igen Überschuss an Decanol ausgegangen wird (S-103). Mit der Decanalmenge variiert auch der Dampfbedarf in der Wasserdampfdestillation (S-121). Die Dampfmenge wird in Abhängigkeit von der Decanalmenge, wie in Kap. 4.2.9 erläutert, berechnet. Die der Wasserdampfdestillation durch S-119 zugeführte Wassermenge, die zum Lösen des frei werdenden  $\alpha$ -CD benötigt wird, wird ebenfalls an die Produktmenge angepasst (Abschätzung der benötigten Menge siehe Anhang D1).

Im Non-Solventverfahren ändert sich mit der Ausbeute die in P-18 adsorbierte Menge an  $\alpha$ -CD und damit auch das notwendige Bettvolumen der Adsorptionssäule. Dadurch variiert die Waschwassermenge S-145 und die Wassermenge S-147 zum Eluieren des CDs. Die Mengen werden jeweils, wie in Anhang B2 erläutert, bestimmt.

Die Menge an Wasser zum Waschen von Feststoffen (Komplex, CD-Kristalle) wird durch die Menge an Feststoff bestimmt und entsprechend variiert (S-115, S-137). Das Verhältnis Waschwasser zu Feststoff beträgt dabei immer 2:1 (s. Anhang B2).

### 6.7.1.2. Ergebnis

Bei der Variation der Ausbeute von 25-85 % steigt die Gesamtmasse des Verfahrens schrittweise von 18 t auf 33 t (Solventverfahren) bzw. von 19 t auf 36,5 t (Non-Solventverfahren). Die Steigerung beruht ausschließlich auf der Zunahme des Wasserverbrauchs. Die Menge an Endprodukt (Reinheit 91,5 %) nimmt von 775 kg bis auf 2.640 kg zu. Die Menge an Nebenprodukten reduziert sich gleichzeitig von 2,4 t auf 0,5 t. Die relative Zunahme an Endprodukt ist größer als die relative Zunahme der Gesamtmasse. Dadurch sinkt der Mass Index (MI) im Solventverfahren von 22,3 kg/kg P bis auf 11,3 kg/kg P mit Wasser bzw. von 4,0 kg/kg P auf 1,3 kg/g P ohne Wasser. Im Non-Solventverfahren sinkt der MI von 23,4 kg/kg P auf 12,7 kg/kg P mit Wasser bzw. 3,9 kg/kg P auf 1,1 kg/kg P ohne Wasser.

In Abb. 6-7 werden die mittelwertbasierten Environmental Indices ( $EI_{Mw}$ , Output) der beiden Modelle bei verschiedenen Ausbeuten verglichen. Die Kurven zeigen, wie zu erwarten war, eine hohe Abhängigkeit der Umweltbelastung von der erreichten Ausbeute. Wie bereits in Kap. 6.6 diskutiert, hat das Non-Solventverfahren bei gleicher Ausbeute tendenziell einen geringeren EI (solange das Decanol nicht in größerem Umfang recycelt wird). Die Non-Solventverfahren haben jedoch oft eine geringere Ausbeute (beim Einhalten der gewünschten Selektivität). Die Solventverfahren erreichen industriell eine Ausbeute von etwa 50 % (Schmid, 1996). Bei einer Ausbeute von 50 % beträgt der Environmental Index

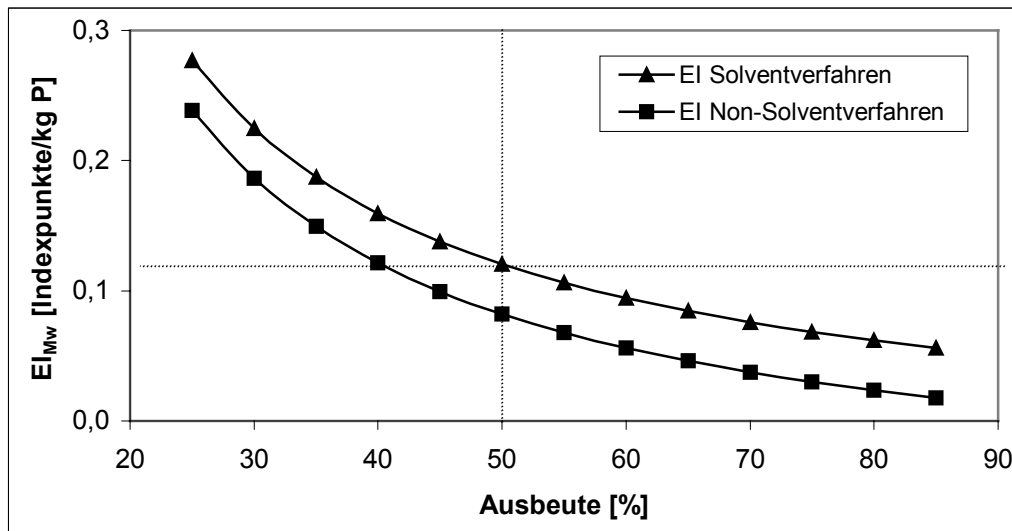


Abb. 6-7: Mittelwertbasierte Environmental Indices ( $EI_{Mw}$ ) für die Outputseite von Solvent- und Non-Solventverfahren bei verschiedenen Ausbeuten der enzymatischen Umwandlung. Der Wert im Standardmodell des Solventverfahrens, der als Vergleichsgrundlage dient, ist durch die gepunkteten Linien hervorgehoben.

$EI_{Solv, Mw} = 0,12$  Indexpunkte/kg P. Dieser Wert dient als Vergleichsgrundlage (gepunktete Linien in Abb. 6-7). Ein Non-Solventverfahren, das Umweltverbesserungen versprechen soll, muss unter diesem Benchmark liegen. Die entsprechende Ausbeute lässt sich graphisch ermitteln. Sie liegt bei etwa 41 %. Die Kurve der multiplikativen EIs ( $EI_{Mult}$ ) der Outputseite verlaufen den mittelwertbasierten EIs sehr ähnlich (nicht gesondert dargestellt). Der Benchmarkwert wird dort bei 43 % erreicht. Der Kurvenverlauf ist auch auf der Inputseite vergleichbar ( $EI_{Mult, In}$ ). Dort wird der Benchmarkwert bei 44 % erreicht.

Natürlich bestehen hinsichtlich der Modelle und der Ermittlung der Indices noch einige Unsicherheiten, wodurch mit einer vergleichsweise hohen Standardabweichung der ermittelten Werte zu rechnen ist. Trotzdem kann festgestellt werden, dass nach der angewendeten Bewertungsmethode eine ökologische Vorteilhaftigkeit des Non-Solventverfahrens nur dann möglich ist, wenn die erreichte Ausbeute (bei ausreichender Selektivität) in etwa der Ausbeute des industriellen Solventverfahrens (50 %) entspricht. Bei einer Ausbeute von 40-45 % sind die EIs ungefähr gleich. Bei einer schlechteren Ausbeute hat das Non-Solventverfahren aus Umweltsicht Nachteile.

Neben der Bewertung der Stoffe spielt auch der Energiebedarf aus Umweltsicht eine wichtige Rolle. Abb. 6-8 zeigt den spezifischen Energiebedarf bei verschiedenen Ausbeuten. Im Vergleich zur Abb. 6-7 wird zunächst deutlich, dass der spezifische Energiebedarf weniger stark von der Ausbeute der enzymatischen Umwandlung beeinflusst wird. Diese

geringe Sensitivität des spezifischen Energiebedarfs erklärt sich im Solventverfahren aus der Dominanz von Wasserdampfdestillation (P-7) und Kristallisation (P-12) (s. Kap. 6.5). Der Dampfbedarf in P-7 wird unmittelbar durch die abzutrennende Decanolmenge bestimmt, die Decanolmenge wiederum direkt durch die Menge an  $\alpha$ -CD. Die freigesetzte Decanolmenge pro Einheit Produkt ist dabei konstant und damit auch der spezifische Energiebedarf. Die in der Wasserdampfdestillation zugegebene Wassermenge wird ebenfalls durch die Menge an  $\alpha$ -CD bestimmt. Die Produktkonzentration nach der Wasserdampfdestillation ist daher konstant und damit auch die in der Kristallisation pro Einheit Produkt abzdampfende Wassermenge. Der spezifische Bedarf bleibt für die beiden wichtigsten Energieverbräuche somit konstant. Dadurch bleiben die Variationen gering. Im Non-Solventverfahren wird der Energiebedarf durch die Kristallisation (P-12) dominiert (s. Kap. 6.5). Die Wassermenge (S-147) zum Eluieren des CDs wird direkt durch die Menge an  $\alpha$ -CD bestimmt. Die Produktkonzentration ist auch in diesem Fall konstant und damit der spezifische Energiebedarf in der Kristallisation. Folglich bleibt auch im Non-Solventverfahren die Variation gering.

Aufgrund seiner geringen Sensitivität bleibt der spezifische Energiebedarf des Non-Solventverfahrens auch bei geringeren Ausbeuten unter der 50 %-Benchmark des Solventverfahrens (18 MJ/kg P). Für die Modellparameter bestehen jedoch einige Unsicherheiten, insbesondere für die in P-18 benötigte Wassermenge zum Eluieren des CD, die das Ergebnis noch deutlich beeinflussen können (s. Kap. 6.7.4).

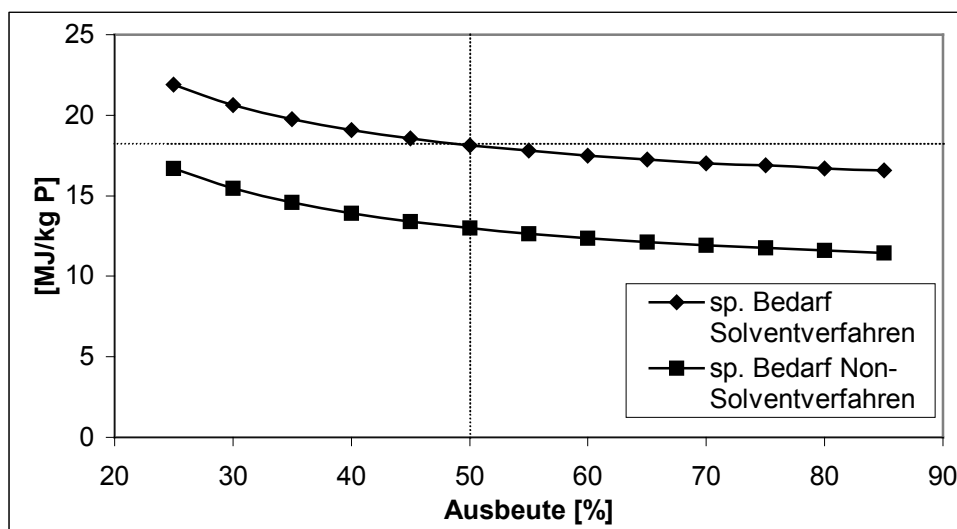


Abb. 6-8: Spezifischer Energiebedarf von Solvent- und Non-Solventverfahren bei verschiedenen Ausbeuten der enzymatischen Umwandlung. Der Wert im Standardmodell des Solventverfahrens, der als Vergleichsgrundlage dient, ist durch die beiden gepunkteten Linien hervorgehoben.

## 6.7.2. Raum-Zeit-Ausbeute

Die Raum-Zeit-Ausbeute, also die Cyclodextrinproduktion pro Zeiteinheit und pro Volumeneinheit, bestimmt die Effizienz des Verfahrens zu einem nicht unwesentlichen Teil. Bei konstantem Umsetzungsgrad (Ausbeute) sind in den Modellen die Dauer der enzymatischen Umwandlung (Zeit) und die Startkonzentration der Stärke (Raum) die entscheidenden Parameter. Im Folgenden soll der Einfluss dieser Parameter auf den Prozess abgeschätzt werden. Es wird dabei vom Solventverfahren ausgegangen, wobei die Ergebnisse für das Non-Solventverfahren weitgehend identisch sind, da das Modell des Reaktors sich bei beiden bis auf Decanolzugabe und Komplexbildung nicht unterscheidet.

### 6.7.2.1. Dauer der enzymatischen Umwandlung

Die notwendige Prozessdauer ist je nach eingesetzter CGTase und eingestellten Reaktionsbedingungen unterschiedlich, zumal sich das Verhältnis der CD-Typen zueinander im Laufe der Prozessdauer verändern kann. In der Literatur gehen die Angaben für die Dauer der enzymatischen Umwandlung zur  $\alpha$ -CD-Bildung von 4 h bis maximal 120 h, wobei die meisten Verfahren zwischen 4 h und 24 h benötigen (Biwer et al., 2002). In den Modellen wurde der von Schmid (1996) angegebene Erfahrungswert von 6 h angenommen. Im Folgenden wird die Prozessdauer schrittweise zwischen 4 h und 120 h variiert.

Je länger die Dauer der enzymatischen Umwandlung, desto geringer die Anzahl der möglichen Batches pro Jahr. Dies bedeutet eine geringere Produktionsmenge oder zum Erreichen der gleichen Produktionsmenge eine größere Anlage. In beiden Fällen steigen die notwendigen Investitionskosten pro funktioneller Einheit Produkt.

Die Massenbilanz des Verfahrens wird durch die Reaktionsdauer nicht beeinflusst. Mit steigender Reaktionsdauer nimmt jedoch der Energiebedarf zum Rühren des Reaktors zu. Die spezifische Leistungsaufnahme des Rührers im Reaktor P-1 beträgt  $P_{sp} = 0,6 \text{ kW/m}^3$  (siehe Kap. 4.4.2). Bei einem angenommenen Reaktorvolumen von ca.  $10 \text{ m}^3$  ergibt dies eine Rührerleistung von  $P_{Rührer} = 6,0 \text{ kW}$  (21,6 MJ/h). Der Energiebedarf nimmt folglich mit zunehmender Reaktionsdauer linear zu (s. Abb. 6-9). Der Energiebedarf des Rührers beträgt bei einer Reaktionszeit von 4 h  $Q_{4h} = 86 \text{ MJ}$ , bei 120 h  $Q_{120h} = 2.590 \text{ MJ}$ . Der Rührer läuft auch während des Befüllens des Reaktors und während der Stärkeverflüssigung. Die Dauer dieser Prozessschritte wird jedoch durch die Reaktionszeit der enzymatischen Umwandlung nicht beeinflusst, so dass sie bei diesem Vergleich nicht berücksichtigt werden muss.



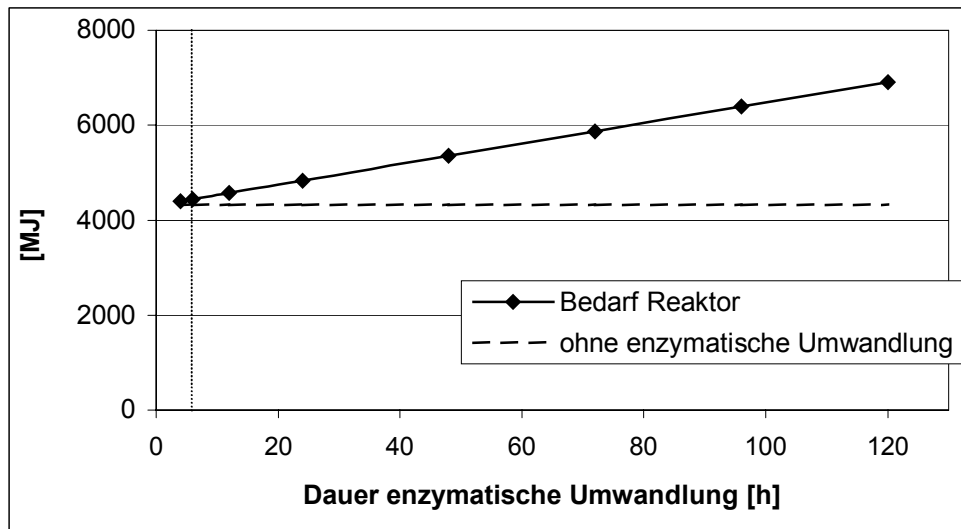


Abb. 6-9: Energiebedarf des Reaktors (P-1) in Abhängigkeit der Reaktionszeit. Die vertikale gepunktete Linie zeigt die im Standardmodell verwendete Reaktionsdauer an (6 h).

Eine Verlängerung der Reaktionsdauer von 4 h auf 24 h entspricht einer Zunahme des Energieverbrauchs im Reaktor von 10 %, eine Verlängerung auf 120 h sogar von 57 % (s. Abb. 6-9). Bezogen auf den Energiebedarf des Gesamtverfahrens beträgt die Zunahme dagegen nur 1,5 % bzw. 9 %. Die Reaktionsdauer hat also vor allem einen Einfluss auf den Energiebedarf des Reaktors. Da der Anteil des Reaktors am Gesamtenergiebedarf gering ist, ist die Bedeutung für das Verfahren jedoch beschränkt, insbesondere wenn man bedenkt, dass der größte Teil der veröffentlichten Prozesse eine Reaktionsdauer von 4-24 h hat.

Betrachtet man nur den Elektrizitätsbedarf des Verfahrens, ist die Bedeutung der Reaktionsdauer größer. Die Zunahme von 4 h auf 24 h entspricht immerhin einer Erhöhung des Bedarfs von 14 %. Da der Anteil der Elektrizität am Gesamtenergiebedarf wiederum gering ist, wirkt sich diese Erhöhung auf den Gesamtenergiebedarf aber kaum aus.

### 6.7.2.2. Startkonzentration Stärke

Die optimale Stärkekonzentration wird von der eingesetzten CGTase und den Reaktionsbedingungen der Stärkeverflüssigung und der Cyclodextrinbildung bestimmt. Nimmt man an, dass die Ausbeute der Cyclodextrinbildung und die Reaktionszeit konstant bleiben, kann die Raum-Zeit-Ausbeute nur durch eine Erhöhung der Stärkekonzentration verbessert werden. In den Simulationen zur Sensitivitätsanalyse wird dies dadurch erreicht, dass die Wassermenge im Reaktor variiert wird, während die Stärkemenge (3 t) gleich bleibt. Dadurch verändert sich das Volumen der Reaktionslösung und die Startkonzentration der

Stärke, während die gebildete Produktmenge gleich bleibt. So können die Simulationen mit verschiedenen Stärkestarkonzentration direkt miteinander verglichen werden. In der Literatur schwanken die Startkonzentrationen der Stärke zwischen 1 % und 35 % (Biwer et al., 2002). Da eine Stärkekonzentration von 1 % industriell sicherlich nicht interessant ist, wird eine Spanne von 5 % bis 40 % Startkonzentration der Stärke betrachtet.

Bei der bisher angenommenen Startkonzentration von 30 % beträgt das Reaktorarbeitsvolumen etwa  $10 \text{ m}^3$ . Bei einer Konzentration von 10 % dagegen  $30 \text{ m}^3$  und bei 40 % nur  $7,5 \text{ m}^3$ . Nach Peters und Timmerhaus (1991) sind für einen Rührkesselreaktor aus legiertem Stahl ( $90 \text{ g/m}^2$ ) mit Mantelwärmetauscher folgende Kosten anzunehmen (Preisbasis: 1990): 10 % Stärkekonzentration = Reaktorvolumen  $34,6 \text{ m}^3 = \text{ca. } 100.000 \text{ US\$}$ ; 30 % Stärkekonzentration =  $12,1 \text{ m}^3 = 55.000 \text{ US\$}$  und 40 % Stärkekonzentration =  $9,3 \text{ m}^3 = 35.000 \text{ US\$}$ . Die Investitionskosten des Reaktors werden also durch die erreichbare Startkonzentration der Stärke entscheidend beeinflusst.

Neben der Reaktorgröße beeinflusst die Stärkestarkonzentration die Menge an Prozesswasser, den Energiebedarf zum Beheizen des Reaktors und den Kühlwasserbedarf zum Kühlen des Reaktors. Nur geringen Einfluss hat das Volumen der Reaktorlösung auf die Aufreinigung. Im Solventverfahren wird der ausgefällte Komplex aus der Reaktionslösung abzentrifugiert (P-2). Im Non-Solventverfahren wird das CD in P-18 ebenfalls von der Reaktionslösung getrennt. Das Volumen, welches in die Aufreinigung eingeht, ist somit in allen Fällen (fast) identisch. Die Zentrifuge (P-2), der Dekanter (P-8) und die Adsorptionssäule (P-18) müssen jedoch an das Volumen der Reaktorlösung angepasst werden, bzw. es muss mit einer längeren Prozesszeit gerechnet werden.

Bei einer Stärkekonzentration von 5 % werden  $58 \text{ m}^3$  Prozesswasser benötigt, bei 30 % nur  $7,6 \text{ m}^3$  und bei 40 % lediglich  $5,1 \text{ m}^3$ . Dadurch wird die Materialintensität des Verfahrens ganz entscheidend beeinflusst. Abb. 6-10 zeigt den Mass Index (MI) des Verfahrens bei verschiedenen Stärkekonzentration. Bei einer Stärkekonzentration von unter 20 % nimmt die Materialintensität schnell zu.

Durch die unterschiedlichen Volumina der Reaktorlösung wird auch der Energiebedarf zum Heizen, Rühren und Kühlen des Reaktors stark beeinflusst. Abb. 6-11 zeigt den spezifischen Kühlbedarf bei verschiedenen Stärkekonzentrationen (und damit Reaktorvolumina). Bei 5 % Stärkekonzentration werden umgerechnet  $0,7 \text{ m}^3$  Kühlwasser/kg P, bei 30 %  $0,1 \text{ m}^3/\text{kg P}$  und bei 40 % nur  $0,07 \text{ m}^3/\text{kg P}$  benötigt. Bei hohen Stärkekonzentrationen ist der Anteil des Reaktors am Kühlwasserbedarf des Verfahrens gering. Bei niedrigen Stärkekonzentrationen kann der Anteil dagegen auf über ein Drittel ansteigen (s. Abb. 6-11).

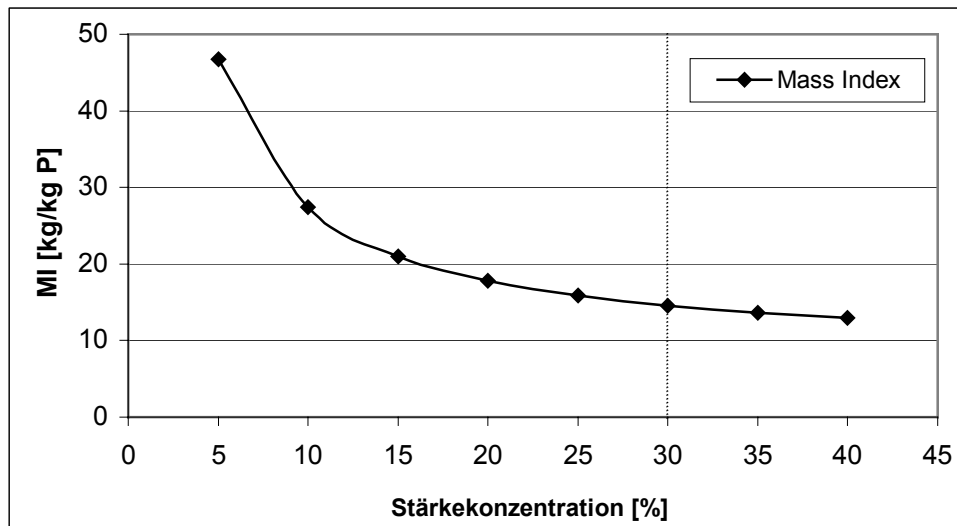


Abb. 6-10: Mass Index (MI) des Solventverfahrens bei verschiedenen Startkonzentrationen der Stärke. Die vertikale gepunktete Linie markiert den MI im Standardmodell des Solventverfahrens (30 %).

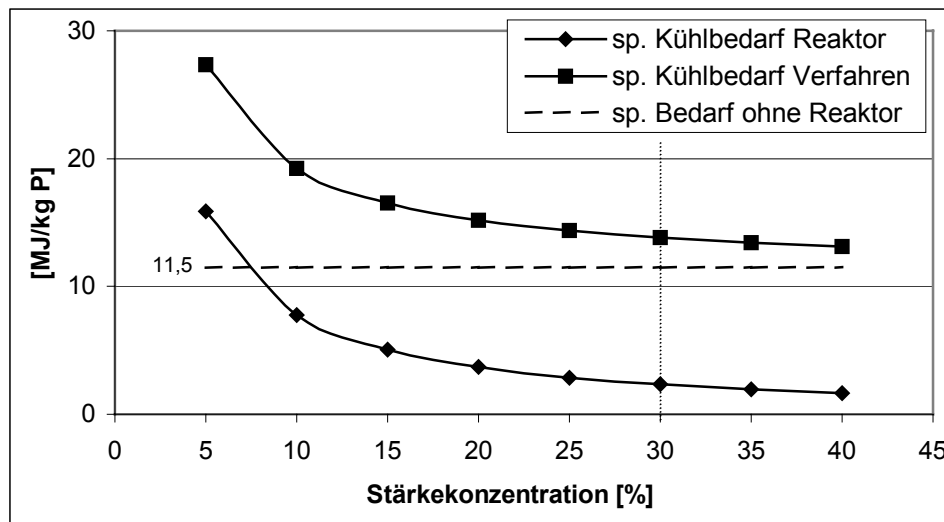


Abb. 6-11: Spezifischer Kühlbedarf des Reaktors und des Gesamtverfahrens bei verschiedenen Startkonzentrationen der Stärke (Solventverfahren). Die vertikale gepunktete Linie markiert die Stärkekonzentration des Standardmodells.

Der Energiebedarf des Reaktors steigt durch den erhöhten Dampfbedarf zum Beheizen und den erhöhten Strombedarf zum Rühren. Der Dampfbedarf variiert von 12,6 t (5 %) bis 1,3 t (40 %). (= 25,7-2,7 GJ). Der Energiebedarf zum Rühren steigt mit zunehmendem Volumen des Reaktors linear an. Die Werte variieren zwischen 1,4 GJ und 0,2 GJ (5-40 %). Sie sind damit deutlich geringer als der Bedarf zum Heizen. Abb. 6-12 vergleicht den spezifischen Bedarf des Reaktors (Heizen + Rühren) und den Gesamtenergiebedarf des Verfahrens. Ähnlich wie beim Kühlwasserbedarf ist auch hier der Anteil des Reaktors am Gesamtverbrauch bei hohen Startkonzentrationen der Stärke und damit hohen Raumausbeuten gering. Bei niedrigen Startkonzentrationen kann der Anteil dagegen auf über 30 % ansteigen.

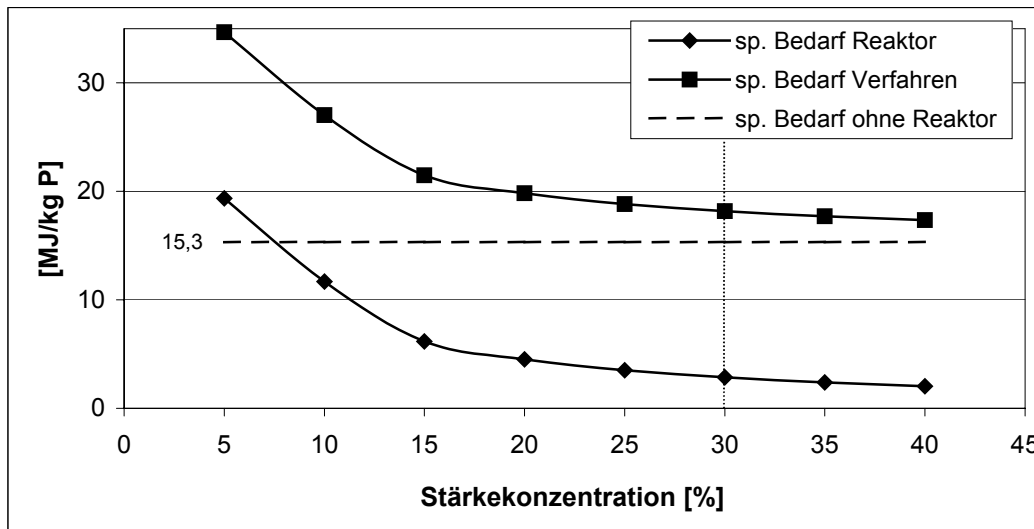


Abb. 6-12: Spezifischer Energieverbrauch des Reaktors und des Verfahrens bei verschiedenen Startkonzentrationen der Stärke (Solventverfahren). Die gepunktete Linie gibt die Stärkekonzentration des Standardmodells an.

### 6.7.3. Einsatz thermostabiler CGTasen

Bisher wurden bereits mehrere hitzestabile CGTasen von thermophilen Mikroorganismen in der Literatur beschrieben (Brunet et al., 1998; Kim et al., 1997; Blackwood und Bucke, 2000; Wind et al., 1998; Prowe, 1996 u. a.). Im Partnerprojekt „Hochwertige Kohlenhydrate“ (DBU-Verbund „Biotkatalyse“) wird ebenfalls versucht, CGTasen aus einem thermophilen Mikroorganismus (*Anaerobranca gottschalkii*) für eine effizientere Cyclodextrinherstellung einzusetzen. Im Folgenden sollen die Änderungen, die sich aus dem Einsatz thermostabiler CGTasen für den Produktionsprozess ergeben, abgeschätzt werden. Die Abschätzungen beziehen sich wiederum auf das Solventverfahren, wobei die Ergebnisse im Non-Solventverfahren ähnlich sind.

#### 6.7.3.1. Enzymatische Umwandlung und Reaktionsführung

Mit thermostabilen CGTasen kann die enzymatische Cyclodextrinbildung bei höheren Temperaturen erfolgen. Dadurch muss die Reaktorlösung nach der Stärkeverflüssigung weniger stark abgekühlt werden. Weiterhin können thermostabile CGTasen zur Hydrolyse der Stärke verwendet werden, wodurch auf den Einsatz von Amylasen verzichtet werden kann. Grundsätzlich können alle CGTasen hydrolytische Reaktionen katalysieren.

Herkömmliche CGTasen sind jedoch nicht ausreichend hitzestabil, um oberhalb der Gelatinisierungstemperatur der Stärke eingesetzt zu werden.

Durch den Einsatz der thermostabilen CGTase und den Verzicht auf  $\alpha$ -Amylase wird die Reaktionsführung deutlich vereinfacht: Das Abkühlen auf die Hydrolysetemperatur, die Inaktivierung der  $\alpha$ -Amylase und die zweite Enzymzugabe entfallen. Dadurch werden mehrere Heiz- und Kühlschritte eingespart. Die Veränderung des Temperaturprofils ist in Abb. 6-13 dargestellt. Bei der Verwendung thermostabiler CGTasen wird die Lösung zur Stärkeverflüssigung aufgeheizt und anschließend auf die Temperatur abgekühlt, bei der Stärkehydrolyse und Cyclodextrinbildung simultan erfolgen.

Im Modell wird für die Stärkeverflüssigung 105°C (Dauer: 5 min) und für die Stärkehydrolyse/Cyclodextrinbildung 45-90°C (7,5 h) angenommen (Ableitung siehe Anhang D3). Damit bleibt die Gesamtdauer der enzymatischen Reaktionen im Vergleich zum Standardmodell gleich (1,5 h Stärkehydrolyse, 6 h CD-Bildung). Häufig wird als ein Vorteil der thermostabilen CGTasen die Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit und damit die Verkürzung der Reaktionszeit genannt. Natürlich nimmt mit steigender Temperatur die Reaktionsgeschwindigkeit zu. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird jedoch auch entscheidend von der eingesetzten CGTase bestimmt. Daher kann in der Simulation nicht per se davon ausgegangen werden, dass die Reaktionsdauer bei der Verwendung einer thermostabilen CGTase (und höherer Temperatur) kürzer ist als die Reaktionsdauer mit einer nicht hitzestabilen CGTase im Standardverfahren (und niedrigerer Temperatur), auch wenn eine grundsätzliche Tendenz in diese Richtung besteht. Die Gesamtdauer der enzymatischen Umwandlung wurde daher nicht verändert. Durch die Reduzierung der Heiz- und Kühlschritte ergibt sich jedoch trotzdem eine gewisse zeitliche Verkürzung des Reaktorschritts.

Neben der Vereinfachung des Reaktionsschemas, dem Verzicht auf  $\alpha$ -Amylase und einer möglichen Verkürzung der Reaktionsdauer, ergeben sich zwei zusätzliche Vorteile beim Einsatz thermostabiler CGTasen. Zum einen ist die Gefahr von Kontaminationen mit Mikroorganismen bei höheren Temperaturen deutlich geringer. Zum anderen geben Pedersen et al. (1995) an, dass in den von ihnen durchgeführten Experimenten zur Stärkehydrolyse mit thermostabilen CGTasen keine Oligosaccharide mit geringem Molekulargewicht entstehen. Diese Oligosaccharide können die Cyclodextrinbildung stören und werden bei der Stärkehydrolyse mit  $\alpha$ -Amylase in der Regel gebildet. Ob diese Eigenschaft für alle thermostabilen CGTasen gilt, kann jedoch nicht abgeschätzt werden.

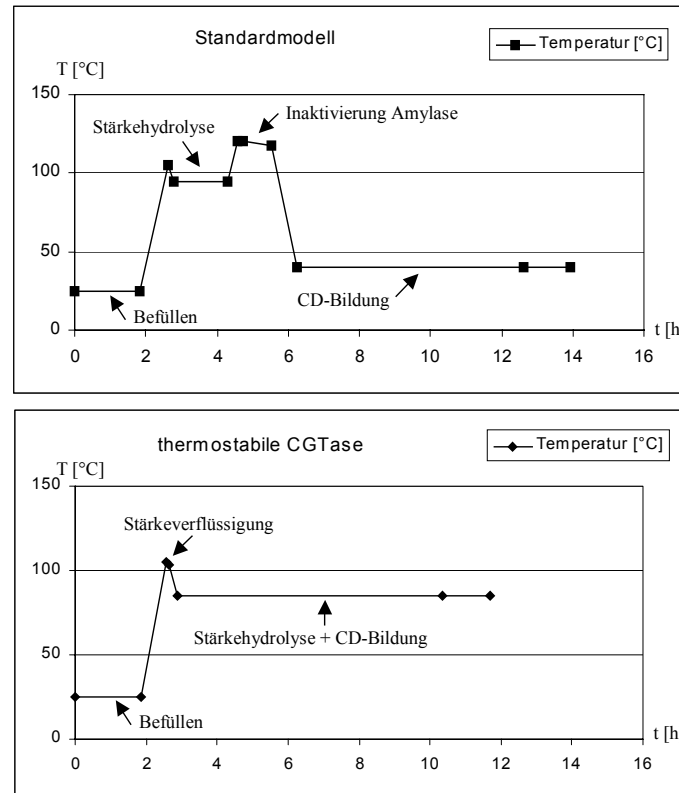


Abb. 6-13: Temperaturprofil des Reaktors im Standardmodell und bei der Verwendung thermostabiler CGTasen. Die Temperatur von Stärkehydrolyse und CD-Bildung bei der Verwendung thermostabiler CGTasen wird in den Simulationen von  $45^{\circ}\text{C}$  bis  $90^{\circ}\text{C}$  variiert (s. Text). In der Darstellung ist ein Wert von  $85^{\circ}\text{C}$  angenommen.

### 6.7.3.2. Energiebetrachtung

Die bisher aufgeführten Vorteile haben nur eine vergleichsweise geringe Bedeutung. Eine deutliche Verfahrensverbesserung kann dagegen vor allem durch die Verringerung des Energiebedarfs bei der Reduzierung der Heiz- und Kühl Schritte erwartet werden. Durch die Vereinfachung der Reaktionsführung wird im Reaktor nur noch ein Heiz- und ein Kühl Schritt benötigt (siehe Abb. 6-13). Der erste Heizschritt zur Stärkeverflüssigung ist identisch zum Standardmodell. Die Energieeinsparung ergibt sich beim Heizen folglich ausschließlich durch den Wegfall der Amylase-Inaktivierung (Aufheizen auf  $120^{\circ}\text{C}$ ). Der spezifische Heizbedarf im Reaktor sinkt dabei von  $2,7 \text{ MJ/kg P}$  auf  $2,1 \text{ MJ/kg P}$ , was einer Reduzierung von 24 % entspricht. Bezogen auf den Energiebedarf des gesamten Verfahrens beträgt die Reduzierung immerhin noch 3,5 %.

Der Kühlbedarf wird durch den Wegfall der Amylase-Inaktivierung verringert. Die genaue Reduzierung wird von der Temperatur der enzymatischen Reaktionen bestimmt. Diese

Temperatur hängt stark von der verwendeten thermostabilen CGTase ab. Abb. 6-14 zeigt die spezifische Kühlmwassermenge bei verschiedenen Temperaturen der enzymatischen Umwandlung. Je höher diese Temperatur ist, desto geringer ist die notwendige Temperaturreduzierung nach der Stärkeverflüssigung und desto geringer ist der Bedarf an Kühlwasser. Für thermostabile CGTasen wird eine Reaktionstemperatur zwischen 45°C und 90°C betrachtet. Bei 45°C liegt der spezifische Kühlwasserbedarf des Reaktors bei 73 kg/kg P, was einer Reduzierung im Vergleich zum Standardmodell von 33 % entspricht. Bei 90°C beträgt der Bedarf nur noch 17 kg/kg P. Dies entspricht einer Reduzierung von 85 %. Bezogen auf den Kühlwasserbedarf des Gesamtverfahrens, liegt die Reduzierung zwischen 6 % (45°C) und 14 % (90°C).

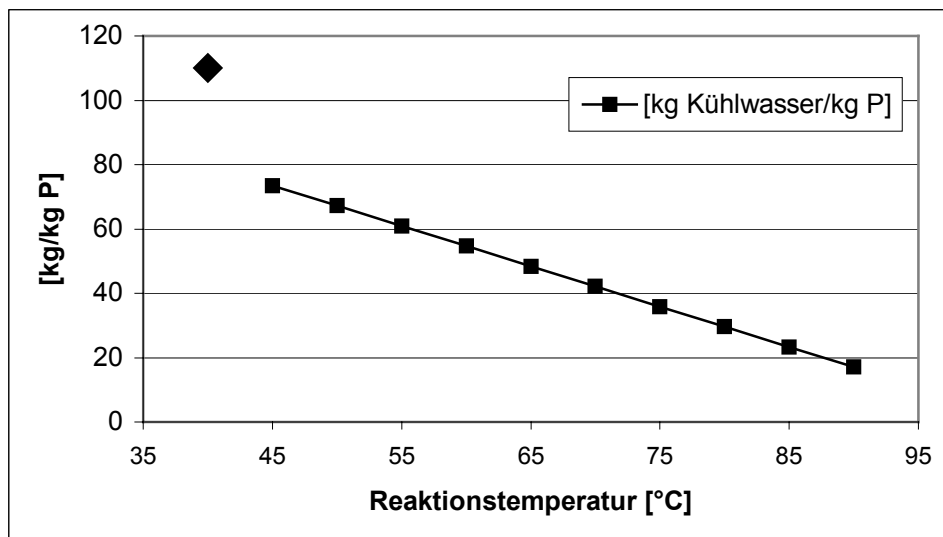


Abb. 6-14: Spezifischer Kühlwasserbedarf des Reaktors bei verschiedenen Temperaturen der enzymatischen Umwandlung bei der Verwendung thermostabiler CGTasen. Die schwarze Raute zeigt den Bedarf im Standardmodell an (110 kg/kg P).

#### 6.7.4. Eluatmenge Adsorption

Im Non-Solventverfahren wird das  $\alpha$ -CD mit heißem Wasser (S-147) von der Adsorptionssäule P-18 eluiert. Die Wassermenge, die hierfür notwendig ist, bestimmt die Produktkonzentration nach der Adsorption. Diese wiederum bestimmt den spezifischen Energiebedarf der Kristallisation P-12, die der wichtigste Energieverbrauchsschritt des Verfahrens ist (s. Kap. 6.5). Daneben wird auch beim Aufheizen der benötigten Wassermenge Energie verbraucht (P-17). Die Produktkonzentration nach der Adsorption bestimmt weiterhin den spezifischen Kühlbedarf der Kondensation P-13, die wiederum der Prozessschritt mit dem größten Kühlbedarf ist. Beim Energie- und Kühlbedarf des Non-

Solventverfahrens wird daher eine hohe Sensitivität für die Wassermenge im Eluatstrom erwartet.

In der Literatur sind keine Angaben zur notwendigen Wassermenge unter industriellen Bedingungen zu finden. Im Modell des Non-Solventverfahrens wird die Menge basierend auf der Löslichkeit des  $\alpha$ -CDs berechnet. Dabei wird eine mögliche Temperaturreduzierung nach der Adsorption ( $\Delta T = 20^\circ\text{C}$ ) und ein zusätzlicher Sicherheitsaufschlag (15 %) berücksichtigt. Damit ergibt sich ein spezifisches Eluatvolumen, also die notwendige Wassermenge pro Mengeneinheit  $\alpha$ -CD. Dieser Wert ist mit hoher Unsicherheit behaftet, da für das Eluieren nicht nur die Löslichkeit entscheidend ist, sondern auch das Verteilungsgleichgewicht des  $\alpha$ -CDs zwischen der wässrigen Phase und den Polymerharzen der Säule. Hierzu liegen keine näheren Informationen vor. Folglich kann die Menge, die zum Eluieren des  $\alpha$ -CDs von der Säule tatsächlich benötigt wird, nicht exakt ermittelt werden.

Die notwendige Wassermenge wird in der Regel als Vielfaches des Volumens des Adsorptionsbetts (bv) angegeben. Im Standardmodell liegt der Wert bei 0,29 bv (2.170 kg Wasser,  $85^\circ\text{C}$ ). Angaben in der Literatur (Okabe et al., 1993) gehen dagegen für Laboranlagen bis zu 5 bv. Dieser Wert wird für die Sensitivitätsanalyse als Maximalwert genommen. Die Wassermenge, die bei der Elutionstemperatur ( $85^\circ\text{C}$ ) mindestens notwendig ist, um die adsorbierte  $\alpha$ -CD-Menge vollständig zu lösen, dient als Minimalwert (0,16 bv).

Durch die Erhöhung der Wassermenge steigt der Mass Index des Verfahrens. Damit steigt die Differenz der Materialintensitäten von Non-Solventverfahren und Solventverfahren weiter an. Weitaus wichtiger ist jedoch die Auswirkung auf den Energie- und Kühlbedarf. Abb. 6-15 zeigt den spezifischen Energiebedarf des Verfahrens bei verschiedenen Volumina der Eluatlösung. Der Bedarf steigt mit zunehmendem Volumen linear an. Es zeigt sich, dass der spezifische Bedarf des Solventverfahrens, der in den Standardmodellen deutlich über dem Non-Solventverfahren liegt, schon bei relativ geringen Volumina erreicht wird. Bei einem Volumen von 0,67 bv (= 4.980 kg Wasser) sind die spezifischen Energiebedarfe gleich. Dieses Volumen entspricht dem 2,3fachen des Volumens im Standardmodell des Non-Solventverfahrens. Bei einem Volumen von 1 bv liegt der Energiebedarf des Non-Solventverfahrens bereits 25 % über dem Solventverfahren.

Die Kurven des spezifischen Kühlbedarfs verlaufen sehr ähnlich, weshalb sie hier nicht gesondert dargestellt werden. Der Gleichstand der Energieverbräuche wird dabei etwas später bei einem Volumen von 0,78 bv (= 5.330 kg) erreicht. Dies entspricht dem 2,6fachen des Volumens in Standardmodell. Bei 1 bv liegt der Kühlbedarf des Non-Solventverfahrens 18 % über dem des Solventverfahrens.



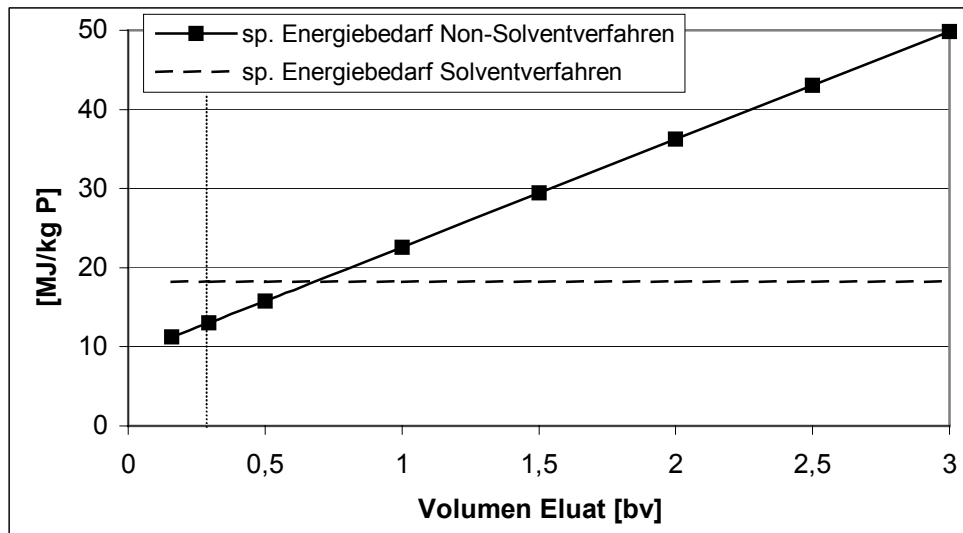


Abb. 6-15: Spezifischer Energiebedarf des Non-Solventverfahrens bei verschiedenen Volumina des Wasserstroms S-147 und damit des Eluatstroms in P-18. Das Volumen ist als Vielfaches des Bettvolumens angegeben ( $1 \text{ bv} = 7,6 \text{ m}^3$ ). Die Berechnungen wurden schrittweise von 0,16-5 bv durchgeführt. Zur Verbesserung der Übersichtlichkeit ist die Kurve nur bis 3 bv dargestellt. Die vertikale gepunktete Linie gibt den Wert im Standardmodell an.

## 6.8. Fazit

Basierend auf den verfügbaren Literaturdaten konnten die beiden Herstellungsverfahren für  $\alpha$ -Cyclodextrin modelliert, simuliert und bewertet werden. Die Modelle enthalten naturgemäß jedoch noch einige Unsicherheiten, die sich vor allem auf die Kristallisation in beiden Prozessen und auf die Adsorption im Non-Solventverfahren beziehen. Ungeachtet dieser Unsicherheiten, zeigt die ökologische Bewertung für beide Produktionsverfahren eine relativ geringe Umweltbelastung. Aus Umweltsicht relevant sind vor allem das Decanol (Solventverfahren) und die organischen Verbindungen in den Abfallströmen. Die Bedeutung des Decanols kann durch ein weitgehendes Recycling deutlich verringert werden. Eine Reduzierung der organischen Abfallstoffe ist letztlich nur durch eine höhere Ausbeute möglich. Die Verfahren wirken sich vor allem auf die Umweltkompartimente Wasser und Boden aus, während die Wirkung auf das Umweltkompartiment Luft, die direkte Beeinträchtigung von Organismen und Sicherheitsaspekte kaum eine Rolle spielen.

Die durchgeführten Sensitivitätsanalysen zeigen, dass der Einfluss der Reaktionsdauer gering ist, solange sie sich in einem erwarteten Bereich von 4 h bis 24 h bewegt. Die Startkonzentration der Stärke muss über 20 % liegen. Bei geringeren Konzentrationen kommt es zu einer raschen Verschlechterung der Verfahrensparameter. Die Verwendung von

thermostabilen CGTasen und die damit verbundenen Prozessmodifikationen bringen einige Vorteile für die Verfahren, vor allem wird der Energie- und Kühlbedarf des Reaktors deutlich reduziert. Bezogen auf das Gesamtverfahren stellt diese Reduzierung jedoch nur eine leichte Verbesserung dar.

Beim Vergleich von Solvent- und Non-Solventverfahren konnte aus Umweltsicht kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Bei der Bewertung der beteiligten Stoffe hat das Non-Solventverfahren zunächst leichte Vorteile. Diese Vorteilhaftigkeit ist jedoch sehr stark von der erreichbaren Ausbeute abhängig. Die Ausbeute ist recht unsicher und befindet sich wohl eher unter der Ausbeute des Solventverfahrens. Liegt die Ausbeute nur 5-10 % unter der Ausbeute des Solventverfahrens sind keine Vorteile mehr zu erwarten, zumal die Umweltbelastung des Solventverfahrens durch ein Recycling des Decanols deutlich gesenkt werden kann.

Beim Energieverbrauch liegt das Non-Solventverfahren bei den angenommenen Modellparametern deutlich unter dem Solventverfahren. Die Sensitivitätsanalyse hat jedoch gezeigt, dass der spezifische Energiebedarf sehr stark vom spezifischen Volumen des Eluats in der Adsorptionsstufe abhängt. Die Bestimmung des Eluatvolumens ist mit hoher Unsicherheit behaftet. Variiert man das Volumen innerhalb einer realistischen Spanne, liegt der spezifische Energiebedarf teilweise auch deutlich über dem Solventverfahren. Mit den verfügbaren Informationen kann also auch hier kein signifikanter Unterschied abgeleitet werden.

In frühen Entwicklungsphasen ist die Abschätzung des Energiebedarfs meist noch schwieriger und unsicherer als die Ermittlung der Stoffbilanz. Daher ist der Energiebedarf in der Bewertungsmethode, die ja speziell für frühe Phase entwickelt wurde, nicht berücksichtigt, obwohl er eine wichtige Rolle für die Umweltrelevanz eines Verfahrens spielen kann. Die Einbeziehung des Energiebedarfs in die Bewertungsmethodik sei umfangreicheren und später ansetzenden Methoden wie der Ökobilanzierung vorbehalten. Die Bedeutung des Energiebedarfs wird in der vorliegenden Arbeit nur diskursiv behandelt. Um dabei Energie- und Stoffseite zu vergleichen, kann man den spezifischen Energiebedarf zur Veranschaulichung über den Brennwert in Massen bekannter Brennstoffe umrechnen. Der Mass Index ohne Wasser beträgt für die beiden betrachteten Verfahren etwa 2 kg/kg P. Der spezifische Energiebedarf entspricht im Solventverfahren in etwa dem Heizwert von 0,6 kg Koks kohle oder 0,4 kg Heizöl, im Non-Solventverfahren 0,45 kg Koks kohle oder 0,3 kg Heizöl. Diese Zahlen sind natürlich nur sehr vorsichtig zu interpretieren, da Übertragungseffizienzen bei der Bereitstellung der im Verfahren verwendeten

Energieüberträger und weitere Effekte bei der Energieversorgung nicht berücksichtigt sind. Trotzdem kann man grundsätzlich feststellen, dass der Energieverbrauch eine wichtige Rolle spielt, aber weder Energie- noch Stoffseite die Umweltrelevanz der Verfahren dominiert.

Um einen abschließenden Vergleich der Verfahren durchzuführen, wären konkretere Prozessdaten notwendig. Ein Quantensprung aus Umweltsicht ist jedoch auch im günstigsten Fall bei der Einführung des Non-Solventverfahrens nicht zu erwarten. Durch die geschaffenen Prozessmodelle können die Auswirkungen von neuen Prozessmodifikationen nun schnell und einfach abgeschätzt und bewertet werden. Das größte Potential zur Prozessverbesserung liegt in beiden Verfahren zum einen sicherlich in einer Erhöhung der Ausbeute und der damit verbundenen Reduzierung des Rohstoffbedarfs und des Anfalls organisch belasteter Abwässer und zum anderen in einer Energieeinsparung durch die Erhöhung der Produktkonzentration oder durch eine weniger energieintensive Abtrennung des Wassers in der Aufreinigung.



## VII. FALLBEISPIEL BRENZTRAUBENSÄURE

---

### 7.1. Einleitung

Als drittes Fallbeispiel dient die Entwicklung eines fermentativen Verfahrens zur Herstellung von Brenztraubensäure mit *Escherichia coli* (bzw. eines Salzes der Brenztraubensäure). Es handelt sich dabei um ein Entwicklungsprojekt, das am Forschungszentrum Jülich in den Instituten für Biotechnologie I und II (IBT I + II) im Rahmen des Verbundes „Biokatalyse“ der Deutschen Bundesstiftung Umwelt (DBU) durchgeführt wird. Im Rahmen der Kooperation innerhalb des Verbundes wurde uns Zugang zu den vorhandenen Labor- und Prozessdaten gewährt.

Im Verlauf des bisherigen Entwicklungsprozesses wurden zu drei Zeitpunkten (Februar und Oktober 2001, Oktober 2002) in Zusammenarbeit mit den Projektbearbeitern am IBT I + II die vorhandenen Prozessinformationen erfasst und die Erwartungen an zukünftige Ergebnisse diskutiert. Hierzu wurde u. a. der als Anhang B1 beigefügte Fragebogen verwendet. Aus den erfassten Prozessdaten und einer parallel erfolgten, umfangreichen Literatur- und Patentrecherche wurden Modelle des industriellen Produktionsprozesses, so wie sie zum jeweiligen Zeitpunkt am wahrscheinlichsten erschienen, erstellt und in Simulationen überführt (entsprechend Versionen 1-3).

Der Schwerpunkt der Arbeiten am IBT I + II lag auf der Fermentationsentwicklung. Erst in der Endphase der Projektlaufzeit wurden verstärkt Aspekte der Aufreinigung bearbeitet. Daher konnten zunächst zur Modellierung der Downstreamprozesse nur Abschätzungen vorgenommen werden. Dabei wurde zu Beginn, in Abstimmung mit den Projektpartnern, die Verwendung einer Flüssig-Flüssig-Extraktion mit einem noch nicht näher bestimmten, organischen Lösungsmittel als zentraler Aufreinigungsschritt festgelegt. Um die stattgefundene Entwicklung der Fermentation dokumentieren und vergleichen zu können, wurden bei der Modellerstellung aller drei Versionen (1, 2a, 3a) eine solche Extraktion und eine anschließende Reextraktion in eine wässrige Phase angenommen. Zusätzlich wurden zu verschiedenen Entwicklungszeitpunkten alternative Aufreinigungskonzepte betrachtet. In Version 2b wird die Verwendung von Diethylether in der Extraktion und eine anschließende direkte Kristallisation der Brenztraubensäure aus dem organischen Lösungsmittel untersucht. Zum Zeitpunkt der dritten Datenaufnahme wurden am IBT II Versuche zur Aufreinigung

mittels Elektrodialyse durchgeführt. In Version 3b wird daher die Verwendung einer Elektrodialyse und die damit verbundenen Änderungen des Verfahrensaufbaus modelliert. Das genaue Endprodukt wurde bisher im Entwicklungsprozess noch nicht festgelegt. Sowohl die Herstellung der reinen Brenztraubensäure als auch die Herstellung eines entsprechenden Salzes sind möglich und ökonomisch interessant. Aufgrund seiner höheren Stabilität wurde in den Modellen Natriumpyruvat als Endprodukt festgelegt. Nur in Version 2b ergibt sich Brenztraubensäure als Endprodukt. Bei Bewertungsparametern, die sich auf 1 kg Endprodukt beziehen, wird zum besseren Vergleich der verschiedenen Modelle die in Version 2b erhaltene Menge an Brenztraubensäure in die entsprechende äquimolare Menge an Natriumpyruvat umgerechnet.

Die Prozessdaten, die im Februar 2001 kurz nach Beginn des Forschungsprojekts erfasst wurden, basieren im wesentlichen auf Experimenten in Schüttelkolben. Im Verlauf der folgenden anderthalb Jahre bis zur dritten Datenaufnahme konnte ein deutlicher Fortgang der Entwicklung dokumentiert werden. Die erfassten Daten basieren dabei auf Versuchen mit Fermenter bis max. 7,5 L. Die Verfahrensentwicklung ist mit dem bisherigen Stand natürlich noch nicht abgeschlossen. Die Bearbeitung des Fallbeispiels stellt somit einen Ausschnitt aus der Prozessentwicklung dar.

Traditionell werden Brenztraubensäure und ihre Salze durch die Pyrolyse von Weinsäure hergestellt (näheres siehe Howard and Fraser, 1961; Cooper et al., 1983; Wohl und Maag, 1910). Seit einigen Jahren wird Brenztraubensäure in Japan auch biotechnologisch im industriellen Maßstab produziert (Li et al., 2001). Die Firma Toray Industries hält dort ein Patent auf ein fermentatives Verfahren mit der Hefe *Torulopsis glabrata* (Miyata et al., 1990). Nähere Informationen zum Prozess finden sich bei Li et al. (2001), Hua et al., (2001) und Miyata und Yonehara (2000).

## 7.2. Stoffumwandlung

In der Fermentation wird mit dem Stamm *E. coli* YYC202 und daraus abgeleiteten Stämmen aus Glucose Brenztraubensäure produziert. Das Reaktionsschema der stattfindenden Stoffumwandlungen ist in Abb. 7-1 dargestellt. Eine detaillierte Ableitung und Beschreibung der Reaktionsmodelle ist in Anhang E2 gegeben.

Im eingesetzten Stamm ist die Umwandlung von Pyruvat in Acetyl-CoA und Acetat und damit die Verbindung zum Tricarbonsäurezyklus (TCA) vollständig unterbrochen (näheres siehe Zelic et al., 2003). Zum Wachstum ist der Stamm dadurch neben Glucose auch auf die

Zugabe von Acetat angewiesen und ist somit Acetat-auxotroph. Die Bakterien wachsen während der Fermentation unter Aufnahme von Glucose, Acetat, N-Quelle, P-Quelle und  $O_2$ . Neben Biomasse und dem Produkt Brenztraubensäure wird dabei Kohlendioxid und eine Reihe nicht näher bestimmter organischer Verbindungen gebildet und Wärme freigesetzt. Die Glucose wird aus dem Medium aufgenommen und über die Glykolyse hauptsächlich zu Pyruvat umgewandelt. Da das Pyruvat nicht in den TCA transferiert werden kann, wird es als Brenztraubensäure von der Zelle ausgeschleust. Von dem zu Beginn der Prozessentwicklung verwendeten Produktionsstamm wird ein Teil des Pyruvats weiter zu Lactat umgewandelt, das ebenfalls ins Medium abgegeben wird. Weiterhin wird während des Wachstums aus einem Teil der Glucose Biomasse gebildet. Dabei dienen die Zwischenprodukte der Glykolyse und die Produkte des Pentosephosphatwegs als Vorläufersubstanzen. Im Pentosephosphatweg wird dabei auch Kohlendioxid gebildet. Das Acetat wird aus dem Medium aufgenommen und in den TCA eingeschleust. Hier dient es zum einen als Ausgangssubstanz zum Aufbau von Biomasse und wird zum anderen im TCA zu Kohlendioxid oxidiert und deckt so den Großteil des Energiebedarfs der Zelle (Atmungskette). Die Energiebilanz der Zellen wird in Anhang E2 näher diskutiert. Sowohl Teile des Acetats als auch der Glucose werden in nicht näher bestimmte, gelöste organische Verbindungen umgewandelt. Diese Verbindungen werden in den Modellen als „Organischer Rest“ zusammengefasst, dem in Ermangelung genauerer Informationen die Eigenschaften von Glucose zugeordnet werden (s. Anhang E2).

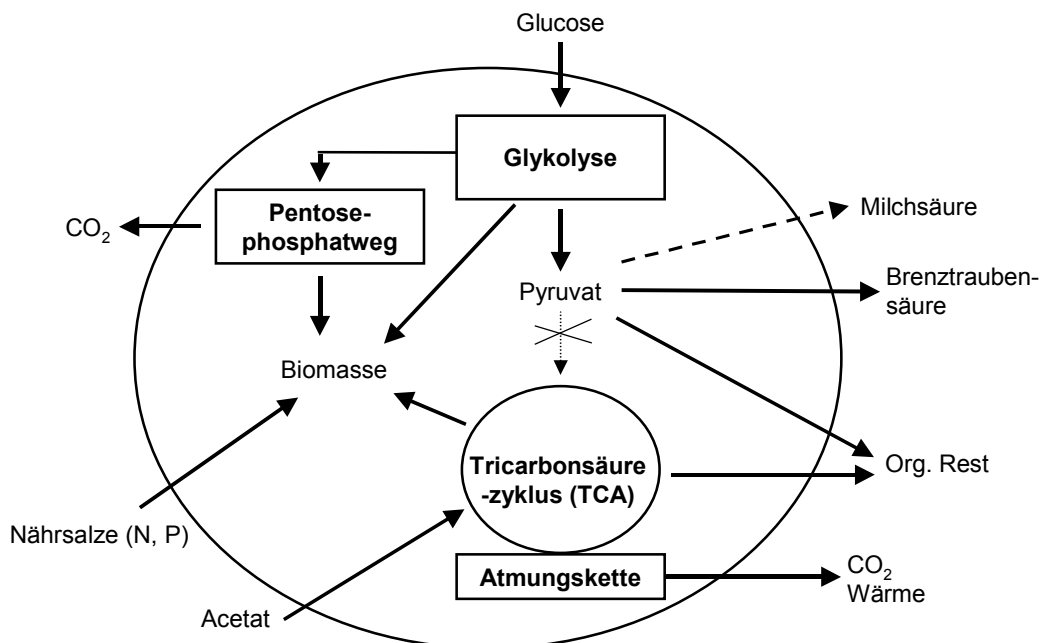


Abb. 7-1: Reaktionsschema der Brenztraubensäureherstellung mit *E. coli* YYC202 und abgeleiteten Stämmen.

Den drei Zeitpunkten der Datenaufnahme entsprechen die Versionen 1 bis 3 des Reaktionsmodells. Diese bilden die stattfindenden Stoffumwandlungen ab. Bei den zugrunde liegenden Laborversuchen wurden jedoch nie alle ablaufenden Stoffumwandlungen erfasst und quantifiziert. Dadurch enthalten die Modelle auch immer eine Reihe von Abschätzungen, die zur Schließung der Datenlücken notwendig sind. Im Verlauf der Prozessentwicklung haben sich nicht nur die zugrunde liegenden Labordaten verändert, sondern auch die Modelle wurden schrittweise verbessert. Die ermittelten Reaktionsgleichungen der einzelnen Versionen werden in die jeweiligen Simulationen übertragen.

Version 1 stellt ein stark vereinfachtes Prozessmodell dar. Es beruht vor allem auf Ergebnissen aus Schüttelkolbenexperimenten. Die Phosphoraufnahme der Biomasse ist noch nicht berücksichtigt und die gebildete Produktmenge wird aus einer erwarteten, noch nicht in einem Fermenter ermittelten Ausbeute abgeschätzt. Dabei wird von einem vollständigen Verbrauch von Acetat und Glucose ausgegangen und die C-Bilanz ist geschlossen (kein Org. Rest). Die Versionen 2 und 3 beruhen auf konkreten Daten von Fermentationen, die am IBT II durchgeführt wurden. Die Modellierung der Biomassebildung wurde dahingehend verbessert, dass die P-Aufnahme berücksichtigt und der Anteil von Acetat und Glucose an der Biomasse über den Anteil der verschiedenen Vorläufersubstanzen aus Literaturdaten abgeschätzt wurde (siehe Anhang E2). Die Modelle gehen von konkreten Labordaten aus. Hier konnte die C-Bilanz nicht geschlossen werden und die Komponente „Organischer Rest“ (s. o.) wird eingeführt.

Die Verfahrensweise ändert sich im Verlauf der Prozessentwicklung von Batch (Version 1) über Fed-Batch (Version 2) zu Repetitive Fed-Batch (Version 3). Batch und Fed-Batch unterscheiden sich im Modell prinzipiell nicht, da nur die erreichten Endkonzentrationen und die zugeführten Gesamtmengen berücksichtigt werden. Der Repetitive Fed-Batch besteht aus vier Zyklen. Im ersten Zyklus finden wie in den vorherigen Fermentationen Biomassewachstum und Produktbildung statt. Anschließend wird ein Teil der Fermenterbrühe unter Rückhalt der Biomasse abgezogen und der Reaktor mit frischem Medium aufgefüllt. Im zweiten Zyklus wird kein Acetat zugegeben. Dadurch ist kein Biomassewachstum möglich und die Brenztraubensäurebildung erfolgt mit ruhenden Zellen. Zyklus 3 und 4 sind identisch mit Zyklus 2. Die Reaktionsmodelle der Zyklen 2 bis 4 werden einzeln berechnet, für die Simulation aber zu einem Vorgang zusammengefasst (s. Anhang E2).

Neben dem Produkt werden in Zyklus 2-4 auch Kohlendioxid und Organischer Rest gebildet. Das Kohlendioxid muss aus der Glucose als einziger C-Quelle stammen, was auch



so im Modell angenommen wird. Der Stoffwechselweg von der Glucose zur  $\text{CO}_2$ -Bildung im TCA ist in der verwendeten Mutante jedoch beim Pyruvat unterbrochen (s. o.). Obwohl kein Wachstum stattfindet, kann das Kohlendioxid dagegen im Pentosephosphatweg gebildet werden. Dabei entsteht jedoch ein Überschuss von NADPH, von dem angenommen wird, dass er bei *E. coli* in der Atmungskette oxidiert werden kann.

### 7.3. Verfahrensaufbau und Simulation

In Abb. 7-2 sind die Verfahrensschemata der fünf erstellten Modellversionen wiedergegeben. Version 1, 2a und 3a stellen die drei erfassten Entwicklungsstadien des Prozesses dar (s. Kap. 7.3.1.). Version 2b und 3b sind Modelle alternativer Aufreinigungskonzepte (s. Kap. 7.3.2.). Die Modellierung der verwendeten Grundoperationen wurde bereits in Kap. 4 und den entsprechenden Anhängen B2 und B3 erläutert. Prozessparameter der Fermentation und des Aufreinigens der Lösungsmittel sind darüber hinaus in Anhang E1 angegeben. Ebenfalls in Anhang E1 ist die Menge und Zusammensetzung aller Inputströme dokumentiert und begründet. Die Simulationsmodelle sind auf der beigefügten CD-Rom hinterlegt.

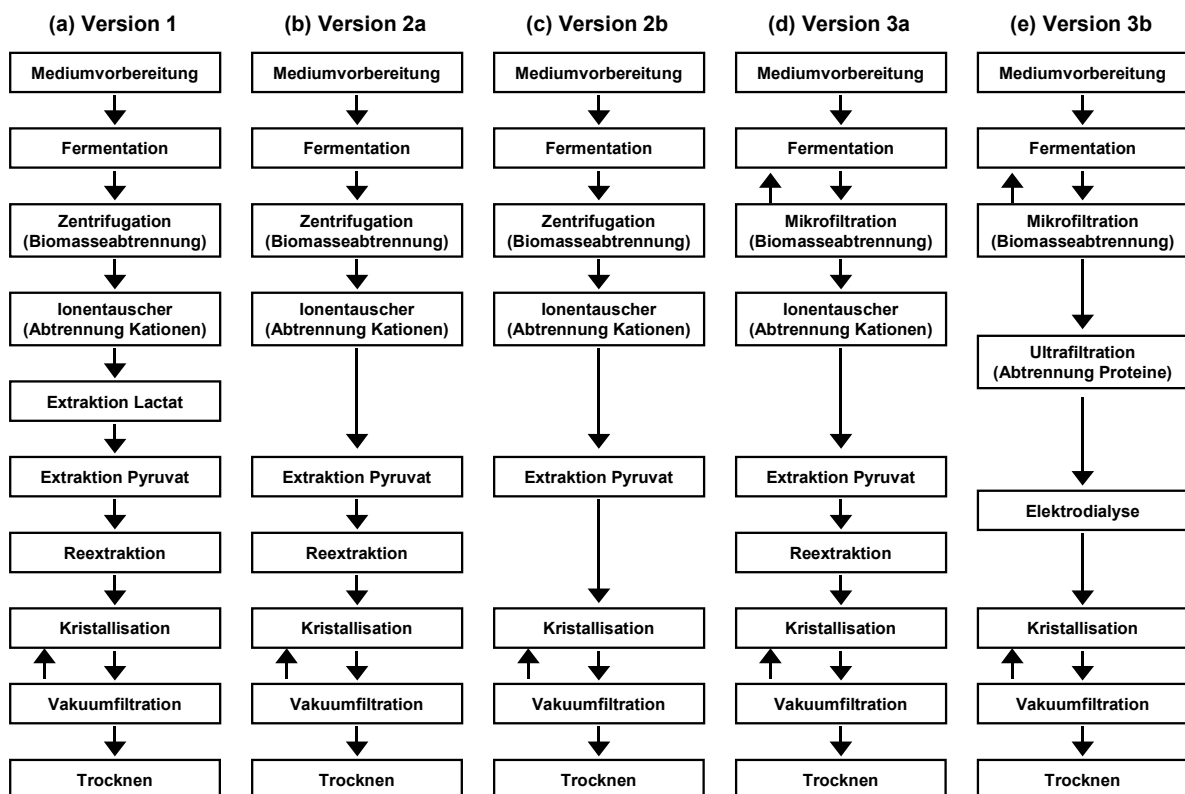


Abb. 7-2: Verfahrensschemata der Versionen 1 bis 3b.

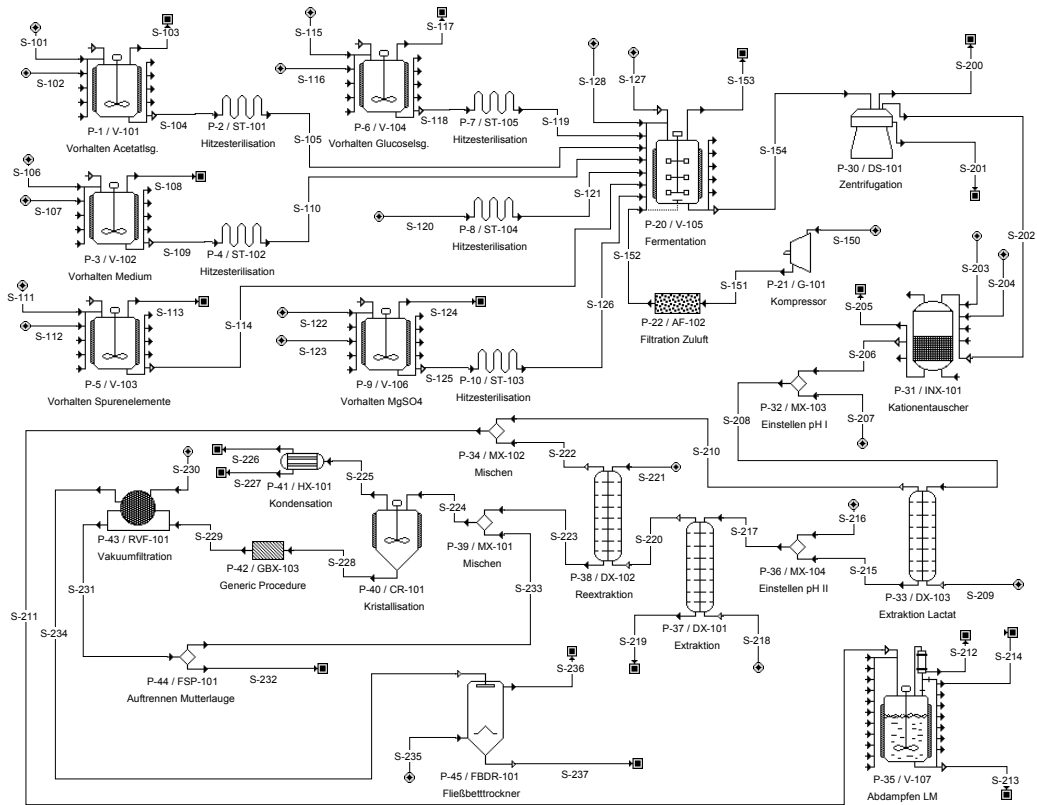
### 7.3.1. Abbildung der Entwicklungsstadien

#### 7.3.1.1. Version 1

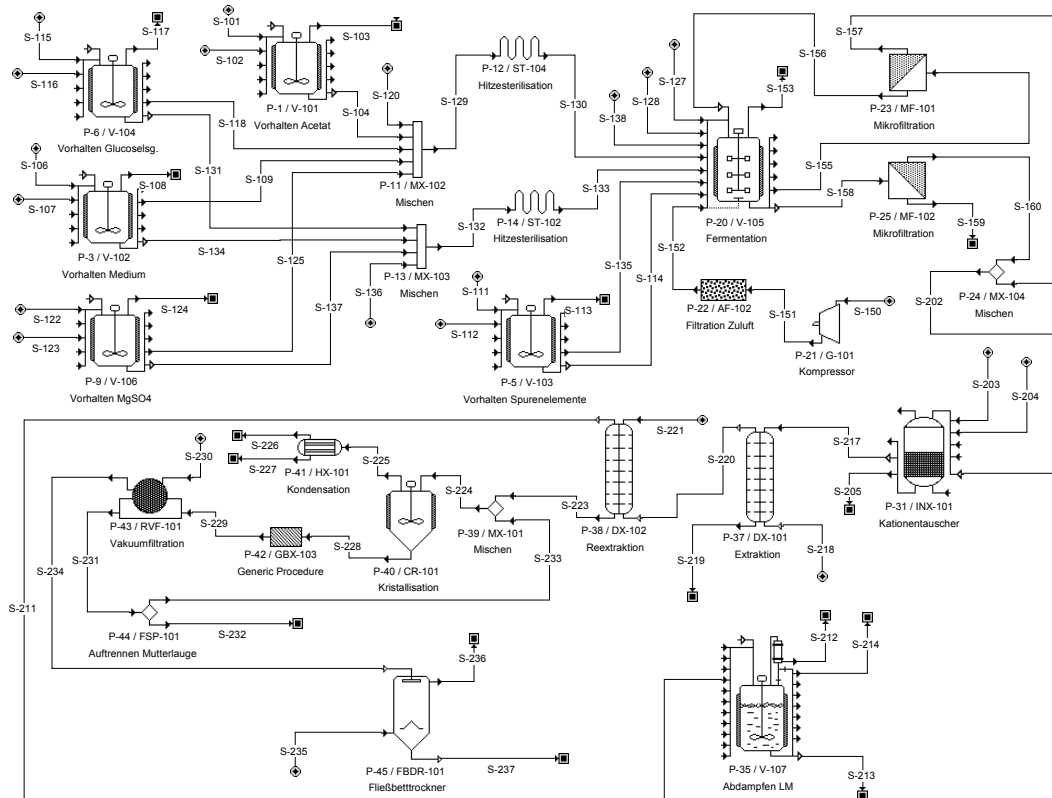
Das Fließbild der Version 1 ist in Abb. 7-3a dargestellt. Die Stoffumwandlung findet im Fermenter P-20 statt. Konzentrierte Lösungen von Glucose, Acetat, verschiedenen Mediumsbestandteilen, Spurenelementen und Magnesiumsulfat werden in den Tanks P-1, P-3, P-5, P-6 und P-9 bereitgestellt und unter Rühren vorgehalten. Bevor die Lösungen dem Fermenter zugegeben werden, werden sie über kontinuierliche Hitzesterilisatoren geführt (P-2, P-4, P-7, P-10). Die Spurenelemente werden in (5N)-HCl-Lösung vorgehalten (P-5). Aufgrund der hohen Säurekonzentration ist dort eine zusätzliche Hitzesterilisation nicht notwendig. Das Wasser, das zum Auffüllen des Fermenters auf das gewünschte Startvolumen benötigt wird (S-120), wird ebenfalls sterilisiert (P-8). Im Modell sind damit fünf Hitzesterilisatoren enthalten. In der konkreten Anlagenplanung kann diese Zahl durch eine serielle Sterilisation der einzelnen Inputströme sicherlich reduziert werden.

Nach dem Befüllen des Reaktors (P-20) wird der pH-Wert mit Ammoniaklösung (S-128) auf pH 7 eingestellt. Anschließend wird der Fermenter mit *E. coli* angeimpft (S-127) und die Fermentation beginnt. Der Fermenter wird dabei gerührt, belüftet und mit Kühlwasser bei 37°C gehalten. Die Luft (S-150) wird über den Kompressor P-21 bereitgestellt und im Filter P-22 sterilisiert. Der pH-Wert wird über die gesamte Dauer der Fermentation konstant gehalten. Dies bedeutet, dass pro Mol gebildeter Brenztraubensäure ein Mol Ammoniak (S-128) zugegeben werden muss. Das Ammoniak dient darüber hinaus neben dem zugesetzten Ammoniumsulfat als N-Quelle. Nach Ende der Fermentation wird der Reaktorinhalt durch Aufheizen sterilisiert und über S-154 abgelassen. Der Strom enthält die gebildete Biomasse, das Produkt, Lactat/Milchsäure als wichtiges Nebenprodukt und unverbrauchte Reste aller Inputstoffe.

Im ersten Downstreamschritt wird die Biomasse in der Zentrifuge P-30 abgetrennt und als Abfallstrom (S-201) weggeführt. Anschließend wird die Produktlösung über den Ionentauscher P-31 geleitet. Dieser Aufreinigungsschritt ist notwendig, da die gelösten Kationen die anschließenden Extraktionen stören können. Die gelösten Kationen werden im Ionentauscher zurückgehalten. Die Säule wird danach mit Wasser gewaschen (S-203) und die Kationen mit verdünnter Salzsäure (S-204) eluiert und als Abwasser abgeführt (S-205).



(a) Version 1



(b) Version 3a

Abb. 7-3: Fließbilder von (a) Version 1 und (b) Version 3a. Version 2a (nicht dargestellt) unterscheidet sich von Version 1 durch den Wegfall der Prozessschritte P-32, P-33 und P-36 (Einstellen pH I+II, Extraktion Lactat). S-217 verbindet dann den Ionentauscher (P-31) direkt mit der Extraktion (P-37).

Nach dem Ionentauscher folgen mit den Flüssig-Flüssig-Extraktionen die wichtigsten Aufreinigungsschritte. Hierbei wird die wässrige Produktlösung mit einem noch nicht näher bestimmten organischen Lösungsmittel, im Folgenden Lösungsmittel 1 genannt, vermischt. Die Extraktion erfolgt im Gegenstromprinzip. Dabei geht ein Teil der Brenztraubensäure und der Milchsäure in die organische Phase über und es stellt sich ein Verteilungsgleichgewicht ein, das durch den sogenannten Verteilungskoeffizienten bestimmt wird (näheres siehe Kap. 4.2.10).

Zunächst muss die Milchsäure entfernt werden. Brenztraubensäure und Milchsäure haben ähnliche chemisch-physikalische Eigenschaften. Daher ist die Abtrennung der Milchsäure vom Produktstrom relativ aufwendig. In der Extraktion findet ein nennenswerter Stoffübergang in die organische Phase nur mit der nicht dissoziierten Säure statt, während die Ionen (Pyruvat, Lactat) weitgehend in der wässrigen Phase verbleiben. Diesen Umstand macht man sich bei der Abtrennung der Milchsäure zunutze. Der pH-Wert der Produktlösung wird in P-32 mit Natronlauge (S-207) auf pH 3 eingestellt. Bei diesem pH-Wert liegt die Milchsäure bereits undissoziiert vor, die Brenztraubensäure ist dagegen noch weitgehend dissoziiert ( $pK_S$ -Wert: 2,49). Damit kann die Milchsäure in der Extraktionskolonne P-33 abgetrennt werden, während das Pyruvat zum größten Teil in der wässrigen Phase (S-215) verbleibt. Im nächsten Schritt wird in P-36 der pH-Wert mit Salzsäure (S-216) auf pH 2 reduziert. Dadurch geht die Brenztraubensäure (und der verbleibende Rest der Milchsäure) in der folgenden Extraktion P-37 in die organische Phase (Lösungsmittel 1, S-218) über. Die verbleibende wässrige Phase wird als Abwasser weggeführt (S-129).

Für die weitere Aufreinigung besteht sowohl die Möglichkeit einer Reextraktion in eine wässrige Lösung als auch die direkte Kristallisation aus dem organischen Lösungsmittel. Eine Reextraktion macht die anschließenden Prozessschritte unter Sicherheitsaspekten deutlich unkomplizierter. Weiterhin wird das Risiko einer Verunreinigung des Endprodukts mit dem organischen Lösungsmittel verringert. Welche der beiden Möglichkeiten die wirtschaftlichere ist, hängt stark vom tatsächlich verwendeten organischen Lösungsmittel ab. In der Literatur finden sich mehrere Beispiele für eine Reextraktion in wässrige Lösungen, u. a. bei der Aufreinigung von Milchsäure (Benthin und Villadsen, 1995; Siebold et al., 1995), Gluconsäure (Hirth et al., 2002), verschiedener anderer organischer Säuren (Baniel, 1982) und von Penicillin (Bailey und Ollis, 1986). Eine Reextraktion ist dabei häufig mit chemischen Wechselwirkungen, z. B. der Bildung von Salzen, verbunden (Sattler, 1995).

In Version 1 wird von einer Reextraktion (P-38) in eine (basische) NaOH-Lösung (S-221) ausgegangen. Aufgrund des hohen pH-Werts geht die Brenztraubensäure wieder in die wässrige Phase über und bildet dort Natriumpyruvat. Die noch enthaltene Milchsäure geht unter Bildung von Natriumlactat ebenfalls in die wässrige Lösung über. Im Simulationsprogramm besteht jedoch weder im Modell der Extraktion noch im Modell der anschließenden Kristallisation die Möglichkeit, Stoffumwandlungen durchzuführen. Deshalb wird nach der Kristallisation P-40 eine sogenannte „Generic Procedure“ eingefügt (P-42), in der der Teil an Natrium-Ionen und Pyruvat-Ionen, der im realen Verfahren als Natriumpyruvat kristallisiert ist, auch in der Simulation in Natriumpyruvat umgewandelt wird. Sie stellt jedoch ausdrücklich keinen realen Prozessschritt dar. Der Teil des Natriumpyruvats, der mit dem Bleedstrom verloren geht, wird in der Simulation als Natrium- und Pyruvat-Ionen belassen.

Die organische Raffinatphase der Reextraktion (S-222) und das in P-33 anfallende Lösungsmittel 1 (S-210) werden zum Reaktor P-35 geführt. Dort wird der größte Teil des Lösungsmittels abgedampft und kondensiert. Es kann anschließend im Prozess wiederverwendet werden (S-214). Der verbleibende Rest wird zu Abwasser (S-213).

Der Produktstrom S-223 wird zur Kristallisationsstufe P-40 geführt. Dort wird ein Großteil des Wassers abgedampft. Anschließend wird die Lösung abgekühlt und das Natriumpyruvat kristallisiert. Der Wasserdampf wird kondensiert (P-41) und kann ggf. im Prozess wiederverwendet werden. Die Kristalle werden im Vakuumtrommelfilter P-43 abgetrennt und gewaschen (S-230). Es wird angenommen, dass zum Erreichen einer höheren Ausbeute die Mutterlauge (S-231) zur Kristallisation zurückgeführt wird. Um eine Anreicherung unerwünschter Stoffe zu verhindern, wird in P-44 ein Bleedstrom abgetrennt. Dieser stellt eine gesättigte Natriumpyruvatlösung dar. Die Konzentration des Natriumlactats liegt im Bleedstrom S-232 dagegen weit unter der Sättigungsgrenze. Daher wird davon ausgegangen, dass es nicht auskristallisiert und das Endprodukt verunreinigt. Zur konkreten Modellierung von Kristallisation, Vakuumfiltration und Recyclingquote siehe Kap. 4.2.6 und 4.2.12. Das in der Vakuumfiltration P-43 abgetrennte Natriumpyruvat wird im Fließbettrockner P-45 mit Luft (S-235) auf 1 % Restfeuchte getrocknet (S-237).

### 7.3.1.2. Version 2 und 3

Die Bildung von Lactat konnte durch den Einsatz eines verbesserten Produktionsstamms in den weiteren Fermentationen unterbunden werden (siehe Anhang E2). Dadurch entfallen in

Version 2 die Prozessschritte zum Abtrennen des Lactats (P-32, P-33). Da der pH-Wert nach dem Ionentauscher P-31 bereits deutlich unter dem  $pK_S$ -Wert der Brenztraubensäure liegt, kann auch der Prozessschritt P-36 zur Einstellung des pH-Werts vor der Extraktion P-37 entfallen. Abgesehen von diesen Änderungen unterscheidet sich der Verfahrensaufbau der Version 2a nicht von Version 1 (Version 2b siehe Kap. 7.3.2.1). Die veränderten Stoffumwandlungen während der Fermentation und die damit verbundenen Änderungen der Inputmengen sind in Anhang E1 und E2 beschrieben.

Das Fließbild von Version 3a ist in Abb. 7-3b dargestellt (Version 3b siehe Kap. 7.3.2.2). In Version 3 wird die Verfahrensweise von Fed-Batch auf Repetitive Fed-Batch (RFB) umgestellt. Die Fermentation findet dabei in vier Zyklen statt. Die Zyklen 2-4 sind für die Simulation zu einem Schritt zusammengefasst (s. Kap. 7.2 und Anhang E2). Die Fermentation besteht damit in der Simulation aus zwei Zyklen. Die Rohstofflösungen (P-3, P-5, P-6, P-9) werden daher nicht einmalig zum Reaktor P-20 geführt, sondern im Verlauf des RFB zweimal zudosiert. Eine Ausnahme hiervon bildet die Acetatlösung (P-1), weil Acetat nur in Zyklus 1 zugegeben wird (Biomassewachstum). Da die Anzahl der Inputstellen des Fermenters P-20 in der Software auf neun beschränkt ist, werden Medium (P-3), Glucose-Lösung (P-6), Acetat-Lösung (P-1) und das zum Auffüllen benötigte Wasser (S-120, S-136) für beide Zyklen zusammengeführt (P-11, P-13), sterilisiert (P-12, P-14) und in je einem Strom (S-130, S-133) dem Fermenter zugeführt. Dies entspricht nicht unbedingt den realen Bedingungen.

Im RFB wird die Fermenterbrühe nach jedem Zyklus über die Mikrofiltrationseinheit P-23 geführt, wo die Biomasse zurückgehalten, ein Teil der Lösung jedoch abgetrennt und der Produktaufreinigung zugeführt wird (S-157). Die verbleibende Fermenterbrühe mit der gesamten Biomasse wird wieder in den Fermenter geführt (S-156), wo nach Auffüllen mit frischem Medium der nächste Zyklus beginnt. Nach Ende des RFB wird die Produktlösung in der Mikrofiltration P-25 weitgehend abgetrennt (S-160) und die Biomasse bleibt als Abfall zurück (S-159). In einer realen Anlage ist eine Mikrofiltrationseinheit ausreichend. In der Simulation müssen jedoch zwei Einheiten definiert werden, da das unterschiedliche Vorgehen (einmal Rückführung in den Fermenter, einmal Abfall; unterschiedliche Aufkonzentrierung) nicht in einer Unit Procedure simuliert werden kann.

Die beiden Produktströme (S-160, S-157) werden in P-24 zusammengeführt. Der Verfahrensaufbau der weiteren Aufreinigung ist identisch mit Version 2a, wobei in Version 3a aufgrund des RFB größere Mengen verarbeitet werden müssen.

## 7.3.2. Alternative Aufreinigungsverfahren

### 7.3.2.1. Kristallisation aus Diethylether

In Version 2b, basierend auf der 2. Datenaufnahme, wird die Verwendung von Diethylether an Stelle des Lösungsmittels 1 und der damit verbundene Wegfall der Reextraktion betrachtet. Das Fließbild von Version 2b ist in Abb. 7-4 dargestellt. Upstream, Fermentation und die Aufreinigung bis zum Ionentauscher P-31 sind identisch mit Version 2a.

In Extraktion P-37 ersetzt Diethylether das Lösungsmittel 1 als organische Aufnehmerphase (S-218). Ether ist das einzige aus der Literatur bekannte Extraktionsmittel für Brenztraubensäure. Der Verteilungskoeffizient ist jedoch relativ ungünstig. Für das in den übrigen Modellen verwendete Lösungsmittel 1 wird ein deutlich besserer Verteilungskoeffizient erwartet. Es wird angenommen, dass mit einem umfangreichen Screening Lösungsmittel gefunden werden können, die deutlich besser geeignet sind als Diethylether. Eine ausführliche Diskussion hierzu ist in Kap. 4.2.10 gegeben. Aufgrund des ungünstigen Verteilungskoeffizienten von Ether wird in der Extraktion P-37 ein größeres Volumen der Aufnehmerphase benötigt (S-218) und eine geringere Ausbeute erzielt (s. auch Anhang B2).

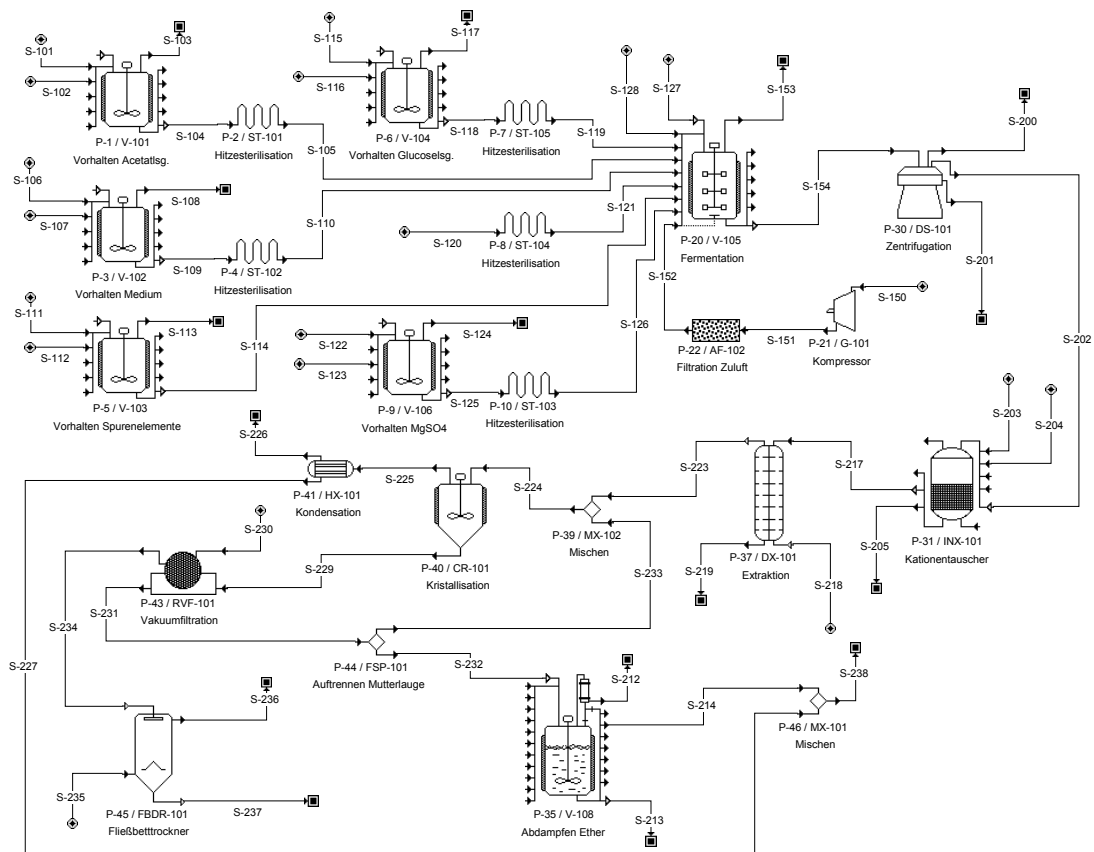


Abb. 7-4: Fließbild Version 2b (Lösungsmittel Diethylether, Kristallisation direkt aus dem Lösungsmittel).

Nach der Extraktion kann die Brenztraubensäure entweder wieder in eine wässrige Phase überführt werden (Reextraktion) oder sie kann direkt aus dem Diethylether kristallisiert werden. Eine Kristallisation aus dem organischen Lösungsmittel ist vor allem bei niedrig-siedenden Lösungsmitteln sinnvoll (Schierbaum und Vogel, 1998). Da Diethylether einen sehr niedrigen Siedepunkt besitzt (34°C), bietet sich ein direktes Abdampfen in der Kristallisation an, zumal die Verdampfungswärme von Diethylether deutlich unter der des Wassers liegt, womit Einsparungen beim Energiebedarf der Kristallisation zu erwarten sind.

Die Reextraktion P-38 entfällt somit in Version 2b. Als Endprodukt ergibt sich dadurch nicht Natriumpyruvat, wie in den übrigen Modellen, sondern Brenztraubensäure. Folglich kann in der Simulation die Hilfskonstruktion P-42, in der das Natriumpyruvat gebildet wird, ebenfalls entfallen. Die in P-40 gebildeten Kristalle werden in der Vakuumfiltration P-43 mit Diethylether statt mit Wasser gewaschen (S-230). Der Bleedstrom (S-232) enthält eine größere Menge Diethylether. Er wird daher zum Reaktor P-35 geführt, wo der Ether aufgereinigt wird. Der größte Teil des Diethylethers wird jedoch in der Kristallisationsstufe P-40 verdampft und im Kondensator P-41 wieder verflüssigt. Die beiden Ströme des aufgereinigten Diethylethers (S-214, S-227) werden in P-46 zusammengeführt. Der resultierende Strom S-238 kann im Prozess wiederverwendet werden.

Im Trockner P-45 wird das Endprodukt in der Simulation, wie in den übrigen Modellen, mit Luft getrocknet. Dabei entsteht ein Gemisch aus Luft und Diethylether. Luft-Ether-Gemische sind jedoch hochentzündlich und stellen ein großes Sicherheitsproblem dar. Bei einer etwaigen weiteren Verfolgung des Verfahrenansatzes müsste dieses Problem in der Verfahrensentwicklung gelöst werden. Im Endprodukt verbleiben Etherreste, die die weitere Verwendung des Produktes einschränken.

### **7.3.2.2. Elektrodialyse**

Eine interessante Option ist die Verwendung einer Elektrodialyse zur Aufreinigung des Produkts. Hierzu erfolgten bereits erste Vorversuche am IBT II, die im Rahmen der dritten Datenaufnahme dokumentiert wurden. Die in Version 3b modellierte Elektrodialyse beruht jedoch hauptsächlich auf Literaturdaten und weniger auf der noch nicht optimierten Anlage am FZ Jülich. Zur Verwendung der Elektrodialyse in der Aufreinigung organischer Säuren gibt es bereits mehrere Veröffentlichungen. Zumindest für die Aufreinigung fermentativ hergestellter Milchsäure wird sie auch industriell eingesetzt (Pourcelly und Gavach, 2000).



Das Fließbild von Version 3b ist in Abb. 7-5 dargestellt. Upstream und Fermentation sind identisch mit Version 3a. In der Aufreinigung entfallen die Prozessschritte Ionentauscher (P-31), Extraktion (P-37), Reextraktion (P-38) und Abdampfen des Lösungsmittels (P-35). Der erste Aufreinigungsschritt im Modell ist die Ultrafiltration P-47. Dort werden Zellreste und Proteine abgetrennt, um ein Verstopfen der Membranen in der anschließenden Elektrodialyse zu verhindern. Näheres zur Modellierung der Ultrafiltrationseinheit siehe Kap. 4.2.5.

In der Simulationssoftware ist kein Elektrodialyse-Modell enthalten. Daher erfolgt in der Simulation die Zufuhr von Säure- und Basenlösung in P-48, während die eigentliche Elektrodialyse mit den stattfindenden Stoffübergängen in P-49 dargestellt ist. Das Produkt und andere einwertige Anionen gehen dabei durch die Membran in den Säurestrom über (S-223). Das Ammonium und die übrigen einwertigen Kationen gehen in den Basenstrom über (S-246). Multivalente Ionen und nicht geladene Moleküle (z. B. Glucose) werden zum Großteil zurückgehalten und im Diluatstrom (S-245) als Abwasser weggeführt. Der Basenstrom hat eine Ammoniumkonzentration von 1,5 mol/l und kann ggf. im Prozess wiederverwendet werden (pH-Regulierung). Das Modell der Elektrodialyse wird in Kap. 4.2.11 ausführlicher beschrieben.

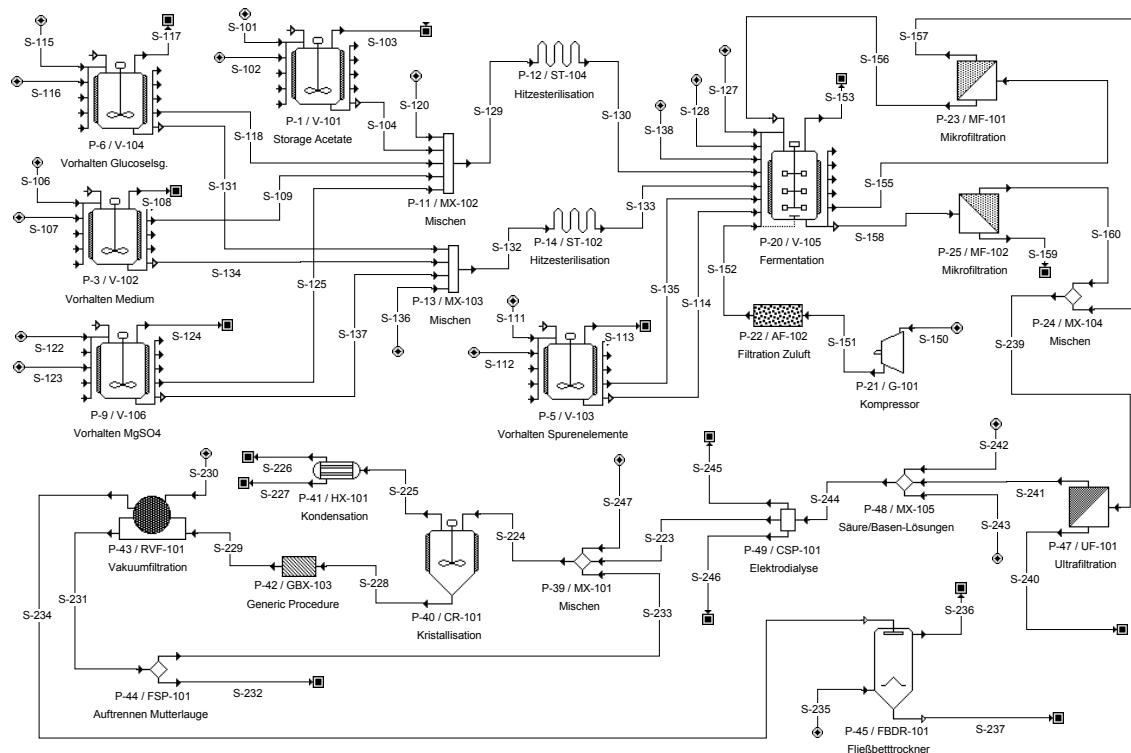


Abb. 7-5: Fließbild Version 3b (Ultrafiltration und Elektrodialyse)

Vor der Kristallisation wird dem Produktstrom in P-39 konzentrierte Natronlauge zugegeben (S-247). Dadurch kann das Produkt wie in Version 3a als Natriumpyruvat kristallisiert werden. Weiterhin dient die Lauge zur Neutralisation und bildet mit dem vorhandenen Chlorid Kochsalz. Dadurch wird das Abdampfen von HCl in der Kristallisation verhindert und der pH-Wert des Bleedstrom S-232 bleibt im neutralen Bereich (keine Korrosionsprobleme). Das Kochsalz und die übrigen Verunreinigungen bleiben im Bleedstrom (S-232) weit unter ihren Sättigungsgrenzen. Es wird daher angenommen, dass sie nicht in das Endprodukt eingehen. Der Prozessaufbau ab der Kristallisation ist wieder identisch mit Version 3a. Auch in Version 3b erhält man Natriumpyruvat mit 1 % Restfeuchte als Endprodukt.

## 7.4. Unsicherheiten

Die Modelle sind zunächst natürlich mit der in frühen Entwicklungsphasen inhärenten Unsicherheit behaftet. Dabei enthält beispielsweise das Extrapolieren der Versuchsdaten aus kleinen Laborfermentern auf einen industriellen Produktionsfermenter grundsätzlich einige Unsicherheiten. So können keine genauen Aussage darüber getroffen werden, wie sich ggf. auftretende Stofftransportlimitierungen (z. B. Sauerstoff) in großen Fermentern auf die Mikroorganismen auswirken. Im Allgemeinen können jedoch die auf Labordaten beruhenden Bereiche Upstream und Fermentation (insbesondere bei Bakterienkulturen) als gesicherter angesehen werden als die weitgehend auf Literaturdaten basierende Aufreinigung.

Innerhalb der Aufreinigung sind die Abschätzungen zu den verschiedenen Filtrationen, der Zentrifugation, dem Ionentauscher und dem Trockner so weit abgesichert, dass sich mögliche Variationen nicht entscheidend auf den Prozessaufbau und das Prozessergebnis auswirken. Die Extraktionen und die anschließende Kristallisation sind dagegen die Aufreinigungsschritte mit den größten Unsicherheiten. Der mit dem Lösungsmittel 1 in den Extraktionen zu erzielende Verteilungskoeffizient wurde anhand von Literaturdaten anderer Carbonsäuren abgeschätzt. Ob die dort dokumentierten Koeffizienten jedoch auf Brenztraubensäure übertragbar sind, ist unklar. Damit bleibt die erreichbare Ausbeute der Extraktion, die Größe der Kolonne und vor allem das notwendige Volumen der organischen Phase mit hoher Unsicherheit behaftet. Weiterhin ist das organische Lösungsmittel 1 noch nicht näher bestimmt und folglich seine Eigenschaften unsicher. Diese Eigenschaften spielen für den Prozess jedoch eine wichtige Rolle. Siedetemperatur und Verdampfungsenthalpie

beeinflussen z. B. den Energiebedarf des Verfahrens. Bei der Verwendung von Diethylether ist die Behandlung der auftretenden Sicherheitsprobleme nicht näher untersucht.

Das den Extraktionen nachfolgende Recycling des organischen Lösungsmittels ist ebenfalls mit einigen Unsicherheiten behaftet. Dies betrifft sowohl die Art der Aufreinigung als auch die erreichbare Recyclingquote. Hinsichtlich der Wiederverwendung kann jedoch festgehalten werden, dass für organische Lösungsmittel in industriellen Prozessen meist hohe Recyclingquoten erreicht werden und die in den Modellen angenommenen Quoten (alle ca. 98 %) zumindest in einer realistischen Größenordnung liegen.

Im Gegensatz zu den Extraktionen ist die Elektrodialyse besser abgesichert. Zum einen wurde die Anwendbarkeit bereits in Vorversuchen am IBT II nachgewiesen und zum anderen kann man aufgrund der prinzipiellen Funktionsweise davon ausgehen, dass die mit anderen organischen Säuren (Milchsäure, Zitronensäure u. a.) erzielten Ergebnisse aus der Literatur gut auf Brenztraubensäure übertragbar sind.

Wie in den beiden anderen Fallbeispielen, beruht die Abschätzung der Kristallisation ausschließlich auf den Löslichkeiten der beteiligten Stoffe. Für den Kristallisationsvorgang spielen, wie in Kap. 5.4 diskutiert, aber auch andere Faktoren eine Rolle. Eine gesicherte Darstellung der Kristallisation ist damit letztlich nur durch Laborexperimente möglich.

## 7.5. Sachbilanz und Energiebedarf

In Tab. 7-1 sind wichtige Prozessparameter der fünf Versionen zusammengefasst. Alle Modelle beziehen sich auf einen Fermenter mit einem Arbeitsvolumen von  $50 \text{ m}^3$ . Darin werden zwischen 2,2 und 7,2 t Endprodukt produziert. Das Endprodukt ist Natriumpyruvat mit einer Reinheit von 99 %. Die restlichen 1 % bestehen vor allem aus Wasser. Version 2b weicht hiervon ab. Endprodukt ist dort Brenztraubensäure (99 %) und die Verunreinigung besteht im wesentlichen aus Diethylether.

Die Verfahren benötigen in Version 1 knapp 60 h, in Version 2 ca. 50 h und mit dem Repetitive Fed-Batch (RFB) der Version 3 knapp 70 h. Dabei ist der Fermenter mit 43 h, 33 h bzw. 50 h immer der längste Prozessschritt und gleichzeitig Bottleneck des Verfahrens.

Die Ausbeute der Fermentation ist in Modellversion 1 am größten (s. Tab. 7-1). Das Reaktionsmodell der ersten Version beruht auf Abschätzungen und erwarteten Ausbeuten zu Beginn der Prozessentwicklung. Die weitere Prozessentwicklung hat jedoch gezeigt, dass diese Ausbeuten unter realen Fermentationsbedingungen nicht erreicht werden können und die damaligen Erwartungen zu optimistisch waren. Der Vergleich von Version 2 und 3 zeigt,

dass das Umstellen von Fed-Batch auf RFB zu einer deutlichen Steigerung der Ausbeute führt. Die dabei erreichten 70 % Kohlenstoffausbeute, d. h. 70 % aller eingesetzten C-Atome gelangen ins Endprodukt, stellen bereits einen befriedigenden Wert für Fermentationen dar. Die Aufreinigung hat in Version 1 eine relativ ungünstige Ausbeute. Hier geht bei der Abtrennung des Lactats (P-33) zusätzlich Brenztraubensäure verloren. Der Produktverlust beträgt 10 %. Eine vergleichsweise geringe Ausbeute wird auch in der Aufreinigung von Version 2b erreicht. Der ungünstige Verteilungskoeffizient von Diethylether führt hier zu höheren Produktverlusten in der Extraktion P-37 (fast 15 %). In Version 3a ist der Produktverlust von Extraktion P-37 und Reextraktion P-38 in etwa so groß wie der Produktverlust der Elektrodialyse in Version 3b. Entsprechend ist die Ausbeute der beiden Verfahrensmodelle fast identisch. Der Unterschied zwischen Version 2a und 3a beruht ausschließlich auf dem, im Vergleich zur Mikrofiltration P-25 größeren Produktverlust der Zentrifugation P-30. Die Produktverluste der Zentrifugation P-30 hängen von Produkt- und Biomassekonzentration ab. Ob der ermittelte Unterschied zur Mikrofiltration tatsächlich so groß ist, müsste in der weiteren Verfahrensentwicklung geprüft werden.

Tab. 7-1: Prozessparameter der Modellversionen zur Herstellung von Brenztraubensäure in einem Fermenter mit einem Arbeitsvolumen von 50 m<sup>3</sup>. Endprodukt ist Natriumpyruvat. Die Ausnahme hiervon bildet Version 2b, in der Brenztraubensäure Endprodukt ist. Die Parameter, die sich auf 1 kg Endprodukt beziehen, sind zur besseren Vergleichbarkeit in die, der produzierten Menge Brenztraubensäure entsprechende äquimolare Menge an Natriumpyruvat umgerechnet. Die angegebenen Ausbeuten beziehen sich immer auf die Summe der eingesetzten C-Quellen (Glucose + Acetat).  
EGW = Einwohnergleichwert (1 EGW = 120 g O<sub>2</sub>/d), COD = Chemischer Sauerstoffbedarf

Parameter	Version 1	Version 2a	Version 2b	Version 3a	Version 3b
Prozessdauer [h]	58	46	53	68	67
Endprodukt [kg]	2.184	3.066	2.193*	7.164	7.213
Ausbeute [%] (C-Mol/C-Mol) Verfahren	70,5	38,5	34,5	64,0	64,5
Ausbeute [%] (C-Mol/C-Mol) Fermentation	85,5	45,0		70,0	
Ausbeute [%] (C-Mol/C-Mol) Aufreinigung	82,5	85,5	76,5	91,5	92,0
Spezifischer Energiebedarf [MJ/kg P]	237	108	82	112	47
Spezifischer Abwasseranfall [kg/kg P]	68	43	29	47	24
COD-Belastung [g O <sub>2</sub> /kg P]	1.840	1.970	5.040	1.130	480
COD-Belastung [EGW/kg P]	6,5	8,5	19,0	3,5	1,5

\* = 24.657 Mol; 24.657 Mol Natriumpyruvat = 2.741 kg Natriumpyruvat

Die Stoffbilanz der Modelle ist in Tab. 7-2 zusammengefasst. Die wichtigsten Inputstoffe sind Glucose und Acetat als C-Quellen, Wasser und das organische Lösungsmittel (Lösungsmittel 1, Diethylether), weiterhin Natriumhydroxid zur Produktbildung, Ammonium (bzw. Ammoniak) zur pH-Regulierung und HCl, das vor allem zur Regeneration des Ionentauscher benötigt wird, sowie die in der Fermentation benötigten Nährsalze und Sauerstoff.

Tab. 7-2: Stoffbilanz der Modellversionen zur Brenztraubensäureherstellung bei der Verwendung eines Fermenters mit einem Arbeitsvolumen von 50 m<sup>3</sup>. Erläuterungen zum Endprodukt siehe Tab. 7-1. Das Recycling der organischen Lösungsmittel ist bereits berücksichtigt. NaPyr = Natriumpyruvat; BTS = Brenztraubensäure; [kg/kg P] = kg Stoff pro kg Endprodukt (= Natriumpyruvat, 99 %); Loss = Produktverlust.

Stoff	Input [kg/kg P]					Output [kg/kg P]				
	Ver. 1	Ver. 2a	Ver. 2b	Ver. 3a	Ver. 3b	Ver. 1	Ver. 2a	Ver. 2b	Ver. 3a	Ver. 3b
Essigsäure	< 0,01	0,66	0,74	0,09	0,09	-	-	-	-	-
Ammoniumsulfat	0,03	0,02	0,02	0,03	0,03	-	-	-	-	-
Ammonium*	0,25	0,23	0,25	0,20	0,19	0,25	0,20	0,22	0,19	0,19
Biomasse	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,06	0,24	0,27	0,09	0,08
Kohlendioxid	-	-	-	-	-	0,03	0,17	0,19	0,05	0,05
Diethylether	-	-	1,47	-	-	-	-	1,47	-	-
Glucose	1,14	1,44	1,61	1,17	1,16	-	0,09	0,10	0,10	0,10
HCl	0,83	0,43	0,48	0,46	< 0,01	-	-	-	-	-
Milchsäure	-	-	-	-	-	0,08	-	-	-	-
Lösungsmittel 1	0,67	0,28	-	0,30	-	0,67	0,28	-	0,30	-
NaPyr (Produkt)	-	-	-	-	-	0,99	0,99	-	0,99	0,99
Org. Rest	-	-	-	-	-	-	0,66	0,73	0,15	0,14
Sauerstoff	0,17	0,26	0,29	0,17	0,18	-	-	-	-	-
BTS (Loss)	-	-	-	-	-	0,17	0,14	0,23	0,08	0,07
BTS (Produkt)	-	-	-	-	-	-	-	0,79	-	-
Natriumhydroxid	0,76	0,37	-	0,37	0,38	-	-	-	-	-
Nährsalze	0,11	0,08	0,09	0,11	0,11	-	-	-	-	-
anorg. Salze	-	-	-	-	-	1,17	0,49	0,55	0,58	0,14
Wasser	68,97	44,45	30,08	46,94	31,97	69,55	44,97	30,41	47,34	32,36
<b>Mass Index (MI)</b>	<b>72,9</b>	<b>48,2</b>	<b>35,0</b>	<b>49,8</b>	<b>34,1</b>	<b>73,0</b>	<b>48,2</b>	<b>35,0</b>	<b>49,9</b>	<b>34,1</b>
<b>MI ohne Wasser</b>	<b>4,0</b>	<b>3,8</b>	<b>5,0</b>	<b>2,9</b>	<b>2,2</b>	<b>3,4</b>	<b>3,3</b>	<b>4,6</b>	<b>2,5</b>	<b>1,8</b>

\* Es treten, abhängig vom pH-Wert, gelöstes Ammoniak und Ammonium auf. Die Gesamtmasse ist in der Bilanz immer für Ammonium berechnet.

Im Vergleich zu den übrigen Modellen wird in Version 1 durch die zusätzliche Lactatextraktion (P-33) mehr Lösungsmittel 1 benötigt. Weiterhin wird zusätzliches Natriumhydroxid verbraucht, um den pH-Wert vor der Lactatextraktion zu erhöhen (P-32) und zusätzliches HCl, um den pH-Wert vor der anschließenden Extraktion P-37 zu reduzieren (P-36). Der im Reaktionsmodell angenommene Acetatbedarf ist deutlich geringer als der in den späteren Fermentationen ermittelte Bedarf.

In Version 2b ersetzt der Diethylether das organische Lösungsmittel 1. Aufgrund des ungünstigeren Verteilungskoeffizienten ist der spezifische Bedarf in Version 2b größer. In Version 3b entfällt dagegen das organische Lösungsmittel vollständig (Elektrodialyse). Auch der Bedarf an HCl reduziert sich durch den Wegfall des Ionentauschers P-31 stark.

Auf der Outputseite dominieren neben Wasser, organischem Lösungsmittel und Produkt der als Nebenprodukt gebildete Organische Rest und die gelösten anorganischen Salze, die aus den Nährsalzen, dem HCl und dem nicht verbrauchten Natriumhydroxid hervorgehen (s. Tab. 7-2). Weiterhin sind die bakterielle Biomasse, das in der Fermentation freigesetzte Kohlendioxid, das aus der pH-Regulierung stammende Ammonium, die Produktverluste und die nicht verbrauchte Glucose von Bedeutung.

Version 1 unterscheidet sich von den übrigen Modellen durch die zusätzliche Bildung von Lactat und einer wohl unrealistisch geringen Menge an Biomasse. Weiterhin wird in Version 1 kein Organischer Rest gebildet und die Glucose vollständig verbraucht. Version 2b zeigt den größten Produktverlust (Loss). Die Umstellung auf RFB in Version 3 führt zu einer deutlichen Reduzierung des spezifischen Anfalls an Biomasse, Kohlendioxid und Organischem Rest.

Wie in industriellen Prozessen üblich, wird das organische Lösungsmittel recycelt. Der Strom S-214 (bzw. S-238 in Version 2b) enthält das recycelte Lösungsmittel (Lösungsmittel 1 bzw. Diethylether). Dieser Teil der Lösungsmittel geht nicht in die Stoffbilanz der Modelle ein. Die Recyclingquote liegt in allen Modellen um 98 %. Als weitere Recyclingmöglichkeit kann bei den Modellen mit einer Kristallisation aus wässriger Lösung (1, 2a, 3a, 3b) das in P-41 kondensierte Wasser ggf. im Prozess wiederverwendet werden. In Version 3b kann die Ammoniumlösung, die als Basenstrom aus der Elektrodialyse P-48 resultiert, ebenfalls im Prozess recycelt werden. Berücksichtigt man diese Möglichkeit, reduziert sich das Ammonium im Abwasser von 0,19 auf 0,02 kg/kg P.

Bei den anfallenden Abfallströmen dominiert in allen Modellen das Abwasser. Fester Abfall fällt nur in der Zentrifugation P-30 an. Dieser enthält sehr viel Wasser, so dass auch eine Entsorgung über die Kläranlage möglich ist. Die im Verfahren entstehenden Emissionen

enthalten außer Luft nur Wasserdampf und Kohlendioxid. In Version 2b wird darüber hinaus vom Trockner P-45 ein Diethylether-Luft-Gemisch emittiert. Die damit verbundenen Sicherheitsprobleme wurden bereits in Kap. 7.3.2.1 diskutiert.

In Tab. 7-1 werden die anfallende Abwassermenge und ihre CSB-Belastung (Chemischer Sauerstoffbedarf) verglichen. Der Abwasseranfall liegt bei den Versionen 2a und 3a bei etwa 45 l/kg P. In Version 1 ist der spezifische Anfall aufgrund der zusätzlichen pH-Regulierungen in P-32 und P-36 und der geringeren Produktkonzentration nach der Fermentation höher, in Version 2b durch den Wegfall der Reextraktion P-38 dagegen niedriger. In Version 3b verringert sich die Abwassermenge durch den Verzicht auf Reextraktion und Ionentauscher. Die CSB-Belastung ist in Version 2b durch die größere Menge an organischem Lösungsmittel mit Abstand am größten. In Version 1 und 2a ist die Belastung in etwa gleich. Durch die verbesserte Ausbeute im RFB sinkt die CSB-Belastung in Version 3a deutlich ab. Diese Belastung verringert sich in Version 3b nochmals durch den Wegfall des organischen Lösungsmittels.

Als Energieüberträger dienen in den Modellen Heizdampf, Kaltwasser (= unter Energieaufwand gekühltes Wasser), Elektrizität und Kühlwasser. Es wird angenommen, dass zur Bereitstellung des Kühlwassers keine Energie benötigt wird. Das Kühlwasser wird deshalb separat betrachtet. Die Berechnungen zum Energieverbrauch beruhen auf den in Kap. 4 gemachten Angaben.

Abb. 7-6 vergleicht den spezifischen Bedarf der einzelnen Versionen und den Anteil der Energieüberträger. Der spezifische Energiebedarf von Version 2a und 3a ist mit etwa 110 MJ/kg P gleich. Der Bedarf der ersten Version ist dagegen doppelt so hoch. In Version 2b liegt der Bedarf mit 84 MJ/kg P dagegen etwas tiefer. Den mit Abstand niedrigsten Energiebedarf hat Version 3b mit nur 47 MJ/kg P.

Wichtigster Energieüberträger ist in allen Modellen der Heizdampf. Der Anteil der Elektrizität schwankt zwischen 10 und 30 %. Die Bedeutung des Kaltwassers ist gering. Nur in Version 2b hat die Bereitstellung des Kaltwassers einen Anteil von 33 % am Gesamtenergieverbrauch. Hier wird Kaltwasser bei der Kondensation des niedrigsiedenden Ethers benötigt.

Bei den Energieverbrauchsvorgängen dominiert in allen Modellen das Heizen (inkl. Verdampfen) mit 43-87 %, gefolgt vom Begasen (Fermenter) mit 10-23 %. Die übrigen Verbrauchsvorgänge (Rühren, Trocknen, Filtrieren, Kühlen u. a.) haben zusammen einen Anteil von 4-14 %. Nur in Version 2b hat der Kühlbedarf mit Kaltwasser einen Anteil von 33 % (s. o.).

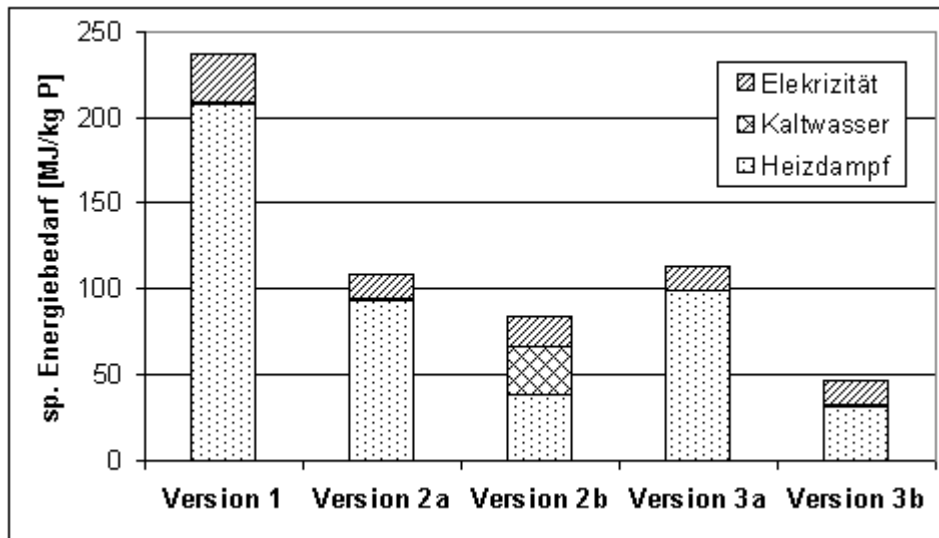


Abb. 7-6: Spezifischer Energiebedarf der Modellversionen und Anteil der einzelnen Energieüberträger. Die Werte in Version 2b sind wiederum zur besseren Vergleichbarkeit auf Natriumpyruvat im Endprodukt umgerechnet (äquimolare Menge zur im Endprodukt erhaltenen Brenztraubensäure).

Die Allokation des spezifischen Energiebedarfs auf die einzelnen Prozessschritte zeigt Abb. 7-7. Die energieintensivsten Prozessschritte sind die Kristallisation (P-40), das Abdampfen des Lösungsmittels (P-35), der Kompressor (P-21) und der Reaktor (P-20). Der höhere Energiebedarf der Version 1 wird vor allem durch den größeren Bedarf bei der Kristallisation und beim Abdampfen des Lösungsmittels bedingt. Die zusätzliche Lactatextraktion (P-33) verdoppelt die aufzureinigende LM-Menge und damit die notwendige Energie. Der höhere Bedarf in der Kristallisation beruht auf der geringeren Produktkonzentration vor der Kristallisation (S-223). Zusätzlich führt eine ungünstigere Raum-Zeit-Ausbeute der Fermentation zu einem erhöhten Bedarf von Reaktor und Kompressor.

In Version 2b ist die aufzureinigende Ethermenge in P-35 gering, so dass nur sehr wenig Energie benötigt wird. Der Bedarf der Kristallisation ist ebenfalls kleiner als in Version 2a, obwohl die abzdampfende Masse um das Vielfache größer ist. Die Verdampfungsenthalpie von Diethylether ist jedoch um den Faktor 6 geringer als die des Wassers, wodurch beim Energieaufwand die größere Masse in Version 2b überkompensiert wird. Der verdampfte Diethylether wird in P-41 kondensiert. Da sein Siedepunkt bei 34°C liegt, muss hierzu, im Gegensatz zu den übrigen Modellen, Kaltwasser verwendet werden, was die Energieeinsparungen beim Heizdampf teilweise ausgleicht (s. Abb. 7-6 u. 7-7). Auch die Extraktion P-37 muss aufgrund des niedrigen Siedepunkts von Ether mit Kaltwasser gekühlt werden, während die Extraktion in den übrigen Modellen adiabatisch abläuft (der Energiebedarf der Extraktion ist in Abb. 7-7 Teil der „übrigen Schritte“).



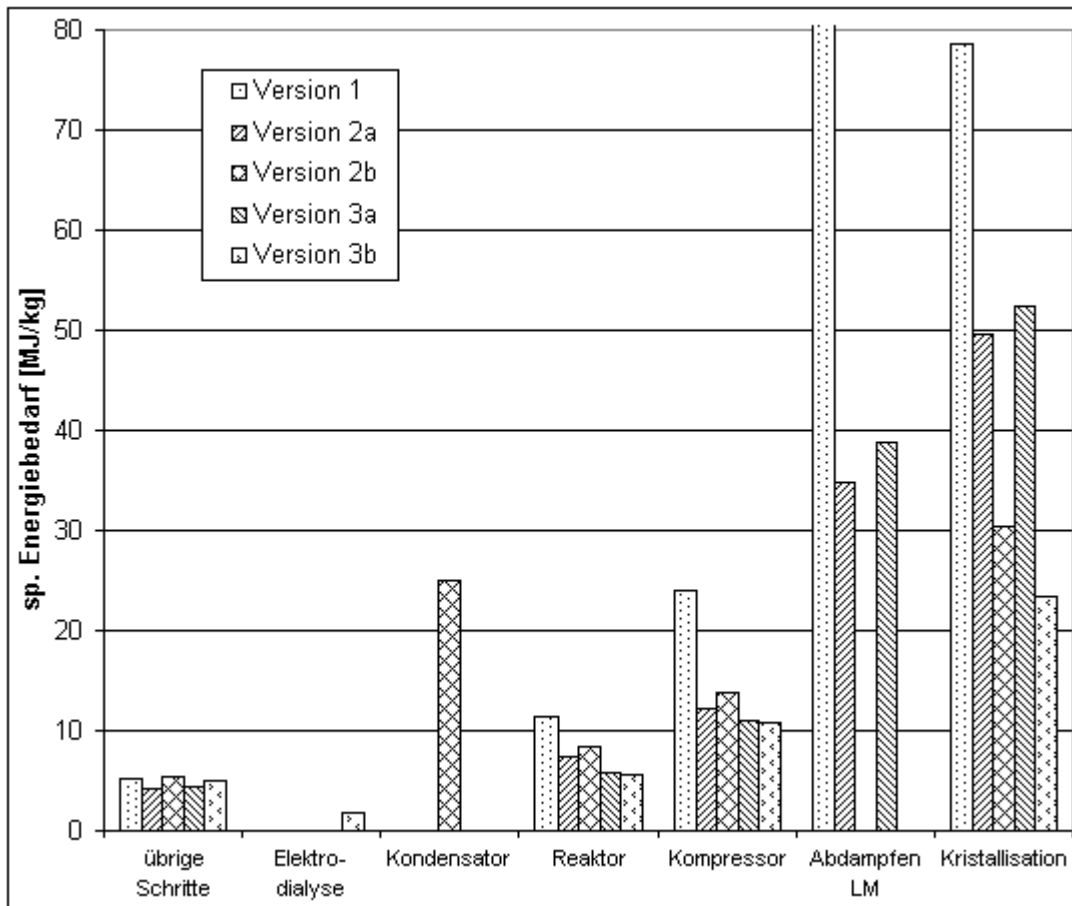


Abb. 7-7: Spezifischer Energiebedarf der einzelnen Prozessschritte in den verschiedenen Modellversionen. Der spezifische Energiebedarf für das Abdampfen des Lösungsmittels beträgt in Version 1 117 MJ/kg (liegt außerhalb der dargestellten Skala). LM = Lösungsmittel (= Lösungsmittel 1 oder Diethylether).

Ein Vergleich von Version 2 und 3 zeigt, dass die Umstellung auf RFB in Version 3 zu einer leichten Reduzierung des spezifischen Energiebedarfs von Reaktor und Kompressor führt. Version 3b ist das Modell mit dem geringsten Energiebedarf. Dies beruht zum einen auf dem Wegfall des organischen Lösungsmittels und damit des Energieverbrauchs zum Aufreinigen in P-35. Zum anderen ist die eingesetzte Elektrodialyse mit einer leichten Aufkonzentrierung des Produktstroms von 0,6 N auf 1,5 N verbunden. Dadurch sinkt die Wassermenge, die pro Einheit Produkt in der Kristallisation verdampft werden muss und damit auch der Energiebedarf der Kristallisationsstufe P-40. Der Energieverbrauch der Elektrodialyse ist dagegen vergleichsweise gering und spielt angesichts der Einsparungen in Kristallisation und Lösungsmittelaufreinigung kaum eine Rolle.

Beim spezifischen Kühlwasserbedarf zeigt sich ein ähnliches Bild wie beim Energiebedarf. Version 1 hat den mit Abstand größten Kühlbedarf mit 188 MJ/kg P. Version 2a und 3a haben einen Bedarf von etwa 88 MJ/kg P, was einer Kühlwassermenge von 4,5 m<sup>3</sup>/kg P

entspricht. Version 2b und 3b haben einen geringeren Kühlwasserbedarf. Im Gegensatz zum Energiebedarf hat jedoch Version 2b mit 22 MJ/kg P den geringsten Kühlwasserbedarf aller Modelle. Der Bedarf von Version 3b liegt bei 33 MJ/kg P. Die Prozessschritte mit dem größten Kühlwasserbedarf sind die Kondensation P-41 und das Kondensieren bei der Aufreinigung des Lösungsmittels in P-35. Bei beiden wird jedoch in Version 2b das unter Energieverbrauch bereitgestellte Kaltwasser (5°C) benötigt. Dadurch steigt zwar der Energiebedarf, der Kühlwasserbedarf wird jedoch gleichzeitig gesenkt, was zu dem niedrigeren Bedarf in Version 2b führt. Neben den beiden genannten Prozessschritten haben noch das Kühlen des Kompressors P-21 und die Kühl Schritte im Reaktor P-20 (Kühlen während Fermentation, Kühlen nach der Sterilisation der Fermenterbrühe) einen Anteil am Kühlwasserbedarf.

## 7.6. Ökologische Bewertung

Die Sachbilanz wurden mit der in Kapitel 3 beschriebenen Methode bewertet. Die Ergebnisse sind in Tab. 7-3 zusammengefasst. Die Mass Indices wurden bereits in Kap. 7.5 diskutiert. Auf der Inputseite haben vier Stoffe Klasse A-Einteilungen: Ammoniak, HCl, Natriumhydroxid und Mangansulfat. In Version 2b kommt noch der Diethylether hinzu. Das eingesetzte HCl (als konzentrierte Salzsäure) wird aufgrund seiner hohen akuten Toxizität der Klasse A zugeordnet (Schweizer Giftklasse, IDLH-Grenzwert), ebenso das als konzentrierte Natronlauge eingesetzte Natriumhydroxid (Schweizer Giftklasse, IDLH-Grenzwert, NFPA-Klassifizierung) sowie das in konzentrierter Lösung verwendete Ammoniak (Schweizer Giftklasse). Das Mangansulfat wird nur in sehr geringen Mengen als Spurenelement verwendet. Es ist in der Wirkungskategorie „Chronic Toxicity“ in Klasse A eingeteilt (MAK-Wert). Bei diesen vier Stoffen kann durch entsprechendes Handling das Risiko im Prozess minimiert werden. Die Klasse A-Einteilung des in Version 2b in großen Mengen verwendeten Diethylethers beruht auf den mit seiner Verwendung verbundenen Sicherheitsrisiken (IC „Thermal Risks“). Es ist bei den EU-Gefahrensymbolen (F<sup>+</sup>), den R-Sätzen (R 12) und der NFPA-Einteilung jeweils als hochentzündlich klassifiziert.

Auf der Outputseite haben das in allen Modellen anfallende Phosphat und Ammonium eine Klasse A-Einteilung aufgrund ihres hohen Stickstoff- bzw. Phosphorgehaltes und der damit verbundenen Bedeutung für die Eutrophierung von Boden und Gewässern (Wirkungskategorie „Eutrophication Potential“).

Tab. 7-3: Kennzahlen der ökologischen Bewertung der Brenztraubensäureherstellung. Erläuterungen zum Endprodukt siehe Tab. 7-1. MI = Mass Index, EI = Environmental Index, GEI = General Effect Index, m. W. = mit Wasser, o. W. = ohne Wasser

Parameter	Input					Output				
	Ver. 1	Ver. 2a	Ver. 2b	Ver. 3a	Ver. 3b	Ver. 1	Ver. 2a	Ver. 2b	Ver. 3a	Ver. 3b
MI [kg/kg P] (m. W.)	72,9	48,2	35,0	49,8	34,1	73,0	48,2	35,0	49,9	34,1
MI [kg/kg P] (o. W.)	4,0	3,7	4,9	2,9	2,1	3,4	3,2	4,6	2,5	1,8
Anzahl A-Stoffe	4	4	5	4	4	2	2	3	2	2
EI <sub>Mw</sub> [Indexpunkte/kg P]	0,78	0,57	1,02	0,45	0,23	0,30	0,25	1,18	0,19	0,12
EI <sub>Mult</sub> (m. W.) [Indexpunkte/kg P]	81,8	54,0	47,9	54,9	36,9	75,2	49,9	75,0	51,4	35,3
EI <sub>Mult</sub> (o. W.) [Indexpunkte/kg P]	12,9	9,5	17,8	8,0	5,0	5,7	5,0	44,6	4,0	2,9
GEI <sub>Mw</sub> (0-1)	0,20	0,15	0,21	0,15	0,11	0,09	0,08	0,26	0,08	0,07
GEI <sub>Mult</sub> (1-256)	3,2	2,5	3,6	2,8	2,3	1,7	1,5	9,8	1,6	1,7

In Version 2b kommt wiederum der Diethylether als Klasse A-Stoff hinzu. Auf der Outputseite hat der Ether zwei A-Einteilungen. Neben der Kategorie „Thermal Risks“ ist er auch in Kategorie „Photochemical Ozone Creation Potential“ der Klasse A zugeteilt, da er an der Bildung von Ozon in bodennahen Schichten beteiligt ist (s. hierzu Kap. 3.2.2).

Die Beurteilung des Lösungsmittels 1 ist schwierig, da das zu verwendende organische Lösungsmittel noch nicht bestimmt wurde. Eine Bewertung der Stoffeigenschaften ist dadurch nur sehr eingeschränkt möglich. Zunächst werden für das theoretische Lösungsmittel 1 mittlere Eigenschaften häufig verwendeter Lösungsmittel angenommen. Daraus ergeben sich mehrere Klasse B-Einteilungen, jedoch keine Klasse A-Einteilung. Einerseits ist es unwahrscheinlich, dass das organische Lösungsmittel völlig unbedenklich sein wird. Andererseits ist auch nicht zu erwarten, dass ein hoch toxisches oder in anderer Weise sehr nachteiliges Lösungsmittel gewählt wird (Pyruvat als Lebensmittelzusatz!). Daher wird für Lösungsmittel 1 zunächst eine gewisse, wenn auch nicht zu hohe Umweltgefährdung angenommen. Dieser Aspekt wird in Kap. 7.7.2 näher untersucht.

Bei der Bewertung der Inputseite des Gesamtverfahrens zeigen die ermittelten Environmental Indices (EI) und General Effect Indices ähnliche Ergebnisse (s. Tab. 7-3). Die potentielle Umweltbelastung ist bei Version 2a und 3a in etwa gleich. Version 1 liegt deutlich darüber und wird von Version 2b nochmals übertroffen. Das geringste Belastungspotential hat in allen Fällen Version 3b. Der Abstand zu Version 2a und 3a ist meist deutlich. Auf der Outputseite ist das Bild etwas uneinheitlicher. Auch hier ist Version 2b in allen Fällen die, meist mit Abstand, ungünstigste Variante. Bei den

Environmental Indices ist Version 3b wiederum das Verfahren mit dem geringsten Belastungspotential, wobei der Abstand zu den übrigen Modellen etwas geringer ist. Bei den General Effect Indices sind dagegen alle Versionen, mit Ausnahme von 2b, in etwa gleich. Das bedeutet, die mittlere Umweltgefährdung der anfallenden Stoffe ist ähnlich. Da der Mass Index von Version 3b geringer ist, d. h. die Menge der anfallenden Stoffe mit dieser mittleren Umweltgefährdung kleiner ist, kann auch hier eine Vorteilhaftigkeit von Version 3b festgestellt werden.

Abb. 7-8 vergleicht die Bedeutung der einzelnen Stoffe bzw. Stoffgruppen anhand des mittelwertbasierten Environmental Index (näheres zu mittelwertbasiertem und multiplikativem EI siehe Kap. 3.3 und 3.4). Die wichtigsten Stoffe aus Umweltsicht sind auf der Inputseite HCl, Natriumhydroxid, Lösungsmittel 1, Ether, Ammoniak und Essigsäure. Das HCl wird vor allem bei der Regeneration des Ionentauschers P-31 verbraucht. Die Menge wird durch die abzutrennende Menge an Kationen bestimmt. Das Natriumhydroxid wird in der Reextraktion benötigt. In Version 1 ist der Bedarf an HCl und NaOH größer, da sie dort zusätzlich zur pH-Regulierung vor den Extraktionen benötigt werden (P-32, P-36). Beide sind in Abb. 7-8 Teil der Kategorie „Nährsalze, Säuren, Laugen“. In Version 3b entfällt der Ionentauscher, wodurch der HCl-Bedarf deutlich absinkt. In Version 2b ist Brenztraubensäure das Endprodukt (wird direkt aus dem Ether kristallisiert). Folglich wird dort kein Natriumhydroxid benötigt.

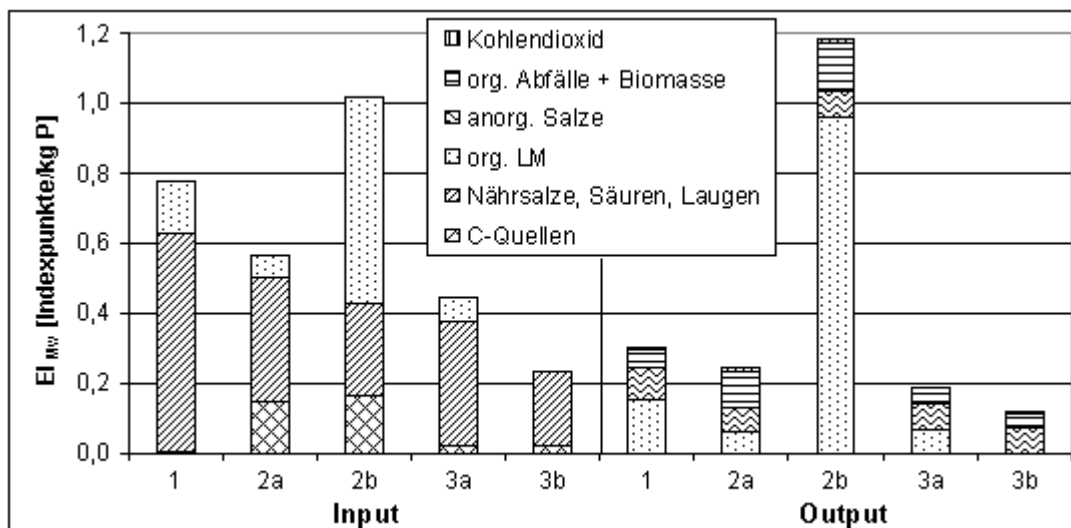


Abb. 7-8: Vergleich der Umwelrelevanz der fünf Modellversionen anhand des mittelwertbasierten Environmental Index (EI<sub>Mw</sub>) von Input- und Outputseite. org. LM = organische Lösungsmittel (Lösungsmittel 1 und Diethylether).

Der spezifische Bedarf an Lösungsmittel 1 ist in Version 2a und 3a ähnlich, da auch die Produktkonzentration vor den Extraktionen ähnlich ist. Durch die zusätzliche Lactatextraktion ist der Bedarf, und damit die verursachte Umweltbelastung, in Version 1 dagegen etwa doppelt so hoch. In Version 3b entfällt das Lösungsmittel 1. In Version 2b wird es durch den Diethylether ersetzt. Dieser wird in größerer Menge benötigt und hat einen höheren Environmental Factor. Dadurch vervielfacht sich die Bedeutung der organischen Lösungsmittel (s. Abb. 7-8).

Die Essigsäure ist in Version 2 der wichtigste Stoff, da relativ große Mengen zur Bildung der Biomasse benötigt werden (C-Quellen in Abb. 7-8). In Version 3 geht der Einfluss dagegen durch die Umstellung auf Repetitive Fed-Batch und die damit geringere spezifische Biomasse stark zurück. In Version 1 wurde die benötigte Essigsäuremenge unrealistisch klein eingeschätzt. Beim mittelwertbasierten EI entfällt die Glucose auf der Inputseite (Klasse C-Stoff). Die Bedeutung der C-Quellen wird folglich nur durch das Acetat bestimmt.

Beim multiplikativen EI ( $EI_{Mult}$ ) der Inputstoffe ist das Ergebnis ähnlich. Hier kommt noch die Glucose hinzu, die als Hauptkohlenstoffquelle in größeren Mengen benötigt wird, aber aufgrund ihrer C-Einteilung beim  $EI_{Mw}$  nicht berücksichtigt wird. Ebenso wird hier auch das in großer Menge verbrauchte Wasser (Klasse C) berücksichtigt.

Auf der Outputseite haben Ammonium, die beiden organischen Lösungsmittel und die verschiedenen gelösten organischen C-Verbindungen die größten  $EI_{Mw}$ . Die Bedeutung der gebildeten Biomasse und des emittierten  $CO_2$  ist dagegen in allen Versionen vergleichsweise gering. Das Ammonium stammt aus der pH-Regulierung des Fermenters und ist in Abb. 7-8 Teil der anorganischen Salze. In Version 3b würde sich die Bedeutung des Ammoniums durch ein Recycling von Strom S-246 deutlich reduzieren (s. Kap. 7.5).

Der Ether wird auf der Outputseite noch ungünstiger bewertet als auf der Inputseite (höherer Environmental Factor). Dadurch nimmt die Dominanz der organischen Lösungsmittel in Version 2b auf der Outputseite noch zu. Die gelösten organischen C-Verbindungen (org. Abfälle) in Abb. 7-8 umfassen den Organischen Rest, die Produktverluste, die nicht verbrauchte Glucose und in Version 1 zusätzlich das gebildete Lactat. Den größten Anteil haben sie in Version 2, da dort die Ausbeute der Fermentation am geringsten ist, also ein hoher Anteil der C-Atome zu organischem Abfall wird.

Beim  $EI_{Mult}$  spielen auf der Outputseite ebenfalls Ammonium und organische Lösungsmittel die wichtigste Rolle. Die Bedeutung von Biomasse und Kohlendioxid ist größer als beim  $EI_{Mw}$ . Ebenso erhalten die gelösten anorganischen Salze eine größere Gewichtung, da sie

mehrere Verbindungen enthalten, die zwar in größeren Mengen anfallen, aber aufgrund ihrer Unbedenklichkeit (Klasse C) beim  $EI_{Mw}$  herausfallen (z. B. NaCl).

Die Impact Category Indices (ICI) und Impact Group Indices (IGI) vergleichen die Bedeutung der verschiedenen Wirkungskategorien (IC) bzw. Wirkungsklassen (IG) für die Umweltrelevanz des Verfahrens. Dabei zeigen die mittelwertbasierten  $ICI_{Mw}$  und  $IGI_{Mw}$  deutliche Abstufungen, während die multiplikativen  $ICI_{Mult}$  und  $IGI_{Mult}$  kaum Unterschiede in der Gewichtung zeigen. Im Folgenden werden daher nur die mittelwertbasierten Indices diskutiert. Auf der Inputseite dominiert die Toxizität der Stoffe (55-65 %, IG „Organisms“). Die übrigen Wirkungsklassen haben alle in etwa den gleichen Anteil an der potentiellen Umweltbelastung der Verfahren. Die Dominanz der Toxizität beruht vor allem auf der Verwendung von größeren Mengen der A-Stoffe HCl, NaOH und Ammoniak.

Version 2b weicht von dieser Verteilung ab. Hier hat das Risiko (IG „Component Risk“) mit 43 % die größte Bedeutung, gefolgt von Toxizität mit 34 % und der Ressourcenverfügbarkeit (IG „Resources“) mit 19 %. Die Grey Inputs spielen dagegen keine Rolle. Diese Verteilung spiegelt weitgehend die Einteilung des Diethylethers wider, der das Belastungspotential von Version 2b dominiert.

Auf der Outputseite der Versionen 1, 2a und 3a dominiert die IG „Water/Soil“, die übrigen Wirkungsklassen haben in etwa die gleiche Gewichtung. Diese Verteilung wird bedingt durch das Ammonium (N-Gehalt, IC „Eutrophication Potential“) und die organischen Lösungsmittel, die organischen Verbindungen und die Biomasse (CSB, IC „Organic Carbon Pollution Potential“). Daneben hat auch das Phosphat (P-Gehalt, IC „Eutrophication Potential“) einen gewissen Einfluss auf die Wirkungsklasse „Water/Soil“.

In Version 2b haben dagegen die Wirkungsklassen „Air“ und „Component Risk“ mit je knapp einem Drittel den größten Anteil, gefolgt von der IG „Water/Soil“ mit 23 %. Dies spiegelt, wie auf der Inputseite, wiederum weitgehend die Einteilung des Diethylethers wider. Im Gegensatz dazu dominiert in Version 3b die IG „Water/Soil“ noch stärker als in den übrigen Versionen (76 %). Die IG „Organisms“ hat noch einen Anteil von 16 %, während die Klassen „Air“ und „Component Risk“ praktisch keine Rolle spielen. Durch den Wegfall des organischen Lösungsmittels ist ihre Bedeutung deutlich geringer geworden, wodurch die IG „Water/Soil“, die vor allem durch Ammonium, organische Verbindungen, Biomasse und Phosphat bestimmt wird, noch stärker dominiert.

## 7.7. Sensitivitätsanalysen

### 7.7.1. Volumen organische Aufnehmerphase in Extraktion P-37

#### 7.7.1.1. Modelländerungen

Das organische Lösungsmittel ist aus Umweltsicht einer der kritischsten Stoffe im Verfahren. Darüber hinaus gehört das Recycling des Lösungsmittels zu den Prozessschritten mit dem höchsten Energiebedarf. Der Verteilungskoeffizient  $K_i$  ist der Schlüsselparameter einer Extraktion (s. Kap. 4.2.10). Zusammen mit der gewünschten Ausbeute, der Größe der Kolonne (Anzahl der theoretischen Böden) und dem Volumen und der Produktkonzentration der wässrigen Abgeberphase bestimmt er das notwendige Volumen der Aufnehmerphase. Dabei wird in der Regel das Verhältnis von Aufnehmerphase zu Abgeberphase definiert. In den Modellen wird für die Extraktion P-37 von einem Verhältnis von 1:1 ausgegangen.

Der in den Modellen angenommene Verteilungskoeffizient ( $K_{\text{PYR}} = 1$ ) beruht auf einer nur groben Abschätzung und ist dementsprechend mit hoher Unsicherheit behaftet. Nimmt man an, dass die übrigen Parameter (Ausbeute, Kolonnengröße, Produktkonzentration und Volumen Abgeberphase) konstant sind, wird das Volumen der Aufnehmerphase durch den Verteilungskoeffizienten bestimmt. Im Folgenden soll nun das Volumen der Aufnehmerphase variiert werden, um die Auswirkung unterschiedlicher Verteilungskoeffizienten zu untersuchen. Hierzu wird das Modell der Version 3a verwendet. Die Ergebnisse werden mit dem Alternativverfahren 3b (Elektrodialyse) verglichen.

Das Verhältnis von Aufnehmerphase (S-218) und Abgeberphase (S-217) wird von 1:10 bis 2:1 variiert. Das Volumen des Produktstroms S-217 ergibt sich aus den vorhergehenden Prozessschritten. Die Variation wird durch die Änderung des Volumens an organischem Lösungsmittel in S-218 erreicht. Dadurch verändert sich automatisch das Volumen der Extraktphase (S-220), die gleichzeitig Feed der Reextraktion P-38 ist. Dort ist das Verhältnis Aufnehmerphase/Abgeberphase auf 1:1 festgelegt. Die Wassermenge in S-221 wird entsprechend an das veränderte Volumen des Feeds angepasst. Bei einem Verhältnis von 1:10 in P-37 wäre die Wassermenge in S-221 zu gering, um die gewünschte Menge an Pyruvat zu lösen. Daher wird das Verhältnis in P-38 (Reextraktion) in diesem Fall auf etwa 1:2 geändert, was einer gesättigten Lösung plus 20%igem Sicherheitsaufschlag entspricht (angenommene maximale Löslichkeit von Natriumpyruvat: 400 g/l).

Hinsichtlich des Energiebedarfs führt die Variation des Volumens der Aufnehmerphase in P-37 zu Veränderungen beim Aufreinigen des Lösungsmittels (P-35). Weiterhin ändert sich der spezifische Energiebedarf zum Verdampfen, Kühlen und Rühren bei der Kristallisation, da sich mit dem Volumen die Produktkonzentration in S-223 ändert.

### 7.7.1.2. Ergebnis

Abb. 7-9 zeigt die Veränderung des mittelwertbasierten Environmental Index ( $EI_{Mw}$ ) des Verfahrens (Outputseite) bei verschiedenen Volumina der Aufnehmerphase. Da sich die Menge an organischem Lösungsmittel (Lösungsmittel 1) linear verändert, zeigt auch der  $EI_{Mw}$  einen linearen Verlauf. Das alternative Aufreinigungsverfahren zur Extraktion ist die Elektrodialyse. Daher ist in Abb. 7-9 auch der  $EI_{Mw}$  der Version 3b dargestellt. Es wird deutlich, dass der Index des Extraktionsverfahrens innerhalb der betrachteten Grenzen das niedrigere Niveau des Elektrodialyseverfahrens nicht erreicht. Der multiplikative EI der Outputseite und die beiden EIs der Inputseite zeigen das gleiche Bild mit zum Teil noch deutlicheren Abständen. Eine Ausweitung des Betrachtungsrahmens auf ein Verhältnis kleiner 1:10 (Quotient 0,1 in Abb. 7-9) erscheint nicht sinnvoll. Beim genannten Verhältnis muss die Brenztraubensäure in der Extraktphase bereits eine Konzentration von 450 g/l (5 N) erreichen. Eine noch höhere Löslichkeit im organischen Lösungsmittel (bei gleichzeitig günstigem Verteilungskoeffizienten) ist kaum zu erwarten.

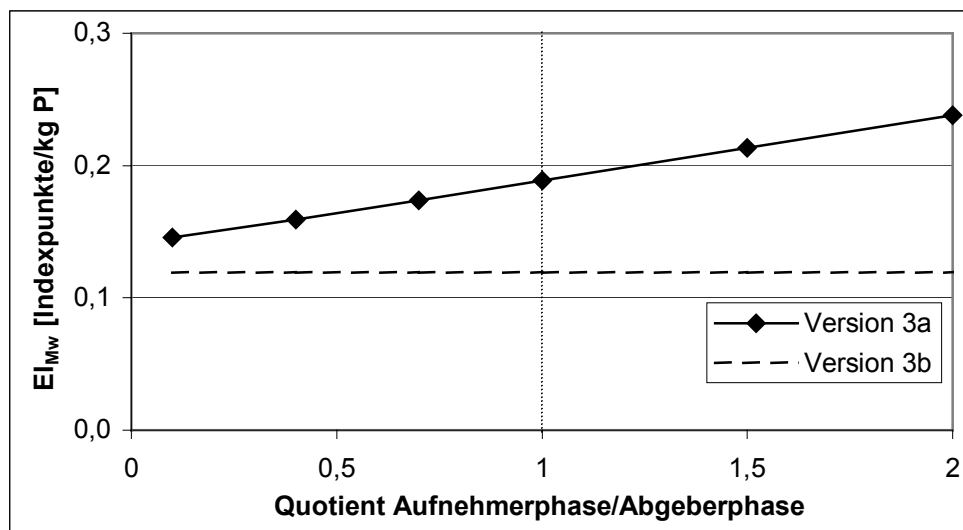


Abb. 7-9: Mittelwertbasierter Environmental Index ( $EI_{Mw}$ ) der Outputseite von Version 3a bei verschiedenen Volumina der Aufnehmerphase S-218 in der Extraktion P-37. Die vertikale gepunktete Linie gibt das Verhältnis Aufnehmerphase zu Abgeberphase (Feed) im Standardmodell der Version 3a an.



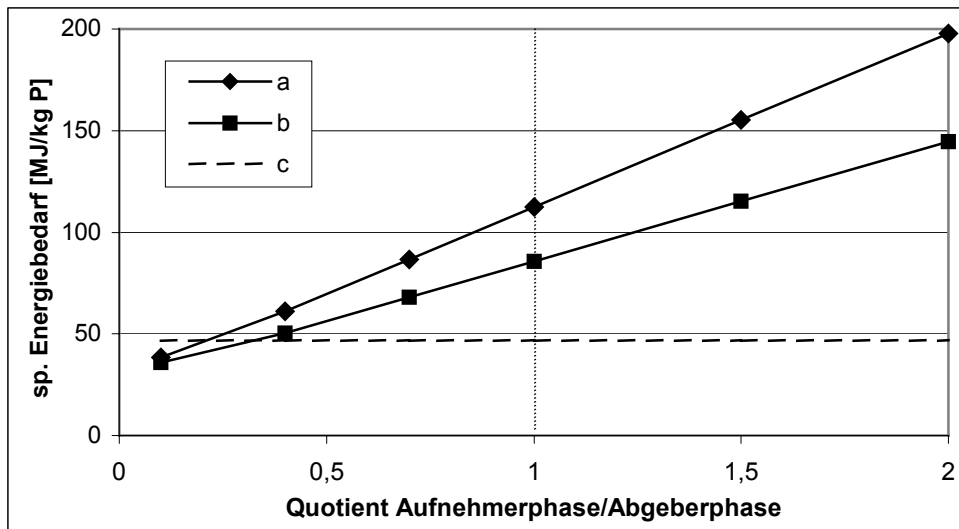


Abb. 7-10: Energiebedarf von Version 3a bei verschiedenen Volumina der Aufnehmerphase S-218 in der Extraktion P-37. Bei Kurve (a) ist Lösungsmittel 1 die Verdampfungsenthalpie von Wasser zugeordnet ( $\Delta h_v = 2.257 \text{ kJ/kg}$ ), in (b) beträgt seine Verdampfungsenthalpie  $\Delta h_v = 500 \text{ kJ/kg}$ . (c) gibt den spezifischen Energiebedarf der Version 3b (Elektrodialyse) an. Die vertikale gepunktete Linie gibt das Verhältnis Aufnehmerphase zu Abgeberphase im Standardmodell der Version 3a an.

Beim Energieverbrauch zeigt sich ein etwas anderes Bild (s. Abb. 7-10). Bei einem Verhältnis von 1:4,6 (Quotient 0,22) erreicht der spezifische Energiebedarf der Version 3a (Kurve a) das Niveau des Elektrodialyseverfahrens. Bleiben die übrigen Einflussparameter unverändert, entspricht dies einem Verteilungskoeffizient um  $K_{pyr} = 5$ .

Für das noch nicht näher bestimmte Lösungsmittel 1 wurde in den Modellen die Verdampfungsenthalpie von Wasser angenommen. Die meisten organischen Lösungsmittel haben jedoch eine Verdampfungsenthalpie, die um den Faktor 2-8 unter dem Wert von Wasser liegt (s. Kap. 7.7.2). Kurve (b) in Abb. 7-10 zeigt den spezifischen Energiebedarf bei einer Verdampfungsenthalpie von  $500 \text{ kJ/kg}$  (Faktor 4,5). Das Niveau des Elektrodialyseverfahrens wird dann bereits bei einem Verhältnis Aufnehmerphase zu Abgeberphase von 1:3,2 erreicht. In der Simulation entspricht dies einem Verteilungskoeffizienten von  $K_{pyr} = 3-3,5$ . Ob ein solcher Koeffizient für eine organische Säure realistisch ist, bleibt jedoch fraglich. Möglicherweise ist dies nur durch Lösungsmittelgemische oder Reaktivextraktion erreichbar (s. Kap. 4.2.10).

Trotz der Unsicherheiten, die in der Modellierung der Extraktion bestehen (z. B. hinsichtlich der Stoffeigenschaften des Lösungsmittels), kann es als wahrscheinlich angesehen werden, dass das Umweltbelastungspotential inklusive des Energiebedarfs auch bei einem günstigen Verteilungskoeffizienten im Extraktionsverfahren höher liegt als bei der alternativen Aufreinigung mit Elektrodialyse.

## 7.7.2. Stoffeigenschaften Lösungsmittel 1

### 7.7.2.1. Modelländerungen

Lösungsmittel 1 bestimmt entscheidend den Energieverbrauch und die potentielle Umweltbelastung mit (s. Kap. 7.5, 7.6). Bisher wurde nicht ermittelt, welches organische Lösungsmittel in den Extraktionen (P-37, P-33) verwendet wird. Deshalb wurde das theoretische Lösungsmittel 1 definiert, dessen genaue Eigenschaften nicht bekannt sind.

Bei der spezifischen Wärmekapazität und der Verdampfungsenthalpie, die den Energieverbrauch in den Heiz-, Kühl- und Verdampfungsschritten bestimmen, wurden die Werte von Wasser übernommen ( $c_p = 4.185,5 \text{ J/kg K}$ ;  $\Delta h_v = 2.257 \text{ kJ/kg}$ ). Die meisten organischen Lösungsmittel haben jedoch weitaus geringere Werte. Die Verdampfungsenthalpie liegt in der Regel bei 300-1.200 kJ/kg, die spezifische Wärmekapazität zwischen 1.000 J/kg K und 2.500 J/kg K (Lide, 2002). Um die Abhängigkeit des Gesamtenergieverbrauchs von den Stoffeigenschaften des Lösungsmittels 1 zu untersuchen, wird die Verdampfungsenthalpie zwischen 300 und 1.200 kJ/kg variiert. Dabei wird angenommen, dass die Wärmekapazität bei der geringsten Verdampfungsenthalpie 1.000 J/kg K und bei der höchsten Verdampfungsenthalpie 2.500 J/kg K beträgt (ohne dass sich dies aus den chemisch-physikalischen Zusammenhängen zwingend ergeben würde). Den Zwischenwerten von  $\Delta h_v$  werden entsprechende Zwischenwerte der spezifischen Wärmekapazität zugeordnet.

Bei der Ermittlung der Environmental Factors (EF) für Input- und Outputseite wurden, wie bereits in Kap. 7.6 diskutiert, für das Lösungsmittel 1 mittlere Eigenschaften angenommen. Auf Input- und Outputseite wurden jeweils drei Klasse B-Einteilungen und eine Klasse C-Einteilung in den vier Wirkungsklassen festgelegt. Die gleiche Gewichtung hat beispielsweise das Lösungsmittel Butylacetat. Im Folgenden wird der Environmental Factor von Lösungsmittel 1 für alle möglichen Kombinationen der Klassen A, B und C variiert und der daraus folgende Environmental Index (EI) des Verfahrens berechnet. Dadurch kann der Einfluss der Umweltrelevanz des eingesetzten Lösungsmittels auf das Belastungspotential des Verfahrens untersucht werden. Bei den folgenden Sensitivitätsanalysen wird von Modellversion 3a ausgegangen.

### 7.7.2.2. Ergebnis

Der spezifische Energiebedarf bei verschiedenen Verdampfungsenthalpien (und spezifischen Wärmekapazitäten) von Lösungsmittel 1 ist in Abb. 7-11 dargestellt. Mit zunehmender Verdampfungsenthalpie nimmt der Energieverbrauch linear zu. Auch bei einer niedrigen Verdampfungsenthalpie bleibt der Energiebedarf von Version 3a (Extraktionsverfahren) dabei deutlich über dem Energiebedarf der alternativen Version 3b (Elektrodialyse). Hier kann von einem signifikanten Unterschied ausgegangen werden.

Beim Vergleich der verschiedenen Versionen wurde für Version 2b, in der statt Lösungsmittel 1 Diethylether verwendet wird, ein niedrigerer Energiebedarf ermittelt (s. Kap. 7.4). Abb. 7-11 zeigt jedoch, dass der spezifische Bedarf von Version 3a bei einer Verdampfungsenthalpie von ca. 550 kJ/kg für Lösungsmittel 1 das Niveau von Version 2b erreicht. Der ermittelte Schnittpunkt liegt bei einer Verdampfungsenthalpie, die für ein organisches Lösungsmittel durchaus realistisch ist. Ein signifikanter Unterschied zwischen Version 3a und 2b kann daher nicht festgestellt werden. Ebenso ist kein realer Unterschied zwischen Version 2a und 2b zu erwarten, da sich die Änderung der Stoffeigenschaften des Lösungsmittels dort in gleicher Weise auswirkt.

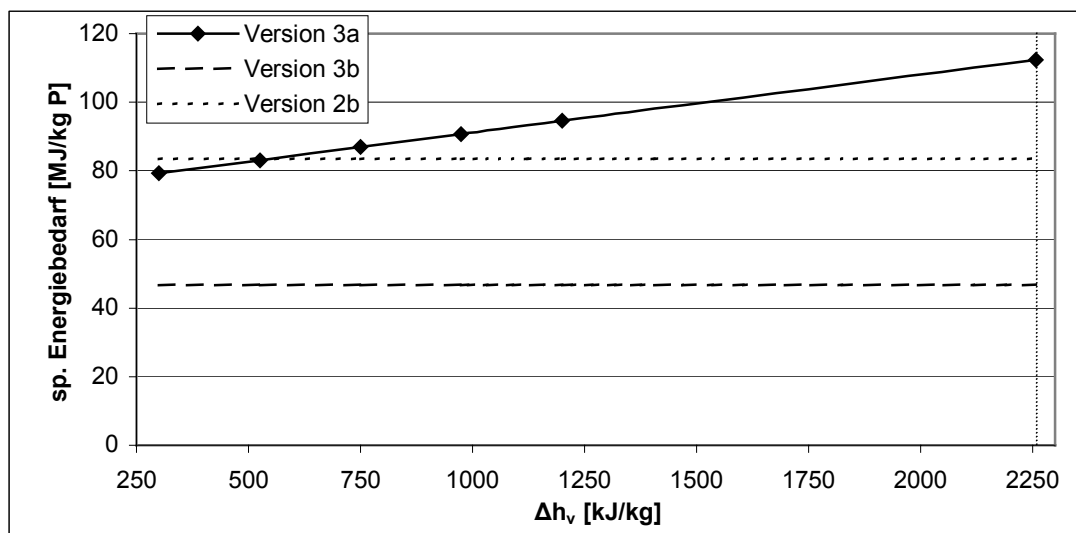


Abb. 7-11: Spezifischer Energiebedarf der Versionen 3a, 3b und 2b bei verschiedenen Verdampfungsenthalpien von Lösungsmittel 1. Die vertikale gepunktete Linie gibt die angenommene Verdampfungsenthalpie (= Wasser) im Standardmodell von Version 3a an.

Die mittelwertbasierten Environmental Indices ( $EI_{Mw}$ ) von Version 3 in Abhängigkeit vom Environmental Factor ( $EF_{Mw}$ ) des Lösungsmittels 1 ist in Abb. 7-12 gezeigt. Auch bei einer sehr geringen Umweltrelevanz des Lösungsmittels (sehr kleiner  $EF_{Mw}$ ) bleibt der  $EI_{Mw}$  der Inputseite deutlich über dem EI der alternativen Version 3b. Das heißt, dass unter den Aspekten Toxizität, Sicherheitsrisiko und Ressourcenreichweite der eingesetzten Rohstoffe und der mit ihrer Bereitstellung verbundenen Grey Inputs, Version 3b deutlich positiver zu beurteilen ist, und zwar unabhängig von dem in Version 3a eingesetzten Lösungsmittel. Die Anwendung des multiplikativen  $EI_{Mult}$  führt zur gleichen Schlussfolgerung.

Bei der Bewertung der Outputseite, die die Sicherheitsrisiken der freigesetzten Stoffe und ihre Wirkung auf Mensch und Tier und die Umweltkompartimente Boden, Wasser und Luft berücksichtigt, zeigt sich ein etwas anderes Bild. Bei einem  $EF_{Mw} = 0$  sind die  $EI_{Mw}$  der beiden Versionen identisch. Bei  $EF_{Mw} = 0,08$ , dem nach der Klassifikation nächst möglichen Wert, ist der Unterschied so gering, dass er sicherlich im Bereich der Unschärfe der Methode liegt. Findet man also ein Lösungsmittel, mit dem die gewünschten Verteilungskoeffizienten und Ausbeuten erreicht werden und das eine sehr geringe Umweltrelevanz besitzt (nur Klasse C oder eine, maximal zwei Klasse B-Einteilungen), wäre die potentielle Umweltbelastung durch die Outputstoffe in Version 3a und 3b ähnlich. Es ist jedoch zumindest fraglich, ob ein solches Lösungsmittel existiert. Der multiplikativ ermittelte  $EI_{Mult}$  der Outputseite ist, im Gegensatz zum  $EI_{Mw}$ , sehr ähnlich zu den Indices der Inputseite. Auch bei sehr geringem  $EF_{Mult}$  des Lösungsmittels ist hier Version 3a deutlich ungünstiger.

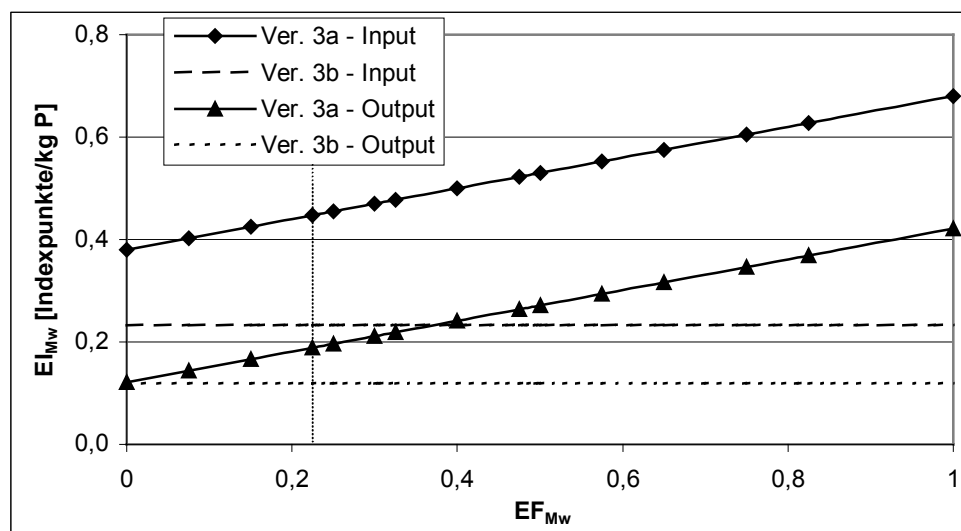


Abb. 7-12: Mittelwertbasierter Environmental Index ( $EI_{Mw}$ ) für Input- und Outputseite von Version 3 bei verschiedenen Environmental Factors (EF) für Lösungsmittel 1. Die vertikale Linie gibt den  $EF_{Mw}$  von Lösungsmittel 1 im Standardmodell an.

## 7.8. Fazit

Basierend auf den erfassten Prozessdaten und Literaturangaben konnte der Entwicklungsprozess des Verfahrens dokumentiert und Modelle des erwarteten Produktionsprozesses erstellt werden. Die erstellten Modelle sind dabei naturgemäß mit gewissen Unsicherheiten behaftet, die bei den Prozessschritten Extraktion und Kristallisation am größten sind. Während der Projektlaufzeit bestand ein kontinuierlicher Kontakt mit den Prozessentwicklern in Jülich, denen die erstellten Modelle in Berichtform zugänglich gemacht und somit zusätzliche Entscheidungshilfen geliefert wurden.

Die im Verlauf der Entwicklung erreichten Verbesserungen in der Fermentation spiegeln sich auch in den entsprechenden Modellversionen wider. Dabei zeigt die zu optimistische Gestaltung des Reaktionsmodells in Version 1, dass nicht alle in frühen Phasen gemachten Abschätzungen den späteren Realitäten entsprechen.

Der Vergleich von Diethylether und Lösungsmittel 1 in den beiden Modellen der Version 2 macht deutlich, dass ein Prozess mit dem einzigen, bisher bekannten Extraktionsmittel für Pyruvat aus Umweltsicht und wohl auch aus ökonomischer Sicht als sehr ungünstig zu beurteilen ist und für eine Realisierung bessere Lösungsmittel gefunden werden müssen.

Der Vergleich von Version 3a und 3b und auch die durchgeführten Sensitivitätsanalysen zeigen, dass eine Aufreinigung mit einer Elektrodialyse als zentralem Reinigungsschritt unter den aktuellen Modellbedingungen aus Umweltsicht günstiger beurteilt werden muss als eine Aufreinigung mit Flüssig-Flüssig-Extraktion. Sowohl Materialintensität (Mass Index) und Energiebedarf als auch die verschiedenen ökologischen Indizes zeigen für die Elektrodialyseaufreinigung eine geringere potentielle Umweltbelastung an.

Abgesehen von Version 2b wird das Belastungspotential des Verfahrens auf der Inputseite vor allem durch die, auf der Toxizität einzelner Inputstoffe beruhende, direkte negative Wirkung auf Mensch und Tier dominiert. Dieses Gefahrenpotential wird im wesentlichen durch die eingesetzten Säuren und Laugen bestimmt. Das Risiko kann durch entsprechende Maßnahmen im industriellen Prozess gering gehalten werden.

Auf der Outputseite betrifft die potentielle Belastung vor allem die Umweltkompartimente Wasser und Boden, sowohl durch Freisetzung von eutrophierenden N- und P-Verbindungen als auch durch organische Substanzen, die ohne vorherige Klärung zur Sauerstoffzehrung in Gewässern führen. Durch eine effektive Abwasserbehandlung kann die tatsächliche Umweltbelastung stark reduziert werden.

Der Mass Index ohne Wasser beträgt in Version 3a 2,9 kg/kg P, in Version 3b 2,1 kg/kg P. Der spezifische Energieverbrauch der Versionen liegt bei 112 MJ/kg P bzw. 47 MJ/kg P (Standardmodelle). Legt man den Heizwert der folgenden Brennstoffe zugrunde, entspricht dies für Version 3a einem Verbrauch von 2,7 kg Heizöl oder 3,9 kg Koks kohle und für Version 3b von 1,1 kg Heizöl oder 1,6 kg Koks kohle. Diese Zahlen sind natürlich nur sehr vorsichtig zu interpretieren, da Übertragungseffizienzen bei der Bereitstellung der im Verfahren verwendeten Energieüberträger und weitere Effekte bei der Energieversorgung nicht berücksichtigt sind. Bei den verschiedenen Energieüberträgern (Heizdampf, Kaltwasser, Elektrizität) bedeutet weiterhin gleicher Energiebedarf nicht unbedingt auch gleiche Umweltbelastung. Für das Verfahren kann man aber grundsätzlich feststellen, dass für die Umweltbelastung sowohl Stoff- als auch Energieeinsatz eine wichtige Rolle spielen.

Für die weitere Prozessentwicklung lassen sich aus den Simulationen und der Bewertung der erhaltenen Sachbilanzen ökologische Verbesserungspotentiale ableiten. Eine mögliche Verfahrensverbesserung liegt in der Reduzierung des hohen Wasserverbrauchs, der ein typisches Merkmal vieler biotechnologischer Prozesse ist. Der Wasserverbrauch an sich ist im humiden Mitteleuropa aus Umweltsicht weniger entscheidend. Er wirkt sich jedoch negativ auf die Anlagengröße aus (Fermenter, Aufreinigung). Vor allem aber spielt das Heizen, Verdampfen und Kühlen des Wassers eine wichtige Rolle für den Energieverbrauch. Reduziert werden kann der spezifische Wasserverbrauch durch eine Erhöhung der Produktkonzentration im Fermenter, was sowohl den Bedarf im Fermenter als auch in der nachfolgenden Aufreinigung reduziert. Weitere Verbesserungen wären möglich, wenn das Volumen der Aufnehmerphase in der Reextraktion (Version 3a) oder das Volumen des Säurestroms in der Elektrodialyse (Version 3b) reduziert werden könnte, d. h. die Aufkonzentrierung in diesen Schritten erhöht würde. Dies hätte vor allem eine direkte Reduzierung des Energiebedarfs in der anschließenden Kristallisation zur Folge.

Der aus Umweltsicht durchaus relevante Verbrauch von Acetat und Glucose und der damit verbundene Anfall von organischen Verbindungen kann letztlich nur durch eine Erhöhung der Ausbeute von Fermentation und Downstreamprocessing reduziert werden. Durch die Umstellung auf Repetitive Fed-Batch wurden hier bereits Verbesserungen erzielt. Ob eine weitergehende Verbesserung möglich ist, muss die weitere Prozessentwicklung zeigen.

Sollte sich die Extraktion als die wirtschaftlichere Alternative erweisen, ist bei der Suche nach einem geeigneten Lösungsmittel neben Verteilungskoeffizient und Löslichkeit unbedingt auch auf die Umweltverträglichkeit des Lösungsmittels zu achten, da es das Belastungspotential des Verfahrens entscheidend mitbestimmt (s. auch Kap. 7.7.2.).

Ein großes Verbesserungspotential besteht bei den eingesetzten Säuren und Laugen (HCl, NaOH,  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ ) und den daraus entstehenden Verbindungen im Output. Das Natriumhydroxid wird fast ausschließlich zur Bildung von Natriumpyruvat benötigt. Eine nennenswerte Reduzierung ist damit kaum möglich.

Das HCl wird vor allem im Ionentauscher zum Eluieren der Kationen eingesetzt. Die notwendige Menge wird unmittelbar durch die Menge der abzutrennenden Kationen bestimmt, die zum allergrößten Teil aus Ammonium bestehen, welches im Reaktor zur pH-Regulierung benötigt wird. Eine starke Reduzierung von Ammonium- und HCl-Bedarf wäre folglich durch eine deutliche Verringerung der Ammoniumzugabe im Fermenter zu erreichen. Dies würde aber bedeuten, dass der pH-Wert im Verlauf der Fermentation stark absinkt. Ob dies für eine Fermentation mit *E. coli* möglich ist, ist jedoch fraglich.

Eine Alternative wäre das weitgehende Recycling des Ammoniums. In der Elektrodialyse von Version 3b wird der Großteil des Ammoniums mit dem Basenstrom abgetrennt. Wenn dieses Ammonium die Elektrodialyse mit ausreichend hoher Konzentration und ausreichend geringer Verunreinigung verlässt, so dass es zur pH-Regulierung der nachfolgenden Fermentation verwendet werden kann, würde dies eine deutliche Reduzierung des Belastungspotentials bedeuten. Werden die Anforderungen hingegen nicht erfüllt, wird der stark basische Strom zu Abwasser und muss vor der weiteren Behandlung wahrscheinlich mit Säure neutralisiert werden, womit sich letztlich das gleiche Ergebnis wie im Ionentauscher ergeben würde.





## VIII. ABSCHLUSSDISKUSSION

---

Die in der vorgelegten Arbeit entwickelte Methode hat zum Ziel, basierend auf den in frühen Phasen der Prozessentwicklung vorhandenen Daten, die Prozesscharakteristiken zu erfassen, fehlende Daten durch Modellbildung und Simulation abzuschätzen und eine einfache und schnelle ökologische Bewertung zu ermöglichen. Bei der Bewertung wird für jeden Input- und Outputstoff eines Prozesses aus einer Reihe von Wirkungskategorien ein so genannter Environmental Factor abgeleitet, der das Potential des Stoffes beschreibt, Umweltbelastungen zu verursachen. Mit Hilfe dieser Environmental Factors werden die Komponenten der ermittelten Stoffbilanz gewichtet und die verschiedenen Indizes berechnet. Die Anwendung auf die beschriebenen Fallbeispiele zeigt, dass die Methode zur Identifizierung ökologischer Charakteristiken biotechnologischer Verfahren in frühen Phasen der Prozessentwicklung geeignet ist. Dabei konnten Verbesserungspotentiale in den Verfahren identifiziert und Prozessalternativen verglichen werden. Die erstellten Modelle und Simulationen der Fallbeispiele bilden darüber hinaus eine fundierte Grundlage für weitere Untersuchungen, wie z. B. für ökonomische Beurteilungen. Gemeinsam mit den Bewertungsergebnissen liefern sie auch Teilinformationen für eine Bewertung sozialer Aspekte der Nachhaltigkeit, z. B. Informationen zu Toxizität, Geruchsbildung und Sicherheitsaspekten.

Die entwickelte Methode wurde für die Bewertung biotechnologischer Verfahren eingesetzt, kann jedoch auch zur Bewertung chemischer Verfahren verwendet werden. Dadurch kann die häufig postulierte ökologische Vorteilhaftigkeit biotechnologischer Verfahren gegenüber chemischen Prozessen überprüft und auf eine objektive Grundlage gestellt werden.

Bei der Modellierung und Simulation hat sich die Verwendung der Software SuperPro Designer als zielführend erwiesen, wobei grundsätzlich auch die Verwendung anderer Simulationsprogramme wie Aspen Plus oder auch der Einsatz von Excel-Kalkulationen denkbar ist. Die verwendete Software ermöglicht einerseits eine ausreichend komplexe Darstellung biotechnologischer und chemischer Verfahren und ist andererseits vergleichsweise einfach im Aufbau. Sie bietet durch die im Programm bereits vormodellierten Grundoperationen und die dort für viele Prozessparameter hinterlegten Erfahrungswerte eine wertvolle Grundlage, die ein zügiges Erstellen der Prozessmodelle erlaubt.

Trotz dessen kostet das Erstellen der Modelle Zeit. Der Aufwand sinkt dabei mit der Erfahrung des Anwenders. In allen Fällen gilt grundsätzlich: Je besser die Prozessdaten aus dem betrachteten Entwicklungsprojekt, desto besser die Modelle und umso präziser die sich darauf aufbauenden Bewertungen.

Die Modelle stellen logischerweise ein vereinfachtes Abbild der Realität dar. Insbesondere in frühen Entwicklungsphasen bestehen Lücken bei den notwendigen Prozessdaten. Folglich beruhen die Modelle in einigen Bereichen auf Abschätzungen, die mit Unsicherheiten behaftet sind. Das zu Beginn der Verfahrensentwicklung erstellte Modell ist daher nicht unbedingt identisch mit dem tatsächlichen späteren Produktionsprozess. Für die in frühen Entwicklungsphasen durchzuführende Bewertung und die zu treffenden Entscheidungen sind die Verfahrensmodelle jedoch ausreichend exakt. Weiterhin lassen sich die Modelle im Verlauf der Entwicklung schrittweise aktualisieren, wie am Fallbeispiel Pyruvat gezeigt. Mit Hilfe von Sensitivitätsanalysen, wie sie beispielsweise für die Fallstudie  $\alpha$ -Cyclodextrin durchgeführt wurden, können die bestehenden Unsicherheiten deutlich reduziert werden. Grundsätzlich ist bei der Erstellung der Modelle und Simulationen auf eine genaue Dokumentation der getroffenen Abschätzungen und der bestehenden Unsicherheiten und damit auf ein hohes Maß an Transparenz zu achten.

Von der Sachbilanz der Modelle ausgehend, ermöglicht die entwickelte Bewertungsmethode eine klare Identifizierung der ökologischen Verbesserungspotentiale. Bestehende Unsicherheiten bei der Bewertung können durch Sensitivitätsanalysen reduziert werden, wie anhand der Eigenschaften des organischen Lösungsmittels im Pyruvatbeispiel gezeigt wird. Die Methode der ökologischen Bewertung kann natürlich auch separat verwendet werden, d. h. aus anderen Quellen stammende Sachbilanzen bewerten (s. z. B. Kap. 6: Spaltung von Penicillin G).

Bei der Bewertung der Stoffe in den Wirkungskategorien hat sich die Verwendung einer einfachen, dreistufigen ABC-Klassifizierung (hohe, mittlere oder geringe Umweltgefährdung) bewährt. Diese Vorgehensweise ermöglicht eine schnelle Zuordnung und ist für die in frühen Entwicklungsphasen entscheidende Identifizierung der wichtigsten Stoffe ausreichend exakt. Durch die vergleichsweise grobe Abstufung kann unter Umständen die relative Bedeutung zweier Stoffe zueinander in der Bewertung in gewissem Maße von der Realität abweichen. Bei der ökologischen Optimierung eines bestehenden Prozesses, bei dem die vorhandenen Daten gut gesichert und folglich exaktere Aussagen erreichbar sind, ist daher eine stärkere Differenzierung in den Wirkungskategorien möglicherweise sinnvoll.

Eissen (2001) und Koller (2000) verwenden auch bei der Bewertung in der Prozessentwicklung eine stärkere Differenzierung in den Wirkungskategorien.

Bei der Auswahl der Wirkungskategorien sind die wichtigsten Umweltwirkungen erfasst. In besonderen Fällen kann es möglicherweise spezielle Belastungen geben, die nicht berücksichtigt werden. Die Erfassung und Bewertung aller denkbaren Umweltbelastungen ist jedoch ausdrücklich nicht das Ziel der Methode. Dies ist, wenn überhaupt, nur mit großem Zeitaufwand möglich. Daher wird die Umweltrelevanz der Stoffe oft ganz ausgeblendet und entsprechende Methoden betrachten nur die Massenströme oder beziehen Umweltaspekte nur in geringem Maße mit ein. Für eine sinnvolle Bewertung ist jedoch insbesondere in frühen Entwicklungsphasen, auch aus Effizienz-Gesichtspunkten, ein Konzentrieren auf die wichtigsten Umweltwirkungen die beste Vorgehensweise. Dies erfordert aber eine Festlegung, welches die wichtigsten Umweltwirkungen sind (Wirkungskategorien) und wie diese zueinander zu gewichten sind. Für diese Festlegung gibt es keine rein wissenschaftliche Begründung. Bei der Auswahl der Wirkungskategorien und ihrer Zusammenführung zu einem aggregierten Wichtungsfaktor spielen daher auch immer subjektive Wertungen eine Rolle. Folglich gehen die Meinungen hierzu auseinander. Gerade deshalb ist es wichtig, bei der Bewertungsmethode anzugeben, welche Umweltwirkungen berücksichtigt sind und transparent darzulegen, wie sie zu einem Wichtungsfaktor (Environmental Factor) aggregiert wurden. In der vorgestellten Methode erhalten die jeweiligen Wirkungsklassen die gleiche Gewichtung. Bei der Bewertung der Inputstoffe sind also die Aspekte Sicherheit, Ressourcenreichweite, Grey Inputs und negative Wirkungen auf Organismen gleich gewichtet, auf der Outputseite entsprechend Sicherheitsaspekte und die Wirkungen auf Organismen und die Umweltkompartimente Luft und Wasser/Boden. Die relative Bedeutung der verschiedenen Wirkungen wird damit letztlich durch die Festlegung der Klassengrenzen in den Wirkungskategorien bestimmt. Beispielsweise werden Geruchsbelästigungen dadurch schwächer gewichtet, dass keine Klasse A definiert wird.

Trotz der damit verbundenen subjektiven Einflüsse wird die Aggregation als wichtig erachtet und ist ein zentraler Teil der Methode. Im Gegensatz hierzu verzichten andere Bewertungsmethoden ganz auf eine Aggregation der verschiedenen Umweltaspekte (z. B. UBA-Methode: Schmitz und Paulini, 1999). Bei der ökologischen Bewertung von Verfahren handelt es sich in der Regel um Vergleiche von alternativen Prozessen oder Prozessschritten. Hier muss man letztlich immer zu einer Aussage „besser, schlechter oder gleich“ gelangen. Diese Aussage stellt jedoch die höchst mögliche Aggregation der vorhandenen

Informationen dar, d. h. aggregiert werden muss in jedem Fall: Entweder über eine festgelegte und transparente Methode oder mit Intuition und Erfahrung. Dabei ist gar nicht auszuschließen, dass ein erfahrener Umweltbewerter im Einzelfall durchaus zu besseren Ergebnissen gelangen kann als eine festgelegte Methode, die auf Besonderheiten eines Prozesses logischerweise nicht eingehen kann. Das Ziel der vorgestellten Methode ist jedoch, dass sie direkt vom Prozessentwickler angewendet werden kann und keine langjährige Erfahrung in der Umweltbewertung voraussetzt. Das transparente Vorgehen erleichtert dabei auch die Kommunikation der Ergebnisse gegenüber Dritten.

Für eine sinnvolle Interpretation sind bei der Verwendung der aggregierten Indizes natürlich auch die dahinterstehenden Daten und Berechnungswege zu berücksichtigen. Die Aggregation der potentiellen Umweltbelastung auf einen einzigen, konkreten Wert (EI) darf dabei nicht eine Genauigkeit und Schärfe der Bewertung suggerieren, die den bestehenden Unsicherheiten nicht entspricht. Hier ist wiederum eine transparente Dokumentation der Bewertung wichtig.

Der Energieverbrauch ist nicht in die Ableitung der verschiedenen Indizes einbezogen. Stoffseite und Energieseite stehen also in der Bewertung nebeneinander. In einer Weiterentwicklung der Methode wäre ggf. ein Zusammenführen von Stoff- und Energieseite möglich, bei dem der Energieverbrauch in einen Stoffverbrauch transferiert würde. Die mit der Energiebereitstellung verbundenen Stoffverbräuche hängen jedoch stark von der verwendeten Energiequelle ab. Weiterhin wäre dies eine zusätzliche gewichtende Abstraktion, die die Übersichtlichkeit der Methode nicht unbedingt verbessern würde. Das stärkste Gegenargument ist jedoch, dass in frühen Entwicklungsphasen die Abschätzung des Energiebedarfs meist noch schwieriger und unsicherer ist als die Ermittlung der Stoffbilanz. Daher wird die Einbeziehung des Energiebedarfs in die Bewertungsmethodik später ansetzenden Methoden wie der Ökobilanzierung vorbehalten.

Bei der Entwicklung der Bewertungsmethode wurde versucht, die Menge an Stoffdaten, die zur Bewertung der Input- und Outputstoffe notwendig sind, gering zu halten und nur Eigenschaften oder Klassifizierungen zu verwenden, die leicht zugänglich und weitgehend bekannt sind. Trotz dessen sind für die Einteilung in den 14 Wirkungskategorien noch einige Informationen notwendig. Um die Anwendbarkeit der Methode weiter zu verbessern, sollte in Zukunft versucht werden, die Anzahl der Wirkungskategorien und der notwendigen Stoffdaten weiter zu reduzieren, ohne die Aussagekraft der Indizes entscheidend zu verringern. Eine zusätzliche Verbesserung der Anwendbarkeit wäre auch durch eine

weitgehende Automatisierung der Methode, d. h. durch die Entwicklung eines entsprechenden Softwaretools, zu erreichen.

Die in der vorgelegten Arbeit durchgeführten Sensitivitätsanalysen reduzieren die bestehenden Unsicherheiten. Sie betrachten einen Parameter und können Aussagen über die durch diesen Parameter bedingte Unsicherheit machen. Für die Interpretation der Ergebnisse wäre darüber hinaus die Ermittlung eines Standardfehlers für das gesamte Modell und für die anschließende Bewertung wünschenswert. Dies könnte in einer weitergehenden Arbeit geklärt werden.

Im Vergleich zur vorgestellten Methode ist eine Ökobilanzierung (Life Cycle Assessment, LCA) bedeutend arbeitsintensiver und betrachtet meist einen bestehenden Prozess. Daneben unterscheidet sich die vorgestellte Methode von der Ökobilanz durch die unterschiedliche Einbeziehung der Bilanzräume. Die erarbeitete Methode betrachtet den Bereich „from cradle to gate“, dabei vor allem den Produktionsprozess selbst. Die Vorketten sind in vereinfachter Weise durch die Input-Environmental Factors berücksichtigt. Das Verhalten der Outputstoffe nach ihrer Freisetzung in die Umwelt wird von den Output-Environmental Factors einbezogen.

Die Ökoeffizienz-Analyse der BASF (Schrott und Saling, 2000) ist ebenfalls bedeutend aufwendiger als die vorgestellte Methode. Sie betrachtet den ganzen Lebensweg und bezieht das Produkt in die Bewertung mit ein. Sie entspricht damit eher der Ökobilanzierung. Eine Anwendung in frühen Phasen der Prozessentwicklung ist dabei nicht der Schwerpunkt der Ökoeffizienz-Analyse.

Die Methoden von Koller (2000) und Eissen (2001) sind für den Einsatz in frühen Entwicklungsphasen konzipiert. Im Gegensatz zur vorgestellten Methode beziehen sie jedoch die Modellbildung und Simulation nicht in ihre Methodik ein. Folglich sind sie auf das Vorhandensein brauchbarer Sachbilanzen angewiesen, was sich insbesondere bei der Berücksichtigung des Energiebedarfs als nachteilig erweisen dürfte. Der grundsätzliche Aufbau der ökologischen Bewertung ist dagegen bei allen drei Methoden ähnlich, wobei die Methode von Eissen (2001) stärker auf chemische Synthesen und weniger auf biotechnologische Verfahren ausgerichtet ist. Die Aspekte Ressourcenverfügbarkeit und Grey Inputs sind jedoch bei Koller (2000) gar nicht und bei Eissen (2001) nur eingeschränkt, durch Einbeziehen der Rohstoffpreise, berücksichtigt. Beide Methoden legen dagegen ein stärkeres Gewicht auf die Abschätzung des Verhaltens der Stoffe in der Umwelt.

Die Anwender-Zielgruppe der vorgestellten Methode sind Prozessentwickler. Dabei wendet der Prozessentwickler die Methode selbstständig an und bezieht die erhaltenen Ergebnisse in

den Entscheidungsprozess der Verfahrensentwicklung ein. Die Methode wurde so gestaltet, dass sie auch ohne größere Vorkenntnisse in der Umweltbewertung verwendet werden kann. Wird die Methode nicht vom Prozessentwickler selbst angewendet, sollte zumindest eine enge Zusammenarbeit mit ihm erfolgen, um die Methode zeitnah mit regelmäßigem Feedback einsetzen zu können. Denn die Verwendung der Methode ist dann am effektivsten, wenn die Ergebnisse zu dem Zeitpunkt als Entscheidungshilfe zur Verfügung stehen, zu dem die Entscheidungen tatsächlich getroffen werden. Die Methode kann dann als Steuerungselement dienen, welches es ermöglicht, die Ressourcen in Forschung und Entwicklung auf die vielversprechendsten Prozesse zu konzentrieren und Verfahren, deren Realisierung schwerwiegende Probleme entgegenstehen, frühzeitig zu erkennen und so den weiteren Verlust von Investitionen zu vermeiden. Diese Funktion kann die Methode besser erfüllen, wenn sie gemeinsam mit einer ökonomischen Bewertung durchgeführt wird. Daher ist es wichtig, dass die erstellten Modelle auch als Grundlage einer ökonomischen Beurteilung dienen können und die Ergebnisse von ökonomischer und ökologischer Bewertung zu einer Bewertung der Ökoeffizienz zusammengeführt werden können. Dies wird im Rahmen des DBU-Projektes „Ökonomische und Ökologische Evaluation biokatalytischer Prozesse während ihrer Entwicklung“ (AZ 13040/02) durch die Zusammenarbeit mit dem Partnerprojekt „Ökonomische Bewertung“ an der Universität Mainz angestrebt. Gerade in frühen Entwicklungsphasen stellen dabei ökologische Verfahrensverbesserungen sehr oft auch ökonomische Verbesserungen dar.

## IX. LITERATUR

---

- Aiba, S., Humphrey, A. und Millis, N.: Biochemical Engineering; Academic Press: New York, 1973.
- Ammeraal, R.: Process for producing and separation cyclodextrins; US-Patent: 4,738,923, 1988.
- Andres, L., Riera, F. und Alvarez, R.: Recovery and concentration by electro dialysis of tartaric acid from fruit juice industries waste waters. J. Chem. Techn. Biotechnol. 1997, 70, 247-252.
- Atkins, P.: Physikalische Chemie; VCH: Weinheim, 1988.
- Atkinson, B. und Mavituna, F.: Biochemical engineering and biotechnology handbook; Stockton Press: New York, 1991.
- Atwoods, J. et al.: Comprehensive supramolecular chemistry. Volume 3: Cyclodextrins; Pergamon: Oxford, 1996.
- Bailey, J. und Ollis, D.: Biochemical Engineering Fundamentals; McGraw-Hill: New York, 1986.
- Baniel, A.: Extraction of organic acids from aqueous Solution. Chem. Abstr. 1982, 97, 109557.
- Bauer, B., Holik, H. und Velin, A.: Cell equipment and plant design in bipolar membrane technology. In: Kemperman, A. (Ed.): Handbook of bipolar membrane technology. Twente Univ. Press: Twente, 2000, pp. 155-189.
- Bender, H.: Production, characterization, and application of cyclodextrins. Adv. Biotech. Proc. 1986, 6, 31-71.
- Benthin, S. und Villadsen, J.: Production of optically pure D-lactate by *Lactobacillus bulgaricus* and purification by crystallization and liquid/liquid extraction. Appl. Microbiol. Biotechnol. 1995, 42, 826-829.
- Bishop, P.: Pollution Prevention: Fundamentals and Practice; McGraw-Hill: Boston, 2000.
- Biwer, A., Antranikian, G. und Heinzle, E.: Enzymatic production of cyclodextrins. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2002, 59, 609-617.
- Blackwood, A. und Bucke, Ch.: Addition of polar organic solvents can improve the product selectivity of cyclodextrin glycosyltransferase solvent effects on CGTase. Enzyme Microb. Technol. 2000, 27, 704-708.

- Blanch, H. und Clark, D.: Biochemical Engineering; Dekker: New York, 1996.
- Blass, E.: Entwicklung verfahrenstechnischer Prozesse: Methoden, Zielsuche, Lösungssuche, Lösungswahl; Springer Verlag: Berlin. Heidelberg, 1997.
- Brand, G., Scheidegger, A., Schwank, O. et al.: Bewertung in Ökobilanzen mit der Methode der ökologischen Knappheit - Ökofaktoren 1997; Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft (BUWAL): Bern, 1998.
- Brauer, H. (Ed.): Handbuch des Umweltschutzes und der Umwelttechnik. Bd. 1: Emissionen und ihre Wirkungen; Springer Verlag: Berlin, 1996.
- Brellocks, A., Schmolke, A., Wolff, H. et al.: Substitution chemisch-technischer Prozesse durch biotechnische Verfahren am Beispiel ausgewählter Grund- und Feinchemikalien; Umweltbundesamt: UBA-Texte 16/01: Berlin, 2001.
- Bruhn, T., Gülden, M., Ludewig, S. et al.: Einstufung von Schadstoffen als endokrin wirksame Substanzen; Umweltbundesamt, UBA-Texte 65/99: Berlin, 1999.
- Brunet, Ch., Lamare, S. und Legoy, M.: Studies of specific cyclodextrin production starting from pure maltooligosaccharides using *Thermoanaerobacter sp.* cyclodextrin glycoyltransferase. Biocat. Biotransf. 1998, 16, 317-327.
- Buchholz, K. und Kasche, V.: Biokatalysatoren und Enzymtechnologie; VCH: Weinheim, 1997.
- Budavari, S., O'Neil, M., Smith, A. et al. (Ed.): The Merck index - An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals; Merck & Co.: Rahway, 1989.
- Castells, F., Aelion, V., Abeliotis, K., Petrides, D.: Life cycle inventory analysis of energy loads in chemical processes. In: El-Hawagi, M. and Petrides, D. (Ed.): Pollution prevention via process and product modifications. AIChE: New York, 1994, pp. 161-167.
- Chmiel, H.: Bioprozeßtechnik 2; Fischer Verlag: Stuttgart, 1991.
- Christ, C.: Umweltschonende Technologien aus industrieller Sicht - Verfahrensverbesserungen und Stoffkreisläufe. Chem. Ing. Tech. 2000, 72, 42-57.
- Cooper, A., Ginos, J. und Meister, A.: Synthesis and properties of  $\alpha$ -keto acids. Chem. Rev. 1983, 83, 321-358.
- Creighton, T.: Proteins: Structure and molecular properties; Freeman: New York, 1993.
- Curless, C., Fu, K., Swank, R. et al.: Design and evaluation of a two-stage, cyclic, recombinant fermentation process. Biotechnol. Bioeng. 1991, 38, 1082-1090.



- Danner, H., Madzingaidzo, L., Thomasser, C. et al.: Thermophilic production of lactic acid using integrated membrane bioreactor systems coupled with monopolar electro dialysis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002, 59, 160-169.
- Derwent, R., Jenkin, M., Saunders, S. und Pilling, M.: Photochemical ozone creation potentials for organic compounds in northwest Europe calculated with a master chemical mechanism. *Atmospheric Environment* 1998, 32, 2429-2441.
- Derwent, R., Jenkin, M. und Saunders, S.: Photochemical ozone creation potentials for a large number of reactive hydrocarbons under European conditions. *Atmospheric Environment* 1996, 30, 181-199.
- DeSimone, L. und Popoff, F.: *Eco-efficiency: The business link to sustainable development*; MIT Press: Cambridge, 1997.
- Deutsches Institut für Normung (Ed.): *ISO 14040: Umweltmanagement: Ökobilanz - Prinzipien und allgemeine Anforderungen*; Beuth Verlag: Berlin, 1997.
- Diekmann, H. und Metz, H.: *Grundlagen und Praxis der Biotechnologie*; Fischer Verlag: Stuttgart, 1991.
- Doran, P.: *Bioprocess engineering principles*; Academic Press: London, 1995.
- Dorokhov, I., Gordeev, L., Vinarov, A. et al.: Experimental and theoretical study of ion-exchange and crystallization operations in the production of citric acid. *Theor. Found. Chem. Eng.* 1997, 31, 224-231.
- Dürkop, J., Dubbert, W. und Nöh, I.: *Beitrag der Biotechnologie zu einer dauerhaft umweltgerechten Entwicklung*; UBA: Berlin, 1999.
- Dunn, I., Heinzle, E., Ingham, J. et al.: *Biological reaction engineering*; VCH: Weinheim, 1992.
- Eissen, M.: *Bewertung der Umweltverträglichkeit organisch-chemischer Synthesen*; Carl von Ossietzky Universität: Oldenburg, 2001.
- El-Hawagi, M.: *Pollution prevention through process integration: Systematic design tools*; Academic Press: San Diego, 1997.
- Elliott, A., Sowerby, B. und Crittenden, B.: Quantitative environmental impact analysis for clean design. *Comput. Chem. Eng., Suppl.* 1996, 20, 1377-1382.
- Endo, T., Nagase, H., Ueda, H. et al.: Isolation, purification, and characterization of cyclomaltotetraose ( $\alpha$ -cyclodextrin), cyclomylopentadecose ( $\kappa$ -cyclodextrin), cyclomylohexadecose ( $\lambda$ -cyclodextrin), and cyclomaltoheptadecose ( $\mu$ -cyclodextrin). *Chem. Pharm. Bull.* 1997, 45, 1856-1859.

- Enquete-Kommission „Schutz des Menschen und der Umwelt“ des 13. Deutschen Bundestages (Ed.): Konzept Nachhaltigkeit - Vom Leitbild zur Umsetzung. Ecomedia Verlag: Bonn, 1998.
- Falbe, J. und Regnitz, M.: Römpp Lexikon der Chemie, 10. Aufl. - CD-Rom; Thieme Verlag: Stuttgart, 1999.
- Fent, K.: Ökotoxikologie: Umweltchemie, Toxikologie, Ökologie; Thieme Verlag: Stuttgart, 1998.
- Fischer, U. und Hungerbühler, K.: Application of indicators for assessing environmental aspects of chemical processes to case studies from pharmaceutical production. *Chimia* 2000, 54, 494-500.
- Flaschel, E., Landert, J., Spiesser, D. et al.: The production of  $\alpha$ -cyclodextrin by enzymatic degradation of starch. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1984, 434, 70-77.
- Gesetz zum Schutz vor schädlichen Umwelteinwirkungen durch Luftverunreinigungen, Geräusche, Erschütterungen und ähnliche Vorgänge (Bundes-Immissionsschutzgesetz – BImSchG). In der Fassung der Bekanntmachung von 14. Mai 1990. BGBl. I S. 880; geändert durch Gesetz vom 17.03.1998. BGBl. I S. 502.
- Glauser, M. und Müller, P.: Eco-efficiency: a prerequisite for future success. *Chimia* 1997, 51, 201-206.
- Gluszcz, P. und Ledakowicz, S.: Downstream processing in citric acid production. In: Kristiansen et al. (Ed.): *Citric acid biotechnology*. Taylor & Francis: London, 1999, pp. 135-148.
- Gmehling, J. und Brehm, A.: Grundoperationen - Lehrbuch der Technischen Chemie, Bd. 2; Thieme Verlag: Stuttgart, 1996.
- Goedkoop, M.: The Eco-Indicator 95, Final Report; National Reuse of Waste Research Program (NOH): Amersfoort, 1995.
- Grull, D. und Stifter, U.: Process for the production of cyclodextrin; US-Patent: 6,235,505, 2001.
- Han, L., Enfors, S. und Häggström, L.: *Escherichia coli* high-cell-density culture: carbon mass balances and release of outer membrane components. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 2003, 25, 205-212.
- Harrison, R., Todd, P., Rudge, S. und Petrides, D.: *Bioseparations science and engineering*; Oxford Univ. Press: New York, 2003.

- Hedges, A.: Cyclodextrin: Production, properties, and applications. In: Schenk, F. und Habeda, R. (Ed.): Starch hydrolysis products. VCH Publisher: New York, 1992, pp. 319-333.
- Heiden, St.: Biotechnologie - Schlüssel zur Realisierung des Leitbilds einer zukunftsfähigen Entwicklung. In: Heiden, St., Burschel, C. und Erb, R. (Ed.): Biotechnologie als interdisziplinäre Herausforderung. Spektrum Verlag: Heidelberg, 2001, pp. 1-25.
- Heinzle, E., Weirich, D., Brogli, F., Hoffmann, V. et al.: Ecological and economic objective functions for screening in integrated development of fine chemical processes. 1. Flexible and expandable framework using indices. *Ind. Eng. Chem. Res.* 1998, 37, 3395-3407.
- Heinzle, E., Hungerbühler, K.: Integrated process development: The key to future production of chemicals. *Chimia* 1997, 5, 176-183.
- Hirth, J., Bicker, M. und Vogel, H.: Isolierung von Kohlenhydratcarbonsäuren aus wässrigen Lösungen durch Reaktivextraktion. *Chem. Ing. Tech.* 2002, 74, 345-350.
- Horikoshi, K., Yamamoto, M., Nakamura, N. et al.: Process for recovering cyclodextrins; US-Patent: 4,303,787, 1981.
- Houghton, J., Ding, Y., Griggs, D. et al. (Ed.): *Climate Change 2001: the scientific basis*. IPCC; University Press: Cambridge, 2001.
- Howard, J. und Fraser, W.: Pyruvic acid. In: Adams, R. et al. (Ed.): *Organic syntheses*. Wiley: London, 1961, pp. 475-476.
- Hua, Q., Araki, M., Koide, Y. et al.: Effects of glucose, vitamins, and DO concentrations on pyruvate fermentation using *Torulopsis glabrata* IFO0005 with metabolic flux analysis. *Biotechnol. Prog.* 2001, 17, 62-68.
- Jackson, A.: *Process engineering in biotechnology*; Open Univ. Press: Milton Keynes, 1990.
- Jakubith, M.: *Grundoperationen und chemische Reaktionstechnik*; Wiley-VCH: Weinheim, 1998.
- Japan Maize Products Co.:  $\alpha$ -cyclodextrin. Abstr.-Nr. 219321. *Chem. Abstr.* 1980, 93, 420.
- Jensen, A., Hoffman, L., Moller, B. et al.: *Life Cycle Assessment (LCA): A guide to approaches, experiences and information sources*; European Environment Agency: Copenhagen, 1997.
- John, G. und Heinzle, E.: Quantitative screening method for hydrolases in microplates using pH indicators: Determination of kinetic parameters by dynamic pH monitoring. *Biotechnol. Bioeng.* 2001, 72, 620-627.
- Jordan, E.: *Vapor pressure of organic compounds*; Interscience Publishers: New York, 1954.

- Käppeli, O.: Risikoabschätzung in der Biotechnologie; vdf Hochschulverlag: Zürich, 1995.
- Karaffa, L. und Kubicek, Ch.: *Aspergillus niger* citric acid accumulation: do we understand this well working black box? Appl. Microbiol. Biotechnol. 2003, 61, 189-196.
- Katikaneni, S. und Cheryan, M.: Purification of fermentation-derived acetic acid by liquid-liquid extraction and esterification. Ind. Eng. Chem. Res. 2002, 41, 2745-2752.
- Keim, W., Behr, A. und Schmitt, G.: Grundlagen der industriellen Chemie - Technische Produkte und Prozesse; Otto Salle Verlag: Frankfurt, 1986.
- Kertes, A. und King, C.: Extraction chemistry of fermentation product carboxylic acids. Biotechnol. Bioeng. 1986, 28, 269-282.
- Kim, Y. und Moon, S.: Lactic acid recovery from fermentation broth using one-stage electrodialysis. J. Chem. Techn. Biotechnol. 2001, 76, 169-178.
- Kim, T., Kim, B. und Lee, H.: Production of cyclodextrin using raw corn starch without pretreatment. Enzyme Microb. Technol. 1997, 20, 506-509.
- Kim, T., Kim, B. und Lee, H.: Production of cyclodextrins using moderately heat-treated cornstarch. Enzyme Microb. Technol. 1995, 17, 1057-1061.
- Klöpffer, W., Renner, I., Tappeser, B. et al.: Life Cycle Assessment gentechnisch veränderter Produkte als Basis für eine umfassende Beurteilung möglicher Umweltauswirkungen; Umweltbundesamt, Monographien Bd. 111: Wien, 1999.
- Kobayashi, S.: Cyclodextrin producing enzyme (CGTase). In: Park, K., Robyt, J. und Choi, Y. (Ed.): Enzymes for Carbohydrate Engineering. Elsevier Science: Amsterdam, 1996, pp. 23-41.
- Köhler, M. und Hofmann, K.: Grundriss der Biotechnologie: Grundlagen und ausgewählte Verfahren; Hanser Verlag: München, 1992.
- Koller, G.: Identification and assessment of relevant environmental, health and safety aspects during early phases of process development, Diss. ETH Zürich: 2000.
- Kristiansen, B., Matthey, M. und Linden, J.: Citric acid biotechnology; Taylor & Francis: London, 1999.
- Ladisch, M.: Bioseparation engineering: Principles, practice, and economics; Wiley Interscience: New York, 2001.
- Lee, E., Moon, S., Chang, Y. et al.: Lactic acid recovery using two-stage electrodialysis and its modelling. J. Membr. Sc. 1998, 145, 53-66.
- Lesniak, W.: Fermentation substrates. In: Kristiansen et al. (Ed.): Citric acid biotechnology. Taylor & Francis: London, 1999, pp. 149-160.

- Leuchtenberger, A.: Grundwissen zur mikrobiellen Biotechnologie; Teubner Verlag: Stuttgart, 1998.
- Li, Y., Chen, J. und Lun, S.: Biotechnological production of pyruvic acid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2001, 57, 451-459.
- Lide, D. (Ed.): CRC handbook of chemistry and physics; CRC Press: Boca Raton, 2002.
- Mäkelä, M., Mattsson, P. und Korpela, T.: Specific adsorbents in isolation and purification of cyclodextrins. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 1989, 11, 193-200.
- McCabe, W., Smith, J. und Harriott, P.: Unit operations of chemical engineering; McGraw Hill: New York, 2001.
- McCoy, M.: Cyclodextrins: great product seeks a market. *Chem. Eng. News* 1999, 77 (9), 25-27.
- Mäkelä, M., Mattsson, P. und Korpela, T.: Specific adsorbents in isolation and purification of cyclodextrins. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 1989, 11, 193-200.
- Marending, T.: Biotechnologische Herstellung von Zitronensäure aus Stärkehydrolysaten mit *Aspergillus niger*; Dipl.-Arbeit: ETH Zürich, 1992.
- Mattey, M. und Kristiansen, B.: A brief introduction to citric acid biotechnology. In: Kristiansen et al. (Ed.): Citric acid biotechnology. Taylor & Francis: London, 1999, pp. 1-9.
- Miyata, R. und Yonehara, T.: Breeding of high-pyruvate-producing *Torulopsis glabrata* and amino acid auxotrophic mutants. *J. Biosci. Bioeng.* 2000, 90, 137-141.
- Miyata, R., Yonehara, T., Yotsumoto, K. et al.: Method for producing pyruvic acid by fermentation; US Patent : 4,971,907, 1990.
- Molina, M. und Rowland, F.: Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: chlorine atom-catalysed destruction of ozone. *Nature* 1974, 249, 810-812.
- Mourya, S. und Jauhri, K.: production of citric acid from starch-hydrolysate by *Aspergillus niger*. *Microbiol. Res.* 2000, 155, 37-44.
- Nagano, H., Sato, M., Yagi, Y. et al.: Recovery of  $\alpha$ -cyclodextrin; Japan-Patent: 62-011701, 1987.
- Narebska, A., Kurantowics und Staniszewski, M.: Separation of fermentation products by membrane techniques. IV. Electrodialytic conversion of carboxylates to carboxylic acids. *Separat. Sci. Tech.* 2001, 36, 443-455.
- National Research Council (Ed.): Hormonally active agents in the Environment; National Academy Press: Washington, 1999.

- Nielsen, J. und Villadsen, J.: Bioreaction Engineering Principles; Plenum Press: New York, 1994.
- Nolasco-Hipolito, C., Thang, V., Kobayashi, G. et al.: Lactic acid recovery from model solutions and fermentation broth by electrodialysis. J. Fac. Agr. Kyushu Univ. 2001, 45, 531-540.
- Novalic, S. und Kulbe, K.: Separation and concentration of citric acid by means of electrodialytic bipolar membrane technology. Food Technol. Biotechnol. 1998, 36, 193-195.
- OECD (Ed.): Biotechnologie für umweltverträgliche industrielle Produkte und Verfahren. Wege zur Nachhaltigkeit in der Industrie; Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD): Paris, 1998.
- Okabe, M., Tsuchiyama, Y. und Okamoto, R.: Development of a cyclodextrin production process using specific adsorbents. Bioprocess Technol. 1993, 16, 109-130.
- Pedersen, S., Dijkhuizen, L., Dijkstra, B. et al.: A better enzyme for cyclodextrins. Chemtech 1995, 25, 19-25.
- Perry, R., Green, D. und Maloney, J: Perry's chemical engineers' handbook; McGraw-Hill: New York, 1997.
- Pourcelly, G. und Gavach, C.: Electrodialysis water splitting - applications of electrodialysis with bipolar membranes (EDBM). In: Kemperman, A. (Ed.): Handbook of bipolar membrane technology. Twente Univ. Press: Twente, 2000, pp. 17-46.
- Prezhdo, O., Prezhdo, V. und Nazarov, V.: Effect of solvent nature on extraction of carboxylic acids. Theor. Found. Chem. Eng. 1997, 31, 293-296.
- Prowe, St.: Characterization of extracellular amyolytic enzymes and sodium coupled energy transduction of a newly isolated thermoalkaliphilic bacterium, *Thermoalcalobacter bogoriae*, Diss. TU Hamburg-Harburg, 1996.
- Rendleman, J.: Enhancement of cyclodextrin production through use of debranching enzymes. Biotechnol. Appl. Biochem. 1997, 26, 51-61.
- Riesenberg, D., Schulz, V., Knorre, W. et al.: High cell density cultivation of *Escherichia coli* at controlled specific growth rate. J. Biotechnol. 1991, 20, 17-28.
- Röver, M., Arndt, N. und Pohl-Orf, M.: Analyse der bei der Freisetzung von gentechnisch veränderten Pflanzen (GVP) durchgeführten Sicherheitsmaßnahmen in Hinblick auf deren Effektivität und Ableitung von Empfehlungen für die künftige Vollzugsweise; Umweltbundesamt, UBA-Texte 3/00: Berlin, 2000.

- Sarangbin, S. und Watanapokasin, Y.: Yam bean starch: A novel substrate for citric acid production by the protease-negative mutant strain of *Aspergillus niger*. Carbohydr. polymers 1999, 38, 219-224.
- Sarangbin, S., Morikawa, S., Kirimura, K. et al.: Formation of autodiploid strains in *Aspergillus niger* and their application to citric acid production from starch. J. Ferment. Bioeng. 1994, 77, 474-478.
- Sato, M., Watanabe, M., Nagano, H. et al.: Selective degradation of  $\beta$ - und  $\gamma$ -cyclodextrin by co-digestion using a CGTase from *Bacillus ohbensis* and  $\alpha$ -glucosidase for efficient  $\alpha$ -cyclodextrin recovery. Biotechnol. Lett. 1994, 16, 703-708.
- Sattler, K.: Thermische Trennverfahren - Grundlagen, Auslegung, Apparate; VCH: Weinheim, New York, 1995.
- Sauer, U., Hatzimanikatis, V., Hohmann, H. et al.: Physiology and metabolic fluxes of wild-type and riboflavin-producing *Bacillus subtilis*. Appl. Environ. Microbiol. 1996, 62, 3687-3696.
- Schierbaum, B. und Vogel, H.: Isolierung von Carbonsäuren aus wässrigen Lösungen mit dem Extraktionsmittelsystem N,N-Dialkylcarbonsäureamid/Tri-n-alkylamin. Chem. Ing. Tech. 1998, 70, 1420-1424.
- Schlegel, H.: Allgemeine Mikrobiologie; Thieme Verlag: Stuttgart, 1995.
- Schlieker, H.: Stöchiometrie und Energetik des aeroben Wachstums von *Trichosporon cutaneum* und *Escherichia coli* TGI unter Berücksichtigung intrazellulärer Intermediate, Diss. TU Carola-Wilhelmina: Braunschweig, 1995.
- Schmid, G.: Preparation and industrial production of cyclodextrins. In: Atwoods, J. et al. (Ed.): Comprehensive supramolecular chemistry. Volume 3: Cyclodextrins. Pergamon: Oxford, 1996, pp. 41-56.
- Schmidt-Bleek, F. MIPS. A universal ecological measure? Fresenius Envir. Bull. 1993, 2, 306-311.
- Schmitz, St. und Paulini, I.: Bewertung in Ökobilanzen; Umweltbundesamt, UBA-Texte 92/99: Berlin, 1999.
- Schnitzer, H.: Die auf einer Stoffstromanalyse basierende Implementierung von vorsorgendem integrierten Umweltschutz. Chem. Ing. Tech. 1998, 70, 64-73.
- Schrott, W. und Saling, P.: Ökoeffizienz-Analyse - Produkte zum Kundennutzen auf dem Prüfstand. Melliand Textilberichte 2000, 81, 190-194.
- Schügerl, K. und Bellgardt, K. (Eds.): Bioreaction engineering: Modeling and control; Springer Verlag: Berlin, 2000.

- Seel, F.: Grundlagen der analytischen Chemie; Verlag Chemie: Weinheim, 1970.
- Seres, G., Jarai, M., Piukovich, S. et al.: Process for the preparation of high-purity  $\gamma$ - and  $\alpha$ -cyclodextrin; US-Patent: 4,835,105, 1989.
- Shieh, W. und Hedges, A.: Process for producing  $\alpha$ -cyclodextrin using cyclomalto-dextrin glucanotransferase in presence of cyclohexane; US-Patent: 5,326,701, 1994.
- Siebold, M., Frieling, P., Joppien, R. et al.: Comparison of the production of lactic acid by three different *Lactobacilli* and its recovery by extraction and electro-dialysis. Process Biochem. 1995, 30, 81-95.
- Slominska, L. und Sobkowiak, B.: Studies on cyclodextrin synthesis by novel cyclodextrin glucosyl transferase. Starch/Stärke 1997, 49, 301-305.
- Spriggs, D.: Integration: The key to pollution prevention. Waste Management 1994, 14, 215-229.
- Stahl, B.: Methodenvergleich und Methodenentwicklung zur Lösung der Bewertungsproblematik in produktbezogenen Ökobilanzen; Diss. Universität Bremen, 1998.
- Starnes, R.: Thermostable cyclodextrin glycosyl transferase and processes using it; US-Patent: 6,184,001, 2001.
- Steinbach, A.: Betriebswirtschaftlich-Technisches Controllingsystem für den produktionsintegrierten Umweltschutz in der Chemie (BTC-System). Abfallwirtschaftsjournal 1998, 46-51.
- Stephan, D., Knodel, R. und Bridges, J.: A "Mark I" measurement methodology for pollution prevention progress occurring as a result of product design decisions. Environ. Prog. 1994, 13, 232-246.
- Streit, B.: Lexikon Ökotoxikologie; VCH: Weinheim, 1994.
- Szejtli, J.: Chemistry, physical and biological properties of cyclodextrins. In: Atwoods, J. et al. (Ed.): Comprehensive supramolecular chemistry. Volume 3: Cyclodextrins. Pergamon: Oxford, 1996, pp. 5-40.
- Tsuchiyama, Y., Nomura, H., Okabe, M. et al.: A novel process of cyclodextrin production by the use of specific adsorbents: Part II. A new reactor system for selective production of  $\alpha$ -cyclodextrin with specific adsorbents. J. Ferment. Bioeng. 1991, 71, 413-417.
- Uchio, R., Kikuchi, K., Enei, H. und Hirose, Y.: Process for producing pyruvic acid by fermentation; US Patent: 3,993,543, 1976.
- UNEP - Ozone Secretariat (Ed.): Handbook for the international treaties for the protection of the ozone layer - 5th edition; Unon: Nairobi, 2000.



- van der Merwe, J.: Design of a industrial process. In: Kristiansen et al. (Ed.): Citric acid biotechnology. Taylor & Francis: London, 1999, pp. 161-185.
- Vauck, W. und Müller, H.: Grundoperationen chemischer Verfahrenstechnik; Wiley-VCH: Weinheim, 1988.
- Verein Deutscher Ingenieure - Gesellschaft Verfahrenstechnik und Chemieingenieurwesen (Ed.): VDI-Wärmeatlas; Springer: Berlin, 1997.
- Verfaillie, H. und Bidwell, R.: Measuring eco-efficiency: a guide to reporting company performance; World Business Council for Sustainable Development: Genf, 2000.
- Walz, R. et al.: Grundlagen für ein nationales Umweltindikatorensystem - Weiterentwicklung von Indikatorensystemen für die Umweltberichterstattung; Umweltbundesamt. UBA-Texte 37/97: Berlin, 1997.
- Weissermel, K. und Arpe, H.-J.: Industrielle organische Chemie - Bedeutende Vor- und Zwischenprodukte; Wiley-VCH: Weinheim, 1998.
- Wind, R., Uitehaag, J., Buitelaar, R. et al.: Engineering of cyclodextrin product specificity and pH optima of the thermostable cyclodextrin glycosyltransferase from *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes* EMI. J. Biol. Chem. 1998, 273, 5771-5779.
- Wiesner, J., Christ, C., Führer, W. et al.: Production-integrated environmental protection. In: Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry, Vol. B8. VCH: Weinheim, 1995, pp. 213-309.
- Wohl, A. und Maag, R.: Darstellung der Brenztraubensäure. Ber. dt. chem. Ges. 1910, 43, 2188-2189.
- Wolschek, M. und Kubicek, C.: Biochemistry of citric acid accumulation by *Aspergillus niger*. In: Kristiansen et al. (Ed.): Citric acid biotechnology. Taylor & Francis: London, 1999, pp. 11-32.
- World Commission on Environment and Development: Our common future. Oxford Univ. Press: Oxford, 1987.
- Xuemei, L., Jianping, L., Mo'e, L. et al.: L-lactic acid production using immobilized *Rhizopus oryzae* in a three-phase fluidized-bed with simultaneous product separation by electrodialysis. Bioprocess Eng. 1999, 20, 231-237.
- Yamamoto, M. und Horikoshi, K.: Isolation and purification of  $\alpha$ -cyclodextrin by synthetic adsorption polymer. Starch/Stärke 1981, 33, 244-246.
- Yang, C. und Su, C.: Methods of recovering and separating water-soluble cyclodextrins from cyclodextrin formation liquid; US-Patent: 4,970,164, 1990.

- Yokota, A., Shimizu, H., Terasawa, Y. et al.: Pyruvic acid production by a lipoic acid auxotroph of *Escherichia coli* W1485. Appl. Microbiol. Biotechnol. 1994, 41, 638-643.
- Yao, Z., Li, J., Wei, P. et al.: Salt effect in organic solvent extraction of pyruvic acid. J. Chem. Eng. Chinese Univ. 2001, 15, 587-590.
- Zelic, B., Gerharz, T., Bott, M. et al.: Fed-batch process for pyruvate production by recombinant *Escherichia coli* YYC202 strain. Eng. Life Sci. 2003, accepted.

# ANHANG A: BEWERTUNGSMETHODIK

---

## Anhang A1: Literaturdurchsicht: Wirkungskategorien für ökologische Bewertung von Prozessen und Produkten

In Klammern sind jeweils die Literaturquellen angegeben, in denen diese Kategorie angewendet wurde. Bei Literaturquellen, die bei den übergeordneten Kategorien genannt sind, wurde die genaue Ausgestaltung dieser Wirkungskategorie nicht näher erläutert.

### 1. Input (Energie- und Rohstoffverbrauch)

- Nur massen/energiebezogen:
  - Energieverbrauch [4, 5, 24, 26, 27, 31, 33, 34, 37, 38, 42]
  - Wasserverbrauch [4, 5, 38, 41]
  - Materialverbrauch [10, 20, 27, 37, 39, 43]; unterschieden in biotische und abiotische Ressourcen [9, 36, 38]
- Stoffbewertung
  - Verfügbarkeit [6, 31]
  - Kritische Materialien bei der Produktion des Rohstoffes [6]
  - Komplexität der Synthese des Rohstoffes [6]
- Flächenverbrauch [9, 20, 36, 38, 43]

### 2. Output

#### 2.1. Emissionen und Abfälle

##### 2.1.1. Luftemissionen [11, 41]

- Auf Stoffe bezogen
  - Feste Partikel [4, 24, 42]
  - Kohlenmonoxid [4]
  - Geruchsbildner [24]
  - NO<sub>x</sub> [4, 5, 28, 34, 42]
  - SO<sub>2</sub> [4, 5, 24, 34, 42]
  - VOC (Volatile Organic Carbons) [4, 5, 8, 24, 28, 42]
- Auf Wirkung bezogen
  - Global Warming Potential [4, 4, 5, 8, 9, 16, 18, 24, 28, 29, 31, 33, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43]
  - Ozone Depletion Potential [5, 8, 9, 10, 16, 24, 27, 28, 29, 31, 33, 36, 38, 39, 40, 41, 42, 43]
  - Acidification Potential (inkl. Saurer Regen und SO<sub>2</sub>) [3, 4, 5, 8, 9, 10, 24, 27, 29, 31, 33, 34, 36, 38, 39, 40, 43]
  - Photochemical Ozone Creation Potential (inkl. Sommersmog, Smogbildner, VOC, NO<sub>x</sub>) [3, 4, 5, 8, 9, 16, 24, 27, 28, 29, 31, 33, 34, 36, 38, 39, 40, 43]
  - Wintersmog (SO<sub>2</sub> und Staub) [4, 5, 8]

### 2.1.2. Wasseremissionen [6, 11, 25, 20, 31]

- Auf Stoffe bezogen
  - Kohlenstoffgehalt (CSB, BSB oder TOC) [4, 5, 14, 24, 25, 27, 28, 34, 42]
  - Gelöste Salze [4]
  - AOX (Absorbable Organic Halogens) [4, 42]
  - EOCL (Extractable Organic Chlorides) [4]
  - Nährstoffe (P-Verbindungen, N-Verbindungen, Nährstoffe [kg P-Äquivalent])  
[s. Eutrophierung]
- Auf Wirkung bezogen
  - Eutrophierung / Nutrifcation Potential [4, 8, 9, 10, 24, 27, 28, 34, 36, 38, 39, 42, 43]

### 2.1.3. Abfälle

- Abfallmenge (ohne weitere Unterteilung) [6, 11, 16, 20, 26, 31, 37, 41]
- Nach Verwendung
  - Abfall zur Deponierung [27]
  - Abfall zur Verbrennung [27]
- Nach Gefährlichkeit
  - Gefährlicher Abfall [4, 5, 7, 24, 34, 38, 42]
  - Nicht-gefährlicher Abfall [4, 7, 24, 34, 38, 42]

### 2.2. Toxikologie / Ökotoxikologie [10, 31, 36, 43]

- Auf Stoffeigenschaften bezogen
  - Bioakkumulation [9, 11, 14, 38, 39, 40]
  - Akkumulation im Boden [11]
  - Dispersion / räumliche Verteilung [3, 28, 40]
  - Abbaubarkeit / Persistenz [3, 9, 11, 28, 38, 39, 40]
- Auf Stoffe bezogen
  - Schwermetalle [4, 5, 8, 24, 27, 28, 42]
  - Organische Chlorverbindungen [28]
  - Pestizide [8]
  - Asbest (Fine Fibers) [24]
  - Toxische anorganische Stoffe [24]
  - Toxische organische Stoffe [24]
  - Pathogene (in gewissem Sinne auch „stoffbezogen“) [24]
- Auf Medium bezogen
  - Terrestrische Toxizität [9, 29, 33]
  - Aquatische Toxizität [9, 24, 29, 33, 40]
- Auf Wirkung bezogen
  - Kanzerogenität [8, 9, 11, 24, 35, 40]
  - Terato- und Mutanogenität [9, 11, 24, 40]
  - Neurotoxizität [9, 35]
  - Irritationen /Allergische Reaktionen [9, 11]
  - Radioaktive Stoffe [24]
- Auf Zeitraum bezogen
  - Akute Toxizität [7, 9, 11, 14, 26, 33, 35, 38, 39, 40]
  - Chronische Toxizität [7, 11, 39]

#### 4. Weitere Wirkungskategorien

- Verschiedene Wirkungen zusammenfassende Kategorien
  - Komplexität des Verfahrens [17]
  - Spezielle Probleme (lokale Wirkungen, Komplexität u. a.) [6]
- Auf (Umweltschutz-)Kosten bezogen
  - Entsorgungskosten [1]
  - Kapitalausgaben für Umweltschutz [4]
  - Laufende Kosten für Umweltschutz [4]

#### 5. Ausschließlich auf Massenbilanz beruhenden Methoden

- z. B. MI (Mass Index), MIPS (Material intensity per service unit), MFA (Materialflussanalyse) u. a. [2, 5, 6, 12, 13, 15, 18, 19, 21, 22, 23, 28, 30, 32]

#### Literatur

- [1] Berger, S.: The pollution prevention hierarchy as an R&D management tool. Pollution prevention via process and product modifications, Vol. 303. Eds. M. El-Hawagi and D. Petrides. AIChE: New York, 1994, pp.23-28.
- [2] Christ, C.: Umweltschonende Technologien aus industrieller Sicht - Verfahrensverbesserungen und Stoffkreisläufe. Chem. Ing. Tech. 2000, 72, 42-57.
- [3] Elliott, A., Sowerby, B. und Crittenden, B.: Quantitative environmental impact analysis for clean design. Comput. Chem. Eng., Suppl. 1996, 20, 1377-1382.
- [4] European Chemical Industry Council: Responsible Care: Health, Safety and Environmental reporting guidelines; CEFIC: Brüssel, 1998.
- [5] Glauser, M. und Müller, P.: Eco-efficiency: a prerequisite for future success. Chimia 1997, 51, 201-206.
- [6] Heinzle, E., Weirich, D., Brogli, F., Hoffmann, V. et al: Ecological and economic objective functions for screening in integrated development of fine chemical processes. 1. Flexible and expandable framework using indices. Ind. Eng. Chem. Res. 1998, 37, 3395-3407.
- [7] Hendershot, D.: Measuring inherent safety, health and environmental characteristics early in process development. Process Safety Progress 1997, 16, 78-79.
- [8] Hungerbühler, K., Ranke, J. und Mettier, T.: Chemische Produkte und Prozesse - Grundkonzepte zum umweltorientierten Design; Springer Verlag: Berlin, 1998.
- [9] Jensen, A., Hoffman, L., Moller, B. et al.: Life cycle assessment (LCA) – A guide to approaches, experiences and information sources. European Environment Agency. Environmental Issues Series. No. 6. 1997.

- [10] Kniel, G., Delmarco, K., Petrie, J.: Life cycle assessment applied to process design: Environmental and economic analysis and optimization of a nitric acid plant. *Environ. Prog.* 1996, 15, 221-228.
- [11] Koller, G.: Identification and assessment of relevant environmental, health and safety aspects during early phases of process development, Diss. No. ETH 13607. ETH Zürich: Zürich, 2000.
- [12] Laing, I.: Waste minimization: the role of process development. *Chem. Ind.* 1992, 682-686.
- [13] Luper, D.: Integrate waste minimization into R&D and design. *Chem. Eng. Progr.* 1996, 92, 58-60.
- [14] Mallick, S., Cabezas, H., Bare, J. et al.: A pollution reduction methodology for chemical process simulators. *Ind. Eng. Chem. Res.* 1996, 35, 4128-4138.
- [15] Morsey, D., Nishioka, M., Suter, G. et al.: Improvements in waste minimization, process safety and running costs by integrated process development. *Chimia* 1997, 51, 207-210.
- [16] Pistikopoulos, E., Stefanis, S., Livingston, A.: A methodology for minimum environmental impact analysis. *Pollution prevention via process and product modifications*, Vol. 303. Eds. M. El-Hawagi and D. Petrides. AIChE: New York, 1994, pp.139-150.
- [17] Reid, R., Christensen, D.: Evaluate Decision Criteria Systematically. *Chem. Eng. Progr.* 1994, 44-49.
- [18] River, L., Aspé, E., Roeckel, M. et al.: Evaluation of clean technology processes in the marine products processing industry. *J. Chem. Techn. Biotechnol.* 1998, 73, 217-226.
- [19] Schmidt-Bleek, F.: MIPS. A universal ecological measure?. *Fresenius Envir. Bull.* 1993, 2, 306-311.
- [20] Steen, B. und Ryding, S.: *The EPS Enviro-Accounting Method*; Swedish Environmental Research Institute: Göteborg, 1992
- [21] Steinbach, A.: Betriebswirtschaftlich-Technisches Controllingssystem für den produktionsintegrierten Umweltschutz in der Chemie (BTC-System). *Abfallwirtschaftsjournal* 1998, 46-51.
- [22] Steinbach, A. und Winkenbach, R.: Choose processes for their productivity. *Chem. Eng.* 2000, 94-101.
- [23] Steinbach, A. und Winkenbach, R.: Systematische Verfahrensentwicklung/-optimierung mit der MFA-Produktivitätsfunktion. *Marktübersicht Verfahrenstechnik'97*, 1997, 9-15.

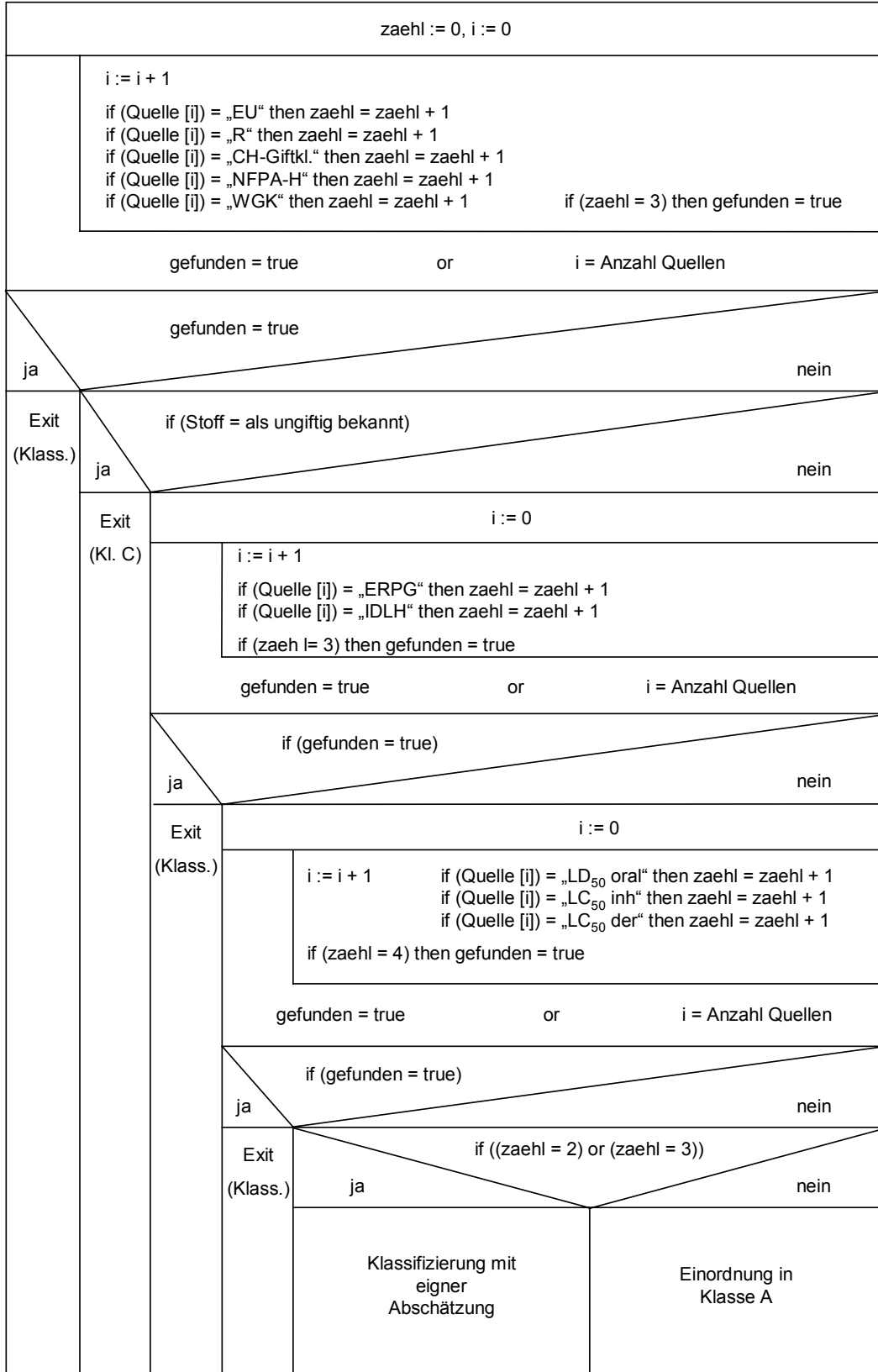
- [24] Stephan, D., Knodel, R. und Bridges, J.: A "Mark I" measurement methodology for pollution prevention progress occurring as a result of product design decisions. *Environ. Prog.* 1994, 13, 232-246.
- [25] Thomas, S., Berger, S. und Weber, V.: Estimating the environmental cost of new processes in R&D. *AIChE Spring National Meeting Paper*, 1994, 1-12.
- [26] Turney, R., Mansfield, D., Malmen, Y. et al.: The inside project on inherent SHE in process development and design - the toolkit and its application. I. *Chem. E. Symp. Ser.* 1997, 141, 203-216.
- [27] Verfaillie, H. und Bidwell, R.: *Measuring eco-efficiency: a guide to reporting company performance*; WBCSD: Genf, 2000.
- [28] Weidenhaupt, A. und Hungerbühler, K.: Integrated product design in chemical industry. A plea for adequate life-cycle screening indicators. *Chimia* 1997, 51, 217-221.
- [29] Cabezas, H., Bare, J., Mallick, S.: Pollution prevention with chemical process simulators: the generalized waste reduction (WAR) algorithm. *Comput. Chem. Eng.* 1997, 21, 305-310.
- [30] Hilaly, A. und Sikdar, S.: Pollution balance method and the demonstration of its application to minimizing waste in a biochemical process. *Ind. Eng. Chem. Res.* 1995, 34, 2051-2059.
- [31] Saling, P.: Ökoeffizienz-Analyse - Produkte zum Kundennutzen auf dem Prüfstand. *Melliand Textilberichte* 2000, 3, 190-194.
- [32] Hilaly, A. und Sikdar, S.: Process simulation tools for pollution prevention. *Chem. Eng.* 1996, 98-105.
- [33] Young, D., Scharp, R. und Cabezas, H.: The waste reduction (WAR) algorithm: environmental impacts, energy consumption and engineering economics. *Waste Management* 2000, 20, 605-615.
- [34] Helminen, R.-R., Pöyry, J.: Eco-efficiency - the microeconomic counterpart of sustainable development. *Paper and Timber* 1998, 80, 36-39.
- [35] Sekizawa, J., Suter, G., Vermeire, T. et al.: An example of an integrated approach for health and environmental risk assessment: The case of organotin compounds. *Water Sci. Tech.* 2000, 42, 305-313.
- [36] European Commission: *Guidelines for the application of life cycle assessment in the EU eco-label award scheme*; Office for Official Publications of the European Communities: Luxembourg, 1997.
- [37] Sheldon, R.: Consider the environmental quotient. *Chemtech* 1994, 24, 38-47.

- [38] Stahl, B.: Methodenvergleich und Methodenentwicklung zur Lösung der Bewertungsproblematik in produktbezogenen Ökobilanzen; Diss. Univ. Bremen, 1998.
- [39] Eissen, M.: Bewertung der Umweltverträglichkeit organisch-chemischer Synthesen; Carl von Ossietzky Universität: Oldenburg, 2001.
- [40] Haase, C.: Umweltrelevante und ökonomische Bewertung von Produktionslinien; Diss. Univ. Bremen: 2002.
- [41] OECD: OECD Environmental Indicators: Towards sustainable development; OECD: Paris, 2001.
- [42] Brand, G., Scheidegger, A. und Schwank, O. et al.: Bewertung in Ökobilanzen mit der Methode der ökologischen Knappheit - Ökofaktoren 1997; Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft (BUWAL): Bern, 1998.
- [43] Schmitz, St. und Paulini, I.: Bewertung in Ökobilanzen; Umweltbundesamt, UBA-Texte 92/99: Berlin, 1999.

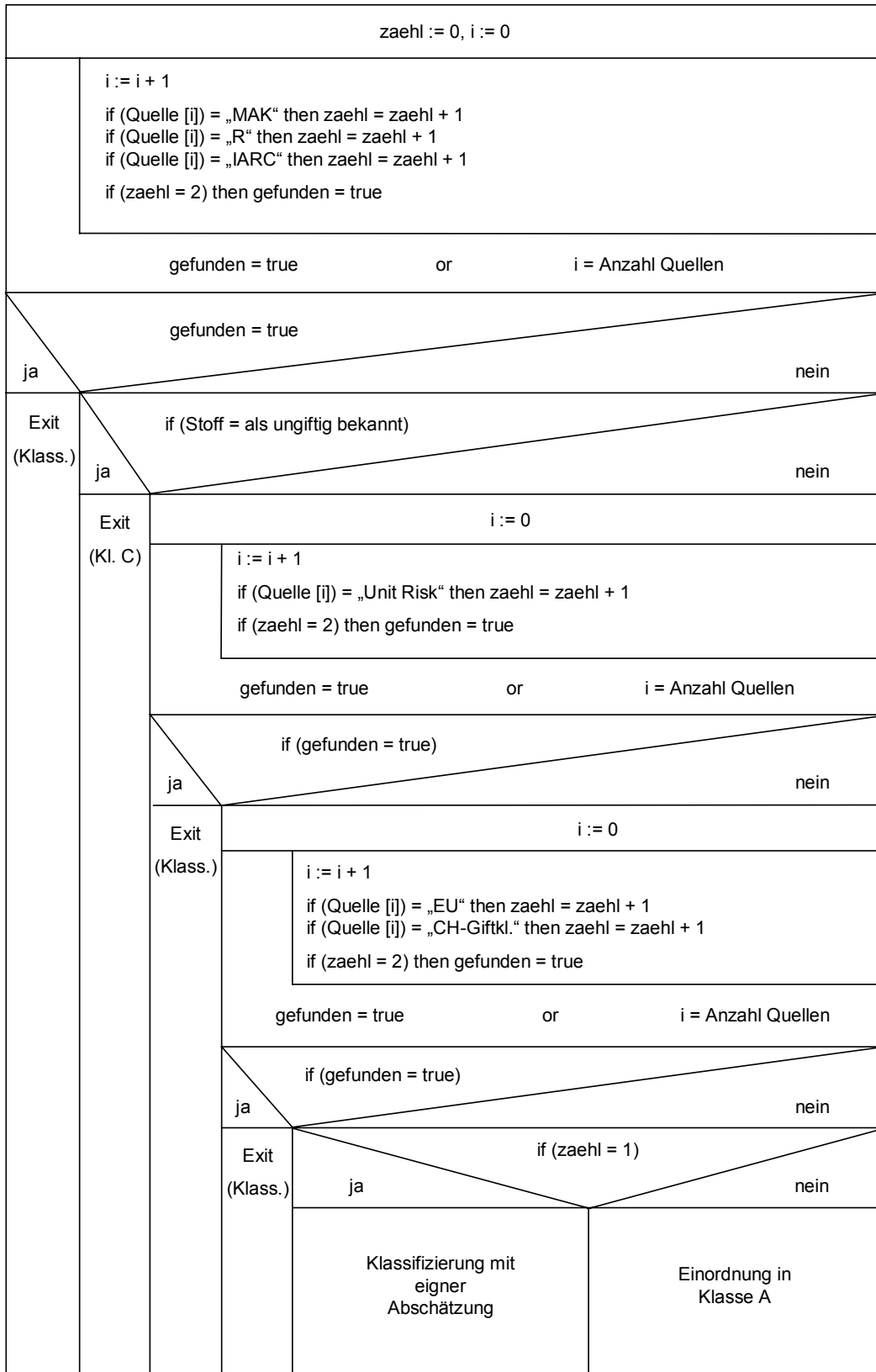


# Anhang A2: Programmablaufplan

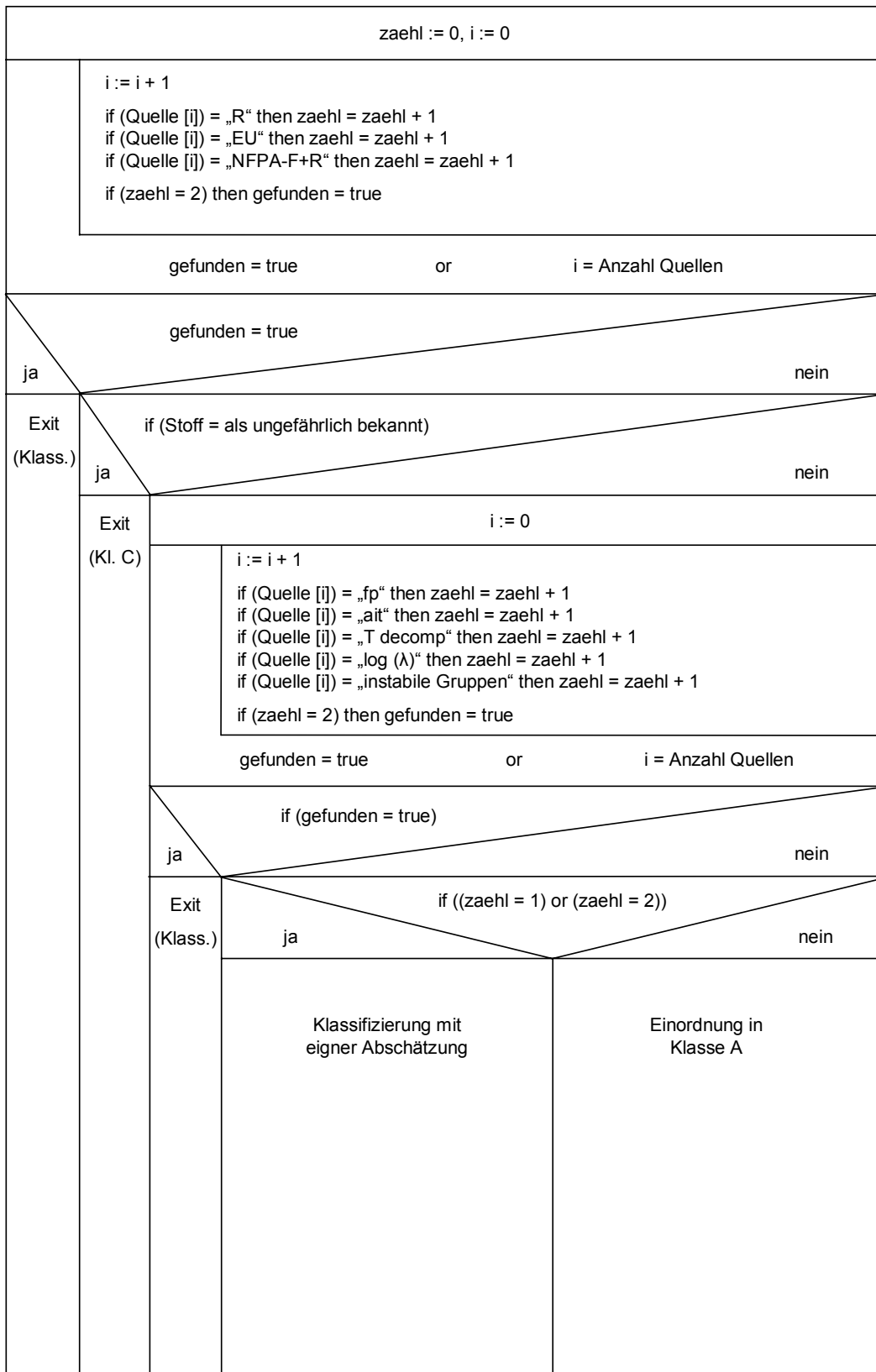
a) Programmablaufplan Wirkungskategorie\* „Acute Toxicity“



b) Programmablaufplan Wirkungskategorie\* „Chronic Toxicity“



c) Programmablaufplan Wirkungskategorie\* „Thermal Risks“



\* Bedeutung der Abkürzungen der einzelnen Bewertungsparameter siehe Tab. 3-1 in Kapitel 3.2.

## Anhang A3: Stoffdatenbank

Die zur Bewertung benötigten Stoffdaten sind in der MS Access-Datenbank „Stoffdatenbank“ auf der beiliegenden CD-ROM hinterlegt. Sie enthält drei Tabellen: Daten zu den Inputkategorien, den Outputkategorien und der Sicherheitskategorie. Die jeweils erfassten Stoffdaten sind in Tab. A3-2 aufgeführt.

Für jeden enthaltenen Wert wird ein Kürzel der Datenquelle angegeben. Die verwendeten Datenquellen und die dazugehörigen Kürzel sind im Tab. A3-1 angegeben. Gibt es zu einer Stoffeigenschaft verschiedene Quellen mit abweichenden Werten, so sind diese in der Spalte „Bemerkungen“ angegeben. Teilweise konnten nicht alle Eigenschaften ermittelt werden. Wo diese Eigenschaften zwingend für die Bewertung benötigt werden (also keine anderen Eigenschaften ersatzweise verwendet werden können), werden Abschätzungen vorgenommen.

Neben den Datentabellen enthält die Stoffdatenbank Formulare, die an die in den jeweiligen Quellen verfügbaren Daten angepasst sind und so eine einfache und schnelle Eingabe ermöglichen. Weiterhin liegen in der Datenbank so genannte Berichte vor, die für jede Wirkungskategorie die relevanten Daten der erfassten Stoffe übersichtlich zusammenfassen. Die Datenbank enthält alle in den untersuchten Fallbeispielen enthaltenen Input- und Outputstoffe. Sie kann durch weitere Stoffe für neue Fallbeispiele ergänzt werden.

Tab. A3-1: Datenquellen der Stoffdatenbank und die in der Datenbank verwendeten Kürzel. Die Kürzel sind auch in der Datenbank in einer eigenen Tabelle erläutert.

Abkürzung	Literaturangabe
A4	Anhang A4: Auflistung von Geruchsschwellenwerten
A5	Anhang A5: Auflistung endokriner Substanzen
BIA	Pflaumbaum, W., Blome, H., Kleine, H. et al.: Gefahrstoffliste 2002 - Gefahrstoffe am Arbeitsplatz, BIA-Report 1/2002; Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften (HVGB): St. Augustin, 2002.
Bud	Budavari, S., O'Neil, M., Smith, A. et al. (Ed.): The Merck index - An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals; Merck & Co.: Rahway, 1989.
ChFi	ChemFinder-Datenbank; Link: <a href="http://chemfinder.cambridgesoft.com/">http://chemfinder.cambridgesoft.com/</a>
Derwent	Derwent, R., Jenkin, M., Saunders, S. und Pilling, M.: Photochemical ozone creation potentials for organic compounds in northwest Europe calculated with a master chemical mechanism. Atmospheric Environment 1998, 32, 2429-2441.
GESTIS	GESTIS: Gefahrstoffinformationssystem der gewerblichen Berufsgenossenschaften; Link: <a href="http://www.hvbg.de/d/bia/fac/zesp/zesp.htm">http://www.hvbg.de/d/bia/fac/zesp/zesp.htm</a>

Abkürzung	Literaturangabe
Goedkoop	Goedkoop, M.: The Eco-Indicator 95, Final Report; National Reuse of Waste Research Program (NOH): Amersfoort, 1995.
HCD	Chemical Hazard Database, Univ. of Arkon, Dep. Of Chem.; Link: <a href="http://ull.chemistry.uakron.edu/erd/">http://ull.chemistry.uakron.edu/erd/</a>
HCP	Lide, D. (Ed.): CRC handbook of chemistry and physics; CRC Press: Boca Raton, 2002.
Heinzle	Heinzle, E. et al.: Ecological and economic objective functions for screening in integrated development of fine chemical processes. 1. Flexible and expandable framework using indices. Ind. Eng. Chem. Res. 1998, 37, 3395-3407.
IARC	International Agency for Research on Cancer, Overall Evaluations of Carcinogenicity to Humans; Link: <a href="http://monographs.iarc.fr/monoeval/crthall.html">http://monographs.iarc.fr/monoeval/crthall.html</a>
ICSC	International Chemical Safety Cards; Link: <a href="http://www.cdc.gov/niosh/ipcs/german.html">http://www.cdc.gov/niosh/ipcs/german.html</a>
IGS	IGS-Public: Informationssystem gefährliche/umweltrelevante Stoffe; Landesumweltamt NRW; Link: <a href="http://igs.lua.nrw.de/igs40/servlet/de.kisters.igs.igs40.servlets.igs40Servlet?DATEISERVLET=1&amp;USER_ID=0UID0&amp;JS=1&amp;SOCKET=2099&amp;DA">http://igs.lua.nrw.de/igs40/servlet/de.kisters.igs.igs40.servlets.igs40Servlet?DATEISERVLET=1&amp;USER_ID=0UID0&amp;JS=1&amp;SOCKET=2099&amp;DA</a>
Jordan	Jordan, E.: Vapor pressure of organic compounds; Interscience Publishers: New York, 1954.
Keim	Keim, W., Behr, A. und Schmitt, G.: Grundlagen der industriellen Chemie - Technische Produkte und Prozesse; Otto Salle Verlag: Frankfurt, 1986.
Ki	Kicherer, A., Saling, P. und Schmidt, I.: Grundlage der Ökoeffizienzanalyse nach BASF. Birkhofer, H. et al. (Ed.): Umweltgerechte Produktentwicklung - Ein Leitfaden für Entwicklung und Konstruktion. Loseblattsammlung, Beuth Verlag: Berlin, 2002, pp. 1-14.
Merck	Merck Chemie Datenbank, ChemDAT, Merck, Darmstadt, online-Zugang
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health; Link: <a href="http://www.cdc.gov/niosh/npg/npg.html">http://www.cdc.gov/niosh/npg/npg.html</a>
ÖB	Umweltdatenbank Ökobase, Umweltbundesamt (UBA)
Rippen	Rippen, G. (Ed.): Handbuch Umweltchemikalien: Stoffdaten, Prüfverfahren, Vorschriften; Loseblattsammlung, ecomed: Landsberg, o. J.
Wei	Weissermel, K. und Arpe, H.-J.: Industrielle organische Chemie - Bedeutende Vor- und Zwischenprodukte; Wiley-VCH: Weinheim, 1998
Römpp	Falbe, J. und Regnitz, M.: Römpp Lexikon der Chemie, 10. Aufl.. CD-Rom; Thieme: Stuttgart, 1999.

Tab. A3-2: Die in den drei Datentabellen Inputkategorien, Outputkategorien und Sicherheitskategorie erfassten Stoffeigenschaften

Inputkategorien	Outputkategorien	Sicherheitskategorie
Stoffname	Stoffname	Stoffname
CAS-Nummer	CAS-Nummer	CAS-Nummer
Ressourcenreichweite	Summenformel	Schmelztemperatur
Complexity of the Synthesis	Molekulargewicht	Siedetemperatur
Critical Materials used	Dampfdruck	NFPA-Einteilung <sup>7</sup>
	pH-Wert	Flammpunkt
	Löslichkeit	Selbstzündungstemperatur
	Global Warming Potential	Zersetzungstemperatur
	Ozone Depletion Potential	LOG Elektr. Leitfähigkeit
	Photochemical Ozone Creation Potential	instabile Gruppen
	Acidification Potential	
	Odour (Geruchsschwellenwert)	
	N-Gehalt	
	P-Gehalt	
	COD/ThOD	
	ERPG <sup>1</sup>	
	IDLH <sup>2</sup>	
	Wassergefährdungsklasse (WGK)	
	EU-Klassifikation	
	R-Sätze	
	Giftklasse (CH)	
	LC <sub>50</sub> <sup>3</sup> inhalativ	
	LD <sub>50</sub> <sup>4</sup> oral	
	LC <sub>50</sub> dermal	
	Unit Risks (Cancer)	
	MAK <sup>5</sup>	
	IARC-Einteilung <sup>6</sup>	
	Endocrine Disruption Potential	

<sup>1</sup> ERPG = Emergency Response Planning Guidelines; <sup>2</sup> IDLH = Immediately Dangerous of Life and Health;

<sup>3</sup> LC<sub>50</sub> = Letale Konzentration, 50 %; <sup>4</sup> LD<sub>50</sub> = Letale Dosis, 50 %; <sup>5</sup> MAK = Maximale

Arbeitsplatzkonzentration; <sup>6</sup> IARC = International Agency for Research on Cancer; <sup>7</sup> NFPA = National Fire Protection Agency (Hazard Classes)

## Anhang A4: Geruchsschwellenwerte

Stoff	Geruchsschwellenwert GSRL [mg/m <sup>3</sup> ]	Geruchsschwellenwert Heijungs et al., 1992 [mg/m <sup>3</sup> ]
1,1,1-Trichlorethan	-	5,3
1,2,4-Trimethylbenzol	-	0,14
1,2-Dimethylbenzol (o-Xylol)	-	0,78
1,3,5-Trimethylbenzol (Mesitylen)	2,0	0,18
1,3-Dimethylbenzol (m-Xylol)	-	0,54
1,4-Dimethylbenzol (p-Xylol)	-	0,53
2-Toloylen-4-diisocyanat	14,4	-
2-Ethyl-5,5-dimethyl-1,3-dioxan	-	0,0000056
2-Ethyl-1-hexanol	0,4	-
2-Methylpropionsäure (Isobuttersäure)	-	0,005
2-Methylpropanol-1 (Isobutanol)	-	0,035
2-Methylpropen (Isobutylene)	-	15,0
3-Methylbuttersäure (Isovaleriansäure)	-	0,00022
Acetaldehyd (Ethanal)	0,4	0,00027
Aceton	48,0	72,0
Acrolein (2-Propenal)	0,5	0,069
Acrylnitril (Vinylcyanid)	44,0	-
Ameisensäure (Methansäure)	1,9	-
Ammoniak	1,9	1,0
Benzol	16,2	-
Butadien	1,1	-
Butyraldehyd (Butanal)	-	0,00084
Buttersäure (Butansäure)	0,004	0,00035
Butylacrylat (Acrylsäurebutylester)	-	0,0015
Chlorbenzol (Benzolmonochlorid)	0,9	1,0
Cyclohexan	0,4	-
Decahydronaphthalin (Decalin)	-	2,8
Dibutylamin	1,4	-
Dichlormethan (Methylenchlorid)	706,0	640,0
Diethylamin	0,06	0,09
Dimethylamin	0,09	0,0014
Dimethylformamid	303,0	-
Diphenylether (Diphenyloxid)	0,7	-
Essigsäure (Ethansäure)	2,5	0,061
Ethanol (Ethylalkohol)	19,1	0,64
Ethylacetat (Essigsäureethylester)	22,0	2,1
Ethylacrylat (Acrylsäureethylester)	0,002	0,00082

Stoff	Geruchsschwellenwert	Geruchsschwellenwert
	GSRL [mg/m <sup>3</sup> ]	Heijungs et al., 1992 [mg/m <sup>3</sup> ]
Ethylbutyrat (Buttersäureethylester)	-	0,00003
Ethylenoxid (Oxiran)	549,0	-
Ethanthiol (Ethylmercaptan)	0,003	0,000044
Diethylsulfid (Ethylthioethan)	-	0,0014
Formaldehyd (Formalin)	0,1	0,49
i-Pentylalkohol (i-Amylalkohol)	0,2	-
i-Butanol (2-Butanol)	2,2	0,68
i-Propanol (2- o. Isopropanol)	7,5	-
i-Propylether (Diisopropylether)	0,09	-
Isopentylacetat (Isoamylacetat, Essigsäure-isopentylester)	-	0,075
Isopropylbenzol (Cumol, i-Propylbenzol)	0,04	0,073
Propionsäureisopropylester (Isopropylpropionat)	-	0,32
Methanol (Methylalkohol)	0,04	73,0
Methylacetat (Essigsäuremethylester)	-	22,0
Methylacrylat (Acrylsäuremethylester)	-	0,01
Methylamin	-	0,0012
Dimethyldisulfid (Methyldithiomethan)	-	0,0015
2-Butanon (Methylethylketon)	0,2	-
Methylmercaptan (Methanthiol)	0,04	0,00024
Methylmethacrylat (Methacrylsäure-methylester)	0,2	0,63
Methylpentan-2-on (Isopropylaceton)	-	0,69
Methylpropionat (Propionsäuremethylester)	-	3,5
Dimethylsulfid	-	0,0003
m-Kresol (3-Methylphenol)	5,3	0,00057
Morpholin (Tetrahydro-1,4-oxazin)	0,04	-
n-Amylacetat	0,4	-
n-Amylalkohol (1-Pentanol, Pentylalkohol)	0,7	-
n-Butanol (1-Butanol, Butylalkohol)	0,12 (0,4*)	0,077
n-Butylacetat (Essigsäurebutylester)	0,03	0,031
n-Butylpropionat (Propionsäure-n-butylester)	-	0,086
Nitrobenzol	0,03	-
o-Kresol (2-Methylphenol)	0,004	0,0018
Valeraldehyd (Pentanal)	-	0,0024
Phenol (Carbolsäure)	0,2	0,039
Phosgen	4,1	-
p-Kresol (4-Methylphenol, TFA)	6,0	0,00018
Propanal (Propanaldehyd, Propionaldehyd)	-	0,0035
Propionsäure (Propansäure)	0,2	0,0052
Propylendiamin (1,2-Diaminopropan)	0,03	-



Stoff	Geruchsschwellenwert GSRL [mg/m <sup>3</sup> ]	Geruchsschwellenwert Heijungs et al., 1992 [mg/m <sup>3</sup> ]
Propylenoxid (1,2-Epoxypropan)	24,0	-
Pyridin	0,07	0,12
Schwefelkohlenstoff (Kohlenstoffdisulfid)	0,6	0,18
Schwefelwasserstoff	0,0014 (0,003*)	0,00043
Styrol (Vinylbenzol)	-	0,068
Terephthalsäuredichlorid (Terephthaloylchlorid)	-	0,0032
Tetrachlorethylen (Perchlorethylen)	34,0	8,3
Tetrachlorkohlenstoff (Tetrachlormethan)	640,0	-
Toluol	7,6	3,8
Trichlorethen	109,0	3,9
Triethylamin	0,4	-
Trimethylamin	0,0005	0,00026

\* Werte, die bei Brauer (1996) von den Angaben in der GIRL Bbg. (s.u.) abweichen

## Literatur

Brandenburger Richtlinie zur Feststellung und Beurteilung von Geruchsimmissionen  
(Brandenburger Geruchsimmissions-Richtlinie – GIRL Bbg). Potsdam. 17. Feb.  
2000.

Brauer, H.: Handbuch des Umweltschutzes und der Umwelttechnik. Bd. 1: Emissionen und  
ihre Wirkungen; Springer Verlag: Berlin, 1996.

Heijungs, R., Guineé, J., Huppes, G. et al.: Environmental life cycle assessment of products;  
Centre of Environmental Science: Leiden, 1992.

## Anhang A5: Stoffe mit endokriner Wirkung

Stoff (X = nur Verdacht)	Wirkung (Art, Ort)	Literatur
1,2,3-Trichlorobenzene (Trichlorbenzol)	Reduktion Laichzahlen <i>Danio rerio</i>	Roex et al., 2001
17,20- $\beta$ -Dihydroxy-4-pregnen-3-on 20-sulfat (X)	Pheromonwirkung auf <i>Salmo salar</i> ♂	Waring et al., 1996
17- $\alpha$ -Ethinylestradiol (Ethinylöstradiol [EE <sub>2</sub> ])	synt. Östrogen (Pille), Vitellogenininduktion in Forellen	Tyler et al., 1998; Braun et al., 2001; Degen et al., 1999
17- $\beta$ -Estradiol	menschliches Östrogen	Braun et al., 2001; Tabata et al., 2001
2,2,5-Trichlor-4-biphenylol	Östrogenmimik	National Research Council, 1999
2,3,4,5-Tetrachlor-3-biphenylol	Östrogenmimik	National Research Council, 1999
2,3,4,5-Tetrachlor-4-biphenylol	Östrogen in Nichtvertebraten	Tyler et al., 1998
2,3,5-Trichlor-4-biphenylol	Östrogenmimik	National Research Council, 1999
2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,5-T, Herbizid) (X)		Bruhn et al., 1999
2,4,6-Trichlor-4-biphenylol	100% Geschlechtsumkehr in <i>red-eared slider turtles</i> ♂, Östrogen in Nichtvertebraten	Calabrese et al., 1997; Tyler et al., 1998
2,4-Dichlorphenol (X)	Bindung an Transthyretin	Bruhn et al., 1999
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D, Herbizid)	Schilddrüsengewicht, Tyroxinspiegel, Schilddrüsenhormonsystem	Bruhn et al., 1999
2,5-Dichlor-2-biphenylol	Östrogenmimik	National Research Council, 1999
2,5-Dichlor-3-biphenylol	Östrogenmimik	National Research Council, 1999
2,5-Dichlor-4-biphenylol	Östrogenmimik	National Research Council, 1999
2,6-Dichlor-4-biphenylol	Östrogenmimik	National Research Council, 1999
2-Biphenylol (2-Hydroxybiphenyl; Torsite; Orthoxenol)	Östrogenmimik	National Research Council, 1999
2-Chloro-4,4-biphenyldiol	Östrogenrezeptorbindung	National Research Council, 1999
3-Biphenylol	Östrogenmimik	National Research Council, 1999

Stoff (X = nur Verdacht)	Wirkung (Art, Ort)	Literatur
4-Alkylphenol	Östrogenrezeptorbindung	National Research Council, 1999
4-Biphenylol	Östrogenrezeptorbindung	National Research Council, 1999
4-tert-Octylphenol (tOP, p-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)-phenol)	Feminisierung Guppy ♂	Upmeier et al., 1999; Bolt u. Degen, 2000; Toft u. Bastrup, 2001; Butte et al., 2001
4-t-Pentylphenol	Feminisierung	Wu et al., 2001
Aldrin (Aldrite; Aldrosol; HHDN; Seedrin, Insektizid) (X)	-	Bruhn et al., 1999
Amitrol (3-Amino-1,2,4-triazol, Herbizid)	Schilddrüsenhormonsystem, thyreostatisch	Bruhn et al., 1999
Apigenin	Phytoöstrogen	Bolt u. Degen, 2000
Arochlor 1221 (Chlordiphenyl 21%Cl PCB)	ureotropisch, östrogene Wirkung	Tyler et al., 1998
Arochlor 1254 (Chlordiphenyl 54%Cl, o. Chlor-1,1-biphenyl PCB)	Thyrosinspiegelsenkung	Aoki, 2001; Tyler et al., 1998
Atrazin (2-Chlor-4-ethylamino-6-iso- propylamino-S-triazin, Herbizid)	Sexualhormonsystem	Bruhn et al., 1999
BBP (Benzylbutylphthalat, Butylbenzylphthalat)	Gonadentoxin in sehr hohen Dosen, Östrogenrezeptorbindung	Ashby u. Elliott, 1997; Butte et al., 2001; National Research Council, 1999; Wezel et al., 2000; Calabrese et al., 1997
β-HCH (Hexachlorcyclohexan)	Sexualhormonsystem	Bruhn et al., 1999; Tyler et al., 1998
β-Sitosterol (24-Ethylcholest-5-en-3β- ol, Steroid)	Phytoöstrogen	Bolt u. Degen, 2000; Calabrese et al., 1997
BHA (t-Butylhydroxyanisol, Vertac, Antioxyne b)	Östrogenrezeptorbindung	Calabrese et al., 1997; National Research Council, 1999; Butte et al., 2001
Biochanin A	Phytoöstrogen	Bolt u. Degen, 2000; Degen et al., 1999
Bisphenol A (BisA)	Östrogenmimik in hohen Dosen	Safe et al., 1997; Butte et al., 2001; Bolt u. Degen, 2000; Tyler et al., 1998; VCI, 2001; Calabrese et al., 1997; Tabata et al., 2001 u.a.

Stoff (X = nur Verdacht)	Wirkung (Art, Ort)	Literatur
Carbaryl (Sevin; $\alpha$ -Naphthyl; N-Methylcarbamat, Insektizid)	Epiphyse, Hypothalamus/Hypophyse, Schilddrüsenhormonsystem, Nebennierenrinden- hormonsystem	Bruhn et al., 1999
Chinalphos (o,o-Diethyl-o-2-chinoxalinyl- phosphorothioat, Insektizid)	Sexualhormonsystem, Östrogenmimik	Bruhn et al., 1999
Chlordan (Octachlor-4,7-methanohydroindan, Insektizid)	Schilddrüsenhormonsystem, Sexualhormonsystem	Bruhn et al., 1999
cis-trans-Nonachlor (4,7-Methanoindan, Insektizid) (X)		Bruhn et al., 1999
Coumestrol (7,12-Dihydroxycoumestan)	Phytoöstrogen	Bolt u. Degen, 2000; Degen et al., 1999; Calabrese et al., 1997
Daidzein (4,7-Dihydroxyisoflavon)	Phytoöstrogen	Bolt u. Degen, 2000; Degen et al., 1999
DBP (Di-n-Butylphthalat)	Östrogenmimik, Östrogenrezeptorbindung	National Research Council, 1999; Tyler et al., 1998; Wezel et al., 2000; Butte et al., 2001
DEHP (Di-(2-ethylhexyl)phthalat)	Gonadentoxin bei sehr hohen Dosen	Butte et al., 2001; Tyler et al., 1998; Wezel et al., 2000
DEP (Diethylphthalat, Anozol; Estol 1550; Neantin; Palatinol a; Phthalol; Placidol e; Solvanol)	Östrogenmimik	Wezel et al., 2000
DHP (Dihexylphthalat)	Östrogenmimik	Wezel et al., 2000
Dicofol (Acarin; Carbox; Cekudifol; CPCA; Decofol; DTMC; Mifol; Kelthane; Milbol; Mitigan) (X)	Prolaktinspiegelerhöhung	Bruhn et al., 1999
Dieldrin (HEOD; Alvit; Oxralox; Quintox)	Östrogenmimik	National Research Council, 1999; Tyler et al., 1998
Diethylstilbestrol DES (Cyren a; Destrol)	Phytoöstrogen, Adenokarzinome beim Mensch	Calabrese et al., 1997; Bolt u. Degen, 2000; Degen et al., 1999
Di-isobutylphthalate (1,2-Benzendicarbonsäure, Bis(2-methylpropyl)ester; Hexaplas m/1b; Palatinol ic)	-	Butte et al., 2001
Diphenylphthalat (o-Diphenoxycarbonylbenzen; 1,2-Benzendicarbonsäure)	Östrogenmimik	National Research Council, 1999

<b>Stoff (X = nur Verdacht)</b>	<b>Wirkung (Art, Ort)</b>	<b>Literatur</b>
DSWF (Diesel Soluble Water Fraction) (X)	Wechselwirkung mit steroidbildenden Enzymen	Pacheco u. Santos, 2001
Endosulfan A, AB, B ( $\alpha$ -Endosulfan, $\beta$ -Endosulfan, Pestizid)	Östrogenmimik	National Research Council, 1999; Tyler et al., 1998; Calabrese et al., 1997
Enterodiol	Phytoöstrogen	Bolt u. Degen, 2000
Enterolacton (Lignan)	Phytoöstrogen	Bolt u. Degen, 2000
Equol	-	Bolt u. Degen, 2000
Estriol (Dihydroxyestrin)	Östrogen	Jungbauer, 1998
Estron (Östron)	natürliches Östrogen, Phytoöstrogen	Degen et al., 1999; Braun et al., 2001
Fenarimol (Rigidin; Rubigan; Bloc; EL 222, Fungizid)	Sexualhormonsystem	Bruhn et al., 1999
Formononetin	Phytoöstrogen	Bolt u. Degen, 2000; Degen et al., 1999
$\gamma$ -HCH (Hexachlorcyclohexan, Insektizid)	Sexualhormonsystem	Bruhn et al., 1999
Genistein (4',5,7-Trihydroxyisoflavon, Isoflavon)	Phytoöstrogen	Bolt u. Degen, 2000; Degen et al., 1999; Calabrese et al., 1997
HCB (Hexachlorbenzen, Perchlorbenzen, Fungizid)	extrathyreoidale Wirkungsmechanismen, Schilddrüsenhormonsystem	Bruhn et al., 1999
Kepon	Östrogenrezeptorbindung	National Research Council, 1999; Bolt u. Degen, 2000; Calabrese et al., 1997
Lindan ( $\gamma$ -Hexachlorcyclohexan, Biozid)	Östrogenrezeptorbindung, antiöstrogen	Bruhn et al., 1999; National Research Council, 1999; Butte et al., 2001
Linuron (Lorox; N'-(3,4-Dichlorphenyl)-N-methoxy-N- methylurea; Methoxydiuron)	Antiandrogen	Fröse, 1998
Luteolin	natürliches Antiöstrogen	National Research Council, 1999
Mancozeb (Mischung Mangan(II)- (1,2-Ethandiylbist-hiocarbamat) u. Zink(II)-(1,2-Ethandiylbistthio- carbamat), Fungizid)	Schilddrüsenhormonsystem	Bruhn et al., 1999
Maneb (MEB, Fungizid)	Schilddrüsenhormonsystem	Bruhn et al., 1999
Methoxychlor (2,2-Bis(p-methoxy- phenyl)-1,1,1-trichlorethan; Maralat; Marlat; Metox; Chemform; DMDT; Methoxy-DDT, Biozid)	Östrogenrezeptorbindung	Calabrese et al., 1997; National Research Council, 1999; Butte et al., 2001; Ashby u. Elliott, 1997

<b>Stoff</b> <b>(X = nur Verdacht)</b>	<b>Wirkung (Art, Ort)</b>	<b>Literatur</b>
Metribuzin (Herbizid)	Schilddrüsenhormonsystem, Tyroxinspiegel	Bruhn et al., 1999
Metiram (Fungizid) (X)	thyreostatisch	Bruhn et al., 1999
Nandrolon (17- $\beta$ -Hydroxyestra-4-en-3-on)	Androgen	Hock et al., 2000
Naringenin (4,5,7-Trihydroxyflavanon, Flavon)	Phytoöstrogen, Antiöstrogen	Bolt u. Degen, 2000; National Research Council, 1999
Nitrofen (2,4-Dichlor-1-(4-nitrophenoxy)-benzen, Herbizid)	Schilddrüsenhormonsystem	Bruhn et al., 1999
n-Octylphenol (nOP)	Östrogenmimik	VCI, 2001; Butte et al., 2001; Calabrese et al., 1997; Safe et al., 1997
Nonylphenol (NP, 4-Nonylphenol, p-Nonylphenol)	Östrogenmimik	Hock et al., 2000; VCI, 2001; Calabrese et al., 1997; Safe et al., 1997; Tabata et al., 2001; Guenther et al., 2002
Nonylphenolcarboxylat	stimuliert Vitellogeninsynthese	Folmar et al., 2001
Nonylphenoethoxylat, Alkylphenoethoxylat (NP2EO)	stimuliert Vitellogeninsynthese, Östrogenrezeptorbindung	Calabrese et al., 1997; National Research Council, 1999; Folmar et al., 2001
o,p-DDT; p,p-DDT (Dichlordiphenyltrichlorethan, Biozid)	Antiandrogen, Östrogenmimik	National Research Council, 1999; Tyler et al., 1998; Butte et al., 2001; Safe et al., 1997
p,p-DDD, o,p-DDE, o,p-DDD (Abbauprodukte von DDT)	Agonisten in der Vitellogeninsynthese	National Research Council, 1999; Tyler et al., 1998
p,p-DDE (Abbauprodukt von DDT)	Östrogenmimik, Antiandrogen bei Alligatoren	Safe et al., 1997; National Research Council, 1999; Degen et al., 1999
Parathion (E 605, Insektizid)	Hypothalamus/ Hypophyse	Bruhn et al., 1999
PBB (Polybromierte Biphenyle)	Schilddrüsenhormonsystem	Bruhn et al., 1999
PCB-Mischungen (Polychlorierte Biphenyle)	Östrogenmimik, Yusho disease	Safe et al., 1997; Aoki, 2001; National Research Council, 1999
PCDD's: TCDD, PeCDD, HxCDD (Polychlorierte Dibenzo-p-dioxin (tetra, penta, hexa))	Antiöstrogen, Reduktion/ Hemmung Eisprung, Yusho disease, Demaskulinisierung	Safe et al., 1997; Aoki, 2001; Gao et al., 1999; Wu et al., 2001

<b>Stoff (X = nur Verdacht)</b>	<b>Wirkung (Art, Ort)</b>	<b>Literatur</b>
PCP (Pentachlorphenol, Biozid)	hypothalamisch, TSH-Spiegel, suprahypothalamisch	Bruhn et al., 1999; Butte et al., 2001; Gerhard et al., 1999
Pyrethroide (z.B. Permethrin, Insektizid) (X)	androgen oder antiandrogen	Bruhn et al., 1999
Quercetin	natürliches Antiöstrogen	National Research Council, 1999
Raloxifen	Östrogenmimik	Ashby u. Elliott, 1997
Styrol (Phenylethylen)	Hypothalamus/ Hypophyse	Bruhn et al., 1999
Tamoxifen (4-Hg), cis, cis-trans, trans (Nolvadex)	Antiöstrogen/ Östrogene Wirkung	Hock et al., 2000
Tebufenozide (Confirm®, Romdan®, Mimic®, N- tert-Butyl-N'-[4-ethyl-benzoyl]-3,5- dimethylbenzohydrazid)	Östrogenrezeptorbindung, doppelte Männchensterberate bei <i>Chironomus riparius</i> bei 100µ/L	Hahn et al., 2001
Thiram (Tetramethylthioperoxydicarbon- thioic diamin, TMTD, Thiuram, Fungizid)	Schilddrüsenhormonsystem, Hypothalamus, Hemmung Noradrenalin-synthese	Bruhn et al., 1999
Toxafen (Toxaphene, Pestizid)		National Research Council, 1999; Tyler et al., 1998; Calabrese et al., 1997
Tributylzinn (TBT, Tributyltin, Triphenylzinn, antifouling paint)	Imposex, Testosteronbildung, potentiell: Hemmung Androgenaromatase	Morcillo u. Porte, 1999; Tyler et al., 1998
Trifluralin (Agreflan; Elancolan; Treflam; Trim; Treflan, Herbizid)	Hypothalamus/ Hypophyse	Bruhn et al., 1999
Vinclozolin (3-(3,5-Dichlorphenyl)-5-methyl-5- vinyl-oxazolidin-2,4-dion, Fungizid)	Abbauprodukte wirken antiandrogen	Safe et al., 1997; Hock et al., 2000; Tyler et al., 1998
Zearalenon (Resorcylsäurelacton)	Schimmelpilzöstrogen	Bolt u. Degen, 2000
Zineb (Zinkethylenbis-(dithiocarbamat), Fungizid)	Schilddrüsenhormonsystem	Bruhn et al., 1999
Ziram (Zinkdimethyldithiocarbamat; Methyl zineb, Fungizid) (X)	thyreostatisch	Bruhn et al., 1999

## Literatur

Aoki, Y.: Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters - what we have learned from Yusho disease. Environ. Res. Sec. A 2001, 86, 2-11.

- Ashby, J. und Elliott, B.: Reproducibility of endocrine disruption data. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1997, 26, 94-95.
- Bolt, H. und Degen, G.: Hormoneffekte von Chemikalien in Nahrung und Umwelt. Chem. i. u. Zeit 2000, 34, 30-37.
- Brown, R., Greer, R., Mihaich, E. et al.: A critical review of the scientific literature on potential endocrine-mediated effects in fish and wildlife. Ecotox. Environ. Safety 2001, 49, 17-25.
- Bruhn, T., Gülden, M., Ludewig, S. et al.: Einstufung von Schadstoffen als endokrin wirksame Substanzen; Umweltbundesamt, UBA-Texte 65/99: Berlin, 1999.
- Butte, W., Hoffmann, W., Hostrup, O. et al.: Endokrin wirksame Substanzen im Hausstaub: Ergebnisse eines repräsentativen Monitorings. Gefahrstoffe 2001, 61, 19-23.
- Degen, G., Foth, H., Kahl, R. et al.: Hormonell aktive Substanzen in der Umwelt: Xenoöstrogene. Umweltmed. Forsch. Prax. 1999, 4, 367-374.
- Calabrese, E., Baldwin, L., KostECKI, P. et al.: A toxicologically based weight-of-evidence methodology for the relative ranking of chemicals of endocrine disruption potential. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1997, 26, 36-40.
- Folmar, L., Denslow, N., Kroll, K. et al.: Altered serum sex steroids and vitellogenin induction in walleye (*Stizostedion vitreum*) collected near a metropolitan sewage treatment plant. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2001, 40, 392-398.
- Fröse, B.: Umweltchemikalien mit Hormoneller Wirkung. BioTec, 1998.
- Gao, X., Son, D., Terranova, P. et al.: Toxic equivalency factors of polychlorinated dibenzo-p-dioxins in an ovulation model: Validation of the toxic equivalency concept for one aspect of endocrine disruption. Toxic. Appl. Pharma. 1999, 157, 107-116.
- Gerhard, I., Frick, A., Monga, B. et al.: Pentachlorophenol exposure in women with gynecological and endocrine dysfunction. Environ. Res. Sec. A 1999, 80, 383-388.
- Guenther, K., Heinke, V., Thiele, B. et al.: Endocrine disrupting nonylphenoly are ubiquitous in food. Environ. Sci. Technol. 2002, 36, 1676-1680.
- Hahn, T., Liess, M. und Schulz, R.: Effects of the hormone mimetic insecticide Tebufenozide on *Chironomus riparius* larvae in two different exposure setups. Ecotox. Environ. Safety 2001, 49, 171-178.
- Hock, B., Rothe, S. und Seifert, M.: Hormone in der Umwelt - die Tests im Überblick. Nachr. Chem. 2000, 48, 918-923.
- Jungbauer, A.: Altes Problem- Neues Marscherl. Chemie 1998, 20.



- Morcillo, Y. und Porte, C.: Evidence of endocrine disruption in the imposex-affected gastropod *Bolinus brandaris*. Environ. Res. Sec. A 1999, 81, 349-354.
- National Research Council: Hormonally active agents in the Environment; National Academy Press: Washington, 1999.
- Pacheco, M. und Santos, M.: Biotransformation, endocrine and genetic responses of *Anguilla anguilla* L. to petroleum distillate products and environmentally contaminated waters. Ecotox. Environ. Safety 2001, 49, 64-75.
- Roex, E., Giovannangelo, M. und van Gestel, C.: Reproductive impairment in the zebrafish, *Danio rerio*, upon chronic exposure to 1,2,3-Trichlorbenzene. Ecotox. Environ. Safety 2001, 48, 196-201.
- Safe, St., Connor, K., Ramamoorthy, K. et al.: Human exposure to endocrine-active chemicals: Hazard assessment problems. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1997, 26, 52-58.
- Tabata, A., Kashiwada, S., Ohnishi, Y.: Estrogenic influences of estradiol-17 $\beta$ ,p-nonylphenol and bis-phenol-A on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) at detected environmental concentrations. Water Sci. Tech. 2001, 43, 109-116.
- Toft, G. und Baatrup, E.: Sexual characteristics are altered by 4-tert-Octylphenol and 17 $\beta$ -Estradiol in the adult male guppy (*Poecilia reticulata*). Ecotox. Environ. Safety 2001, 48, 76-84.
- Tyler, C., Jobling, S. und Sumpster, J.: Endocrine disruption in wildlife: A critical review of the evidence. Crit. Rev. Toxicol. 1998, 28, 319-361.
- Upmeier, A., Degen, G., Schuhmacher, U. et al.: Toxicokinetics of p-tert-octylphenol in female DA/Han rats after single i.v. oral application. Arch. Toxicol. 1999, 73, 217-222.
- Verband der Chemischen Industrie (VCI): Endokrine Stoffe: Es muss weiter geforscht werden; Positionspapier; VCI: Frankfurt, 2001.
- Waring, C., Moore, A. und Scott, A.: Milt and endocrine responses of mature male atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr to water-borne testosterone, 17,20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one-20-sulfate, and the urines from adult female and male salmon. Gen. Comp. Endocrinol. 1996, 103, 142-149.
- Wezel, A. van, Vlaardingen, P. van, Posthumus, R. et al.: Environmental risk limits for two phthalates with special emphasis on endocrine disruptive properties. Ecotox. Environ. Safety 2000, 46, 305-321.

Wu, W., Li, W., Xu, Y. et al.: Long-term toxic impact of 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin on the reproduction, sexual differentiation, and development of different life stages of *Gobiocypris rarus* and *Daphnia magna*. *Ecotox. Environ. Safety* 2001, 48, 293-300.

### Weiterführende Literatur

Andersson, A. und Skakkebaek, N.: Exposure to exogenous estrogens in food: possible impact on human development and health. *Eur. J. Endocrinology* 1999, 140, 477-485.

Ashby, J., Lefevre, P., Odum, J. et al.: Failure to confirm estrogenic activity for benzoic acid and clofibrate: Implications for lists of endocrine-disrupting agents. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 1997, 26, 96-101.

Barton, H. und Andersen, M.: Dose-response assessment strategies for endocrine-active compounds. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 1997, 25, 292-305.

Degirmenci, E., Ono, Y., Kawara, O. et al.: Genotoxicity analysis and hazardousness prioritization of a group of chemicals. *Water Sci. Tech.* 2000, 42, 125-131.

Environmental Protection Agency: Environmental Protection Agency endocrine disruptor screening program - Report to congress, 2000.

Fenner-Crisp, P.: Endocrine disruptor risk characterization: An EPA perspective. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 1997, 26, 70-73.

Kavlock, R., Daston, G., DeRosa, C. et al.: Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: A report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environ. Health Perspectives. Suppl.* 1996, 104, 715-740.

Kommission der Europäischen Gemeinschaften: Gemeinschaftsstrategie für Umwelthormone - Stoffe, die im Verdacht stehen, sich störend auf das Hormonsystem des Menschen und der wildlebenden Tiere auszuwirken; Mitteilung der Kommission an den Rat und das Europäische Parlament: Brüssel, 1999.

Nasu, M., Goto, M., Kato, H., Oshima, Y., Tanaka, H.: Study on endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants. *Water Science and Technology*, 2001, 43/2, 101-108.

Rhomberg, L.: Beyond screening: Problems and prospects for risk characterization of endocrine disruptors. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 1997, 26, 74-79.

Tanaka, H., Yakou, Y., Takahashi, A., Higashitani, T., Komori, K.: Comparison between estrogenicities estimated from DNA recombinant yeast assay and from chemical analyses of endocrine disruptors during sewage treatment. *Water Science and Technology*, 2001, 43/2, 125-132.

## Anhang A6: Environmental Factors

Stoff*	Input		Output	
	EF <sub>Mw</sub> ** [Indexpunkte/kg]	EF <sub>Mult</sub> ** [Indexpunkte/kg]	EF <sub>Mw</sub> [Indexpunkte/kg]	EF <sub>Mult</sub> [Indexpunkte/kg]
Acetaldehyd	-	-	0,65	27,04
Acetanhydrid	0,23	2,20	-	-
Aceton	0,23	2,20	0,30	2,86
α-Cyclodextrin	-	-	0,15	1,69
Aluminiumchlorid	-	-	0,15	1,69
Ammoniak	0,40	6,76	0,83	83,20
Ammoniumbicarbonat	0,23	2,20	-	-
Ammoniumchlorid	0,23	2,20	0,33	5,20
Ammoniumnitrat	0,48	8,79	0,58	20,80
Ammoniumsulfat	0,23	2,20	0,33	5,20
bakt. Biomasse	0,00	1,00	0,08	1,30
β-Cyclodextrin	-	-	0,08	1,30
Brenztraubensäure	0,08	1,30	0,23	2,20
Butanol (1-)	0,23	2,20	0,48	8,79
Butylacetat	0,23	2,20	0,23	2,20
Calciumchlorid	0,08	1,30	0,08	1,30
Chlorid	-	-	0,00	1,00
Decanol (1-)	0,15	1,69	0,23	2,20
Dextrin	0,00	1,00	0,08	1,30
Dichlormethan	0,48	8,79	0,23	2,20
Diethylether (Ether)	0,40	6,76	0,65	27,04
Dimethylalinin (N,N-)	0,30	2,86	-	-
Dimethyldichlorsilan	0,30	8,79	-	-
Dimethylpyrazin (2,5-)	-	-	0,40	6,76
Eisen(III)-chlorid	-	-	0,08	1,30
Eisensulfat	0,15	1,69	0,08	1,30
Essigsäure/Acetat	0,23	2,20	0,30	2,86
Ethylacetat	0,23	2,20	-	-
Ethylamin	-	-	0,58	20,80
Glucose	0,00	1,00	0,08	1,30
Glutamin (L-)	0,08	1,30	0,08	1,30
Hexan (n-)	0,40	6,76	0,40	6,76
Kaliumchlorid	-	-	0,00	1,00
Kaliumhydroxid	0,08	1,30	0,08	1,30
Kaliumpermanganat	0,40	6,76	-	-
Kaliumsulfat	-	-	0,00	1,00
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,08	1,30	0,33	5,20
KHSO <sub>4</sub>	0,15	1,69	0,08	1,30

Stoff*	Input		Output	
	EF <sub>Mw</sub> ** [Indexpunkte/kg]	EF <sub>Mult</sub> ** [Indexpunkte/kg]	EF <sub>Mw</sub> [Indexpunkte/kg]	EF <sub>Mult</sub> [Indexpunkte/kg]
Kohlendioxid	-	-	0,08	1,30
Magnesiumchlorid	-	-	0,00	1,00
Magnesiumsulfat	0,08	1,30	0,00	1,00
Maltose	-	-	0,08	1,30
Manganchlorid	-	-	0,25	4,00
Methanol	0,23	2,20	0,30	2,86
Milchsäure	-	-	0,15	1,69
Natriumacetat	-	-	0,08	1,30
Natriumchlorid	0,00	1,00	0,00	1,00
Natriumhydroxid	0,33	5,20	0,25	4,00
Natriumpyruvat	-	-	0,08	1,30
Natriumsulfat	-	-	0,00	1,00
Penicillin G	0,15	1,69	-	-
Phenylalanin (L-)	0,00	1,00	0,08	1,30
Phosphat	0,08	1,30	0,25	4,00
Phosphorpentachlorid	0,48	8,79	-	-
Phosphorsäure	0,33	5,20	0,75	64,00
Salzsäure	0,33	5,20	0,50	16,00
Schwefelsäure	0,40	6,76	0,58	20,80
Stärke	0,00	1,00	0,08	1,30
Thionylchlorid	0,48	8,79	0,33	5,20
Wasser	0,00	1,00	0,00	1,00
Wasserstoffperoxid	0,40	6,76	-	-
Weinsäure (L-)	0,00	1,00	0,15	1,69
Xylol	0,23	2,20	0,23	2,20
Zinksulfat	0,40	6,76	0,25	4,00
Zitronensäure	0,00	1,00	0,15	1,69

\* Der Environmental Factor eines Stoffes wurden nicht immer für Input- und Outputseite berechnet. Für Stoffe, die in den untersuchten Fallbeispielen nur auf einer Seite vorkommen, wurde auch nur der entsprechende EF ermittelt.

\*\* EF<sub>Mw</sub> = mittelwertbasierter Environmental Factor, EF<sub>Mult</sub> = multiplikativ ermittelter Environmental Factor

# ANHANG B: PROZESSPARAMETER MODELLE

---

Die Literaturangaben zu den zitierten Quellen befinden sich im Literaturverzeichnis des Hauptteils (Kapitel 9).

## Anhang B1: Fragebogen zur Erfassung von Prozessdaten

Geben Sie für jeden Punkt an, für wie sicher Sie die Angaben halten (Skala von 1 – 5, wobei 1 = sehr sicher und 5 = sehr unsicher). Diese Abschätzung ist besonders bei der Beurteilung des späteren Produktionsprozesses wichtig, damit deutlich wird, in welchen Bereichen noch verstärkt Daten gesammelt werden müssen und auf welche Parameter bei einer Sensitivitätsanalyse besonders geachtet werden muss.

### 1. Prozessdaten

1. Wie lauten die stöchiometrischen *Reaktionsgleichungen* von Haupt- und Nebenreaktionen (so weit Sie bekannt sind, ggf. empirisch)?
2. Welche *Stoffe* werden eingesetzt und gebildet? (pur oder als Gemisch; in welcher Konzentration; in welchen Mengen; in welcher Reinheit).
  - Rohstoffe:
  - Verunreinigungen (der Rohstoffe):
  - Lösungsmittel:
  - Katalysatoren:
  - Hilfsstoffe:

---

  - Produkt(e):
  - Nebenprodukte (die in Nebenreaktionen entstehen): zur Verwertung und Verwendung oder zur Entsorgung?
  - Koppelprodukte (die in der Hauptreaktion entstehen): zur Verwertung und Verwendung oder zur Entsorgung?

- feste und flüssige Abfälle und Emissionen (sonstige Abfälle, z. B: verbrauchte Lösungsmittel, Katalysatoren u. ä.): zur Verwertung und Verwendung oder zur Entsorgung?
3. Welche **Organismen** oder andere biologische Einheiten werden im Produktionsprozess eingesetzt?
  4. Wie sieht das **Verfahrensschema** (Fließbild) zum jetzigen Zeitpunkt aus? Welche Varianten gibt es?
  5. Welche **Einheitsoperationen** kommen zum Einsatz? (z. B. Fermenter, Kristallisation, Mikrofilter, Zentrifugation, Homogenisation etc.)
  6. Wie erwarten Sie das **Verfahrensschema** im späteren Produktionsprozess (mit welchen Einheitsoperationen)?
  7. Charakterisieren Sie die **Reaktionsbedingungen** der Fermentation/Reaktion in der momentanen Entwicklungsstufe (Unterschiede der Varianten berücksichtigen!).
    - Stöchiometrische Gleichung der gewünschten Reaktion (ggf. empirisch ermittelt)
    - Größe ( $m^3$ ), Füllungsgrad, max. und min. mögliche Befüllung des Fermenters
    - Druckverhältnisse
    - Belüftung (ja/nein, Druck, Menge), Rührer (ja/nein, rpm)
    - Temperatur, pH-Wert
    - Limitierender Faktor, Umsetzungsgrad bezogen auf diesen Faktor, Ausbeute
    - Entstehende Neben- und Koppelprodukte, gasförmige Emissionen etc.
    - Reaktionswärme (Enthalpie)
    - Teilschritte (z. B. Befüllen, Zugabe Hilfsstoffe, Fermentation, Ablassen, Reinigung)
    - Scheduling: Prozessdauer der einzelnen Schritte
  8. Welche **Reaktionsbedingungen** erwarten Sie im späteren Produktionsprozess?
    - Punkte wie unter Nr. 7
    - Energieverbrauch mit weitgehender Allokation auf einzelne Vorgänge, soweit dies möglich ist (z.B. Leistungsaufnahme des Rührwerks etc.)

- Kühlung/Heizung, eingesetzte Wärmeüberträger
9. Charakterisieren Sie die Betriebsbedingungen der **Upstream-Grundoperationen** zum jetzigen Zeitpunkt? Welche Veränderungen erwarten Sie in der späteren Produktion?
10. Sind Ihnen Prozesse bekannt, die sich bereits in der Produktion befinden und deren **Upstream-Grundoperationen** den Grundoperationen ihres Prozesses, wie Sie ihn in der späteren Produktion erwarten, sehr ähnlich sind?
11. Welche **Aufarbeitungs- und Reinigungsschritte** verwenden Sie in der momentanen Entwicklungsphase (z. B. Membranfiltration, Homogenisation, Zentrifugation, Chromatographie etc.)? Charakterisieren Sie die Betriebsbedingungen der einzelnen Schritte.
12. Welche **Aufarbeitungs- und Reinigungsschritte** erwarten Sie in der späteren Produktion? Charakterisieren Sie die wahrscheinlichen Betriebsbedingungen.
13. Sind Ihnen Prozesse bekannt, die sich bereits in der Produktion befinden und bei denen die **Aufarbeitung und Reinigung** sehr ähnlich zu dem abläuft, wie Sie es für ihren Prozess erwarten?
14. Charakterisieren Sie die **Stoffströme** in der momentanen Entwicklungsphase und versuchen Sie die Stoffströme im späteren Produktionsprozess abzuschätzen (jeweils Zusammensetzung, Größe (z. B. kg/batch oder ml/s), Temperatur, Druck, ggf. TOC, N-Verb., P-Gehalt, Feststoffe)
- Inputströme
  - Produktstrom
  - Abfallströme (fest, flüssig, gasförmig)
15. Welche **Bilanzgrenzen** halten Sie für die Bewertung zum jetzigen Zeitpunkt für notwendig/sinnvoll?
16. In welcher Größenordnung erwarten Sie die **spätere Produktion** (in jato oder Größe des Fermenters o. ä. Angaben)?

## 2. Alternativverfahren

17. Welche *Alternativverfahren* sind Ihnen bekannt?
18. Was wissen Sie über *Verfahrensschema und Reaktionsbedingungen* dieser Verfahren?
19. Sind Ihnen Angaben über beteiligte *Stoffe und Stoffströme* bekannt?
20. Was sind die Unterschiede in den *Upstream- und Downstream-Prozessen* im Vergleich zu Ihrem Verfahren?
21. Sind Ihnen *Veröffentlichungen* bekannt, die Informationen zu diesen Prozessen enthalten (Fachartikel, Patentschriften, Betriebsvorschriften, entsprechende Fachbücher o. ä.)?
22. Sind Ihnen *Hersteller* bekannt, die mit diesen Alternativverfahren produzieren?
23. Wie groß schätzen Sie die derzeitige *Jahresproduktion*?

## 3. Bewertung

24. Was ist Ihnen über den Material- und Energieverbrauch zur Bereitstellung der *Input-Stoffe* bekannt? Wie viele Herstellungsschritte sind beispielweise für die einzelnen Rohstoffe notwendig, bevor Sie in Ihrem Prozess verwendet werden?
25. Werden zum jetzigen Zeitpunkt bereits einzelne Ströme *recycelt* (z. B. Lösungsmittel, Katalysatoren, Biomasse)?
26. Wie schätzen Sie die Möglichkeiten eines *Recyclings* im späteren Produktionsprozess ein?
27. Welche anderweitige Nutzungen der Neben- und Koppelprodukte (*Downcycling*) halten Sie für möglich?
28. Welche Behandlungsverfahren erwarten Sie für die *Abfallströme*, die nicht recycelt werden können (Luftemissionen, Abwasser, feste Abfälle)?



29. Welche **Grenzwerte**, Richtwerte und andere gesetzliche Bestimmungen (Emissions- und Immissionsgrenzwerte, MAK-Werte etc.), für die von ihnen eingesetzten oder im Prozess entstehenden Stoffe, sind ihnen bekannt?
30. Erwarten Sie bedeutende **Sicherheitsrisiken** im Fermenter und den Aufarbeitungs- und Reinigungsschritten (z.B. Anreicherung eines gefährlichen Stoffes im Produktionsprozess, Überdrücke u. ä.)?
31. In welche **Risikogruppe** ist der von ihnen genutzte Organismus eingeteilt?
32. Von welchen **Spenderorganismen** wurde genetische Information übernommen? Wurde ein **Vektor** bei der Übertragung verwendet?
33. Was sind die **Eigenschaften des klonierten Gens** (einschließlich seiner Regulationsregion und des Genproduktes)?
34. Werden bereits irgendwelche **Bewertungen von Umweltaspekten** in der Entwicklung berücksichtigt (Checklisten, Liste mit zu vermeidenden Stoffen, qualitative Bewertung u. ä.)?
35. Welche **Umwelt- und Gesundheitsauswirkungen** halten Sie für biotechnische Verfahren allgemein und für ihren Prozess im speziellen für entscheidend?
36. Welche Vorteile erwarten Sie für Ihr Verfahren?
37. Welche **Stoffe** im Prozess haben ihrer Meinung nach das größte Potential für Umwelt- und Gesundheitsbeeinträchtigungen?
38. Welche Parameter sollten bei einer **Sensitivitätsanalyse** besonders berücksichtigt werden? Dies sind i.d.R. Parameter bei denen geringe Änderungen starke Auswirkungen auf den Produktionsprozess erwarten lassen.
39. Was sind bzw. was wären die wichtigsten Anwendungsbereiche ihres Produktes?

## Anhang B2: Prozessparameter Grundoperationen

Defaultwert = Defaultwert SuperPro Designer

### 1. Vorratstank

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Befülldauer	1 h	eigene Abschätzung
Vorhaltdauer	0,5 h	eigene Abschätzung
Temperatur	adiabatisch	eigene Abschätzung
Spez. Energiebedarf (Rührer)	0,4 kW m <sup>-3</sup>	Vauck und Müller, 1988; McCabe et al., 2001

### 2. Hitzesterilisation

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
(präexponentieller) Frequenzfaktor A <sup>1</sup>	83,4 s <sup>-1</sup>	Doran, 1995; Aiba et al., 1973; Jackson, 1990; Defaultwerte
Aktivierungsenergie für chemische Veränderungen in der Spore $\Delta E^2$	67,7 kcal mol <sup>-1</sup>	
Reduktion Zellzahl: $\ln(N_0/N)^3$	37,0	
Spezifische Abtötungskonstante k	2,64	
Sterilisationstemperatur	140°C	
Outputtemperatur Vorwärmer <sup>4</sup>	110°C	Defaultwert
Endtemperatur <sup>5</sup>	variabel	-
Dauer Sterilisation <sup>6</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Viskosität der Flüssigkeit <sup>7</sup>	variabel	-
Reynoldszahl	12.000	Defaultwert

<sup>1</sup> aus Arrhenius-Gleichung

<sup>2</sup> Die Aktivierungsenergie ist speziesabhängig. Als Defaultwert verwendet man in der Regel die Aktivierungsenergie des thermophilen *Bacillus stearothermophilus* (67,7 kcal/mol).

<sup>3</sup> N = Anzahl vitaler Zellen bzw. Sporen nach der Sterilisation; N<sub>0</sub> = vor der Sterilisation

<sup>4</sup> Im Vorwärmer (Preheater) wird die kalte Lösung mit bereits sterilisierter, heißer Lösung vorgewärmt. Es wird dabei angenommen, dass sich die heiße Lösung um genau den gleichen Temperaturbetrag abgekühlt, wie sich die kalte Lösung aufheizt. Da die Zusammensetzung dieselbe ist und damit auch die mittlere Wärmekapazität, ist diese Annahme unter idealisierten Bedingungen korrekt. Die Berechnung des Kühlwasserbedarfs, der anschließend zum Abkühlen der sterilisierten Lösung auf die Austrittstemperatur notwendig ist, geht von einer Temperatur der Lösung von 140°C (Sterilisationstemperatur) minus den oben abgeschätzten Temperaturbetrag aus.

<sup>5</sup> Die Endtemperatur wird auf die im nachfolgenden Prozessschritt, in der Regel der Reaktor/Fermenter, benötigte Temperatur festgelegt.

<sup>6</sup> Die Prozessdauer wird so eingestellt, dass der Durchsatz einem Sterilisator mit etwa 10 m<sup>3</sup>/h entspricht. Bei kleinen Volumina wird eine Mindestdauer von 10 min angenommen.

<sup>7</sup> Für einen Großteil der Ströme kann aufgrund der geringen Konzentrationen eine Viskosität von 1 cp (Centipoise) angenommen werden, was dem Wert von Wasser bei 20°C entspricht. Für konzentrierte Stärke- oder Glucoselösung muss mit höheren Werten gerechnet werden, die aus Lide (2002) entnommen werden.

### 3. Kompressor<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Druckänderung $\Delta p^2$	4 bar	Vauck und Müller, 1988
Polytropenexponent $n^3$	1,3	Vauck und Müller, 1988
Gesamtwirkungsgrad $\eta^4$	0,85	McCabe et al., 2001
Spez. Energiebedarf $Y^5$	ca. 180 kJ kg <sup>-1</sup>	Vauck und Müller, 1988
Austrittstemperatur <sup>6</sup>	variabel	-

<sup>1</sup> Als verwendeter Kompressor wird ein Kreiselkompressor (Centrifugal Compressor) angenommen, der im industriellen Bereich der Kompressor der Wahl bei großen Gasmengen und relativ kleinen Druckänderungen ist (McCabe et al., 2001; Perry et al., 1997). Da die Druckänderung vergleichsweise gering ist, kann von einem einstufigem Kompressor ausgegangen werden (Peters und Timmerhaus, 1991). Es wird weiter angenommen, dass die heiße Luft und das Kühlwasser im Gegenstrom geführt werden. Da die Temperatur, die sich ohne Kühlung einstellen würde, nicht bekannt ist, kann der Kühlwasserbedarf nicht extern berechnet werden (die Temperatur scheint um 140°C zu liegen). Für die Energieabschätzung wird daher der Programmwert übernommen.

<sup>2</sup> Vauck und Müller geben für Kreiselkompressoren ein Verhältnis  $\rho_{\text{out}}/\rho_{\text{In}} = 3-13$  an (in Modellen: 5)

<sup>3</sup> Der Polytropenindex ist stoffspezifisch und beträgt für Luft  $n = 1,25-1,35$  (Vauck und Müller, 1988). Der angenommene Wert entspricht dem Defaultwert.

<sup>4</sup> McCabe et al. (2001) geben  $\eta = 0,9$  als maximal erreichbaren Wirkungsgrad an. Vauck und Müller (1988) geben eine Spanne von  $\eta = 0,6-0,9$  an.

<sup>5</sup> Vauck und Müller (1988) geben als spezifischen Energiebedarf eine Spanne von  $Y = 140-220$  kJ/kg transportierter Luft an. Der angenommene Wert liegt in der gleichen Größenordnung wie der programmintern verwendete (Default-)Wert.

<sup>6</sup> Die Austrittstemperatur kann durch die Kühlung des Kompressors gesteuert werden und wird der jeweiligen Fermentationstemperatur angepasst.

4. Zentrifugation<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Minimaler Durchmesser Partikel <sup>2</sup>	1 $\mu\text{m}$	Bailey and Ollis, 1986; Köhler und Hofmann, 1992
Dichte Feststoff <sup>3</sup>	(a) 1.113 $\text{g l}^{-1}$ , (b) 1.560 $\text{g l}^{-1}$	Köhler und Hofmann, 1992; Lide et al., 2002
Dichte Lösung <sup>4</sup>	1.080 $\text{g l}^{-1}$	Lide et al., 2002
Viskosität Lösung <sup>5</sup>	1,2 cp	Perry et al., 1997
Sedimentationseffizienz <sup>6</sup>	50 %	Jackson, 1990; Vauck und Müller, 1988
Zentrifugationsdauer <sup>7</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Feststoffkonzentration Feststoffstroms <sup>8</sup>	(a) 150 $\text{g l}^{-1}$ , (b) 600 $\text{g l}^{-1}$	Bailey und Ollis, 1986; eigene Abschätzung
Abtrennung Partikel/Feststoff <sup>9</sup>	(a) 98 %; (b) 100 %	eigene Abschätzung; Harrison et al., 2003
Endtemperatur $T_E$ <sup>10</sup>	adiabatisch	-
Energiebedarf pro Tonne abgetrenntem Feststoff <sup>11</sup>	30 $\text{kWh t}^{-1}$	Perry et al., 1997
Maximaler Sigmafaktor <sup>12</sup>	220.000 $\text{m}^2$	Defaultwert
Maximaler Durchsatz <sup>13</sup>	120 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$	Doran, 1995

<sup>1</sup> Zentrifugen werden in den Modellen zur Abtrennung von Biomasse (a) und zur Abtrennung des Cyclodextrin-Decanol-Komplex (b) verwendet.

<sup>2</sup> (a) Der mittlere Durchmesser von Bakterien wird von Bailey und Ollis (1986) mit 1-3  $\mu\text{m}$ , von Köhler und Hofmann (1992) mit 0,2-5  $\mu\text{m}$  angegeben. In der Stoffdatenbank wurde der mittlere Durchmesser der Biomasse auf 2  $\mu\text{m}$  festgelegt. Bei der Zentrifugation wurde der minimale Durchmesser der abzutrennenden Partikel bei dem Defaultwert 1,0  $\mu\text{m}$  belassen. (b) Der minimale Durchmesser des Cyclodextrin-Decanol-Komplex ist nicht bekannt. Der Komplex lässt sich jedoch gut abzentrifugieren und auch industriell wird der Komplex durch Zentrifugation abgetrennt (Schmid, 1996). Der kleinste, noch wirtschaftlich abzutrennende Partikeldurchmesser liegt für Tellersatzzentrifugen bei 0,5  $\mu\text{m}$  (Doran, 1995). Der Durchmesser muss folglich darüber liegen und wird auf 1  $\mu\text{m}$  festgelegt.

<sup>3</sup> (a) Der genaue Wert ist schwierig abzuschätzen. Köhler und Hofmann (1992) geben für ein Beispiel an, dass die Dichte 3 % über der von Wasser liegt. Die Fermenterbrühe hat jedoch eine höhere Dichte (siehe <sup>4</sup>). Es wird vereinfachend angenommen, dass die Dichte der Biomasse 3 % über dieser Dichte liegt. (b) Für den abzutrennenden Komplex wurde vereinfachend die Dichte von  $\alpha$ -Cyclodextrin übernommen.

<sup>4</sup> Lide et al. (2002): Dichte von 20%iger Glucose-, Maltose- und Zitronensäurelösung jeweils ca. 1.080  $\text{g/l}$  bei 20°C. Eintrittstemperatur ist bei allen Beispielen etwa 40°C. Die Inputströme enthalten alle etwa 20 % Feststoffe, die vor allem aus Glucose (o.ä.) und/oder Brenztraubensäure bestehen. Der Wert wurde so übernommen, obwohl die Temperatur höher liegt und damit eine etwas geringere Dichte zu erwarten ist.

<sup>5</sup> Eintrittstemperatur ist bei allen Beispielen etwa 40°C. Ebenso enthalten die Inputströme alle etwa 20 % gelöste Feststoffe, die vor allem aus Glucose (o.ä.) und/oder Brenztraubensäure bestehen. Bei 40°C geben Perry et al. (1997) für eine 20%ige Zuckerlösung eine Viskosität von  $\mu = 1,2$  cp, für 20%ige Zitronensäure- oder Traubensäurelösungen (die der Brenztraubensäure sehr ähnlich sind)  $\mu = 1,1$  cp an.

<sup>6</sup> Jackson (1990) gibt für Tellersatzzentrifugen eine mittlere Effizienz von 50 % an, Vauck und Müller (1988) 40-80 %. Für die Simulationen wird eine Effizienz von 50 % angenommen.

<sup>7</sup> Die Zentrifugationsdauer wird so eingestellt, dass eine Zentrifuge mit einem mittleren Volumendurchsatz von 15 m<sup>3</sup>/h verwendet werden kann.

<sup>8</sup> (a) Die abgetrennte Biomasse hat eine cremartige Konsistenz und enthält noch vergleichsweise viel Wasser. Als Feststoffkonzentration wurde der Defaultwert von 150 g/l beibehalten, der auch Angaben von Bailey und Ollis (1986) entspricht. Harrison et al. (2003) geben dagegen einen Zellgehalt von 400-600 g/l an. (b) Aus einem einfachen Experiment wurde mit Hilfe von Laborzentrifugen ein erwarteter Feststoffgehalt von 600 g/l ermittelt.

<sup>9</sup> (a) Die Abtrennung von Biomasse erfolgt weitgehend, aber nicht 100%ig. Daher wurde der Wert auf 98 % geschätzt. Harrison et al. (2003) geben einen Wert 95-99 % an. (b) Idealisierte Annahme, die reale Abtrennung wird aber sicher sehr nahe an 100 % liegen.

<sup>10</sup> Durch die Zentrifugation wird Wärme in die Suspension eingetragen, was zu einer leichten Temperaturerhöhung führt.

<sup>11</sup> Perry et al., (1997) geben eine Spanne von 15-40 kWh/t abgetrennter Feststoff an.

<sup>12</sup> Der Sigmafaktor ist gerätespezifisch und wurde so vom Programm übernommen (Defaultwert).

<sup>13</sup> Als maximaler Durchsatz industrieller Tellersatzzentrifugen werden 91 m<sup>3</sup>/h (Perry et al., 1997) 120 m<sup>3</sup>/h (Doran, 1995), 200 m<sup>3</sup>/h (Köhler und Hofmann, 1992; Vauck und Müller, 1988) und 300 m<sup>3</sup>/h (Bailey und Ollis, 1986; Leuchtenberger, 1998) angegeben. In den Simulationen wird der maximal mögliche Durchsatz beim Defaultwert von 120 m<sup>3</sup>/h belassen.

## 5. Mikrofiltration

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Retention Biomasse <sup>1</sup>	99 %	eigene Abschätzung; Harrison et al., 2003
Produktverlust <sup>2</sup>	1 %	eigene Abschätzung
Prozessdauer <sup>3</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Filterdurchsatz <sup>4</sup>	90 l m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup>	McCabe et al., 2001; Ladisch, 2001; Atkinson und Mavituna, 1991
Aufkonzentrationsfaktor (Zulauf/Retentat) <sup>5</sup>	variabel	eigene Abschätzung; Atkinson und Mavituna, 1991
Max. Feststoffkonzentration im Retentat <sup>6</sup>	500 g l <sup>-1</sup>	eigene Abschätzung
Austrittstemperatur <sup>7</sup>	adiabatisch	-
Spezifischer Energiebedarf <sup>8</sup>	2,5 kWh m <sup>-3</sup> Permeat	Perry et al., 1997
Produktdenaturierung <sup>9</sup>	0 %	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> Bei Mikrofiltration werden ganze Zellen vollständig zurückgehalten (Harrison et al., 2003). Zellbruchstücke können die Membran jedoch passieren, weshalb nur ein Rückhalt von 99 % angenommen wird.

<sup>2</sup> Die Produkte sind jeweils gut gelöst und haben ein vergleichsweise geringes Molekulargewicht. Daher kann davon ausgegangen werden, dass der Produktverlust gering ist. Im Modell wird der vorgesehene Produktverlust dadurch erreicht, dass die Aufkonzentrierung so variiert wird, dass der Produktverlust 1 % beträgt.

<sup>3</sup> Die Prozessdauer hängt vom angenommenen Durchsatz ab. Perry et al. (1997) geben lediglich an, dass für den Durchsatz industriell eine große Bandbreite vorliegt. Für die Modelle wird eine Filtrationseinheit mit 25 m<sup>3</sup>/h Durchsatz angenommen und die Prozessdauer entsprechend angepasst.

<sup>4</sup> Als Filterdurchfluss geben McCabe et al. (2001) für Mikrofiltrationen max. 100-300 l/m<sup>2</sup> h an. Ladisch (2001) nennt für die Abtrennung von Hefezellen 100 l/m<sup>2</sup> h (Hefekonzentration: 100 g/l) und 40 l/m<sup>2</sup> h (250 g/l). Bei deutlich niedrigeren Biomassekonzentrationen gibt er für *Escherichia coli* 65 l/m<sup>2</sup> h an. Atkinson und Mavituna (1991) geben für Abtrennung von *E. coli* (Konzentration 10-250 g/l) 110 l/m<sup>2</sup> h an. Die Biomassekonzentration in den Simulationen ist recht niedrig. Der Filterdurchsatz wird auf 90 l/m<sup>2</sup> h festgelegt.

<sup>5</sup> Der Faktor wird so eingestellt, dass der Produktverlust ca. 1 % beträgt und er in den von Atkinson und Mavituna (1991) angegebenen Grenzen liegt (10-100).

<sup>6</sup> Der Wert stellt eine Obergrenze für die Modellierung dar. Er wurde grob auf 500 g/l festgelegt. Die tatsächlichen Werte liegen darunter (werden durch Ausgangskonzentration und Aufkonzentrationsfaktor bestimmt).

<sup>7</sup> Durch den Transport der Produktlösung durch die Membran unter Druck wird Wärme eingetragen, die zu einer Temperaturerhöhung führt. Nach Atkinson und Mavituna (1991) liegt die maximale Temperaturgrenze kommerziell erhältlicher Mikrofiltrationsmembranen zwischen 40°C und >100°C, meist über 60°C. In den betrachteten Prozessen liegt die Temperatur deutlich unter 60°C. Daher wird davon ausgegangen, dass keine Temperaturregelung notwendig ist.

<sup>8</sup> Perry et al. (1997) geben als Energiebedarf für Mikro- und Ultrafiltration eine Spanne von 0,5-5 kWh/m<sup>3</sup> Permeat an. Für das Programm muss der Wert in kW/m<sup>2</sup> Filterfläche oder in kW umgerechnet werden. Atkinson und Mavituna (1991) geben den Bedarf direkt mit 74-5.400 W/m<sup>2</sup>, meist zwischen 100-1.500 W/m<sup>2</sup>. Die Werte, die sich aus den Angaben von Perry et al. (1997) berechnen liegen in der von Atkinson und Mavituna (1991) angegebenen Spanne.

<sup>9</sup> Pyruvat/Brenztraubensäure ist relativ hitze- und druckstabil. Daher ist keine Denaturierung zu erwarten.

## 6. Ultrafiltration

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Retention Biomasse/Proteine <sup>1</sup>	100 %	eigene Abschätzung; Gluszczyk und Ledalowicz (1999)
Produktverlust <sup>2</sup>	1 %	eigene Abschätzung
Prozessdauer <sup>3</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Filterdurchsatz <sup>4</sup>	40 l m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup>	McCabe et al., 2001; Vauck und Müller, 1988, Van der Merwe, 1999; Harrison et al., 2003
Aufkonzentrationsfaktor (Zulauf/Retentat) <sup>5</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Max. Feststoffkonzentration im Retentat <sup>6</sup>	500 g l <sup>-1</sup>	eigene Abschätzung
Austrittstemperatur <sup>7</sup>	adiabatisch	-
Spezifischer Energiebedarf <sup>8</sup>	2,5 kWh m <sup>-3</sup> Permeat	Perry et al., 1997
Produkt-denaturierung <sup>9</sup>	0 %	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> Es wird angenommen, dass Biomassereste und gelöste Proteine vollständig zurückgehalten werden. Dies stimmt auch mit Angaben von Gluszczyk und Ledalowicz (1999) überein.

<sup>2</sup> Die Produkte sind jeweils gut gelöst und haben ein vergleichsweise geringes Molekulargewicht. Daher kann davon ausgegangen werden, dass der Produktverlust gering ist. Im Modell wird der vorgesehene Produktverlust dadurch erreicht, dass die Aufkonzentrierung so variiert wird, dass der Produktverlust 1 % beträgt.

<sup>3</sup> Die Prozessdauer hängt vom angenommenen Durchsatz ab. Perry et al. (1997) geben lediglich an, dass für den Durchsatz industriell eine große Bandbreite vorliegt. Für die Modelle wird eine Filtrationseinheit mit 25 m<sup>3</sup>/h Durchsatz angenommen und die Prozessdauer entsprechend angepasst.

<sup>4</sup> Van der Merwe (1999) gibt einen durchschnittlichen Durchfluss von 20-200 l/m<sup>2</sup> h (Zitronensäureaufreinigung) an, McCabe et al. (2001) 40 l/m<sup>2</sup> h (5%ige Polymerlösung), Vauck und Müller (1988) 40-420 l/m<sup>2</sup> h und Harrison et al. (2003) 20-50 l/m<sup>2</sup> h (bei Cross flow). Für die Modelle wird angenommen, dass der Filterdurchsatz der Ultrafiltration deutlich niedriger liegt als in der Mikrofiltration. Der Durchsatz wird auf 40 l/m<sup>2</sup> h festgelegt.

<sup>5</sup> Der Wert wird so eingestellt, dass der Produktverlust ca. 1 % beträgt. Grundsätzlich liegt der Faktor recht hoch (90-100).

<sup>6</sup> Der Wert stellt eine Obergrenze für die Modellierung dar. Er wurde grob auf 500 g/l festgelegt. Die tatsächlichen Werte liegen deutlich darunter (werden durch Ausgangskonzentration und Aufkonzentrationsfaktor bestimmt).

<sup>7</sup> Durch den Transport der Produktlösung durch die Membran unter Druck wird Wärme eingetragen, die zu einer Temperaturerhöhung führt. Atkinson und Mavituna (1991) geben für kommerzielle Ultrafiltrationsmembranen eine maximale Temperatur von 30-120°C, meist 50-80°C an. Diese Membranen sind somit etwas temperaturempfindlicher als Mikrofiltrationsmembranen. Trotzdem kann davon ausgegangen werden, dass eine Temperaturregelung zunächst nicht notwendig ist, da die Temperatur der Ausgangsgemische um oder unter 40°C liegen.

<sup>8</sup> Perry et al. (1997) geben als Energiebedarf eine Spanne von 0,5-5 kWh/m<sup>3</sup> an. Für das Programm muss der Wert in kW/m<sup>2</sup> Filterfläche oder in kW umgerechnet werden.

<sup>9</sup> Pyruvat/Brenztraubensäure und Zitronensäure sind relativ hitze- und druckstabil. Daher ist keine Denaturierung zu erwarten.

7. Vakuumtrommelfilter<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Rückhalt (a) Kristalle <sup>2</sup> , (b) Biomasse <sup>3</sup>	(a) 100 %, (b) 99 %	eigene Abschätzung; Harrison et al., 2003
Kuchenfeuchte <sup>4</sup>	0,4 v/v	Atkinson und Mavituna, 1991; Vauck und Müller, 1988; Defaultwert
Mittlerer Filterdurchfluss <sup>5</sup>	250 l m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup>	Defaultwert
Spezifischer Energiebedarf <sup>6</sup>	3 kW m <sup>-2</sup>	eigene Abschätzung; Angaben Herstellerfirmen
Menge Washwasser <sup>7</sup>	2 x Feststoffmenge	eigene Abschätzung
Maximale Filterfläche pro Einheit <sup>8</sup>	100 m <sup>2</sup>	Gmehling und Brehm, 1996; Perry et al., 1997
Prozessdauer <sup>9</sup>	variabel	Gmehling und Brehm, 1996; Perry et al., 1997

<sup>1</sup> Vakuumtrommelfilter werden zur Abtrennung von Kristallen nach der Kristallisation (a) und zur Biomasseabtrennung nach der (Zitronensäure-)Fermentation (b) eingesetzt. Die meisten Parameter sind für beiden Fälle gleich. Eine Verwendung von Filterhilfsmittel, die teilweise in Literaturbeispielen notwendig ist, wird nicht berücksichtigt.

<sup>2</sup> Es wird angenommen, dass die Kristalle vollständig abgetrennt werden. Da sich die Ausbeute der Kristallisation auf die (im Vakuumfilter) abgetrennten Kristalle bezieht, ist es letztlich irrelevant ob die Abtrennung zu 100 % erfolgt oder ob ein Rest in der Lösung verbleibt.

<sup>3</sup> Es wird angenommen, dass die Abtrennung von Biomasse auch in einer Vakuumfiltration (wie bei Zentrifugation und Mikrofiltration) nicht vollständig erfolgt. Der Rückhalt ist jedoch sehr hoch (Harrison et al., 2003) und wird auf 99 % festgelegt (tatsächlich gelangen nur Zellbruchstücke durch die Membran).

<sup>4</sup> Atkinson und Mavituna (1991) geben bei der Abtrennung von Biomasse eine Kuchenfeuchte von 25-75 % an, Vauck und Müller (1988) 10-60 %. Für die Modelle wird der Defaultwert von 40 % beibehalten.

<sup>5</sup> Es wurde der Defaultwert übernommen. Angaben von Atkinson und Mavituna (1991) liegen dagegen unter dem Defaultwert (8-184 l/m<sup>2</sup> h).

<sup>6</sup> Von den Firmen Nivoba (NL) und Eimco (D) wurden freundlicherweise Daten zur Verfügung gestellt. Für Vakuumfilter mit einer Fläche von 10 m<sup>2</sup> bzw. 12 m<sup>2</sup> ergab sich eine mittlerer Gesamtbedarf von 3 kW/m<sup>2</sup>.

<sup>7</sup> Wie viel Washwasser genau benötigt wird ist nicht bekannt. Es wird hier die einfache Annahme getroffen, das etwa die doppelte Menge des abgetrennten Feststoffs an Washwasser benötigt wird und zwar unabhängig von der Art des Feststoffs. Angaben von Harrison et al. (2003) lassen vermuten, dass der tatsächliche Bedarf an Washwasser noch etwas darüber liegt.

<sup>8</sup> Gmehling und Brehm (1996) geben für Vakuumtrommelfilter eine Größe von 0,2 m<sup>2</sup> bis maximal 100 m<sup>2</sup> an, Perry et al. (1997) 0,4-186 m<sup>2</sup>.

<sup>9</sup> Legt man einen spezifischen Filterdurchsatz von 250 l/m<sup>2</sup> h zugrunde ergibt sich für die von Gmehling und Brehm (1996) und Perry et al. (1997) angegebenen Filtergrößen ein Durchsatz von 0,05-25 m<sup>3</sup>/h, bzw. 0,1-46,5 m<sup>3</sup>/h. Die Prozesszeit wird so eingestellt, dass ein Vakuumtrommelfilter mit einem Filterdurchsatz von 10-20 m<sup>3</sup>/h verwendet werden kann. Da eine mögliche Recyclingquote der Kristallisation nicht bekannt ist, kann der genaue Durchsatz dort nicht ermittelt werden. Daher wird nur eine Bandbreite angegeben. Ist der Volumenstrom kleiner als 10 m<sup>3</sup> wird 1 h als minimale Prozessdauer angenommen.



## 8. Kationentauscher

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Bindekapazität des Harzes <sup>1</sup>	variabel	Perry et al., 1997; McCabe et al., 2001; Ladisch, 2001
Kontaktzeit <sup>2</sup>	15 min	eigene Abschätzung
Rückhalt anorganischer Kationen <sup>3</sup>	99 %	eigene Abschätzung; Subramanian, 1998
Volumen Waschwasser <sup>4</sup>	1 bv	eigene Abschätzung
Flussrate Waschwasser <sup>5</sup>	15 m h <sup>-1</sup>	Perry et al., 1997; McCabe et al., 2001; Ladisch, 2001
Regeneration Säule mit <sup>6</sup>	(2N)HCl	McCabe et al., 2001; eigene Abschätzung
Volumen Regeneration Säule <sup>7</sup>	variabel	Perry et al., 1997; eigene Abschätzung
Flussrate Regeneration Säule <sup>5</sup>	15 m h <sup>-1</sup>	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> In der Literatur wird die Kapazität des Harzes in Äquivalenzwerten pro Liter (eq/l) angegeben. Perry et al. (1997) geben als durchschnittliche tatsächliche Kapazität von Kationentauscherharzen (mit starker Säure) 0,5-2 eq/l an. McCabe et al. (2001) geben für einzelne Beispiele 2,5 eq/l an, Ladisch (2001) 3,4 eq/l. Es wird im Folgenden ein Mittelwert von 2 eq/l verwendet. Die Bindekapazität des Harzes muss im Programm jedoch in g/l eingegeben werden. Aus der Valenz der Kationen, ihrem Molekulargewichten und ihrem Massenanteil im Zustrom wird für jeden Ionentauscher die mittlere Valenz und das mittlere Molekulargewicht der Kationen berechnet. Aus dem berechneten Wert und dem Äquivalenzwert ergibt sich dann die abgeschätzte Bindekapazität in g/l.

<sup>2</sup> Die Kontaktzeit hat für die Simulation und deren Ergebnisse keine Bedeutung und wurde grob auf 15 min festgelegt. Bei geringeren Mengen an Ionen, die zurückgehalten werden, ergibt sich eine unrealistisch lange Beladungszeit. In diesen Fällen wird die Kontaktzeit reduziert, damit sich eine realistische Prozessdauer ergibt.

<sup>3</sup> Subramanian (1998) gibt für einen Kationentauscher eine Ausbeute > 95 % an. Für die Simulationen wird angenommen, dass alle anorganischen Kationen zu 99 % zurückgehalten werden. Es wird also nicht zwischen einwertigen und multivalenten Ionen unterschieden. Die exakte Ausbeute ist auch eine Frage der ökonomischen Optimierung.

<sup>4</sup> Es wird angenommen, dass das benötigte Waschwasser etwa das Volumen der Säule (bv = bed volume) besitzt. Das Volumen der Säule wird wiederum durch die abzutrennende Menge an Ionen und die Bindekapazität des Harzes bestimmt.

<sup>5</sup> Als mittlere Flussraten werden von Perry et al. (1997) 3-20 m/h, von McCabe et al. (2001) 12-60 m/h und von Ladisch (2001) 36 m/h angegeben. Für die Simulation wird von 15 m/h ausgegangen, was auch dem Defaultwert des Programms entspricht. Teilweise ergeben sich jedoch dadurch unrealistisch kurze Prozesszeiten. In diesen Fällen wurde nicht die Flussrate sondern die Waschzeit definiert. Diese wird auf 1 h festgelegt.

<sup>6</sup> Nach McCabe et al. (2001) werden in der Regel konzentrierte Lösungen von Säuren verwendet. In einem Beispiel verwenden McCabe et al. (2001) eine zweimolare Lösung.

<sup>7</sup> Perry et al. (1997) geben an, dass für die Regeneration 110 % der theoretisch notwendigen Menge an Gegenionen angenommen werden muss. Basierend auf diesem Wert wird aus der Menge der zu eluierenden Kationen der Bedarf an zweimolarer Salzsäure berechnet und in die Simulation eingesetzt.

## 9. Adsorption

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Flussraten <sup>1</sup>	400 cm h <sup>-1</sup>	McCabe et al., 2001; Sattler, 1995
Bindekapazität Säule <sup>2</sup>	200 mg ml <sup>-1</sup>	Tsuchiyama et al., 1991; Okabe et al., 1993; Perry et al., 1997
Ausbeute ( $\alpha$ -Cyclodextrin) Säule <sup>3</sup>	95,9 %	eigene Abschätzung
Selektivität Säule <sup>4</sup>	95 %	Okabe et al., 1993; Tsuchiyama et al., 1991; Yamamoto und Horikoshi, 1981
Temperatur Beladen <sup>5</sup>	30°C	Tsuchiyama et al., 1991; Okabe et al. 1993
Prozessdauer Beladen <sup>6</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Volumen Waschwasser <sup>7</sup>	1 bv	eigene Abschätzung
Temperatur Waschwasser <sup>8</sup>	25°C	eigene Abschätzung
Prozessdauer Waschen <sup>6</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Volumen Eluat <sup>9</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Temperatur Elution <sup>10</sup>	85°C	Okabe et al., 1993; Tsuchiyama et al., 1991; Yamamoto und Horikoshi, 1981
Prozessdauer Elution <sup>6</sup>	variabel	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> Als mittleren Durchfluss von Adsorptionssäulen (für Adsorption aus Flüssigkeiten, bei Adsorption aus Gasen werden weitaus höhere Durchflussgeschwindigkeiten erreicht) geben McCabe et al. (2001) 1.080 cm/h an, Sattler (1995) 650 cm/h. Der Defaultwert des Programms liegt bei 300 cm/h. In der Simulation wird ein Wert von 400 cm/h angenommen und zwar für alle drei Prozessschritte (Beladen, Waschen, Eluieren).

<sup>2</sup> Sato et al. (1994) nennen für Affinitätsadsorption eine Bindekapazität von 56 g/l Polymerharz. Tsuchiyama et al. (1991) und Okabe et al. (1993) erreichen mit Chitosankugeln und Stearinsäure oder Palmitinsäure als Ligand Bindekapazitäten von 190-220 g  $\alpha$ -Cyclodextrin/l Polymerharz. Perry et al. (1997) geben für organische Polymere als Adsorbentien einen Richtwert von 190-230 g/l an.

<sup>3</sup> In der Literatur werden Ausbeuten von 48,5 % (Sato et al., 1994), 58,0 % (Yamamoto und Horikoshi, 1981) und 59,0 % (Okabe et al., 1993) im Eluat erreicht. Im industriellen Maßstab wird man die Einheit sicherlich so auslegen, dass die Ausbeute über 90 % liegt. Die tatsächliche Ausbeute ist letztlich eine Frage der ökonomischen Optimierung (je höher die Ausbeute, desto größer und teurer ist die Adsorptionseinheit; je näher man sich einer 100 % Ausbeute nähert, desto teurer wird jedes zusätzliche Prozent Ausbeute). Für die Simulation wird die Ausbeute auf 95,85 % ( $\alpha$ -Cyclodextrin ( $\alpha$ -CD) im Eluat bezogen auf die Menge  $\alpha$ -CD im Feedstrom) festgelegt. Damit wird im Eluat die gleiche Menge  $\alpha$ -CD abgetrennt wie im Standardverfahren mit Hilfe des Komplexbildners.

<sup>4</sup> Angaben zur Selektivität gehen von 88,6 % (Yamamoto und Horikoshi, 1981) zu 99-100 % (Sato et al., 1994; Okabe et al., 1993, Tsuchiyama et al., 1991). Okabe et al. (1993) und Tsuchiyama et al. (1991) erreichen im Eluatstrom in Laborexperimenten jedoch nur eine Selektivität von 95 %, die auch für die Simulation übernommen wird (Verunreinigungen:  $\beta$ -CD und geringe Mengen Stärke, Dextrine, Fette).

<sup>5</sup> Die Temperatur beträgt 30°C. Bei höheren Temperaturen sinkt die Bindekapazität der Adsorbentien, bei niedrigeren Temperaturen verstopfen die noch enthaltenen Stärkereste die Säule (Tsuchiyama et al., 1991; Okabe et al. 1993). Es sind allerdings auch Verfahren beschrieben, bei denen die Adsorption bei

Raumtemperatur stattfindet (Mäkelä et al., 1989), bzw. die Adsorptionstemperatur relativ variabel ist (Horikoshi et al., 1981).

<sup>6</sup> Aus den programminternen Berechnungen ergibt sich eine unrealistisch kurze Beladungszeit. Das Gleiche gilt für das Waschen und Eluieren. Dies kann jedoch nicht direkt beeinflusst werden. Für die Säule wird für alle drei Schritte ein Durchsatz von 10 m<sup>3</sup>/h angenommen. Die sich daraus ergebende Prozesszeit wird durch eine dementsprechende Erhöhung der Rüstzeit erreicht.

<sup>7</sup> Über die Menge an Waschwasser unter industriellen Bedingungen werden keine Angaben gemacht. Tsuchiyama et al. (1991) verwenden bei Laborexperimenten 8faches Bettvolumen (bv). Da mit dem Waschwasser auch immer eine gewisse Menge Produkt verloren geht, sollte das Volumen so gering wie möglich gehalten werden. Im Modell wird zunächst von einem Volumen von 1 Bettvolumen ausgegangen.

<sup>8</sup> Das Waschwasser wird weder gekühlt noch erwärmt. Es wird eine Temperatur von 25°C angenommen.

<sup>9</sup> Über die unter industriellen Bedingungen benötigte Menge an Wasser zum Eluieren des Produkt sind in der Literatur keine Angaben zu finden. In Laborexperimenten geben Okabe et al. (1993) 5faches Bettvolumen an. Je geringer die benötigte Wassermenge, desto weniger Wasser muss später in der Kristallisationsstufe verdampft werden. Die Wassermenge soll wie folgt abgeschätzt werden: Der Produktstrom kühlt sich nach der Adsorption um max. 20°C auf 65°C ab. Die Löslichkeit von  $\alpha$ -CD beträgt bei 65°C ca. 769 g/l. Daraus wird die minimale notwendige Wassermenge ermittelt. Hierzu wird ein 15%igen Sicherheitsaufschlag gegeben. Damit ergibt sich ein Bedarf von 1,5 l/kg  $\alpha$ -CD. Das Volumen des Eluatstroms wird entsprechend eingestellt. Ob diese Menge ausreichend ist, kann nur mit Experimenten verifiziert werden.

<sup>10</sup> Als notwendige Temperatur werden 80°C (Okabe et al., 1993), > 80°C (Tsuchiyama et al., 1991) und 90°C (Yamamoto und Horikoshi, 1981) angegeben.

## 10. Aktivkohlebehandlung/Entfärbung

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Bindekapazität <sup>1</sup>	5 mg g <sup>-1</sup>	Defaultwert
Dichte Aktivkohlefilter <sup>1</sup>	500 kg m <sup>-3</sup>	Defaultwert
Kontaktzeit <sup>1</sup>	6 min	Defaultwert
Prozessdauer <sup>2</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Rückhalt Fette u. ä. <sup>3</sup>	95 %	eigene Abschätzung
Volumen Waschwasser <sup>1</sup>	1 bv	Defaultwert
Dauer Waschvorgang <sup>1</sup>	20 min	Defaultwert
Overdesign Factor <sup>4</sup>	10	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> Im Programm ist das Modell einer mit Aktivkohle gefüllten Adsorptionssäule vorgegeben. Für die Aktivkohlebehandlung in den Modellen wurde diese Säule übernommen und folglich alle Prozessparameter bei den Defaultwerten belassen.

<sup>2</sup> Für die Säule wird für alle drei Schritte ein Durchsatz von 10 m<sup>3</sup>/h angenommen. Die sich daraus ergebende Prozesszeit wird durch eine dementsprechende Erhöhung der Rüstzeit erreicht.

<sup>3</sup> Es wurde angenommen, dass für hydrophobe Verbindungen ein Rückhalt von 95 % realisiert werden kann.

<sup>4</sup> Die Aktivkohlebehandlung soll auch die Abtrennung von unbekanntem, im Modell nicht definierten Substanzen einschließen. Da wird der Overdesignfaktor auf 10 festgelegt.

## 11. Wasserdampfdestillation

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Temperatur Wasserdampf <sup>1</sup>	105°C	eigene Abschätzung
Prozessdauer <sup>2</sup>	2 h	eigene Abschätzung
spezifischer Dampfbedarf <sup>3</sup>	14,1 kg kg <sup>-1</sup> Decanol	eigene Abschätzung
Siedetemperatur <sup>3</sup>	99,7°C	eigene Abschätzung
Energiebedarf Rührer <sup>4</sup>	0,6 kW m <sup>-3</sup>	Vauck und Müller, 1988

<sup>1</sup> Da Wärme über die Reaktorlösung an die Umgebung abgegeben wird, wird der Dampf etwas überhitzt in den Reaktor geführt. Im Modell wird angenommen, dass die gleiche Menge Wasserdampf den Reaktor verlässt, wie ihm zugeführt wird.

<sup>2</sup> Die Abschätzung der Prozessdauer erfolgte relativ willkürlich und kann in einer realen Anlage noch deutlich abweichen.

<sup>3</sup> Zur Abschätzung der Siedetemperatur und der notwendigen Dampfmenge siehe Kap. 4.2.9.

<sup>4</sup> Es wird angenommen, dass der Rührer nur während der Auflösung des Komplexes arbeitet. Während der eigentlichen Wasserdampfdestillation reicht die Dampfzufuhr für die Durchmischung aus. Der angegebene Wert entspricht Erfahrungswerten zum Energiebedarf beim Rühren von Feststoffsuspensionen (s. Kap. 4.4.2.)

12. Extraktion<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Flächenbelastung <sup>2</sup>	20 m <sup>3</sup> m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup>	Sattler, 1995; Vauck und Müller, 1988
Spezifische Austauschfläche A <sup>3</sup>	300 m <sup>2</sup> m <sup>-3</sup>	Sattler, 1995
Ausbeute <sup>4</sup>	(a) 85 %, (b, c) 97,5 %, (d) 90 %	Köhler und Hofmann, 1992; McCabe et al., 2001; Weissermel und Arpe, 1998; Katikaneni und Cheryan, 2002
extrahiert aus <sup>5</sup>	(a, b, d) schwere Phase, (c) leichte Phase	-
Prozessdruck <sup>6</sup>	1,013 bar	Defaultwert
Prozesstemperatur <sup>7</sup>	(a) 20°C, (b-d) adiabatisch	eigene Abschätzung
Masseübergangskoeffizienten <sup>8</sup>	0,000002 m s <sup>-1</sup>	Defaultwert
Verteilungskoeffizient <sup>9</sup>	(a) 0,16, (b, d) 1, (c) 0,1	Kertes und King, 1986; eigene Abschätzung
Lösungsmittel schwere Phase	Wasser	-
Löslichkeit in der leichten Phase <sup>10</sup>	(a) 1,2 %, (b-d) 0,5 %	Budavari et al., 1989; eigene Abschätzung
Lösungsmittel leichte Phase <sup>11</sup>	(a) Diethylether, (b-d) Lösungsmittel 1	Uchio et al., 1976; Kertes und King, 1986; eigene Abschätzung
Löslichkeit in der schweren Phase <sup>10</sup>	(a) 6,4 %, (b-d) 0,5 %	Budavari et al., 1989; eigene Abschätzung
Dichtedifferenz <sup>12</sup>	> 80-100 g l <sup>-1</sup>	Sattler, 1995; Gmehling und Brehm, 1996
Prozessdauer <sup>13</sup>	variabel	eigene Abschätzung; Defaultwert; Sattler, 1995
pH-Wert <sup>14</sup>	(a, b) << pH 2,5, (c) >> pH 2,5 (d) pH 3	eigene Abschätzung; Prezhdo et al., 1997; Katikaneni und Cheryan, 2002
Verhältnis leichte Phase/schwere Phase (v/v) <sup>15</sup>	(a) 5:1, (b, c) 1:1, (d) 1:1	eigene Abschätzung; Benthin und Villadsen, 1995; Katikaneni und Cheryan, 2002

<sup>1</sup> Extraktionen werden nur bei der Pyruvataufreinigung verwendet. Produkt ist in allen Fällen Pyruvat. Die Extraktion erfolgt mit Diethylether (a) und mit einem noch nicht näher bestimmten theoretischen Lösungsmittel (b). Weiterhin erfolgt eine Rückextraktion in eine wässrige Lösung (c). In der ersten Version ist der eigentlichen Pyruvatextraktion eine weitere Extraktion zur Abtrennung des Lactats vorgeschaltet (d).

<sup>2</sup> Als mögliche Flächenbelastungen werden 20-100 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> h (Sattler, 1995) bzw. 20-60 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> h (Vauck und Müller, 1988) genannt (Abgeberphase + Aufnehmerphase). Optimale Ergebnisse werden laut Literatur bei 20 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> h (Sattler, 1995) bzw. 20-30 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> h (Vauck und Müller, 1988) erzielt. In der Simulation wird die Flächenbelastung auf 20 m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup> h festgelegt.

<sup>3</sup> Die spezifische Austauschfläche A, d. h. die Phasengrenzfläche beträgt durchschnittlich A = 250-500 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> (Sattler, 1995). In der Simulation werden 300 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> verwendet.

<sup>4</sup> Die Ausbeuten liegen bei Extraktionen in Bioprocessing meist über 90 % (Köhler und Hofmann, 1992). Die Ausbeute beträgt bei der Penicillinextraktion etwa 97 % (McCabe et al., 2001). Weissermel und Arpe (1998) geben als mittlere Ausbeuten je nach Stoffsystem 95-99,9 % Ausbeute an. In der Literatur finden sich jedoch

auch schlechtere Ausbeuten, z. B. für der Milchsäureextraktion bei Katikaneni und Cheryan (2002) nur 85 %. Für (b, c) wird eine Ausbeute von 97,5 % festgelegt. Für (a) ist aufgrund des sehr ungünstigen Verteilungskoeffizienten mit einer deutlich niedrigeren Ausbeute zu rechnen (bei halbwegs vertretbarem Apparateaufwand). Es wird von einer Ausbeute von 85 % ausgegangen. (d) Für Lactat wird eine geringere Ausbeute angenommen, da der eingestellte pH-Wert nicht deutlich genug unter dem  $pK_S$ -Wert von Milchsäure liegt und damit die Extraktion erschwert.

<sup>5</sup> bei (a, b, d) erfolgt die Extraktion aus der wässrigen (Fermentation-)Lösung. Bei der Rückextraktion (c) geht das Pyruvat aus der leichten organischen Phasen in die wässrige Phase über.

<sup>6</sup> Es wird angenommen, dass die Extraktion bei Normaldruck erfolgt.

<sup>7</sup> Die Temperatur, bei der eine Extraktion durchgeführt wird, ist je nach Stoffsystem sehr unterschiedlich. Extraktionen bei Temperaturen von 0°C bis 150°C sind veröffentlicht (Weissermel und Arpe, 1998; Perry et al., 1997). Für die Pyruvatextraktion ist keine Temperaturangabe bekannt. Es wird daher von adiabatischen Bedingungen ausgegangen. Die Temperaturen liegen dann zwischen 30°C und 35°C. Da eine adiabatische Prozessweise im Programm nicht eingestellt werden kann, muss eine Temperatur eingegeben werden. Diese wird so gewählt, das sie der adiabatisch eingestellten Temperatur entspricht. Für die Extraktion mit Diethylether (a) wird dagegen eine Temperatur von 20°C festgelegt, da der Ether bereits bei 34°C siedet.

<sup>8</sup> Für den Masseübergangskoeffizienten  $k$  zwischen den beiden Phasen wird der Defaultwert von  $k = 2 \times 10^{-6}$  m/s übernommen.

<sup>9</sup> (a) aus Kertes und King (1986) übernommen (b) Für das theoretische Lösungsmittel 1 wird ein Verteilungskoeffizient von  $K_{Pyr} = 1$  angenommen, Ableitung siehe Kap. 4.2.10. (c) Erhöht man den pH-Wert einer wässrigen Lösung, kann man den Verteilungskoeffizienten sehr stark zur Seite des Wassers verschieben. (d) Bei der Lactatextraktion wird für das theoretische Lösungsmittel ebenfalls ein Verteilungskoeffizient von  $K_{Lac} = 1$  angenommen.

<sup>10</sup> (a) Die Löslichkeiten von Diethylether wurden aus Budavari et al. (1989) entnommen und gelten für 20°C. Vereinfachend wurde angenommen, dass diese Werte für alle Modelle gelten (auch bei höheren Temperaturen). (b) Von einem alternativen Lösungsmittel werden deutlich günstigere Eigenschaften erwartet.

<sup>11</sup> Der einzige veröffentlichte Verteilungskoeffizient für Pyruvat ist für Diethylether angegeben (Kertes und Kong, 1986; Uchio et al., 1976). Durch ein umfangreiches Screening sind sicherlich besser geeignete Lösungsmittel zu finden. Daher wurde eine alternatives Lösungsmittel 1 mit mittleren Eigenschaften definiert.

<sup>12</sup> Die Dichtedifferenz zwischen der leichten und der schweren Phase muss über 80-100 g/l liegen (Sattler, 1995; Gmehling und Brehm, 1996; Vauck und Müller, 1988). Mit einer Dichte von 713 g/l erfüllt Diethylether diese Bedingung und auch die meisten anderen organischen Lösungsmittel haben eine höhere Dichtedifferenz zu Wasser, so dass auch für Lösungsmittel 1 von einer ausreichenden Dichtedifferenz ausgegangen werden kann. Für Lösungsmittel 1 wird eine Dichte von 850 g/l angenommen.

<sup>13</sup> Sattler (1995) gibt als maximalen Durchmesser von Siebbodenkolonnen 4 m an. Der Defaultwert für den maximalen Durchmesser ist im Programm 2 m. Für die Modelle wird ein Siebbodenextraktor mit etwa 1,5 m Durchmesser angenommen. Bei einer Flächenbelastung von  $20 \text{ m}^3/\text{m}^2 \text{ h}$  (s. o.) ergibt sich ein Durchsatz von  $35,3 \text{ m}^3/\text{h}$ . Die Prozessdauer wird entsprechend eingestellt.

<sup>14</sup> (a, b) Für eine effektive Abtrennung muss das Produkt weitgehend undissoziiert vorliegen. Bei der Abtrennung von organischen Säuren muss der pH-Wert des Feeds daher unter dem  $pK_S$ -Wert der Säure liegen, (Katikaneni und Cheryan, 2002). Prezhdo et al. (1997) nennen als optimalen pH-Wert zur Extraktion von

Carbonsäuren  $pK_s - 2$ . (c) Bei Reextraktion gilt genau das Gegenteil. Der pH-Wert der wässrigen Lösung muss deutlich über dem  $pK_s$  der Brenztraubensäure (2,49) liegen. In (d) wird das Lactat vom Pyruvat getrennt. Dies erfolgt bei pH 3, wenn die Milchsäure bereits weitgehend undissoziiert vorliegt und in die organischen Phase übergeht, während die noch dissoziierte Brenztraubensäure in der Produktlösung verbleibt.

<sup>15</sup> (a) Der ungünstige Verteilungskoeffizient erfordert auch ein größeres Volumen der organischen Phase (die Anzahl möglicher Trennstufen ist begrenzt). Um die gewünschte Ausbeute zu erreichen, muss ein Verhältnis Ether/Wasser von 5:1 gewählt werden. (b) Katicaneni und Cheryan (2002) bei der Extraktion von Essigsäure und Benthin und Villadsen (1995) bei der Extraktion von Milchsäure verwenden ein Verhältnis von 1:1. Das mögliche Verhältnis hängt natürlich auch vom Verteilungskoeffizienten, der gewünschten Ausbeute und der möglichen Anzahl theoretischer Trennstufen ab. (c) Benthin und Villadsen (1995) verwenden für Reextraktion von Pyruvat ein Verhältnis von 1:1 (d) Für die Lactatabtrennung wird ebenfalls von einem Verhältnis von 1:1 ausgegangen.

13. Elektrodialyse<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Ausbeute Säure <sup>2</sup>	95 %	Pourcelly und Gavach, 2000
Ausbeute Base <sup>3</sup>	95 %	eigene Abschätzung
Rückhalt Glucose (u. ä. Verbindungen) <sup>4</sup>	98 %	Kim und Moon, 2001
Rückhalt multivalente Ionen <sup>5</sup>	80 %	Kim und Moon, 2001
Rückhalt monovalente Ionen <sup>6</sup>	5 %	eigene Abschätzung
Membrandurchfluss <sup>7</sup>	220 g m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup>	Danner et al., 2002; Nolasco-Hipolito et al., 2001; Novalic und Kulbe, 1998
Endkonzentration Säure, Base <sup>8</sup>	1,5 N	Pourcelly und Gavach, 2000; Danner et al., 2002; Siebold et al., 1995
Volumen Säurestrom, Basenstrom <sup>9</sup>	variabel	eigene Abschätzung
pH-Wert <sup>10</sup>	>> pK <sub>S</sub> (Säure)	Novalic und Kulbe, 1998
spezifischer Energiebedarf <sup>11</sup>	0,6 kWh kg <sup>-1</sup> Produkt	Danner et al., 2002; Pourcelly und Gavach, 2000; Kim und Moon, 2001
Pumpenergie <sup>12</sup>	0,5 kWh m <sup>-3</sup>	Perry et al., 1997
Prozessdauer <sup>13</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Prozesstemperatur <sup>14</sup>	adiabatisch	Bauer et al., 2000

<sup>1</sup> Die Elektrodialyse wird in den Modellen nur zur Pyruvataufreinigung verwendet, wobei Ammoniumpyruvat aufgespalten und von der verbleibenden Reaktionslösung getrennt wird. Vor einer Elektrodialyse müssen Zellen, Proteine und Peptide abgetrennt werden.

<sup>2</sup> Als Ausbeute bei der Aufreinigung von organischen Säuren werden angegeben: 96-99 % (Kim und Moon, 2001), 80-85 % (Siebold et al., 1995), 70 % (Novalic und Kulbe, 1998). Nolasco-Hipolito (2001) erreichen mit einer Modelllösung eine Ausbeute von 93-96 %, mit einer zellfreien Fermenterbrühe (ohne Proteinabtrennung) dagegen nur noch 71 %. Pourcelly und Gavach (2000) geben als Durchschnittswert eine Ausbeute von 95 - 98 % an und können im konkreten Fall für Itaconsäure 96 % erreichen. Die tatsächliche Ausbeute ist auch eine Frage der ökonomischen Optimierung, da der Aufwand natürlich mit jedem Prozent mehr steigt. Für eine Milchsäure-ED ermittelten Pourcelly und Gavach (2000) eine optimale Ausbeute von 95 %.

<sup>3</sup> Es wird angenommen, dass die Ausbeute der Base, also von Ammonium, gleich der Ausbeute der Säure ist. Da es sich bei beiden um monovalente Ionen handelt, kann diese Annahme vereinfachend getroffen werden.

<sup>4</sup> Bei hohen Ausbeuten erzielen Kim und Moon (2001) für Glucose einen Rückhalt von 98 %.

<sup>5</sup> Bei hohen Ausbeuten erzielen Kim und Moon (2001) für Magnesium 82 % und für Calcium 79 %.

<sup>6</sup> Es wird angenommen, dass sich die monovalenten Ionen genauso verhalten, wie die monovalenten Produkte (Pyruvat, Ammonium), also zu 95 % abgetrennt werden (= 5 % Rückhalt).

<sup>7</sup> Für den Stofffluss durch die Membran geben Danner et al. (2002)  $J = 140 \text{ g/m}^2 \text{ h}$ , Nolasco-Hipolito et al. (2001)  $J = 280 \text{ g/m}^2 \text{ h}$  (beide für Milchsäureaufreinigung) und Novalic und Kulbe (1998)  $J = 220 \text{ g/m}^2 \text{ h}$  (Zitronensäureaufreinigung) an.

<sup>8</sup> Bis zum Ende der ED können für organische Säuren Konzentrationen bis 5 N und für Basen bis 4,5 N im Konzentrat erreicht werden (Pourcelly und Gavach, 2000). Danner et al. (2002) konnten Milchsäure aus einer 0,5 N-Feedlösung auf 1,3 N im Konzentrat aufreinigen. Ebenfalls für Milchsäure geben Siebold et al. (1995) eine Konzentration von 0,5 N im Konzentrat an. Für Itaconsäure geben Pourcelly und Gavach (2000) 0,63 N im



Konzentrat an, für Milchsäure 2 N. Für einen industriellen Prozess geben sie eine Milchsäurekonzentration von 3,5 N im Konzentrat an. In den Modellen wird angenommen, dass sowohl der Säurestrom mit der Brenztraubensäure, als auch der Basenstrom mit dem Ammonium am Ende der ED eine Konzentration von 1,5 N erreichen (in den Laborversuchen wurden nur 0,5 N erreicht).

<sup>9</sup> Das Volumen der beiden Ströme berechnet sich aus den Endkonzentrationen, den Ausbeuten und den Mengen an Pyruvat und Ammonium im Feed.

<sup>10</sup> Will man organische Säuren abtrennen, muss der pH-Wert des Feeds deutlich über dem  $pK_s$ -Wert der Säure liegen. Bei manchen Anwendung ist daher eine vorherige Neutralisation notwendig (Novalic und Kulbe, 1998). Da im Modell der pH-Wert zuvor auf pH 7 reguliert wird, ist eine solche Neutralisation in der Simulation nicht notwendig.

<sup>11</sup> Als spezifischer Energiebedarf werden, jeweils für Milchsäureaufreinigung, 0,49 kWh/kg Produkt (Danner et al., 2002), 0,43 kWh/kg Produkt (Pourcelly und Gavach, 2000, WSED) und 0,9 kWh/kg mit herkömmlicher ED und 1,6-3,4 kWh/kg bei WSED (Kim und Moon, 2001) angegeben. In der Simulation wird von 0,6 kWh/kg ausgegangen.

<sup>12</sup> Zusätzlich zum spezifischen Energiebedarf muss mit einer notwendigen Pumpenergie von  $0,5 \text{ kWh/m}^3$  gerechnet werden (Perry et al., 1997).

<sup>13</sup> Die Prozessdauer wird so eingestellt, dass sich eine Durchsatz von ca.  $20 \text{ m}^3/\text{h}$  (Feedstrom) ergibt.

<sup>14</sup> Die Membranen sind oft relativ hitzeempfindlich. ED-Zellen mit bipolaren Membranen können meist nur bis etwa  $50^\circ\text{C}$  betrieben werden (Bauer et al., 2000). Die Temperatur der Inputströme liegt in den Modellen jedoch deutlich unter dieser Grenze, so dass davon ausgegangen werden, dass keine Temperaturregelung notwendig ist.

14. Kristallisation<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Ausbeute Kristallisation <sup>2</sup>	98 %	Marening, 1992; eigene Abschätzung
Verdampfung Lösungsmittel <sup>3</sup>	variabel	eigene Abschätzung
Verdampfungstemperatur <sup>4</sup>	(a) 100°C, (b) 34°C	-
Verdampfungswärme <sup>5</sup>	(a) 540 kcal kg <sup>-1</sup> (b) 85,5 kcal kg <sup>-1</sup>	Lide, 2002
Kristallisationswärme <sup>6</sup> (Zitronensäure, Brenztraubensäure, Cyclodextrin)	23 kcal kg <sup>-1</sup> , 28,1 kcal kg <sup>-1</sup> , -0,83 kcal kg <sup>-1</sup>	Perry et al., 1997
Kristallisationstemperatur <sup>7</sup>	20°C	eigene Abschätzung; Dorokhov et al., 1997
Verweilzeit <sup>8</sup>	2 h	Defaultwert
spezifischer Energiebedarf (Rührer) <sup>9</sup>	0,6 kW m <sup>-3</sup>	Vauck und Müller, 1988
Füllungsgrad Kristallisationskessel <sup>10</sup>	90 %	Defaultwert
Prozessdauer <sup>11</sup>	variabel	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> Eine Kristallisation wird in den Modellen zum Kristallisieren von Zitronensäure, Brenztraubensäure, Natriumpyruvat und Cyclodextrin aus einer wässrigen Lösung (a) und von Brenztraubensäure aus Diethylether (b) und aus einem theoretischem Lösungsmittel verwendet. Für das theoretische Lösungsmittel 1 werden mittlere Eigenschaften angenommen. Bei der Kristallisation wird es wie Wasser behandelt.

<sup>2</sup> Marening (1992) ermittelte für den Bereich Kristallisation, Vakuumfiltration und Rückführung der Mutterlauge bei der Zitronensäureaufreinigung eine Ausbeute von 98 %. Es wird angenommen, dass dieser Wert für alle Modelle verwendet werden kann.

<sup>3</sup> Es wird so viel Lösungsmittel verdampft, dass sich die vorgesehene Ausbeute unter der Annahme ergibt, dass das Produkt im Bleedstrom gesättigt vorliegt.

<sup>4</sup> Siedetemperatur des Lösungsmittels

<sup>5</sup> Verdampfungswärme des Lösungsmittels bei der Siedetemperatur, Werte entnommen aus Lide (2002)

<sup>6</sup> Die Kristallisationsenthalpie ist gleich der Lösungsenthalpie (mit umgekehrtem Vorzeichen). Die Lösungsenthalpie von Zitronensäure beträgt -28,1 kcal/kg. Für Cyclodextrin wird der Wert von Dextrin übernommen (+0,83 kcal/kg), für Brenztraubensäure der Wert von Traubensäure (23 kcal/kg).

<sup>7</sup> Es wird angenommen, dass die Lösung nach dem Verdampfen auf Raumtemperatur abgekühlt wird. Nach Angaben von Dorokhov et al. (1997) wird die Lösung bei der Zitronensäurekristallisation stärker abgekühlt. Dort wird daher von 15°C ausgegangen.

<sup>8</sup> Für die mittlere Verweilzeit wurde der Defaultwert des Programms übernommen.

<sup>9</sup> Vauck und Müller (1988) geben als Richtwert für den spezifischen Energieverbrauch beim Rühren von Feststoffsuspensionen  $P_{sp} = 0,3-1,0 \text{ kW/m}^3$  an. In der Simulation wird bei der Kristallisation von  $P_{sp} = 0,6 \text{ kW/m}^3$  ausgegangen.

<sup>10</sup> Für den Füllungsgrad wurde der Defaultwert des Programms übernommen.

<sup>11</sup> Die Prozessdauer wird so eingestellt, dass sich der ein Durchsatz von ca. 20 m<sup>3</sup>/h einstellt. Da die Recyclingquote nicht festgelegt wird, ist dies nur ein ungefährender Wert. Ist der Volumenstrom kleiner als 20 m<sup>3</sup> wird 2 h als minimale Prozessdauer angenommen (= Verweilzeit).

15. Kondensation<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Inputtemperatur <sup>2</sup>	variabel	-
Outputtemperatur <sup>3</sup>	(a) 90°C; (b) 20°C	eigene Abschätzung
Kühlmittel <sup>4</sup>	(a) Kühlwasser (25°C) (b) Kaltwasser (5°C)	eigene Abschätzung; VDI, 1997
Temperaturänderung Kühlmittel $\Delta T_K$ <sup>5</sup>	5°C	eigene Abschätzung; Defaultwert
Wärmeübergangszahl $U$ <sup>6</sup>	(a) 2050 kcal m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> (b) 513 kcal/m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	Peters und Timmerhaus, 1991; Vauck und Müller, 1988; Perry et al., 1997
Prozessdauer <sup>7</sup>	variabel	-
Betriebsdruck <sup>8</sup>	1 bar	eigene Abschätzung; Defaultwert

<sup>1</sup> Es werden in den Modellen verschiedene Dämpfe kondensiert: reiner Wasserdampf, das theoretische Lösungsmittel 1, Diethylether und Wasserdampf mit Verunreinigungen an theoretischem Lösungsmittel oder an Decanol. Für die Modelle wird Wasserdampf, mit und ohne Beimischungen (a) und Diethylether (b) unterschieden. Das theoretische Lösungsmittel wird bei Outputtemperatur und Kühlmittel wie (a), beim Wärmeübergangskoeffizienten wie (b) behandelt.

<sup>2</sup> Die Inputtemperatur wird durch den vorherigen Prozessschritt bestimmt. Für den Wasserdampf wird die Temperatur in der Regel ca. 100°C betragen. Für den Diethylether beträgt sie dagegen um 34°C (Siedepunkt).

<sup>3</sup> Für den Energieverbrauch und die weitere Behandlung des Stoffstroms ist die Austrittstemperatur nicht von entscheidender Bedeutung (solange sie deutlich unter dem Taupunkt des Dampfes liegt). Sie wurde daher grob auf (a) 90°C, bzw. (b) 20°C festgelegt.

<sup>4</sup> (a) Frischwasser ist aufgrund der Dampftemperaturen ausreichend. Dies deckt sich auch mit Angaben in der Literatur (VDI, 1997; Vauck und Müller, 1988). (b) Da der Siedepunkt von Ether bei 20°C liegt, muss Kaltwasser verwendet werden.

<sup>5</sup> Hier wurde der Defaultwert übernommen, der wohl einen mittleren Wert darstellt. Näheres siehe auch Kap. 4.2.13.

<sup>6</sup> (a) Vauck und Müller (1988) nennen als Erfahrungswerte bei der Auslegung von Rohrwärmeüberträgern mit Sattdampf und Wasser als Medien mit Berücksichtigung des Foulings Wärmeübergangskoeffizienten von  $U = 430\text{-}3.440 \text{ kcal/h m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$ , Peters und Timmerhaus (1991)  $U = 975\text{-}3.420 \text{ kcal/h m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$ , Perry et al. (1997)  $U = 1.950\text{-}4.900 \text{ kcal/h m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$ . (b) Laut Perry et al. (1997) liegt der Wert für organische Lösungsmittel 4-5fach unter dem Wert für Wasserdampf. Daher wurde der Wert für Wasserdampf um den Faktor 4 reduziert.

<sup>7</sup> Die Prozessdauer und damit die Anlagengröße wird durch den Prozessschritt bestimmt in dem der Dampf anfällt.

<sup>8</sup> Hier wurde ebenfalls der Defaultwert übernommen. Jedoch kommt es durch die Kondensation des Dampfes zu einer deutlichen Volumenreduzierung und damit zu einem gewissen Unterdruck im Kondensator.

## 16. Dekanter

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Rückhalt Decanol <sup>1</sup>	95 %	eigene Abschätzung
Tropfendurchmesser <sup>2</sup>	150 µm	Defaultwert
Viskosität leichte Phase <sup>3</sup>	1,8 cp (40°C), 0,6 cp (90°C)	eigene Abschätzung; Perry et al., 1997
Viskosität schwere Phase <sup>4</sup>	variabel	Perry et al., 1997; Lide, 2002
Verhältnis Breite Phasengrenzfläche / Durchmesser Dekanter <sup>5</sup>	0,8	Defaultwert
Prozessdauer <sup>6</sup>	variabel	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> Es wird angenommen, dass ca. 5 % des Decanol in der Dispersionszone verbleiben, die mit der wässrige Phase abgeführt wird.

<sup>2</sup> Da hierüber keinerlei Informationen vorliegen, wird der Defaultwert des Programms übernommen. Dieser liegt am unteren Ende der Spanne möglicher Tropfendurchmesser. Dies bedeutet, dass ein Dekanter in Programm tendenziell eher etwas zu groß ausgelegt wird.

<sup>3</sup> Die leichte Phase ist in allen Fällen Decanol. Da für Decanol keine Viskositätsdaten zur Verfügung stehen, wurden die Werte von Butanol aus Perry et al. (1997) übernommen und zwar für die jeweiligen Temperaturen 1,8 cp (40°C) und 0,6 (90°C).

<sup>4</sup> Bei der schwere Phase handelt es sich einmal um die verbleibende Reaktorlösung der Cyclodextrinherstellung mit etwa 20 % gelösten Feststoffen (Glucose, Maltose u. a.) und einer Temperatur von 40°C. Perry et al. (1997) geben für eine 20%ige Zuckerlösung bei 40°C eine Viskosität von 1,2 cp an, die auch hier verwendet wird. Im zweiten Fall bildet 90°C warmes Wasser die schwere Phase, dessen Viskosität 0,3 cp beträgt (Lide, 2002).

<sup>5</sup> Anlagenspezifischer Wert, für den der Defaultwert übernommen wird.

<sup>6</sup> Die Prozessdauer wird so eingestellt, dass ein Dekanter mit einem mittlerer Volumendurchsatz von 15 m<sup>3</sup>/h verwendet werden kann. Ist das Volumen der zu trennenden Mischung kleiner als 15 m<sup>3</sup> wird eine Prozessdauer von 1 h angenommen.

17. Trockner<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Verdunstungsrate <sup>2</sup>	100 kg m <sup>-3</sup> h <sup>-1</sup>	Defaultwert
Endtemperatur (Abluft, Trockengut) <sup>3</sup>	50°C	eigene Abschätzung
Spezifischer Trockengasbedarf <sup>4</sup>	13,5 kg kg <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O	eigene Abschätzung
Spezifischer Dampfbedarf <sup>5</sup>	2 kg kg <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O	Perry et al., 1997; Vauck und Müller, 1988; Angaben Herstellerfirmen
Spezifischer Elektrizitätsbedarf <sup>6</sup>	0,2 kWh kg <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O	Perry et al., 1997; Angaben Herstellerfirmen
Prozessdauer <sup>7</sup>	variabel	eigene Abschätzung; Vauck und Müller, 1988; Harrison et al., 2003
Restfeuchte <sup>8</sup>	variabel (0-5 %)	eigene Abschätzung; Merck-Katalog; Angaben Herstellerfirmen

<sup>1</sup> Trockner werden in den Modellen zum Trocknen des Endprodukts verwendet. Die im Folgenden gemachten Angaben beziehen sich immer auf Wasser als zu verdunstendes Lösungsmittel. Dort wo eine anderes Lösungsmittel verwendet wird (Pyruvat) wird dies bei der Beschreibung des Fallbeispiels diskutiert.

<sup>2</sup> Für die Verdunstungsrate wurde der Defaultwert übernommen.

<sup>3</sup> relativ willkürliche Festlegung, näheres siehe Kap. 4.2.15.

<sup>4</sup> Ableitung siehe Kap. 4.2.15.

<sup>5</sup> Geht man davon aus, dass der Heizdampf bei der Wärmeübertragung  $h_K = 2,5$  MJ/kg abgibt, ergeben sich folgende Werte für den spezifischen Dampfbedarf: 2,088 kg/kg (Fa. Allgaier Werke, Uhingen (D)), 2,46 kg/kg (Fa. Glatt Prozesstechnologie, Binzen (D)), 1,32-1,68 kg/kg (Perry et al., 1997) und 1,97 kg/kg (Vauck und Müller, 1988). In den Modellen werden 2 kg/kg angenommen, was auch dem Defaultwert des Programms entspricht.

<sup>6</sup> Für den Strombedarf des Gasgebläses und den Transport des Trockengutes geben Perry et al. (1997) einen Richtwert von 0,08 kWh/kg H<sub>2</sub>O an, das Gasgebläse des Wirbelschichttrockner der Fa. Glatt hat einen Bedarf von 0,25 kWh/kg H<sub>2</sub>O. Von der Fa. Allgaier wird eine Verbrauch 0,12-0,21 kWh/kg H<sub>2</sub>O angegeben. In der Simulation werden 0,2 kWh/kg H<sub>2</sub>O verwendet.

<sup>7</sup> Vauck und Müller (1988) geben als Durchsatz für Fließbettrockner eine Spanne von 800-1.000 kg/h an, Harrison et al. (2003) für ein konkretes Beispiel 1.000 kg/h. In den Modellen wird die Prozesszeit so eingestellt, dass sich bis zu einer Gesamtmenge von 5 t eine Durchsatz von 1.000 kg/h und ab 5 t ein Durchsatz von 4.000 kg/h ergibt.

<sup>8</sup> Bei Cyclodextrin ist eine Restfeuchte von etwas unter 10 % ausreichend (Angabe Fa. Glatt). In den Modellen wird von 5 % Restfeuchte ausgegangen. Kommerziell vertriebenes Natriumpyruvat hat eine Restfeuchte von 1 %, die auch in den Modellen verwendet wird. Dieser Wert wird auch für reine Brenztraubensäure angenommen. Bei der Zitronensäureherstellung ist Monohydrat das Endprodukt. Es wird angenommen, dass alles übrige Wasser entfernt wird.

## Anhang B3: Designparameter Fermenter und Reaktoren

### 1. Befüllen, Heizen, Kühlen, Ablassen

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Dauer (primäres) Befüllen	1,5 h	eigene Abschätzung
Rate Zudosieren, große Volumina	500 kg min <sup>-1</sup>	eigene Abschätzung
Rate Zudosieren, kleine Volumina	50 kg min <sup>-1</sup>	eigene Abschätzung
Dauer Ablassen	1,5 h	eigene Abschätzung
Umfang Ablassen	100 %	eigene Abschätzung
Heizrate <sup>1</sup>	(a) 2,2°C min <sup>-1</sup> , (b) 1,5°C min <sup>-1</sup>	Industrieangaben
Kühlrate <sup>1</sup>		

<sup>1</sup> Nach Industrieangaben ist für 10 m<sup>3</sup>-Fermenter eine Heiz- und Kühlrate von 1,5-3°C/min anzunehmen, für 50 m<sup>3</sup>-Fermenter 1-2°C/min. Für die Modelle wird bis zu einer Fermentergröße von 20 m<sup>3</sup> (a) eine Heizrate von 2,2°C/min angenommen. Bei größeren Fermentern (b) wird von 1,5°C/min ausgegangen.

### 2. Stärkehydrolyse<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Temperatur thermischer Aufschluss <sup>2</sup>	105°C	Buchholz und Kasche, 1997; Pedersen et al., 1995; Grull und Stifter, 2001
Dauer thermischer Aufschluss <sup>3</sup>	5 min	eigene Abschätzung
Hydrolysetemperatur <sup>4</sup>	95°C	Buchholz und Kasche, 1997; Schmid, 1996; Grull und Stifter, 2001
Dauer Hydrolyse <sup>4</sup>	90 min	
Umsatz <sup>5</sup>	(a) 97 %, (b) 100 %	eigene Abschätzung; Marending, 1992
Reaktionsenthalpie Hydrolyse <sup>6</sup>	0 kcal kg <sup>-1</sup>	eigene Abschätzung
Anteil Verunreinigungen <sup>7</sup>	2 %	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> Bei der hydrolytischen Spaltung wird die Stärke zu Dextrin (mit durchschnittlich 5 Glucosereste) abgebaut.

Bei der Cyclodextrin- (a) und der Zitronensäureherstellung (b) erfolgt die Hydrolyse durch Zugabe von  $\alpha$ -Amylase. Bei der Cyclodextrinherstellung muss die eingesetzte  $\alpha$ -Amylase anschließend inaktiviert werden. Bei der Zitronensäureherstellung gibt der eingesetzte *Aspergillus*-Stamm nach der Animpfung weitere  $\alpha$ -Amylasen und Glucoamylasen ins Medium ab, die das Dextrin weiter zu Glucose hydrolysieren.

<sup>2</sup> Die Reaktionslösung wird zur Verkleisterung der Stärke (thermischer Aufschluss) auf 105°C aufgeheizt (siehe z. B. Buchholz und Kasche, 1997; Pedersen et al., 1995; Grull und Stifter, 2001).

<sup>3</sup> In der Regel wird die Maximaltemperatur nur kurz gehalten. Es wird eine Dauer von 5 min angenommen.

<sup>4</sup> Dauer und Temperatur der Stärke(teil-)hydrolyse wurden aus Buchholz und Kasche (1997), Schmid (1996) und Grull und Stifter (2001) entnommen.

<sup>5</sup> (a) Es wird angenommen, dass die Stärke nicht vollständig umgesetzt wird, sondern 3 % nicht hydrolysiert werden. (b) Bei der Hydrolyse während der Zitronensäurefermentation wird dagegen Angaben von Marending (1992) entsprechend ein vollständiger Umsatz angenommen.

<sup>6</sup> Es wird angenommen, dass die Reaktionsenthalpie vernachlässigbar ist. Sie wird in den Modellen = 0 gesetzt.

<sup>7</sup> Es wird angenommen, dass die eingesetzte Stärke 2 % Verunreinigungen enthält. Proteine und Fette sind die häufigsten Verunreinigungen in kommerziell verfügbarer Stärke. Als Anteil wird je 1 % angenommen.

### 3. Reinigen Reaktor (CIP)

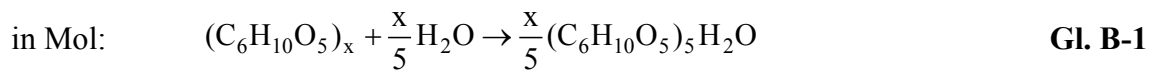
<b>Prozessparameter</b>	<b>Simulationswert</b>	<b>Quelle</b>
Reinigung mit <sup>1</sup>	Wasser	Defaultwert
Temperatur <sup>1</sup>	25°C	Defaultwert
spezifisches Volumen Waschwasser <sup>1</sup>	100 l m <sup>-3</sup>	Defaultwert
Dauer <sup>1</sup>	15 min	Defaultwert

<sup>1</sup> Für den Reinigungsschritt werden die Defaultwerte des Programms übernommen.

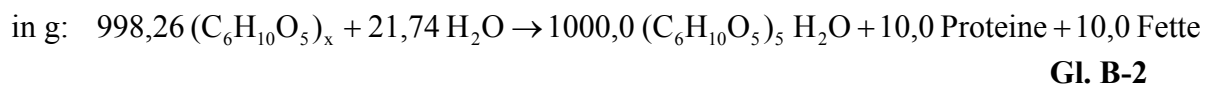
## Anhang B4: Stoffumwandlung Stärkehydrolyse

Beim Vorgang der (vollständigen) Stärkehydrolyse wird Stärke unter Wasserverbrauch zu Glucose abgebaut. In den Fallbeispielen erfolgt die Hydrolyse jedoch nur bis zum Dextrin. Hierbei wird davon ausgegangen, dass das gebildete Dextrin aus durchschnittlich fünf Glucoseresten besteht. Proteine und Fette sind die häufigsten Verunreinigungen in kommerziell verfügbarer Stärke. Als Anteil wird je ca. 1 % angenommen.

Dextrin hat ein Molekulargewicht von 828 g/mol (bei durchschnittlich 5 Glucoseresten). Beim Aufspalten der Stärke wird pro Mol gebildetem Dextrin ein Mol Wasser benötigt. Es gilt:



Es werden also 18 g Wasser (1 Mol) für 828 g Dextrin benötigt, bezogen auf 1.000 g Dextrin 21,7 g Wasser. Für 1 kg Dextrin sind folglich 978,3 g reine Stärke notwendig. Berücksichtigt man weiterhin den Gehalt an Proteinen und Fetten (je ca. 1 %), ergibt sich folgende Reaktionsgleichung.



Da die exakte Summenformel der enthaltenen Fette und Proteine nicht bekannt ist, kann die obige Gleichung nicht vollständig nach den einzelnen Elementen aufgelöst werden. Für die Modelle ist eine solche Auflösung jedoch auch nicht notwendig. Die Reaktionsgleichung wird in dieser Form in der Simulation verwendet.

Der Umsetzungsgrad der Reaktion wird in den einzelnen Fallbeispielen festgelegt.



# ANHANG C: FALLBEISPIEL ZITRONENSÄURE

---

Die Literaturangaben zu den zitierten Quellen befinden sich im Literaturverzeichnis des Hauptteils (Kapitel 9).

## Anhang C1: Prozessparameter

### 1. Inputstoffe

Stoff	Menge [kg]	Stoff	Menge [kg]
Stärke <sup>1</sup>	(14.150)	Wasser (in Salzlösung P-1) <sup>6</sup>	1.000
Dextrin <sup>2</sup>	14.175	Wasser (S-110) <sup>7</sup>	70.000
Ammoniumnitrat <sup>2</sup>	210	Wasser (S-107) <sup>8</sup>	22.700
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>2</sup>	21	HCl (P-6) <sup>10</sup>	7,23
Magnesiumsulfat <sup>2</sup>	11	Waschwasser (P-7) <sup>11</sup>	3.554
Zinksulfat <sup>3</sup>	0,0	Waschwasser (P-9) <sup>12</sup>	146,2
Eisensulfat <sup>3</sup>	0,0	HCl (P-9) <sup>13</sup>	13,25
Calciumchlorid <sup>4</sup>	0,0	NaOH <sup>15</sup>	7,73
$\alpha$ -Amylase <sup>5</sup>	14,2	Wasser in HCl/NaOH-Lösungen	307
Biomasse ( <i>A. niger</i> ) <sup>9</sup>	4,2	Waschwasser (P-14) <sup>11</sup>	23.038
		Waschwasser (P-10) <sup>14</sup>	3.305

<sup>1</sup> wurde aus der vorgegebenen Dextrinmenge berechnet (s. Reaktionsgleichung Dextrinbildung). Neben Marending (1992) geben auch Lesniak (1999), Sarangbin und Watanapokasin (1999), Sarangbin et al. (1994) und Mourya und Jauhari (2000) Stärke als Rohstoff zur Zitronensäureherstellung an.

<sup>2</sup> Aus den Konzentrationen von Marending (1992), Fermentation CIT3 und einem angenommenen Arbeitsvolumen des Fermenters von 105 m<sup>3</sup> berechnet.

<sup>3</sup> Zink- und Eisensulfat werden als Spurenelemente benötigt. Man kann davon ausgehen, dass im Prozesswasser bereits ausreichende Mengen dieser Spurenelemente enthalten sind. Zur Vereinfachung werden sie im Modell nicht berücksichtigt. Auch Marending (1992) gibt für diese Stoffe keine Konzentrationen an.

<sup>4</sup> Das Calciumchlorid wurde im Labor (Marending, 1992) zur Stabilisierung der Amylase bei der Stärkeverflüssigung eingesetzt. Calciumchlorid wird jedoch nicht von jeder  $\alpha$ -Amylase benötigt. Es wurde daher im Modell darauf verzichtet.

<sup>5</sup> nach Buchholz und Kasche (1997) werden 0,4-1,2 kg  $\alpha$ -Amylase/t Stärke benötigt. Hier wird von 1 kg/t ausgegangen.

<sup>6</sup> grobe Abschätzung

<sup>7</sup> 70 m<sup>3</sup> werden benötigt um vor der Hydrolyse die gewünschte Stärkekonzentration von 200 g/l zu erreichen (Marending, 1992).

<sup>8</sup> Die Menge wird benötigt um im Fermenter die gewünschten Startkonzentrationen zu Beginn der Fermentation zu erreichen (Mareuding, 1992).

<sup>9</sup> unter der Annahme einer Startkonzentration von 0,04 g/l.

<sup>10</sup> Vor Beginn der Fermentation muss der pH-Wert auf pH 2,8 eingestellt werden (Mareuding, 1992, CIT3). Die Menge entspricht 39,7 l einer (5N)HCl-Lösung. Berechnungsweg siehe Kap. 4.5.

<sup>11</sup> Ableitung siehe Anhang B2 (13. Vakuumtrommelfilter).

<sup>12</sup> Ableitung siehe Anhang B2 (6. Kationentauscher).

<sup>13</sup> Entspricht 187,9 l einer (2N)HCl-Lösung. Ableitung siehe Anhang B2 (6. Kationentauscher).

<sup>14</sup> Ableitung siehe Anhang B2 (7. Aktivkohlebehandlung).

<sup>15</sup> Berechnet sich aus der nach der Aktivkohlebehandlung im Produktstrom gelösten Chloridmenge (Mol) minus die bereits vorhandenen Gegenionen Kalium und Magnesium (nur sehr geringe Mengen). Somit ist für jedes Chlorid ein Gegenion vorhanden. Damit wird verhindert, dass während der Kristallisation HCl abgedampft wird.

## 2. Fermenter

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Fermentationsdauer <sup>1</sup>	145 h	Marening, 1992
Fermentationstemperatur <sup>1</sup>	32°C	Marening, 1992
Umsatzrate Glucosebildung <sup>2</sup>	100 % (Dextrin)	Marening, 1992
Umsatzrate CO <sub>2</sub> -Bildung <sup>3</sup>	23,4 % (Glucose)	eigene Abschätzung
Umsatzrate Biomassebildung I <sup>4</sup>	100 % (NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> )	Marening, 1992
Umsatzrate Biomassebildung II <sup>4</sup>	100 % (Proteine)	Marening, 1992
Reaktionswärme Biomassebildung <sup>5</sup>	- 4.000 kcal/kg	Nielsen und Villadsen, 1994; Köhler und Hofmann, 1992
Umsatzrate Zitronensäurebildung <sup>6</sup>	99,8 %	Marening, 1992; eigene Abschätzung
Belüftungsrate <sup>7</sup>	0,5 vvm	Perry et al., 1997; Diekmann und Metz, 1991
Spez. Wärmekapazität Zitronensäure <sup>8</sup>	2.050 J kg <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	eigene Abschätzung
Inaktivierung Proteasen: Endtemperatur <sup>9</sup>	70°C	Gluszczyk und Ledalowicz, 1999
Inaktivierung Proteasen: Halten der Maximaltemperatur <sup>9</sup>	15 min	Gluszczyk und Ledalowicz, 1999

<sup>1</sup> nach Marening, 1992 (Fermentation CIT3)

<sup>2</sup> Nach Marening (1992) wird das Dextrin vollständig zu Glucose umgesetzt.

<sup>3</sup> Die gebildete CO<sub>2</sub>-Menge wird aus der C-Bilanz der Fermentation abgeschätzt (siehe Anhang C2)

<sup>4</sup> Bei der Bildung der Biomasse wird der verfügbare Stickstoff vollständig aufgebraucht (Marening, 1992). Als N-Quelle dient zum einen das Ammoniumnitrat der Mediumlösung, zum anderen die in der Stärke enthaltenen Proteine.

<sup>5</sup> Beim Biomassenwachstum wird Wärme frei. Nielsen und Villadsen (1994) geben für Hefe und Glucose als Rohstoff  $Y_{kcal} = 1.570-5.230$  kcal/kg Biomasse an, Köhler und Hofmann (1992) ebenfalls für Hefe und Glucose  $Y_{kcal} = 8.470$  kcal/kg Biomasse. Im Modell wird von  $Y_{kcal} = 4000$  kcal/kg ausgegangen.

<sup>6</sup> Aus den Angaben von Marening (1992) berechnet.

<sup>7</sup> Die Begasung des Fermenters erfolgt in industriellen Prozessen aus Kostengründen meist mit Luft und nicht mit reinem Sauerstoff (Diekmann und Metz, 1991). Der Luftbedarf liegt in der Regel zwischen 0,1 und 2 vvm, oft im Bereich von 1 vvm. Mit steigender Fermentergröße verbessert sich jedoch die Ausnutzung der Luft und der Luftbedarf sinkt (Diekmann und Metz, 1991). Perry et al. (1997) geben für große Fermenter einen Luftbedarf von 0,5 vvm an. Dies entspricht dem Defaultwert des Programms, der im Folgenden beibehalten werden soll.

<sup>8</sup> Es wurden in der Literatur keine Angaben zur spezifischen Wärmekapazität von Zitronensäure gefunden. Im Modell wird ersatzweise der Wert von Essigsäure verwendet.

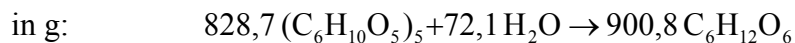
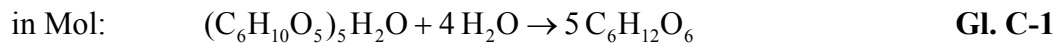
<sup>9</sup> Angaben von Gluszczyk und Ledalowicz (1999), ähnlich auch bei Marening (1992).

## Anhang C2: Stoffumwandlungen

Die Hydrolyse der Stärke zu Dextrin wird in Anhang B4 erläutert.

### 1. Hydrolyse Dextrin zu Glucose

*Aspergillus niger* setzt  $\alpha$ -Amylasen und Glucoamylasen frei. Diese hydrolysieren das Dextrin (durchschnittlich 5 Glucosereste) zu Glucose:



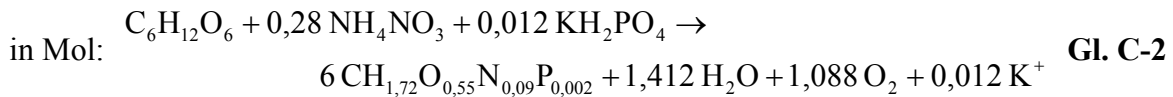
Die Umsetzung erfolgt zu 100 % (Marending, 1992).

### 2. Biomassebildung

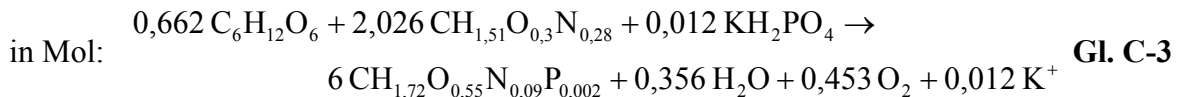
Aus der Glucose wird unter Verbrauch der verfügbaren N-Quellen Biomasse gebildet. Die Endkonzentration und damit die Gesamtmenge an Biomasse wurde aus Marending (1992) entnommen. Als N-Quellen dienen das zugesetzte Ammoniumnitrat und Proteine, die als Verunreinigungen der Stärke bei der Hydrolyse freigesetzt werden. Zur Bestimmung der Summenformel der *A. niger*-Biomasse muss der insgesamt verfügbare Stickstoff ermittelt werden. Die Menge an Ammoniumnitrat ist bekannt. Für die Stärke wird eine Proteinanteil von 1 % angenommen (siehe Anhang B4). Die Proteinzusammensetzung wurde wie folgt abgeschätzt. Nielsen und Villadsen (1994) geben die mittlere Häufigkeit der Aminosäuren in den Proteinen der Bäckerhefe an. Creighton (1993) berechnet die mittleren Häufigkeiten der Aminosäuren aus 1000 verschiedenen bekannten Proteinen. Aus den Summenformeln der Aminosäuren und den angegebenen relativen Häufigkeiten wurde eine mittlere Zusammensetzung ermittelt und auf ein C-Atom normiert. Dabei wurde angenommen, dass bei der Polypeptidbildung pro Mol Aminosäure ein Mol Wasser abgespalten wird. Die berechnete Zusammensetzung ist bei beiden Literaturquellen sehr ähnlich. Für die weiteren Berechnungen wurde sie gemittelt. Es ergibt sich für Proteine die Summenformel  $\text{CH}_{1,57}\text{O}_{0,29}\text{N}_{0,28}$  und ein Molekulargewicht von 22,17 g/C-mol. Aus dieser Summenformel und der Proteinmenge wird die verfügbare Stickstoffmenge errechnet. Der Schwefelanteil der Proteine wurde zur Vereinfachung nicht berücksichtigt.

Aus der insgesamt verfügbaren Stickstoffmenge (Ammoniumnitrat + Proteine) und der gebildeten Pilzbiomasse, ergibt sich für die Biomasse die Summenformel  $\text{CH}_{1,72}\text{O}_{0,55}\text{N}_{0,09}$ . Bezieht man den Gesamtphosphor mit ein ergibt sich die Summenformel

$\text{CH}_{1,72}\text{O}_{0,55}\text{N}_{0,09}\text{P}_{0,002}$  und ein Molekulargewicht von 23,89 g/C-Mol (näheres siehe 7.1.2.). Da die beiden N-Quellen der limitierende Faktor sind, werden zwei Biomassebildungsreaktionen definiert. Für die Biomassebildung mit Ammoniumnitrat gilt:



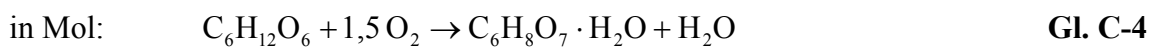
Für die Biomassebildung mit den Proteinen als N-Quelle gilt:



Es wird solange Biomasse gebildet, bis die N-Quellen vollständig aufgebraucht sind (Umsatz: jeweils 100 %).

### 3. Zitronensäurebildung

Die Zitronensäure wird aus der Glucose über die Glykolyse und den Tricarbonsäurezyklus gebildet. Es wird angenommen, dass die Zitronensäure als Monohydrat anfällt. Als Reaktionsgleichung ergibt sich:



Die Reaktion läuft solange ab, bis die Glucosekonzentration 0,2 g/l unterschreitet (Marending, 1992).

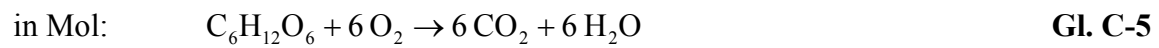
### 4. CO<sub>2</sub>-Bildung

Die gebildete Menge an CO<sub>2</sub> wird über die C-Bilanz der Fermentation abgeschätzt. Die angegebenen Mengen sind aus den Angaben von Marending (1992) für einen Fermenter mit 105 m<sup>3</sup> Arbeitsvolumen berechnet:

Stoff	Input [C-Mol]	Output [C-Mol]
Glucose	513.141	699
Proteine <sup>1</sup>	6.383	-
Biomasse	176	75.135
Zitronensäure	-	339.699
<b>Differenz (= CO<sub>2</sub>)</b>		<b>104.167</b>

<sup>1</sup> Es wird angenommen, dass die ebenfalls als Verunreinigungen der Stärke enthaltenen Fette nicht umgesetzt werden und den Fermenter unverändert verlassen. Sie brauchen daher in der C-Bilanz nicht berücksichtigt zu werden. Das gleiche gilt für die zugesetzte  $\alpha$ -Amylase.

Es werden also 104.170 Mol CO<sub>2</sub> (= 4.580 kg) gebildet. Für die Veratmung gilt folgende Reaktionsgleichung:



Der Umsetzungsgrad wird in der Simulation so festgelegt, dass die berechnete CO<sub>2</sub>-Menge gebildet wird.

# ANHANG D: FALLBEISPIEL $\alpha$ -CYCLODEXTRIN

---

Die Literaturangaben zu den zitierten Quellen befinden sich im Literaturverzeichnis des Hauptteils (Kapitel 9).

## Anhang D1: Prozessparameter

### 1. Inputstoffe

Stoff	Solventverfahren [kg]	Non-Solventverfahren [kg]
Stärke <sup>1</sup>	3.000	
Decanol <sup>2</sup>	270	-
$\alpha$ -Amylase <sup>3</sup>	3,0	
CGTase <sup>4</sup>	7,5	
Wasser in Reaktor <sup>5</sup>	7.600	
Waschwasser (S-115) <sup>6</sup>	3.486	-
Wasser WDD (S-119) <sup>7</sup>	475,5	-
Dampf WDD (S-120) <sup>8</sup>	3.500	-
Waschwasser (S-129) <sup>9</sup>	212	
Waschwasser (S-137) <sup>10</sup>	2.955	
Waschwasser (S-145) <sup>11</sup>	-	7.555
Wasser, 85°C (S-146) <sup>12</sup>	-	2.170

<sup>1</sup> Ergibt sich aus angenommener Fermentergröße von etwa 10 m<sup>3</sup> und einer Stärkekonzentration von 30 % (Schmid, 1996). Näheres siehe Anhang D2.

<sup>2</sup> Ableitung siehe Anhang D2. Im Non-Solventverfahren wird kein Decanol verwendet.

<sup>3</sup> Nach Buchholz und Kasche (1997) werden 0,4-1,2 kg  $\alpha$ -Amylase/t Stärke benötigt. Hier wird von 1 kg/t ausgegangen. Auf die Zugabe von CaCl<sub>2</sub>, das bei manchen Amylasen zur Stabilisierung und Aktivierung des Enzyms notwendig ist, wird verzichtet.

<sup>4</sup> Bender (1986) gibt ein Massenverhältnis von CGTase zu Stärke von 1:1000 bis 1:5000. Damit würde sich bei 3 t Stärke ein Bedarf von 0,6-3 kg CGTase ergeben. Für ein konkretes Beispiel nennt Bender (1986) einen Bedarf von 150 U/g Stärke. Pedersen et al. (1995) geben für CGTasen eine Aktivität von 22-280 U/mg an. Damit würde sich ein Bedarf von 1,6-20,5 kg CGTase ergeben. In den Modellen wird von 7,5 kg ausgegangen. Die Menge kann sich im realen Prozess noch reduzieren.

<sup>5</sup> Die Wassermenge wird zu Auffüllen des Reaktors auf die gewünschten Startkonzentrationen benötigt. Da die Dichten der verschiedenen wässrigen Stoffgemische nicht bekannt sind, kann die benötigte Wassermenge nicht exakt bestimmt werden. Die Größenordnung der in Modell eingesetzten Menge ist aber sicherlich realistisch.

<sup>6</sup> 2 x gewaschene Feststoffmenge (näheres siehe 4. Waschen und Filtrieren Komplex).

<sup>7</sup> In der Wasserdampfdestillation (WDD) wird der Komplex aufgelöst, das CD geht in Lösung. Die Lösung wird anschließend mit Aktivkohle entfärbt. Um Probleme bei der Filtration zu vermeiden, muss das CD vollständig gelöst sein. Folglich muss ausreichend Wasser zugeführt werden, um das freiwerdende CD zu lösen. Es wird angenommen, dass sich die Lösung während des Transports und in der folgenden Aktivkohlefiltration um maximal 20°C auf 80°C abkühlt. Die Löslichkeit von  $\alpha$ -CD beträgt bei 80°C 1.093 g/l. S-118 enthält 1.450,4 kg  $\alpha$ -CD, also wären minimal 1.327 l Wasser notwendig um eine gesättigte Lösung zu erhalten. Auf diese Menge wird ein 15%iger Sicherheitsaufschlag gerechnet. Damit sind 1.526 kg Wasser notwendig.

In S-118 sind bereits 1.050 kg Wasser enthalten, die fehlenden 475,5 kg werden über S-119 zugegeben.

<sup>8</sup> Ableitung siehe Kap. 4.2.9 (Wasserdampfdestillation).

<sup>9</sup> Ableitung siehe Anhang B2 (10. Aktivkohlebehandlung).

<sup>10</sup> Ableitung siehe Anhang B2 (7. Vakuumtrommelfilter).

<sup>11</sup> Ableitung siehe Anhang B2 (9. Adsorption).

<sup>12</sup> Ableitung siehe Anhang B2 (9. Adsorption).

## 2. Fermenter<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Inaktivierung Amylase, Temperatur <sup>2</sup>	120°C	Bender, 1986; Hedges, 1992; Seres et al., 1989
Inaktivierung Amylase, Dauer <sup>2</sup>	10 min	
Dauer enzymatische Umwandlung <sup>3</sup>	6 h	Schmid, 1996
Reaktionstemperatur <sup>3</sup>	40°C	Schmid, 1996
pH-Wert enzymatische Umwandlung <sup>4</sup>	ca. pH 7	eigene Abschätzung
Umsatzrate Cyclodextrinbildung <sup>5</sup>	63,12 % (Dextrin)	eigene Abschätzung
Umsatzrate Nebenproduktbildung <sup>5</sup>	66,56 % (Dextrin)	eigene Abschätzung
Umsatzrate Komplexbildung <sup>5</sup>	95,7 % ( $\alpha$ -CD)	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> Für den Fermenter wurde ein Volumen von etwa 10 m<sup>3</sup> angenommen.

<sup>2</sup> Vor der Cyclodextrinbildung muss die Amylase inaktiviert werden (Bender, 1986; Hedges, 1992; Seres et al., 1989). Zur Inaktivierung wird eine Dauer von 10 min bei 120°C angenommen.

<sup>3</sup> Angaben von Schmid (1996) zur Herstellung von  $\alpha$ -CD aus Stärke mit Decanol als Komplexbildner und einer CGTase von *Klebsiella oxytoca*.

<sup>4</sup> In veröffentlichten Verfahren liegen die pH-Werte der CD-Bildung zwischen pH 4,5 und pH 8,5 (Biwer et al., 2002). Im Modell wird angenommen, dass die enzymatische Bildung des Cyclodextrins bei ungefähr neutralem pH abläuft. Weiterhin werden wahrscheinlich auch bei der Stärkeverflüssigung  $\alpha$ -Amylasen mit unterschiedlichen pH-Optima eingesetzt. Da der Reaktionslösung keine Salze, Säuren oder Laugen zugeführt werden, wird angenommen, dass der pH-Wert um pH 7 liegt und dass die Säure- oder Laugemenge, die zum Einstellen des pH-Werts nötig wäre, vernachlässigbar gering ist. Daher wird auf das Einstellen des pH-Werts sowohl vor der Stärkehydrolyse, als auch vor der eigentlichen enzymatischen Umwandlung verzichtet. Unter industriellen Bedingungen wird die Reaktionslösung ggf. leicht gepuffert werden. Im Modell wird auf die



Berücksichtigung einer solchen Pufferung verzichtet, da die hierfür notwendigen Mengen, ähnlich wie die Mengen an Säure und Lauge zur Einstellung des pH-Wertes, recht gering sein dürften.

<sup>5</sup> Zur Ableitung der Umsatzraten siehe Anhang D2 (in Klammern jeweils der Stoff auf den sich die Umsatzrate bezieht). Für alle Stoffumwandlungen wird angenommen, dass die Reaktionsenthalpien vernachlässigbar sind.

### 3. Durchlauferhitzer<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Wärmeübergangskoeffizient $U^2$	2.050 kcal m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	Vauck und Müller, 1988; Peters und Timmerhaus, 1991; Perry et al., 1997
Austrittstemperatur <sup>3</sup>	(a) 105°C, (b) 30°C	-
Prozessdauer <sup>4</sup>	variabel	-

<sup>1</sup> Ein Durchlauferhitzer wird zur Bereitstellung von Wasserdampf während der Wasserdampfdestillation (a) und zur Bereitstellung von erwärmtem Wasser zum Eluieren des  $\alpha$ -Cyclodextrin von der Adsorptionssäule (b) im Modell verwendet. Dadurch kann die Energie, die hierfür notwendig ist, in der Simulation berücksichtigt werden. In einer realen Anlage wird man dagegen wahrscheinlich den Dampf und das warme Wasser aus einem Leitungssystem beziehen und kaum einen eigenen Durchlauferhitzer verwenden. Für das Modell wird von einem Rohrbündelwärmetauscher ausgegangen.

<sup>2</sup> Vauck und Müller (1988) nennen als Erfahrungswerte bei der Auslegung von Rohrwärmeüberträgern mit Satttdampf und Wasser als Medien mit Berücksichtigung des Foulings Wärmeübergangskoeffizienten von  $U = 430\text{-}3.440$  kcal/h m<sup>2</sup> K, Peters und Timmerhaus (1991)  $U = 975\text{-}3.420$  kcal/h m<sup>2</sup> K, Perry et al. (1997)  $U = 1.950\text{-}4.900$  kcal/h m<sup>2</sup> K.

<sup>3</sup> Die Austrittstemperatur wird durch den Bedarf des nachfolgenden Prozessschritts (Wasserdampfdestillation, Adsorption) bestimmt.

<sup>4</sup> Der Durchlauferhitzer wird so ausgelegt, dass er den Bedarf des nachfolgenden Prozessschritts zeitgleich decken kann. Durchsatz und Prozessdauer wird damit durch den nachfolgenden Schritt bestimmt.

4. Waschen und Filtrieren Komplex<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Menge Waschwasser <sup>2</sup>	2 x Feststoff	eigene Abschätzung
Rückhalt Cyclodextrin-Komplex <sup>3</sup>	100 %	eigene Abschätzung
Feststoffkonzentration im Retentat <sup>4</sup>	0,5 v/v	Defaultwert
Porendurchmesser <sup>5</sup>	1 µm	eigene Abschätzung
Filterdurchsatz <sup>6</sup>	90 l m <sup>-2</sup> h <sup>-1</sup>	McCabe et al., 2001; Ladisch, 2001; Atkinson und Mavituna, 1991
Prozessdauer <sup>7</sup>	1 h	eigene Abschätzung; Perry et al., 1997

<sup>1</sup> Im Programm ist kein Modell für einen Waschschrift enthalten. Im Modell wird der Waschvorgang durch eine Mischoperation und eine anschließende Dead-End-Filtration dargestellt.

<sup>2</sup> Wie beim Vakuumtrommelfilter wird davon ausgegangen, dass man etwa die doppelte Masse des zu waschenden Feststoffs an Waschwasser benötigt.

<sup>3</sup> Es wird angenommen, dass der Cyclodextrin-Komplex ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD) vollständig bei der Filtration zurückgehalten wird.

<sup>4</sup> Für die Feststoffkonzentration wird der Defaultwert des Programms übernommen.

<sup>5</sup> Es wird davon ausgegangen, dass der Porendurchmesser bei 1 µm ausreichend klein ist um einen vollständigen Rückhalt des Cyclodextrin-Decanol-Komplexes zu ermöglichen. Es handelt sich damit um eine Mikrofiltration.

<sup>6</sup> Da es sich um eine Mikrofiltration handelt, wurde der Filterdurchsatz aus der Abschätzung der Mikrofiltration in Anhang B2 entnommen.

<sup>7</sup> Perry et al. (1997) geben an, dass für die Größe von Filtrationseinheiten eine große Spanne an Apparaturen kommerziell erhältlich ist. Für das Fallbeispiel wird von einem Filter mit einem mittleren Durchsatz von 7,5 m<sup>3</sup>/h ausgegangen. Damit ergibt sich eine Prozessdauer von 1 h.

## Anhang D2: Stoffumwandlungen

### 1. Datengrundlage und Annahmen

Für die Abschätzung der Reaktionsgleichungen werden Angaben aus Schmid (1996) zu den industriellen Produktionsbedingungen der  $\alpha$ -Cyclodextrin-Herstellung übernommen. Folgende Werte sind bekannt:

- Stärkekonzentration: 30 %
- Ausbeute Cyclodextrin im abgetrennten Komplex: 50 %
- Mengenverhältnis im abgetrennten Komplex:  $\alpha : \beta : \gamma = 96,5 : 3,5 : 0,0$
- Folgende Nebenprodukte entstehen: Glucose, Maltose, Dextrine, höherwertige Cyclodextrine

Folgende Annahmen werden getroffen:

- Arbeitsvolumen des Reaktors: ca.  $10 \text{ m}^3$
- Zur Komplexbildung wird pro Mol Cyclodextrin ein Mol Decanol benötigt.
- Da die Bildung höherwertiger Cyclodextrine (mit mehr als 8 Glucoseeinheiten) sehr gering ist (Endo et al., 1997), wird sie im Modell nicht berücksichtigt.
- Ein Teil der Stärke wird nicht umgesetzt. Es wird hierfür ein Anteil von 3 % angenommen.

### 2. Start- und Endkonzentrationen

Aus der Stärkekonzentration (30 %) und dem angenommenen Reaktorvolumen ( $10 \text{ m}^3$ ) ergibt sich eine Stärkemenge von ca. 3.000 kg.

50 % der Stärke, also 1.500 kg werden zu Cyclodextrin umgewandelt und bilden mit Decanol einen Komplex, der ausfällt. Aus dem vorgegebenen Verhältnis der Cyclodextrintypen zueinander (96,5 : 3,5 : 0,0) ergibt sich:

$$0,965 \times 1.500 = 1.447,5 \text{ kg } \alpha \text{-Cyclodextrin}$$

$$0,035 \times 1.500 = 52,5 \text{ kg } \alpha \text{-Cyclodextrin}$$

Die verbleibenden 1.500 kg Stärke werden in ein Gemisch aus nicht umgesetzter Stärke, Dextrin, Glucose, Maltose, Proteine, Fette und nicht komplexierte Cyclodextrine umgewandelt:

- Proteine und Fette

Bei einem Protein- und Fettgehalt von je 1 % (s. Anhang B4) erhält man ca. 30 kg Fette und 30 kg Proteine in der Reaktionslösung.

- Nicht umgesetzte Stärke

Annahme: 3 % Stärke werden nicht umgesetzt:  $0,03 \times 3.000 = 90$  kg

- Cyclodextrine

Im Decanol-Wasser-Gemisch beträgt die maximale Löslichkeit von  $\alpha$ -Cyclodextrin  $65 \text{ kg}/10 \text{ m}^3$ , die Löslichkeit von  $\beta$ -Cyclodextrin in Wasser  $185 \text{ kg}/10 \text{ m}^3$  (Sato et al., 1994; Schmid, 1996). Es wird angenommen, dass diese Konzentrationen fast erreicht werden (ohne die wirklichen Bedingungen zu kennen). Weiterhin wird angenommen, dass etwa 50 kg  $\gamma$ -Cyclodextrin gebildet werden. Es werden also  $65 + 185 + 50 = 300$  kg Cyclodextrine gebildet, die in der Reaktionslösung verbleiben.

- Dextrine, Maltose, Glucose

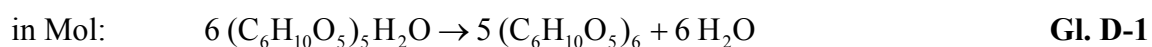
Aus den obigen Ausführungen ergibt sich, dass  $3.000 - 1.500 - 30 - 30 - 90 - 300 = 1.050$  kg Stärke verbleiben, die in Glucose und Maltose umgewandelt werden oder nach der Stärkeverflüssigung als Dextrine nicht mehr weiter hydrolysiert werden. Da der Anteil dieser drei Komponenten am Ende der Reaktion nicht bekannt ist, wird zur Vereinfachung davon ausgegangen, dass je ein Drittel der Stärke in Glucose, Maltose und Dextrine umgewandelt wird.

### 3. Reaktionsgleichungen

Die Hydrolyse der Stärke zu Dextrin wird in Anhang B4 erläutert.

#### 1. Cyclodextrinbildung

Bei der Umwandlung von Dextrin in  $\alpha$ -Cyclodextrin wird Wasser abgespalten. Es gilt:



Es werden insgesamt 1.512,5 kg  $\alpha$ -Cyclodextrin gebildet (im Komplex und in Lösung). Dies entspricht 1.554,7 Mol. Für Gleichung D-1 gilt:

in Mol:  $1.865,67 (C_6H_{10}O_5)_5H_2O \rightarrow 1.554,73 (C_6H_{10}O_5)_6 + 1.865,67 H_2O$  **Gl. D-2**

in kg:  $1.546,12 (C_6H_{10}O_5)_5H_2O \rightarrow 1.512,50 (C_6H_{10}O_5)_6 + 33,62 H_2O$

Zusätzlich werden 237,5 kg  $\beta$ -Cyclodextrin gebildet (im Komplex und in Lösung). Dies entspricht 209,3 Mol. Für die  $\beta$ -Cyclodextrinbildung gilt:

in Mol:  $7 (C_6H_{10}O_5)_5H_2O \rightarrow 5 (C_6H_{10}O_5)_7 + 7 H_2O$

in Mol:  $292,96 (C_6H_{10}O_5)_5H_2O \rightarrow 209,25 (C_6H_{10}O_5)_7 + 292,96 H_2O$  **Gl. D-3**

in kg:  $242,78 (C_6H_{10}O_5)_5H_2O \rightarrow 237,5 (C_6H_{10}O_5)_7 + 5,28 H_2O$

Weiterhin werden 50,0 kg  $\gamma$ -Cyclodextrin gebildet. Dies entspricht 38,5 Mol. Es gilt:

in Mol:  $8 (C_6H_{10}O_5)_5H_2O \rightarrow 5 (C_6H_{10}O_5)_8 + 8 H_2O$

in Mol:  $61,68 (C_6H_{10}O_5)_5H_2O \rightarrow 38,55 (C_6H_{10}O_5)_8 + 61,68 H_2O$  **Gl. D-4**

in kg:  $51,11 (C_6H_{10}O_5)_5H_2O \rightarrow 50,0 (C_6H_{10}O_5)_8 + 1,11 H_2O$

Fasst man die Gleichungen D-2 bis D-4 zusammen, ergibt sich:

in Mol:  $2.220,31 (C_6H_{10}O_5)_5H_2O \rightarrow$   
 $1.554,73 (C_6H_{10}O_5)_6 + 209,25 (C_6H_{10}O_5)_7 + 38,55 (C_6H_{10}O_5)_8 + 2.220,31 H_2O$

in kg:  $1.840,01 (C_6H_{10}O_5)_5H_2O \rightarrow$   
 $1.512,5 (C_6H_{10}O_5)_6 + 237,5 (C_6H_{10}O_5)_7 + 50,0 (C_6H_{10}O_5)_8 + 40,01 H_2O$  **Gl. D-5**

Die Gleichung wird so in die Simulation übernommen. Der Umsetzungsgrad beträgt 63,12 % (bezogen auf das insgesamt gebildete Dextrin).

## 2. Komplexbildung

Es wird angenommen, dass pro Mol Cyclodextrin ein Mol Decanol zur Komplexbildung benötigt wird. Damit ergibt sich für  $\alpha$ -Cyclodextrin:

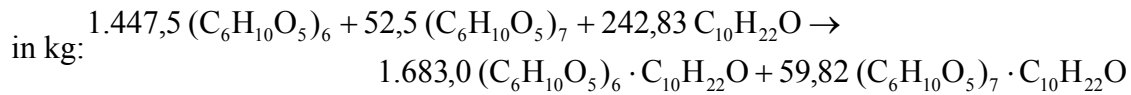
in Mol:  $(C_6H_{10}O_5)_6 + C_{10}H_{22}O \rightarrow (C_6H_{10}O_5)_6 \cdot C_{10}H_{22}O$  **Gl. D-6**

Für  $\beta$ -Cyclodextrin gilt:

in Mol:  $(C_6H_{10}O_5)_7 + C_{10}H_{22}O \rightarrow (C_6H_{10}O_5)_7 \cdot C_{10}H_{22}O$  **Gl. D-7**

Es werden 1.447,5 kg  $\alpha$ -Cyclodextrin (= 1.487 Mol) und 52,5 kg  $\beta$ -Cyclodextrin (= 46,3 Mol) komplexiert. Damit ergibt sich aus Gl. D-6 und D-7:

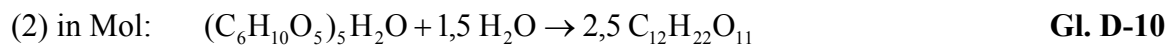
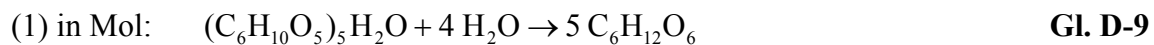
in Mol:  $1.487,91 (C_6H_{10}O_5)_6 + 46,26 (C_6H_{10}O_5)_7 + 1.534,17 C_{10}H_{22}O \rightarrow$   
 $1.487,91 (C_6H_{10}O_5)_6 \cdot C_{10}H_{22}O + 46,26 (C_6H_{10}O_5)_7 \cdot C_{10}H_{22}O$

**Gl. D-8**

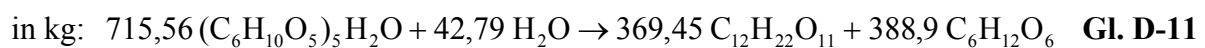
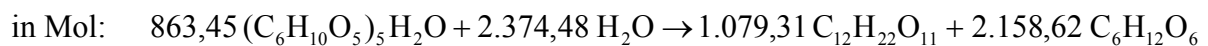
Es werden also mindestens 242,8 kg Decanol benötigt. Dieser berechnete Wert stimmt gut mit Angaben von Flaschel et al. (1984) überein. Da ein gewisser Überschuss notwendig sein wird, wird bei der Simulation von 270 kg Decanol ausgegangen. Die Gleichung wird so in die Simulation übernommen. Als Umsatzrate ergibt sich 95,7 % (bezogen auf das insgesamt gebildete  $\alpha$ -Cyclodextrin)

**4. Nebenproduktbildung**

Für die Bildung von Glucose (1) und Maltose (2) aus Dextrin (mit durchschnittlich 5 Glucoseresten) gilt:



Es werden je 350 kg Stärke in Glucose und Maltose umgewandelt. 350 kg Stärke entsprechen 357,78 kg (= 431,7 Mol) Dextrin (s. Anhang B4). Es werden somit je 431,7 Mol Dextrin in Glucose und Maltose umgewandelt. Damit ergibt sich aus Gl. D-9 und D-10:



Die Gleichung wird so in die Simulation übernommen. Die Umsatzrate beträgt dabei 66,56 % (bezogen auf das nach der CD-Bildung noch nicht verbrauchte Dextrin)

## Anhang D3: Verwendung thermostabiler CGTasen

### 1. Prozessparameter der enzymatischen Umwandlung

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Menge CGTase <sup>1</sup>	10,5 kg	Yang und Su, 1990; Bender, 1986; eigene Abschätzung
Dauer Stärkeverflüssigung <sup>2</sup>	5 min	Pedersen et al., 1995
Temperatur Stärkeverflüssigung <sup>3</sup>	105°C	Slominska und Sobkowiak, 1997; Yang und Su, 1990; Starnes, 2001;
Temperatur enzymatische Umwandlung <sup>4</sup>	45-90°C	
Dauer enzymatische Umwandlung <sup>5</sup>	7,5 h	Pedersen et al., 1995

<sup>1</sup> Im Standardmodell werden 7,5 kg CGTase (= 2,5 g/kg Stärke) und 3 kg  $\alpha$ -Amylase (= 1 g/kg Stärke) verwendet (siehe Anhang D1). Angaben von Yang und Su (1990) lassen vermuten, dass der Bedarf an CGTase bei Verfahren, die die CGTase auch zur Stärkehydrolyse verwenden, höher liegt. Es wird davon ausgegangen, dass der Bedarf bei 10,5 kg liegt (= 3,5 g/kg Stärke). Damit bleibt die Gesamtzymmenge gleich.

<sup>2</sup> Pedersen et al. (1995) geben 5 min an. Dieser Wert wird übernommen. Yang und Su (1990) geben dagegen 0,5 h an.

<sup>3</sup> Für Verfahren mit thermostabilen CGTasen werden für die Stärkeverflüssigung folgende Temperaturen genannt: 105°C (Pedersen et al, 1995), > 100°C (Starnes, 2001), 95°C (Slominska und Sobkowiak, 1997) und 85°C (Yang und Su, 1990). In den Simulationen wird von 105°C ausgegangen.

<sup>4</sup> Die Temperatur der enzymatischen Reaktionen hängt von der Thermostabilität der verwendeten CGTase ab. Die Angaben gehen von 90°C (Pedersen et al, 1995; Slominska und Sobkowiak, 1997), > 70°C (Starnes, 2001), bis 55°C (Yang und Su, 1990). In den Simulationen wird die Temperatur zwischen 45°C und 90°C variiert.

<sup>5</sup> Die angegebene Reaktionsdauer liegt bei 4-24 h (Pedersen et al, 1995; Slominska und Sobkowiak, 1997), < 24 h (Starnes, 2001) und 23 h (Yang und Su, 1990). In den Simulationen wird von einer Dauer von 7,5 h ausgegangen.





# ANHANG E: FALLBEISPIEL BRENZTRAUBENSÄURE

Die Literaturangaben zu den zitierten Quellen befinden sich im Literaturverzeichnis des Hauptteils (Kapitel 9).

## Anhang E1: Prozessparameter

### 1. Inputstoffe

Inputstoff [kg]	Version1	Version 2a	Version 2b	Version 3a	Version 3b
Essigsäure <sup>1</sup>	10,0	2.028,1	2.028,1	665,9	665,9
Ammoniumsulfat <sup>2</sup>	65,6	65,6	65,6	220,8	220,8
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>2</sup>	208,8	208,8	208,8	703,0	703,0
Natriumchlorid <sup>2</sup>	18,5	18,5	18,5	62,4	62,4
Aluminiumchlorid <sup>3</sup>	< 0,1	< 0,1	< 0,1	0,1	0,1
Calciumchlorid <sup>3</sup>	0,3	0,3	0,3	0,8	0,8
Eisensulfat <sup>3</sup>	0,3	0,3	0,3	1,0	1,0
Mangansulfat <sup>3</sup>	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
Glucose <sup>4</sup>	2.500	4.412,6	4.412,6	8.403,1	8.403,1
Magnesiumsulfat <sup>5</sup>	14,6	14,6	14,6	49,1	49,1
Biomasse (Animpfen) <sup>6</sup>	2,0	2,0	2,0	2,7	2,7
Ammoniak (in S-128) <sup>7</sup>	512,7	658,0	658,0	385,3	385,3
Ammoniak (in S-138) <sup>8</sup>	-	-	-	942,1	942,1
Wasser (S-120) <sup>9</sup>	35.300,0	24.000,0	24.000,0	14.910,0	14.910,0
Wasser (S-138) <sup>10</sup>	-	-	-	48.030,0	48.030,0
Wasser (S-203) <sup>11</sup>	14.658,8	15.248,6	15.248,6	40.818,9	-
HCl (in S-204) <sup>12</sup>	1.260,0	1.304,7	1.304,7	3.292,4	-
NaOH (in S-207) <sup>13</sup>	857,2	-	-	-	-
Lösungsmittel 1 (S-209) <sup>14</sup>	44.714,5	-	-	-	-
HCl (in S-216) <sup>15</sup>	538,9	-	-	-	-
Lösungsmittel 1 (S-218) <sup>14</sup>	46.793,5	38.346,9	-	98.950,0	-
Diethylether (in S-218) <sup>16</sup>	-	-	164.963,8	-	-
NaOH (in S-221) <sup>17</sup>	809,6	1.125,8	-	2.630,9	-
Wasser (in S-221) <sup>14</sup>	56.171,3	47.764,0	-	118.000,1	-
Wasser (S-230) <sup>18</sup>	4.325,2	6.069,2	-	14.183,9	14.280,6
Diethylether (S-230) <sup>18</sup>	-	-	4.342,5	-	-
Wasser (S-242) <sup>19</sup>	-	-	-	-	43.903,1
Wasser (S-243) <sup>20</sup>	-	-	-	-	49.821,7
NaOH (S-247) <sup>21</sup>	-	-	-	-	2.707,9

<sup>1</sup> Die Acetatlösung (400 g/l) wird in Tank P-1 vorgehalten. Zur Ermittlung der notwendigen Menge siehe Anhang E2.

<sup>2</sup> N-Quelle, P-Quelle und Kochsalz werden in Tank P-3 in konzentrierter Lösung vorgehalten (8-fach konzentriert bezogen auf die Konzentration im Fermenter). Die Menge ergibt sich aus dem Arbeitsvolumen des Fermenters (P-20) und den ab der zweiten Projekthälfte in Jülich verwendeten Startkonzentrationen der Stoffe (Ammoniumsulfat: 2,25 g/l; Kaliumdihydrogensulfat: 7,16 g/l; Natriumchlorid: 0,64 g/l). Diese entsprechen weitgehend in der Literatur gefundenen Angaben (Yokota et al., 1994; Curless et al., 1991; Riesenberg et al., 1991) und sollten auch unter industriellen Bedingungen ähnlich sein.

<sup>3</sup> Spurenelemente werden in Tank P-3 in (5N)-HCl-Lösung vorgehalten (1000-fach konz.). Die Menge ergibt sich aus dem Arbeitsvolumen des Fermenters (P-20) und den ab der zweiten Projekthälfte in Jülich verwendeten Startkonzentrationen der Stoffe (Aluminiumchlorid: 0,001 g/l; Calciumchlorid: 0,01 g/l; Eisensulfat: 0,01 g/l; Mangansulfat: 0,002 g/l). Diese entsprechen weitgehend in der Literatur gefundenen Angaben (Yokota et al., 1994; Curless et al., 1991; Riesenberg et al., 1991) und sollten auch unter industriellen Bedingungen ähnlich sein.

<sup>4</sup> Die Glucoselösung (700 g/l) wird in Tank P-6 vorgehalten. Zur Ermittlung der notwendigen Menge siehe Anhang E2.

<sup>5</sup> Magnesiumsulfat wird im Tank P-9 in konzentrierter Lösung vorgehalten (25-fach konz.). Die Abschätzung der benötigten Menge erfolgt wie bei den übrigen Nährsalzen (Startkonzentration: 0,5 g/l).

<sup>6</sup> Zur Vereinfachung wird die Inokulumanzucht von *E. coli* nicht dargestellt. Es wird als eigener Strom (S-127) bakterielle Biomasse zugeführt, um die jeweils gewünschte Startkonzentration zu erreichen (Version 1+2: 0,04 g/l, Version 3: 0,11 g/l).

<sup>7</sup> Mit Hilfe einer Ammoniaklösung (5N) wird der pH-Wert zu Beginn eingestellt und im Verlauf der Fermentation auf pH 7 gehalten. Die Berechnung der notwendigen Menge ist in Kap. 4.5 erläutert.

<sup>8</sup> In Version 3 ist Ammoniak auch während des Zyklus 2-4 zur pH-Regulierung notwendig.

<sup>9</sup> Die Wassermenge wird benötigt um die vorgesehenen Startkonzentrationen und Startvolumen der Fermenterbrühe zu erreichen. Da die exakte Dichte des komplexen Stoffgemischs nicht bekannt ist, kann auch die benötigte Wassermenge nicht exakt ermittelt werden. Der mögliche Fehler sollte jedoch gering sein.

<sup>10</sup> Vor Zyklus 2-4 in Version 3 wird mit Wasser auf die gewünschten Konzentrationen aufgefüllt.

<sup>11</sup> Die Wassermenge entspricht einem Bettvolumen (1 bv) des verwendeten Ionentauschers. Das Bettvolumen ergibt sich aus der Bindekapazität des Harzes und der Menge der abzutrennenden Kationen. Abschätzungen zum Ionentauscher siehe Kap. 4.2.7 und Anhang B2.

<sup>12</sup> Die Kationen werden mit (2N)HCl-Lösung eluiert. Zur Ableitung der benötigten Menge siehe Kap. 4.2.7 und Anhang B2.

<sup>13</sup> Vor Abtrennung der Milchsäure in Version 1 (1. Extraktion) muss der pH-Wert auf pH 3 eingestellt werden. Hierzu wird eine 50%ige (w/w) Natronlauge verwendet. Die Berechnung der notwendigen Menge ist in Kap. 4.5 erläutert.

<sup>14</sup> Das Volumenverhältnis Aufnehmerphase zu Abgeberphase ist 1:1. Ableitung siehe Kap. 4.2.10 und Anhang B2.

<sup>15</sup> Vor Abtrennung der Brenztraubensäure in Version 1 (2. Extraktion) muss der pH-Wert auf pH 2 eingestellt werden. Hierzu wird eine (5N)-Salzsäure verwendet. Die Berechnung der notwendigen Menge ist in Kap. 4.5 erläutert.

<sup>16</sup> Das Volumenverhältnis Aufnehmerphase zu Abgeberphase ist 5:1. Ableitung siehe Kap. 4.2.10 und Anhang B2.

<sup>17</sup> Zur Reextraktion des Pyruvats (P-38) wird eine neutrale bis basische wässrige Lösung benötigt. Hierzu wird eine verdünnte NaOH-Lösung verwendet. Die Molmenge an NaOH ist dabei gleich der Molmenge an reextrahiertem Pyruvat (äquimolar). In Version 1 ist die Menge äquimolar zur Summe von abgetrenntem Pyruvat und Lactat. Näheres siehe auch Kap. 4.2.10 und Anhang B2.

<sup>18</sup> In P-43 benötigte Lösungsmittelmenge (Wasser oder Diethylether) = 2 x Feststoffmenge. Näheres siehe Kap. 4.2.6. und Anhang B2.

<sup>19</sup> Der Säurestrom (S-242) nimmt in der Elektrodialyse (P-48 + P-49) das Pyruvat auf. Die notwendige Wassermenge ergibt sich aus der Endkonzentration im Säurestrom, der Pyruvatmenge im Inputstrom (S-241) und der Ausbeute der Elektrodialyse. Näheres siehe Kap. 4.2.11. und Anhang B2.

<sup>20</sup> Der Basenstrom (S-243) nimmt in der Elektrodialyse (P-48 + P-49) das Ammonium auf. Die notwendige Wassermenge ergibt sich aus der Ammonium-Endkonzentration im Basenstrom, der Ammoniummenge im Inputstrom (S-241) und der Ausbeute der Elektrodialyse. Näheres siehe Kap. 4.2.11. und Anhang B2.

<sup>21</sup> Nach (ggf. auch schon während) der Elektrodialyse in Version 3b wird dem Produktstrom eine äquimolare Menge NaOH zugegeben (P-39), um das Pyruvat anschließend als Natriumpyruvat zu kristallisieren (P-40). Näheres siehe Kap. 4.2.11. und Anhang B2. Zusätzlich wird weiteres NaOH zugegeben um die Lösung zu neutralisieren und das enthaltene Chlorid als NaCl zu binden um ein Abdampfen bei der Kristallisation zu vermeiden.

## 2. Fermenter Version 1 und 2<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert Version 1	Simulationswert Version 2	Quelle
Dauer NH <sub>3</sub> -Zufuhr <sup>2</sup>	35,17 h	25,3 h	eigene Abschätzung
Fermentationsdauer <sup>3</sup>	35,0 h	25,1 h	Vorgabe FZ Jülich
Fermentationstemperatur <sup>4</sup>	37°C	37°C	Vorgabe FZ Jülich
Belüftungsrate <sup>5</sup>	0,5 vvm	0,5 vvm	Perry et al, 1997; Diekmann und Metz, 1991
Umsatzrate Lactatbildung <sup>6</sup>	7 % (Glucose)	-	Vorgabe FZ Jülich + eigene Abschätzungen
Umsatzrate Biomassebildung <sup>6</sup>	100 % (Acetat)	13,9 % (Glucose)	
Umsatzrate Pyruvatbildung <sup>6</sup>	100 % (Glucose)	76,7 % (Glucose)	
Umsatzrate Bildung org. Rest <sup>6</sup>	-	100 % (Acetat)	
Reaktionswärme Biomassebildung <sup>7</sup>	-2.400 kcal kg <sup>-1</sup>	-2.400 kcal kg <sup>-1</sup>	Bailey und Ollis, 1986; Dunn et al., 1992
Sterilisationstemperatur <sup>8</sup>	121°C	121°C	Jackson, 1990;
Halten Maximaltemperatur <sup>8</sup>	10 min	10 min	Doran 1995; Aiba et al., 1973 u.a.
Endtemperatur <sup>9</sup>	40°C	40°C	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> In Version 1 und 2 erfolgt die Fermentation als Batch- bzw. Fedbatch-Reaktion. Version 2a und 2b

unterscheiden sich nur in der Aufreinigung. Daher werden sie in der obigen Tabelle nicht getrennt betrachtet.

<sup>2</sup> Die Zufuhr der NH<sub>3</sub>-Lösung und damit die pH-Regulierung beginnt vor der Animpfung des Fermenters und erfolgt bis kurz vor Ende der Fermentation.

<sup>3</sup> Die Reaktionsdauer wurde aus Versuchen beim Projektpartner am Forschungszentrum Jülich (FZ Jülich) übernommen. Näheres siehe auch Anhang E2.

<sup>4</sup> Die Reaktionstemperatur beträgt 37 °C (Vorgabe FZ Jülich).

<sup>5</sup> Die Begasung des Fermenters erfolgt in industriellen Prozessen aus Kostengründen meist mit Luft und nicht mit reinem Sauerstoff (Diekmann und Metz, 1991). Der Luftbedarf liegt in der Regel zwischen 0,1 und 2 vvm, oft im Bereich von 1 vvm. Mit steigender Fermentergröße verbessert sich jedoch die Ausnutzung der Luft und der Luftbedarf sinkt (Diekmann und Metz, 1991). Perry et al. (1997) geben für große Fermenter einen Luftbedarf von 0,5 vvm an. Dies entspricht dem Defaultwert des Programms, der im Folgenden beibehalten werden soll.

<sup>6</sup> Die Ableitung der Reaktionsgleichungen und der notwendigen Umsatzraten ist in Anhang E2 erläutert. In den Modellberechnungen laufen die Reaktion nicht gleichzeitig sondern seriell, in der Reihenfolge der Eingabe, ab. Die Umsatzrate (Reaction Extent) bezieht sich dabei immer auf die Menge der Referenzsubstanz (z. B. Glucose) zu Beginn der Reaktion, d. h. der Verbrauch der (in den Berechnungen) vorhergehenden Reaktionen ist schon berücksichtigt. Die Reihenfolge in der Tabelle entspricht der Reihenfolge in der Simulation.

<sup>7</sup> Bei der Bildung von Biomasse wird Wärme frei. Bei genauer Kenntnis der Rohstoffe, der Biomassezusammensetzung und der Produkte kann die gebildete Wärmemenge berechnet werden. Für die hier vorzunehmende Abschätzung ist es jedoch ausreichend in der Literatur angegebene Durchschnittswerte zu verwenden. Bailey und Ollis (1986) geben für Bakterien, die mit Glucose-Äquivalenten (Stärke, Molasse, Cellulose) als Substrat wachsen, einen Wärmebildungskoeffizienten von  $Y_{Q/X} = 2.380$  kcal/kg Biomasse an, d. h. pro 1 kg gebildeter bakterieller Biomasse werden 2.380 kcal Wärme freigesetzt. Dunn et al. (1992) nennen Werte von  $Y_{Q/X} = 3.150-4.850$  kcal/kg Biomasse (Substrat Glucose). In der Simulation soll im Folgenden von einem mittleren Wert von  $Y_{Q/X} = 2.400$  kcal/kg Biomasse ausgegangen werden.

<sup>8</sup> Die Bakterien werden nach der Fermentation durch eine Batchdestillation abgetötet. In der Literatur wird für die Sterilisationstemperatur meist 121 °C angegeben, bei der ein Überdruck von 1 bar besteht. Als Einwirkzeit (bei Endtemperatur) gehen die Angaben von 20-30 min (Diekmann und Metz, 1991) über 15 min (Doran, 1995) und 10 min (Jackson, 1990) bis lediglich 5 min (Aiba et al., 1973; Köhler und Hofmann, 1992). In den Modellen wird von einer Einwirkzeit von 10 min ausgegangen. Unter Umständen kann eine kontinuierliche Sterilisation der Fermenterbrühe interessant sein.

<sup>9</sup> Nach der Sterilisation wird die Fermenterbrühe auf 40°C abgekühlt. Dieser Temperaturwert wurde relativ willkürlich festgelegt. Im realen Prozess kann auch ein höherer oder niedriger Wert sinnvoll sein.

3. Fermenter Version 3<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Fermentationstemperatur I + II <sup>2</sup>	37°C	Vorgabe FZ Jülich
Belüftungsrate I + II <sup>3</sup>	0,5 vvm	Perry et al, 1997; Diekmann und Metz, 1991
<b>Zyklus 1</b>		
Dauer NH <sub>3</sub> -Zufuhr I <sup>4</sup>	13,3 h	eigene Abschätzung
Fermentationsdauer I <sup>5</sup>	13,0 h	Vorgabe FZ Jülich
Umsatzrate Biomassebildung <sup>6</sup>	46,4 % (Acetat)	Vorgabe FZ Jülich + eigene Abschätzungen
Umsatzrate Acetatveratmung <sup>6</sup>	8,7 % (Acetat)	
Umsatzrate Pyruvatbildung I <sup>6</sup>	88,8 % (Glucose)	
Umsatzrate org. Rest aus Glucose I <sup>6</sup>	32,9 % (Glucose)	
Umsatzrate org. Rest aus Acetat I <sup>6</sup>	100 % (Acetat)	
Reaktionswärme Biomassebildung <sup>7</sup>	-2.400 kcal kg <sup>-1</sup>	Bailey und Ollis, 1986; u. a.
<b>Zyklus 2-4</b>		
Dauer NH <sub>3</sub> -Zufuhr II <sup>4</sup>	22,8 h	eigene Abschätzung
Fermentationsdauer II <sup>5</sup>	22,6 h	Vorgabe FZ Jülich
Umsatzrate Pyruvatbildung II <sup>6</sup>	78,2 % (Glucose)	Vorgabe FZ Jülich + eigene Abschätzungen
Umsatzrate Glucoseveratmung <sup>6</sup>	7,3 % (Glucose)	
Umsatzrate org. Rest aus Glucose II <sup>6</sup>	51,9 % (Glucose)	
Parameter Sterilisation <sup>1</sup>	siehe Ver. 1+2	-

<sup>1</sup> Die Fermentation erfolgt in Version 3 in der Form eines Repetitive Fedbatch mit vier Zyklen. In Zyklus 1 erfolgt Biomassebildung und Produktbildung. Die Zyklen 2-4 sind im Modell zu einem Zyklus zusammengefasst. Hier erfolgt Produktbildung ohne Biomassebildung (ruhende Zellen). Die Parameter für die Sterilisation nach Ende der (zweiten) Fermentation sind identisch mit Version 1+2 (s. o.). Version 3a und 3b unterscheiden sich nur in der Aufreinigung, weshalb sie in der obigen Tabelle nicht getrennt betrachtet werden.

<sup>2</sup> Die Reaktionstemperatur beträgt in allen Zyklen 37 °C (Vorgabe FZ Jülich).

<sup>3</sup> Ableitung siehe Tab. „Fermentation Version 1+2“.

<sup>4</sup> Die Zufuhr der NH<sub>3</sub>-Lösung und damit die pH-Regulierung beginnt in Zyklus 1 vor der Animpfung des Fermenters und erfolgt bis kurz vor Ende der ersten Fermentation. In Zyklus 2-4 erfolgt die pH-Regulierung zwischen Einstellen der Fermentationstemperatur und dem Ende der zweiten Fermentation.

<sup>5</sup> Die Reaktionsdauer wurde aus Versuchen beim Projektpartner am Forschungszentrum Jülich übernommen. Die Reaktionszeiten von Zyklus 2-4 wurden für das Modell addiert. Näheres siehe auch Anhang E2.

<sup>6</sup> Die Ableitung der Reaktionsgleichungen und der notwendigen Umsatzraten in Zyklus 1 und Zyklus 2-4 ist in Anhang E2 erläutert. In den Modellberechnungen laufen die Reaktion nicht gleichzeitig sondern seriell, in der Reihenfolge der Eingabe, ab. Die Umsatzrate (Reaction Extent) bezieht sich dabei immer auf die Menge der Referenzsubstanz (z. B. Glucose) zu Beginn der Reaktion, d. h. der Verbrauch der (in den Berechnungen) vorhergehenden Reaktionen ist schon berücksichtigt.

<sup>7</sup> Ableitung siehe Tab. „Fermentation Version 1+2“.

3. Abdampfen Lösungsmittel<sup>1</sup>

Prozessparameter	Simulationswert	Quelle
Verdampfungsrate <sup>2</sup>	250 l min <sup>-1</sup>	eigene Abschätzung
Verdampfungstemperatur <sup>3</sup>	(a) 100°C, (b) 34°C	Lide, 2002
Mittlere Verdampfungswärme <sup>4</sup>	(a) 540 kcal kg <sup>-1</sup> , (b) 85,5 kcal kg <sup>-1</sup>	Lide, 2002
Verdampfungsrate Lösungsmittel/Ether <sup>5</sup>	99 %	eigene Abschätzung
Verdampfungsrate Wasser <sup>6</sup>	(a) 99 %, (b) 10 %	eigene Abschätzung
Druck <sup>7</sup>	1.013 hPa	Defaultwert
spezifischer Energiebedarf Rührer <sup>8</sup>	0,4 kW m <sup>-3</sup>	Vauck und Müller, 1988; McCabe et al., 2001
Kondensationstemperatur <sup>9</sup>	(a) 50°C, (b) 20°C	eigene Abschätzung
Minimale Befüllung des Reaktors <sup>10</sup>	1 %	-
Prozessdauer <sup>11</sup>	variabel	eigene Abschätzung

<sup>1</sup> Beim Recycling des verwendeten Lösungsmittels wird das Lösungsmittel in einem Reaktor abgedampft und anschließend wieder verwendet. Als Lösungsmittel dienen (a) das theoretische Lösungsmittel 1 und (b) Diethylether. Die Eigenschaften des Lösungsmittels 1 sind nicht näher bekannt. Beim Abdampfen wird es wie Wasser behandelt.

<sup>2</sup> Dieser Wert wurde so festgelegt, dass sich eine realistische und in den Prozessablauf passende Dauer des Abdampfungsschritts ergibt. Bei sehr kleinen Volumina wird nicht die Verdampfungsrate, sondern die Verdampfungsdauer festgelegt (10 min).

<sup>3</sup> Als Verdampfungstemperatur wird bei (a) und (b) jeweils die Siedetemperatur angenommen.

<sup>4</sup> Als mittlere Verdampfungswärme wird der Wert für Diethylether (b) und Lösungsmittel 1 (=Wasser) (a) angenommen. Die Verdampfungswärme wurde aus Lide (2002) entnommen.

<sup>5</sup> Als Verdampfungsrate wurde 99 % angenommen. Das heißt 1 % verbleibt als Rest, der als Abwasser entsorgt werden muss. Mit welchem Wert in einer realen Anlage tatsächlich zu rechnen ist, ist nicht bekannt. In industriellen Anlage werden jedoch hohe Recyclingquoten erreicht. Daher wird angenommen, dass ein Rest von 1 % ausreicht, um die enthaltenen Verunreinigungen abzutrennen.

<sup>6</sup> In (a) verhält sich das Lösungsmittel 1 wie Wasser, folglich sind auch die Verdampfungsraten identisch. In (b) ist die Temperatur und damit der Dampfdruck des Wassers viel geringer. Die Verdampfungsrate wird daher auf 10 % geschätzt. Der exakte Wert ließe sich über die Dampfdruckkurven von Wasser und Ether berechnen. Für das Modell ist der Wert jedoch nur von untergeordneter Bedeutung, weshalb hier auf die Berechnung verzichtet wird. Die Verdampfungsrate wurde recht hoch angesetzt um den Wasseranteil im recycelten Ether nicht zu unterschätzen.

<sup>7</sup> Es wird angenommen, dass das Abdampfen bei Normaldruck erfolgt (= Defaultwert).

<sup>8</sup> Abschätzung siehe Kap. 4.4.2.

<sup>9</sup> Für den Energieverbrauch und die weitere Behandlung des Stoffstroms ist die Austrittstemperatur nicht von entscheidender Bedeutung, solange sie deutlich unter dem Taupunkt des Dampfes liegt. Sie wurde daher grob auf (a) 90°C bzw. (b) 20°C festgelegt.

<sup>10</sup> Da das Lösungsmittel zu 99 % abgedampft wird, wird abweichend von den übrigen Reaktormodelle die minimale Befüllung auf 1 % des Reaktorvolumens reduziert.

<sup>11</sup> Die Prozessdauer ergibt sich aus dem Volumen des Inputstroms und der festgelegten Verdampfungsrate von 250 l/min.

## Anhang E2: Stoffumwandlungen

Basierend auf den Informationen der ersten Datenaufnahme wurde bei der Erstellung von Version 1 ein einfaches Modell der im Fermenter stattfindenden Stoffumwandlungen erstellt. In der weiteren Projektarbeit wurde das Modell schrittweise verbessert und an die in der weiteren Datenaufnahme neu erfassten Prozessdaten angepasst (Versionen 2 und 3).

### 1. Version 1

Folgende Werte sind aus der ersten Datenaufnahme bekannt:

- Als Startkonzentrationen ergeben sich aus den Vorgaben vom FZ Jülich: 50 g/l Glucose, 0,2 g/l Acetat, 0,04 g/l Biomasse (*Escherichia coli*) und gemittelte Werte von Medium und Spurenelementen. Der *E. coli*-Stamm ist Acetat-auxotroph.
- Als Neben- bzw. Koppelprodukte wurden angegeben (bezogen auf die Menge an verbrauchter Glucose): 0,05 % (w/w) Fumarat, 0,01 % Succinat, 0,01 % Oxoglutarat, max. 5 % CO<sub>2</sub> (eher weniger), 5-10 % Lactat.
- Die Endkonzentration der Biomasse wird mit 2,5 g/l angegeben. Im Laufe der Prozessentwicklung wird jedoch von einer deutlichen Erhöhung der Konzentration ausgegangen.
- Die Endkonzentrationen von Medium-Komponenten und Spurenelementen sind nicht bekannt.
- Ergebnisse von Schüttelkolbenversuchen lassen erwarten, dass aus 1 Mol Glucose 1,6-2 Mol Pyruvat entstehen.

Folgende Annahmen werden getroffen:

- Glucose und Acetat werden vollständig verbraucht.
- Medium-Komponenten und Spurenelemente werden bei dieser ersten Abschätzung nicht berücksichtigt und verlassen den Fermenter in unveränderter Konzentration (Ausnahme: N-Quelle).
- Es werden 7 % Lactat und 2,5 % CO<sub>2</sub> gebildet (bezogen auf die Menge an verbrauchter Glucose).
- Die Bildung von Fumarat, Succinat und Oxoglutarat wird vernachlässigt.



- Die Fermenterlösung hat ein Volumen von ca. 50 m<sup>3</sup>. Dies entspricht damit in etwa den Angaben von Li et al. (2001).
- Die Fermenterlösung ist zu jedem Zeitpunkt vollständig durchmischt und ausreichend mit Sauerstoff versorgt.
- Die gebildeten Produkte werden vollständig ins Medium abgegeben.

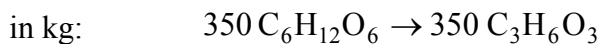
Aus den vorgegebenen Daten und den getroffenen Annahmen ergeben sich folgende Werte:

*Startmengen:* 2.500 kg Glucose, 10 kg Acetat, NH<sub>3</sub> im Überschuss

*Endmengen:* 175 kg Lactat, 62,5 kg CO<sub>2</sub>, 125 kg Biomasse

### 1.1. Lactatbildung

Glucose wird über die Glykolyse zu Pyruvat und weiter zu Lactat umgewandelt.

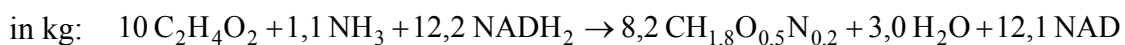
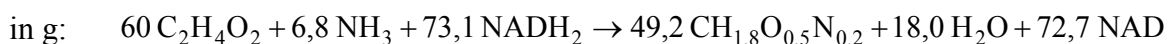
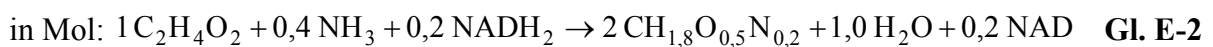


Dabei werden 2 Mol ATP/Mol Glucose gebildet (175 kg = 971,4 Mol Glucose). Bei der Lactatbildung (175 kg) werden somit 175 kg Glucose verbraucht und dabei entstehen 1.944 Mol ATP. Für die Simulation ergibt sich eine Umsatzrate von 7 %.

### 1.2. Biomassebildung

#### *Biomasse aus Acetat*

Für die Biomasse wurde zunächst eine mittlere Zusammensetzung von CH<sub>1,8</sub>O<sub>0,5</sub>N<sub>0,2</sub> angenommen.



Pro Mol Acetat werden 0,2 Mol NADH<sub>2</sub> reduziert. 10 kg Acetat entsprechen 167 Mol. Es werden folglich 33 Mol NADH<sub>2</sub> reduziert.

#### *Biomasse aus Glucose*

Da bis zum Ende der Fermentation 125 kg Biomasse gebildet werden, aus dem Acetat aber nur 8,2 kg entstehen, muss die fehlende Biomasse, also 116,8 kg, aus der Glucose gebildet werden:

in Mol:  $1 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 1,2 \text{ NH}_3 + 0,6 \text{ NADH}_2 \rightarrow 6 \text{ CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2} + 3,0 \text{ H}_2\text{O} + 0,6 \text{ NAD}$  **Gl. E-3**

in g:  $180 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 20,4 \text{ NH}_3 + 219,2 \text{ NADH}_2 \rightarrow$   
 $147,6 \text{ CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2} + 54,0 \text{ H}_2\text{O} + 218,0 \text{ NAD}$

in kg:  $142,5 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 16,2 \text{ NH}_3 + 173,5 \text{ NADH}_2 \rightarrow$   
 $116,8 \text{ CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2} + 42,8 \text{ H}_2\text{O} + 172,5 \text{ NAD}$

Pro Mol Glucose werden 0,6 Mol NADH<sub>2</sub> reduziert. 142,5 kg Glucose entsprechen 792 Mol. Es werden folglich 475 Mol NADH<sub>2</sub> verbraucht.

Für die Biomassebildung aus Acetat und Glucose (Gl. E-2 und E-3) ergibt sich:

in g:  $10,0 \text{ C}_2\text{H}_4\text{O}_2 + 142,5 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 17,3 \text{ NH}_3 + 185,7 \text{ NADH}_2 \rightarrow$   
 $125,0 \text{ CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2} + 45,8 \text{ H}_2\text{O} + 184,6 \text{ NAD}$  **Gl. E-4**

Insgesamt werden 508 Mol NADH<sub>2</sub> verbraucht.

### ***Energieverbrauch bei der Biomassenbildung***

Es werden 5.081 C-Mol Biomasse (MW = 24,6 g/C-mol; Endmenge: 125 kg) gebildet. Es wird von einem  $Y_{X/ATP}$ -Wert von 0,35 C-Mol/Mol ausgegangen (Dunn et al., 1992), d. h. pro C-Mol Biomasse werden 2,857 Mol ATP benötigt. Es werden folglich  $2,857 \times 5.081 = 14.518$  Mol ATP zur Bildung der Biomasse benötigt.

### **1.3. Energiegewinnung**

Es wird angenommen, dass Glucose über den Fructosebiphosphatweg und den Tricarbonsäurezyklus zu CO<sub>2</sub> abgebaut wird und sämtlicher Wasserstoff über die Atmungskette zu Wasser verbrannt wird (Schlegel, 1992) (Annahme: 62,5 kg CO<sub>2</sub>):

in mol:  $1 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ O}_2 \rightarrow 6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O}$  **Gl. E-5**

in g:  $180 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 192 \text{ O}_2 \rightarrow 264 \text{ CO}_2 + 108 \text{ H}_2\text{O}$

in kg:  $42,6 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 45,5 \text{ O}_2 \rightarrow 62,5 \text{ CO}_2 + 525,6 \text{ H}_2\text{O}$

Bei der Reaktion entstehen 10 NADH<sub>2</sub> und 2 FADH<sub>2</sub>. Diese werden in der Atmungskette oxidiert:

$\text{NADH}_2 + \frac{1}{2} \text{ O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}$  **Gl. E-6**

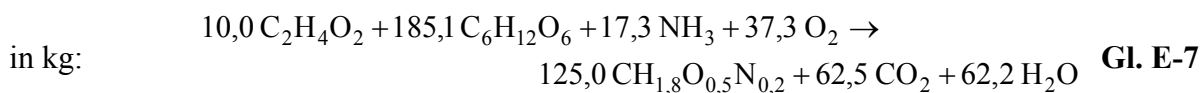
$\text{FADH}_2 + \frac{1}{2} \text{ O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{FAD}$

Dabei werden bei *E. coli* mit einem  $Y_{P/O} = 2,0$  in der Regel 26 Mol ATP pro Mol Glucose gewonnen (Schlegel 1992). Die verbrauchten 42,6 kg Glucose entsprechen 236,7 Mol. Es

würden folglich 6.153 Mol ATP entstehen. 508 Mol NADH<sub>2</sub> werden jedoch für die Biomassebildung verbraucht (s. 1.2.). Da pro Mol NADH<sub>2</sub> 2 Mol ATP entstehen, werden  $508 \times 2 = 1.016$  Mol ATP weniger gebildet. Insgesamt entstehen folglich nur 5.137 Mol ATP.

Bei der Veratmung werden 45,5 kg Sauerstoff benötigt. Der Teil des gebildeten NADH<sub>2</sub>, der in der Biomassebildung verbraucht wird, erhält den Sauerstoff aus dem Acetat bzw. der Glucose ( $508 \text{ Mol} \times 16 \text{ g/mol} = 8,1 \text{ kg O}_2$ ). Es werden folglich nur  $45,5 - 8,1 = 37,4 \text{ kg}$  gelöster Sauerstoff benötigt. Entsprechend reduziert sich die, bei der Energiegewinnung anfallende Wassermenge:  $508 \text{ Mol} \times 18 \text{ g/mol} = 9,15 \text{ kg H}_2\text{O}$ . Es werden also nur  $25,6 - 9,2 = 16,4 \text{ kg H}_2\text{O}$  gebildet.

Da die Gleichungen für die Biomassebildung (Gl. E-4) und für die Energiegewinnung (Gl. E-5) über die NADH<sub>2</sub>-Bildung verbunden sind, werden sie in der Simulation in einer gemeinsamen Gleichung verwendet:

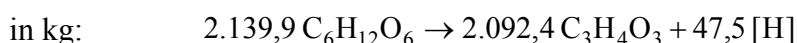
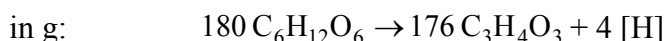
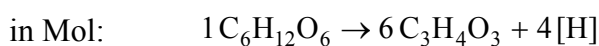


Für die Simulation ergibt sich eine Umsatzrate von 100 % (bezogen auf Essigsäure/Acetat)

#### 1.4. Glykolyse (Produktbildung)

Die Glucose wird über den Fructosebiphosphatweg zu Pyruvat umgesetzt. Es wird angenommen, dass die verbliebene Glucose vollständig in Pyruvat umgesetzt wird.

Ausgangsmenge Glucose:	2500,0 kg
davon: in Lactat umgesetzt:	175,0 kg
in Biomasse umgesetzt:	142,5 kg
veratmet:	42,6 kg
in Pyruvat	2139,9 kg Glucose

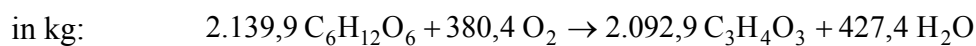
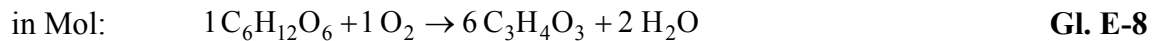


Es werden somit 23.777 Mol Brenztraubensäure gebildet. Auf die insgesamt eingesetzte Glucose ( $2.500 \text{ kg} = 13.889 \text{ Mol}$ ) bezogen, ergibt sich eine Ausbeute von 1,71 Mol Brenztraubensäure/Pyruvat pro Mol Glucose.

Pro Mol Glucose werden 2 Mol ATP direkt gebildet (Schlegel, 1992). 2.140 kg Glucose entsprechen 11.887 Mol. Es werden folglich 23.774 Mol ATP gewonnen.

Das bei der Reaktion entstehende NADH<sub>2</sub> muss wieder in NAD überführt werden (s. 1.3.).

Pro Mol Glucose werden 2 Mol NADH<sub>2</sub> gebildet (Schlegel, 1992), insgesamt also 23.774 Mol. Bei der Rückführung in NAD werden pro Mol NADH<sub>2</sub> ½ O<sub>2</sub> verbraucht und 1 Mol H<sub>2</sub>O gebildet. Es werden also 11.887 Mol O<sub>2</sub> (= 380,4 kg) verbraucht und 23.774 Mol H<sub>2</sub>O (= 427,4 kg) gebildet. Für die Brenztraubensäurebildung ergibt sich:



Pro Mol NADH<sub>2</sub> entstehen dabei 2 Mol ATP, also 23.774 x 2 = 47.548 Mol ATP.

In der Simulation beträgt die Umsatzrate der Reaktion 100 % (bezogen auf die nach Lactat- und Biomassebildung verbliebene Glucose).

### 1.5. Maintainance (Abschätzung)

Es gilt:  $m_{\text{ATP}} = 0,002 \text{ mol/g Biomasse h}$  (Schügerl und Bellgardt 2000); Biomasse = 125 kg;

Dauer der Fermentation: 35 h

Daraus folgt: ATP-Bedarf für Maintainance:  $125.000 \times 35 \times 0,002 = 8.750 \text{ Mol}$

Grob geschätzt beträgt der Energiebedarf für den Erhaltungsstoffwechsel somit 8.750 Mol.

### 1.6. ATP-Bilanz

Vorgang	ATP-Bildung [Mol]
Glykolyse	+ 23.774
Glucoseveratmung	+ 5.137
Lactatbildung	+ 1.944
Biomassebildung	- 14.518
Maintainance	- 8.750
<b>Differenz</b>	<b>+ 7.587</b>

Dies entspricht einem Überschuss von 0,06 Mol ATP/g Biomasse.

### 1.7. Sauerstoffbilanz

Vorgang	O <sub>2</sub> -Bildung [kg]
Glucoseveratmung	- 37,3
Glykolyse	- 380,4
<b>Differenz</b>	<b>- 417,7</b>

## 2. Version 2

Im Gegensatz zu Version 1 beruht das Modell der Version 2 auf konkreten Fermentationsdaten eines Versuchsfermenter am IBT II. Folgende Werte sind aus den Versuchen bekannt:

- Startvolumen Versuchsfermenter: 3,5 l; Endvolumen: 5,999 l (Fed-batch)
- Prozessdauer: 25,133 h
- Input Versuchsfermenter (Fed-batch): 2.940,9 mmol Glucose, 4.055,5 mmol Acetat, 5,7 C-mmol *E. coli*-Biomasse (Animpfung, 0,04 g/l)
- Output Versuchsfermenter: Produkt (Pyruvat): 647,0 mmol/l; Biomasse: 586,7 mmol/l; CO<sub>2</sub>: 1.413,9 mmol; Glucose: 31,9 mmol/l; L-Glutamat: 6,0 mmol/l; L-Alanin: 4,7 mmol/l; Fumarat: 2,6 mmol/l; L-Aspartat: 0,5 mmol/l; Lactat und Citrat: 0 mmol
- Endkonzentrationen von Mediumkomponenten und Spurenelementen sind nicht bekannt.
- Acetat wird vollständig verbraucht.

Folgende Annahmen werden getroffen:

- NH<sub>3</sub>, Spurenelemente und die übrigen Mediumbestandteile sind im Überschuss vorhanden.
- N- und P-Aufnahme bei der Biomassebildung wird berücksichtigt. Der Verbrauch der übrigen Medium-Komponenten und Spurenelemente wird nicht berücksichtigt. Sie verlassen den Fermenter in unveränderter Konzentration.
- Die Bildung von Fumarat, Aspartat, Glutamat und Alanin wird vernachlässigt, da sie alle deutlich unter 1 % der C-Bilanz liegen. Sie gehen in den organischen Rest ein (s. u.).
- Die Fermenterlösung hat ein Endvolumen von ca. 50 m<sup>3</sup> (Startvolumen: 29,2 m<sup>3</sup>).

Bezieht man die oben genannten Werte auf das Reaktionsvolumen von 50 m<sup>3</sup>, so ergibt sich ein Input von 4.412,6 kg Glucose (147.071 C-Mol), 2.028,1 kg Acetat (67.603 C-Mol) und 2,0 kg Biomasse (*E. coli*; 46 C-Mol) zum Animpfen des Fermenters. Für den Output ergibt sich: 2.847,0 kg Pyruvat (97.057 C-Mol, entspricht 45,2 % der eingesetzten C-Atome), 743,6 kg bakterielle Biomasse (29.334 C-Mol, 13,7 %), 518,5 kg CO<sub>2</sub> (11.784 C-Mol, 5,5 %) und 287,3 kg nicht verbrauchter Glucose (9.575 C-Mol, 4,5 %).

Ca. 30 % der eingesetzten C-Atome werden in organische Verbindungen umgewandelt, die im Versuch (IBT II) nicht identifiziert werden konnten und deren Zusammensetzung nicht bekannt ist. Um diese Stoffe in der Simulation berücksichtigen zu können, wird der Stoff „Organischer Rest“ definiert, unter dem alle diese Verbindungen zusammengefasst werden. Es wird angenommen, dass die mittlere Zusammensetzung der Stoffe gleich der

Zusammensetzung von Glucose ist. Auch bei allen übrigen Stoffeigenschaften werden die Werte der Glucose übernommen. Der organische Rest ist in der Fermenterbrühe gelöst.

Für die ökologische Bewertung stellen diese Stoffe zunächst kein Problem dar. Ihr COD sollte dem der Glucose sehr ähnlich sein. Weitere negative Umweltwirkungen sind von den Stoffen nicht zu erwarten (ggf. N- und P-Gehalt von geringer Bedeutung). Für die Modellierung und Simulation sind sie ebenfalls problemlos, solange sie nicht unerwartete Störungen in der Aufreinigung verursachen. Da hierüber jedoch jegliche Informationen fehlen, wird zunächst angenommen, dass solche Störungen nicht auftreten. Durch die Messungen ist sichergestellt, dass der organische Rest keine Milchsäure oder andere organische Säuren enthält, die bekanntermaßen Schwierigkeiten bei der Aufreinigung von Brenztraubensäure verursachen. Untersuchungen von Han et al. (2003) lassen darauf schließen, dass es sich beim organische Rest hauptsächlich um Bestandteile der äußeren Zellmembran handelt, vor allem um einfache und komplexe Kohlenhydrate, Lipopolysaccharide und Phospholipide.

Die ermittelte (gemessene) Kohlendioxidbildung ist relativ gering (5,5 % der eingesetzten Glucose (C-Mol) gehen in CO<sub>2</sub>, 13,6 % dagegen in Biomasse). Es ist daher nicht auszuschließen, dass möglicherweise ein Teil der nicht zugeordneten C-Atome in zusätzliches CO<sub>2</sub> umgewandelt wurde.

## 2.1. Biomassebildung

Tabelle E2-1 zeigt den Anteil der einzelnen Precursor (Vorläufermoleküle) an der Biomasse von *Bacillus subtilis* (Sauer et al., 1996). Es wird vereinfachend angenommen, dass die Angaben für *E. coli* ähnlich sind. Nach Betrachtung der Stoffwechselwege wird weiterhin angenommen, dass die Vorläufermoleküle von Glucose-6-phosphat bis Pyruvat (s. Tab.) vollständig aus der Glucose stammen (Glykolyse, Pentosephosphatweg), während die übrigen Precursor aus dem Acetat gebildet werden (Tricarbonsäurezyklus). Dies stellt natürlich eine gewisse Vereinfachung dar, sollte für diese grobe Abschätzung jedoch ausreichend sein. Es ergibt sich aus der Tabelle für die Glucose ein Anteil von 57 % (C-Mol), für das Acetat ein Anteil von 43 %.

Aus der Endkonzentration der Biomasse (587 mmol/l) ergibt sich für ein Reaktionsvolumen von 50 m<sup>3</sup> eine Gesamtmenge von 29.334 C-Mol Biomasse. Abzüglich der zu Beginn vorgelegten Biomasse (0,04 g/l, 46 C-Mol) werden folglich 29.288 C-Mol Biomasse gebildet (742,5 kg). Entsprechend den oben genannten Anteilen, werden davon 16.694 C-Mol (423 kg) aus Glucose und 12.594 C-Mol (319 kg) aus Acetat gebildet.

Tab. E2-1: Anteil der Vorläufermoleküle (Precursor) an der Biomasse von *Bacillus subtilis* (nach Sauer et al., 1996)

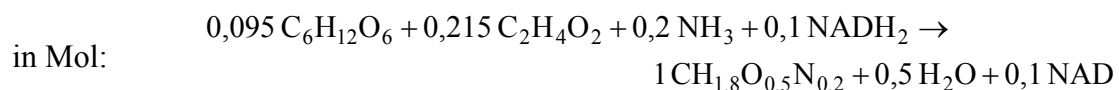
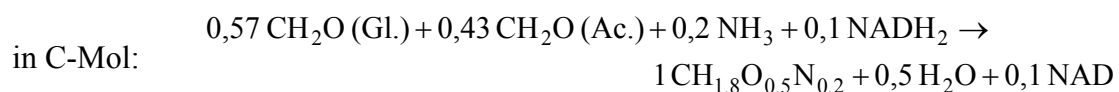
Vorläufermolekül (Precursor)	Anteil [mmol/C-Mol Zelle]	Anteil [C-mmol/C-Mol Zelle]	Anteil [%]
Glucose-6-phosphat	3,93	23,6	2,27
Fructose-6-phosphat	4,85	29,1	2,81
Ribulose-5-phosphat	20,80	104,0	10,03
Erythrose-4-phosphat	7,86	31,4	3,03
Triose-3-phosphat	4,95	14,9	1,43
3-Phosphoglutarat	34,50	103,5	9,98
Phosphoenolpyruvat	18,20	54,6	5,26
Pyruvat	78,10	234,3	22,59
<b>Summe (Glucose)</b>		<b>595,4</b>	<b>57,4</b>
AcetylCoA	54,40	108,8	10,49
Oxalacetat	49,10	196,4	18,94
$\alpha$ -Ketoglutarat	27,20	136,5	13,16
<b>Summe (Acetat)</b>		<b>441,7</b>	<b>42,6</b>

Das Acetat wird über den Glyoxylsäurezyklus in die Biomasse eingebaut. Die C-Atome des Acetat können durch Enzyme der Gluconeogenese aus dem Tricarbonsäurezyklus in Precursor der Glykolyse gelangen, z. B. durch das Malat-Enzym (bildet Pyruvat) oder die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (bildet Phosphoenolpyruvat) (Schlegel, 1992). Damit wäre die in Tab. E2-1 gemachte Zuordnung der einzelnen Vorläufermoleküle zu den C-Quellen Acetat und Glucose nicht mehr eindeutig. Da die Bildung der Zuckerbausteine über die Gluconeogenese Energie benötigt, während in der Glykolyse Energie gewonnen wird, kann jedoch davon ausgegangen werden, dass in einem ausreichend mit Glucose versorgten Organismus die Gluconeogenese vernachlässigt werden kann.

Für die Biomassebildung aus Acetat und Glucose gelten zunächst weiterhin die Gleichungen E-2 und E-3. In C-Mol gilt für beide:



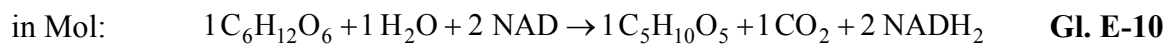
Aus Tab. E2-1 ergibt sich ein Anteil der Glucose (Gl.) an der Biomasse von 57 % und des Acetats (Ac.) von 43 %. Unter Berücksichtigung dieser Anteile gilt für die Biomassebildung:



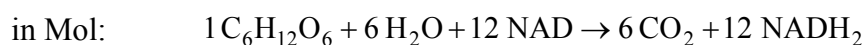
**Gl. E-9**

### ***CO<sub>2</sub>-Bildung in Pentosephosphatweg (aus Glucose)***

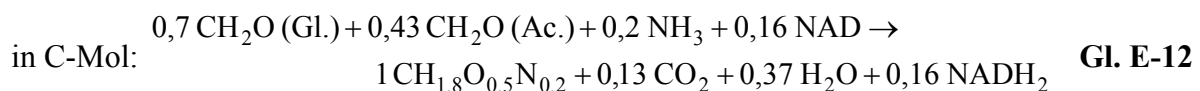
Bei der Bildung von Ribulose-5-phosphat (R5P) und Erythrose-4-phosphat (E4P) über den Pentosephosphatweg wird pro Mol jeweils ein Mol CO<sub>2</sub> gebildet. Bei der Bildung der übrigen Vorläuferstoffe (Glucose-6-phosphat bis Pyruvat) in der Glykolyse wird kein CO<sub>2</sub> freigesetzt. Für den Pentosephosphatweg soll zunächst folgende vereinfachte Gleichung gelten:



Es wird pro entstehendem R5P und E4P durchschnittlich ein 1 Mol Wasser benötigt und 2 Mol NADH<sub>2</sub> gebildet. Bei dieser Betrachtung kann auf die Unterscheidung von NADH<sub>2</sub> und NAD(P)H<sub>2</sub> zur Vereinfachung verzichtet werden. In Gl. E-9 (Biomassebildung) geht die eingesetzte Glucose vollständig in Biomasse ein. Um die CO<sub>2</sub>-Bildung im Pentosephosphatweg in dieser Gleichung zu ergänzen, muss eine entsprechende Menge Glucose zugefügt werden, die in CO<sub>2</sub> übergeht. Für die CO<sub>2</sub>-Bildung im Pentosephosphatweg ergibt sich:



R5P und E5P als Precursor haben zusammen einen Anteil von 13 % an der Biomasse (s. Tab. E2-1), d. h. pro Mol Biomasse werden 0,13 Mol CO<sub>2</sub> gebildet. Aus Gl. E-9 und E-11 ergibt sich:



Bei der Biomassebildung wurden zunächst 0,1 Mol NADH<sub>2</sub>/Mol Biomasse verbraucht, nun im Pentosephosphatweg jedoch 0,26 Mol/Mol gebildet. Dies ergibt eine Nettobildung von 0,16 Mol NADH<sub>2</sub>/Mol Biomasse.

### ***Phosphoraufnahme***

Der P-Gehalt von *E. coli*-Biomasse beträgt ca. 3 % (Doran, 1995). In Erweiterung des bisherigen Modells soll im weiteren von folgender Biomassenzusammensetzung ausgegangen werden: CH<sub>1,8</sub>O<sub>0,5</sub>N<sub>0,2</sub>P<sub>0,024</sub>, d. h. pro Mol Biomasse werden 0,024 Mol Phosphor benötigt. Als P-Quelle dient im Modell KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Zur Bilanzierung (die den realen chemischen Gegebenheiten so nicht unbedingt entspricht) wird das Kaliumdihydrogenphosphat wie folgt aufgespalten (P-BM = Phosphor in Biomasse):



in Mol:  $1 \text{ KH}_2\text{PO}_4 \rightarrow 1 \text{ KOH} + 1 \text{ P-BM} + 0,5 \text{ H}_2\text{O} + 1,25 \text{ O}_2$

in Mol:  $0,024 \text{ KH}_2\text{PO}_4 \rightarrow 0,024 \text{ KOH} + 0,024 \text{ P-BM} + 0,012 \text{ H}_2\text{O} + 0,03 \text{ O}_2$  **Gl. E-13**

Zusammen mit der Biomassegleichung (Gl. E-12) ergibt sich dann aus Gl. E-13 in C-Mol:

$0,7 \text{ CH}_2\text{O (Gl.)} + 0,43 \text{ CH}_2\text{O (Ac.)} + 0,2 \text{ NH}_3 + 0,16 \text{ NAD} + 0,024 \text{ KH}_2\text{PO}_4 \rightarrow$   
 $1 \text{ CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2}\text{P}_{0,024} + 0,13 \text{ CO}_2 + 0,382 \text{ H}_2\text{O} + 0,16 \text{ NADH}_2 + 0,024 \text{ KOH} + 0,03 \text{ O}_2$  **Gl. E-14**

Es wird angenommen, dass bei der P-Aufnahme ATP und NADH<sub>2</sub> weder gebildet noch verbraucht werden (bzw. dies schon bei der Abschätzung der Biomassebildung berücksichtigt wurde).

### *Veratmung NADH<sub>2</sub>*

In der Biomassegleichung verbleibt noch die Bildung von 0,16 Mol NADH<sub>2</sub>/Mol Biomasse. Es wird angenommen, dass dieses NADH<sub>2</sub> in der Atmungskette oxidiert wird (siehe Gl. E-6). In der Atmungskette entstehen in der Regel 2 Mol ATP pro Mol NADH<sub>2</sub>. Es werden also 0,32 Mol ATP pro Mol Biomasse gebildet. Aus Gl. E-6 und E-14 ergibt sich für die Biomassebildung:

in C-Mol:  $0,7 \text{ CH}_2\text{O (Gl.)} + 0,43 \text{ CH}_2\text{O (Ac.)} + 0,2 \text{ NH}_3 + 0,024 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 0,05 \text{ O}_2 \rightarrow$   
 $1 \text{ CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2}\text{P}_{0,024} + 0,13 \text{ CO}_2 + 0,542 \text{ H}_2\text{O} + 0,024 \text{ KOH}$

in Mol:  $0,116 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 0,215 \text{ C}_2\text{H}_4\text{O}_2 + 0,2 \text{ NH}_3 + 0,024 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 0,05 \text{ O}_2 \rightarrow$   
 $1 \text{ CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2}\text{P}_{0,024} + 0,13 \text{ CO}_2 + 0,542 \text{ H}_2\text{O} + 0,024 \text{ KOH}$  **Gl. E-15**

Im Produktionsfermenter werden insgesamt 29.288 Mol Biomasse gebildet. Es ergibt sich:

in Mol:  $3.416,9 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6.296,9 \text{ C}_2\text{H}_4\text{O}_2 + 5.857,6 \text{ NH}_3 + 702,9 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 1.464,4 \text{ O}_2 \rightarrow$   
 $29.288 \text{ CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2}\text{P}_{0,024} + 3.807,4 \text{ CO}_2 + 15.874,1 \text{ H}_2\text{O} + 702,9 \text{ KOH}$

in kg:  $615,1 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 377,8 \text{ C}_2\text{H}_4\text{O}_2 + 99,6 \text{ NH}_3 + 95,6 \text{ KH}_2\text{PO}_4 + 46,9 \text{ O}_2 \rightarrow$   
 $742,5 \text{ CH}_{1,8}\text{O}_{0,5}\text{N}_{0,2}\text{P}_{0,024} + 167,5 \text{ CO}_2 + 285,7 \text{ H}_2\text{O} + 39,4 \text{ KOH}$  **Gl. E-16**

Dabei werden  $29.288 \times 0,32 = 9.372$  Mol ATP gebildet.

## **2.2. Energiegewinnung/CO<sub>2</sub>-Bildung**

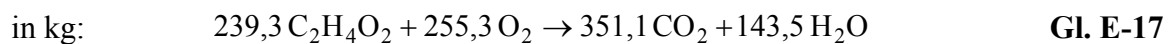
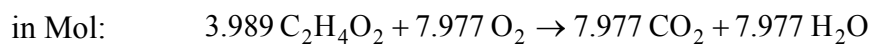
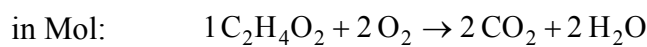
### *Energieverbrauch bei der Biomassenbildung*

Es werden 29.288 C-Mol Biomasse gebildet. Es wird von einem Y<sub>X/ATP</sub>-Wert von 0,35 C-Mol/Mol ausgegangen (Dunn et al., 1992), d. h. pro 1 C-Mol Biomasse werden 2,857 Mol ATP benötigt.

Daraus folgt: Es werden  $2,857 \times 29.288 = 83.680$  Mol ATP zur Bildung der Biomasse benötigt. Abzüglich der gebildeten 9.372 Mol ergibt sich ein Bedarf von 74.308 Mol ATP.

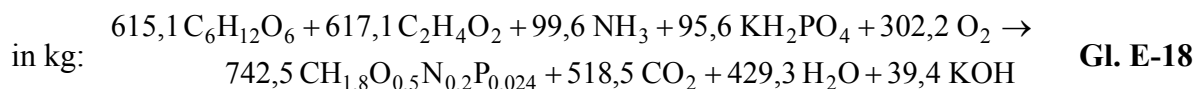
### **Acetatveratmung**

Es werden insgesamt 11.784 Mol Kohlendioxid gebildet. Ein Teil wird bei der Biomassenbildung, ein Teil wird bei der Veratmung freigesetzt. Im Pentosephosphatweg werden bei der Biomassebildung aus der Glucose 3.807 Mol CO<sub>2</sub> gebildet (s. o.). Es wird angenommen, dass die verbleibenden 7.977 Mol CO<sub>2</sub> aus der Veratmung des Acetats stammen. Das Acetat wird über den Glyoxylsäurezyklus in den Tricarbonsäurezyklus eingeschleust und vollständig veratmet. Es gilt:



Dabei entstehen pro Mol Acetat 3 NADH<sub>2</sub> und 1 FADH<sub>2</sub>, die in der Atmungskette (s. Gl. E-6) oxidiert werden. Bei *E. coli* entstehen pro Mol NADH<sub>2</sub> und FADH<sub>2</sub> in der Atmungskette jeweils 2 Mol ATP. Im Tricarbonsäurezyklus wird ein weiteres Mol ATP pro Mol Acetat gebildet. Folglich werden pro Mol Acetat 9 Mol ATP gebildet, also  $3.989 \times 9 = 35.597$  Mol ATP.

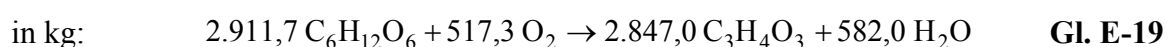
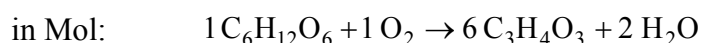
Fügt man die Biomassebildung und die Acetatveratmung zusammen (Gl. E-16 und E-17), ergibt sich:



Für die Simulation ergibt sich eine Umsatzrate von 13,94 % bezogen auf die eingesetzte Glucose.

### **2.3. Glykolyse (Produktbildung)**

Für die Pyruvatbildung gilt unverändert Gl. E-8. Es werden 2.847 kg Brenztraubensäure gebildet:



Auf die insgesamt eingesetzte Glucose (4.413 kg) bezogen, ergibt sich  $Y_{\text{Pyr}/\text{Gluc}} = 1,32 \text{ Mol/Mol}$ , auf die insgesamt verbrauchte Glucose (4.126 kg)  $Y_{\text{Pyr}/\text{Gluc}} = 1,41 \text{ Mol/Mol}$ .

Pro Mol Glucose werden in der Glykolyse 2 Mol ATP direkt gebildet (Schlegel, 1992). 2.912 kg Glucose entsprechen 16.176 Mol. Es werden also  $16.176 \times 2 = 32.356 \text{ Mol ATP}$  gewonnen.

Pro Mol Glucose werden in der Glykolyse 2 Mol  $\text{NADH}_2$  gebildet (Schlegel, 1992), insgesamt also 32.353 Mol. Pro Mol  $\text{NADH}_2$  entstehen dabei 2 Mol ATP, also  $32.353 \times 2 = 64.705 \text{ Mol ATP}$ . Es werden folglich insgesamt  $32.353 + 64.705 = 97.058 \text{ Mol ATP}$  gewonnen.

Für die Simulation ergibt sich eine Umsatzrate von 76,67 % bezogen auf die nach der Biomassebildung noch vorhandene Glucose.

## 2.4. Organischer Rest

### *aus der Glucose:*

gesamt	147.071 C-Mol
umgesetzt	137.496 C-Mol
in Pyruvat	-97.057 C-Mol (70,6 %)
<u>in Biomasse/<math>\text{CO}_2</math></u>	<u>-20.503 C-Mol (14,9 %)</u>
<b>in org. Rest</b>	<b>19.936 C-Mol (14,5 %)</b>

in Mol:  $1 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 1 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

in Mol:  $3.322,7 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 3.322,7 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

in kg:  $598,1 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow 598,1 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

**Gl. E-20**

### *aus dem Acetat:*

gesamt/umgesetzt	67.603 C-Mol
in Biomasse	- 12.594 C-Mol (18,6 %)
<u>in <math>\text{CO}_2</math></u>	<u>- 7.977 C-Mol (11,8 %)</u>
<b>in org. Rest</b>	<b>47.032 C-Mol (69,6 %)</b>

in Mol:  $3 \text{ C}_2\text{H}_4\text{O}_3 \rightarrow 1 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

in Mol:  $23.516 \text{ C}_2\text{H}_4\text{O}_3 \rightarrow 7.838,7 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

in kg:  $1.411 \text{ C}_2\text{H}_4\text{O}_3 \rightarrow 1.411 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  **Gl. E-21**

Es wird in erster Näherung angenommen, dass bei der Bildung des organischen Rests weder ATP noch NADH benötigt oder gebildet werden. Folglich haben die Reaktionen keinen Einfluss auf ATP- und Sauerstoffbilanz. Zusammengefasst (Gl. E-20 u. E-21) ergibt sich:

in kg:  $598,1 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 1.411,0 \text{ C}_2\text{H}_4\text{O}_3 \rightarrow 2.009,1 \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  **Gl. E-22**

Der Anteil der nicht identifizierten Stoffe an der Glucose (14,5 %) erscheint realistisch. Vorausgesetzt, die oben gemachten Abschätzungen treffen größenordnungsmäßig zu, ist die Tatsache, dass knapp 70 % des Acetat in nicht identifizierte Nebenprodukte aus dem Tricarbonsäurezyklus und nachfolgenden Stoffwechselwegen und nur knapp 12 % in  $\text{CO}_2$  eingehen, zumindest ungewöhnlich. Eine höhere  $\text{CO}_2$ -Bildung kann nicht ausgeschlossen werden.

Die Umsetzung in der Simulation erfolgt zu 100 % bezogen auf die nach der Biomassebildung verbleibende Acetatmenge.

## 2.5. Maintenance (Abschätzung)

$m_{\text{ATP}} = 0,002 \text{ mol/g Biomasse h}$  (Schügerl und Bellgardt 2000), Biomasse zu Beginn: 2 kg (0,04 g/l), am Ende: 742,5 kg, im Mittel 372,3 kg; Dauer der Fermentation: 25 h  
ATP-Bedarf für Maintenance:  $372.250 \times 25 \times 0,002 = 18.713 \text{ Mol}$

## 2.6. ATP-Bilanz

Vorgang	ATP-Bildung [Mol]
Glykolyse	+ 97.058
Acetatveratmung	+ 35.897
Biomassebildung	- 74.308
Maintenance	- 18.713
<b>Differenz</b>	<b>+ 39.934</b>

Dies entspricht einem Überschuss von 0,05 Mol ATP/g Biomasse.

## 1.7. Sauerstoffbilanz

Vorgang	$\text{O}_2$ -Bildung [kg]
Acetatveratmung	- 302
Glykolyse	- 517
<b>Differenz</b>	<b>- 819</b>

Im Model werden während der gesamten Fermentation 819,5 kg (25.609 Mol) Sauerstoff verbraucht. Dunn et al. (1992) geben mit Glucose als einzigem Rohstoff für  $Y_{X/O_2}$  einen Wert von 1-2 C-Mol/Mol  $O_2$  an. Berücksichtigt man den gesamten Sauerstoffverbrauch im Model ergibt sich bei 29.238 Mol gebildeter Biomasse ein  $Y_{X/O_2} = 1,1$ . Lässt man jedoch die Produktbildung (Glykolyse) außer Acht, ergibt sich bei einem verbleibenden Sauerstoffverbrauch von 302 kg (9.438 Mol)  $Y_{X/O_2} = 2,8$ . Dieser recht hohe Wert würde sich durch eine stärkere Acetatveratmung und dem damit verbundenen Sauerstoffverbrauch und der zusätzlichen  $CO_2$ -Bildung reduzieren.

### 3. Version 3

In Version 3 findet die Fermentation als Repetitive Fed-Batch statt. In Zyklus 1 erfolgt die Biomassebildung und die Produktbildung. In den Zyklen 2 bis 4 findet kein Biomassewachstum mehr statt und es wird mit ruhenden Zellen Brenztraubensäure produziert. Für das Reaktionsmodell werden die Versuchsdaten der Zyklen 2-4 zusammengefasst.

#### 1. Zyklus 1

Folgende Werte sind aus den Versuchsdaten bekannt:

- Startvolumen Versuchsfermenter: 2,5 l; Endvolumen: 3,78 l
- Probenvolumen Zyklus 1 insgesamt 260 ml (wird im Verlauf der Fermentation entnommen)
- Prozessdauer: 13 h
- Acetatzugabe: 1.360 mmol
- $CO_2$ -Produktion: 423 mmol
- Pyruvat: Endkonzentration: 458 mmol/l, Ausbeute  $Y_{Pyr/Gluc} = 1,46$  mol/mol (bezogen auf verbrauchte Glucose)
- Biomasse: Startkonzentration 0,11 g/l, Endkonzentration: 16,4 g/l; Glucose Endkonzentration: 3,5 g/l; Acetat Endkonzentration: 38 mM (2,3 g/l)
- Die Endkonzentrationen von Medium-Komponenten und Spurenelementen sind nicht bekannt.

Die in Jülich ermittelte Ausbeute und die gemessene Endkonzentration von Pyruvat dienen als Grundlage der Abschätzungen.

Folgende Annahmen werden zusätzlich oder abweichend von Version 2 getroffen:

- Die Fermentationslösung hat nach Zyklus 1 ein Endvolumen von 37,1 m<sup>3</sup> (Startvolumen: 24,6 m<sup>3</sup>). Damit ergibt sich nach Zyklus 4 ein Endvolumen von 50 m<sup>3</sup>.
- Die verbrauchte Glucosemenge wird über den (von Jülich bestimmten) Ausbeutekoeffizient berechnet. Zusammen mit der nichtverbrauchten Glucose am Ende des Zyklus 1 (= Glucoserest) ergibt sich die insgesamt eingesetzte Glucosemenge.
- Verbrauchte Glucose und Glucoserest, Acetatrest, Pyruvatmenge und Biomassemenge sind bereits auf das Endvolumen bezogen, Änderung von CO<sub>2</sub> wird vernachlässigt -> damit bleibt nur Acetat (angegeben: insgesamt zugegebene Menge) auf das Gesamtvolumen (End- + Probenvolumen) bezogen.

*Annahme 1:* In grober Vereinfachung wird angenommen, dass im Versuchsfermenter mit der Probenahme der gleiche Prozentsatz an Acetat wie an Volumen (6,44 %) verloren geht. Damit reduziert sich der Acetatinput im Versuchsfermenter auf  $2.720 \times 0,9356 = 2.545$  C-mmol.

*Annahme 2:* Es wird angenommen, dass das Acetat im industriellen Prozess vollständig verbraucht wird (verursacht sonst Probleme in der Aufreinigung). Um dies im Modell zu berücksichtigen wird die Acetatendkonzentration gleich null gesetzt und die ursprüngliche Restmenge (287 C-mmol) von der Inputmenge abgezogen. Damit ergibt sich für den Acetatinput des Versuchsfermenter:  $2.544,98 - 287,3 = 2.257,65$  C-mmol. Mit diesem Wert wird vom Versuchs- auf den Produktionsfermenter extrapoliert.

- Zwischen Input und Output besteht in der C-Bilanz eine Differenz. Die überschüssigen C-Atome gehen, wie in Version 2, in einen nicht näher bestimmten organischen Rest ein.

Bezieht man die oben genannten Werte auf das Reaktionsvolumen von 37,132 m<sup>3</sup>, so ergibt sich folgende C-Bilanz:

Input [C-mol]		Output [C-mol]	
Glucose	74.217,0	Pyruvat	51.018,9
Acetat	22.177,0	CO <sub>2</sub>	4.155,2
Biomasse	106,6	Biomasse	24.028,7
<b>Summe</b>	<b>96.500,6</b>	Glucose	4.328,2
		<b>Summe</b>	<b>83.530,9</b>
Differenz = Organischer Rest = 12.969,7		<b>C-Bilanz [%]</b>	<b>86,56</b>

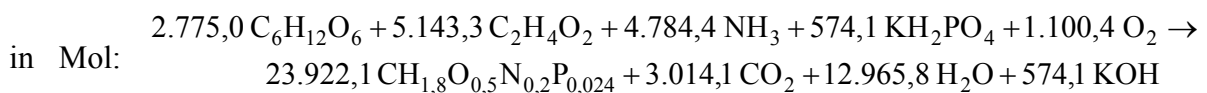
Es werden dem Reaktor folglich 2.229 kg Glucose (12.370 Mol), 666 kg Acetat (11.089 Mol) und 2,7 kg Biomasse zugeführt. Als Output ergibt sich 1.498 kg

Brenztraubensäure (17.006 Mol), 609 kg Biomasse, 183 kg Kohlendioxid und ein Glucoserest von 130 kg (721 Mol).

Die ermittelte Kohlendioxidbildung ist relativ gering (4,3 % gehen in CO<sub>2</sub>). Es ist daher nicht auszuschließen, dass möglicherweise ein Teil der nicht zugeordneten C-Atome in zusätzliches CO<sub>2</sub> umgewandelt wurde.

### 3.1.1. Biomassebildung

Aus der Endkonzentration der Biomasse (16,4 g/l) ergibt sich für ein Reaktionsvolumen von 37,132 m<sup>3</sup> eine Gesamtmenge von 24.029 C-Mol Biomasse. Abzüglich der zu Beginn vorgelegten Biomasse (0,11 g/l, 107 C-Mol) werden folglich 23.922 C-Mol Biomasse gebildet. Aus Version 2 kann Gl. E-15 für die Biomassebildung aus Acetat und Glucose, die Phosphataufnahme und die CO<sub>2</sub>-Bildung im Pentosephosphatweg unverändert übernommen werden. Es ergibt sich aus Gl. E-15:



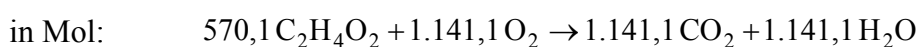
#### Gl. E-23

Dabei werden 0,32 Mol ATP pro Mol Biomasse gebildet (siehe Version 2), also 23.922 x 0,32 = 7.655 Mol ATP. Für die Simulation ergibt sich eine Umsatzrate von 46,4 % bezogen auf die Gesamtmenge an Acetat/Essigsäure.

### 3.1.2. Energiegewinnung/CO<sub>2</sub>-Bildung

Es werden 23.922 C-Mol Biomasse gebildet. Es wird von einem Y<sub>X/ATP</sub>-Wert von 0,35 C-Mol/Mol ausgegangen. Es werden folglich 68.349 Mol ATP zur Bildung der Biomasse benötigt. Abzüglich der gebildeten 7.655 Mol ergibt sich ein Bedarf von 60.694 Mol ATP.

Es werden insgesamt 4.155 Mol Kohlendioxid gebildet. Ein Teil wird bei der Biomassenbildung, ein Teil wird bei der Veratmung freigesetzt. Im Pentosephosphatweg werden bei der Biomassebildung aus der Glucose 3.014 Mol CO<sub>2</sub> gebildet (s. o.). Es wird angenommen, dass die verbleibenden 1.141 Mol CO<sub>2</sub> aus der Veratmung des Acetats stammen, für die Gl. E-17 unverändert gilt.



#### Gl. E-24

Dabei werden pro Mol Acetat 9 Mol ATP gebildet, also  $1.141 \times 9 = 10.270$  Mol ATP. Für die Simulation ergibt sich eine Umsatzrate von 8,7 % bezogen auf das nach der Biomasse noch vorhandene Acetat (Essigsäure).

### 3.1.3. Glykolyse (Produktbildung)

Für die Pyruvatbildung gilt Gl. E-8 unverändert. Es werden 17.006 Mol Pyruvat gebildet, also 8.503 Mol Glucose verbraucht. Auf die eingesetzte Glucose bezogen, ergibt sich eine Ausbeute (C-Mol/C-Mol) von 68,7 %, auf die Summe von eingesetzter Glucose und Acetat bezogen eine Ausbeute von 52,9 %.

Pro Mol Glucose werden in der Glykolyse 2 Mol ATP direkt gebildet (Schlegel, 1992). Es werden also  $8.503 \times 2 = 17.006$  Mol ATP gewonnen. Pro Mol Glucose werden in der Glykolyse 2 Mol NADH<sub>2</sub> gebildet (Schlegel, 1992), insgesamt also 17.006 Mol. Pro Mol NADH<sub>2</sub> entstehen dabei 2 Mol ATP, also  $17.006 \times 2 = 34.013$  Mol ATP. Insgesamt entstehen damit 51.019 Mol ATP.

Für die Simulation ergibt sich eine Umsatzrate von 88,8 % bezogen auf die nach Biomassebildung noch verbliebene Glucose.

### 3.1.4. Organischer Rest

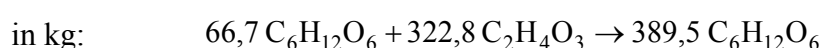
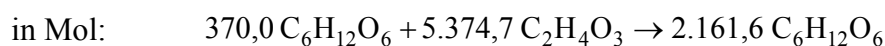
#### *aus der Glucose:*

gesamt	74.217 C-Mol
umgesetzt	69.889 C-Mol
in Pyruvat	- 51.019 C-Mol
in Biomasse/CO <sub>2</sub>	- 16.650 C-Mol
<b>in org. Rest</b>	<b>2.220 C-Mol</b>

#### *aus dem Acetat*

gesamt/umgesetzt	22.177 C-Mol
in Biomasse	- 10.287 C-Mol
in CO <sub>2</sub>	- 1.141 C-Mol
<b>in org. Rest</b>	<b>10.749 C-Mol</b>

Gl. E-20 und E-21 gelten unverändert. Zusammengefasst ergibt sich:



**Gl. E-26**



### 3.1.5. Maintainance (Abschätzung)

$m_{\text{ATP}} = 0,002 \text{ mol/g Biomasse h}$ , Biomasse zu Beginn: 2,7 kg (0,11 g/l), am Ende: 609 kg, im Mittel 306 kg; Dauer der Fermentation: 13 h

ATP-Bedarf für Maintainance:  $305.850 \times 13 \times 0,002 = 7.952 \text{ Mol}$

### 3.1.6. ATP-Bilanz

Vorgang	ATP-Bildung [Mol]
Glykolyse	+ 51.019
Acetatveratmung	+ 10.270
Biomassebildung	- 60.694
Maintainance	- 7.952
<b>Differenz</b>	<b>+ 7.257</b>

Dies ergibt eine Unterdeckung von 0,01 Mol ATP/g Biomasse. Dieses Minus ist gering und liegt innerhalb der Ungenauigkeit der Abschätzung.

### 3.1.7. Sauerstoffbilanz

Vorgang	O <sub>2</sub> -Bildung [kg]
Acetatveratmung	- 72
Glykolyse	- 272
<b>Differenz</b>	<b>- 344</b>

In diesem Model werden während der gesamten Fermentation 344 kg (10.744 Mol) Sauerstoff verbraucht. Dunn et al. (1992) geben mit Glucose als einzigem Rohstoff für  $Y_{X/O_2}$  einen Wert von 1-2 C-Mol/Mol O<sub>2</sub> an. Berücksichtigt man den gesamten Sauerstoffverbrauch im Model ergibt bei 23.922 Mol gebildeter Biomasse ein  $Y_{X/O_2} = 2,2$ . Lässt man dagegen die Produktbildung (Glykolyse) außer Acht, ergibt sich bei einem verbleibenden Sauerstoffverbrauch von 72 kg (2.242 Mol)  $Y_{X/O_2} = 10,7$ . Dieser sehr hohe Wert würde sich durch eine stärkere Acetatveratmung und dem damit verbundenen Sauerstoffverbrauch und der zusätzlichen CO<sub>2</sub>-Bildung reduzieren.

### 3.2. Zyklus 2 - 4

- Die Zyklen 2-4 werden zwar zunächst einzeln berechnet, in der Simulation aber zu einem Schritt zusammen gefasst.
- Es wird kein Acetat mehr zugegeben. Folglich findet auch kein Biomassewachstum mehr statt (Acetat-Auxotrophie).
- Es laufen nur noch drei Reaktionen ab: Produktbildung, CO<sub>2</sub>-Bildung und Bildung des organischen Rests.

Das Model beruht auf den Versuchsangaben Ausbeute, Startvolumen, Endvolumen, Entnahme Fermenterbrühe (nach jedem Zyklus), Zugabe Medium (vor jedem Zyklus) Endkonzentrationen Pyruvat und Glucose und CO<sub>2</sub>-Produktion aus Jülich:

Parameter	Zyklus 2	Zyklus 3	Zyklus 4
Startvolumen [l]	3,8	4,6	4,9
Endvolumen [l]	4,14	4,85	5,09*
Entnahme [l]	2,0	2,5	5,09
Zugabe Medium [l]	2,5	2,5	2,5
Endkonzentration Pyruvat [mmol/l]	670	660	603
Ausbeute $Y_{P/G}$ [Mol/Mol]	1,71	1,72	1,78
Endkonzentration Glucose [g/l]	8,03	5,88	6,02
Menge CO <sub>2</sub> produziert [mmol]	152	101	84

\* Im Reaktor befinden sich nur 4,09 l, 1 Liter befindet sich in Ultrafiltrationseinheit. Hier wird jedoch das Gesamtvolumen berücksichtigt.

Mit diesen Grunddaten und einem maximalen Arbeitsvolumen des Produktionsfermenter von 50 m<sup>3</sup> werden die Mengen der Edukte und Produkte ermittelt (Gleichungen siehe 3.2.1.-3.2.3.):

Reaktionsbilanz	Zyklus 2	Zyklus 3	Zyklus 4	Zyklus 2-4
Glucoseverbrauch [Mol]	12.676	10.209	8.275	<b>31.161</b>
Glucoseverbrauch [C-Mol]	76.057	61.255	49.652	<b>186.964</b>
Pyruvatbildung [Mol]	21.676	17.560	14.730	<b>53.966</b>
Pyruvatbildung [C-Mol]	65.029	52.679	44.190	<b>161.898</b>
CO <sub>2</sub> -Bildung [Mol]	1.493	992	825	<b>3.310</b>
org. Rest [Mol]	1.589	1.264	773	<b>3.626</b>
org. Rest [C-Mol]	9.535	7.583	4.637	<b>21.755</b>
$Y_{(P/G)}$ [Mol/Mol]	1,71	1,72	1,78	<b>1,73</b>

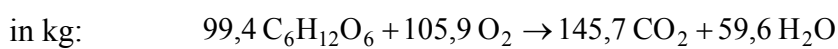
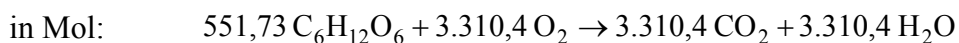
### 3.2.1. Glykolyse (Produktbildung)

Es gilt unverändert Gl. E-8. Es werden in Zyklus 2-4 insgesamt 53.966 Mol Pyruvat gebildet, also 26.983 Mol Glucose verbraucht. Auf die eingesetzte Glucose bezogen, ergibt sich eine Ausbeute (C-Mol/C-Mol) von 82,2 %. Für die Simulation beträgt die Umsatzrate 78,2 %.

Pro Mol Glucose werden in der Glykolyse 2 Mol ATP direkt gebildet. Es werden also  $26.983 \times 2 = 53.966$  Mol ATP gewonnen. Pro Mol Glucose werden in der Glykolyse 2 Mol  $\text{NADH}_2$  gebildet, insgesamt also 53.966 Mol. Pro Mol  $\text{NADH}_2$  entstehen dabei 2 Mol ATP, also  $53.966 \times 2 = 107.932$  Mol ATP. Insgesamt entstehen somit 161.898 Mol ATP.

### 3.2.2. Energiegewinnung/ $\text{CO}_2$ -Bildung

In Zyklus 1 wurde angenommen, dass das Kohlendioxid bei der Biomassebildung und der Veratmung des Acetats entsteht. Beide Prozesse finden in Zyklus 2-4 jedoch nicht statt. Das  $\text{CO}_2$  muss stattdessen durch die Veratmung von Glucose gebildet werden, die in Gl. E-5 beschrieben ist. In Zyklus 2-4 werden insgesamt 3.310 Mol Kohlendioxid gebildet. Es gilt:



**Gl. E-27**

Die Veratmung der Glucose erfolgt im Wildstamm von *E. coli* in drei Schritten (nach Schlegel, 1992):

#### 1. Glykolyse der Glucose zu Pyruvat

Dabei entstehen 2 Mol ATP pro Mol Glucose direkt und 2 Mol  $\text{NADH}_2$  pro Mol Glucose. Bei der Rückführung in NAD werden pro Mol  $\text{NADH}_2$  2 Mol ATP frei. Insgesamt werden also in der Glykolyse 6 Mol ATP/Mol Glucose gebildet.

#### 2. Oxidation des Pyruvats über den Pyruvat-Dehydrogenase-Multienzymkomplex

Pro Mol Pyruvat wird 1 Mol  $\text{NADH}_2$  gebildet. Folglich entstehen pro Mol Glucose 4 Mol ATP.

#### 3. Tricarbonsäurezyklus

Hier werden die verbliebenen C-Atome in  $\text{CO}_2$  umgesetzt. Dabei entsteht 1 Mol ATP, 3 Mol  $\text{NADH}_2$  und 1 Mol  $\text{FADH}_2$  pro Mol Pyruvat. Damit ergibt sich hier für 1 Mol Glucose die Bildung von 18 Mol ATP.

Insgesamt würden also  $6 + 4 + 18 = 28$  Mol ATP/Mol Glucose frei. Bei 552 Mol Glucose wären dies 15.448 Mol ATP. Bei der im Projekt eingesetzten Produktionsmutante ist jedoch der Transfer des Pyruvats in den Tricarbonsäurezyklus unterbrochen. Die Glucose kann also

folglich nicht über den herkömmlichen Weg veratmet werden. Obwohl kein Wachstum stattfindet, kann das Kohlendioxid dagegen im Pentosephosphatweg gebildet werden. Dabei entsteht jedoch ein Überschuss von NADPH, von dem angenommen wird, dass er in *E. coli* in der Atmungskette oxidiert werden kann.

### 3.2.3. Organischer Rest

Es werden insgesamt 3.626 Mol organischer Rest in Zyklus 2-4 aus der Glucose gebildet (ergibt sich aus der C-Bilanz). Es gilt unverändert Gl. E-20.

### 3.2.4. Maintenance

$m_{\text{ATP}} = 0,002 \text{ mol/g Biomasse h}$ , Biomasse: 609 kg; Dauer Zyklus 2-4: 22,6 h

ATP-Bedarf für Maintenance:  $608.958,7 \times 22,6 \times 0,002 = 27.525 \text{ Mol}$

### 3.2.5. ATP-Bilanz

Vorgang	ATP-Bildung [Mol]
Glykolyse	+ 161.898
<i>Glucoseveratmung (unter Vorbehalt!)</i>	+ 15.448
Maintenance	- 27.525
<b>Differenz</b>	<b>+ 149.822</b>

Dies ergibt einen Überschuss von 0,25 Mol ATP/g Biomasse.

# PUBLIKATIONEN

---

Im Verlauf dieser Arbeit erstellte Veröffentlichungen:

## Artikel

- Biwer, A. und Heinzle, E.: Process modeling and simulation for guiding process development: Case study  $\alpha$ -cyclodextrin. *Enzyme Microbial Tech.* 2003, 32, eingereicht.
- Biwer, A., Antranikian, G. und Heinzle, E.: Enzymatic production of cyclodextrins. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002, 59, 609-617.
- Biwer, A. und Heinzle, E.: Early ecological evaluation in biotechnology through process simulation: case study citric acid. *Eng. Life Sci.* 2002, 2, 265-268.
- Biwer, A., Rudershausen, A., Heinzle, E. et al.: Ökologische und Ökonomische Evaluation biokatalytischer Prozesse während ihrer Entwicklung. *BIOspektrum, Sonderausgabe Biokatalyse* 2001, 7, 15-24.
- Biwer, A. und Heinzle, E.: Prozesssimulation zur frühen ökologischen Bewertung biotechnologischer Prozesse: Beispiel Zitronensäure. *Chem. Ing. Tech.* 2001, 73, 1467-1471.
- Biwer, A. und Heinzle, E.: Ökoeffiziente Prozesse - Beispiele aus der chemischen Industrie. In: Heiden, St., Burschel, C. and Erb, R. (Ed.): *Biotechnologie als interdisziplinäre Herausforderung*. Spektrum Verlag: Heidelberg, 2001, 191-208.

## Vorträge

- Biwer, A. und Heinzle, E.: Modeling, simulation and evaluation in the development of sustainable processes. Achema, 27<sup>th</sup> International Exhibition-Congress. 19.-24. Mai 2003. Frankfurt.
- Biwer, A. und Heinzle, E.: The role of modeling and simulation in the development of sustainable processes. International Congress on Biocatalysis (biocat). 28.-31. Juli 2002. Hamburg.
- Biwer, A., Bellmann, K., Sell, D. et al.: Mit Ökoeffizienz zu mehr Rendite: Modellbildung, Simulation und Bewertung biotechnologischer Verfahren. 20. Dechema-Jahrestagung der Biotechnologen. 11.-13. Juni 2002. Wiesbaden.

**Poster**

Biwer, A. und Heinzle, E.: Einsatz des Prozesssimulationsprogramms SuperPro Designer zur frühen ökologischen Bewertung biotechnologischer Prozesse. 19. Dechema-Jahrestagung der Biotechnologen. 13.-15. März 2001. Leipzig.

Biwer, A. und Heinzle, E.: Modellbildung und Simulation zur Abschätzung relevanter Stoffströme in der Entwicklung biotechnologischer Prozesse. Dechema Workshop "Material- und Energieflussanalyse als Instrument zur ökonomischen und ökologischen Optimierung von Produktionsprozessen in der chemischen Industrie". 23.-24. Januar 2002. Frankfurt.